

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **客户姓名** |  | **订单编号** |  |
| **项目启动日期** |  | **项目完成日期** |  |
| **报告撰写人** |  | **报告复核人** |  |
| **报告授权人** |  | **报告生效日期** |  |

**检测结题报告**

**成脂模型实验**

尊敬的客户：

您好！

**成都奥创生物科技有限公司**是联合多家高校、科研院所发起，由一批基础生物学、生物医药、临床医学领域杰出的科学家带队组成。主营业务包括整体课题项目服务实验（分子、蛋白、细胞、动物、病理等），全方位生物、医学研究技术服务和科研设计咨询、生物医药企业CRO外包服务等。

**成都奥创生物**联合多位来自于了中山大学、四川农业大学、华中农业大学、四川大学、中科院等著名高校以及研究机构的专家学者担任企业顾问，其中专业覆盖肿瘤学、蛋白免疫学、分子生物学、细胞生物学、形态学等诸多领域，并与国内相关领域的专家以项目合作的方式联合开展转化医学研究，组成了一个优势交叉互补、高度专业的科研团队，负责研发课题的具体实施和推进，确保各项目的高效与质量。致力于实验科研平台互联，资源共享。借助此平台为广大科研院校，生物医药企业及个人提供分子、蛋白、细胞、病理等研究技术服务。

1. **整体项目平台**

能为广大客户提供从课题咨询，课题设计，项目实施到论文撰写，润色，发表等一站 式整体课题外包服务，强大的科研团队，全面的技术平台和完善的管理体系，让您的课题进展更加高效。

1. **核酸研究平台**

服务项目：核酸抽提，常规PCR，荧光定量PCR，微滴式数字PCR，载体构建，甲基化检测等。

1. **蛋白与免疫平台**

服务项目：Western blot，IP/COIP检测，无标记分子互作检测，ELISA，多因子蛋白悬液芯片检测，蛋白表达纯化，蛋白质谱等。

1. **细胞研究平台**

服务项目：细胞周期，细胞凋亡，细胞增殖，细胞共培养及趋化，细胞迁移及侵袭，细胞粘附检测，流式细胞检测，稳转细胞系构建，细胞单克隆形成检测，双荧光素酶检测，显微拍照检测等。

1. **病毒包装平台**

服务项目：慢病毒包装，逆转录病毒包装，腺病毒包装，腺相关病毒包装等。

1. **病理染色**

服务项目：各类切片及染色服务，电镜检测，免疫荧光，免疫组化，tunel，原位杂交染色，全景扫描，分析阅片等。

1. **动物模型平台：**

服务项目：常见疾病动物模型及肿瘤模型构建，肝功，肾功，血糖，血脂，无机离子，尿常规，凝血检测，血常规等生化检测。

**我们的服务承诺：** █ 唯一 █ 真实 █ 专业 █ 效率

欢迎科研院所、医院、生物医药企业的广大用户来我公司进行科研项目订制，我们将为您提供专业高效的一站式科研服务。

## 声明

为保证独立、客观、公正地从事检验检测工作，提高服务质量。现以奥创生物名义，向社会各界和客户作如下声明，并接受有关单位和客户的监督。

1、遵守国家的各项法律、法规、政策，严格执行有关标准，规范及细则等技术文件开展检测工作，以诚实、公正的态度确保检测工作质量，并对检测结果负责。

2、公司具有固定的工作和检验检测场所，拥有与开展的检测工作相匹配的专业技术、管理人员，拥有相关检测所需的设备设施。

3、承诺对客户的技术、资料、数据和其他商业机密严格保密，切实维护客户的权益，绝不利用客户的技术和资料从事技术开发和技术服务。

4、承诺对所有委托方一视同仁，提供相同的优质、高效服务，保证检测数据和结果的真实、客观、准确。

5、承诺出具的检验检测数据、结果独立于所涉及的利益相关方，不受任何可能干扰其技术判断因素的影响，确保检验检测数据、结果的真实、客观、准确。

以上声明，本公司全体人员必须严格遵守。

成都奥创生物科技有限公司

目录

[声明 4](#_Toc169255320)

[一、实验仪器 6](#_Toc169255321)

[二、 试剂与耗材 6](#_Toc169255322)

[三、实验步骤 7](#_Toc169255323)

[1、细胞传代/换液 7](#_Toc169255324)

[2、细胞铺板 7](#_Toc169255325)

[3、诱导分化 7](#_Toc169255326)

[4、分化维护 7](#_Toc169255327)

[5、结果处理 7](#_Toc169255328)

[6、结果展示 8](#_Toc169255329)

# 一、实验仪器

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **实验仪器** | **品牌** | **货号** |
| 二氧化碳培养箱 | LABGIC | COI-80 |
| 超净工作台 | 博科 | BBS-DDC |
| 低速离心机 | SCILOGEX | SCI406 |
| 感应式数控涡旋混匀仪 | LABGIC | L-VM-B |
| 大容量电动移液器 | SCILOGEX | SCI-Fill |
| 酶标仪 | detielab | HBS-1096A |
| 手动移液枪 | Thermo | 4640060 |

# 试剂与耗材

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **试剂名称** | **品牌** | **货号** |
| DMEM细胞培养基 | Biosharp | BL304A |
| 胎牛血清（FBS） | 四季青 | 11011-8611 |
| 胰蛋白酶（Trypsin） | Biosharp | BL526A |
| 牛胰岛素 | Biosharp | BS901-25mg |
| 油红O染色液 | Biosharp | BL941A |
| 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤（IBMX） | Biosharp | BS274-50mg |
| 地塞米松 (DEX) | MCE | 50-02-2 |
| 双抗（P/S） | Biosharp | BL505A |
| 磷酸盐缓冲液（PBS） | Biosharp | BL316A |
| 血球计数板 | Marienfeld | 650030 |
| 细胞培养瓶 | LABSELECT | 13112A |
| 0.22μm细菌过滤器 | Biosharp | BS-PES25-22-S |
| 移液器吸头 | Biosharp | BS-RT-1250 |
| 离心管 | Biosharp | BS-15-M |
| 12孔细胞培养板 | LABSELECT | 11210 |
| 3T3-L1细胞 | 普诺赛 | CL-0006 |

# 三、实验步骤

## 1、细胞传代/换液

显微镜观察3T3-L1细胞状态，当细胞状态不好时，若是新复苏的细胞，需要5天后进行换液操作，若是传代的细胞，则需要立刻进行换液处理。若细胞状态良好，但细胞数量不足80%时，需要进行换液处理。若细胞状态良好，细胞生长至80%以上时，需要进行传代处理，具体传代比例根据细胞说明书或细胞生长情况而定。

## 2、细胞铺板

取处于对数生长期的3T3-L1细胞，根据细胞特性按照细胞传代的步骤消化成单细胞悬液并计数，按照细胞合适密度12孔培养板，孔板上记录细胞种类、铺板密度、铺板时间，培养过夜。

## 3、诱导分化

根据课题方案，用新鲜的分化培养基（DMEM高糖培养基，添加10% FBS、0.5 mM IBMX、1 μM DEX和10 μg/mL 胰岛素）替换原培养基，持续培养2天。

## 4、分化维护

第2天后，更换为维护培养基（DMEM高糖培养基，添加10% FBS和10 μg/mL胰岛素）。每2-3天更换一次培养基，继续培养约8-10天。

## 5、结果处理

根据后续方案进行例如：

1、红油染色显微观察图像分析：使用图像分析软件（如ImageJ），对染色后的脂滴进行定量分析。计算染色区域的面积百分比或脂滴的数量和大小。

2、油红O染色的定量分析：使用酶标仪，计算并记录每个处理组的平均吸光度值，使用对照组的数据进行标准化，从而定量评估各处理组中脂滴积累的程度。

3、RT-qPCRPCR分析脂肪细胞分化标志基因（如PPARγ、C/EBPα、Adiponectin）的表达水平。、WB分析蛋白水平的改变。

## 6、**结果展示**