

**共培养实验报告**

**检测结题报告**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **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** |  |



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

一、实验仪器 6

二、 试剂与耗材 6

三、实验步骤 7

1、细胞悬液制备 7

2、建立共培养体系 7

3、 细胞加药 8

4、 结果处理 8

四、结果展示 9

# 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 |
| 手动移液枪 | Thermo | 4640060 |

# 试剂与耗材

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **试剂名称** | **品牌** | **货号** |
| 细胞培养基 | Biosharp | BL304A |
| 胎牛血清（FBS） | 四季青 | 11011-8611 |
| 胰蛋白酶（Trypsin） | Biosharp | BL526A |
| 双抗（P/S） | Biosharp | BL505A |
| 磷酸盐缓冲液（PBS） | Biosharp | BL316A |
| 血球计数板 | Marienfeld | 650030 |
| 台盼蓝染色液(0.4%) | Biosharp | BL627A |
| 细胞培养瓶 | LABSELECT | 13112A |
| 基质胶 | BD | 356234 |
| 12孔培养板 | LABSELECT | 11210 |
| 细胞爬片（用于12孔板） | 甄选(LABSELECT) | 18125 |
| 细胞培养小室（PC膜，12mm，0.4μm） | LABSELECT | 14211-D |
| 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 |

# 三、实验步骤

## 1、细胞悬液制备

细胞处理前需将超净工作台紫外消毒30min，选择处于对数生长期且细胞融合率约80%的细胞，在超净工作台中吸弃培养基，加入1mL PBS清洗细胞碎片与残留培养基，吸弃PBS，加入1mL 0.25%的胰酶消化液，37℃消化1min后加入3倍体积细胞完全培养基终止消化，收集消化后的细胞，1200 rpm离心1min，吸弃上清液，加入适量细胞对应的培养基重悬并吸打混匀，吸取10 μL细胞悬液于血细胞计数板计数。

## 2、建立共培养体系

细胞悬液配置：分别将加药后的细胞消化，离心去上清后，调整细胞密度为2.5\*105个/mL。

1、直接接触共培养

将2种或2种以上细胞按照一定比例共同培养在同一[培养皿](https://www.zhihu.com/search?q=%E5%9F%B9%E5%85%BB%E7%9A%BF&search_source=Entity&hybrid_search_source=Entity&hybrid_search_extra={"sourceType":"answer","sourceId":2142154646}" \t "https://www.zhihu.com/question/_blank)中。

适用于体内邻近的组织细胞以及2种生长状态相同的细胞，主要用于研究细胞间相互作用以及诱导[细胞分化](https://www.zhihu.com/search?q=%E7%BB%86%E8%83%9E%E5%88%86%E5%8C%96&search_source=Entity&hybrid_search_source=Entity&hybrid_search_extra={"sourceType":"answer","sourceId":2142154646}" \t "https://www.zhihu.com/question/_blank)

2、间接接触共培养

①[条件培养基](https://www.zhihu.com/search?q=%E6%9D%A1%E4%BB%B6%E5%9F%B9%E5%85%BB%E5%9F%BA&search_source=Entity&hybrid_search_source=Entity&hybrid_search_extra={"sourceType":"answer","sourceId":2142154646}" \t "_blank)共培养法：用培养过一种细胞的培养基培养另一种细胞，2种细胞不直接接触，而[细胞因子](https://www.zhihu.com/search?q=%E7%BB%86%E8%83%9E%E5%9B%A0%E5%AD%90&search_source=Entity&hybrid_search_source=Entity&hybrid_search_extra={"sourceType":"answer","sourceId":2142154646}" \t "_blank)可以交流，其优点是可以消除[目的细胞](https://www.zhihu.com/search?q=%E7%9B%AE%E7%9A%84%E7%BB%86%E8%83%9E&search_source=Entity&hybrid_search_source=Entity&hybrid_search_extra={"sourceType":"answer","sourceId":2142154646}" \t "_blank)对条件细胞的影响，突出条件细胞对目的细胞的作用。

②“爬片式”共培养法：将一种细胞先接种在处理后的玻片上，待细胞贴壁后，以一定比例放入另一种细胞的培养皿中与其共培养。

3、[嵌入式细胞共培养法](https://www.zhihu.com/search?q=%E5%B5%8C%E5%85%A5%E5%BC%8F%E7%BB%86%E8%83%9E%E5%85%B1%E5%9F%B9%E5%85%BB%E6%B3%95&search_source=Entity&hybrid_search_source=Entity&hybrid_search_extra={"sourceType":"answer","sourceId":2142154646}" \t "_blank)（Transwell小室）：

Transwell小室是一类有通透性的杯状装置, 杯子底层放一张有通透性的膜,一般常用的是[聚碳酸酯膜](https://www.zhihu.com/search?q=%E8%81%9A%E7%A2%B3%E9%85%B8%E9%85%AF%E8%86%9C&search_source=Entity&hybrid_search_source=Entity&hybrid_search_extra={"sourceType":"answer","sourceId":2142154646}" \t "_blank),孔径大小有0 .1～12 .0 μm。取与小室配套的孔板，将Transwell小室放入培养板中，向下室加入含B细胞的1 mL完全培养基，然后用镊子将小室置于孔板内，小室内分别加入500µL的A细胞悬液，放入培养箱继续培养规定时间。

## 细胞加药

## 结果处理

1、细胞活性和生存：

通过CCK8评估细胞的代谢活性，通常用来检测细胞的存活率和增殖能力。通过比较处理组与对照组，可以了解细胞间的相互作用对细胞生长的影响。

2、细胞迁移和侵袭

划痕实验（Scratch assay）：通过在细胞层上制造一个“划痕”，观察细胞填补划痕的能力，从而评估细胞的迁移能力。

Transwell迁移/侵袭实验：通过孔隙的膜分隔两种细胞，评估细胞通过膜的迁移或侵袭能力。

3、细胞表型和功能

 流式细胞术：分析细胞表面标记和内部标记，识别和量化不同细胞类型的比例，及其活化状态。

免疫荧光染色：使用特定的抗体标记细胞，观察细胞的位置、形态变化和蛋白表达。

4、分子水平的改变

实时PCR：分析基因表达的变化，了解细胞在共培养条件下的分子响应。

WB：用于检测特定蛋白质的表达和活性

5、细胞分泌物的分析

ELISA：定量分析细胞培养上清中的细胞因子和其他分泌蛋白，了解细胞间通过分泌物进行的通信。

6、三维结构分析（特别适用于基质胶共培养）

显微镜观察：评估细胞在三维培养中形成的结构，如球体、网络等，这有助于了解细胞在类似体内环境中的行为。

7、分析和解释数据

统计分析：对获得的数据进行适当的统计分析，比如t检验、ANOVA等，来确定结果的显著性。

图像和数据可视化：使用合适的软件（如ImageJ, GraphPad Prism）对图像数据和量化结果进行处理和可视化，以便更清楚地展示实验结果。

# 四、结果展示