

**检测结题报告**

**成骨模型实验  
实验报告**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **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](#_Toc23953)

[一、实验仪器 6](#_Toc32372)

[二、 试剂与耗材 6](#_Toc22139)

[三、实验步骤 7](#_Toc10115)

[1、细胞传代 7](#_Toc19841)

[2、细胞铺板 7](#_Toc25335)

[3、 诱导分化 7](#_Toc21553)

[4、 碱性磷酸酶检测及茜素红染色 7](#_Toc21471)

[四、结果展示 8](#_Toc25138)

# 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 |
| 成骨细胞矿化结节染色试剂盒 | 碧云天 | C0148S |
| 碱性磷酸酶检测试剂盒 | 碧云天 | P0321S |
| 干细胞成骨诱导分化培养基 | 普诺赛 | 视具体细胞而定 |
| 双抗（P/S） | Biosharp | BL505A |
| 磷酸盐缓冲液（PBS） | Biosharp | BL316A |
| 血球计数板 | Marienfeld | 650030 |
| T25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 |

# 三、实验步骤

## 1、细胞传代

取对数生长期并且细胞汇合度约80%的细胞，在超净工作台中，吸弃上清液，PBS洗涤2次，加入胰蛋白酶消化，待细胞边缘回缩，整体大面积脱落时加入培养基终止，收集上清液，300 g离心5 min。离心后加入培养基重悬，按1:1比例传代培养。

## 2、细胞铺板

取对数生长期并且细胞汇合度约80%的细胞，在超净工作台中，吸弃上清液，PBS洗涤2次，加入胰蛋白酶消化，待细胞边缘回缩，整体大面积脱落时加入培养基终止，收集上清液，300 g离心5 min。离心后加入培养基重悬，调整细胞浓度为1\*10^5个/mL，1 mL/孔接种于12孔板中，5%CO2，37℃培养至细胞贴壁。

## 诱导分化

待细胞汇合度约80%，吸弃上清液，每孔加入1mL成骨诱导分化培养基，37℃，5%CO2连续培养21d至钙化结节形成，中途每2d更换1次成骨诱导分化。

## 碱性磷酸酶检测及茜素红染色

1）碱性磷酸酶检测（PCR/试剂盒染色）

在分化7d、14d，收集细胞样本，用于PCR检测碱性磷酸酶表达情况。

2）碱性磷酸酶试剂盒染色

在分化7d、14d，使用碱性磷酸酶染色试剂盒染色后显微镜下拍照观察碱性磷酸酶表达情况。

1. 茜素红染色：

吸弃孔板内的成骨诱导分化完全培养基，用1×PBS清洗1-2遍。加入4%多聚甲醛溶液(覆盖细胞表面即可)，固定细胞30min。.吸弃4%多聚甲醛溶液，用1×PBS清洗1-2遍。每孔加入500μL茜素红染色液，室温染色30min。吸弃茜素红染色液，用1×PBS冲洗1-2次，把背景杂质洗干净，即可在显微镜下观察诱导和 染色效果。

# 四、结果展示