

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

**药物诱导实验**

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](#_Toc169253558)

[一、实验仪器 6](#_Toc169253559)

[二、 试剂与耗材 6](#_Toc169253560)

[三、实验步骤 7](#_Toc169253561)

[1、细胞传代/换液 7](#_Toc169253562)

[2、细胞铺板 7](#_Toc169253563)

[3、药物刺激 7](#_Toc169253564)

[4、结果处理 7](#_Toc169253565)

[5、结果展示 8](#_Toc169253566)

# 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高糖液体培养基 | Biosharp | BL304A |
| CCK-8试剂盒 | Biosharp | BL1055A |
| 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 |
| 12孔培养板 | LABSELECT | 11210 |
| 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、细胞传代/换液

显微镜观察细胞状态，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5-10\*105个细胞/孔接种于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、药物刺激

根据课题方案，按比例配制含不同浓度药物的培养基，将铺板过夜的细胞孔板内培养基换成对应的不同浓度的药物培养基，孔板上标记每孔的药物浓度，按照课题设计培养一定时候之后，再进行后续操作

## 4、结果处理

根据后续方案进行，例如需检测药物对细胞增殖效果可检测CCK8，或者药物对细胞分化效果可做ELSA、PCR等分子实验

（1）细胞存活率和细胞毒性测试

•CCK-8测试：这些方法基于细胞的代谢活性，通过测量形成的甲酚胺的量来评估细胞存活率。

•ELASA：LDH释放测试，测量细胞培养上清中乳酸脱氢酶（LDH）的含量，评估因细胞膜损伤而导致的细胞死亡。越高说明细胞膜损伤和高细胞损伤性死亡。

（2）凋亡和细胞死亡检测

•AnnexinV/PI双染色：使用流式细胞仪进行分析，可以区分早期凋亡和晚期凋亡或坏死的细胞。

•Caspase活性测定：特别是caspase-3和caspase-9，用来评估凋亡途径的激活。

（3）信号通路分析

•WesternBlot：用于检测药物处理后细胞内关键蛋白的表达和磷酸化状态，如PI3K/AKT,MAPK/ERK,JNK,p53等信号通路。

•免疫荧光染色：观察蛋白的定位和表达水平变化，通过荧光显微镜进行定量和定性分析。

（4）基因表达分析

•实时定量PCR(qPCR)：测定特定基因mRNA的表达水平，评估药物对基因转录的影响。

•RNA测序：提供全面的基因表达分析，用于深入研究药物的全局影响。

（5）细胞周期分析

•流式细胞术：通过测定DNA含量来分析细胞周期分布，评估药物对细胞周期进程的影响。

（6）迁移与侵袭能力测试

•划痕实验（WoundHealingAssay）：评估细胞迁移能力的变化。

•Transwell迁移/侵袭实验：通过孔隙膜测定细胞的迁移和侵袭能力，特别是在Matrigel涂层的情况下评估侵袭性。

## 5、结果展示