

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

**细胞侵袭实验**

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](#_Toc169253661)

[一、实验仪器 6](#_Toc169253662)

[二、 试剂与耗材 6](#_Toc169253663)

[三、实验步骤 7](#_Toc169253664)

[1、细胞铺板 7](#_Toc169253665)

[2、细胞加药 7](#_Toc169253666)

[3、基质胶铺板 7](#_Toc169253667)

[4、建立transwell体系 7](#_Toc169253668)

[5、结果处理 8](#_Toc169253669)

[6、结果展示 8](#_Toc169253670)

# 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** |
| DMEM高糖液体培养基 | 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 |
| 12孔培养板 | LABSELECT | 11210 |
| 细胞培养小室  （PC膜,12mm,8.0μm） | LABSELECT | 14241-D |
| 结晶紫 | Biosharp | BS941 |
| 基质胶 | BD | 356234 |
| 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 |
| 4％多聚甲醛 | Biosharp | BL539A |

# 三、实验步骤

## 1、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。

## 2、细胞加药

根据课题方案，按比例配制含药培养基，将铺板过夜的细胞孔板内培养基换成对应的含药培养基，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进行后续操作

## 3、基质胶铺板

4℃隔夜解冻基质胶，将无血清培养基、枪头、离心管与放有Transwell小室的孔板放入冰盒预冷。若基质胶需稀释，则将基质胶与无血清培养基以比例稀释。

吸取100μL稀释后的基质胶，垂直加入Transwewll上室中，均匀平铺在底部，放入培养箱（37℃，5%CO2)中孵育1h，使基质胶聚合。孵育后将上室中多余液体吸掉，在每孔中加入100µL无血清培养基后，于培养箱放置30min，进行基底膜水化。将上室中液体吸掉，检查是否有液体穿过小室进入到下室中，若没有，则可以接种细胞

## 4、建立transwell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，用无血清培养基重悬细胞，至其密度为2.5\*105个细胞/mL。

接种细胞：取与小室配套的孔板，向下室加入1mL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加药后以无血清培养基重悬的细胞悬液，放入培养箱继续培养规定时间。

## 5、结果处理

取出Transwell小室，吸走上下室的培养基，轻轻用清水冲洗浸泡数次，取出小室，吸去上室液体，用湿棉棒小心擦去上室底部膜表面上的细胞。向孔板加入4％多聚甲醛1mL，室温固定30min。弃去掉固定液，向孔板加入1mL的PBS，放入小室涮洗1遍。稍微风干小室表面后，向孔板加入0.1%的结晶紫工作液染色10-30min，将小室放入PBS中刷洗3次，每次5分钟，清洗结束后室温风干，放置于干净的孔板中。用小镊子小心揭下膜，底面朝上，适当风干后，移至载玻片上用中性树胶封片。在高倍显微镜下进行观察和拍照，随机选取5个视野(上、下、中央、左、右各1个)计数呈紫色的阳性细胞，统计结果。计数细胞时，Transwell膜中心的视野和膜边缘的视野都需要选择，以便准确体现穿过整个膜的细胞数。

## 6、结果展示