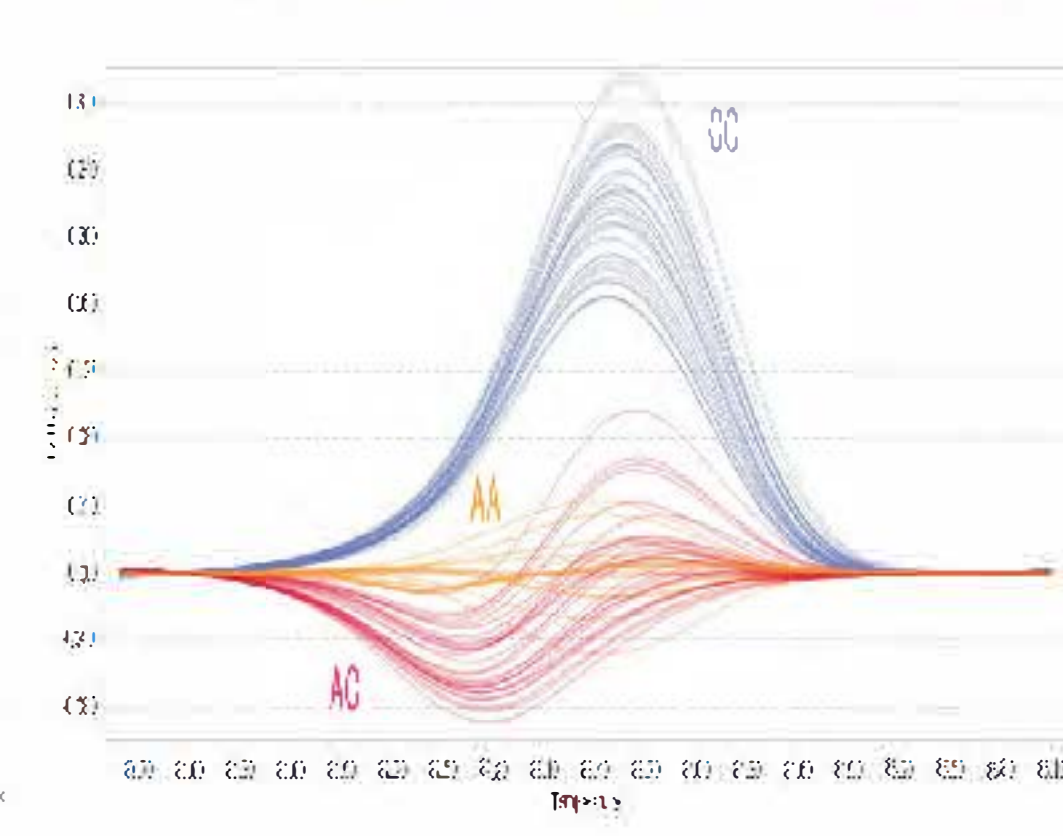
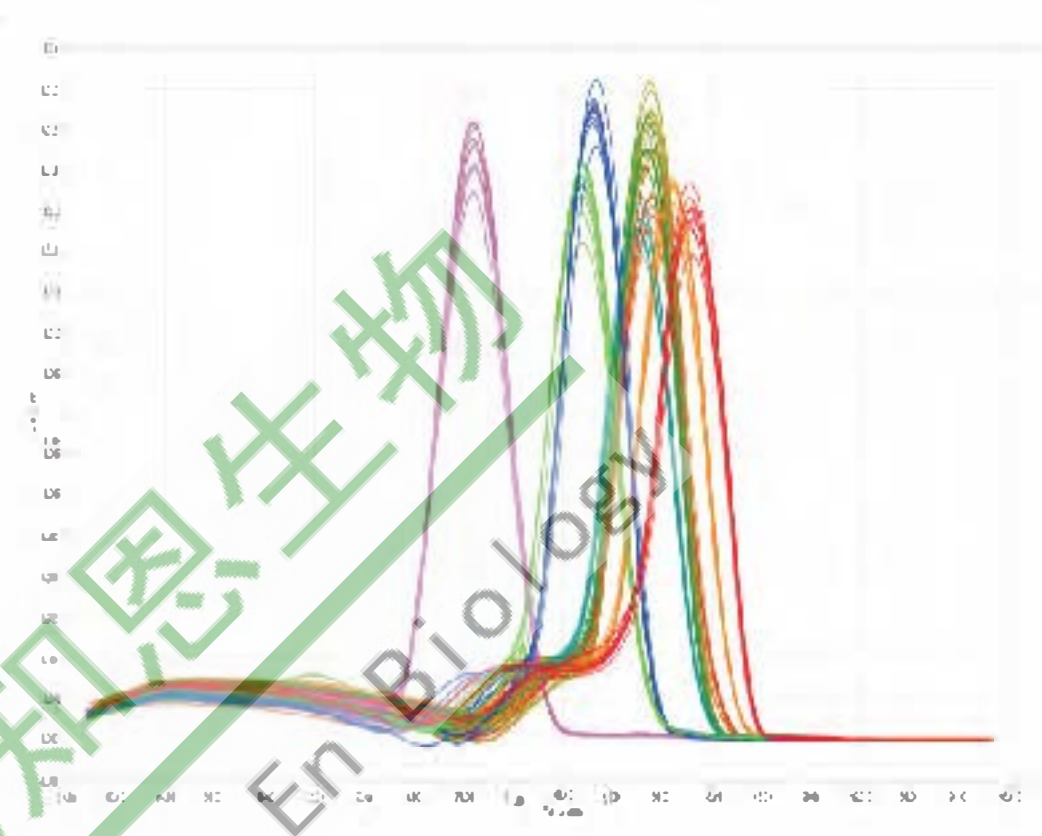
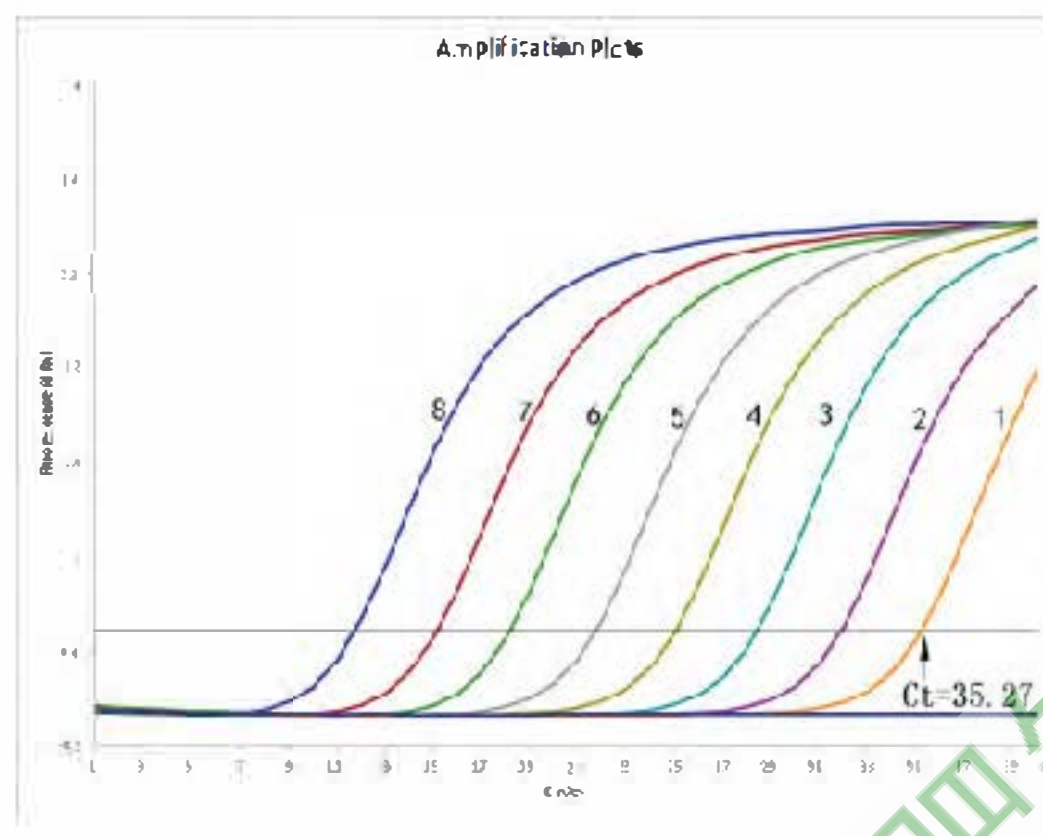
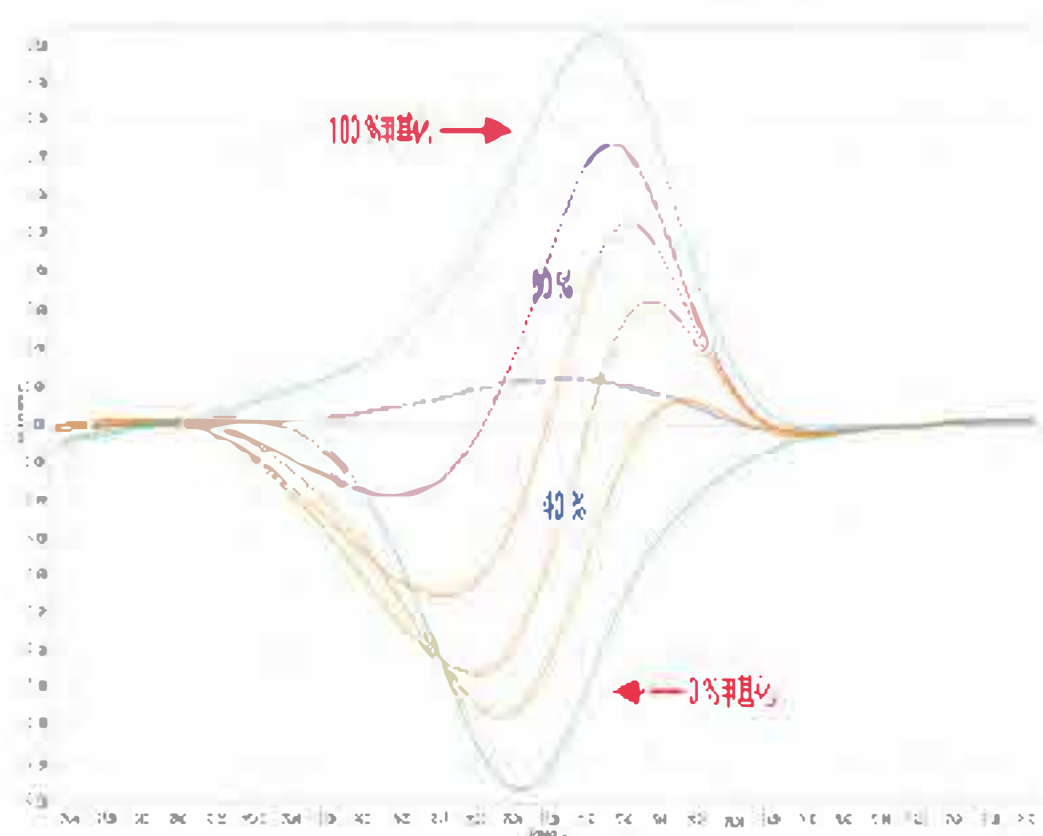
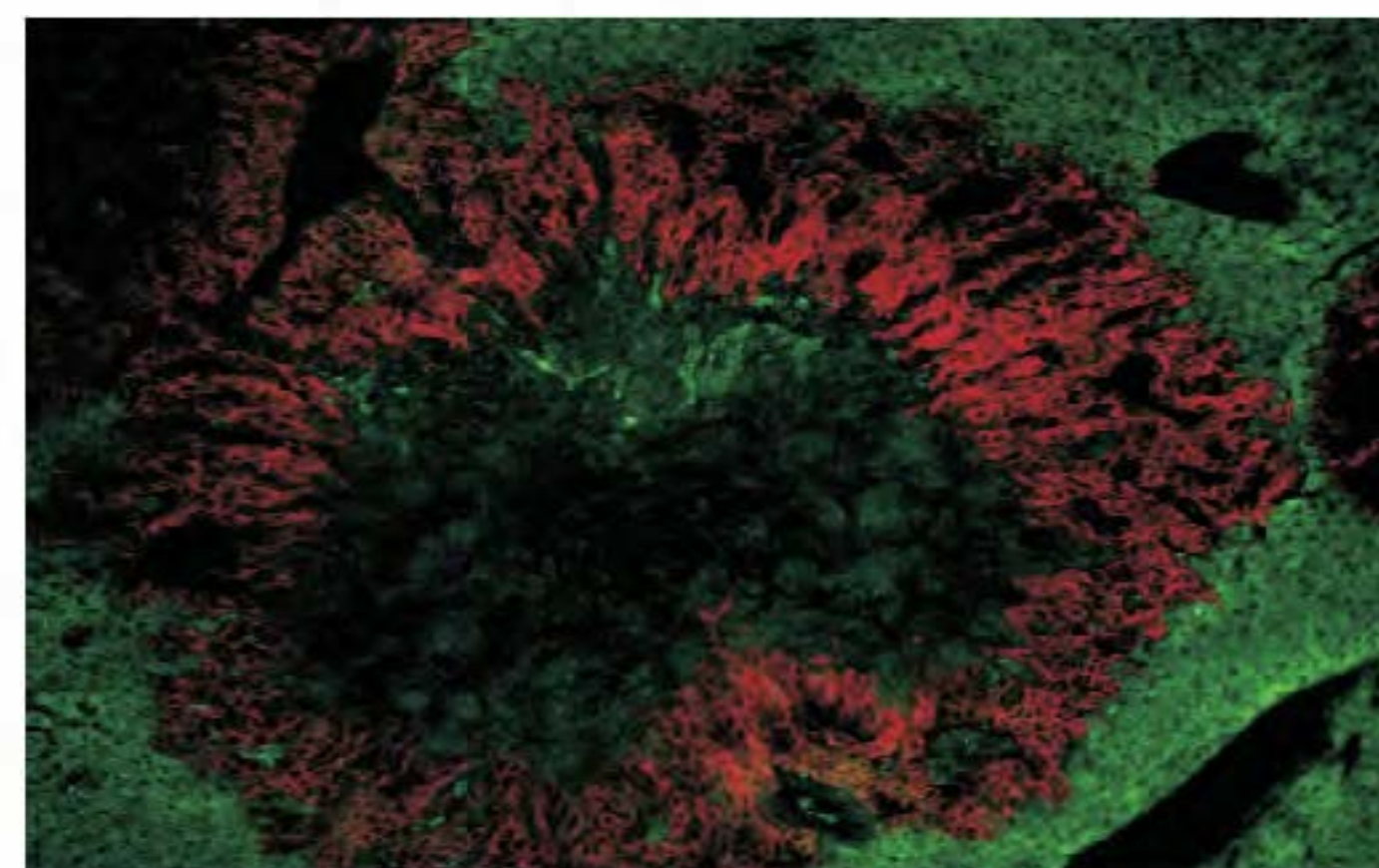
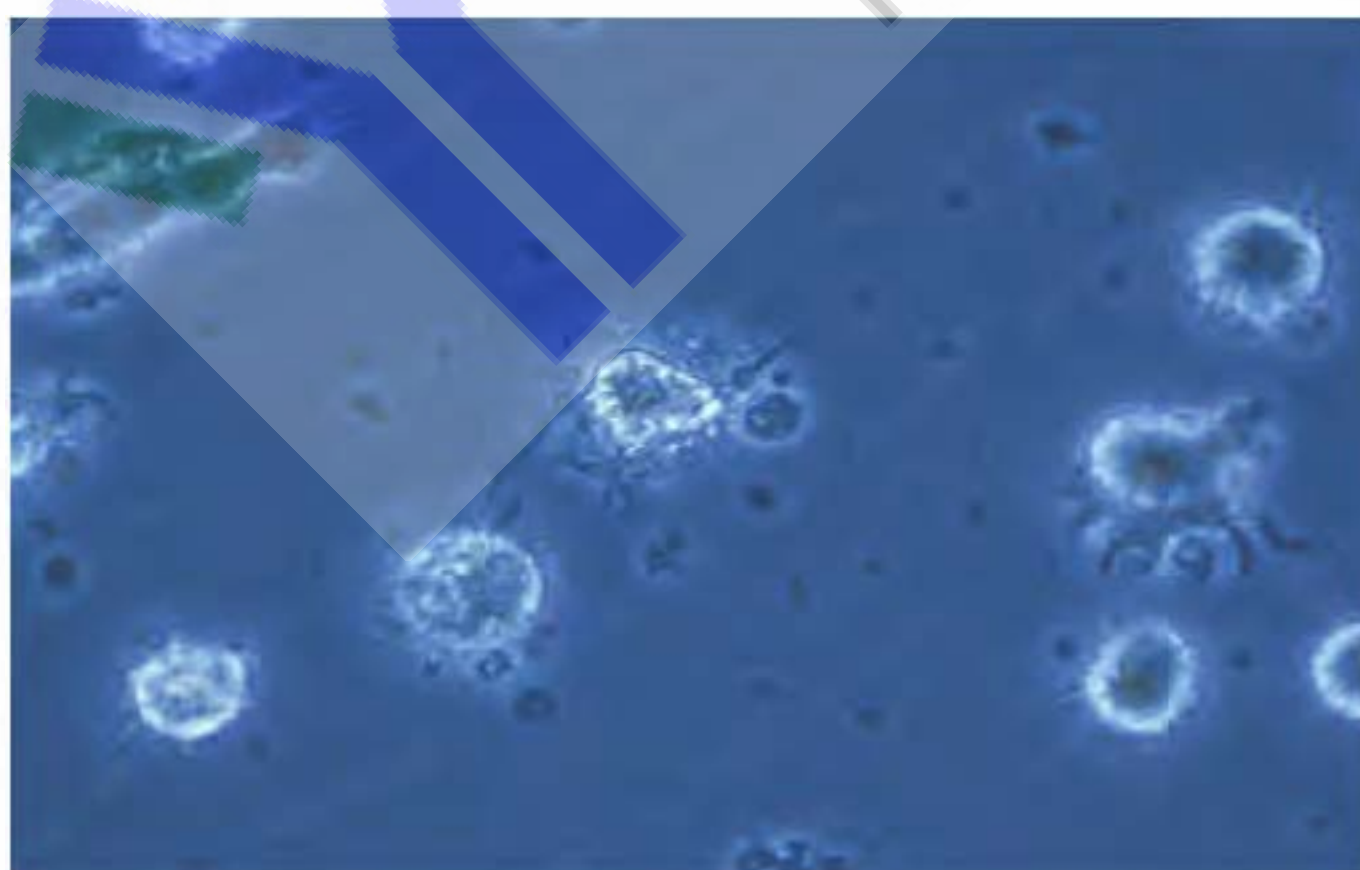
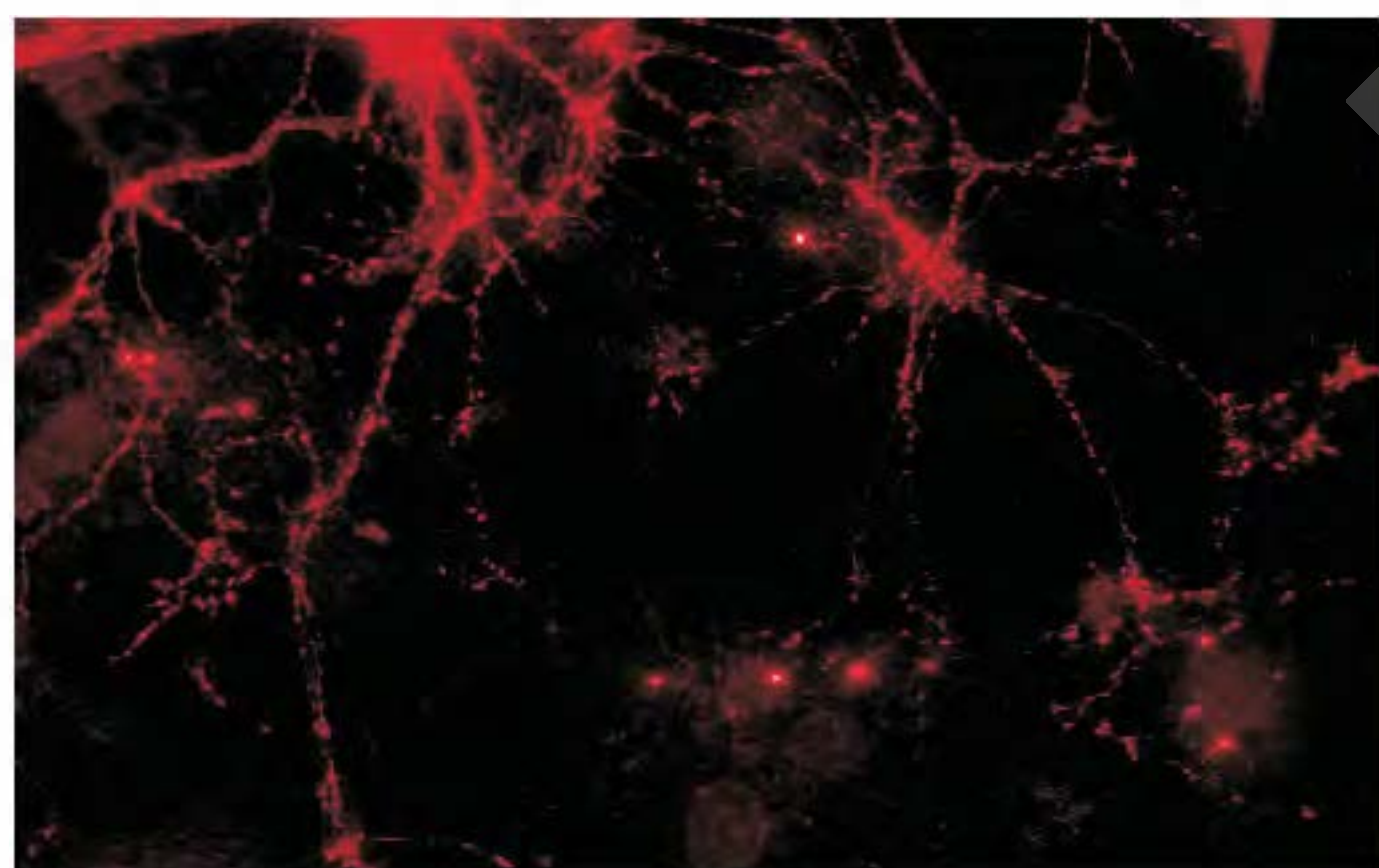


知恩生物科研服务手册



知恩生物科技 about

Biotechnology

合肥知恩生物技术有限公司放眼于全球生物医药前沿技术转化应用开发，立足于国内生物医药研发合作及项目孵化，专注于生物医药技术转化、体外诊断产品及创新生物药物开发。2018年，被评为国家高新技术企业。

关于团队：

合肥知恩生物技术有限公司研发团队由中国科学技术大学博士生导师领衔，一批拥有十多年生物医药研发背景及产品开发经验的博士、硕士组成。

关于梦想：

以创新思维，创造理念，完成创业梦想。以知识改变未来，感恩回馈社会，为人类生命健康事业而奋斗。

科研实验服务：

公司现座落于安徽省合肥市高新区合肥国家大学科技园区，拥有近500平方实验室，下设有分子生物学实验室、细胞实验室等，已建立体外诊断试剂开发、细胞工程、蛋白质工程、抗体工程、病毒技术等技术平台。基于强大的研究技术团队，我们可以为客户提供一站式科研服务，包括项目咨询，课题设计、实验开展、数据分析及后续服务等，以最快的速度、最优异的结果呈现给广大客户。



特别推荐

产品简介

信号通路 (Signal Pathway)：是指能将细胞外的分子信号经细胞膜传入细胞内发挥效应的一系列酶促反应通路。这些细胞外的分子信号（称为配体，ligand）包括激素、生长因子、细胞因子、神经递质以及其它小分子化合物等

从细胞受体接收外界信号到最后做出综合性应答，不仅是一个信号转导过程，更重要的是将外界信号进行逐步放大的级联反应过程。通过信号通路的调节产生一系列综合性的细胞应答，包括下游基因表达的调节、细胞内酶活性的变化、细胞骨架构型和DNA合成的改变等

信号通路广泛应用于疾病发生发展，药物治疗机制研究，肿瘤早期筛查、治疗及预后评估等方面。在现代生物医药发展过程中，信号通路在细胞凋亡、代谢、自噬、免疫与炎症及表观遗传学中发挥着重要的研究指导方向

产品用途

本试剂盒主要用于各类细胞信号通路相关研究，产品囊括人、大鼠、小鼠、猪、鸡、兔子等主要信号通路研究中涉及到的全部相关基因。另外，本产品还可以根据客户研究需求定制个性化的检测试剂盒

产品优势

- || 极佳的检测特异性
- || 极佳的检测扩增效率
- || 检测范围广
- || 同时适应高、低拷贝基因检测
- || 能适应各种不同信号通路的检测分析

交货期

款到后7-15个工作日



目录 Catalog

第一部分：细胞部分

1.哺乳动物细胞培养	01
2.细胞转染	02
3.细胞增殖和细胞毒性检测	03
4.细胞周期检测	04
5.细胞凋亡检测/细胞流式检测	05
6.细胞划痕实验	06
7.细胞Transwell	07
8.细胞免疫荧光实验	08
9.原代细胞分离培养	09
10.淋巴细胞分离培养与DC诱导实验	10
11.稳定细胞株建立	11

第二部分：分子部分

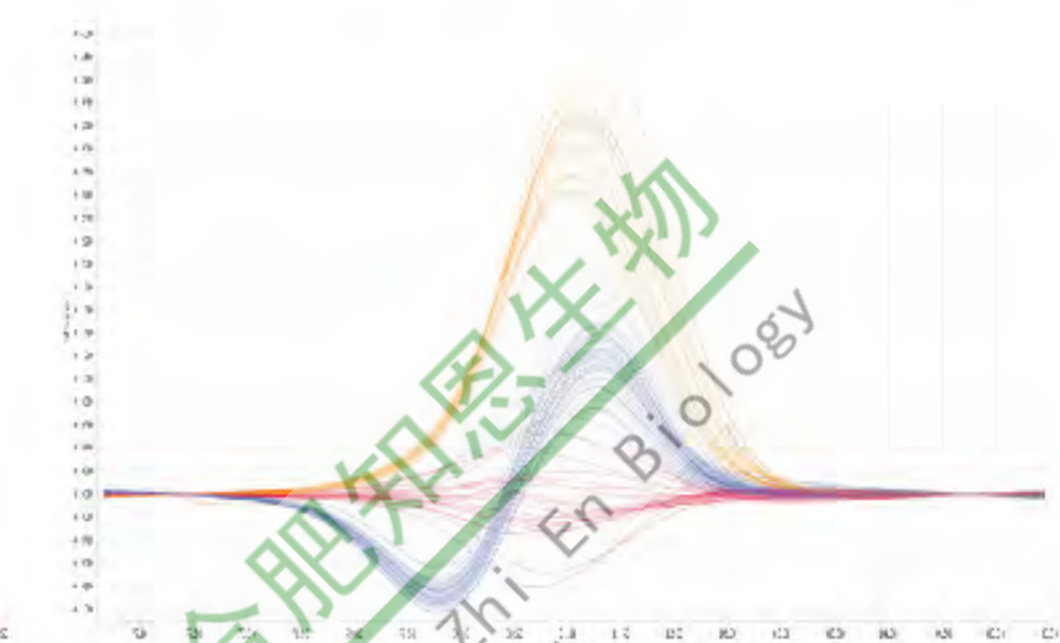
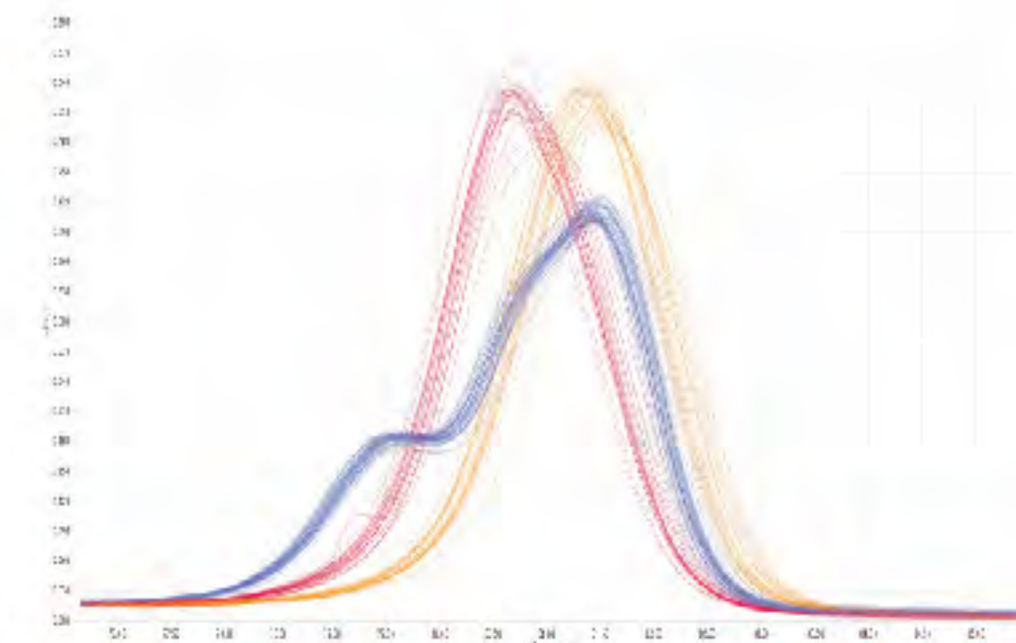
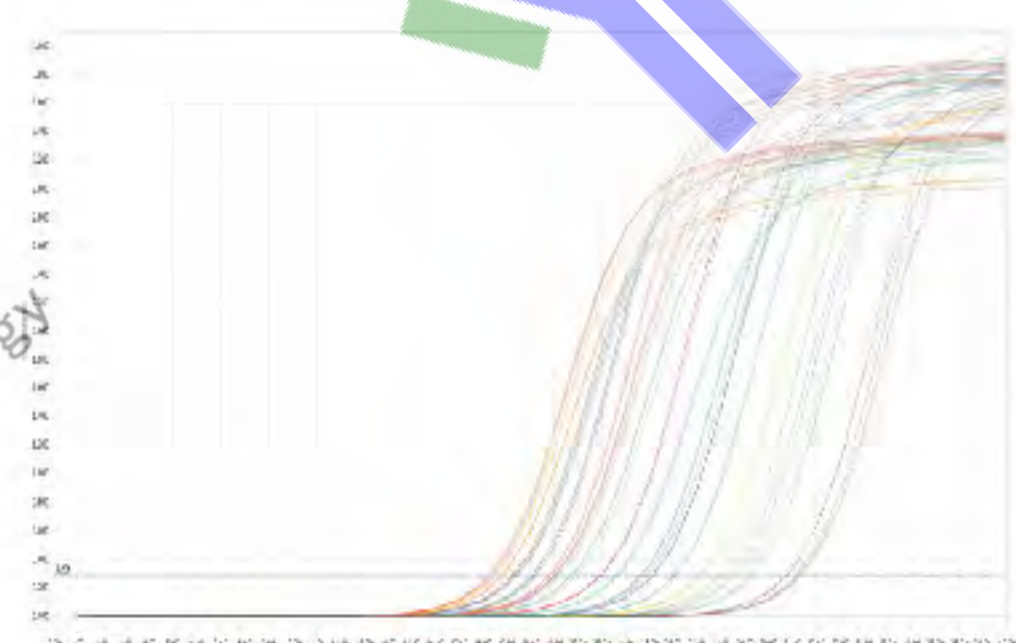
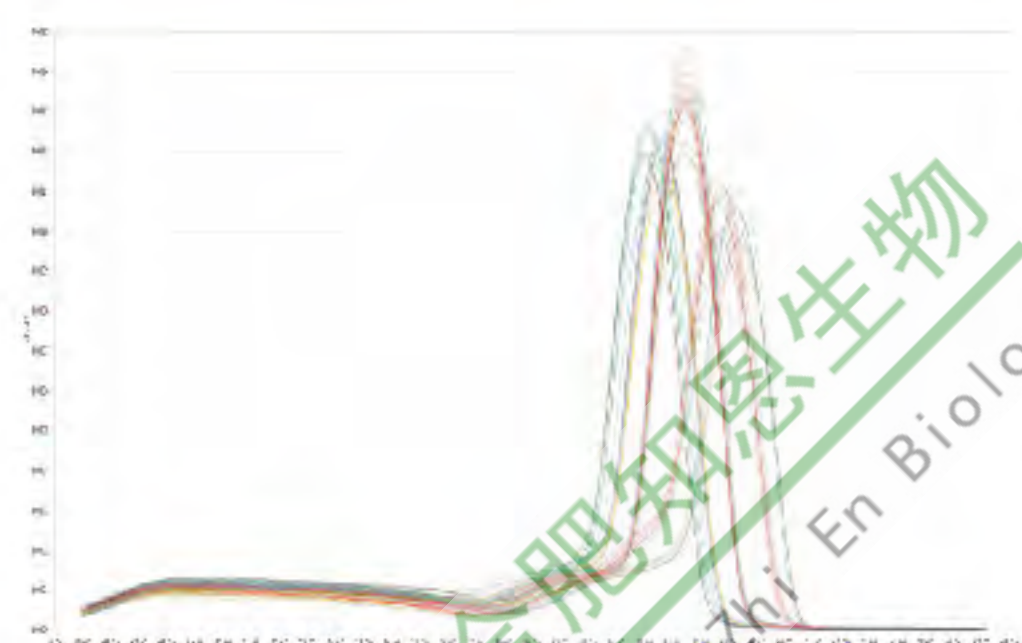
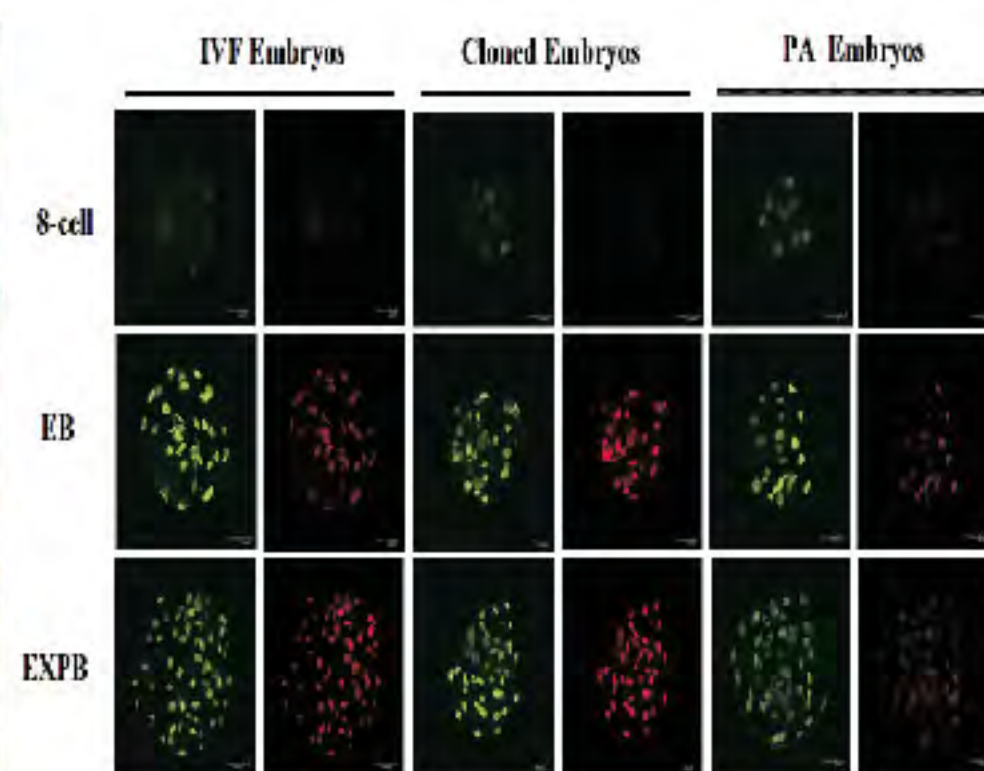
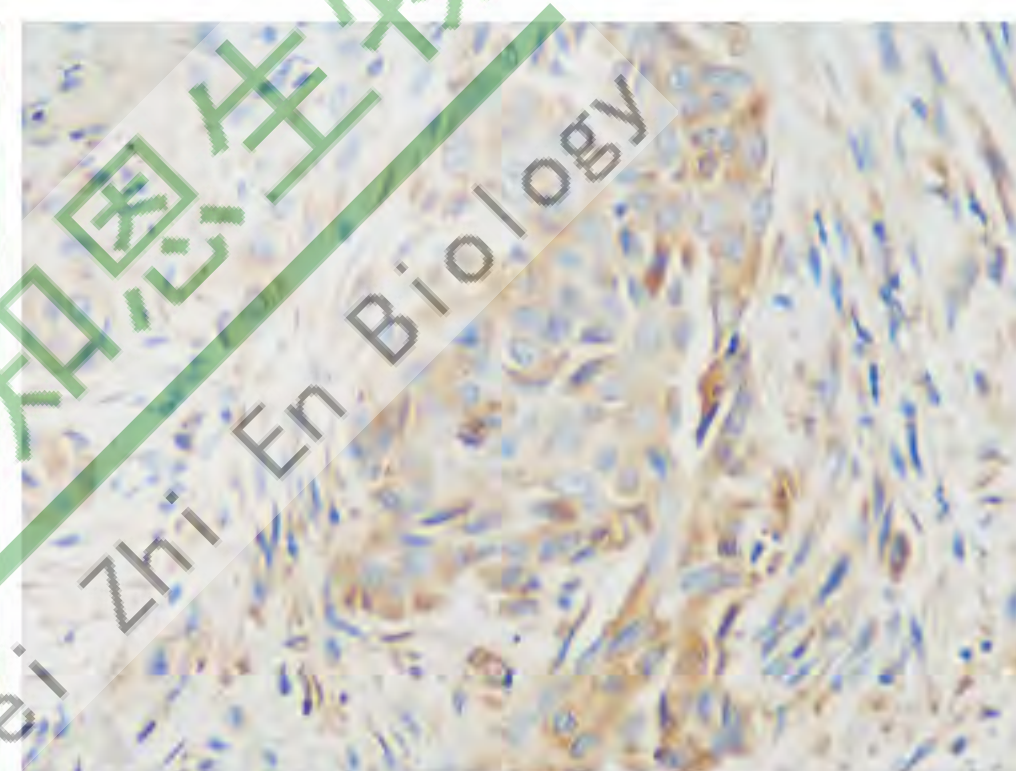
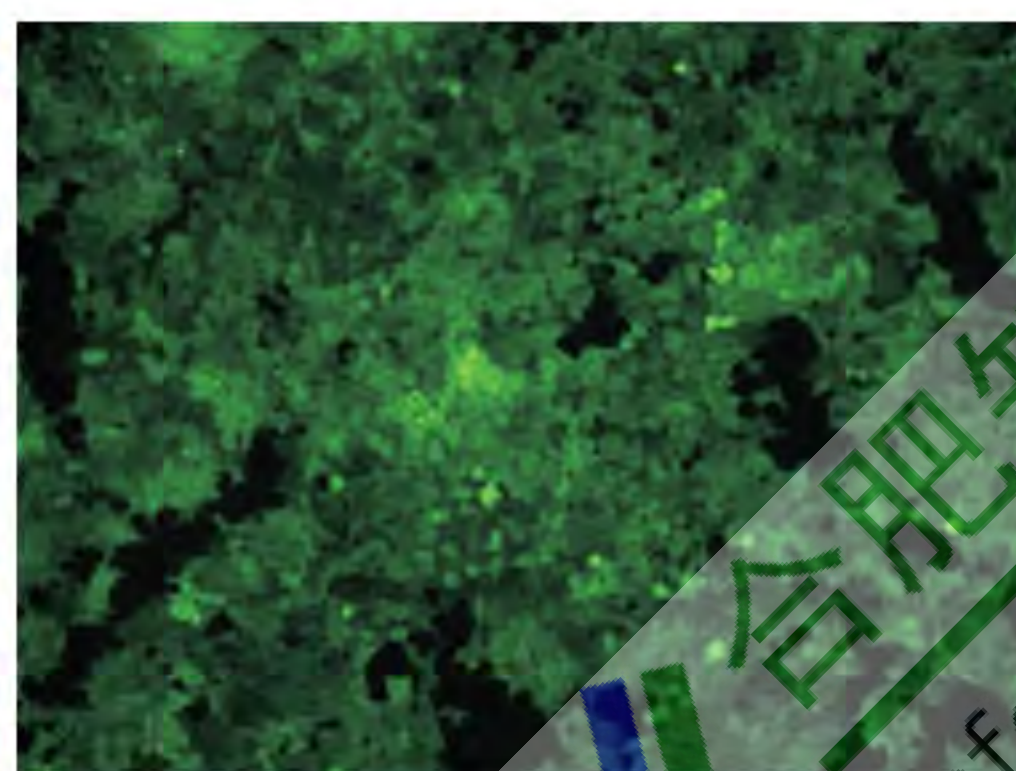
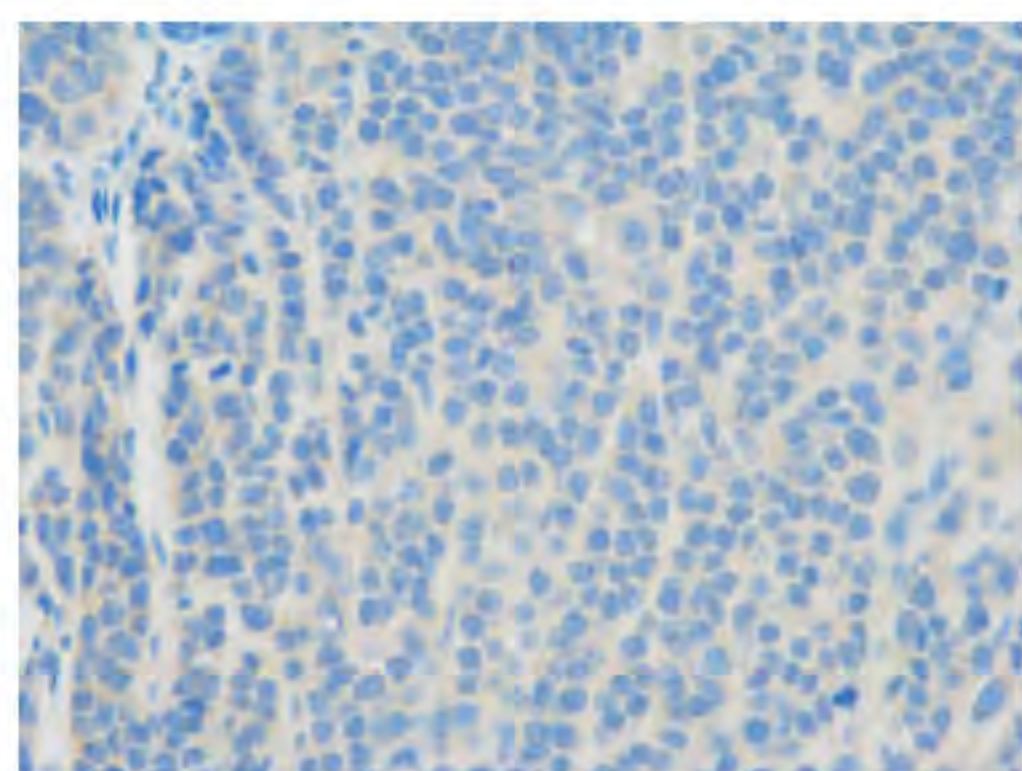
1.核酸提取	12
2.基因克隆及转基因鉴定	13
3.荧光定量PCR	14
4.荧光定量PCR-案例展示	15
5.单核苷酸多态性 (SNP分裂) 检测	17
6.单核苷酸多态性 (SNP分裂) 检测-案例展示	18
7.基因甲基化 (Methylation) 位点检测	19
8.数字PCR服务 (ddPCR)	20
9.EMSA凝胶阻滞迁移电泳检测	21
10.酶联免疫吸附实验 (Elisa)	22
11.Western Blot	23
12.免疫共沉淀 (Co-IP)	24
13.原核表达	25
14.真核表达	26

第三部分：病理部分

1.病理切片与染色	27
2.免疫组化.....	28
3.免疫荧光.....	29
4.Tunel法检测细胞凋亡	30
5.激光共聚焦拍照.....	31
6.电镜拍照.....	32

第四部分：特色服务

1.多克隆抗体制备.....	33
2.单克隆抗体的制备.....	34
3.抗体配对、ELISA试剂盒/胶体金试剂盒开发服务.....	35



1.哺乳动物细胞培养

服务简介

为客户培养状态良好的细胞用于后续实验。负责将客户所提供的细胞进行扩大培养或冻存保种，实验完成后客户可以要求回寄细胞。服务完成后，知恩生物免费为客户保存细胞3个月

服务流程

- || 客户提供相应细胞株
- || 进行大量培养或连续传代培养
- || 提供足量细胞或冻存管细胞

客户提供

- || 提供T25细胞瓶细胞或冻存管细胞
- || 细胞株状态良好 ($\geq 3 \times 10^6$ 个细胞，可传代)，倍增时间小于48小时
- || 提供细胞培养条件的详细说明
- || 如需特殊培养基或添加物，由客户提供
- || 如培养的为稳定细胞株，需要提供目的基因及筛选药物相关信息

知恩提供

状态良好、数量合适的细胞，细胞培养图片及实验报告

质量保证

细胞状态良好，可以用于后续实验

交货期

协商

2. 细胞转染

服务简介

常规转染技术可分为两大类，一类是瞬时转染，一类是稳定转染

瞬时转染：外源DNA/RNA不整合到宿主染色体中，因此一个宿主细胞中可存在多个拷贝数，产生高水平的表达，但通常只持续几天，多用于启动子和其它调控元件的分析

稳定转染：外源DNA既可以整合到宿主染色体中，也可能作为一种游离体（episome）存在

服务流程

瞬时转染

- || 客户提供相应细胞株与质粒
- || 细胞培养与质粒转染
- || 免疫荧光或Western Blot检测目的蛋白
- || 撰写实验报告

稳定转染

- || 质粒转染细胞
- || G418等抗生素加压筛选
- || 免疫荧光或Western Blot检测目的蛋白
- || 细胞扩培冻存与撰写实验报告

客户提供

- || 提供状态良好的细胞和质粒
- || 提供检测目的蛋白抗体

知恩提供

完整实验报告及稳定表达细胞株（一支冻存管或T25细胞瓶）

质量保证

目的基因正确表达

交货期

协商

3. 细胞增殖和细胞毒性检测 (CCK8)

服务简介

Cell Counting Kit-8 (简称CCK-8) 试剂可用于简便而准确的细胞增殖和毒性分析

基本原理: 该试剂中含有WST-8, 它在电子载体1-甲氧基-5-甲基吩嗪鎓硫酸二甲酯 (1-Methoxy PMS) 的作用下被细胞中的脱氢酶还原为具有高度水溶性的黄色甲瓚产物 (Formazan dye)。生成的甲瓚物的数量与活细胞的数量成正比。因此可以利用这一特性直接进行细胞增殖和毒性分析

用途: 药物筛选、细胞增殖测定、细胞毒性测定、肿瘤药敏试验

服务流程

- 细胞培养与接种96孔板
- 进行给药等处理
- 根据客户要求CCK8检测实验
- 数据统计分析与撰写实验报告

质量保证

重复性好、分析准确、报告详细

交货期

3-7工作日

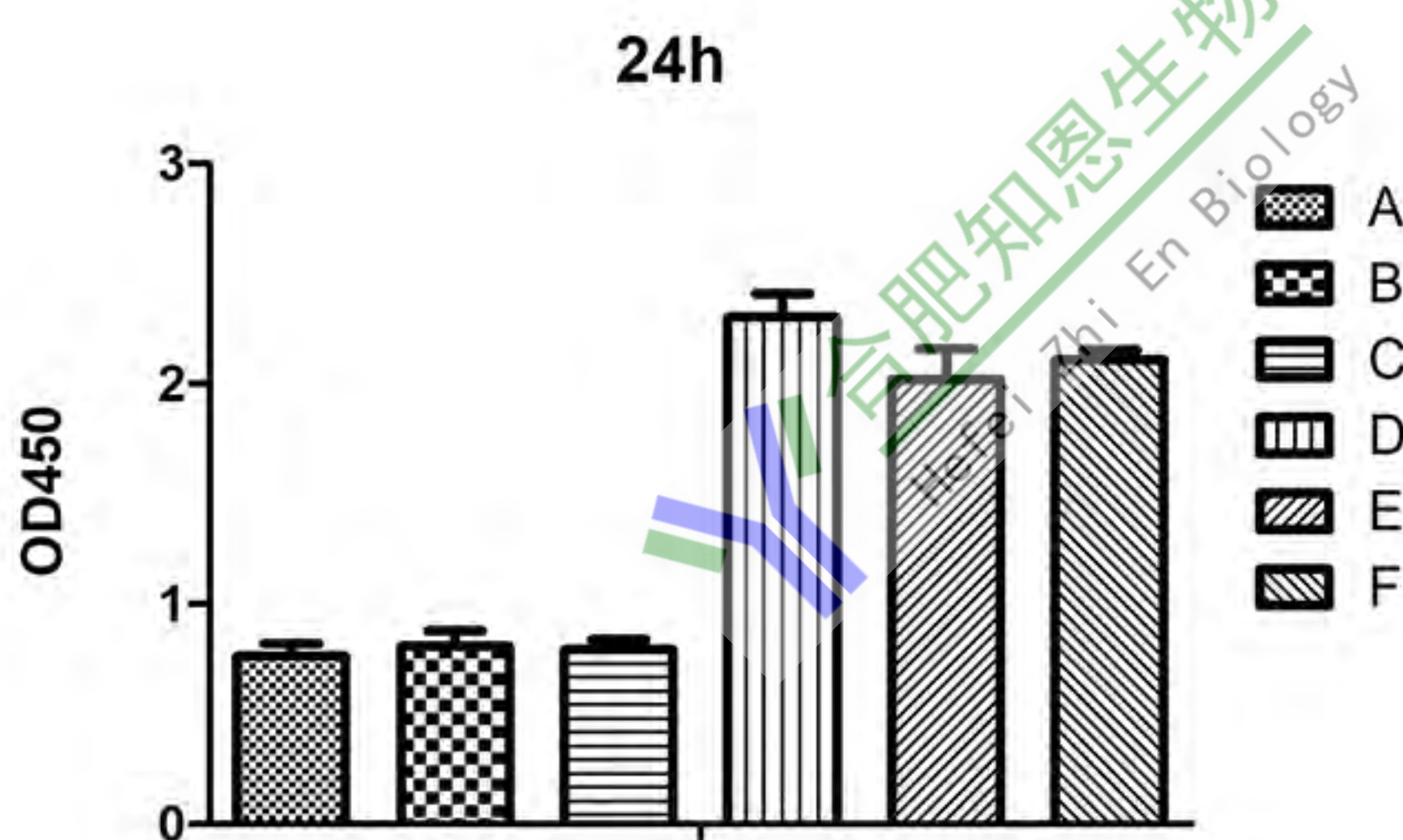
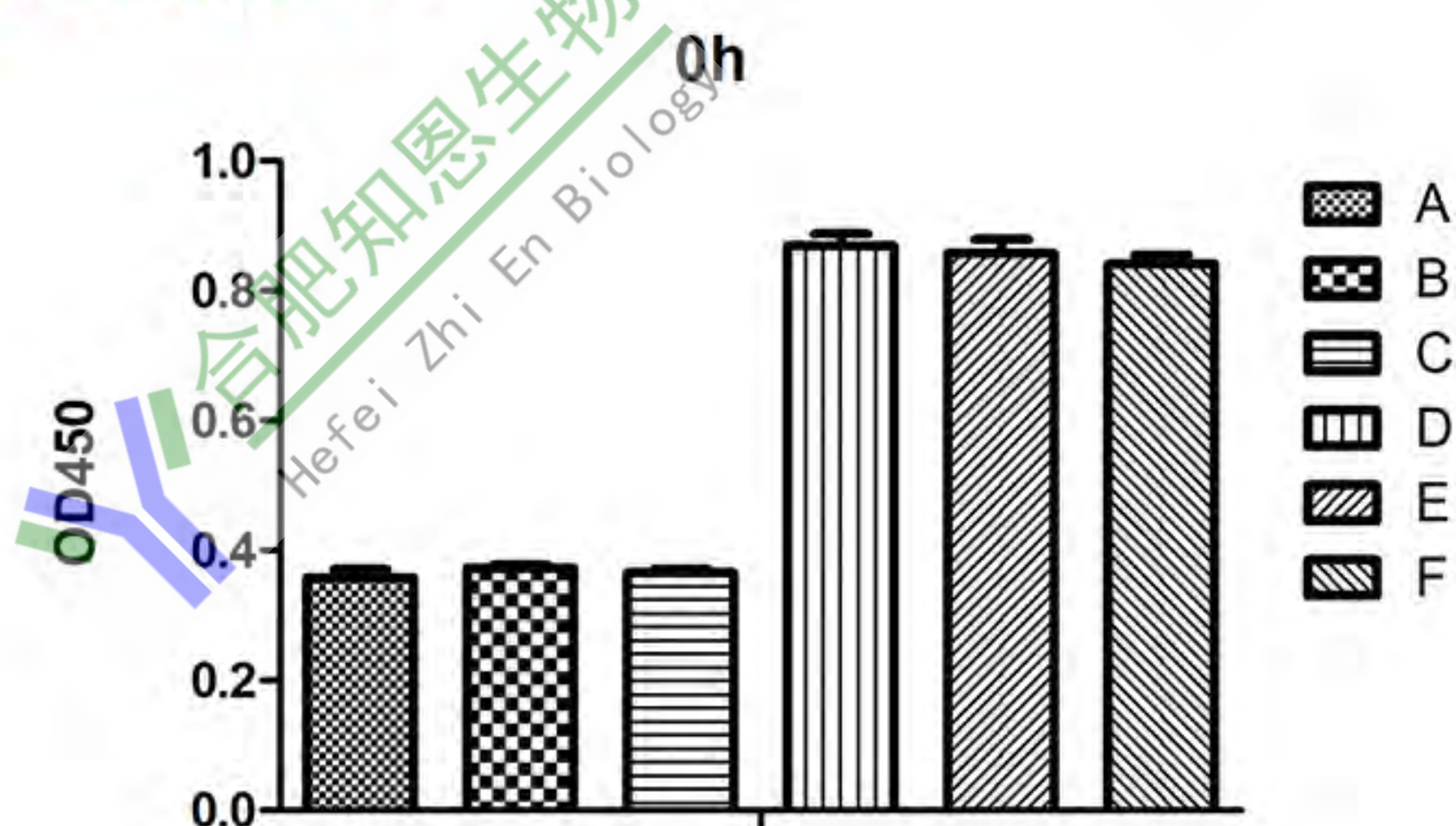
客户提供

- 提供状态良好的细胞和药物等生物材料

知恩提供

原始数据及统计分析结果、完整实验报告

案例展示



4. 细胞周期检测

服务简介

流式细胞仪PI染色法检测细胞周期的原理：由于细胞周期各时相的DNA含量不同，通常正常细胞的G1/G0期具有二倍体细胞的DNA含量（2N），而G2/M期具有四倍体细胞的DNA含量（4N），而S期的DNA含量介于二倍体和四倍体之间。PI可以与DNA结合，其荧光强度直接反映了细胞内DNA含量。因此，通过流式细胞仪PI染色法对细胞内DNA含量进行检测时，可以将细胞周期各时相区分为G1/G0期，S期和G2/M期，获得的流式直方图对应的各细胞周期可通过特殊软件计算各时相的细胞百分率

服务流程

- 细胞培养与处理
- 细胞收集、PI染色并上机检测
- 数据统计分析与撰写实验报告

客户提供

- 提供状态良好的细胞和药物等生物材料

知恩提供

原始数据及统计分析结果、完整实验报告

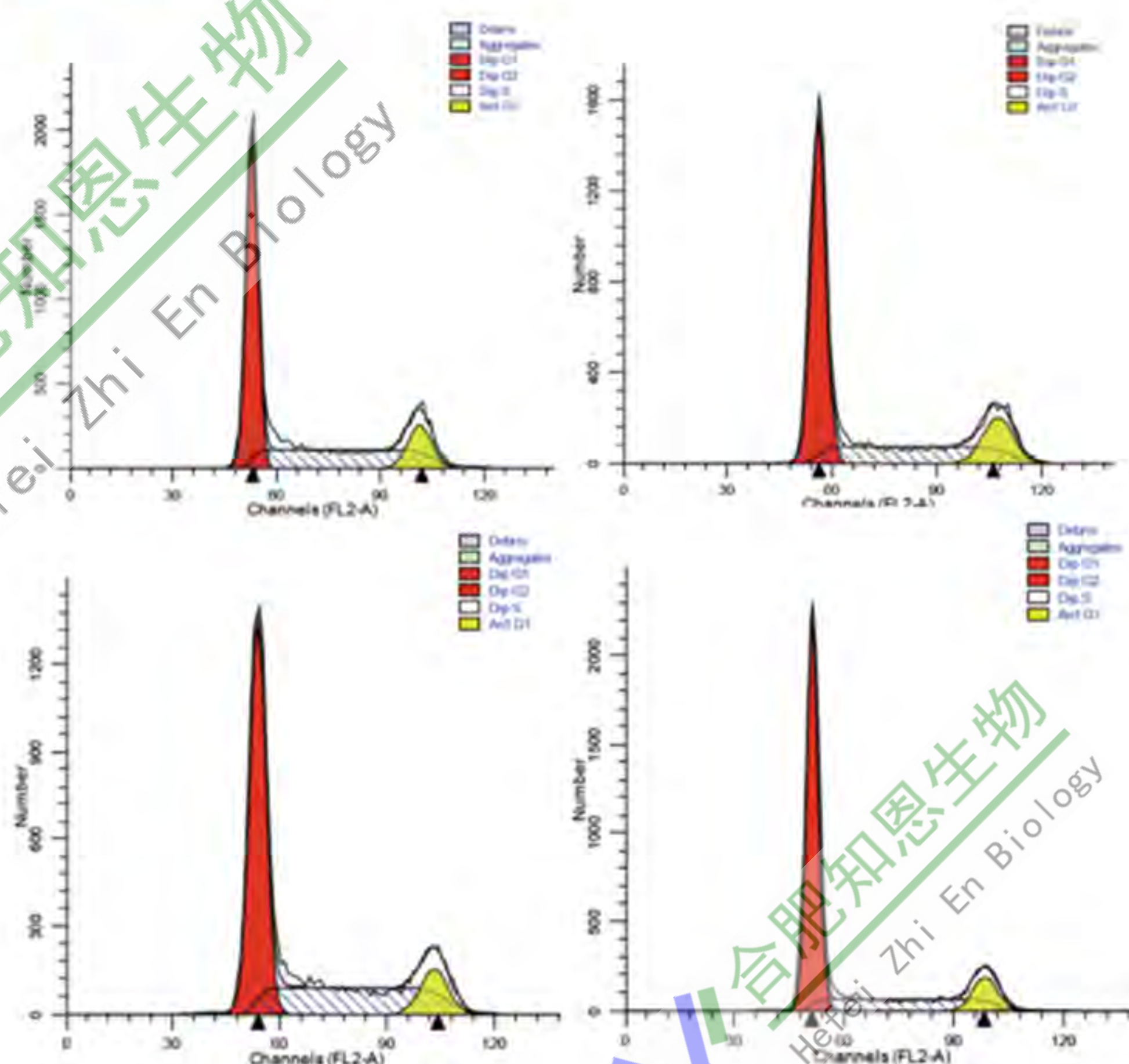
质量保证

分析准确、报告详细

交货期

3-7工作日

案例展示



5. 细胞凋亡检测/细胞流式检测

服务简介

Annexin V选择性结合磷脂酰丝氨酸 (phosphatidylserine, 简称PS)。磷脂酰丝氨酸主要分布在细胞膜内侧, 即与细胞浆相邻的一侧。在细胞发生凋亡的早期, 不同类型的细胞都会把磷脂酰丝氨酸外翻到细胞表面, 即细胞膜外侧。磷脂酰丝氨酸暴露到细胞表面后会促进凝血和炎症反应。而Annexin V和外翻到细胞表面的磷脂酰丝氨酸结合后可以阻断磷脂酰丝氨酸的促凝血和促炎症反应活性。碘化丙啶可以染色坏死细胞或凋亡晚期丧失细胞膜完整性的细胞, 呈现红色荧光

服务流程

- 细胞培养与处理
- 细胞收集、标记抗体等
- 流式细胞仪检测
- 数据统计分析与撰写实验报告

质量保证

分析准确、报告详细

交货期

3-7工作日

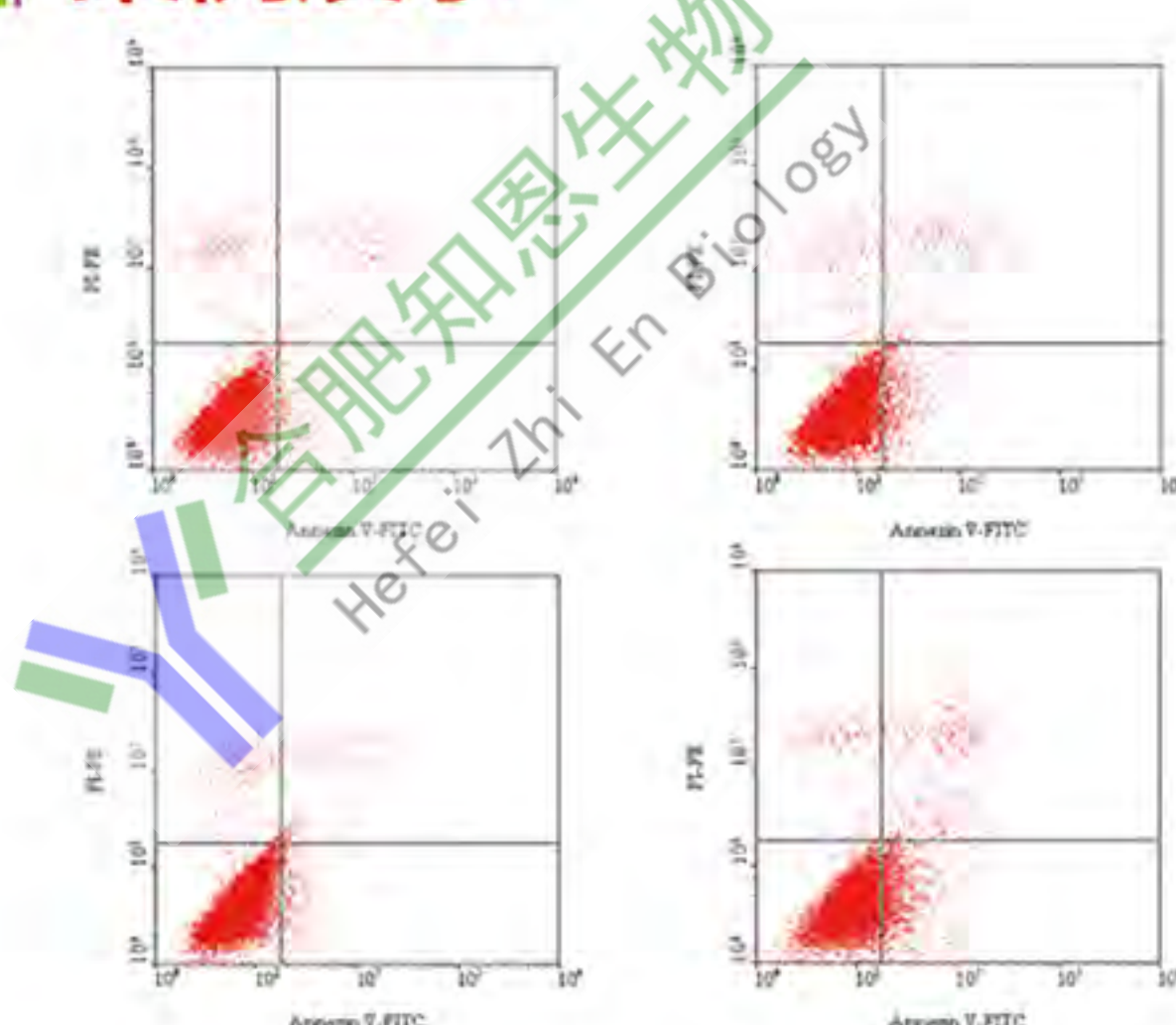
客户提供

- 提供状态良好的细胞和药物等生物材料

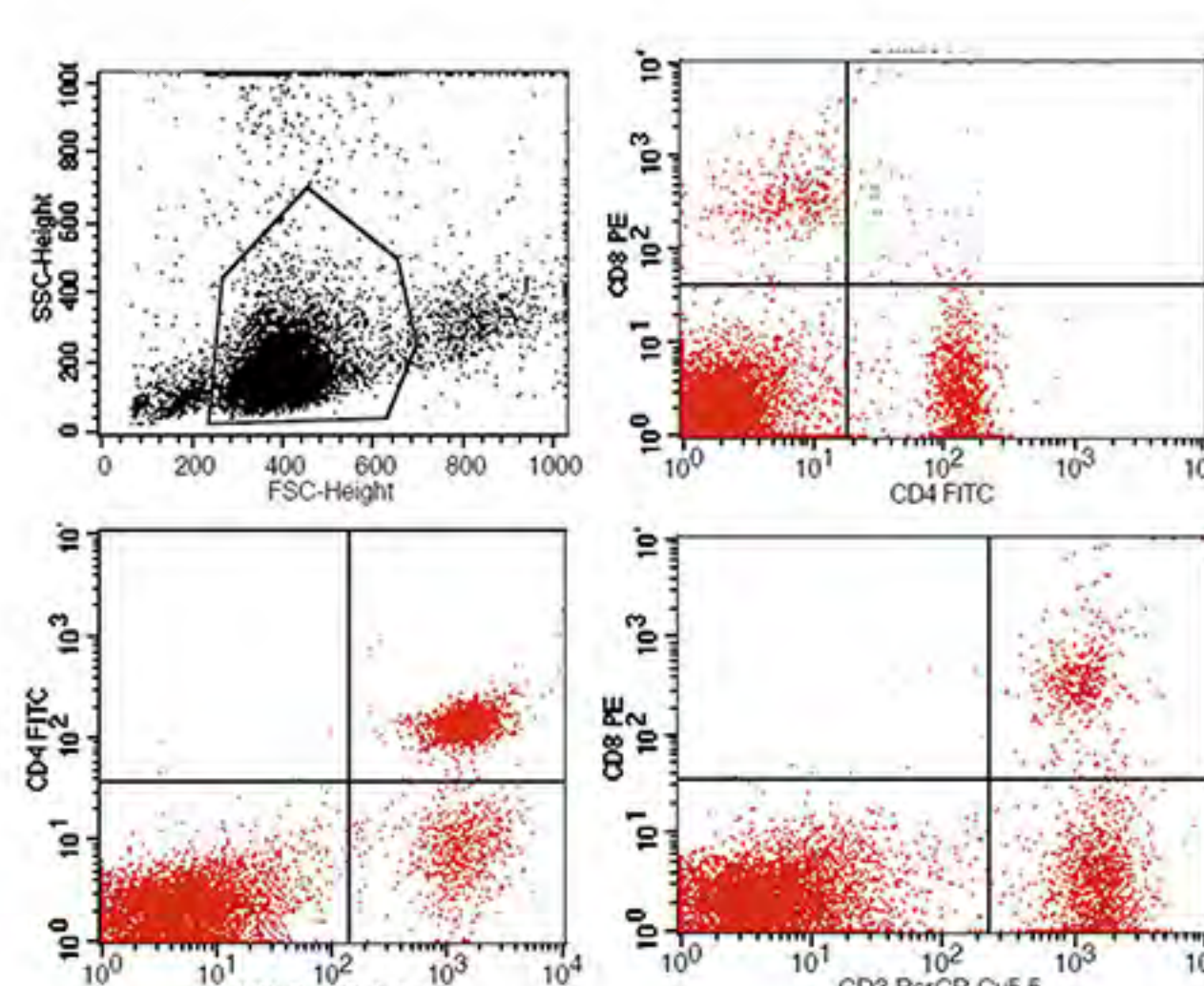
知恩提供

原始数据及统计分析结果、完整实验报告

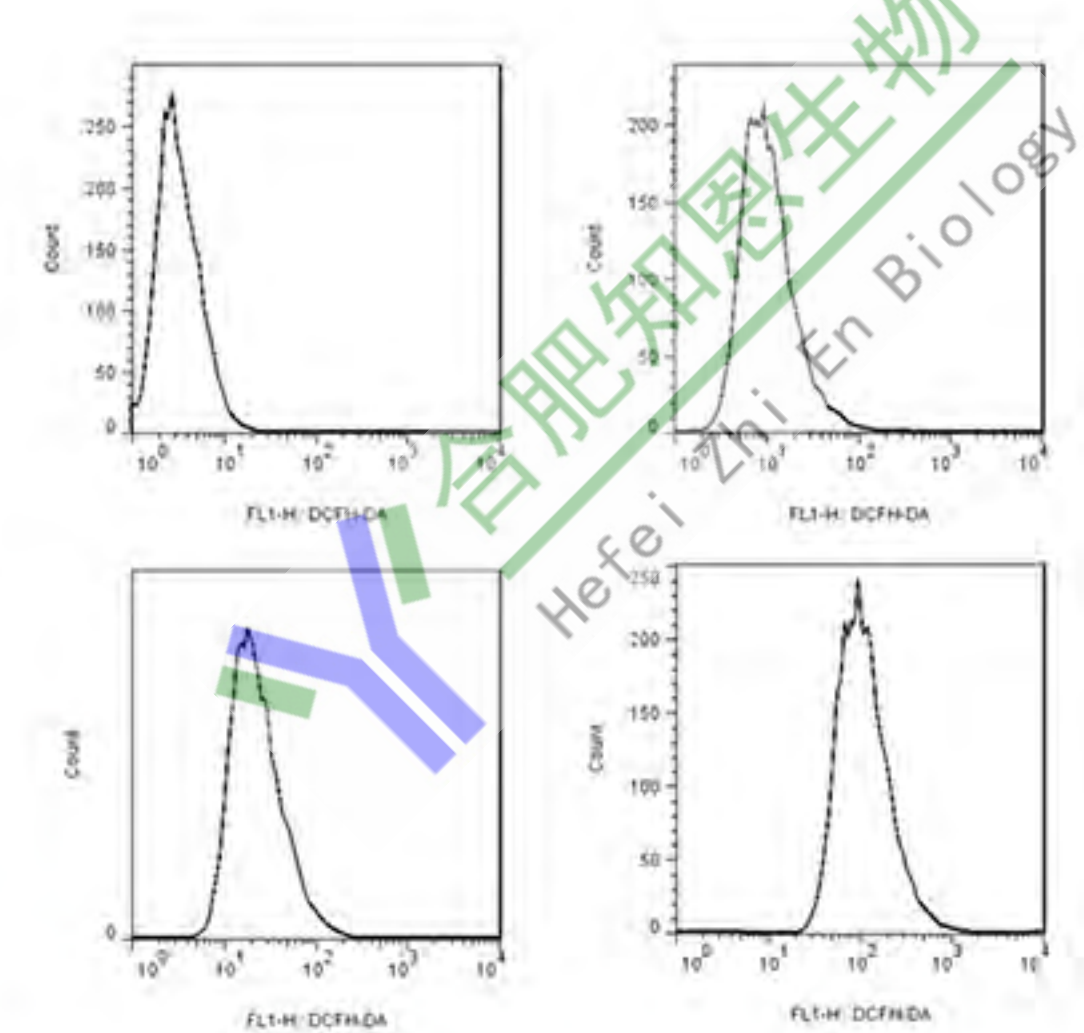
案例展示



流式检测细胞凋亡



流式检测淋巴细胞表面CD分子表达



流式检测细胞活性氧

6. 细胞划痕实验

服务简介

细胞划痕实验是一种简单易行的检测细胞运动的方法，实验成本低，可以用来检测贴壁生长肿瘤细胞的侵袭转移能力

服务流程

- 细胞培养与划痕处理
- 无血清、低血清培养
- 细胞观察与拍照
- 计算迁移率与撰写实验报告

交货期

3-7个工作日

客户提供

- 提供状态良好的细胞和药物等生物材料
- 详细的细胞划痕实验设计，如药物处理浓度、作用时间等

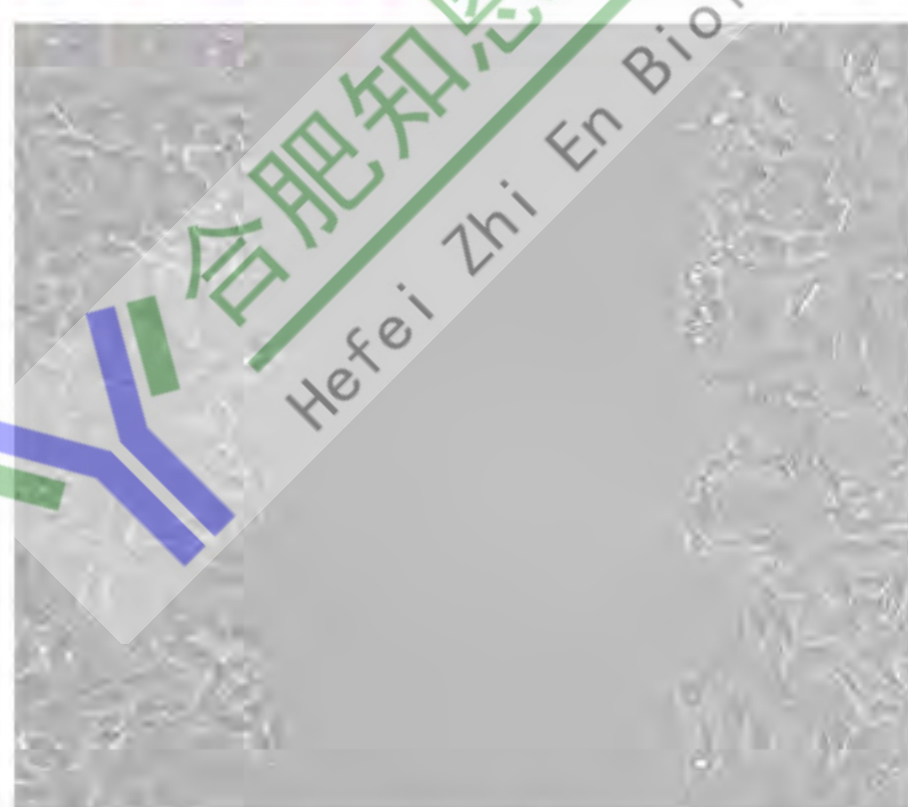
知恩提供

原始数据及统计分析结果、完整实验报告

质量保证

分析准确、报告详细

案例展示



对照组0h



实验组0h



对照组24h



实验组24h

7. 细胞Transwell实验

服务简介

Transwell小室（底层有一张通透性的膜，一般为聚碳酸酯膜），将其放置于孔板中，小室内称上室，培养板内称下室。由于聚碳酸酯膜具有通透性，下层培养液中的成分可影响上室内的细胞生长应用Transwell可研究下层培养液中的成分对细胞生长、运动等的影响

细胞共培养：研究一细胞分泌或代谢产生的物质对另一细胞的影响

细胞趋化实验：研究某一细胞分泌产物或某个因子/蛋白对另一细胞迁移的影响

肿瘤转移侵袭实验：研究肿瘤细胞的迁移侵袭能力或特定情况下肿瘤细胞的迁移侵袭能力

服务流程

- 细胞培养
- 细胞处理
- 细胞拍照
- 数据统计分析与撰写实验报告

知恩提供

原始数据及统计分析结果、完整实验报告

质量保证

分析准确、报告详细

客户提供

- 提供状态良好的细胞、质粒、药物等生物材料

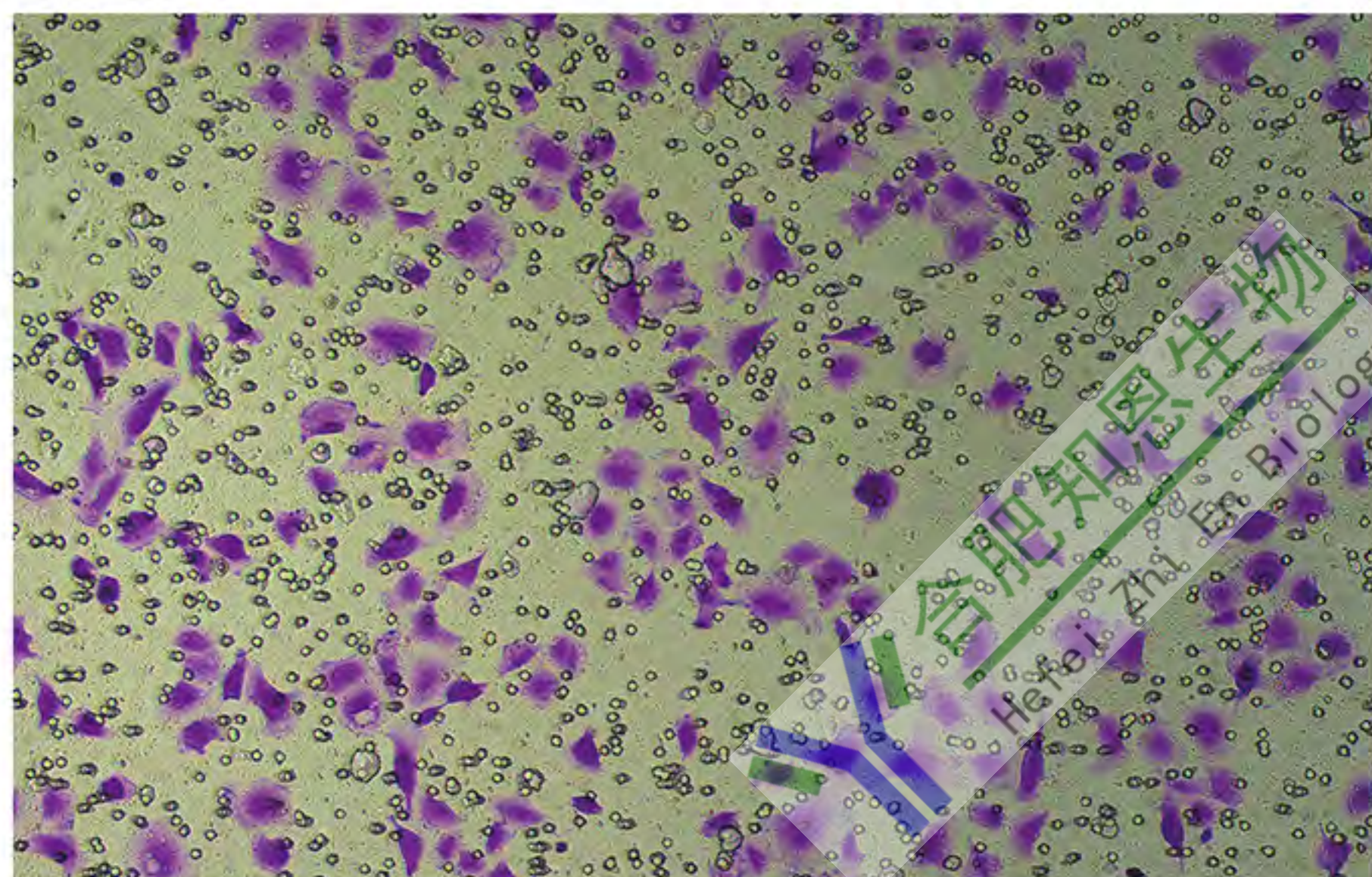
交货期

3-7个工作日

案例展示



对照组



实验组

8. 细胞免疫荧光实验

服务简介

将免疫学方法（抗原抗体特异结合）与荧光标记技术结合起来研究特异蛋白抗原在细胞内分布的方法
由于荧光素所发的荧光可在荧光显微镜下检出，从而可对抗原进行细胞定位

服务流程

- 客户提供相应细胞株、质粒、药物等生物材料
- 细胞培养与处理（转染、给药等）
- 用相应抗体进行免疫荧光实验
- 撰写实验报告

知恩提供

免疫荧光图片及完整实验报告

质量保证

图片清晰，结果可靠

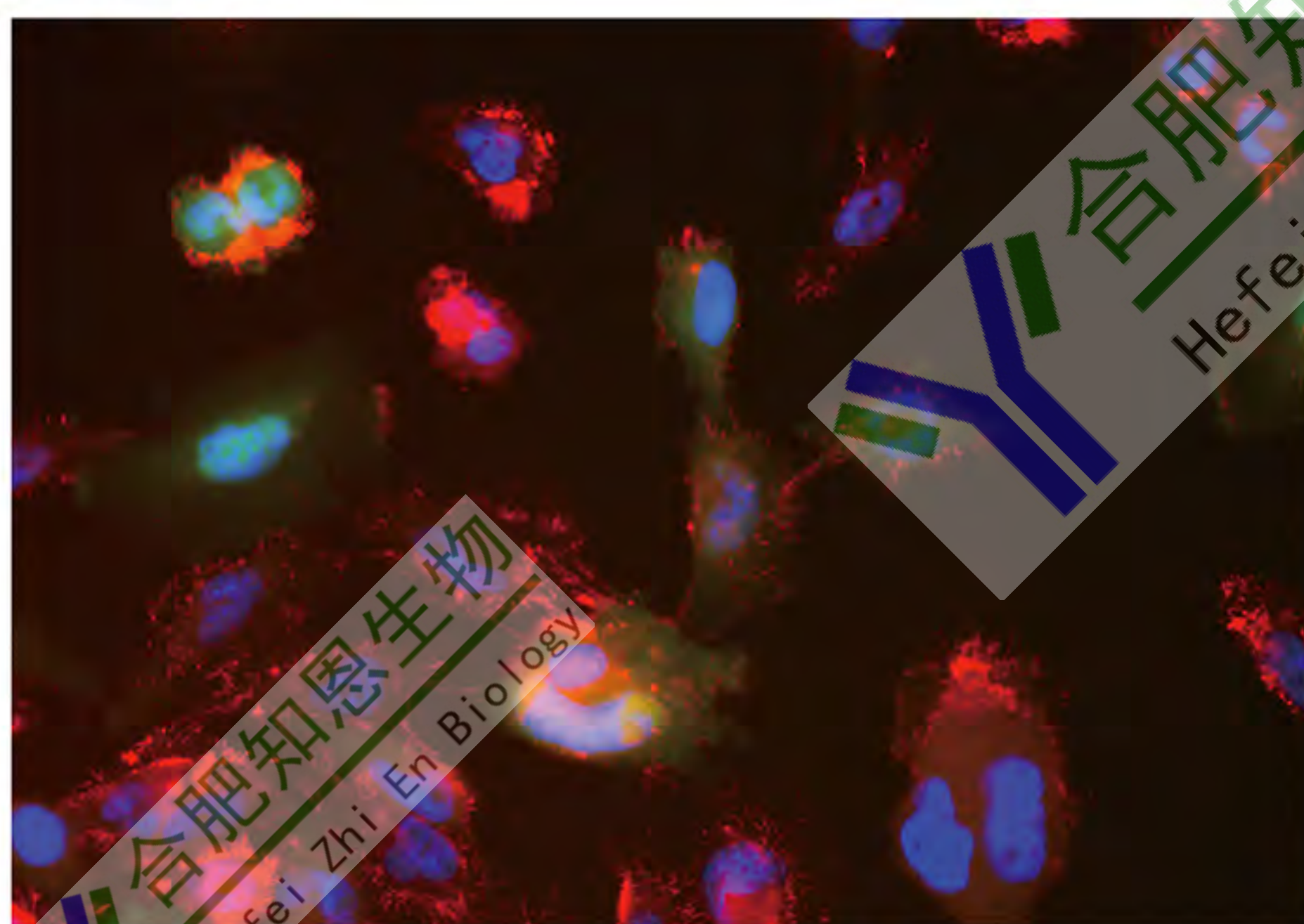
客户提供

- 提供状态良好的细胞和相关生物材料
- 提供检测目的蛋白抗体

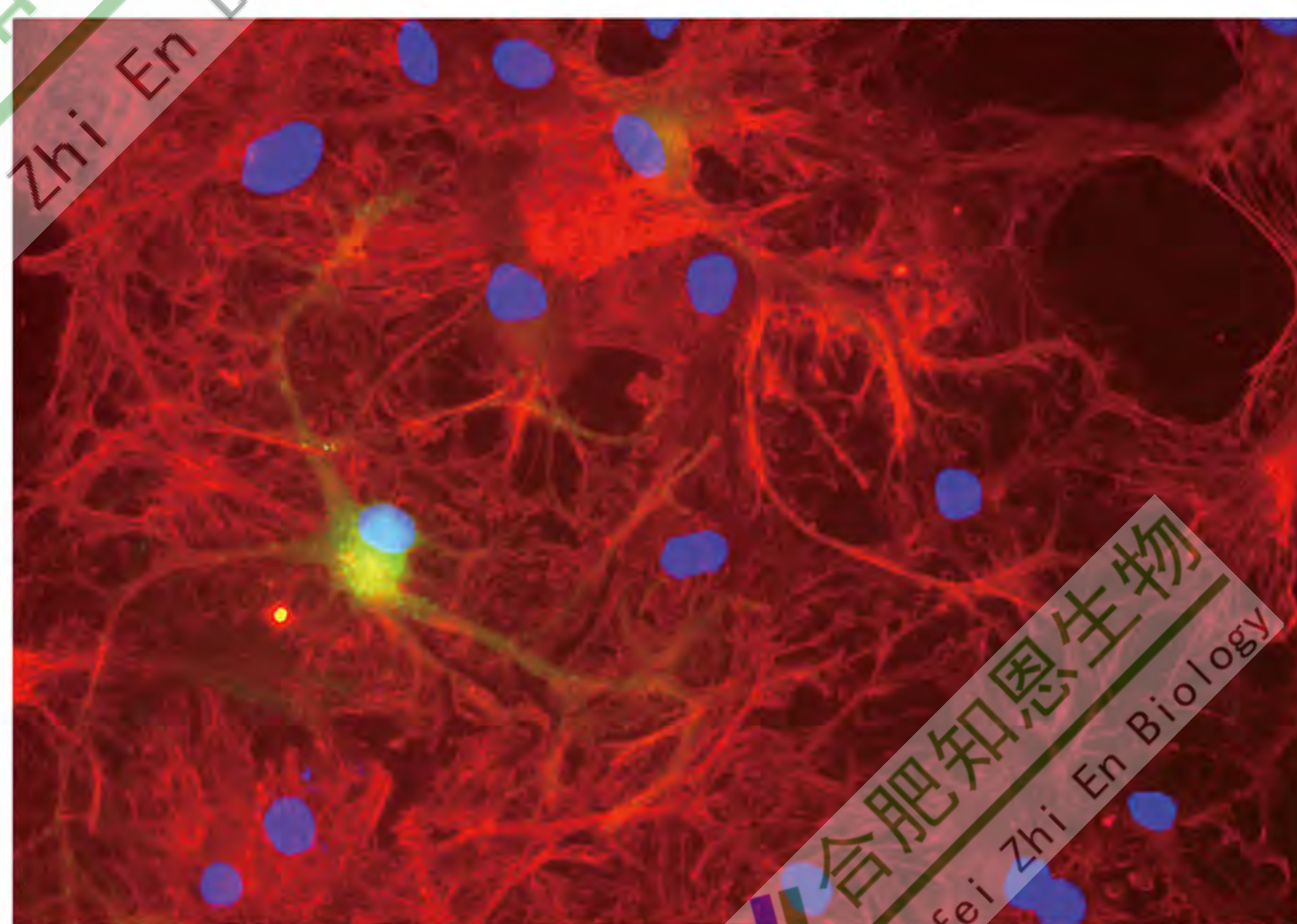
交货期

5-10工作日

案例展示



ezrin抗体染色+GFP



CNN3抗体染色+GFP

9. 原代细胞分离培养

服务简介

凡是来源于胚胎、组织器官及外周血，经特殊分离方法制备而来的原初培养的细胞称之为原代细胞。将组织从动物体内取出，经各种酶（常用胰蛋白酶或II型胶原酶）、螯合剂（常用EDTA）或机械方法处理，分散成单细胞，在合适的培养基中培养，使细胞得以生存、生长和繁殖的过程。细胞纯度高：可获得最高纯度达95%以上的原代目的细胞；细胞活力强：提供P0-P3代细胞，存活率大于80%，无污染；多种鉴定方式：可根据需求提供流式细胞检测、免疫学检测、Realtime PCR及蛋白印迹等多种检测方法

服务流程

- || 原代细胞的取材
- || 原代细胞的分离培养和鉴定
- || 原代细胞的传代和保存

客户提供

- || 客户需提供新鲜无菌的足量组织样本，并提供该原代细胞的培养条件
- || 原代细胞鉴定用的一抗或特殊染液需由客户提供或者我方代购

知恩提供

提供冻存或处于对数生长期的细胞一瓶（P3代内）
完整实验报告（包括细胞培养条件，细胞图片及鉴定结果）一份

质量保证

细胞状态良好，无污染

交货期

10-30工作日

10. 淋巴细胞分离培养与DC诱导实验

服务简介

通过淋巴细胞分离液从人、鼠等动物外周血中分离出淋巴细胞，进行药物刺激、流式检测等实验。在培养过程中添加GM-CSF、IL-4等细胞因子诱导单核细胞分化为树突状细胞（DC），DC体外捕获相关抗原递呈给T淋巴细胞，从而激活T淋巴细胞杀伤肿瘤细胞

服务流程

- || 淋巴细胞分离培养与检测
- || DC细胞诱导培养
- || 激活T细胞
- || T细胞杀伤肿瘤细胞实验
- || 实验结果统计分析与撰写报告

客户提供

- || 新鲜抗凝血
- || 抗原、细胞因子等生物材料

知恩提供

淋巴细胞冻存管
完整实验报告（包括细胞培养条件，细胞图片及鉴定结果）一份

质量保证

细胞状态良好，无污染，实验结果真实可靠

交货期

10-30工作日

11. 稳定细胞株建立

服务简介

通过包装目的基因过表达或干扰慢病毒感染目标细胞，利用筛选标记如嘌呤霉素、绿色荧光等筛选稳定表达细胞株。构建的稳定细胞株可以实现长期稳定的过表达或干扰目的蛋白，更好地进行后续细胞生物实验研究

服务流程

- 慢病毒包装
- 慢病毒感染目标细胞
- 利用抗生素进行加压筛选
- 目的基因qPCR和WB检测
- 稳定细胞株扩培与冻存
- 实验结果统计分析与撰写报告

客户提供

- 目的基因序列及信息
- 目的细胞及培养条件

质量保证

细胞状态良好，鉴定正确，无污染，实验结果真实可靠

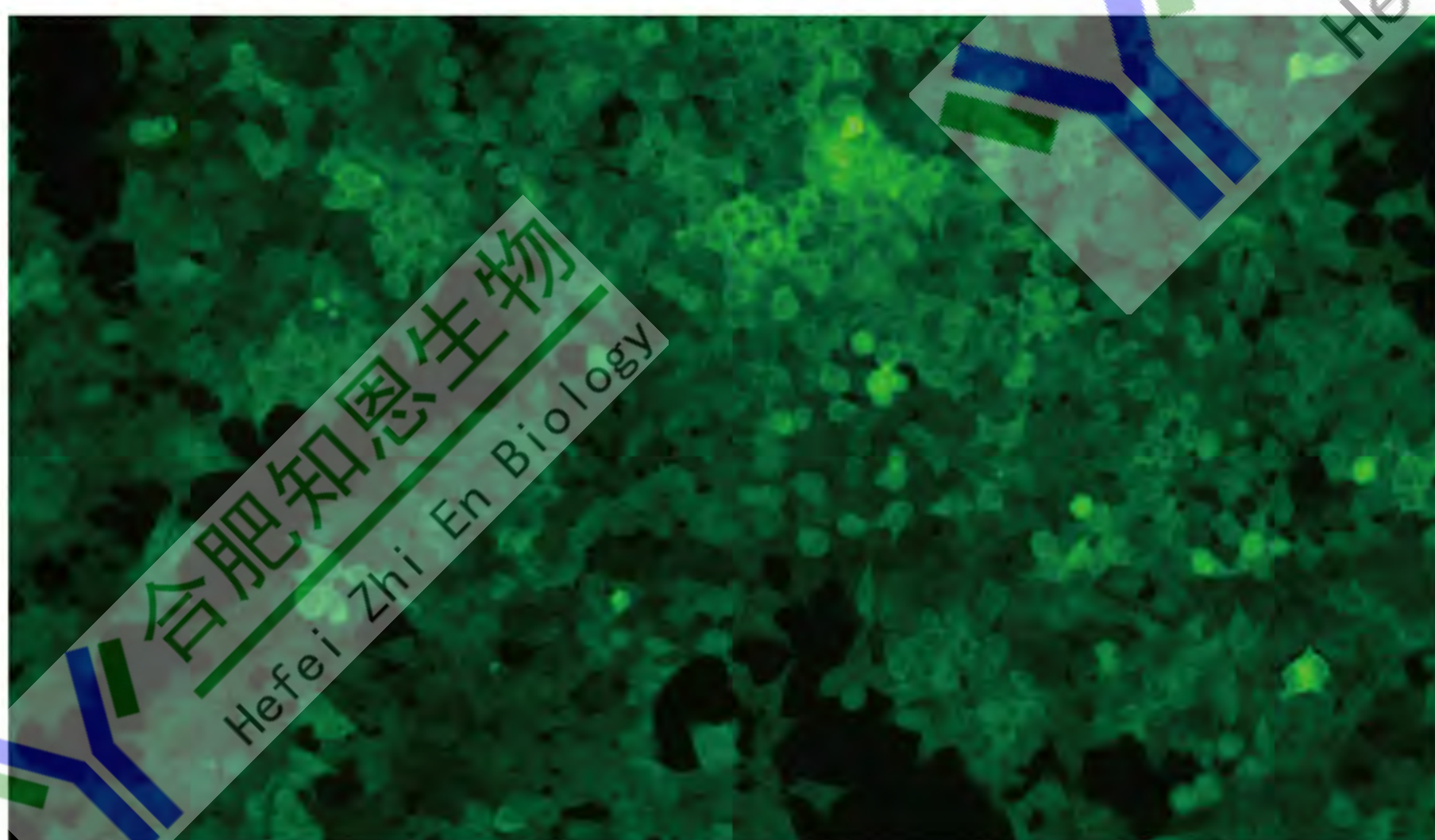
知恩提供

鉴定正确的稳定细胞株冻存管或细胞瓶
完整实验报告（包括细胞图片及鉴定结果）一份

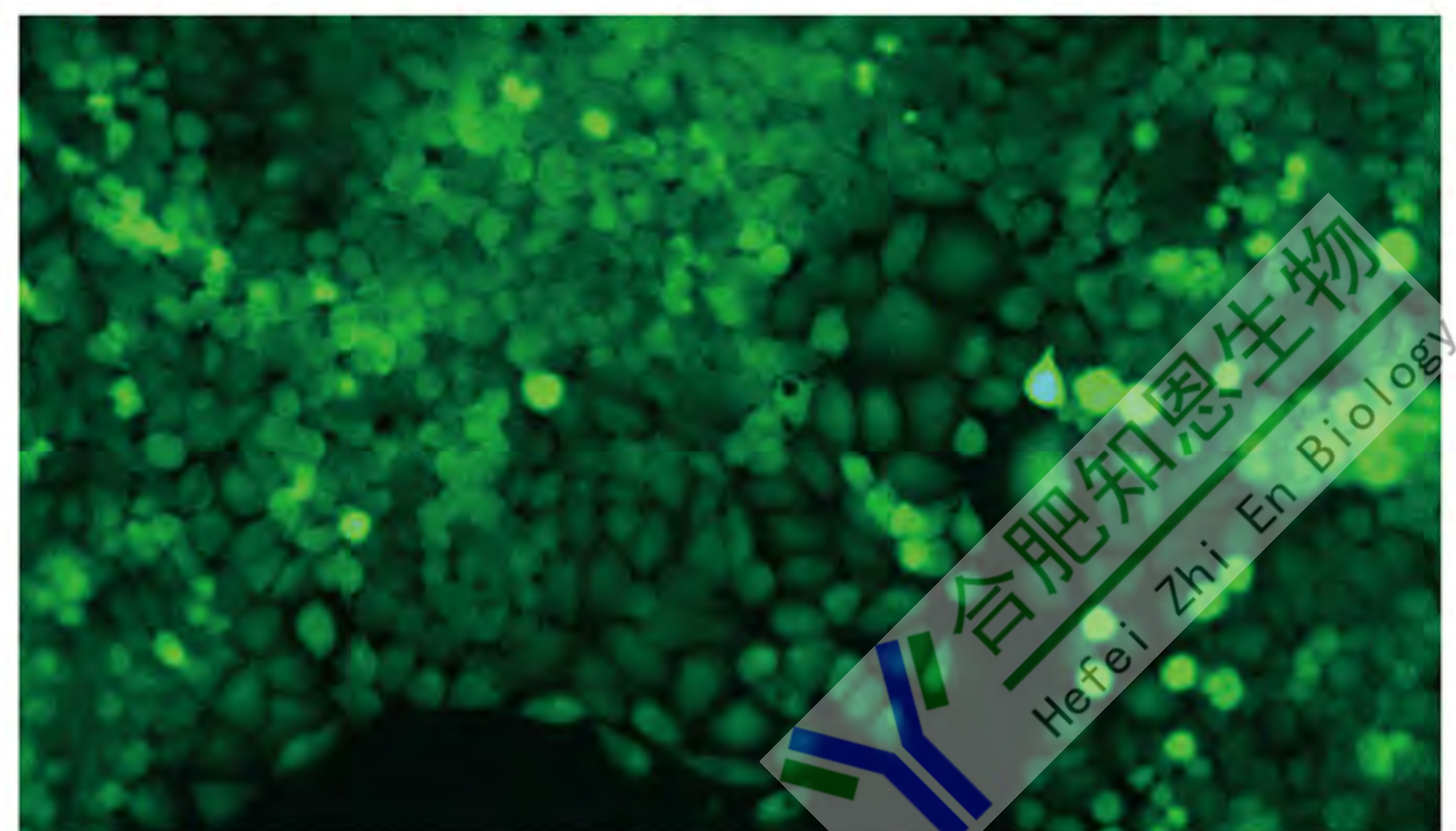
交货期

30-60工作日

案例展示



293T细胞



SUN细胞

1. 核酸提取

服务简介

知恩生物依托本公司的各种DNA/RNA提取试剂盒，涵盖了动植物组织、血液、细菌、真菌等各类样品，可为客户提供高质量的DNA/RNA样品，满足客户普通PCR、qPCR、文库构建、基因调取、分子标记、基因杂交等各种科研需求

服务流程

- 样本处理
- 提取纯化
- 质量检测（浓度、纯度、电泳等）
- 实验结果整理

知恩提供

DNA或RNA样品、提取的质量报告（包括电泳图、浓度、质量检测等数据）

质量保证

保证浓度和纯度在合格范围

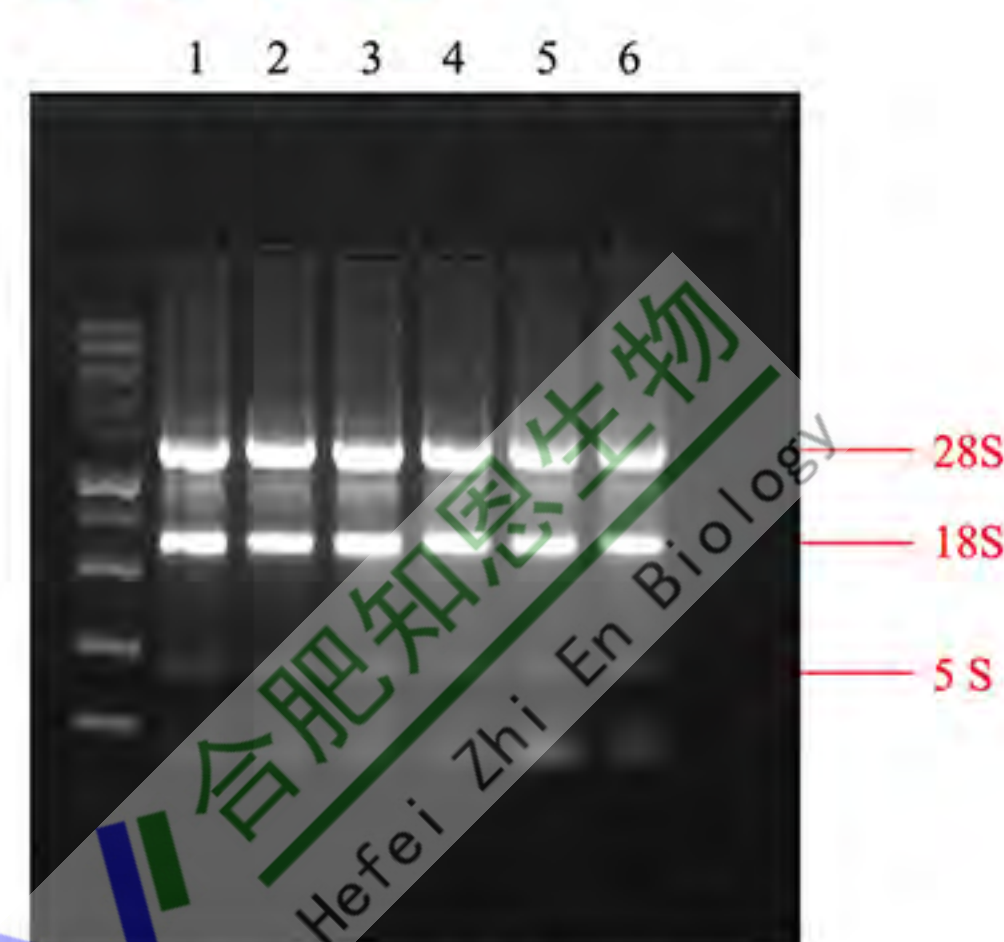
客户提供

- 菌样：饱和浓度样品 $\geq 1\text{ml}$ ，其它菌样 ≥ 10 个菌
- 血液样：全血 $\geq 300\mu\text{l}$
- 动物组织： $\geq 200\text{mg}$
- 植物根茎叶等组织： $\geq 500\text{mg}$

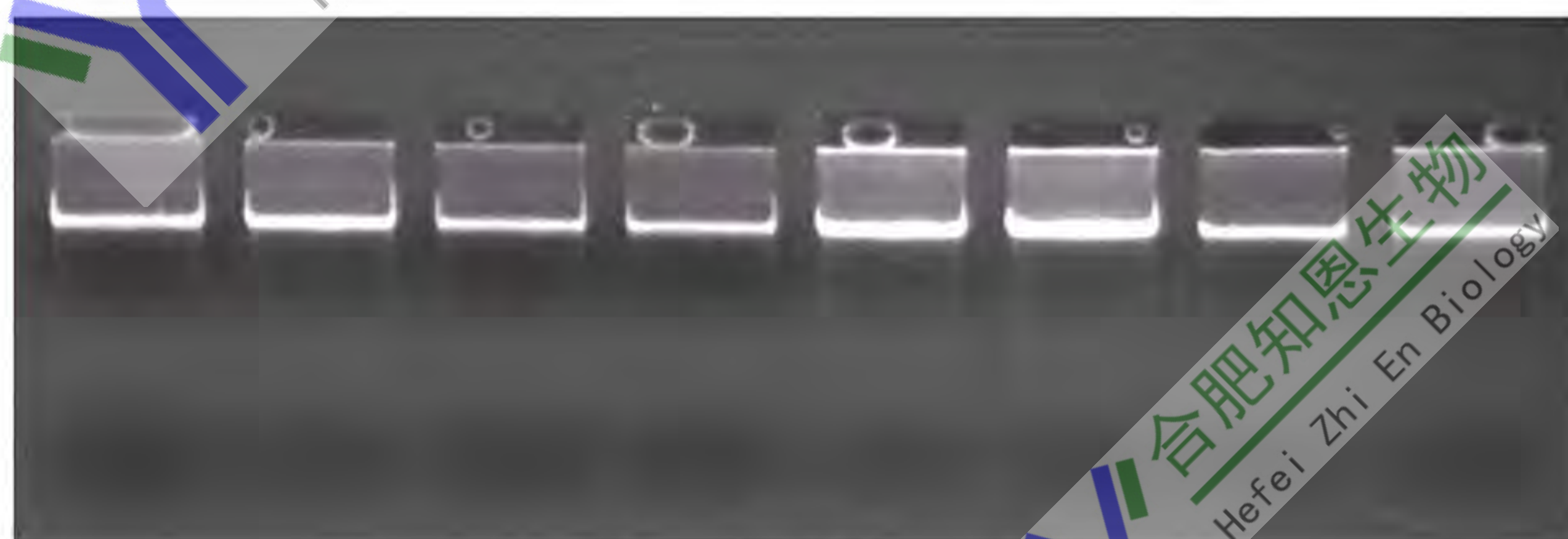
交货期

1-2个工作日完成，具体根据样本数量而定

案例展示



植物总RNA提取



动物组织基因组DNA

2. 基因克隆及转基因鉴定

服务简介

通过普通PCR实验, 可以进行转基因鼠的鉴定、植物脱毒检测及其它相关基因检测实验。也可以利用PCR方法从各类样本中获取目标基因, 进行后续实验

服务流程

- || DNA、RNA提取与质检
- || 特异性引物或通用引物反转录
- || 特异性引物PCR
- || 电泳或测序检测
- || 实验报告

质量保证

结果准确, 图片清晰, 报告完整

交货期

2-5个工作日完成, 具体根据样本数量而定

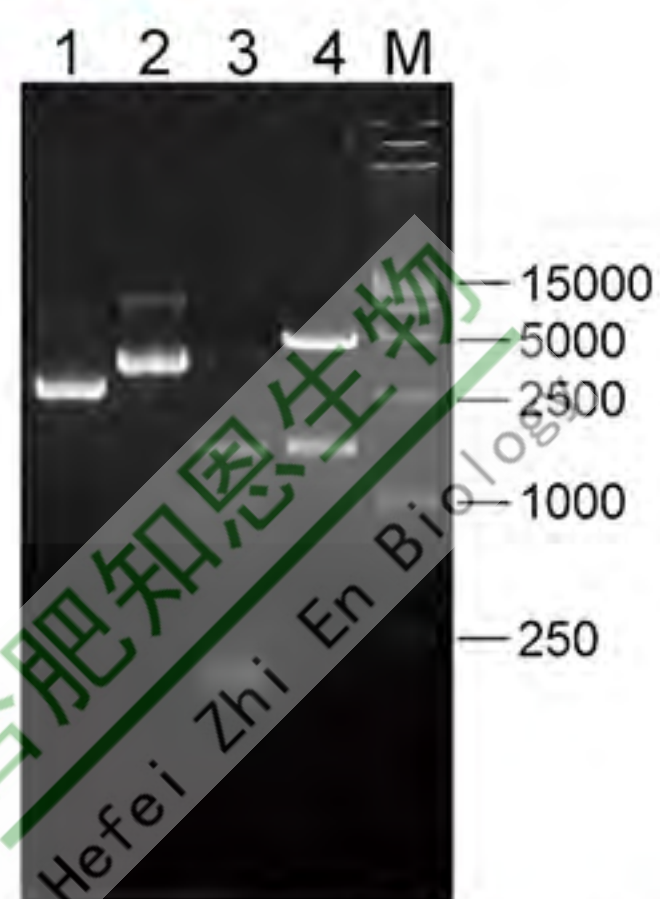
客户提供

- || 样本以及样本信息, 基因名称以及参考序列

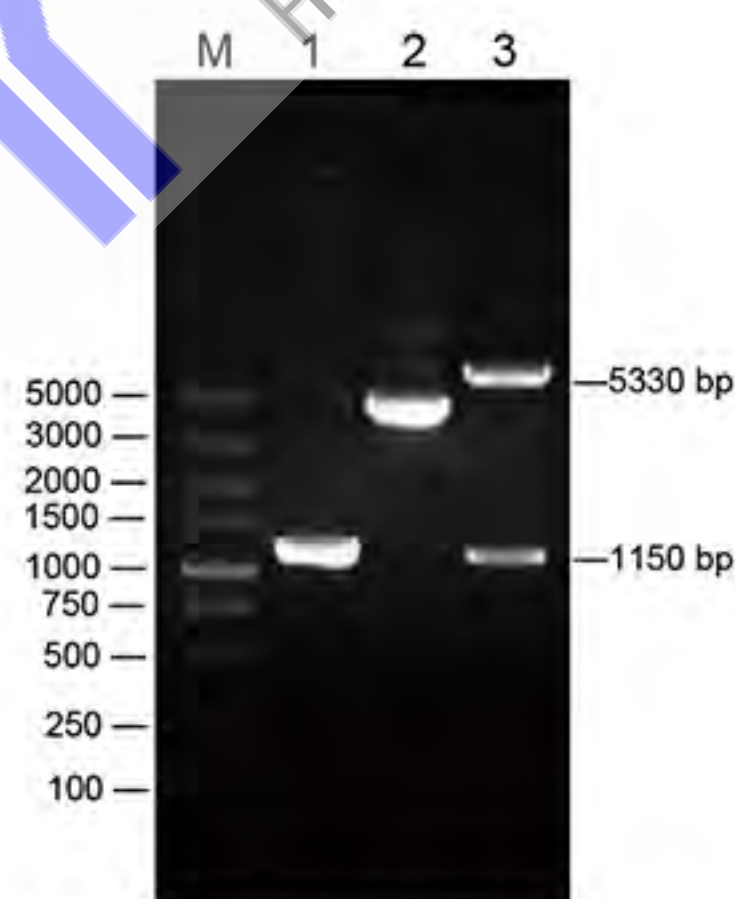
知恩提供

完整实验报告, 包括PCR图片、测序结果等

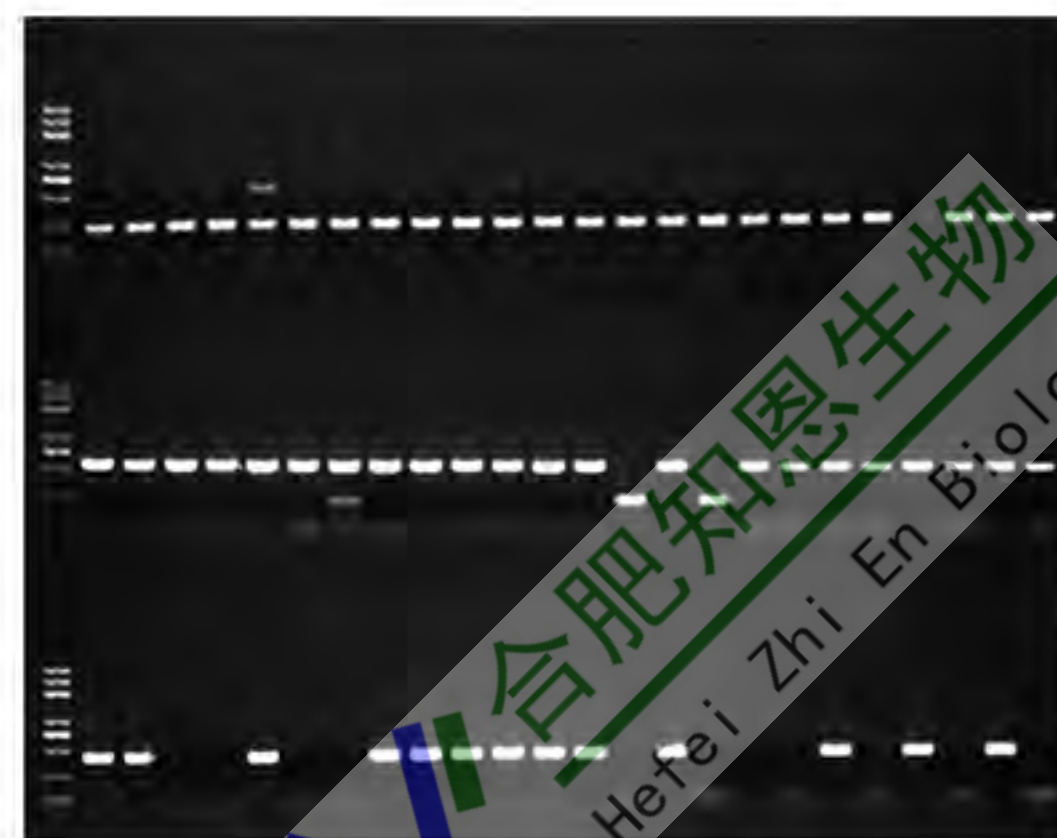
案例展示



E-pCAGGS重组质粒鉴定



ADH-pET-28a双酶切鉴定



转基因鼠PCR鉴定

3. 荧光定量PCR

服务简介

Real Time PCR是指在PCR反应体系中加入荧光基团，利用荧光信号累积实时监测整个PCR进程,通过对各基因Ct值或标准曲线分析，实现对检测样本起始模板进行定量分析。Real Time PCR可用于病原微生物检测，mRNA，circRNA，microRNA及lncRNA的检测。根据参照物不同分为绝对定量和相对定量；根据荧光基团的不同分为染料法和探针法

服务流程

- || 查询基因信息、签订合同、客户付启动款、设计并合成引物
- || DNA/RNA抽提及质检分析
- || mRNA、MicroRNA、circRNA、lncRNA等RNA逆转录
- || qPCR实验
- || 付清尾款，发送检测结果及数据分析

客户提供

- || 细胞：细胞数 $>10^6$ ；组织：总量 $>100\text{mg}$ ；DNA或RNA样品：总量 $>2\mu\text{g}$
- || 靶基因信息：包括基因序列或GenBank登录号等
- || 背景资料：包括生物物种信息、基因功能、用途、特性、DNA/RNA来源等

知恩提供

完整实验报告：包括实验方法、步骤、所用试剂、仪器、照片及相关分析数据等

质量保证

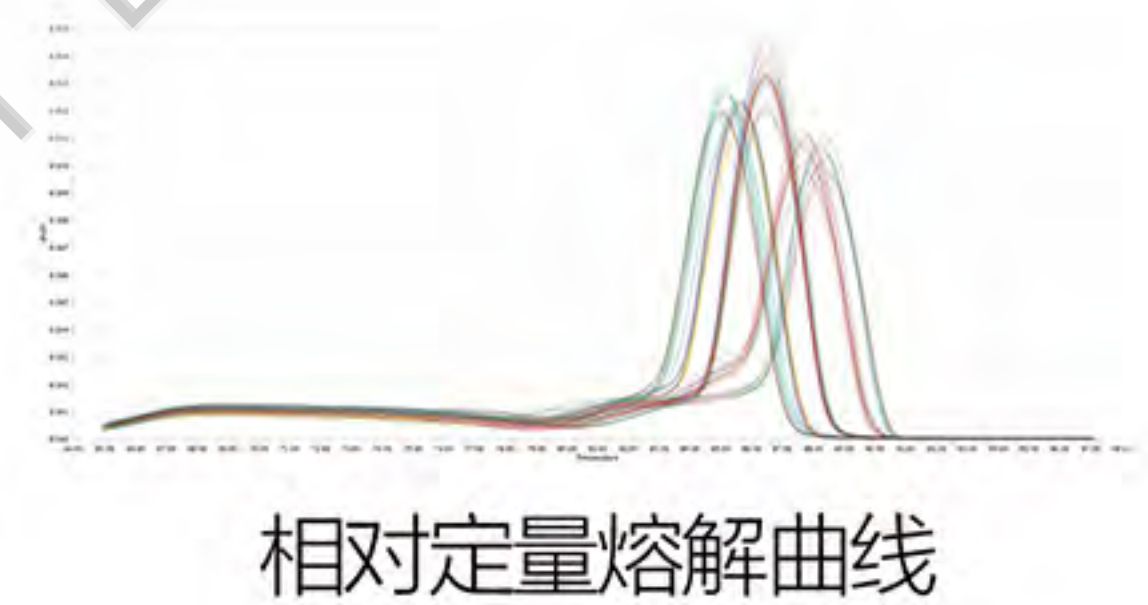
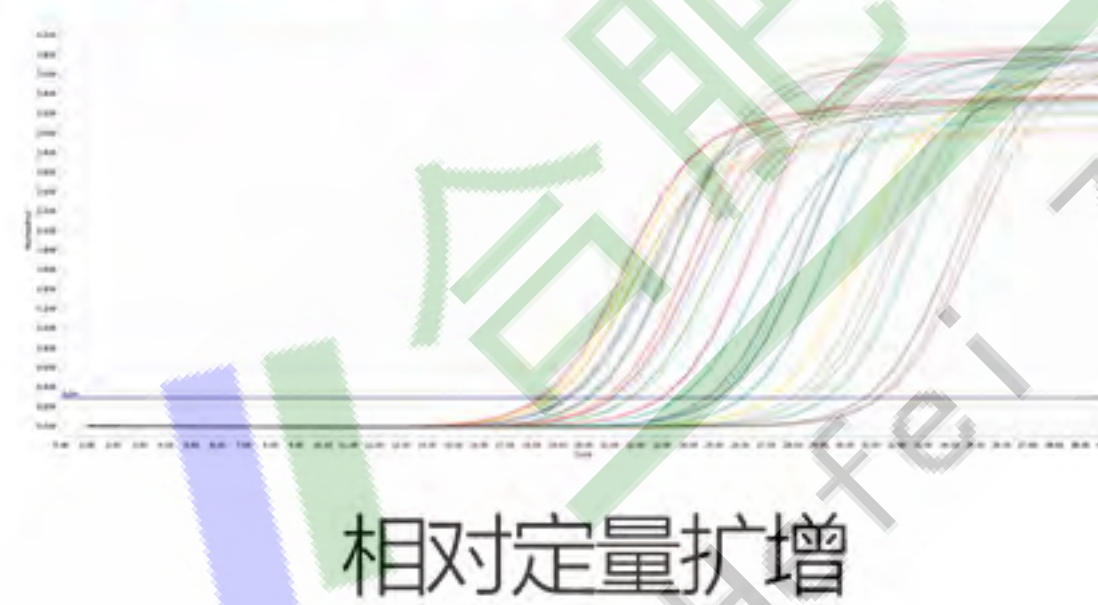
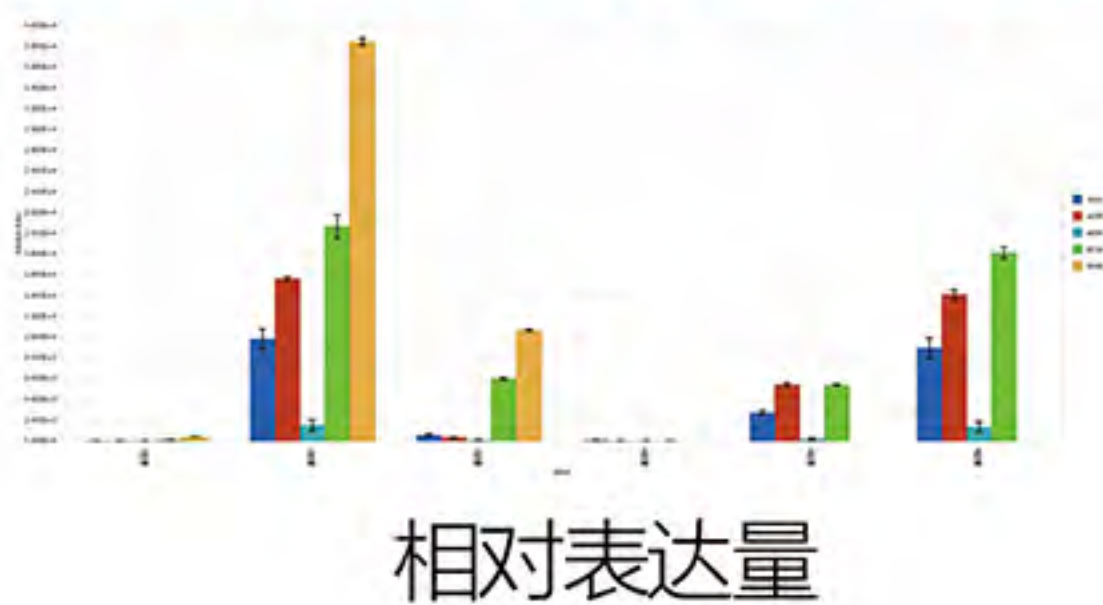
高质量核酸提取，检测结果准确，重复性好，数据分析完整

交货期

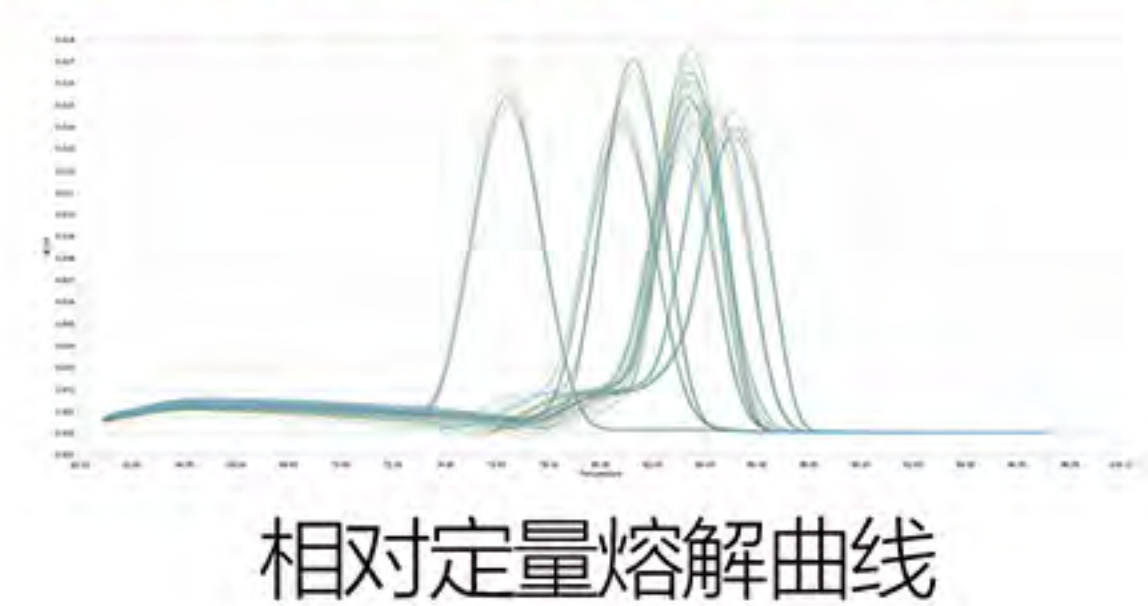
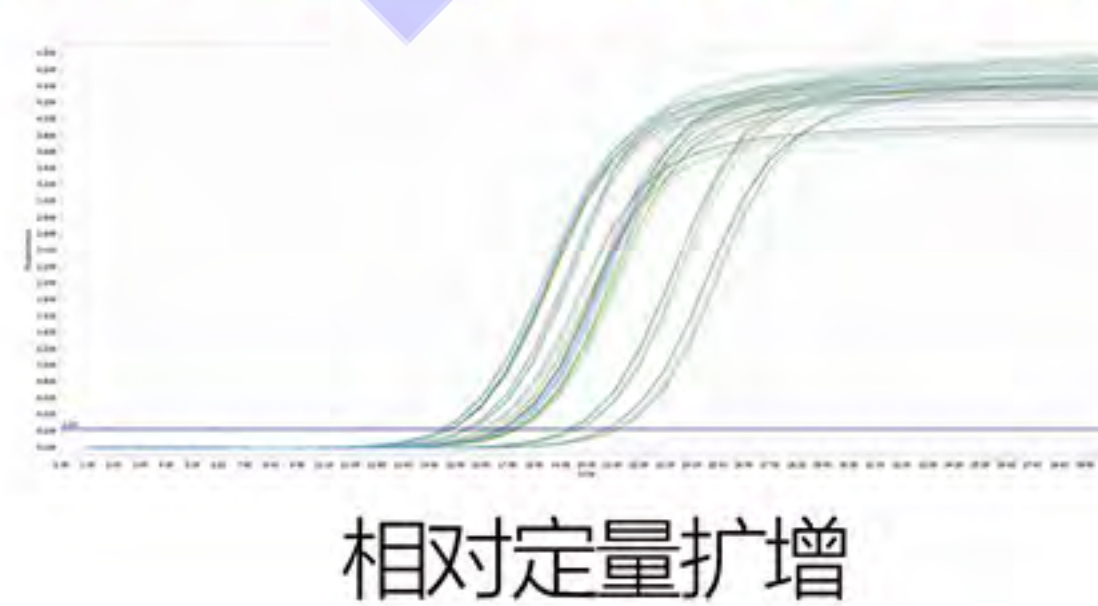
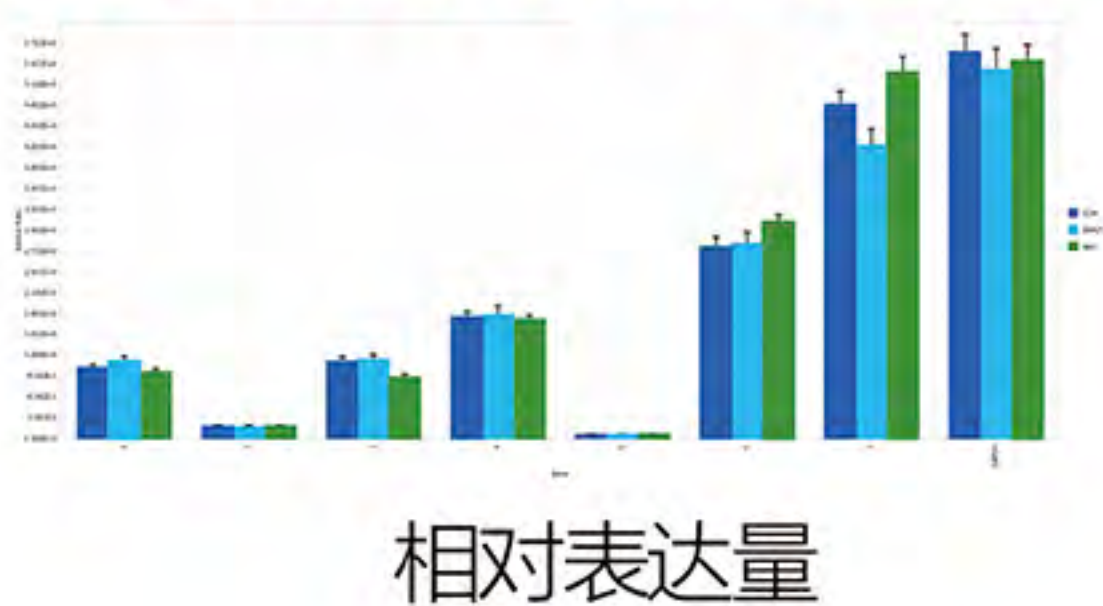
10-15个工作日完成，具体根据样本数量而定

3. 荧光定量PCR-案例展示

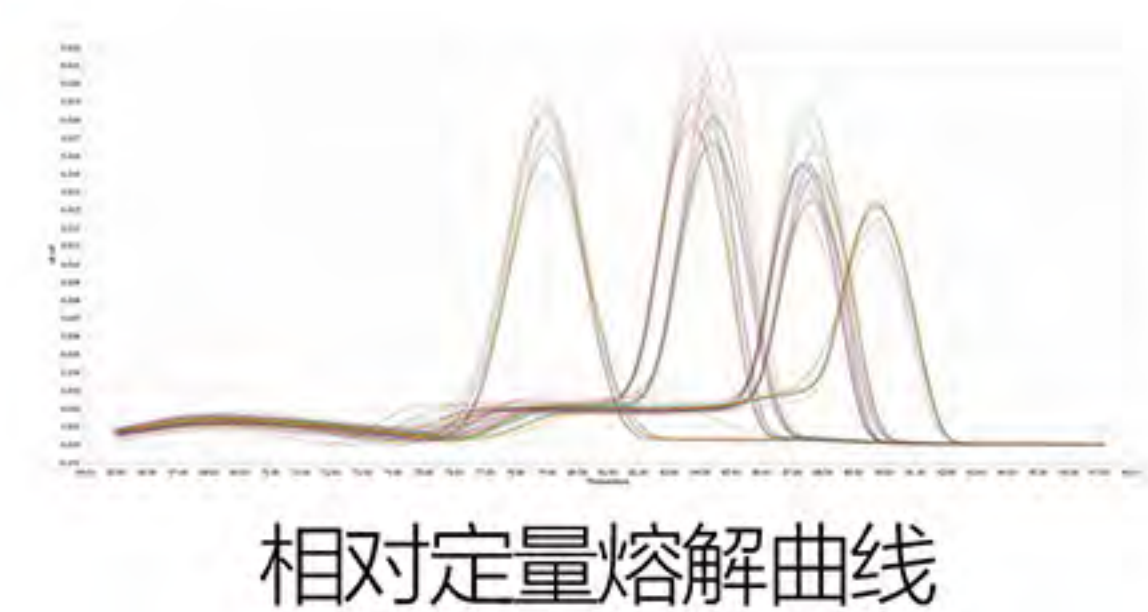
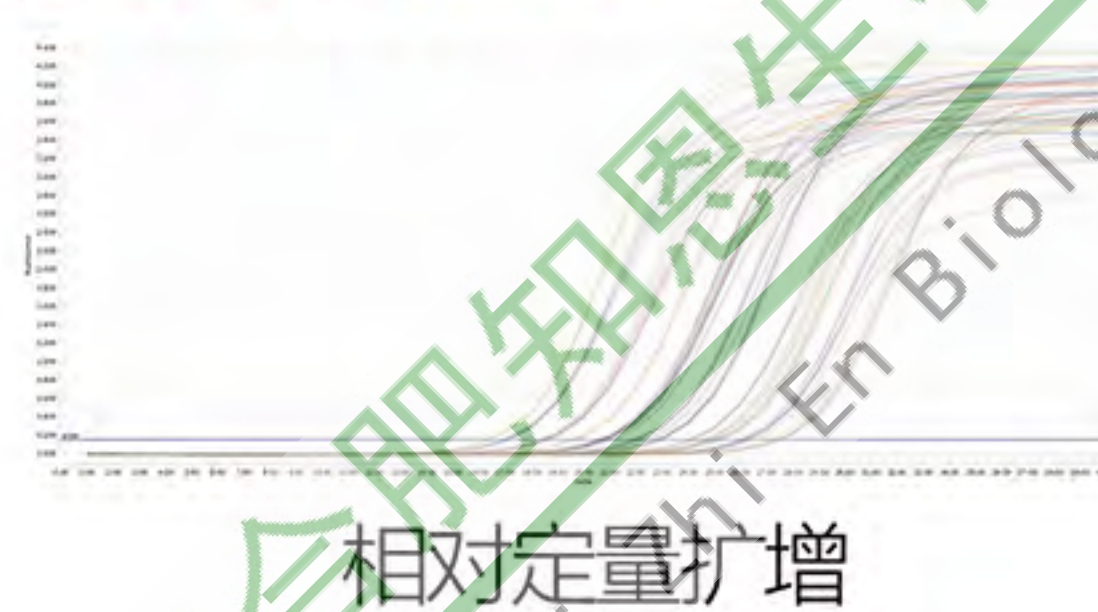
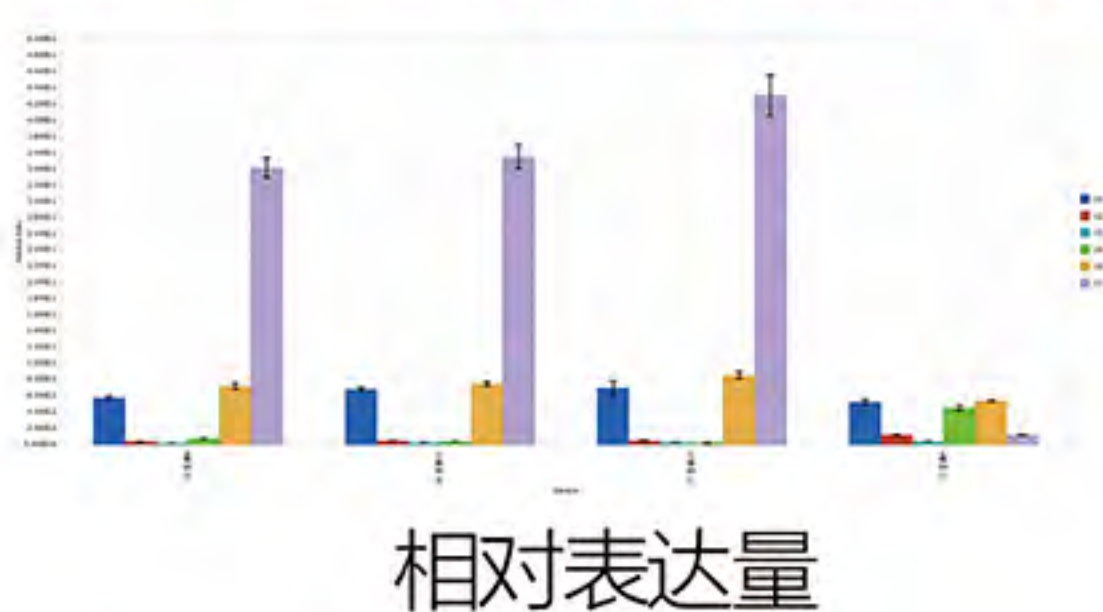
mRNA相对定量-小麦抗旱家系基因表达情况



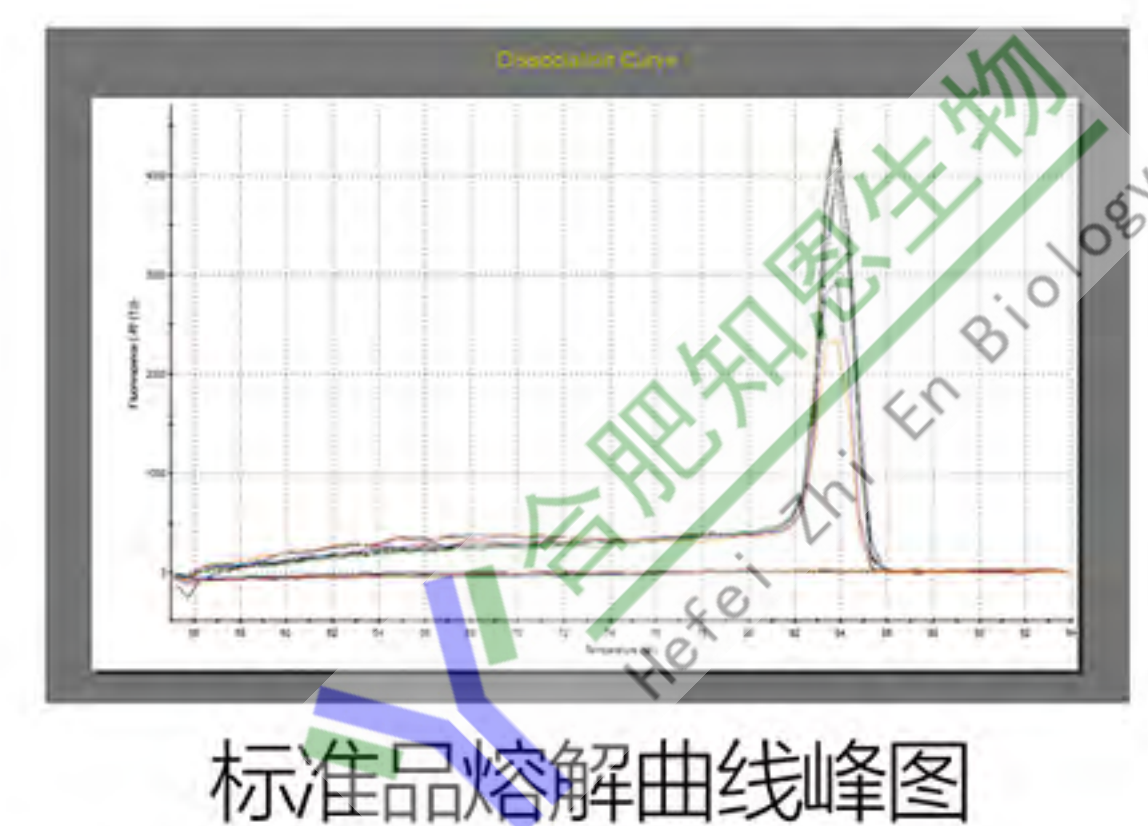
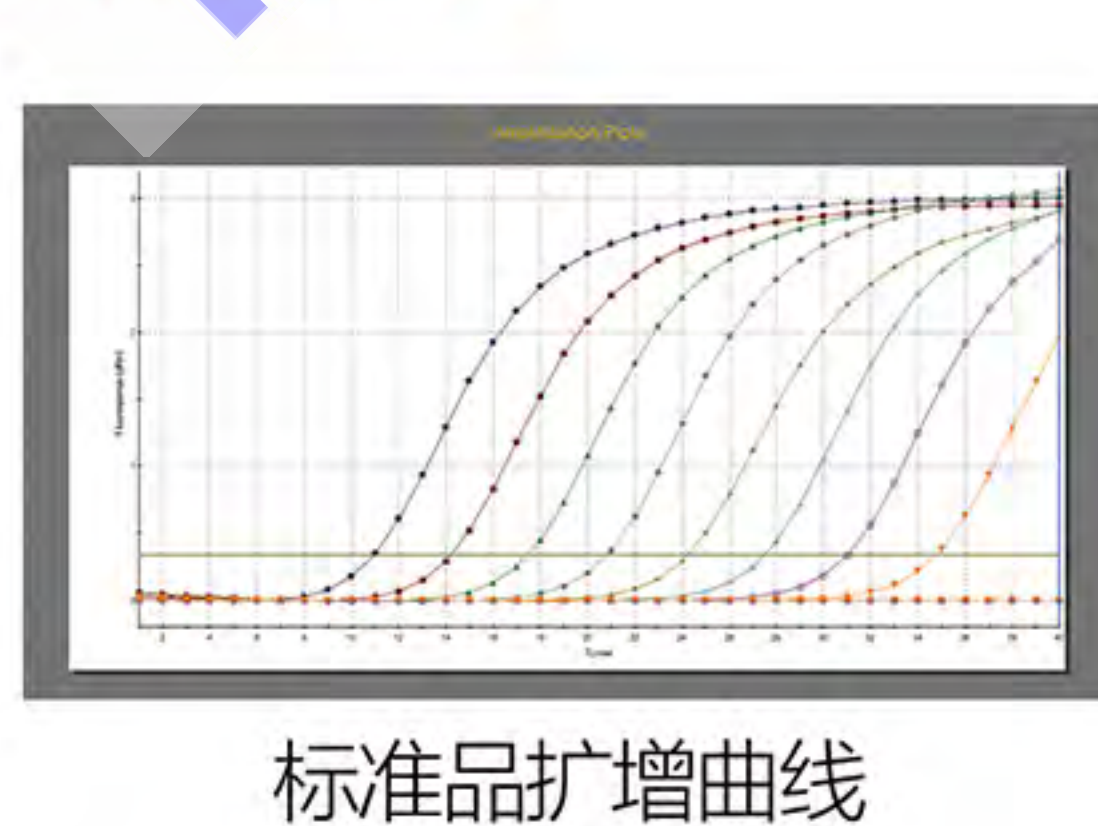
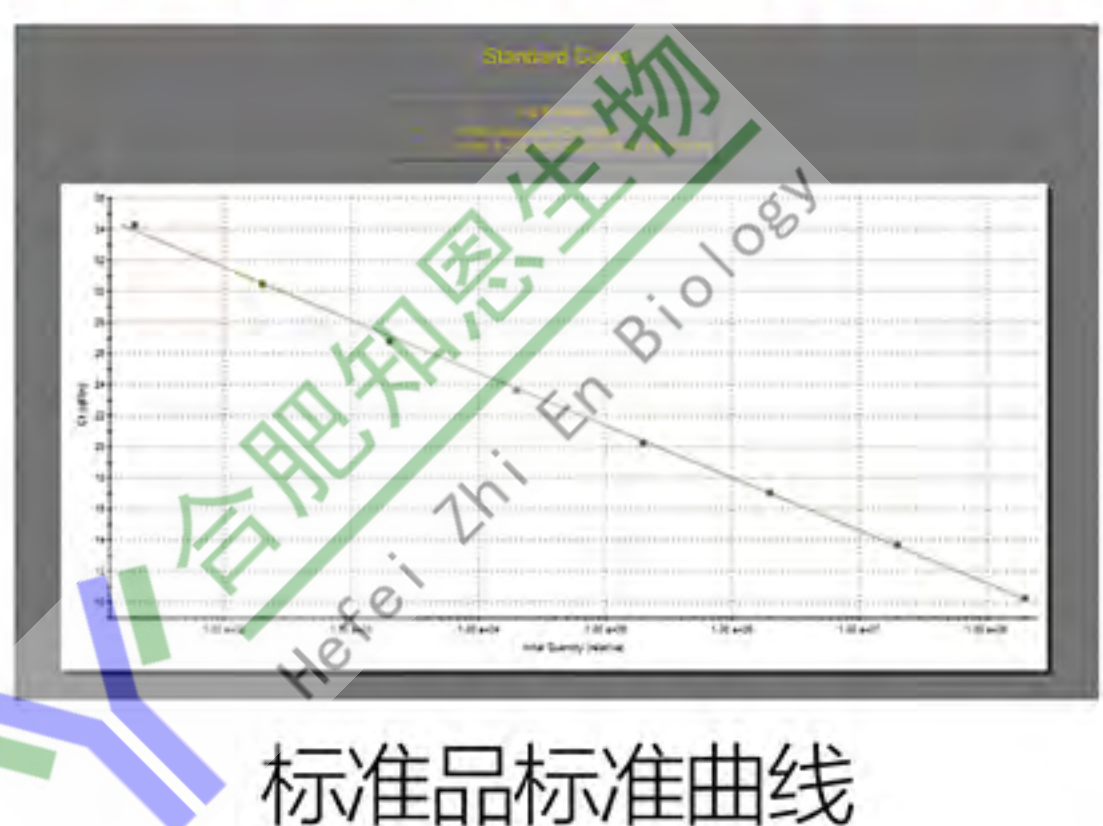
microRNA相对定量-乙肝患者治疗后调控转氨酶表达microRNA变化



circRNA相对定量-调控肠道吸收circRNA表达量

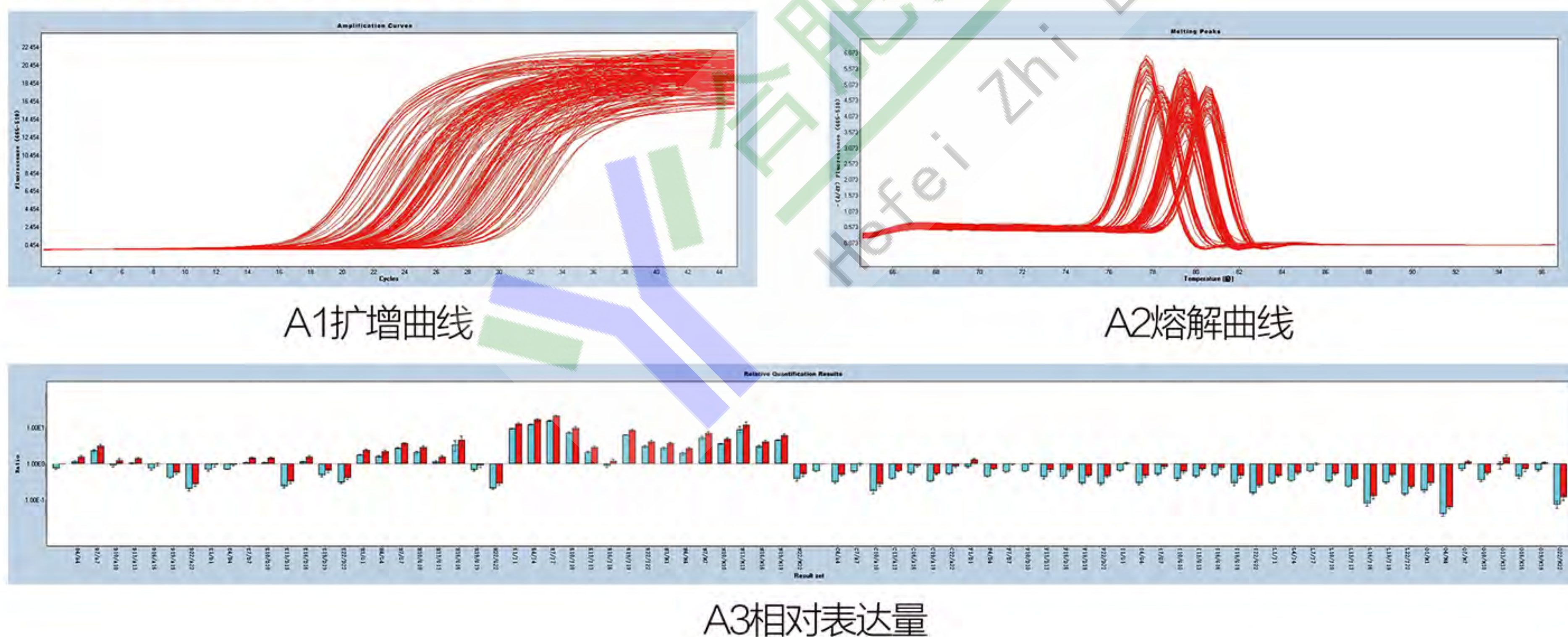


绝对定量-病原微生物感染载量检测

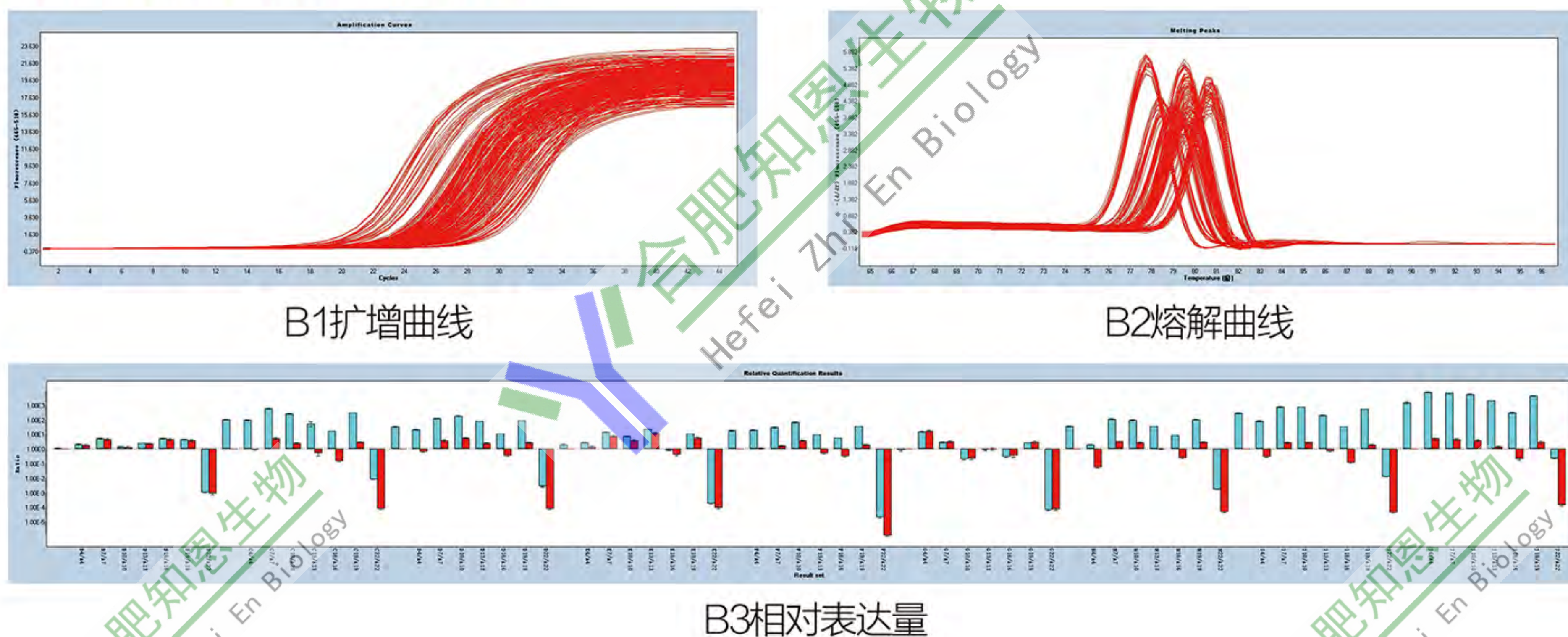


3. 荧光定量PCR-案例展示

鲫鱼转录组测序下游验证



玉米转录组测序下游验证



4. 单核苷酸多态性 (SNP分型) 检测

服务简介

SNP, 即单核苷酸多态性 (Single Nucleotide Polymorphism, SNP), 主要是指在基因组水平上由单个核苷酸的突变所引起的氨基酸序列多态性。SNP在CG序列上出现最为频繁, 而且多是C→T。合肥知恩生物拥有多种SNP技术服务平台: Taqman探针分型、飞行时间质谱 (MALDI-TOF MS) 分型、HRM (高分辨率熔解曲线) 分型等技术平台。其中HRM法SNP分型为知恩公司特色SNP分型解决方案, 该方法快速可靠, 检测手段新颖

服务流程

- 确定位点和方案, 签订合同、客户付启动款
- 核酸抽提, 质检, 开展预实验
- 正式实验分型检测
- 付清尾款, 发送检测结果及数据分析

知恩提供

DNA质检结果, SNP分型结果, 全部实验记录及实验方案

质量保证

提供质量报告以及数据, 用于后续实验

交货期

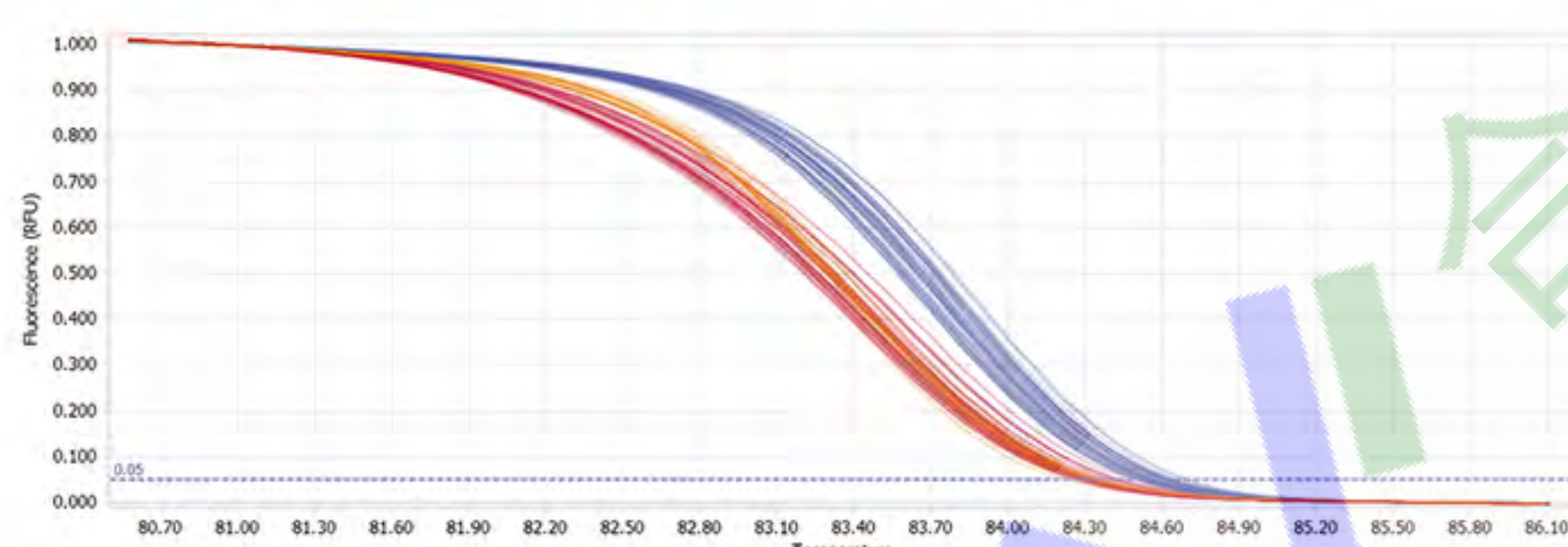
15-20个工作日完成, 具体根据样本数量而定

客户提供

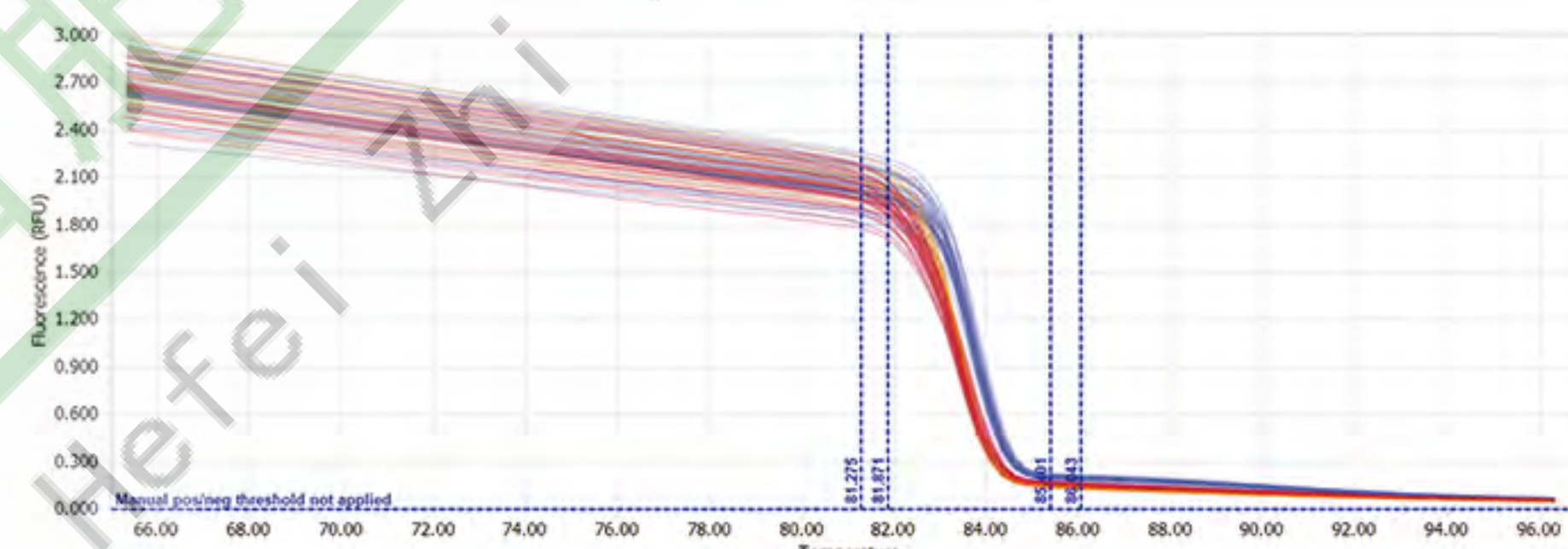
- 动植物组织、血液或DNA样品: DNA浓度在 $>50\text{ng}/\mu\text{l}$ 之间, 体积 $>20\mu\text{l}$
- SNP登录号或详细的SNP检测位点及上下游各200个碱基的DNA模板序列, 最好能提供待检测SNP位点在采样人群中的等位基因频率信息

4. 单核苷酸多态性（SNP分型）检测—案例展示

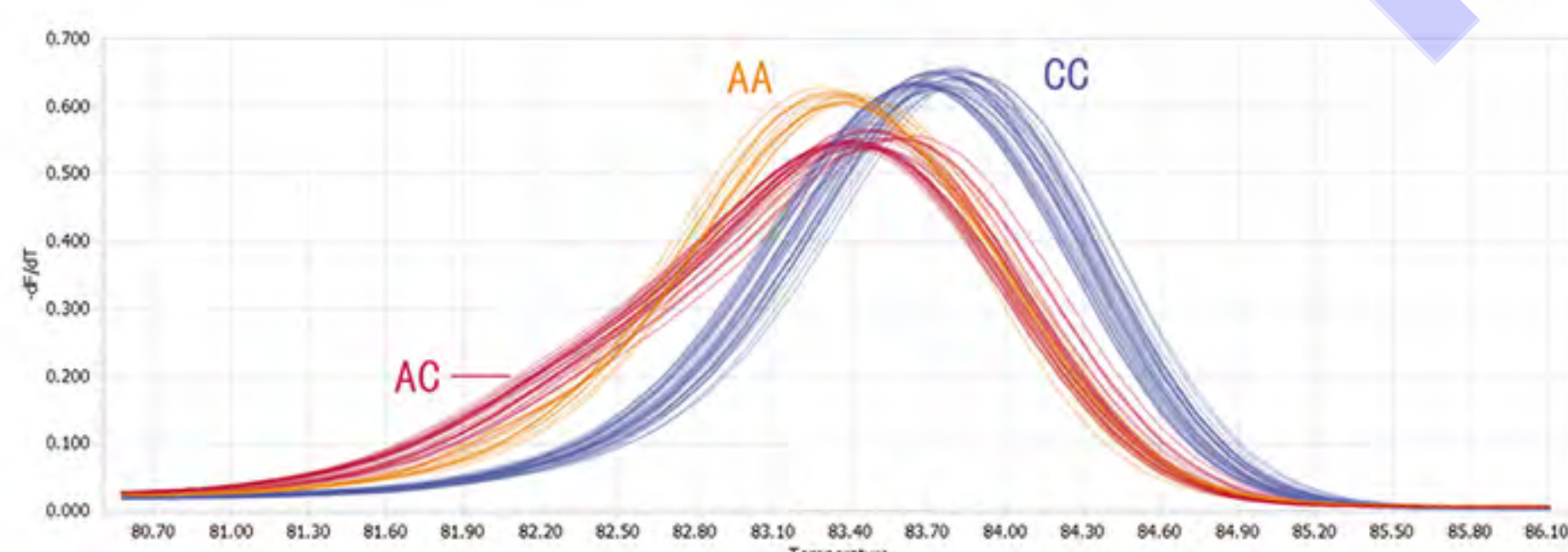
热激蛋白SNP位点HRM检测



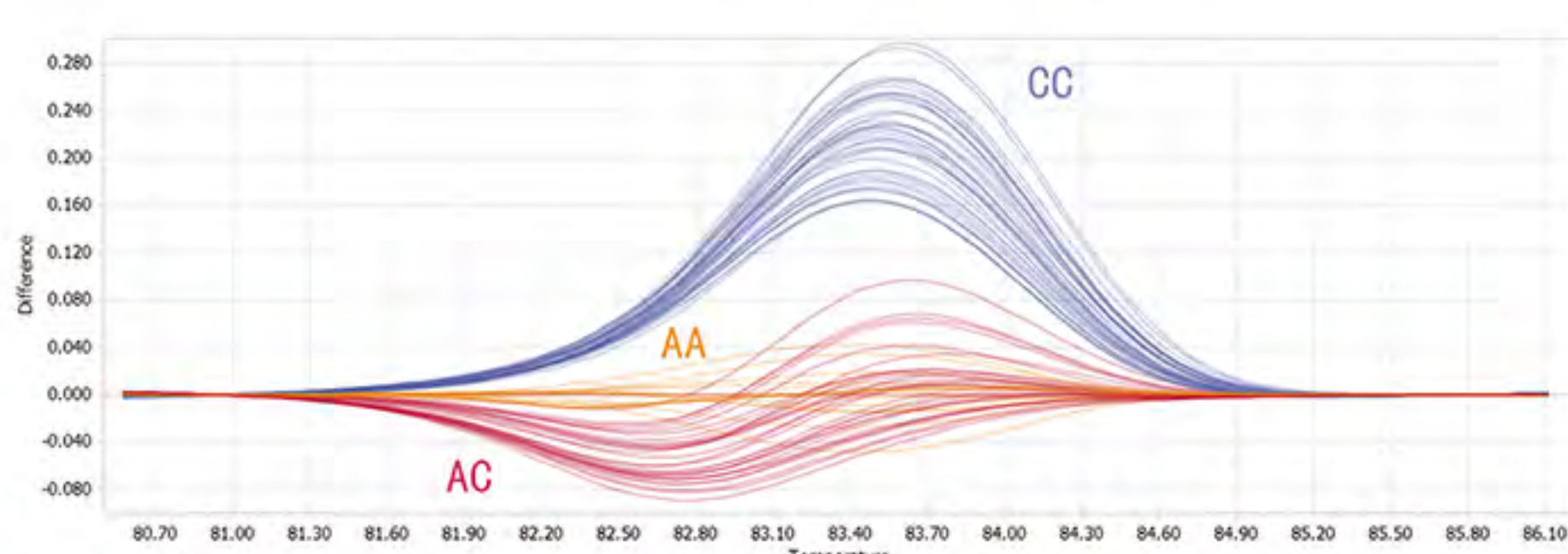
Normalized Melting Curves



Melting Curves

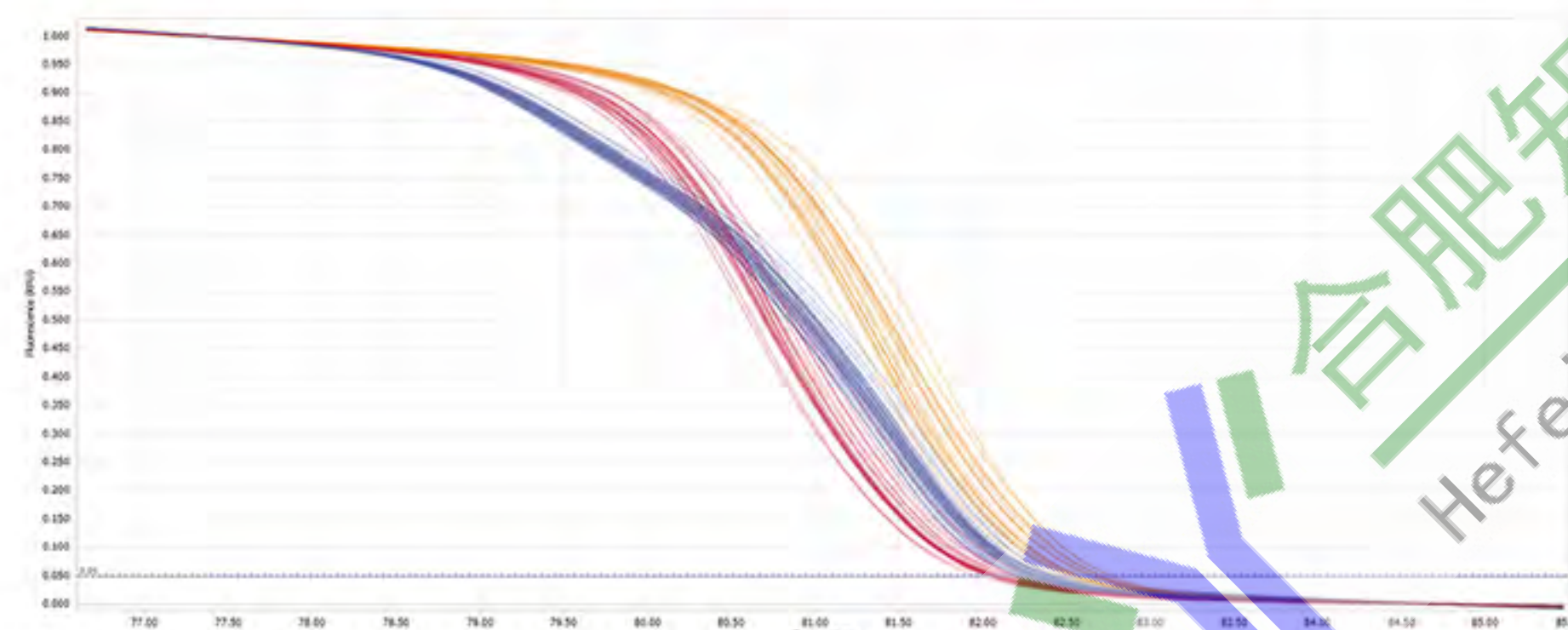


Normalized Melting Peaks

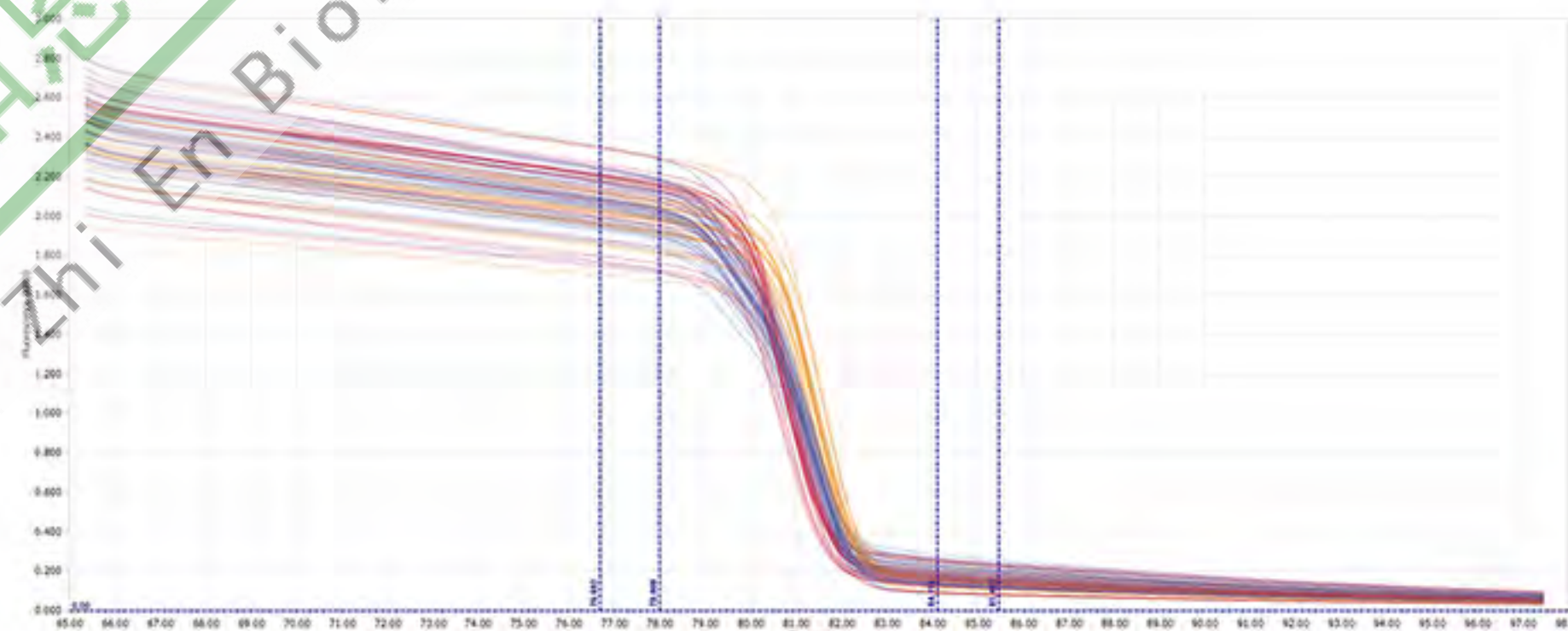


Difference Plot

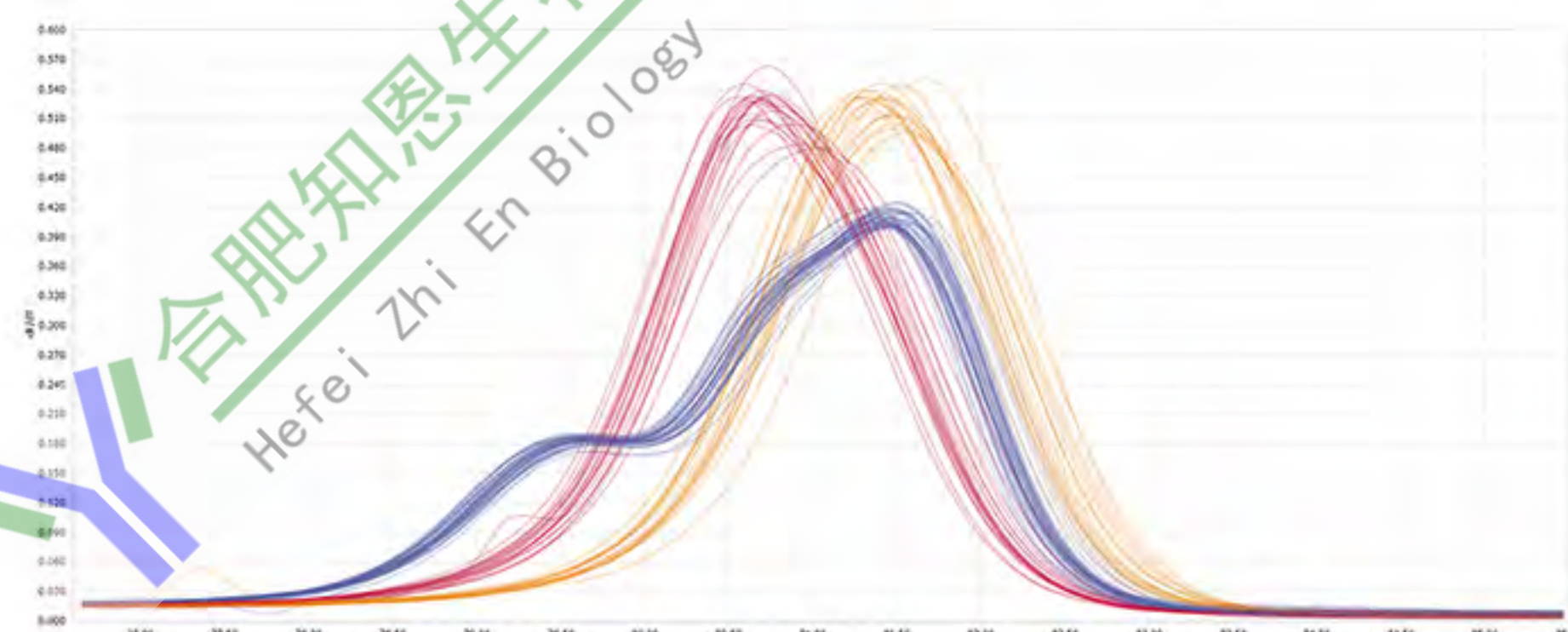
乳清蛋白SNP位点HRM检测



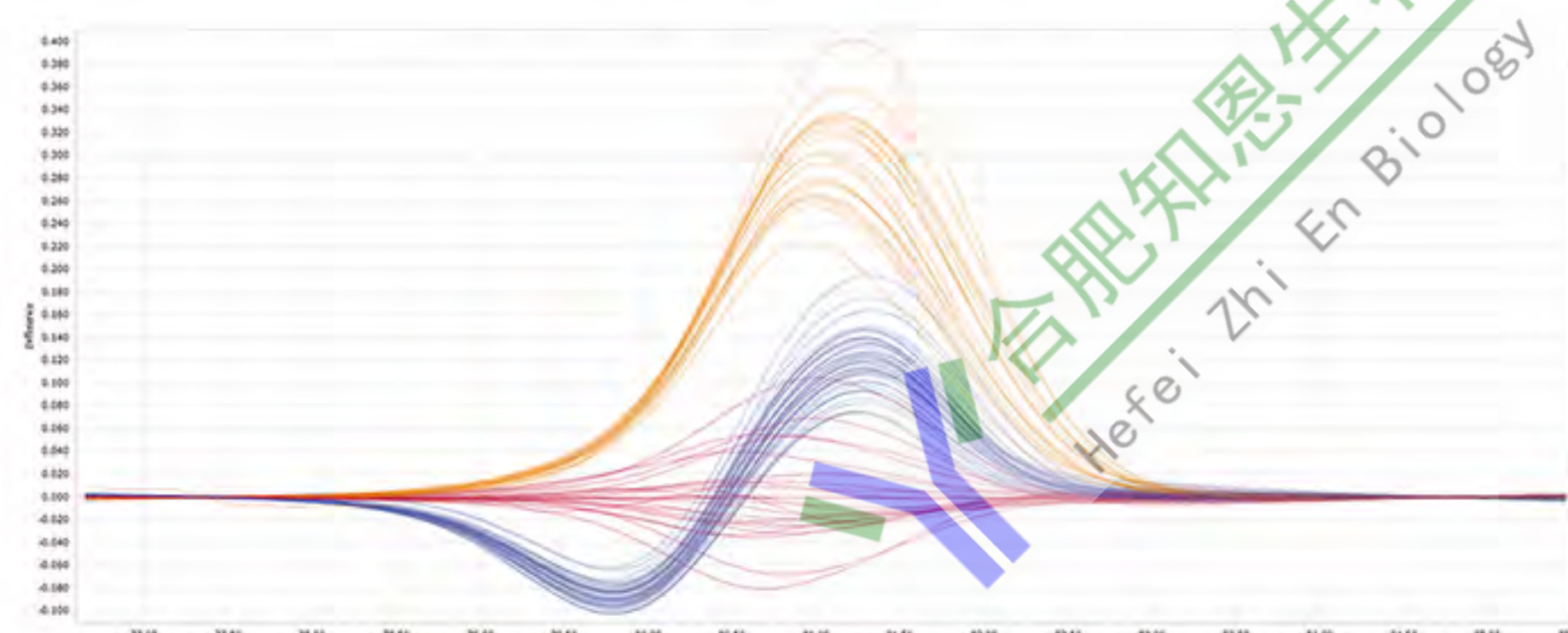
Normalized Melting Curves



Melting Curves



Normalized Melting Peaks



Difference Plot

5. 基因甲基化 (Methylation) 位点检测

服务简介

DNA甲基化是表观遗传学 (Epigenetics) 的重要组成部分。DNA甲基化是在DNA甲基化转移 (DNMTs) 的作用下使CpG二核苷酸5'端的胞嘧啶转变为5'甲基胞嘧啶, 在基因组的某些区域中, 通常位于基因的启动子区或是第一个外显子区, CpG序列密度很高, 可以达到均值的5倍以上。知恩生物基因甲基化位点服务可选择亚硫酸氢转化后测序法 (BSP)、亚硫酸盐修饰后的限制性内切酶法 (COBRA)、甲基化特异性的PCR (Methylation-Specific PCR, MS-PCR)、HRM (高分辨率熔解曲线) 法等

服务流程

- 预测或已确定的甲基化位点; 确定实验方案, 签订合同、客户付启动款
- 基因组DNA提取, 质检, 亚硫酸氢转化
- 样本检测 (BSP或MS-PCR或HRM), 分析结果
- 付清尾款, 发送检测结果及数据分析

质量保证

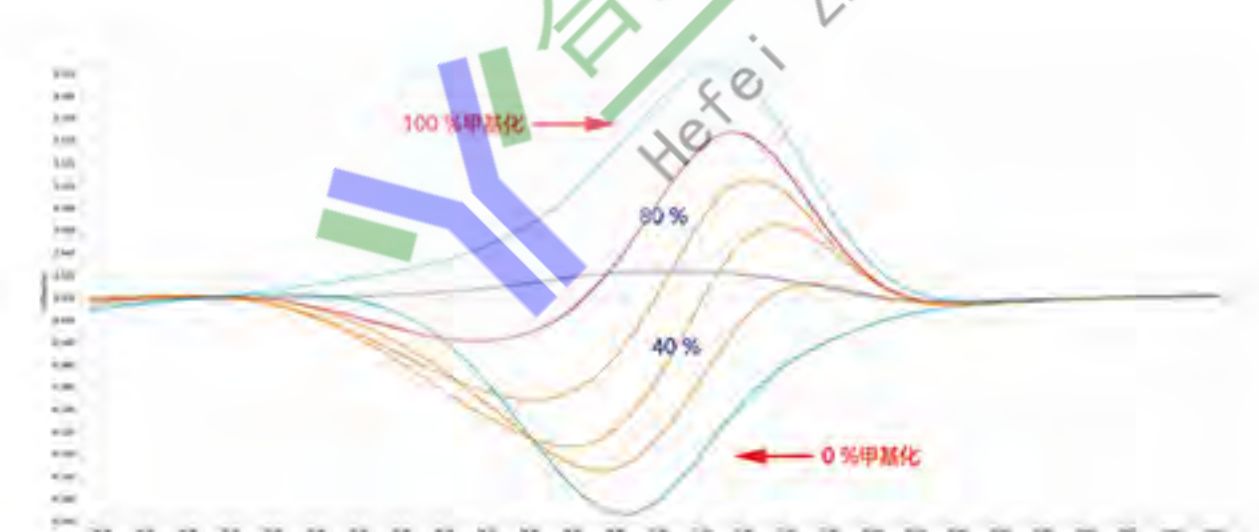
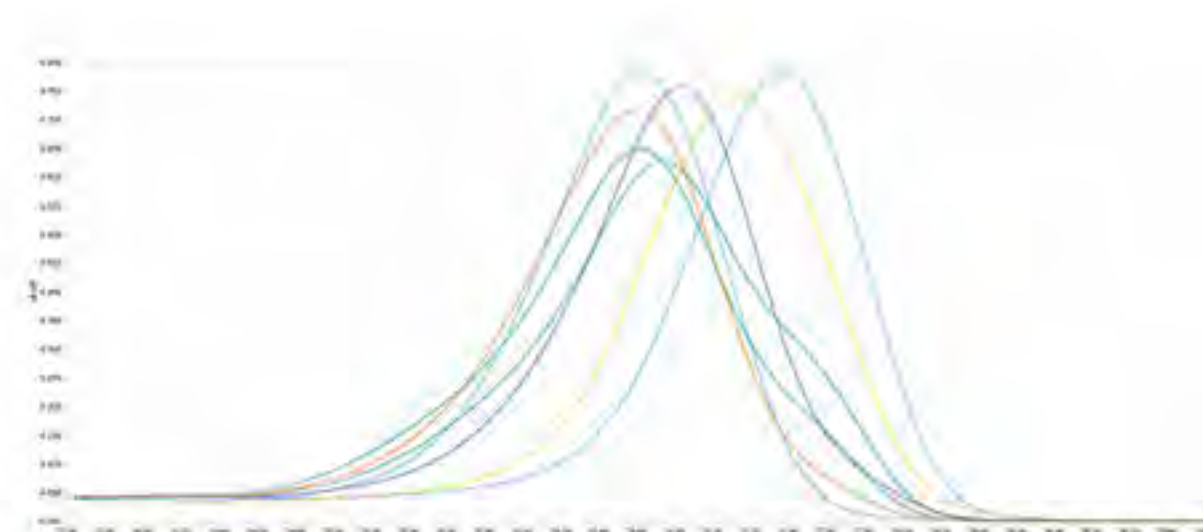
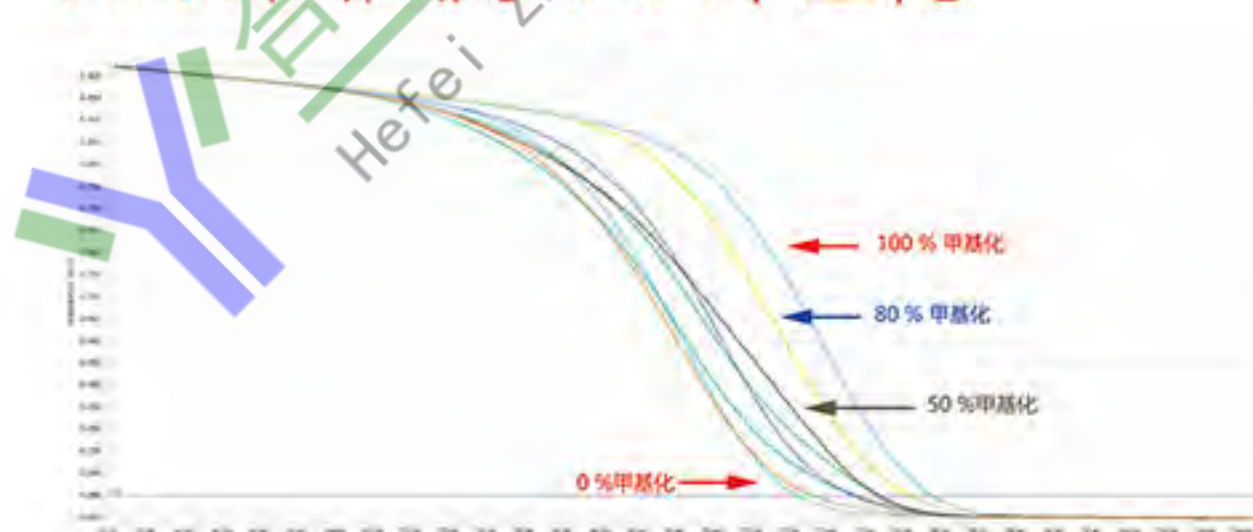
保证浓度和纯度在合格范围

交货期

15-20个工作日完成, 具体根据样本数量而定

案例展示

HRM法检测DNA甲基化



知恩提供

DNA质检, 甲基化结果, 测序峰图, 全部实验记录及实验方案等

客户提供

- 血液样品: 抗凝血 > 0.5ml, 样品采集后于-20℃保存
- 动植物组织样品: 新鲜组织 (-80℃保存) 或石蜡包埋的组织, 大于100mg
- 提供详细基因信息

6. 数字PCR服务 (ddPCR)

服务简介

数字PCR技术是将含有核酸分子的反应体系制成成千上万个纳升级的微滴，其中每个微滴不含待检核酸靶分子，或者含有一个至数个，且每个微滴都是一个独立的PCR反应器，经PCR扩增后采用微滴阅读仪逐个检测。有荧光信号的微滴判读为1；没有荧光信号的微滴判读为0，因此该技术被称为数字PCR。最终根据泊松分布原理及阳性微滴的比例，分析软件可计算给出待检靶分子的浓度或拷贝数。数字PCR是一个全新的绝对定量方式，与传统定量PCR相比：其结果的精确度、准确性和灵敏度更佳、定量的结果不再依赖于Ct值，直接给出靶序列的起始浓度，实现真正意义上的绝对定量。数字PCR适合应用于拷贝数变异、突变检测、基因相对表达研究等，并为遗传病、癌症、传染病、产前诊的研究提供了一种全新的技术思路与手段。

服务流程

- || 分析基因信息，制定实验方案，签订合同、客户付启动款
- || 基因组DNA/RNA提取，质检
- || 探针设计合成，上机扩增，读取结果
- || 分析实验结果，付清尾款，发送检测结果及数据分析

客户提供

- || 血液样品：抗凝血 > 0.5ml，样品采集后于-20℃保存
- || 动植物组织样品：新鲜组织（-80℃保存）或石蜡包埋的组织或95%乙醇中固定的组织，大于100mg
- || 提供详细基因信息

质量保证

核酸提取质检，ddPCR过程结果可靠，提供质量报告以及数据

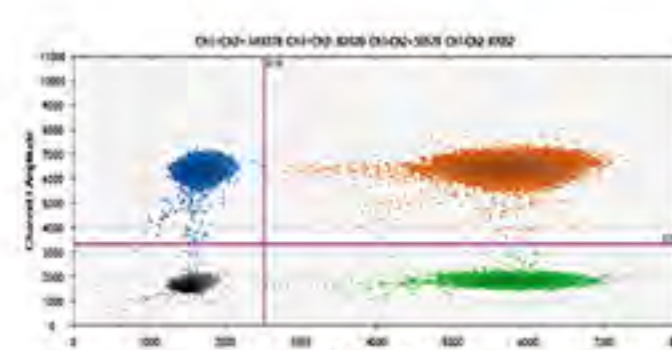
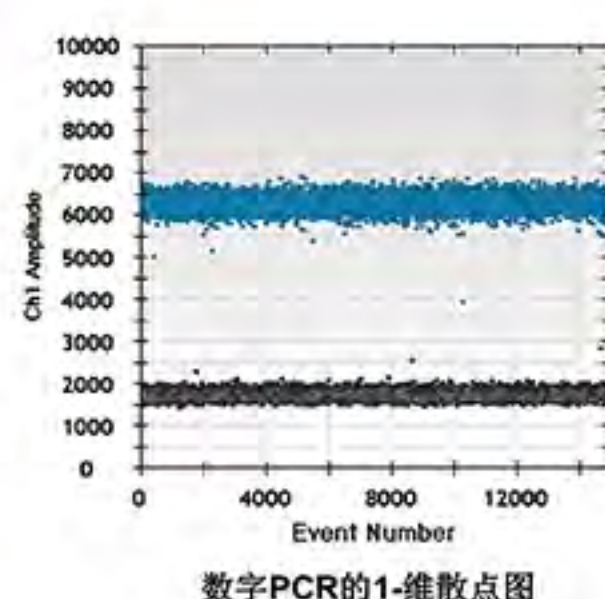
交货期

15-20个工作日完成，具体根据样本数量而定

知恩提供

DNA/RNA提取质检，数字PCR检测结果，详细实验步骤及方案

案例展示



· 纵坐标为荧光强度，横坐标为微滴数
· 蓝色为阳性微滴，灰色为阴性微滴

7. EMSA 凝胶阻滞迁移电泳检测

服务简介

凝胶迁移或电泳迁移率实验 (electrophoretic mobility shift assay, EMSA) 是一种研究DNA/RNA结合蛋白和其相关的DNA/RNA结合序列相互作用的技术, 可用于定性和定量分析。基于DNA-蛋白质或RNA-蛋白质复合体在聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE) 中有不同迁移率的原理, 当转录因子与特异的DNA或RNA结合后, 其在PAGE中的迁移率将小于未结合核蛋白转录因子的DNA, 从而检测到活化的与DNA或RNA结合的蛋白转录或调节因子

服务流程

- 标准蛋白样品制备与定量
- 探针设计合成
- 蛋白与探针等进行反应
- SDS-PAGE电泳
- 紫外胶联
- 杂交孵育
- 图片扫描

知恩提供

- 探针设计合成信息
- 原始数据、实验图片及完整实验报告

质量保证

- 探针设计合理、实验结果准确、报告完整

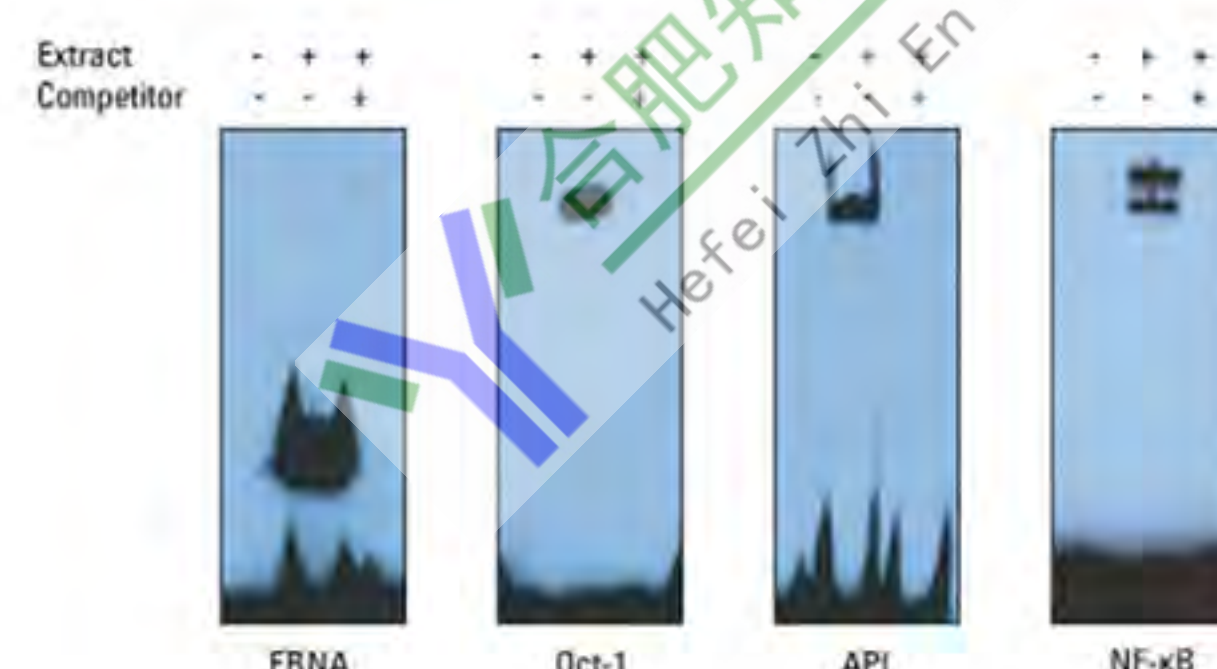
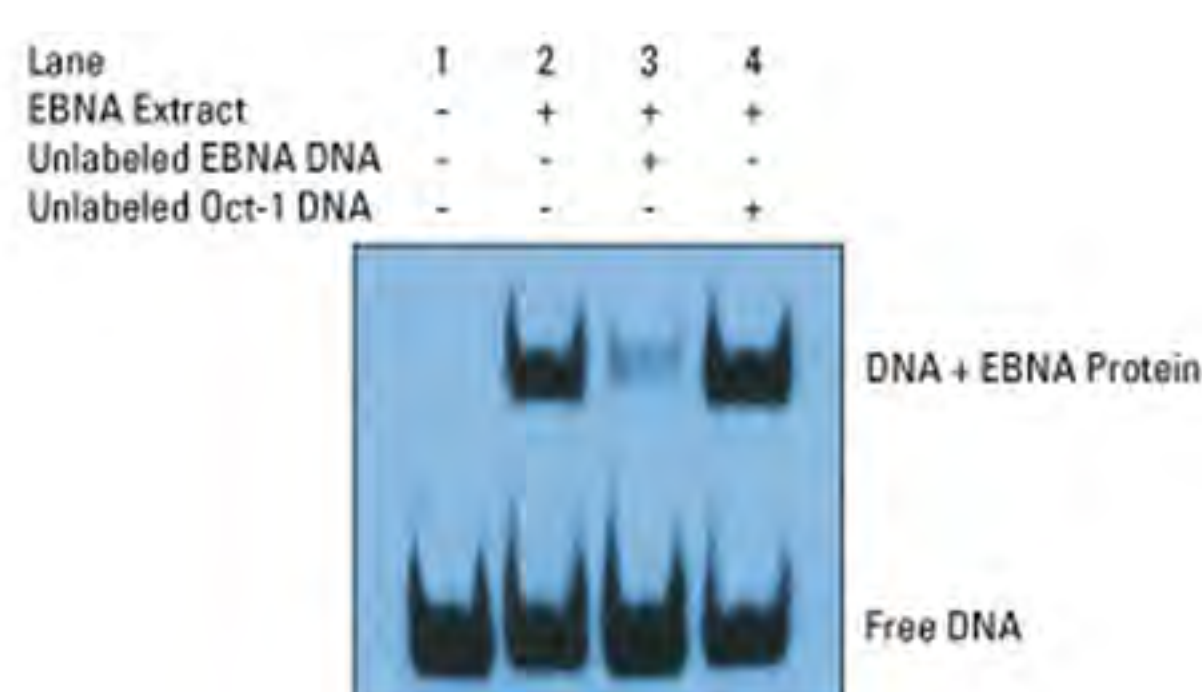
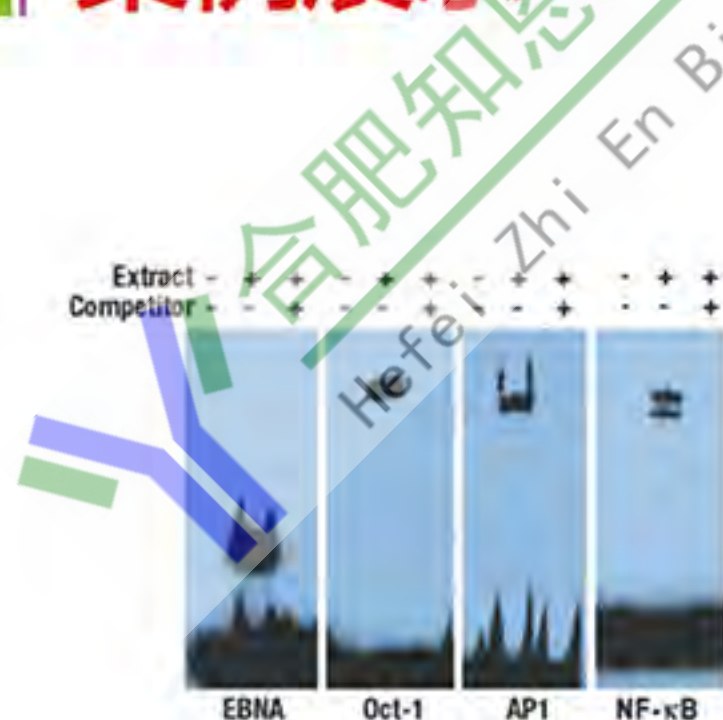
交货期

- 协商

客户提供

- 目的蛋白、阳性对照品、一抗及相关试剂盒
- 预测核酸作用基因序列

案例展示



8. 酶联免疫吸附实验 (Elisa)

服务简介

酶联免疫吸附测定法 (ELISA) 是将已知抗原或抗体吸附在固相载体上, 通过抗原抗体特异性结合吸附待测样品中的抗体或抗原后, 加酶标抗体 (酶与抗体或抗原结合后, 既不改变抗体或抗原免疫反应的特异性, 又不影响酶本身活性) 和底物后, 在相应酶底物的作用下生成有色物质, 其颜色深浅与标记物中相应的抗体或抗原的含量呈正比, 由此可测定抗原或抗体的含量

服务流程

- || 包备抗体
- || 加待检样品
- || 加酶标抗体
- || 显色
- || 发送检测报告

知恩提供

检测实验报告

质量保证

实验结果准确、报告完整

交货期

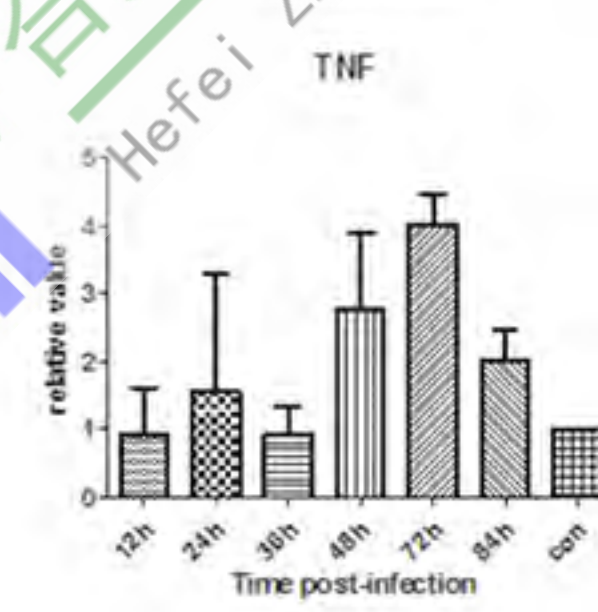
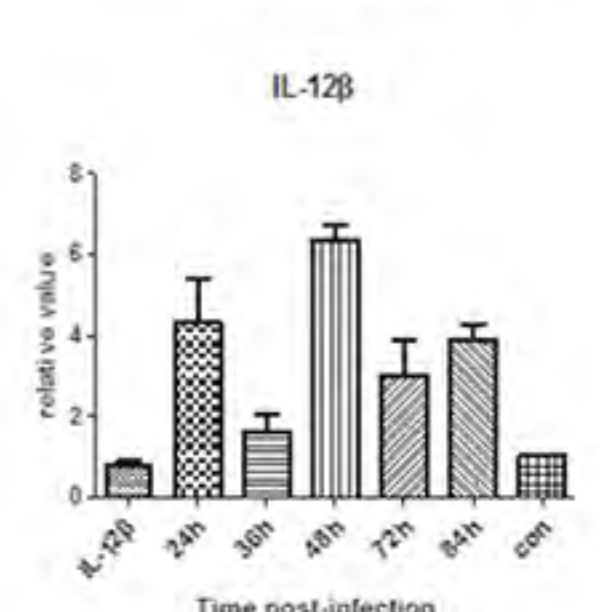
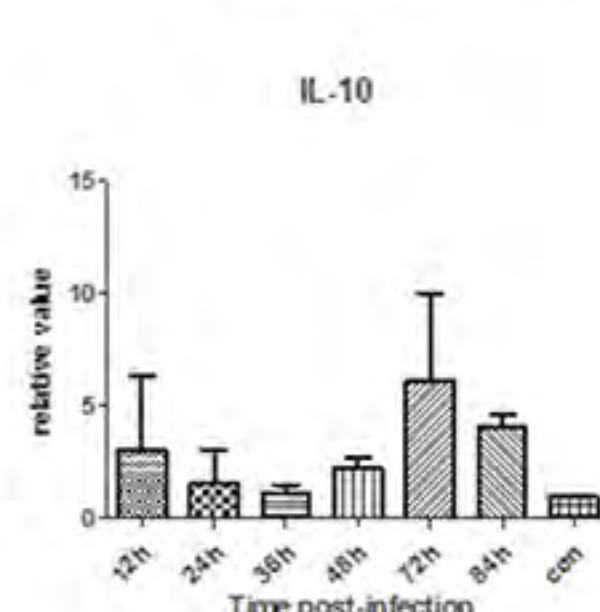
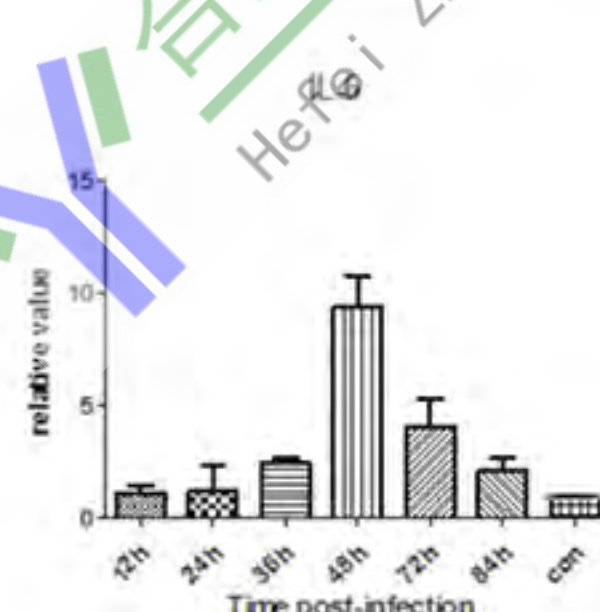
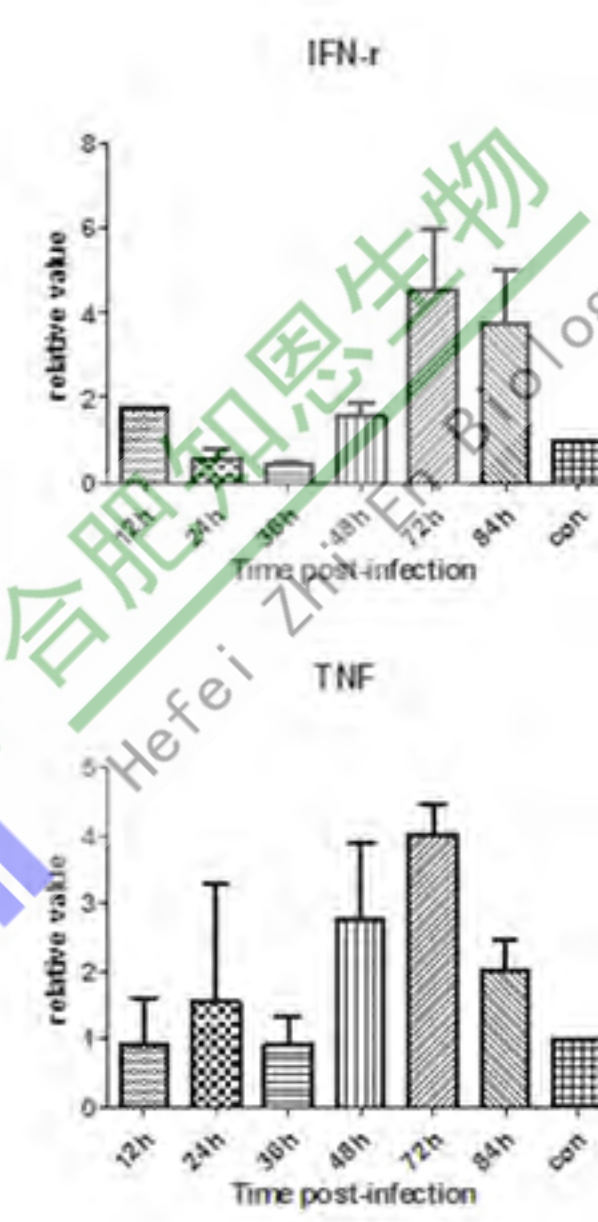
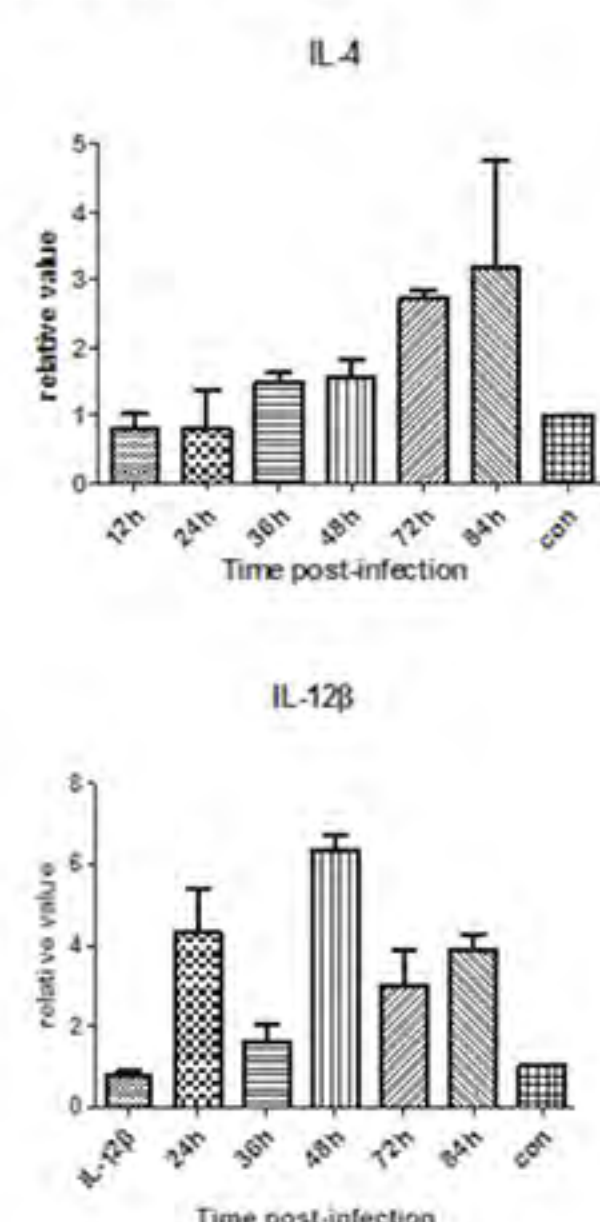
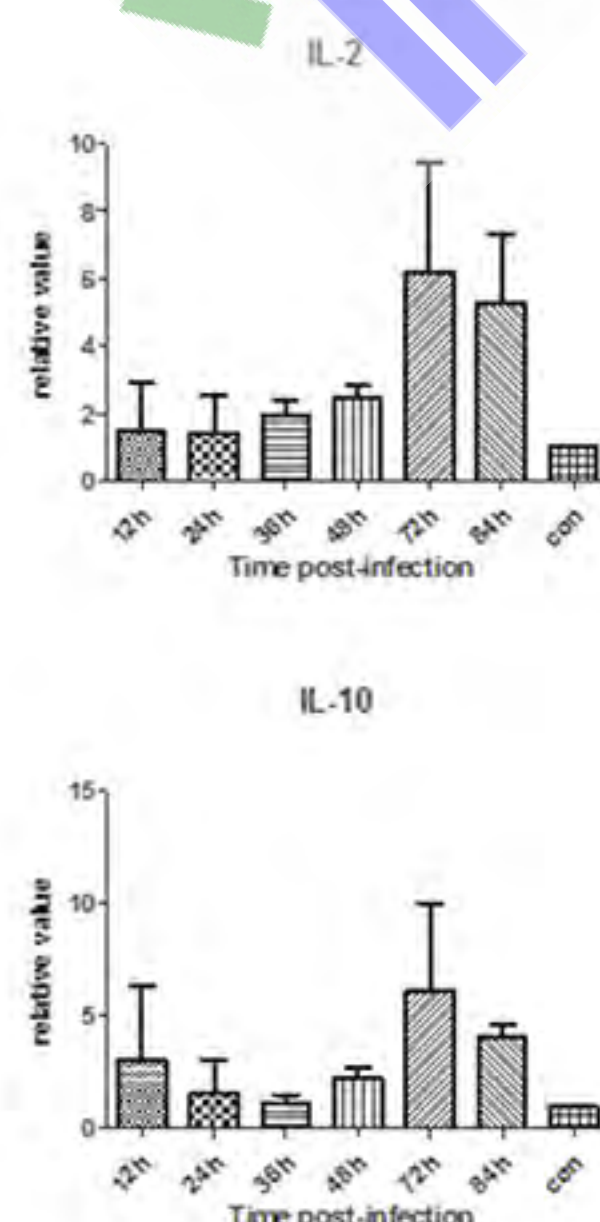
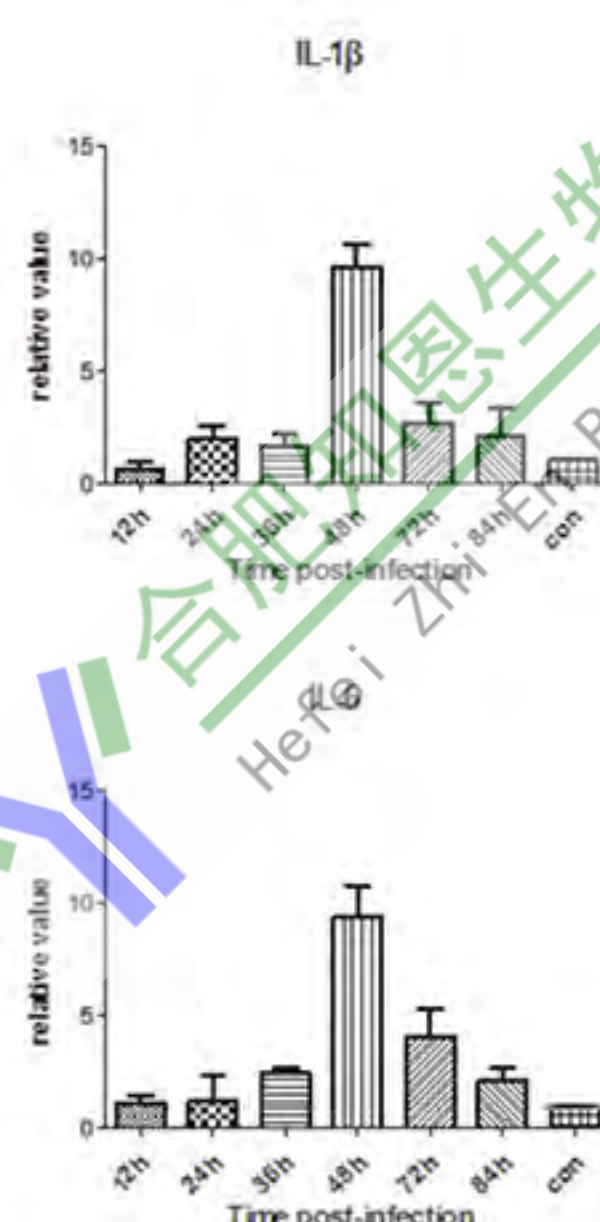
3-5个工作日

客户提供

- || 液态类标本 (细胞培养上清、组织匀浆、血清、血浆、尿液、胸水、腹水、脑脊液等)

案例展示

Chicken embryo poison infection



9. Western Blot

服务简介

Western Blot是根据抗原抗体的特异性结合检测复杂样品中的某种蛋白的方法，它是在凝胶电泳和固相免疫测定技术基础上发展起来的一种新的免疫生化技术。由于免疫印迹具有SDS-PAGE的高分辨率和固相免疫测定的高特异性和敏感性，现有成为蛋白分析的一种常规技术

服务流程

- || 蛋白抽提、定量
- || SDS-PAGE
- || 转膜
- || 封闭
- || 抗体孵育
- || 显色
- || 数据分析

客户提供

- || 提供样品及目标蛋白相关信息

知恩提供

实验图片及完整实验报告

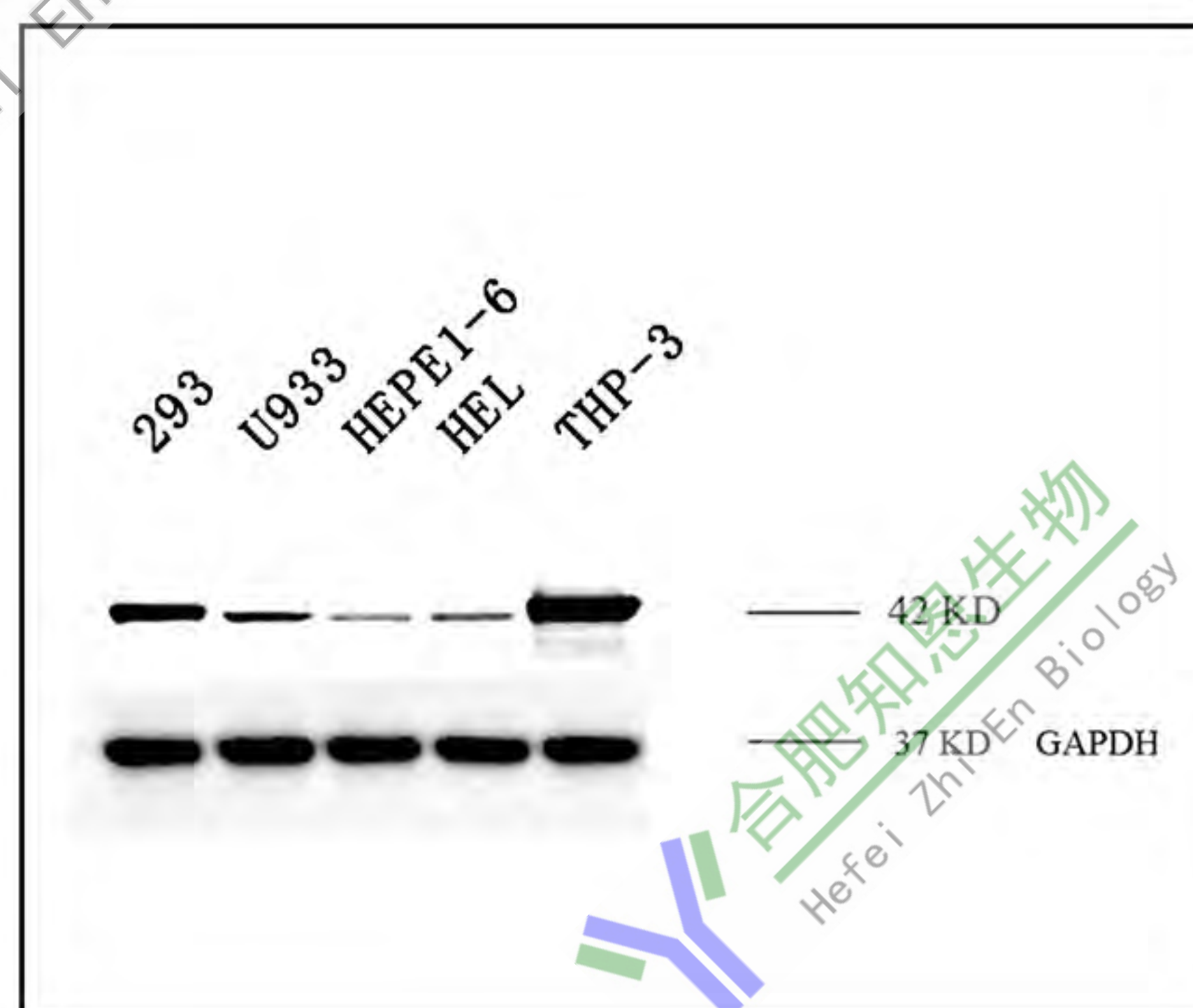
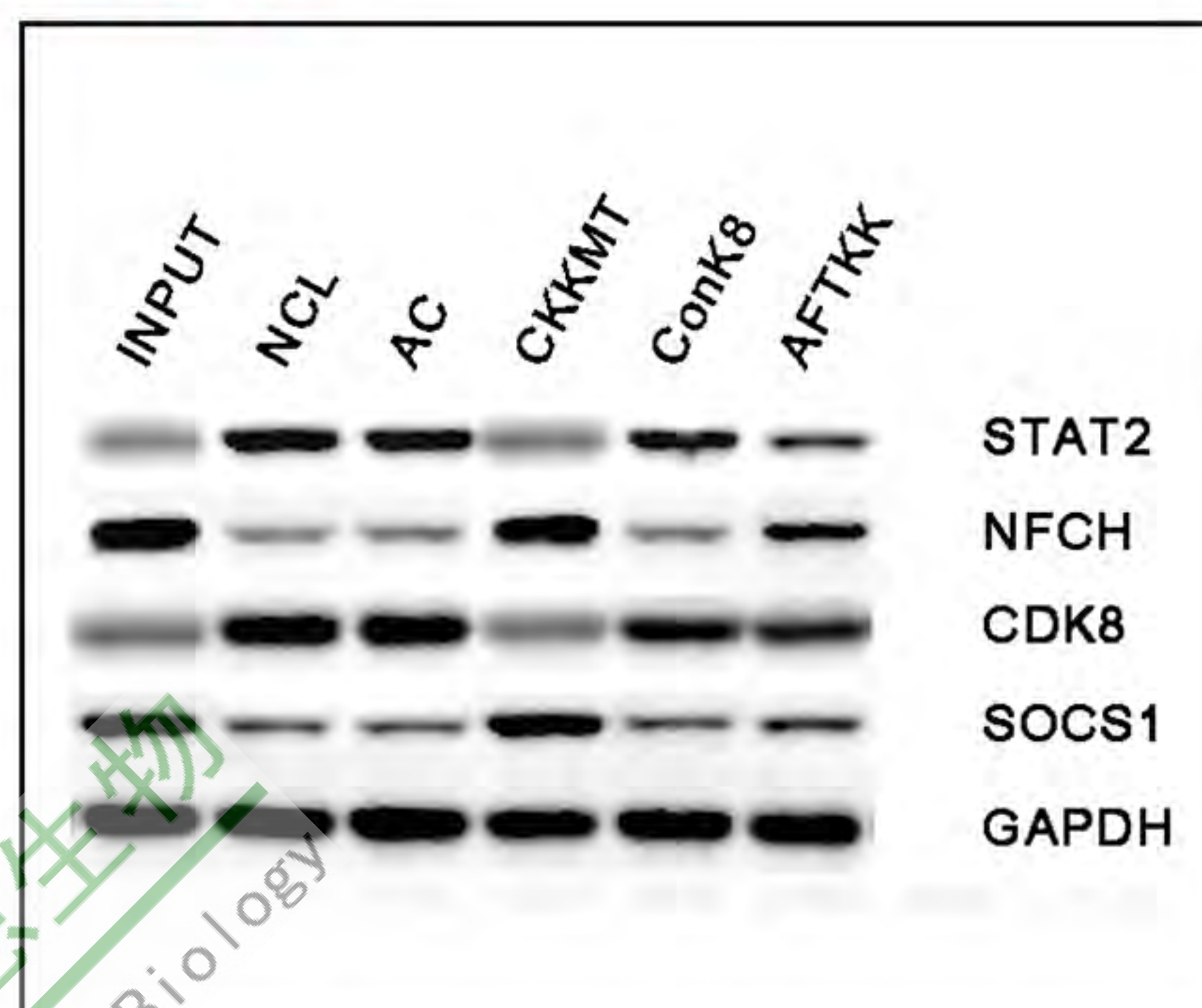
质量保证

图片清晰，报告完整

交货期

3-10个工作日

案例展示



10. 免疫共沉淀 (Co-IP)

服务简介

免疫共沉淀(Co-immunoprecipitation, Co-IP)技术是检测蛋白质间相互作用的经典方法, 它的基本原理是以细胞内源性靶蛋白为诱饵, 将靶蛋白抗体与细胞总蛋白进行共孵育, 促进免疫复合物的形成; 随后加入能够与抗体Fc段结合的protein A/G(预先结合固化在琼脂糖小珠上), 形成“结合蛋白-靶蛋白-靶蛋白抗体-proteinA/G小珠”复合物, 纯化该复合物后凝胶电泳分离蛋白, 应用Western Blot或者质谱技术鉴定靶蛋白的结合蛋白

服务流程

- 提取细胞或组织总蛋白
- 抗体孵育
- 加入proteinA/G孵育
- 加入蛋白A/G和抗体共同孵育
- Western Blot或质谱检测

知恩提供

完整实验报告、检测结果图谱

质量保证

图片清晰, 报告完整

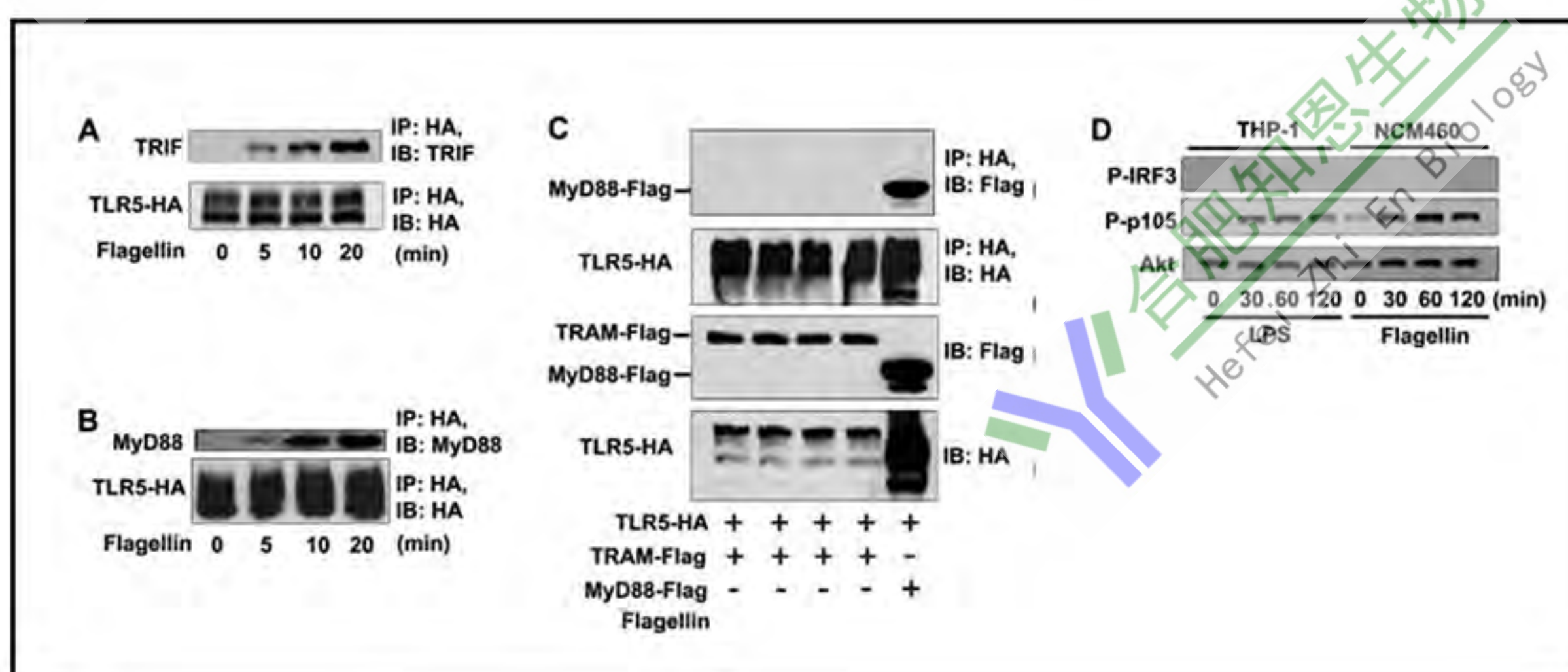
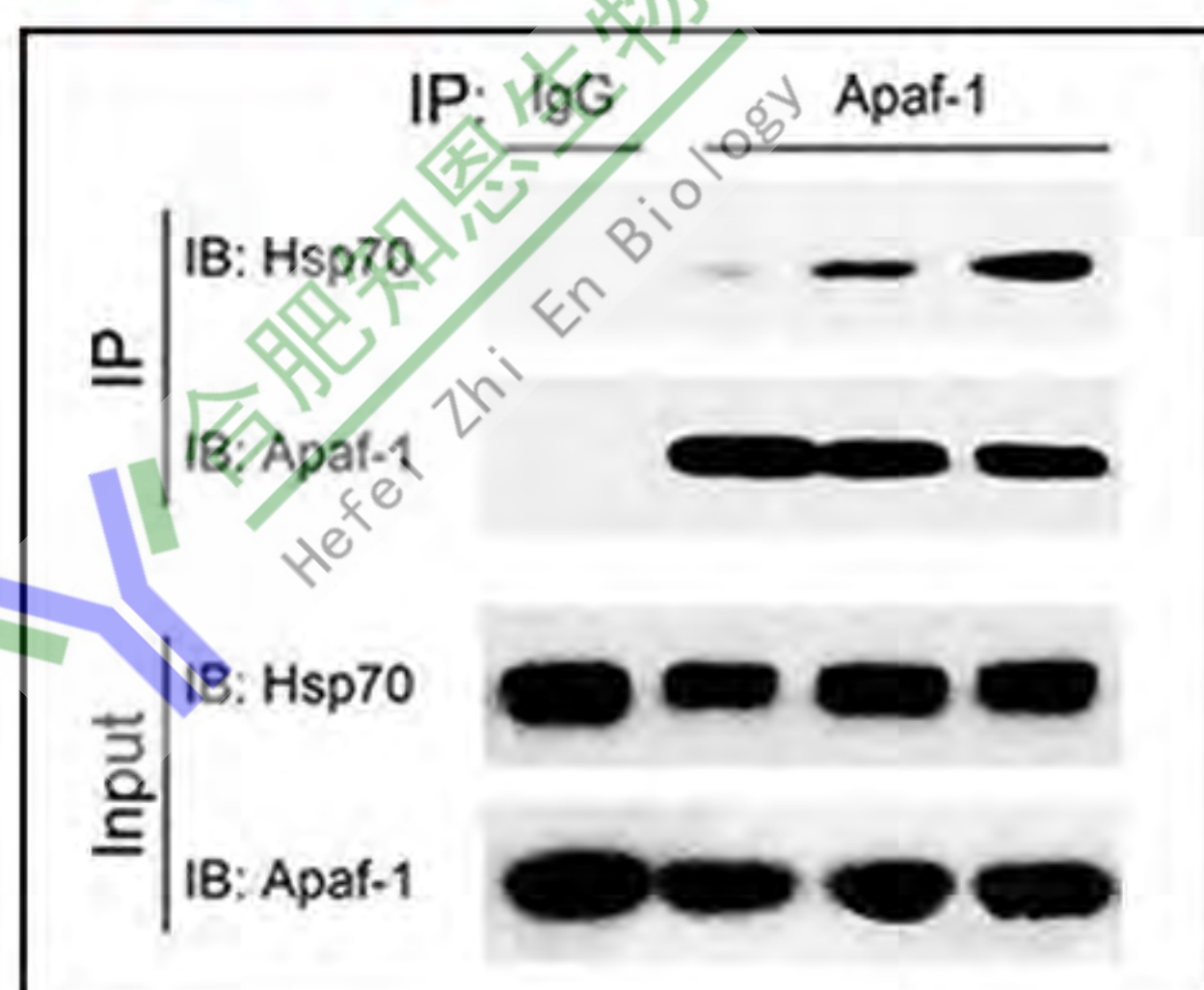
交货期

协商

客户提供

- 待检样本
- 构建好的目的基因表达质粒
- 免疫沉淀用抗体以及检测抗体

案例展示



11.原核表达

服务简介

大肠杆菌表达系统是基因表达技术中发展最早，目前应用最广泛的经典表达系统。与其它的表达系统相比，大肠杆菌表达系统具有遗传背景清楚，目的基因表达水平高，培养周期短，抗污染能力强等特点。在基因表达技术中占有重要的地位，是分子生物学研究和生物技术产业化发展中的重要工具

服务流程

- 目标基因获取及表达质粒构建
- 小量表达及可溶性分析
- 目标蛋白大量表达及纯化
- 交付成品及报告

质量保证

图片清晰、报告完整、交付合格的蛋白成品

交货期

协商

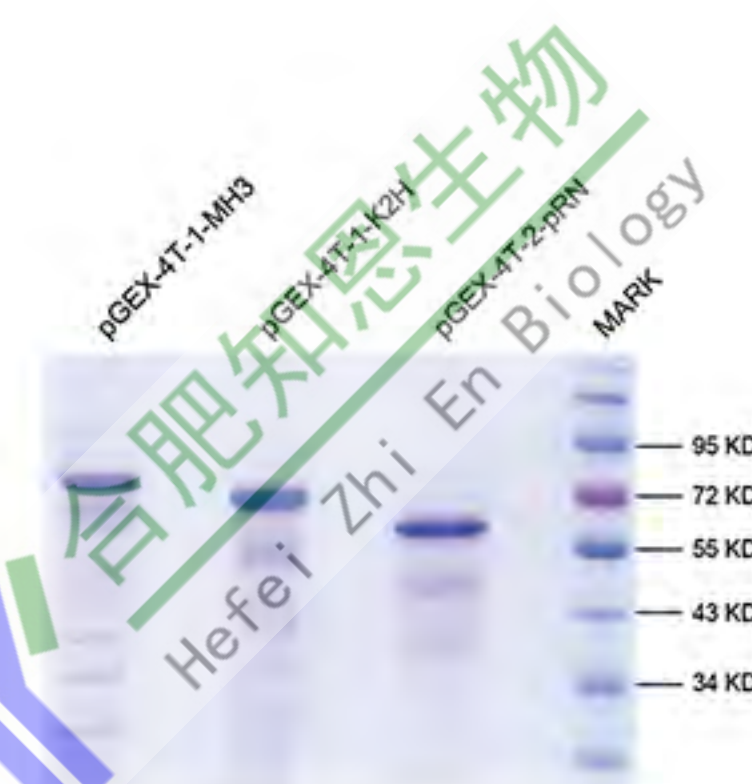
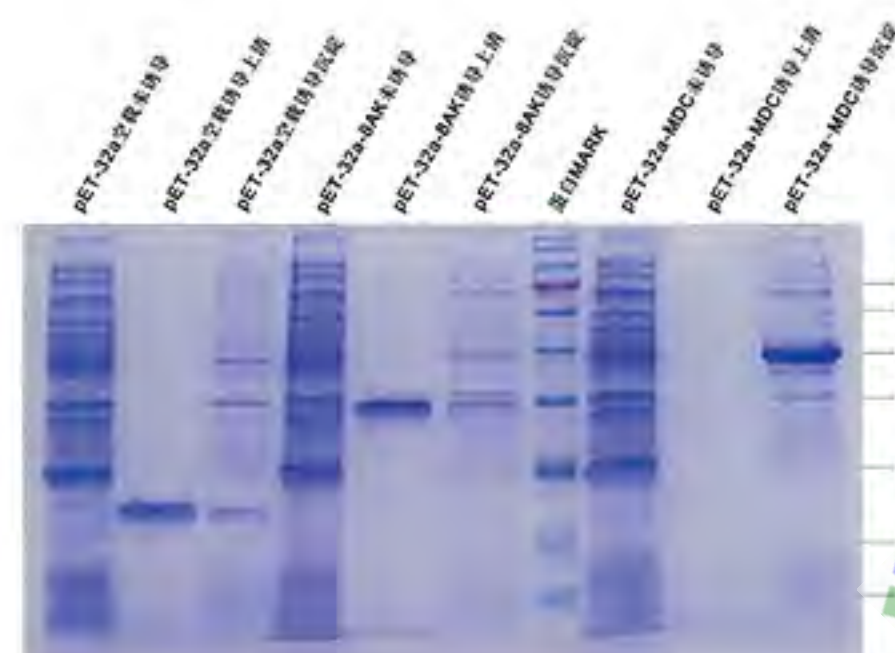
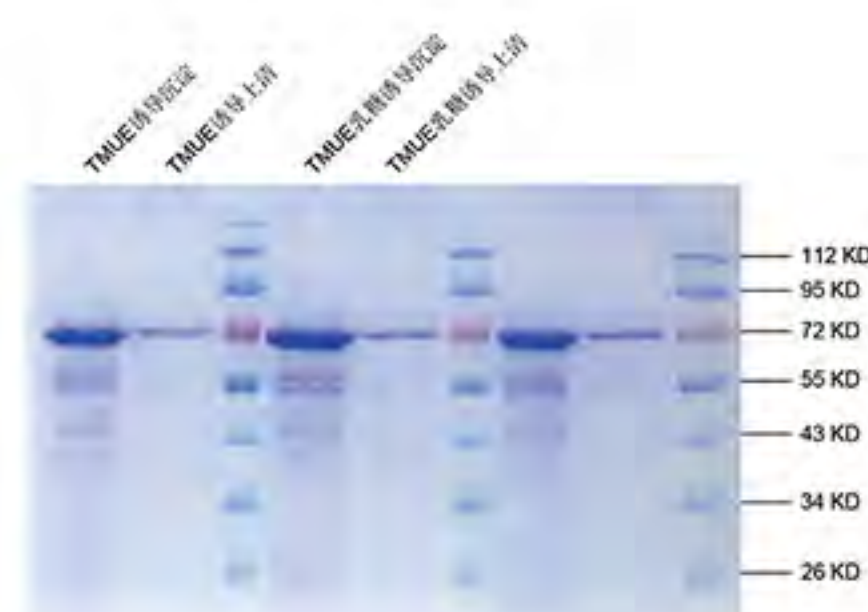
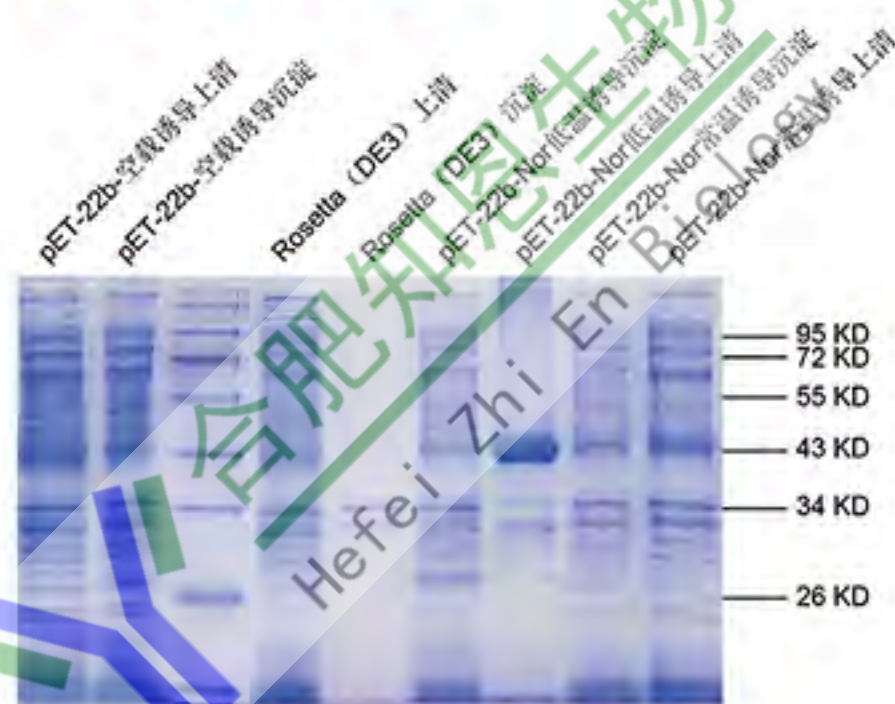
客户提供

- 基因信息及蛋白表达要求（纯度、总量、标签等）

知恩提供

服务流程中各阶段的成品，包括：目的基因、重组表达质粒、含重组质粒的表达菌株、纯化后的目标蛋白。完整的实验报告

案例展示



12. 真核表达

服务简介

由哺乳动物细胞翻译后再加工修饰产生的外源蛋白质，在活性方面远胜于原核表达系统及酵母、昆虫细胞等真核表达系统，更接近于天然蛋白质。知恩生物可以进行蛋白的瞬时表达和稳定表达，通过构建稳定细胞表达株，实现蛋白的稳定分泌表达

服务流程

- 目标基因获取及真核表达质粒构建
- 小量转染及检测表
- 目标蛋白大量表达及纯化
- 筛选稳定高表达细胞株

质量保证

图片清晰、报告完整、交付合格的蛋白成品

交货期

协商

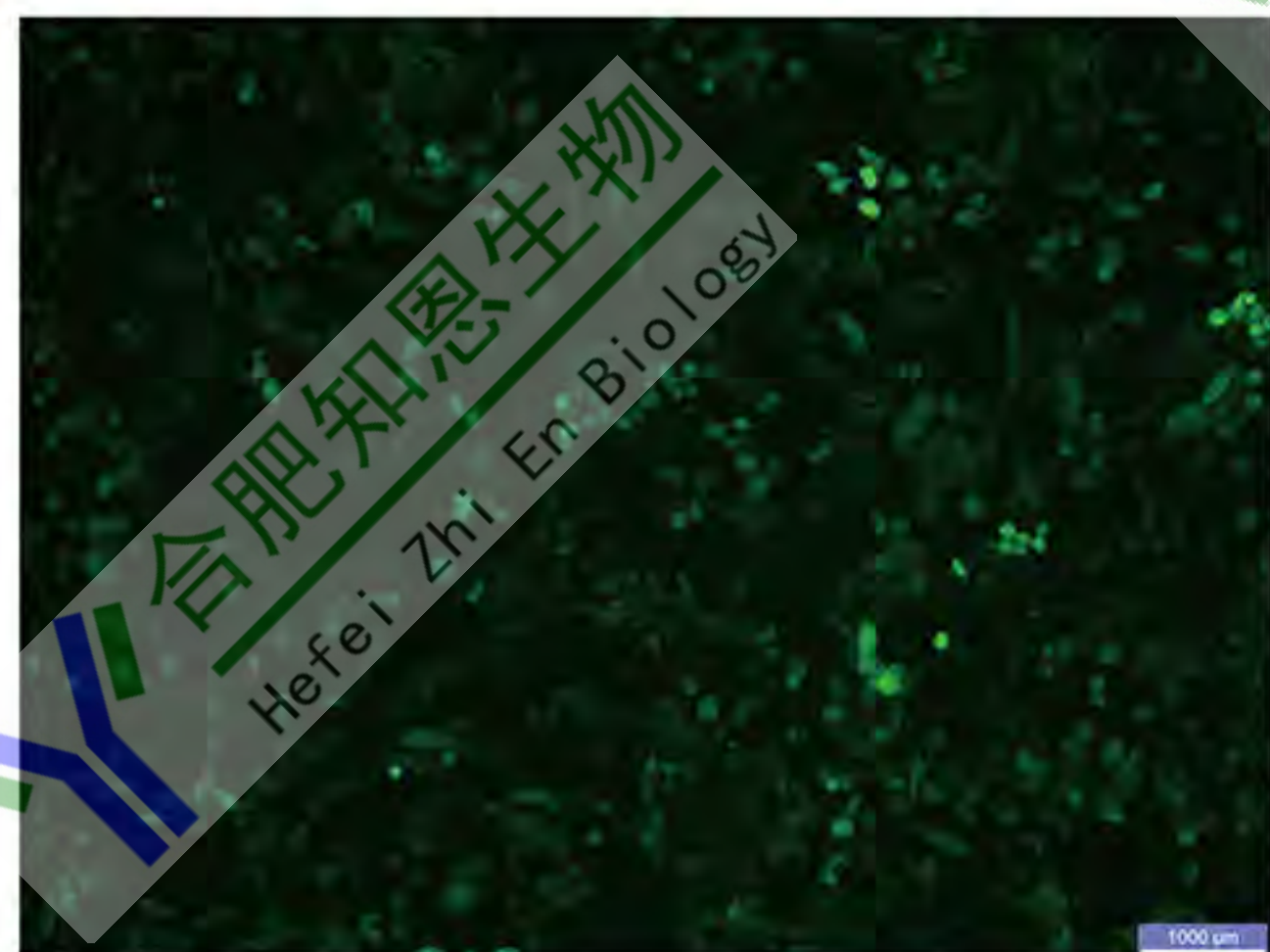
客户提供

- 基因信息及蛋白表达要求（纯度、总量、标签等）

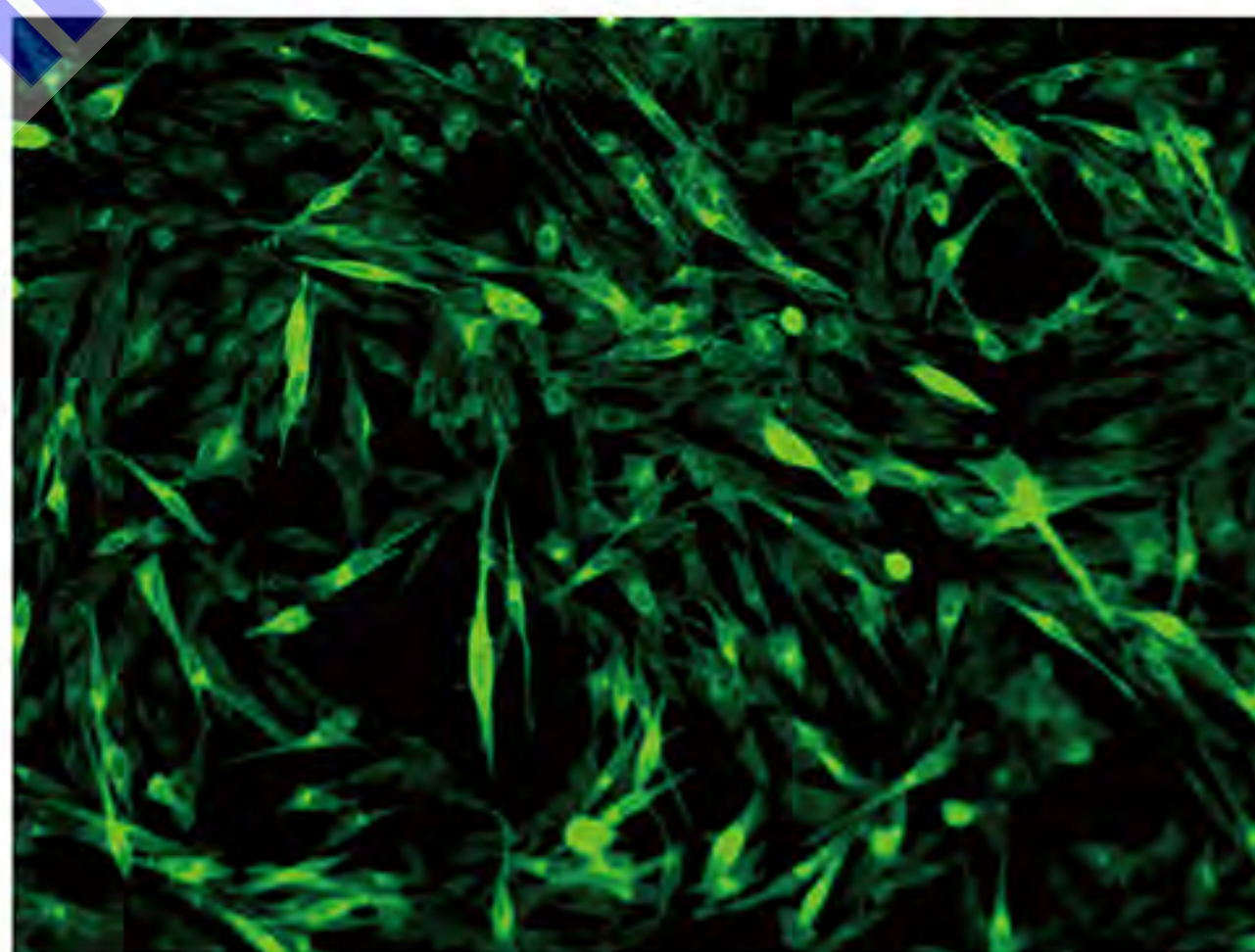
知恩提供

服务流程中各阶段的成品，包括：真核表达质粒；纯化后的目标蛋白完整的实验报告

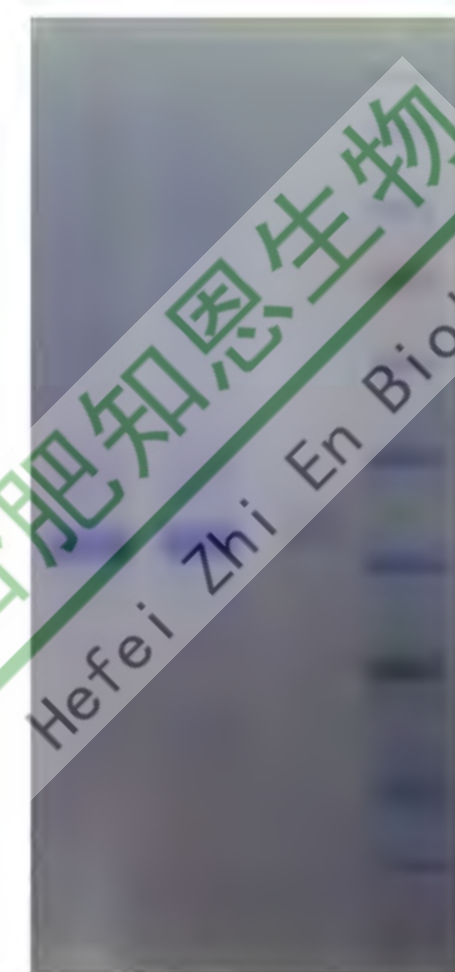
案例展示



CHO稳定细胞株



ArD-pCAGGS BHK细胞瞬时表达



稳定株分泌表达蛋白

1.病理切片与染色

服务简介

病理切片是将病变的动物组织或脏器先经过各种物理或化学品包埋处理后，使其固定硬化，再通过切片机切成薄片，粘附在载玻片上，进行各种染色，最后通过镜检观察组织及器官的病变情况。根据样本固定的方式不同，分为石蜡切片和冰冻切片两大类。常用的染色方法有masson染色、番红-固绿染色、HE染色、天狼猩红染色、油红O染色、吉姆萨染色等

服务流程

- 确定样本类型，切片种类，切片方式、观察位置等
- 进行切片、染色、显微镜下观察并拍照
- 付清尾款，发送拍摄图片，及实验步骤，实验材料信息等

质量保证

切片位置正确，染色清晰，多个位置及放大倍数拍摄图片

客户提供

- 客户提供多聚甲醛固定的组织样本或者其他新鲜样本
- 确定切片种类，切片方式、观察位置等

交货期

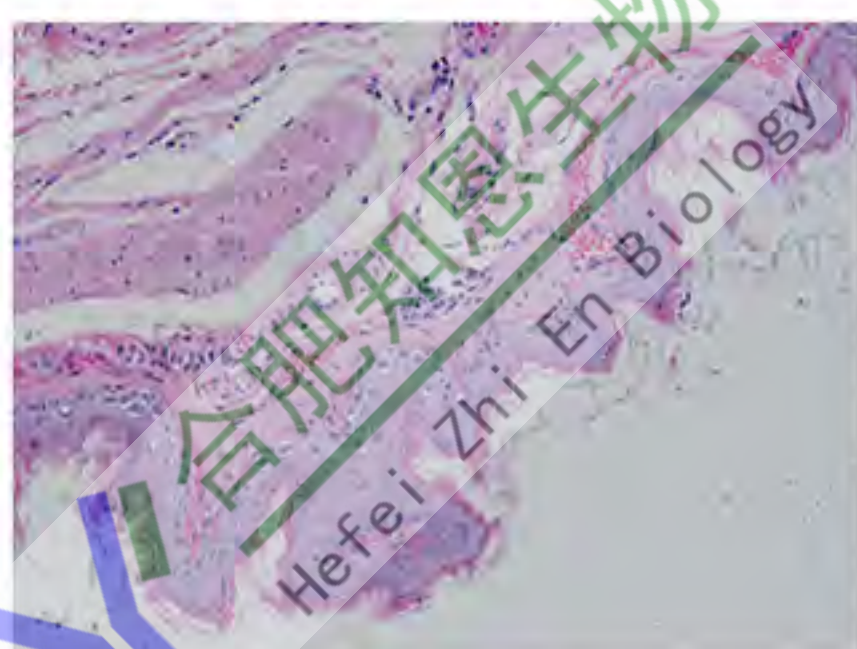
10-15个工作日完成，具体根据样本数量而定

知恩提供

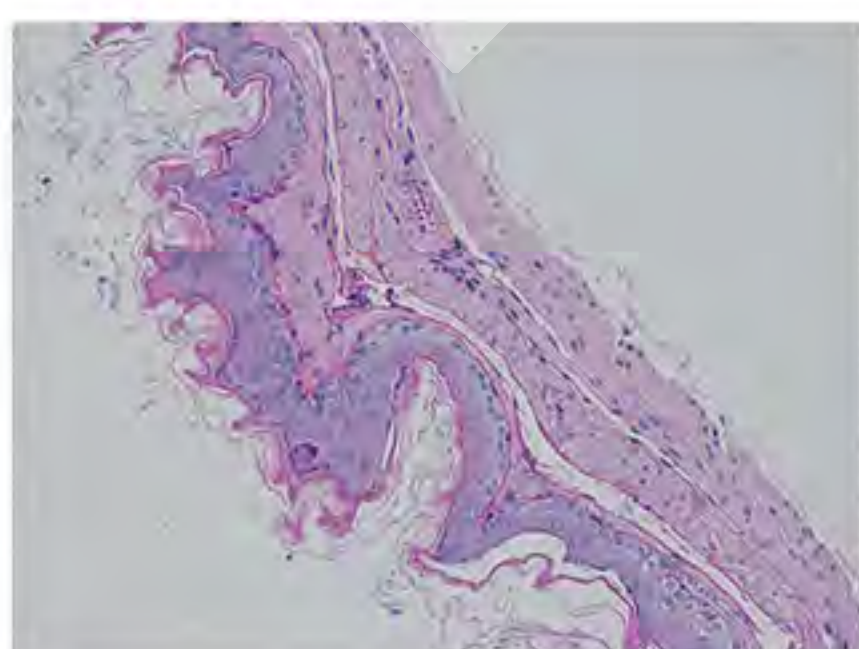
完整实验报告：包括实验方法、步骤、所用试剂、仪器、照片及相关分析数据等

案例展示

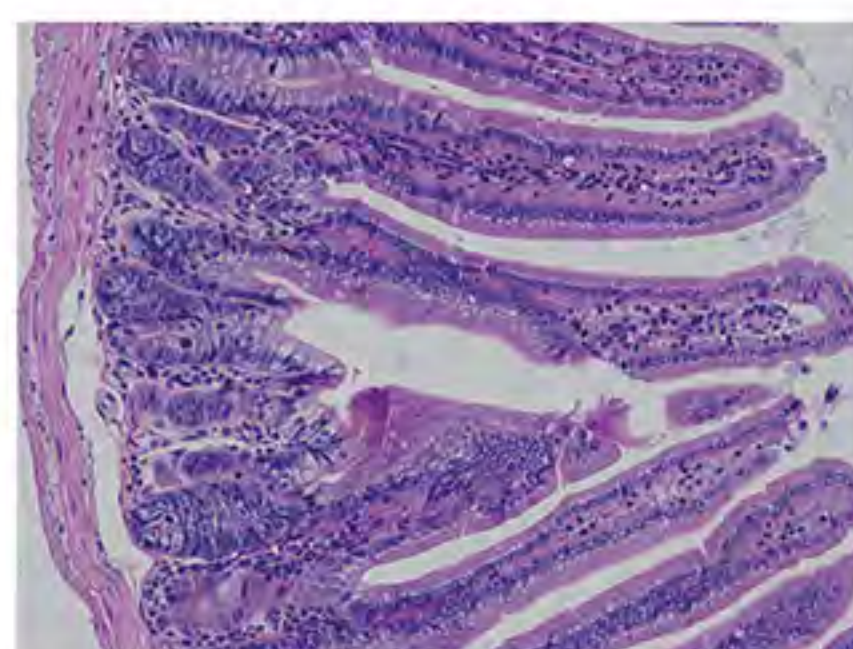
小鼠脏器HE染色



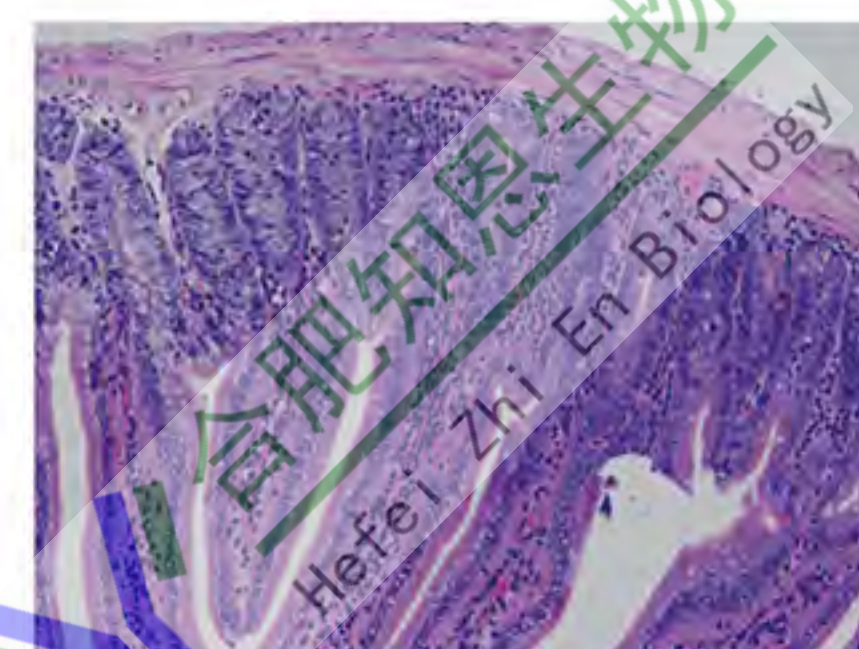
胃 (1)



胃 (2)



小肠 (1)



小肠 (2)

2. 免疫组化

服务简介

免疫组织化学是观察组织病理变化及特定蛋白表达的经典方法。该方法通过特异性的抗体跟病理切片后的组织抗原进行结合，然后再加显色剂作用于酶标抗体，最后通过显色情况来确定组织细胞内的抗原，对其进行原位定量及定性检测

服务流程

- 确定切片种类、观察位置、一抗信息等
- 进行切片、免疫组化实验、显微镜下观察并拍照
- 付清尾款，发送拍摄图片及实验步骤，实验材料信息等

质量保证

免疫组化显色良好，图片拍摄清晰

交货期

12-16个工作日完成，具体根据样本数量而定

客户提供

- 固定的组织或者细胞样本
- 提供待检抗原，检测用一抗信息
- 确定切片种类及拍摄位置等

知恩提供

完整实验报告：包括实验方法、步骤、所用试剂、仪器、组化结果拍摄图片

案例展示

黄病毒感染鸡肝脏

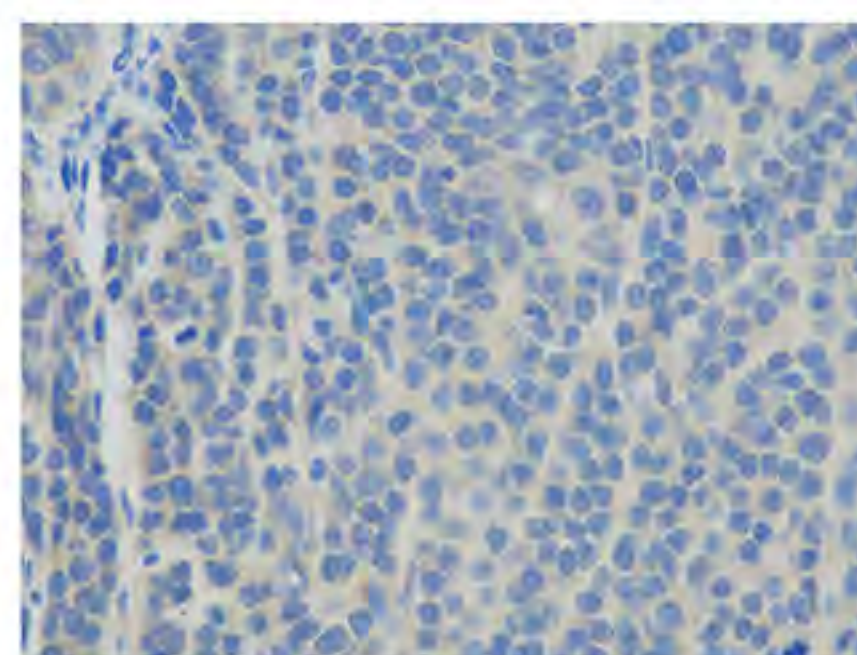


正常鸡肝组织

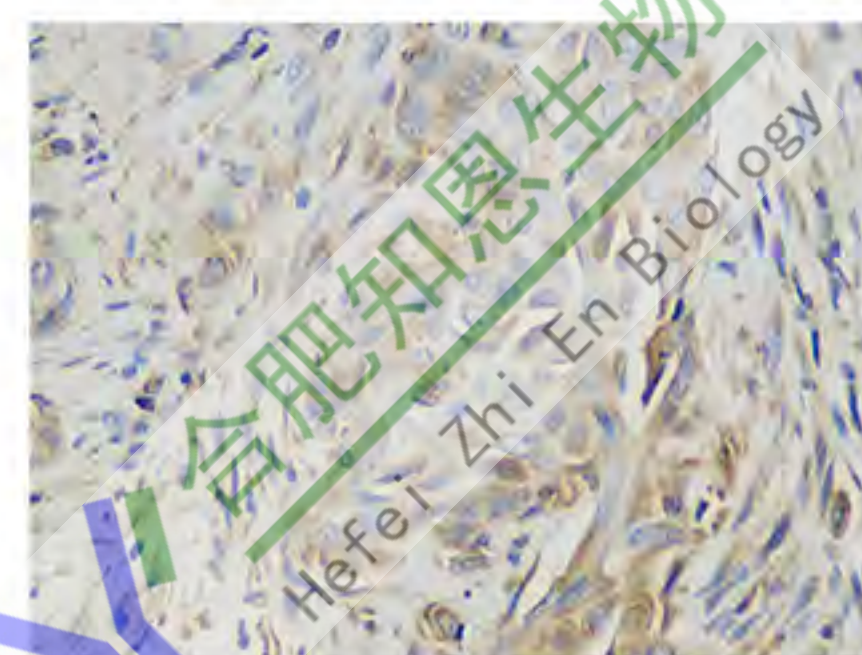


感染后鸡肝组织

犬脾脏免疫组化



正常犬脾脏



发病后犬脾脏

3. 免疫荧光

服务简介

免疫荧光可以用于石蜡切片、冰冻切片或爬片细胞样本的检测。样本经过处理后,通过特异性抗体对待检抗原进行结合,然后以荧光标记的二抗进行检测,最后通过荧光显微镜进行观察。当抗原抗体复合物中的荧光素受激发光的照射后会发出一定波长的荧光,从而可以用于对组织中的抗原定位或定量

服务流程

- 确定样本种类、切片方法、观察位置、一抗信息等
- 进行切片、组化实验、荧光显微镜观察及拍照
- 付清尾款,发送拍摄图片及实验步骤,实验材料信息等

质量保证

免疫组化位置选择准确,荧光图片拍摄清晰

客户提供

- 固定的组织或者细胞爬片样本(细胞亦可)
- 提供待检抗原,检测用一抗信息
- 确定切片种类及拍摄要求等

交货期

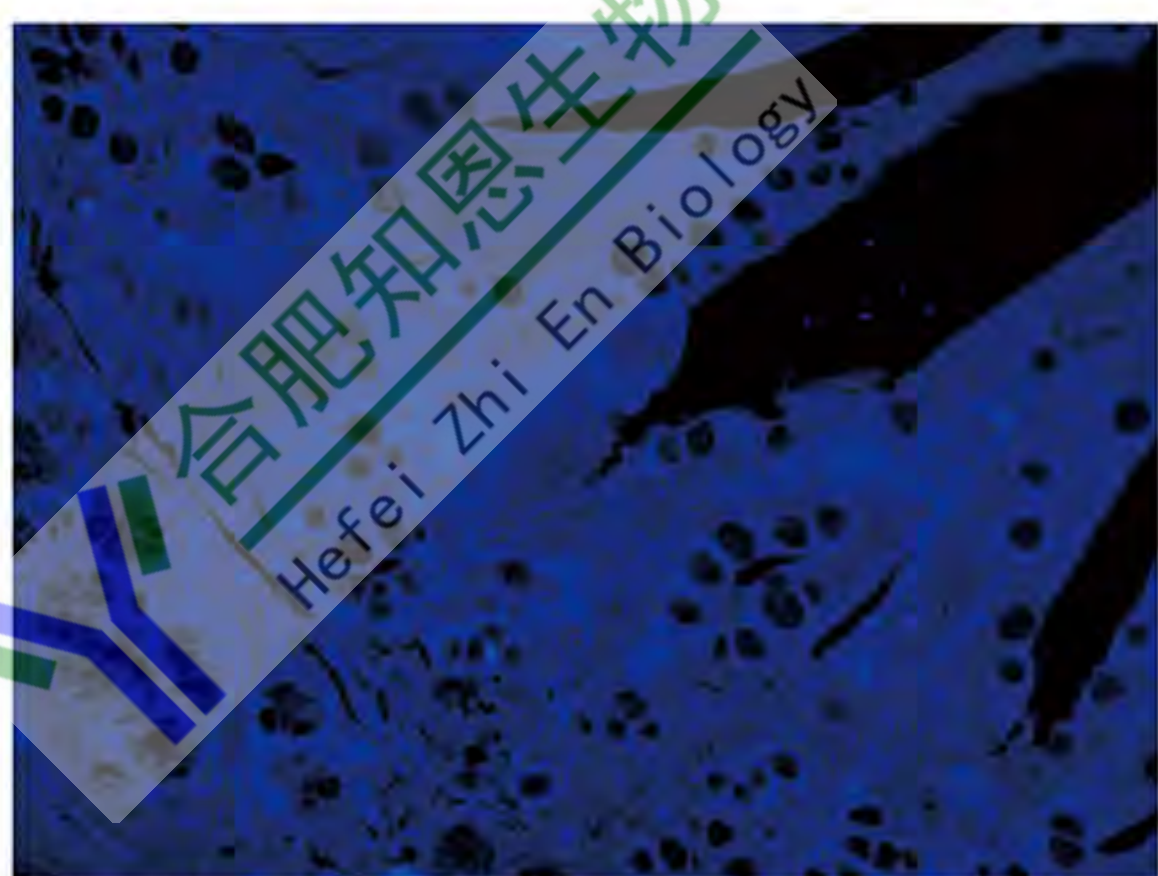
15-20个工作日完成,具体根据样本数量而定

知恩提供

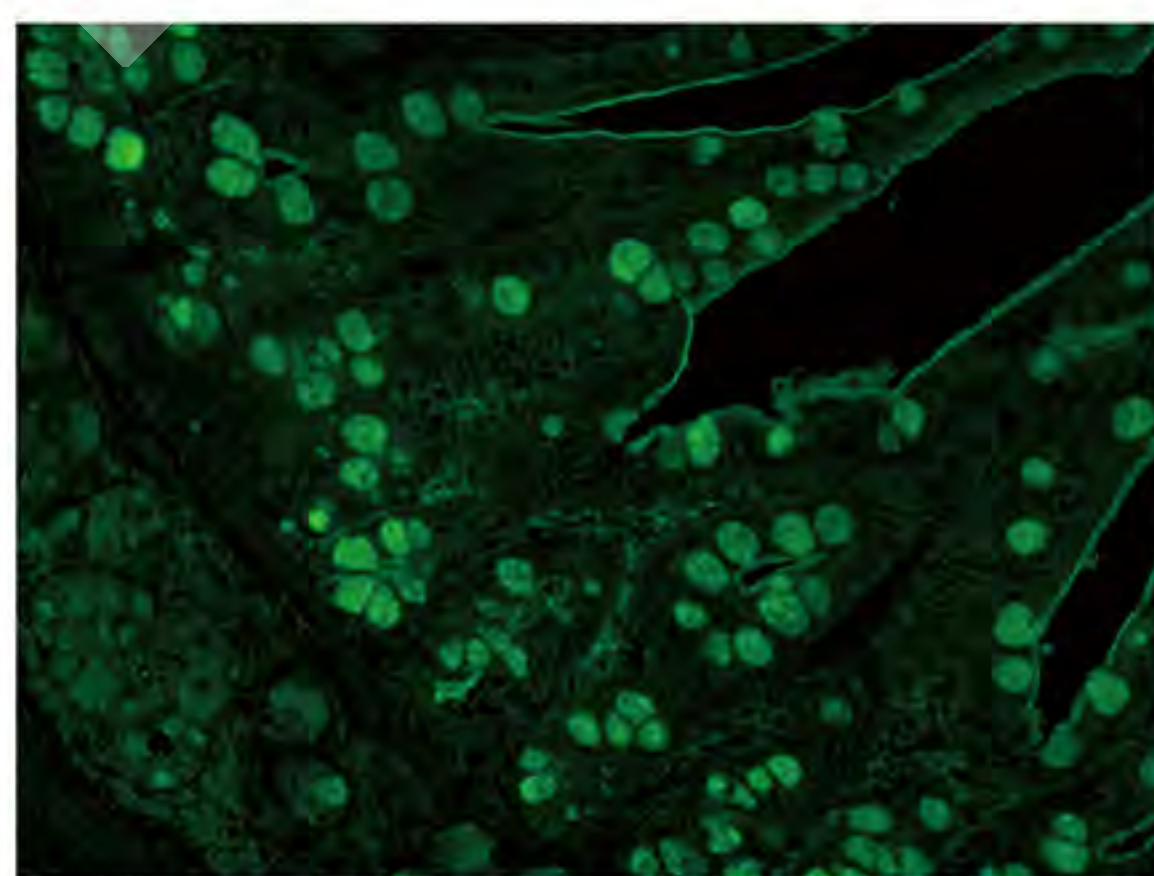
完整实验报告:包括实验方法、步骤、所用试剂、仪器、免疫荧光图片

案例展示

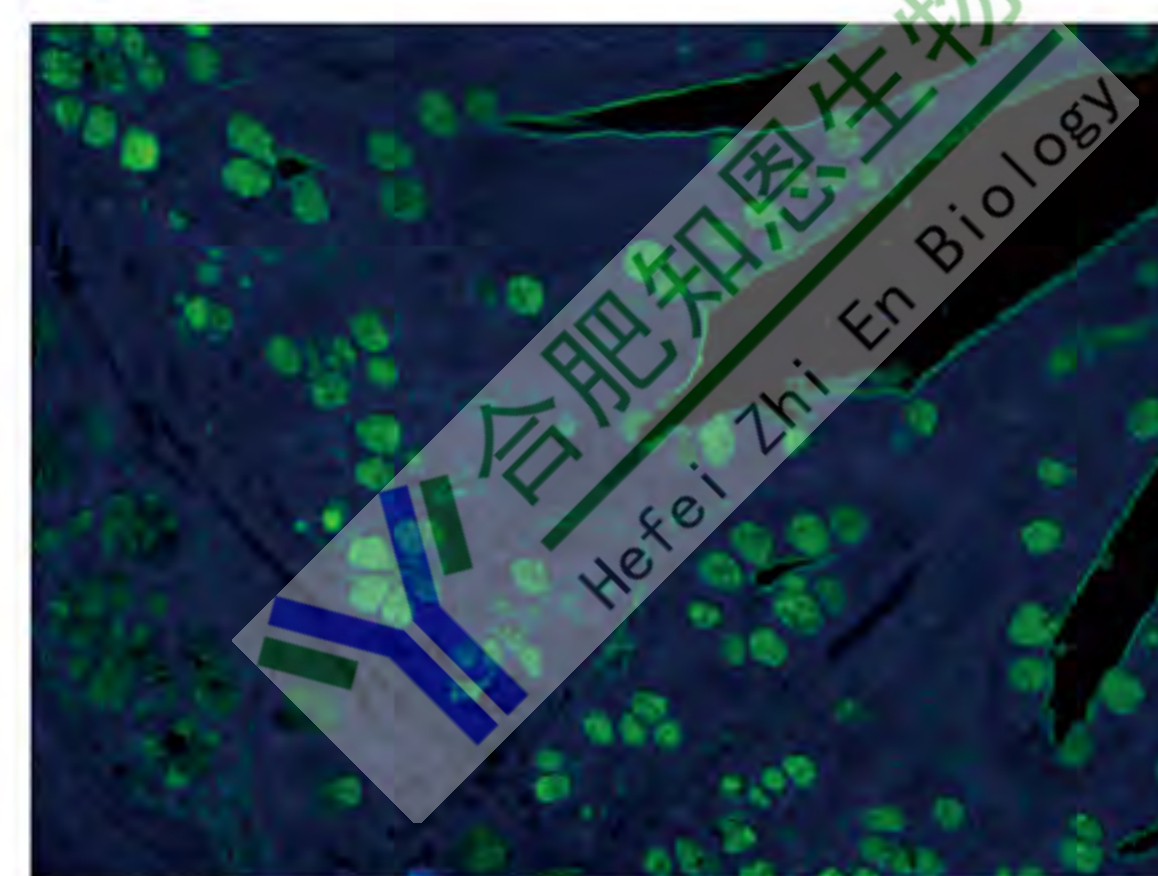
猪肠道切片免疫荧光



肠道1



肠道2



肠道3

4. TUNEL法检测细胞凋亡

服务简介

细胞在发生凋亡时，会激活一些DNA内切酶，这些内切酶会切断核小体间的基因组DNA。基因组DNA断裂时，暴露的3'-OH可以在末端脱氧核苷酸转移酶（TdT）的催化下加上荧光素（FITC）标记的dUTP（fluorescein-dUTP），从而可以通过荧光显微镜或流式细胞仪进行检测

服务流程

- 确定样本种类、切片方法、观察位置等
- TUNEL法试剂盒进行凋亡检测，荧光显微镜观察及拍照
- 付清尾款，发送拍摄图片及实验步骤，实验材料信息等

质量保证

片子处理良好，位置选择准确，凋亡荧光图片拍摄清晰

客户提供

- 固定的组织或者细胞爬片样本
- 确定观察位置及荧光图片拍摄要求等

交货期

10-15个工作日完成，具体根据样本数量而定

知恩提供

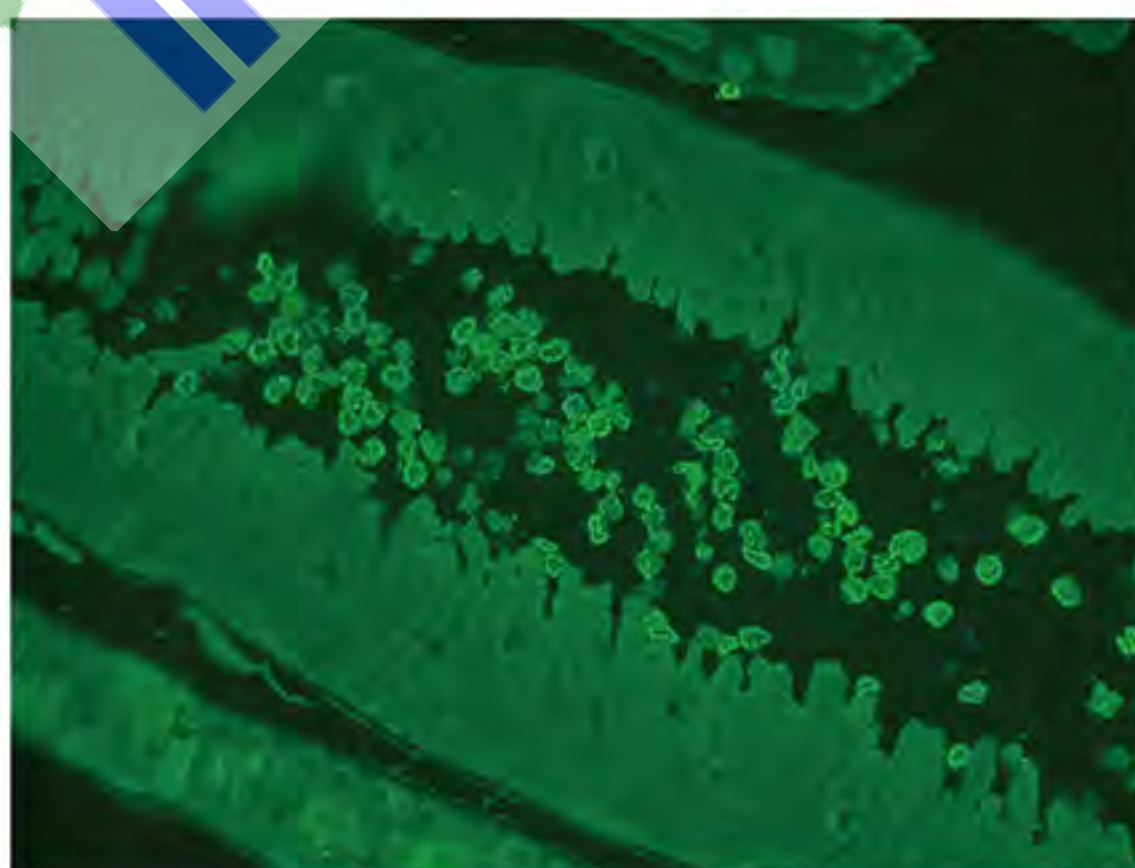
完整实验报告：包括实验方法、步骤、所用试剂、仪器、凋亡检测荧光图片等

案例展示

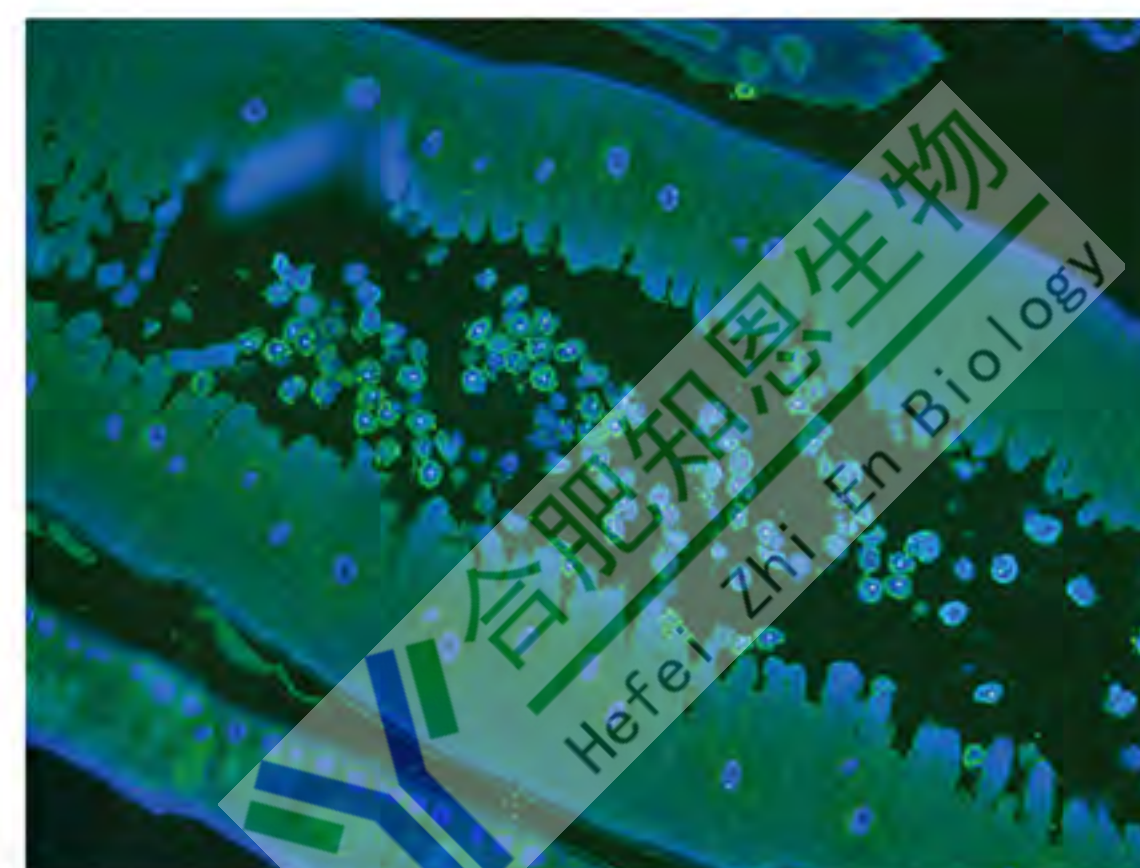
线虫组织切片细胞凋亡



雄虫1



雄虫2



雄虫3

5. 激光共聚焦拍照

服务简介

激光共聚焦扫描显微技术是一种高分辨率的显微成像技术。普通的荧光显微镜在对较厚的标本（例如细胞爬片）进行观察时，来自观察点邻近区域的荧光会对结构的分辨率形成较大的干扰。而激光共聚焦显微镜成像时来自焦点以外的光信号不会对图像形成干扰，从而大大提高了显微图像的清晰度和细节分辨能力

服务流程

- 细胞转染，制备细胞爬片
- 片子固定封片，进行共聚焦显微镜拍摄
- 付清尾款，发送拍摄图片

质量保证

提供质量报告，保证拍摄位置准确清晰

客户提供

- 制备好的细胞爬片或我方代为进行前期细胞实验然后制备片子
- 质粒或者抗体信息，共聚焦拍摄要求及说明

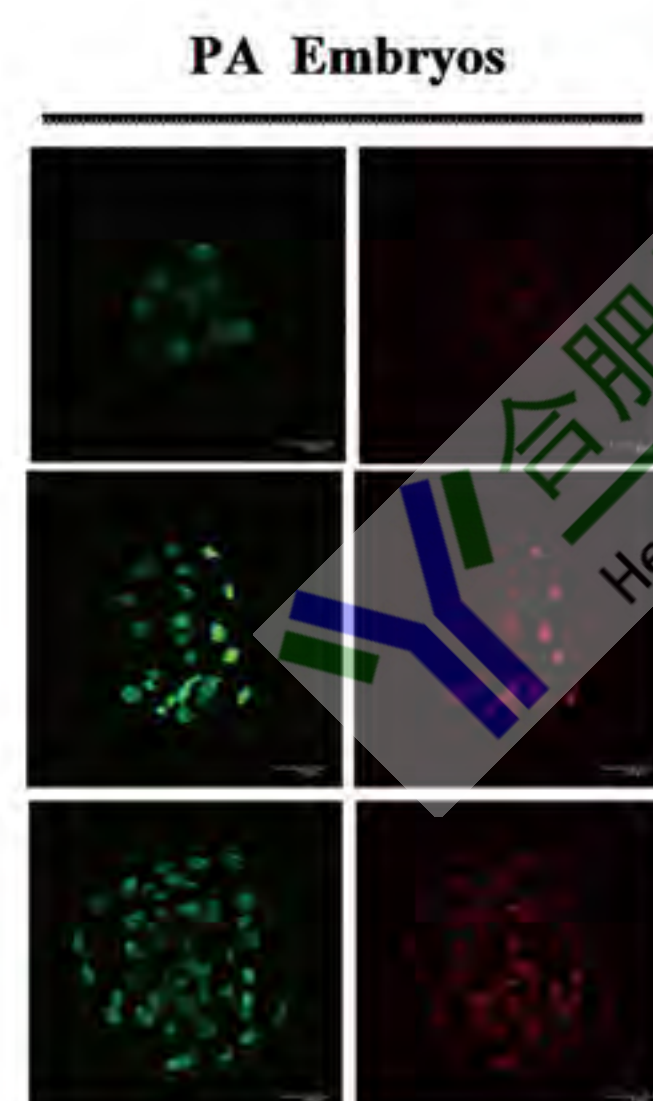
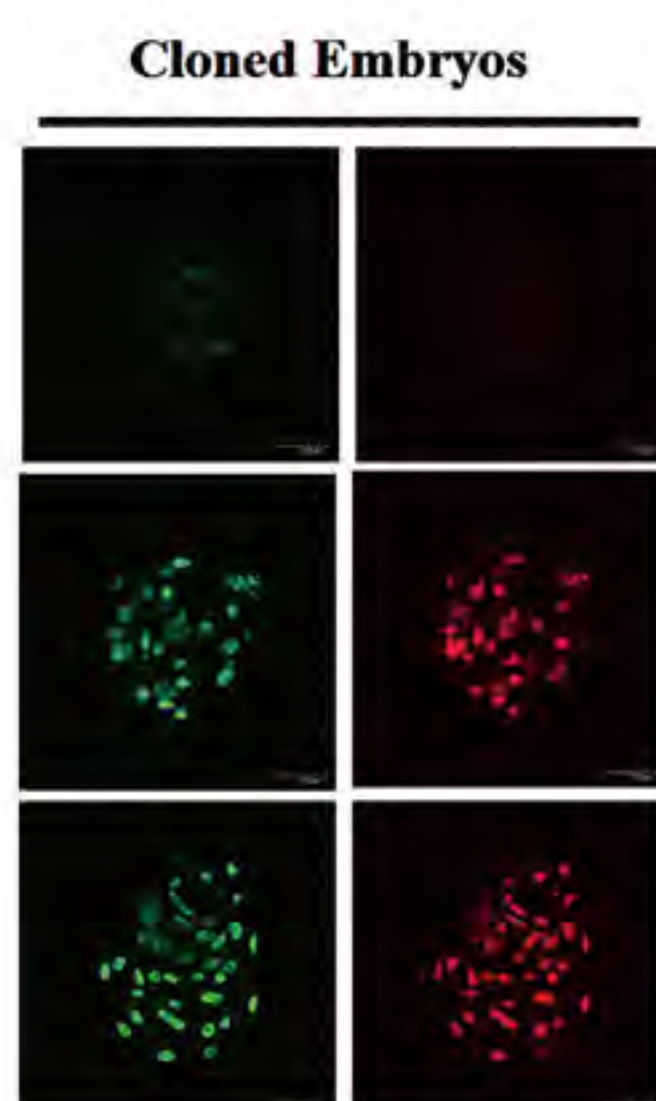
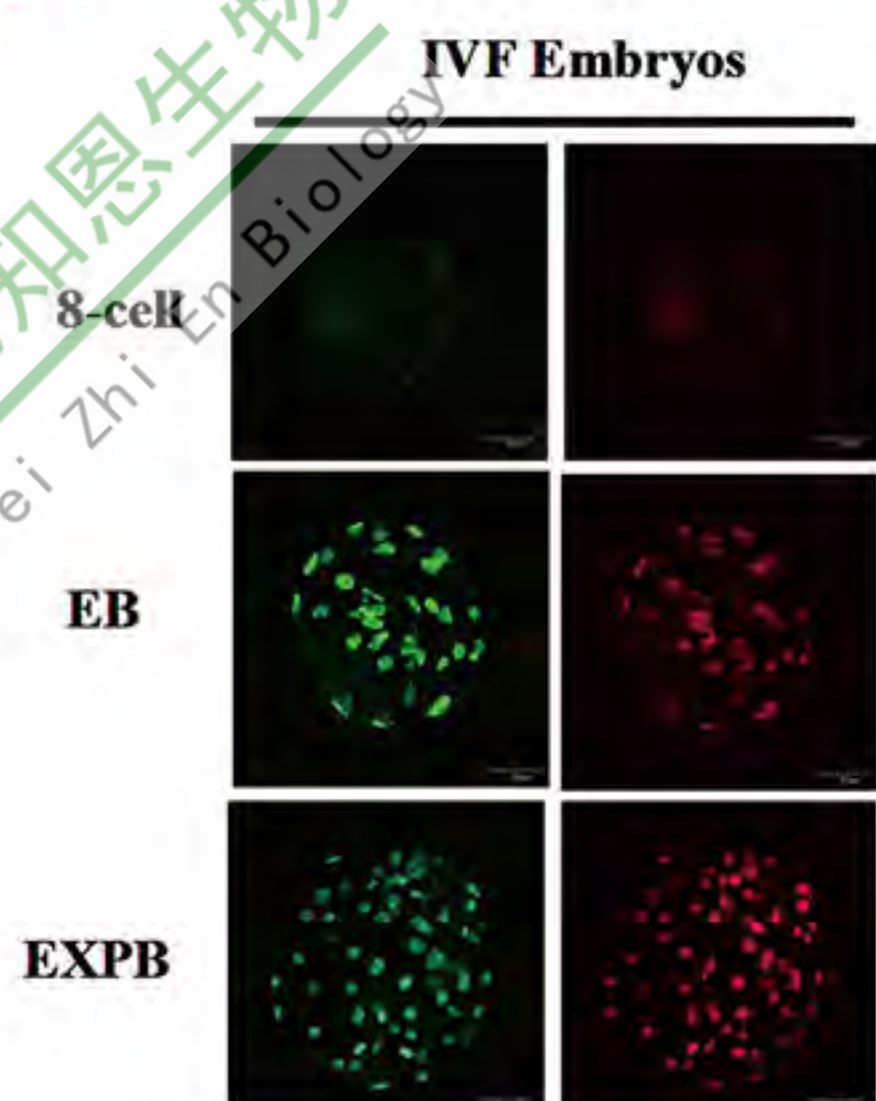
交货期

15-20个工作日完成，具体根据样本数量而定

知恩提供

完整实验报告：包括实验方法、步骤、所用试剂、仪器、共聚焦拍摄图片等

案例展示



6.电镜拍照

服务简介

电子显微镜技术的应用是建立在光学显微镜的基础之上的，但其放大倍数可达光学显微镜的1000倍以上。常用的有透射电镜、扫描电镜等。透射式电子显微镜常用于观察那些用普通显微镜所不能分辨的细微物质结构，如观察病毒颗粒的形态；扫描式电子显微镜主要用于观察固体表面的形貌，如观察肠绒毛的损伤情况等

服务流程

- 接收电镜样本，确定拍摄方法及要求
- 电镜样本包埋，制片，拍照
- 付清尾款，发送拍摄图片，实验步骤及实验方案

质量保证

提供质量报告，保证拍摄位置准确清晰

客户提供

- 浸泡于电镜固定液中的样本
- 明确拍摄要求

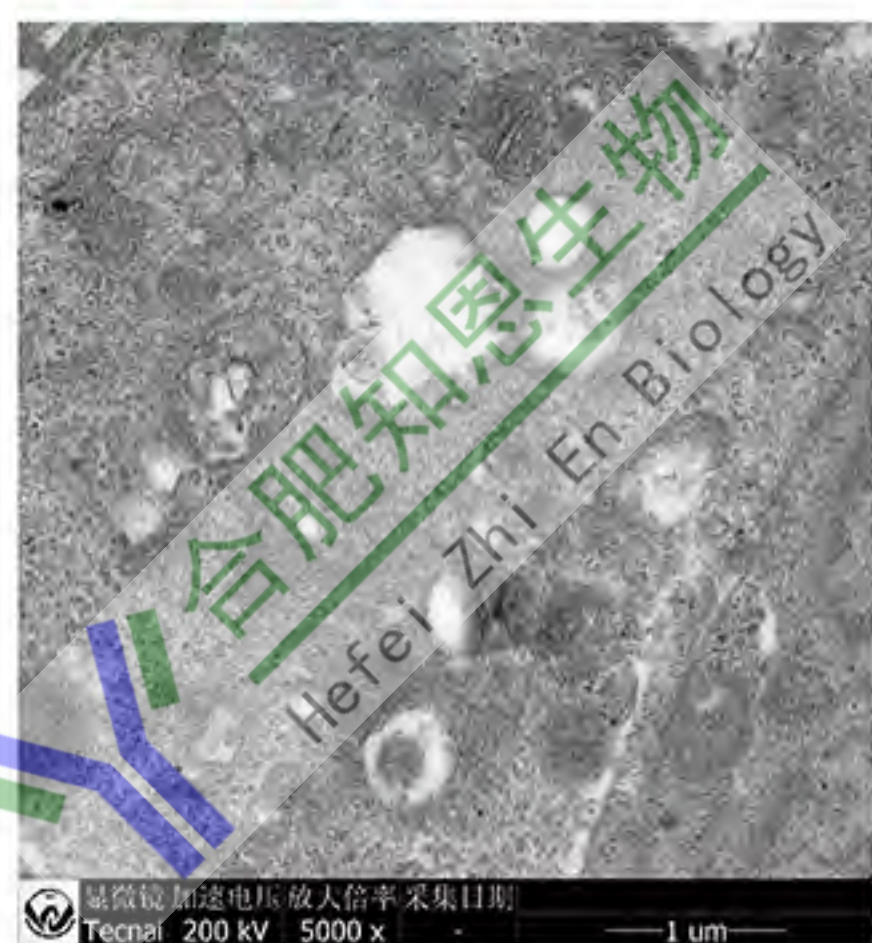
交货期

10-20个工作日完成，具体根据样本数量而定

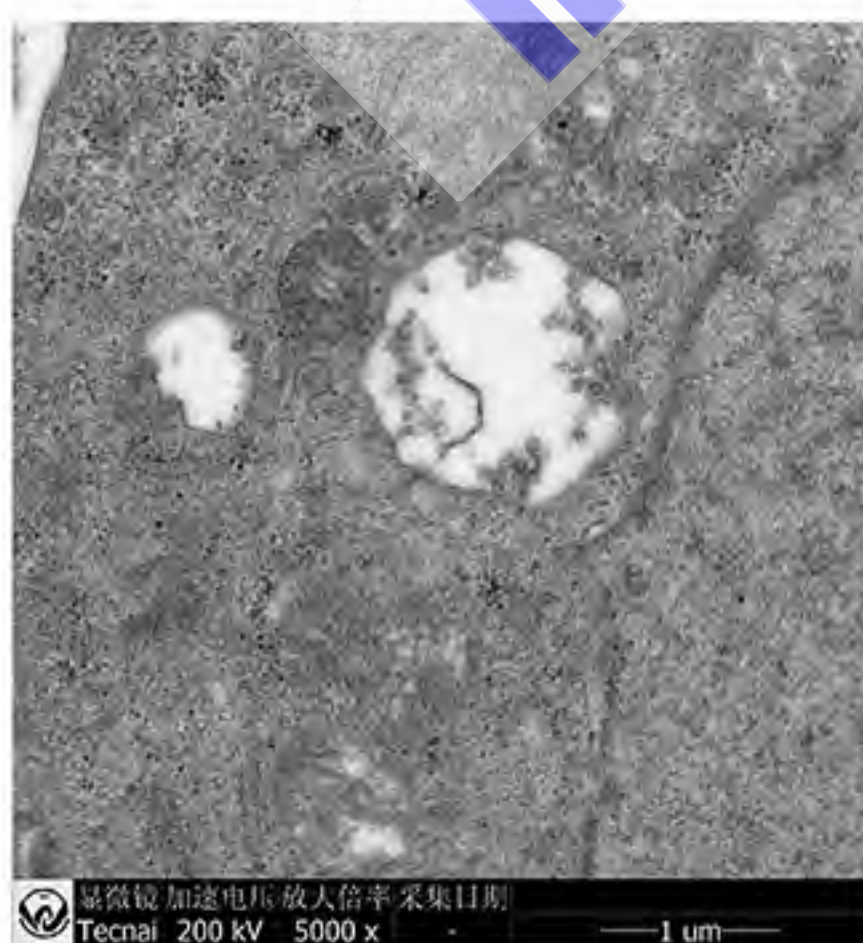
知恩提供

完整实验报告：包括实验方法、步骤、所用试剂、仪器、电镜拍摄图片等

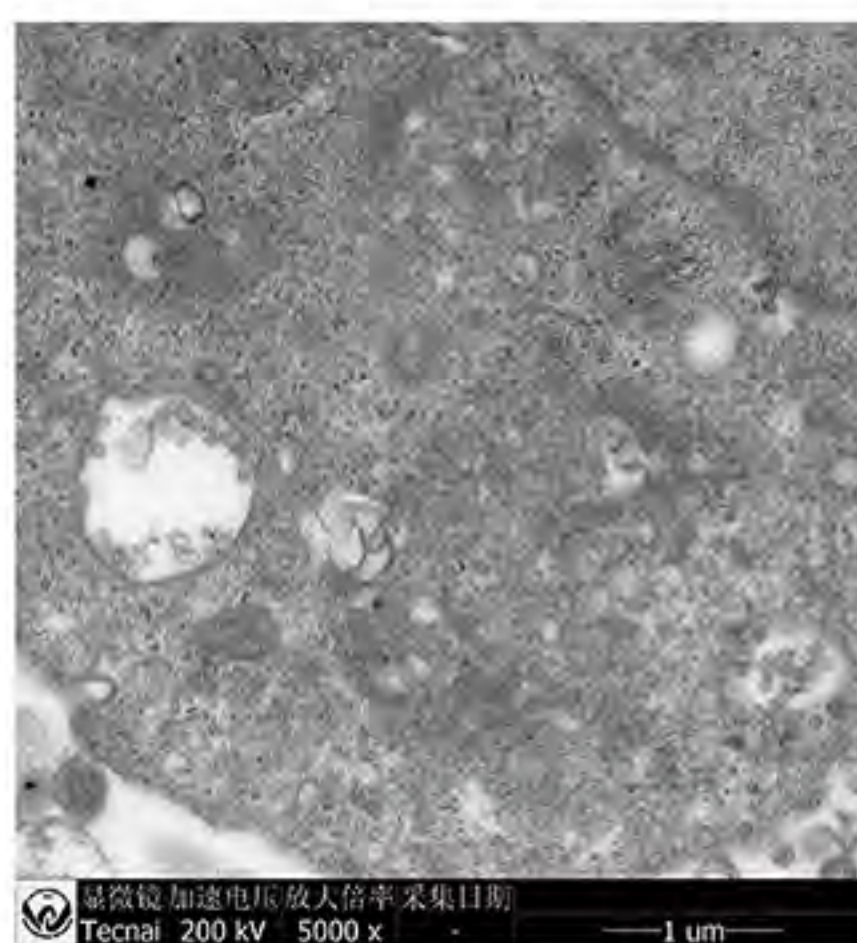
案例展示



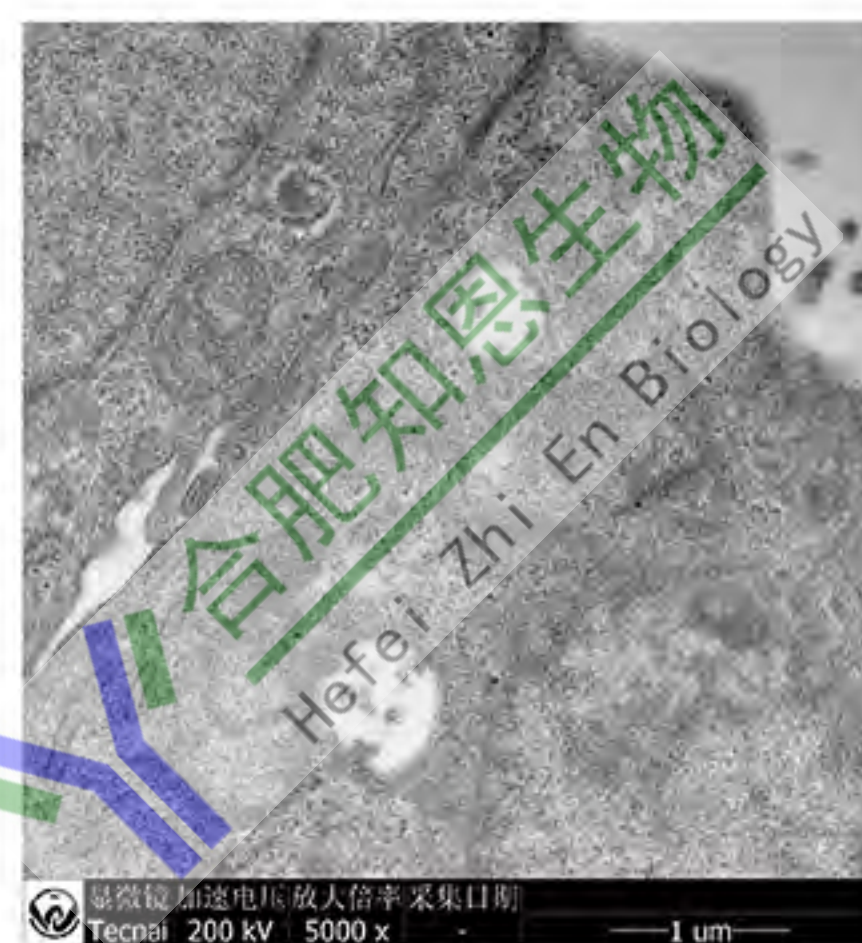
TV1



TV2



TV3



TV4

1. 多克隆抗体制备

服务简介

多克隆抗体在免疫学诊断领域应用广泛，相对于单抗来说，它能识别多个抗原表位。知恩生物可提供家兔、豚鼠、大鼠、小鼠等系统多抗制备服务

服务流程

- || 抗原
- || 免疫动物
- || 抗血清
- || 抗体纯化（可选Protein A/G 或亲和纯化）
- || 抗体鉴定EILSA、IF、WB、IP、IHC）

客户提供

- || 抗原
- || 定制信息表

质量保证

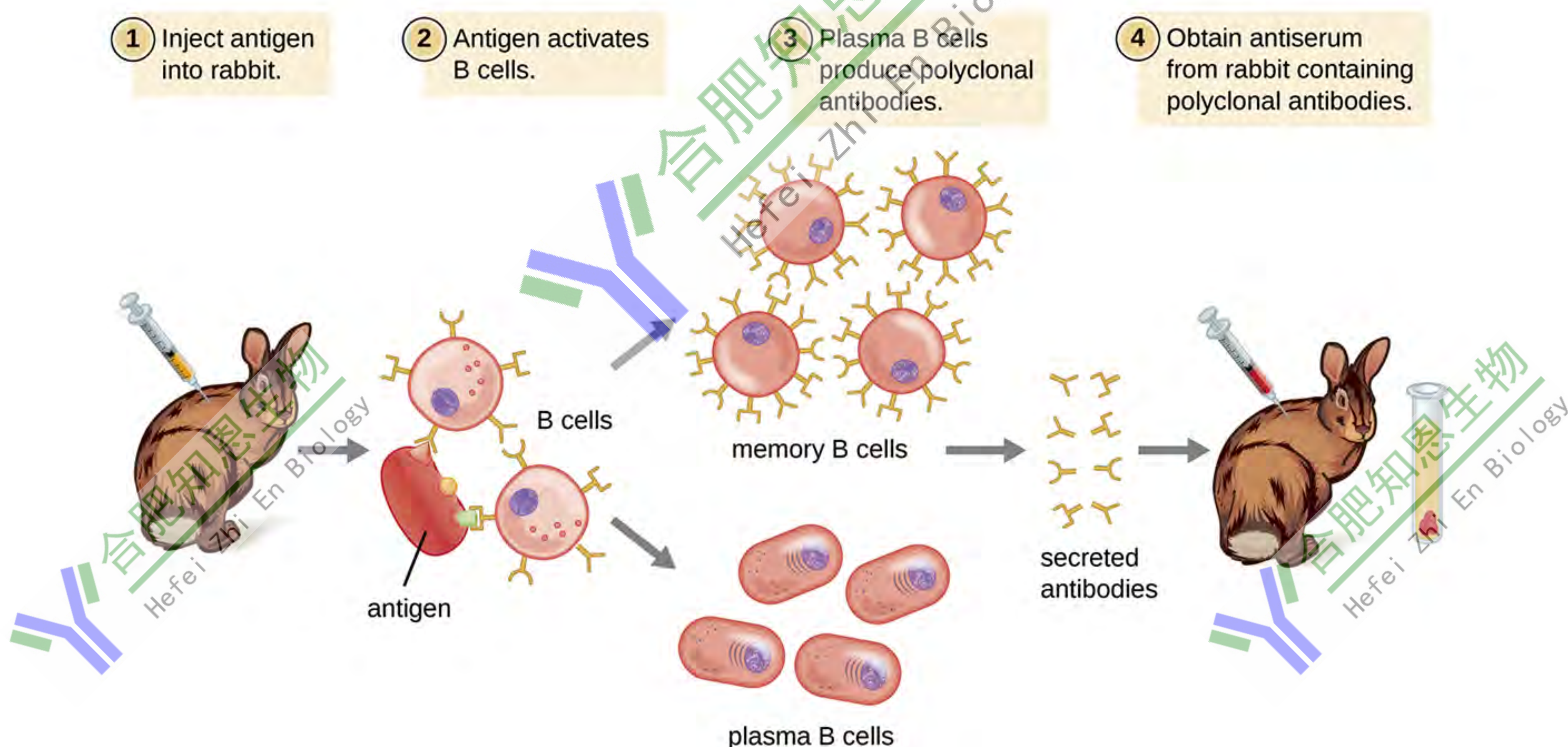
抗体可经客户验证

知恩提供

提供1ml免疫前血清、30~50ml抗血清或2mg抗体
完整的实验报告

交货期

12~24周



2. 单克隆抗体的制备

服务简介

与多抗相比，单克隆抗体特异性更强，灵敏性更高。使用单克隆抗体时可免除不同细胞及微生物种株间血清学上的交叉反应，大大提高了诊断的特异性及敏感性。另外，在研究细胞表面标志、提纯可溶性抗原、进一步研究抗体的结构和功能方面起着十分重要的作用。知恩生物提供优质单克隆抗体，且90天单克隆抗体上清，120天可完成全部的杂交瘤建系和抗体制备

服务流程

- || 抗原
- || 免疫小鼠
- || 细胞融合、筛选
- || 杂交瘤细胞株制备及鉴定
- || 单抗生产
- || 抗体纯化（可选Protein A/G或亲和纯化）
- || 抗体鉴定（ELISA、IF、WB、IP、IHC）

客户提供

- || 抗原
- || 抗体定制信息表

知恩提供

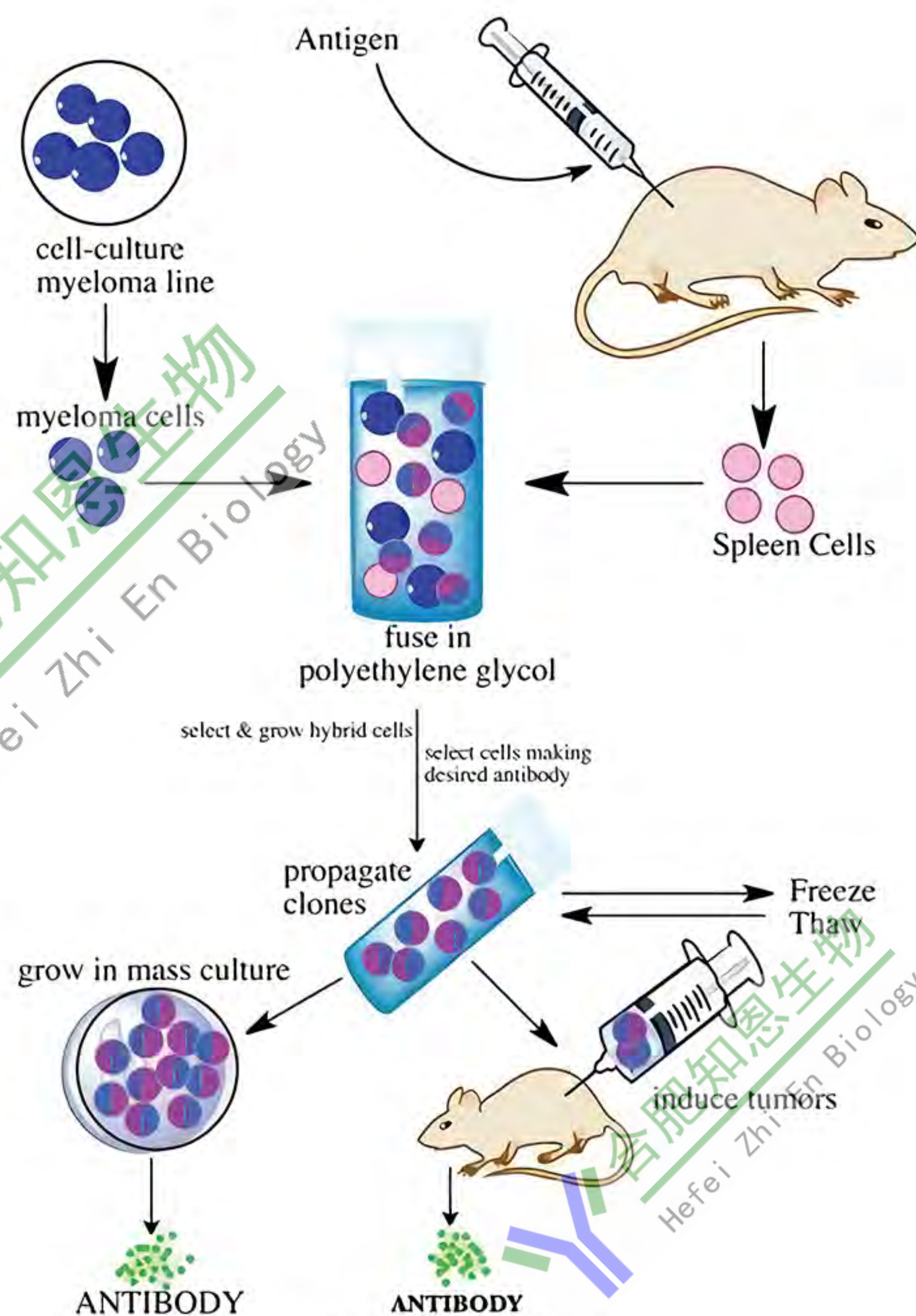
- 1株杂交瘤细胞
- 2-3ml腹水或2mg抗体
- 完整的实验报告

质量保证

保证单抗，结果可经鉴定

交货期

16-32周



鼠单抗制备过程

3. 抗体配对、ELISA试剂盒/胶体金试剂盒开发服务

服务简介

抗体配对是在抗体的基础上, 对抗体进一步的开发应用, 通过抗原抗体特异性结合以及同种抗原不同位点抗体的配对, 寻找到能够适用于商品化试剂盒(试纸条)开发的特殊配对抗体。我们通过筛选多个细胞阳性克隆株, 提供单抗—多抗, 单抗—单抗不同需求的配对筛选, 以达到不同多水平的检测需求

ELISA试剂盒/胶体金试剂盒(试纸条)开发服务又是在抗体配对成功的基础上, 对抗体更进一步的商品化产品的研发和生产服务。它包括抗体配对筛选、试剂盒(试纸条)体系调试优化、试剂盒(试纸条)评估及稳定性调试等实验。最终开发出相应的试剂盒或试纸条

服务流程

抗体配对

- || 项目论证
- || 项目方案设计
- || 免疫原制备
- || 免疫小鼠(兔)
- || 细胞融合及筛选(≥ 50 株阳性细胞株)
- || 抗体产生
- || 配对筛选样品验证
- || Elisa(胶体金)配对筛选和调试

ELISA试剂盒/胶体金试剂盒(试纸条)开发

- || 试剂盒(试纸条)体系调试优化
- || 试剂盒(试纸条)评估及稳定性实验

知恩提供

交付配对成功的抗体、细胞株或试剂盒
完整的实验报告及配对信息

质量保证

保证抗体配对结果, 保证试剂盒效用

客户提供

- || 抗原、抗体, 后期提供样本检测
- || 抗原信息表

交货期

6-10月

知恩生物技术平台

体外诊断试剂盒开发技术平台

1. 基因诊断试剂盒开发

基于全血ctDNA，甲基化修饰，SNP突变的诊断试剂盒开发，用于癌症基因检测、老年病及遗传病风险预测、靶向用药指导等。

2. 酶免诊断试剂盒开发

针对肿瘤标志物、心脑血管相关标志物的ELISA及化学发光诊断试剂盒开发。

细胞工程技术平台

知恩公司在哺乳动物细胞转染和稳定细胞株构建方面积累了一定的技术优势，主要包括利用悬浮细胞瞬时转染快速表达重组蛋白，利用常规和病毒载体构建肿瘤稳转株，构建高产、稳定和高效重组蛋白表达的细胞株。

1. 原核细胞表达系统

包括 pET 载体系列，pGEX 载体系列，pK 和 pCold 载体系列等常用原核表达系统。

2. 真核细胞表达系统

(1) 酵母表达系统

(2) 293 悬浮细胞瞬时表达系统

(3) 昆虫细胞瞬时表达系

(4) 无血清高表达 CHO 细胞工程株构建、高密度动物细胞培养平台

蛋白质工程技术平台

1. 具备完善的基于 AKTA 平台的各种重组蛋白及抗体的全套纯化策略，包括离子交换、疏水层析、反向层析、凝胶过滤、亲和层析等纯化技术。

2. 可在保证高活性，高亲和力的前提下对重组蛋白及表达抗体进行精细纯化。

3. 无标签蛋白纯化技术经验丰富，可快速、高效纯化天然、无标签蛋白。

抗体工程技术平台

公司拥有包括噬菌体展示及酵母展示在内的多个筛选系统，结合灵活的筛选策略，可高效快速获得多种针对不同靶标，具有不同功能效果的抗体。目前已建立 scFv 单链抗体噬菌体展示筛选平台。该平台包括：

1. 可溶抗原的快速制备技术

2. 高质量全合成人源抗体库构建技术

3. 成熟稳定的免疫抗体库构建技术

4. 抗体的亲和力成熟技术

病毒技术

1. Baculovirus

2. 病毒示踪技术

3. 假病毒技术应用

4. Lentivirus/aav 技术应用

合肥知恩生物
Hefei Zhi En Biology

合肥知恩生物
Hefei Zhi En Biology

合肥知恩生物
Hefei Zhi En Biology



分子生物学：13966724685 QQ：343903848
细胞生物学：17730237089 QQ：397675441
动物免疫学：15856972651 QQ：215354003
固定电话：0551-63822150 热线电话：4001101885
Email: zhienbiology@126.com
网址: www.zhienbio.com
地址：安徽省合肥市高新区黄山路602号国家大学科技园A区