



细胞鉴定质控服务和产品手册

Cell Authentication And Quality Control Service

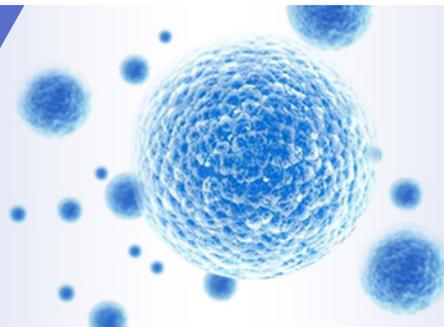
● 严把细胞质控，提高科研质量 ●



Step 1

STR鉴定

- 确定细胞来源的可追溯性
- 制定新构建细胞株的鉴定标准



Step 2

FISH检测

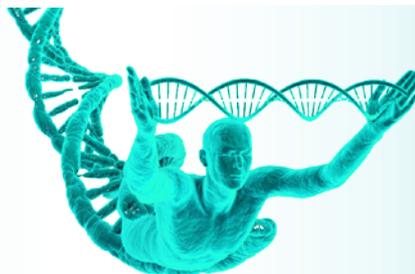
- 确定目的基因所在的染色体数目



Step 3

ddPCR检测

- 确定目的基因拷贝数目



Step 4

RT-PCR检测

- 确定研究基因的剪接体 (splice form)



◎ 建议支原体检测贯穿整个实验过程

STR鉴定



STR (Short Tandem Repeat, 短串联重复序列) 基因分型已被 CLAC、ATCC等权威机构作为金标准应用于细胞鉴定。

【PrecisionPlex™ STR25 Detection System—DNA指纹检测系统】

【人源细胞STR分型检测】

【人源细胞来源一致性检测】

FISH探针



- 用于精准医疗的循环肿瘤细胞验证
- 协助检测、研究染色体畸变
- 用于染色体计数

【VividFISH™染色体计数探针 (CEP)】

【VividFISH™疾病相关基因探针 (LSI)】

ddPCR检测



- 确定基因拷贝的绝对数目
- 稀有突变检测
- 用于液体活检、CNV analysis, 极少量突变基因检测, 单细胞基因表达分析和NGS结果确认

RT-PCR



剪接体 (splice form) 确认: RNA不同的剪接方式造成一个基因有多个不同剪接体。基因功能研究, 首先需要确定研究该基因哪个剪接体。

【RT-PCR服务】

【RT-PCR引物及试剂】

支原体检测



支原体感染前期较难被察觉, 逐渐表现为细胞增殖缓慢、基因表达改变、代谢特征及细胞形态变化等。为确保研究结果的真实性, 易锦生物推荐在实验过程中定期进行支原体检测。

【MycoGuard™ PCR Detection Kit 2.0 (PCR法)】

【MycoGuard™支原体检测试剂盒 (生物化学发光法)】

细胞系鉴定的重要性

1. NIH、ATCC、Nature和 Science等近年对此多次发出呼吁，要求研究学者对细胞进行鉴定，2015年4月 Nature通知即将实行新审稿政策：Nature的所有杂志从5月份开始将要求科学家对论文中所用细胞系进行验证。

2. 保证细胞一致性，可靠性：FDA建议研究人员在培养细胞的较早阶段（细胞培养第一周）鉴定细胞系的身份。细胞在被冻存前应再一次进行鉴定；对于生长活跃的细胞，应每两个月鉴定一次；文献发表前也应对细胞系身份进行鉴定。如果一个实验室使用不止一种细胞系，则应在实验最开始时，就要对所有的细胞系进行鉴定，以便排除交叉污染的可能。

3. 为新建细胞系建立“身份证明”：2015新版药典中，规定新建细胞系/株、细胞库（MCB、WCB）和生产的终末细胞均应进行鉴别实验，以确认为本细胞，且无其他细胞的交叉污染。（——《生物制品生产检定用动物细胞基质制备及鉴定规程》）

细胞系鉴定与STR的关系

STR (Short Tandem Repeat, 短串联重复序列) 基因分型已被CLAC、ATCC等权威机构作为金标准应用于细胞鉴定，目前越来越多的杂志要求在投稿时提供细胞STR分型图谱。

STR基因位点由长度为3-7个碱基对的短串连重复序列组成，这些重复序列广泛存在于人类基因组中，可作为高度多态性标记，被称为细胞的DNA指纹，其可通过PCR（聚合酶式反应）来检测，STR基因位点上的等位基因可通过扩增区域内重复序列的拷贝数的不同来区分，在毛细管电泳分离之后可通过荧光检测来识别。随后通过一定的计算方法，即可根据所得的STR分型结果与专业的细胞STR数据库比对从而推算出样品所属的细胞系或可能的交叉污染的细胞系。

PrecisionPlex™ DNA指纹检测系统

PrecisionPlex™ DNA指纹检测系统采用5色荧光技术，是基于多重PCR扩增及扩增产物毛细管电泳的标准化分析，包含9-25个人类基因位点的检测。

人源细胞STR位点信息						
Blue						
TPOX	D13S317	D10S1248	D5S818	D2S441	FGA	
Green						
D3S1358	D22S1045	D8S1179	D16S539	CSF1PO	PentaD	D12S391
Yellow						
Amel	TH01	D7S820	D21S11	D18S51	PentaE	
Red						
DYS391	D6S1043	vWA	D1S1656	D19S433	D2S1338	

细胞系鉴定流程：



为了进一步提高鉴定的分辨率，除了包含ATCC检测的8个STR和1个性别决定位点Amelogenin外，另新增了16个高度多态性位点，共检测25个STR位点。

货号	产品 (组份) 名称	规格	储存条件
STR001T	PrecisionPlex™ STR25 Detection System	50 reactions	-20°C

染色体计数的重要性

实验中使用的细胞同源染色体数目不一定正常，而染色体数目决定等位基因的数量，在进行基因组编辑时，用FISH探针检测染色体拷贝数，初步判断基因组编辑的难易程度，以此估算实验周期。若没有检测染色体拷贝数，则会造成基因组编辑不完全，**误导实验结果**。

VividFISH™染色体计数探针（CEP）服务

复能基因新推出的VividFISH™ CEP 荧光原位杂交（fluorescence in situ hybridization）检测服务，包含人类1号-22号常染色体及X、Y性染色体FISH探针，可作用于着丝粒或癌症相关的特定基因位点，检测当前染色体的拷贝情况。

CEP FISH探针服务优势

- 探针荧光十分明亮，让染色体检测变得简单方便
- 每个探针都有不同荧光颜色的版本
- 特别适用于在基因组编辑应用中鉴定染色体拷贝数

应用案例

在对细胞系进行基因敲除实验前，首先需要明确该基因在目的细胞中的拷贝数量，可通过检测该基因所在染色体拷贝数获得。

如图，该项目对人类风湿性关节炎成纤维细胞株（MH7A）敲除HDA6基因（NCBI geneID:10013）。考虑到一些细胞系含有超过正常基因拷贝数2的情况，在基因敲除之前我们需要知道该基因有多少拷贝。由于HDA6位于X染色体上，我们使用 X- 和Y- 染色体计数探针直接检测在MH7A细胞中 HDA6所在染色体的拷贝数。结果证实，MH7A细胞含有5条X染色体和0条Y染色体。若要敲除HDA6基因的所有等位基因，则需要对5条X染色体进行基因组编辑。

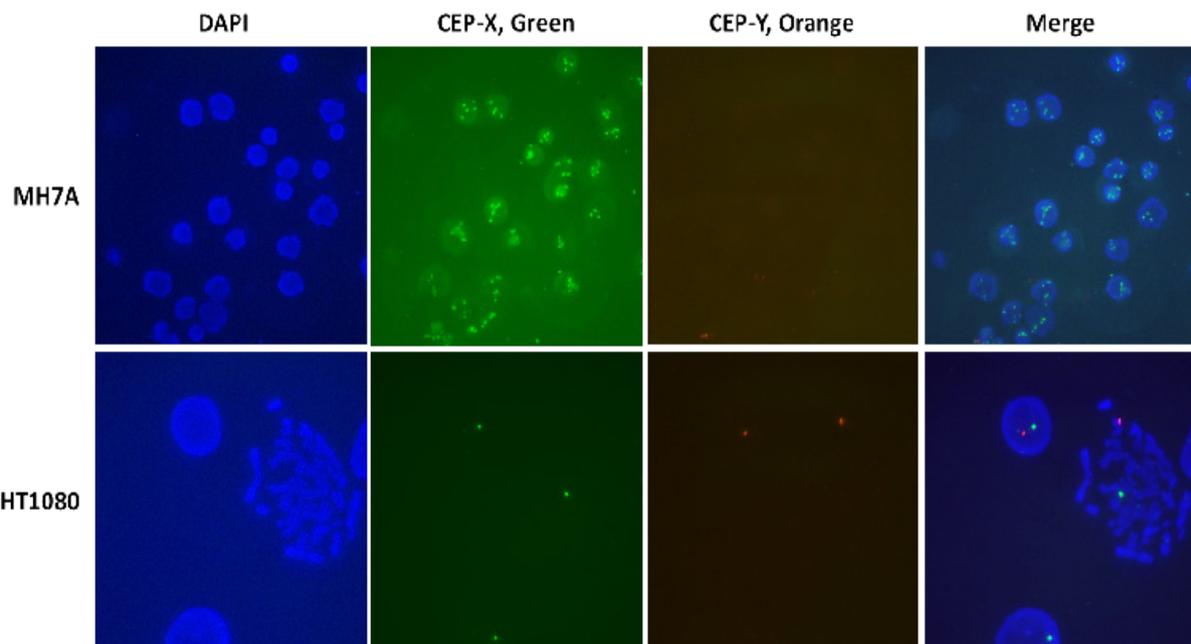


图 1. 使用 VividFISH™染色体计数探针检测MH7A细胞中X染色体拷贝数。将MH7A细胞和人细胞系HT1080固定在载玻片上，并与识别X染色体（绿色；货号FP111）和Y染色体（橙色；货号FP117）的VividFISH™探针杂交。细胞核用DAPI（蓝色）染色。结果显示，MH7A细胞核中绝大多数具备5个绿色信号，0个红色信号。作为对照的HT1080细胞中，绿色和红色信号分别只有1个。证明在MH7A细胞中X染色体具有5个拷贝。

更多结果展示请查看 http://www.igenebio.com/product/fish_probes/

为什么要做基因拷贝数检测？

如果要实现敲除一个基因的所有等位基因，需要明确该基因等位基因数目，FISH探针只能反映在不同染色体上的基因拷贝，若在同一染色体上，除了基因测序还可以使用。ddPCR检测核酸分子拷贝数的绝对定量作为检测基因拷贝的补充。

ddPCR基因拷贝数检测服务

- ◆ 特异性强
- ◆ 灵敏度高
- ◆ 检测简便
- ◆ 结果精确

ddPCR技术优势

- ◆ 核酸分子拷贝数的绝对定量，无需标准曲线
- ◆ 超高灵敏度，适用于稀有序列及稀有突变的检测
- ◆ 精准的定量结果和极佳的重复性
- ◆ 适用复杂样品检测，不易受PCR抑制物影响
- ◆ 兼容染料法和探针法，同时满足科学研究和临床检测要求



ddPCR检测流程



剪接体 (splice form) 鉴定的必要性

- ◆ 真核生物中mRNA前体通过可变剪接过程，将外显子选择性地组合、连接在一起，形成不同的mRNA (图2)。
- ◆ 一个基因通常有多个剪接体，在基因组编辑时需要考虑这个基因在细胞中有几个剪接体。之所以要确定我们应该研究哪个剪接体，那是因为它关系到引物的设计以及准确有效的基因组编辑 (如图3)。

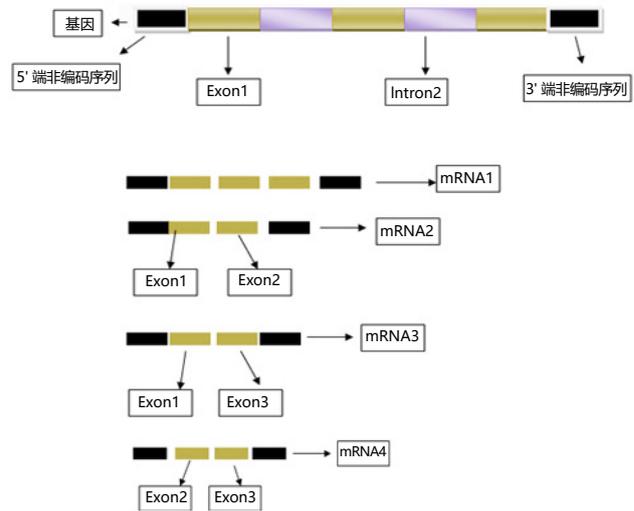


图2. 三个外显子两个内含子的基因结构图。该图通过不同的剪接方式可能得到了四种mRNA。

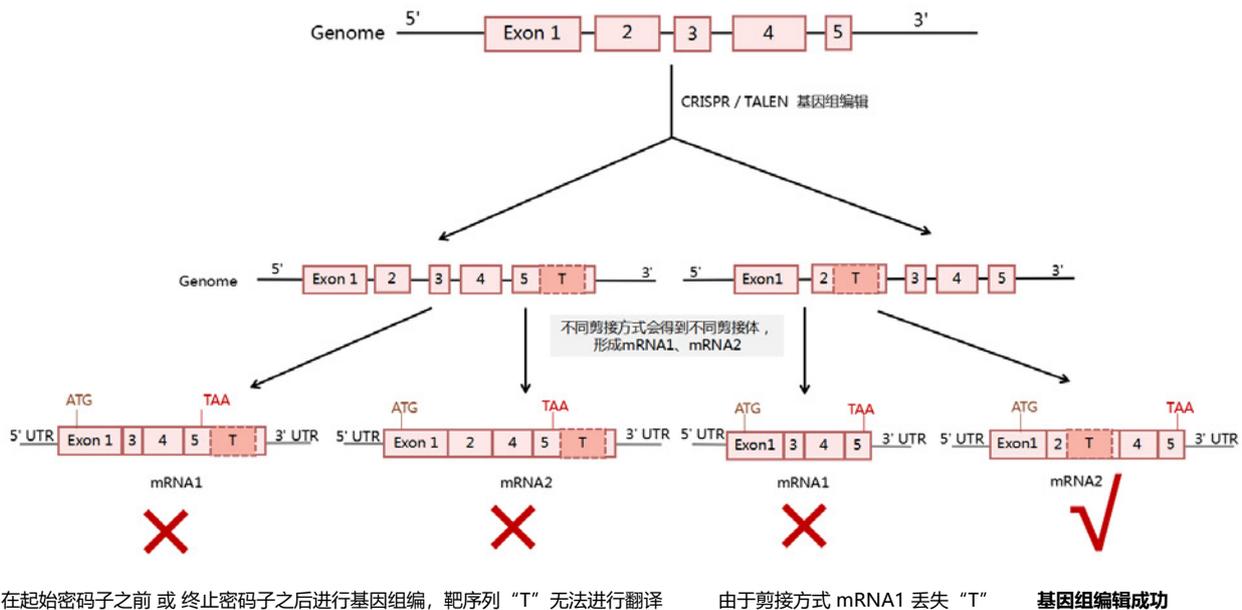


图3. 不同剪接方式对基因组编辑的影响

剪接体确定方法

设计每种剪接体特异性引物，通过RT-PCR确定在感兴趣的组织和细胞中哪种转录本特异性表达或表达量高。

我们提供的产品：

【SureScript First-Strand cDNA Synthesis Kit】

【BlazeTaq SYBR Green qPCR mix 2.0】

【BlazeTaq Probe One-Step RT-qPCR Kit】

【BlazeTaq One-Step SYBR Green RT-qPCR Kit】

检验支原体的必要性

支原体是一种具有自我复制能力的最小微生物。细胞传代过程中极易感染支原体，支原体感染细胞后依赖于细胞培养基的养分而生存，感染前期较难被察觉，但细胞会逐渐表现为细胞增殖缓慢、基因表达改变、代谢特征及细胞形态变化等。为确保产品质量，监管机构推荐检测所有细胞培养产物中是否存在支原体。

GeneCopoeia 推出了基于可信度高，操作简便的生物化学发光法和设备要求简单的PCR法的支原体检测试剂盒，帮助您快速、准确鉴定支原体污染。

Mycoguard™ Mycoplasma PCR Detection Kit 2.0

本试剂盒能检测常见支原体在内的50多种支原体。通过260bp到280bp长的PCR扩增产物，很容易识别被支原体污染的样品。

产品优势

简便：方便进行PCR反应；无需预处理细胞培养基

快速：2小时即可完成检测

特异性强：只扩增支原体DNA，真核细胞和细胞DNA不被扩增

检测灵敏度较高



扫码查看产品详情

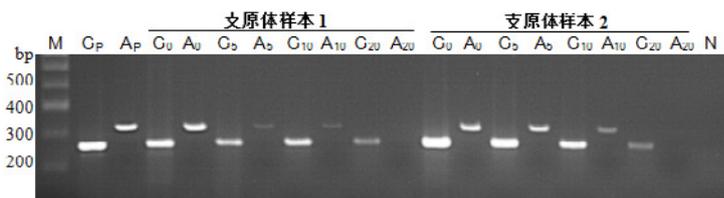


图4. 竞品灵敏度对比

G: GeneCopoeia MycoGuard™ Mycoplasma PCR Detection Kit 2.0

A: 竞争公司 M: 100 bp DNA marker N: 阴性对照

GP,AP: 阳性对照

G0,A0: 支原体样本原液

G5,A5: 支原体样本稀释5倍

G10,A10: 支原体样本稀释10倍

G20,A20: 支原体样本稀释20倍

Mycoguard™ 支原体检测试剂盒（生物化学发光法）

本试剂盒利用支原体酶与Mycoguard™底物反应催化产生ATP，且ATP浓度与其激发的荧光强度成线性关系的原理，可通过生物发光的方式检测样品中的支原体。

产品优势

操作时间短：半小时内即可完成实验操作及检测过程；

灵敏度高：添加底物前，荧光数值稳定；添加底物后，荧光在10分钟内达到稳定的线性增长；

稳定性强：在不同的孵育时间条件下，底物浓度与荧光读数的增长关系保持稳定

► 产品列表

产品名称	货号	规格	目录价
Mycoguard™ Mycoplasma PCR Detection Kit 2.0(PCR 法) 支原体检测试剂盒	MP004	50 rxns	¥ 1250
Mycoguard™ Mycoplasma Bioluminescent Detection Kit (生物化学发光法)支原体检测试剂盒	MP002	10 rxns	¥ 1700
	MP003	50 rxns	¥ 5000

相关产品链接

- 1、转染试剂 <http://www.igenebio.com/product/endofectin/>
- 2、qPCR试剂及验证引物 <http://www.igenebio.com/category/product/qpcr-kits-and-primers/>
- 3、荧光素酶检测试剂盒 <http://www.igenebio.com/product/luciferase-assays/>
- 4、预制稳转细胞系 <http://www.igenebio.com/product/premade-stable-cell-lines/>
- 5、稳转细胞系构建服务 <http://www.igenebio.com/product/custom-services/stable-cell-line-services/>
- 6、RT-PCR服务 <http://www.igenebio.com/category/product/qpcr-products/>



扫一扫，关注官方微信