



基恩科生物质粒使用方法

01 液体质粒 (-20°保存, 保质期90天)

- ①收到液体质粒后请瞬离样品管, 让液体质粒不要吸附在管壁上;
- ②取出感受态细胞于冰上融化, 取2 μ l的质粒稀释液加到100 μ l感受态细胞里, 冰浴30min;
- ③42°C水浴热激60-90s, 再冰浴5min, 加入700 μ l的无抗培养基, 37°培养箱180rpm培养30min;
- ④5000rpm离心3min, 倒掉上清, 留下100 μ l左右的上清轻打重悬沉淀, 均匀的涂布在对应抗性的LB平板上;
- ⑤倒置培养过夜后, 挑取单个菌落到对应抗性的LB液体培养基中过夜37°培养箱180rpm培养, 根据实验需求抽提DNA。
- ⑥注意事项: 倒置过夜培养若没有菌落生长, 可取10 μ l的质粒稀释液重复上述实验过程; 若菌落太多, 则质粒稀释10倍后重复上述实验过程。

02 甘油菌种 (-80°保存, 保质期90天)

- ①在洁净台用酒精灯将接种环烧热晾凉后, 蘸取甘油菌种在对应抗性的固体培养皿上四区划线;
- ②挑取线上的单个菌落接种到对应液体培养基中;
- ③根据实验需求在37°培养箱180rpm培养, 根据实验需求抽提DNA。

03 穿刺菌种 (4°保存, 保质期7天)

- ①拿到的穿刺菌可以看到明显的穿刺线, 挑取穿刺线上的菌接种到相应的培养基中, 液体培养后四区划线, 挑取线上的单个克隆到对应液体培养基中, 根据实验需求在37°培养箱180rpm培养, 根据实验需求抽提DNA。



04 培养皿菌种 (4°保存, 保质期7天)

- ①直接挑取单个菌落培养。

温馨提醒: 以上操作都需在洁净台无菌操作, 收到样品扩大培养后需根据对应的图谱进行酶切或测序鉴定, 鉴定正确后进行下一步实验!!!

合成和载体定制服务

服务名称	周期	服务内容
siRNA合成	5-7d	合成一条双链siRNA，沉默靶基因
microRNA mimic	5-7d	双链，合成miRNA模拟物，过表达miRNA，用于细胞实验
microRNA inhibitor	5-7d	单链，合成miRNA抑制物，抑制miRNA，用于细胞实验
化学修饰ASO	5-7d	单链寡核苷酸，与目的mRNA结合，主要用于细胞核RNA沉默
sgRNA合成或体外转录	2-3w	sgRNA体外合成，用于引导CRISPR/Cas系统对目的基因组或RNA切割
组织特性性表达载体构建	2-3w	通过组织特异性启动子，实现目的基因特定组织表达（通常为AAV载体，并配合AAV血清型）
诱导型表达载体构建	2-3w	通过tet诱导型启动子，实现目的基因诱导表达或沉默
转座子表达载体构建	2-3w	构建转座子表达载体，实现目的基因稳定整合基因组
基因截断载体构建	1-2w	根据蛋白结构域或功能结构域对目的基因进行截断表达
miRNA表达载体构建	1-2w	获取目的片段，并克隆到目标载体上
miRNA Sponge载体构建	1-2w	表达miRNA Sponge载体序列
miRNA结合位点-双荧光素载体构建	1-2w	miRNA结合位点附近300-500bp的片段构建到pmirGLO或psicheck2载体
miRNA结合位点突变-双荧光素载体构建	1-2w	miRNA“Seed”结合位点突变后构建到pmirGLO或psicheck2载体
启动子-luciferase载体构建	2-3周	启动子序列预测，构建在pGL4.10-luciferase载体
Car载体构建	2-3周	用于Car-T/Car-NK等慢病毒包装用表达载体载体构建
mRNA-IVT体外转录载体构建	2-3周	构建体外转录载体，含两端酶切位点，T7启动子，5UTR，3UTR，polyA等元件构建，用于体外转录及LNP包装
线粒体定位载体构建	2-3周	通过增加mito、Cox8等线粒体定外信号肽，构建线粒体定位表达载体体构建线粒体定位载体构建
LncRNA表达载体构建	2-3w	获取目的片段，设计并克隆到目标载体上
CircRNA表达载体构建	2-3w	获取目的片段，设计并克隆到成环载体上，表达环状RNA
shRNA载体构建	1-2w	含三个靶向基因/非编码区的干扰质粒，赠送NC对照质粒
CRISPR-Cas9 sgRNA 载体构建	1-2w	含三个靶向基因组DNA的gRNA质粒
CRISPR-Cas9 dual sgRNA 载体构建	3-4w	含2个靶向基因的双gRNA质粒
基因敲入Donor载体构建	1-2w	基因敲入sgRNA和同源臂设计
Primer Editor pegRNA 载体构建	1-2w	pegRNA 序列设计和载体构建
PE3载体构建（一套）	2-3w	含一个pegRNA，2个sgRNA载体
载体点突变（单点）	1-2w	对载体进行单碱基突变

载体构建：基因克隆、启动子克隆、shRNA载体构建、CRISPR相关载体构建、载体点突变
病毒包装：慢病毒、非整合慢病毒、腺病毒、腺相关病毒、病毒样颗粒蛋白、脂质体纳米颗粒
细胞修饰：过表达稳转细胞系、基因干扰细胞系、基因永久敲除细胞株
试剂产品：常规试剂、感受态、基因敲除敲入点突变试剂盒、滴度检测试剂盒
基础实验：裸鼠成瘤、动物模型构建、QPCR、Western Blot、dPCR检测
基因合成：siRNA合成、miRNA合成、基因合成（各种骨架载体可选）、ASO合成等



扫码关注

Tel: 029-84613682

www.genecarer.com