



噗啦噗啦实验室

(普拉特泽)

追求真理，远离谬误。

RNP电转法 (无荧光、无抗性干扰)

基因敲除稳株服务咨询表

订单编号: 20250801-PL0XXXXXXXX-JCV

填写说明: 请您务必将*号标记的部分填写完整, 以便于让我司技术员对您基因敲除细胞系的需求进行准确评估。

您的信息

您的姓名*	
手机号码*	
邮箱*	
单位名称*	

需评估的信息 (如您不会填写, 或嫌填写麻烦, 可联系我司相关人员协助填写)

<h4>目的基因</h4>	<p>1. 基因名称*:</p> <p>2. Gene ID*:</p> <p>3. 是否为线粒体DNA (mtDNA) * : <input type="checkbox"/>是; <input checked="" type="checkbox"/>否 <small>仅能针对核内基因进行敲除, mtDNA暂无法进行敲除。</small></p> <p>4. 是否条件敲除致死* : <input type="checkbox"/>是; <input type="checkbox"/>否; <input checked="" type="checkbox"/>不知道 <small>敲除致死的基因通常为细胞生命活动的“核心基因”, 其敲除会直接导致关键生理过程 (如胚胎发育、能量代谢、细胞分裂) 的彻底失败。敲除致死的主要原因可能有: (1) 该基因是细胞或生物体存活的“必需基因”, 其编码的产物 (如关键酶、结构蛋白、调控因子等) 是生命活动的基础。 (2) 某些基因的功能依赖于产物的精确剂量, 剂量不足会直接导致关键生理过程失败; (3) 杂合子中的敲除等位基因可能编码异常产物, 该产物会干扰正常等位基因产物的功能, 导致整体功能丧失; (4) 单倍体不足是指单个正常等位基因无法维持正常表型, 即杂合子 (+/-) 的功能已不足以支持生存。</small></p> <p>5. 是否有靶标序列要求* : <input checked="" type="checkbox"/>否 (能实现敲除就行); <input type="checkbox"/>是 (根据我提供的靶标序列设计gRNA 并做敲除) <small>本条默认选“否”, 如选“是”, 请在此处粘贴靶标序列。</small></p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 5px;"> <p>5'-3'</p> </div>
---------------	---

<p>目的细胞系</p>	<p>1. 细胞中文名称*: 2. 细胞英文简称*: 3. 细胞种属: <input checked="" type="checkbox"/>人; <input type="checkbox"/>大鼠; <input type="checkbox"/>小鼠; <input type="checkbox"/>其他 4. 细胞生长状态: <input checked="" type="checkbox"/>贴壁; <input type="checkbox"/>悬浮; <input type="checkbox"/>半悬浮半贴壁 5. 细胞来源*: <input checked="" type="checkbox"/>我司提供 (默认, 提供近半年内的STR鉴定报告/种属鉴定报告) <input type="checkbox"/>我来提供 (需您提供近半年内的STR鉴定报告/种属鉴定报告)</p>
<p>交付要求</p>	<p>1. 细胞交付要求*: <input checked="" type="checkbox"/>亲本株 (默认交付) <input checked="" type="checkbox"/>“纯”系列—KO单克隆纯/嵌合子 (一对同源染色体上的目的基因均被敲除, 即基因层面100%敲除) <input type="checkbox"/>“亚”系列—KO单克隆杂合子 (一对同源染色体上的目的基因有其中一条被成功敲除) <input type="checkbox"/>“蕴”系列—KO细胞池 (未经单克隆筛选、包含多种基因型细胞的混合细胞, 可由您后续自行筛选)</p> <p>2. 细胞交付状态*: <input checked="" type="checkbox"/>冻存细胞 (默认亲本株、敲除株各2管, 10E6个/管) <input type="checkbox"/>活细胞 (默认亲本株、敲除株各1瓶, 50000-150000个/瓶) <input type="checkbox"/>活细胞+冻存细胞 (默认10E6个/管+500,000-1,500,000个/瓶) <input checked="" type="checkbox"/>STR鉴定报告 (如使用我司人源细胞系则默认提供, 非我司细胞不提供) <input type="checkbox"/>物种鉴定报告 (如使用我司非人源细胞系则默认提供, 非我司细胞不提供) <input checked="" type="checkbox"/>支原体阴性检测报告 (如使用我司细胞则默认提供, 非我司细胞不提供)</p> <p>3. 敲除验收标准*: <input checked="" type="checkbox"/>基因组PCR+Sanger测序报告 (默认标准), 其中: ✧ 若交付细胞为KO细胞池: 目的基因的扩增产物会包含多种不同的基因序列 (正常序列、不同敲除/突变序列)。测序时, 这些不同序列在同一位置会显示多个碱基信号叠加, 表现为套峰 (同一位置出现两个或多个峰) 或杂峰 (背景杂乱的峰)。 ✧ 若交付为KO单克隆杂合子: 目的基因的基因型均一, 但为杂合状态。扩增产物包含两种序列 (正常等位基因的序列+敲除/突变等位基因的序列)。测序时, 这两种序列在差异位置会出现信号叠加, 因此表现为套峰。 ✧ 若交付为KO单克隆纯合子或嵌合子: 目的基因的扩增产物为单一的缺失序列。测序时, 会在缺失位置出现连续的峰位移 (因碱基数量减少, 后续序列整体前移), 表现为明确的缺失模式。 <input type="checkbox"/>Western blot检测报告 (非默认标准) 如需, 请在签约前与我司相关人员确认靶点设计区域, 或在知晓“基因敲除≠蛋白必然消失”的前提下, 与我司签约WB保障型基因敲除单克隆稳株服务, 见后表。</p> <p>4. 细胞培养周边: <input checked="" type="checkbox"/>需要完全培养基 (推荐, 含血清, 200元/500 mL/瓶), 需 <u> X </u> 瓶 与我司培养条件完全一致, 无需另外购买其它培养成分, 降低培养风险, 守护KO细胞更好生长。 <input checked="" type="checkbox"/>赠送我双抗 (100×, 100元/100 mL/支), 需赠 <u> 1 </u> 支, 超出1支需收费。 <input checked="" type="checkbox"/>需要支原体清除剂 (Pro, 1000×, 300元/1 mL/支), 需 <u> X </u> 支 <input checked="" type="checkbox"/>血清型细胞冻存液 (20%或40%血清, 880元/100 mL/支), 需 <u> X </u> 支</p>
<p>交付说明</p>	<p>1. 流程/周期/费用</p> <pre> graph TD A[2周 靶点设计+合成] --> B[细胞复苏+状态调整] A --- B B --> C[电转: 2周 电转+检测靶点有效性] C --> D[单克隆: 3-4周 流式分选] D --> E[鉴定: 1-2周 挑克隆 测序] E --> F[发货前准备: 2周 挑亚系, 扩培, 支原体鉴定, 保种, 发货] Note1[细胞如无法长单克隆 => 交付Cell Pool (6880元)] Note2[默认96孔板, 3板 成功挑到纯合子 => 交付纯合子稳株 (12800元)] Note3[无纯合子 => 交付杂合子稳株 (9800元)] Note1 -.-> C Note2 -.-> D Note3 -.-> D </pre>

说明：图片费用为参考费用，具体根据我司实时市场价或活动价签约。

2. 阶梯式收费说明

为什么交付KO细胞池？

答：基因编辑技术对细胞的作用随机。在同一批处理的细胞中，可能存在“未被编辑细胞”、“单等位基因敲除细胞”、“双等位基因敲除细胞”以及“脱靶编辑细胞”等。只有通过单克隆筛选，才能从混合群体中挑出“单个成功敲除目标基因的细胞”，并培养成纯合的稳株。此时，若细胞不具备生长单克隆能力，即单个细胞不能存活或增殖，就无法获得编辑后的杂合/纯合的编辑细胞群体，导致无法构建稳株。常见于生存依赖群体效应、对培养环境敏感，以及增殖能力弱的细胞。

——293T、HEK293、THP-1以及Hela细胞确定可长单克隆。

——若您的细胞最终确定无法生长单克隆，则编辑费用为6,880元，终止。

为什么交付杂合子？

答：只能交付杂合子的本质原因是双等位基因敲除的低概率事件与细胞存活压力共同作用的结果。可能因编辑效率不足、或编辑后基因修复等因素难以获得纯合子；或者因目标基因的必要性，导致纯合子无法存活或生长缓慢，在单克隆扩增过程中被淘汰。这种情况下，杂合子是唯一可稳定存活的单克隆类型。

——若确定无法获得纯合子，则编辑费用为9,880元，终止。

评估确认*

评估人工号： _____

评估日期： _____

<p>费用明细/支付节点*</p>	<p>1. 费用项*:</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 亲本株, 费用: 免</p> <p><input type="checkbox"/> 敲除株 (Cell Pool), 费用: <u>6,880</u>元</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 敲除株 (单克隆-杂合子), 费用: <u>9,880</u>元</p> <p><input type="checkbox"/> 敲除株 (单克隆-纯/嵌合子), 费用: <u>11,800</u>元</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 完全培养基, 费用: 200元/瓶× <u>X</u> 瓶, 费用: <u>X</u> 元</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 支原体清除剂, 费用: 300元/1mL/支× <u>X</u> 支, 费用: <u>X</u> 元</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 双抗, 费用: 100元/100 mL/支× <u>1</u> 支, 费用: <u>0</u> 元</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 血清型细胞冻存液, 费用: 800元/100 mL/支× <u>1</u> 支, 费用: <u>0</u> 元</p> <p>2. 费用总计:</p> <p>人民币金额 (大写): 人民币[]百[×]拾[壹]万[伍]千[陆]百[捌]拾[零]元整, <u>15680.00</u>元整</p> <p>3. 支付节点:</p> <p>(1) 双方正式签约后, 甲方支付乙方10%合作定金, 乙方为甲方开具首付款发票, 即总服务费用50%的发票, 供甲方报账。</p> <p>(2) 甲方报账到款后, 乙方退还甲方10%合作定金, 并正式开启相关服务。</p> <p>(3) 乙方完成相关服务后, 甲方需支付乙方50%项目尾款, 乙方于全款到齐后, 向甲方一次性发货亲本株及KO细胞株。如甲方尾款需报账到款, 则建议提前与乙方相关各种人员联系开票, 避免交付周期耽误; 或考虑自行垫付尾款, 乙方做交付, 同时在甲方报账款到后的一周内, 将甲方的自垫款退回。</p>	
<p>周期明细*</p>	<p><input type="checkbox"/> 敲除株 (Cell Pool), 交付周期: <u>4-6周</u></p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 敲除株 (单克隆-杂合子), 费用: <u>8-10周</u></p> <p><input type="checkbox"/> 敲除株 (单克隆-纯/嵌合子), 费用: <u>10-12周</u></p> <p>说明: 单克隆筛选周期受细胞单克隆生长能力影响较大, 具体交付周期以实际情况为准, 乙方相关人员会进行实时汇报。</p>	
<p>合作确认*</p>	<p>甲方 (委托方) *:</p> <p>所属单位*:</p> <p>通讯地址*:</p> <p>联系人*:</p> <p>联系电话*:</p> <p>E-mail:</p>	<p>乙方 (受理方): 湖南普拉特泽生物科技有限公司</p> <p>通讯地址: 湖南省-长沙市-湘江新区-麓谷街道麓云路100号-兴工科技园-13栋402</p> <p>联系人*:</p> <p>联系电话*:</p> <p>E-mail:</p>
<p>双方签字/盖章*</p> <p>无甲/乙双方签名或盖章的协议无法律保障, 不能视为有效合同。</p>	<p>甲方 (盖章) :</p> <p>授权代表 (签署) *:</p> <p>身份证件号码:</p> <p>日期: 年 月 日</p>	<p>乙方 (公章)</p> <p>授权代表 (签署) *:</p> <p>身份证件号码:</p> <p>日期: 年 月 日</p> 

WB保障型KO稳株 (介绍)

相信专业又可爱的您一定希望KO细胞在做后续实验时，敲除基因所对应的蛋白和其功能都能够消失不见，我们也是这么希望的。然而，现实常常事与愿违，基因的消失与蛋白表达/功能的消失存在不完全对应关系，什么原因呢？

常见的原因有以下几类：

1. 当代基因编辑技术的局限性——密码子的简并性与移码突变的不完全性

基因敲除技术可能仅造成小范围移码，但若突变发生在基因的非关键区域（如靠近3'端），剩余的氨基酸序列仍可能折叠成部分功能的蛋白；或终止密码子延迟出现，虽使蛋白质变短，但仍具有活性。

2. 细胞内复杂的代偿或修复机制

(1) mRNA的降解逃逸

正常情况下，基因移码突变的 mRNA 会被细胞的无义介导降解（NMD）机制清除，但部分突变 mRNA 可能逃逸降解，翻译出截短蛋白，导致WB检测仍有条带，表现为比目标分子量更小的条带。

(2) 代偿机制的存在

某些基因的功能可被同源基因代偿，即使目标基因蛋白消失，表型也可能无明显变化；代偿基因未能激活，蛋白缺失的表型才会显现。

(3) 翻译后修饰的影响

即使基因敲除导致蛋白表达量下降，残留的少量蛋白仍可能通过磷酸化、甲基化等修饰维持部分功能，导致基因敲除成功但蛋白功能未完全丧失的现象。

3. 部分细胞（如癌细胞）的基因组混乱

癌细胞基因组通常有多拷贝基因的存在、染色体异质性、基因结构变异等特征，可能导致基因敲除后仍能检测到目标蛋白。这种现象反映了癌细胞的高度适应性和基因组可塑性，也是癌症治疗中靶向治疗耐药的重要原因之一。在实验研究中，需结合多水平验证（基因组、转录组、蛋白组）确认敲除效果，避免误判。

我该如何解决？

结合多层面验证：基因测序确认敲除成功后，需通过 Western blot、免疫荧光（IF）等技术手段验证蛋白表达及空间定位的变化，同时结合功能实验（如细胞表型、信号通路变化）综合判断基因功能是否确实缺失。

总的来说，基因层面的敲除成功是功能研究的基础，但蛋白水平的变化受多种调控机制的影响，因此实验中需基因测序与蛋白检测、功能验证相结合，才能更严谨地判断基因敲除的实际效果。基因编辑并非总能完全阻断蛋白功能，这正是后续功能验证的意义所在。

<p>WB保障型KO稳株</p> <p>(签约流程及服务保障)</p>	<p>1. 提供亲和性有效抗体</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 我司提供 (默认, 600元/50 μL, 1000元/100 μL)</p> <p><input type="checkbox"/> 我来提供 (原液提供, ≥20 μL, 附抗体说明书)</p> <p>2. 抗体有效性质检</p> <p>费用800元/抗体/次, 含阳参、阴参、亲本株细胞蛋白裂解液检测。</p> <table border="1" data-bbox="434 353 1471 595"> <thead> <tr> <th>阳参蛋白</th> <th>阴参蛋白</th> <th>亲本株细胞</th> <th>结论</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>+</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>抗体有效</td> </tr> <tr> <td>+</td> <td>+</td> <td>+/-</td> <td>存疑, 更换抗体</td> </tr> <tr> <td>+</td> <td>-</td> <td>-, 或极弱</td> <td>亲本株即无蛋白表达, 无需考虑敲除后的WB阴性保障</td> </tr> <tr> <td>-</td> <td>+/-</td> <td>+/-</td> <td>抗体无效, 更换抗体</td> </tr> </tbody> </table> <p>3. KO稳株服务流程 (同上)</p> <p>在确定WB抗体有效的前提下, 继续推进WB保障型KO服务。</p> <p>4. KO稳株WB质检</p> <p>费用800元/抗体/次, 含阳参、阴参、亲本株细胞、KO细胞的蛋白裂解液检测。</p> <table border="1" data-bbox="434 833 1471 1191"> <thead> <tr> <th>测序结果</th> <th colspan="4">WB检测结果</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>在明确序列</td> <td>阳参蛋白</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>存在缺失的</td> <td>阴参蛋白</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>前提下, 参</td> <td>亲本株细胞</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>考WB检测</td> <td>KO细胞</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>结果, 进行</td> <td></td> <td colspan="3">但量减少 仅小片段</td> <td>且量未减少, 甚至增多</td> </tr> <tr> <td>判断</td> <td>解决方案</td> <td colspan="3">上述3种情况可认为基因敲除成功引起了蛋白表达水平的下降或功能受损。</td> <td>2次WB检测免费 我司抗体免费</td> </tr> </tbody> </table>		阳参蛋白	阴参蛋白	亲本株细胞	结论	+	-	+	抗体有效	+	+	+/-	存疑, 更换抗体	+	-	-, 或极弱	亲本株即无蛋白表达, 无需考虑敲除后的WB阴性保障	-	+/-	+/-	抗体无效, 更换抗体	测序结果	WB检测结果				在明确序列	阳参蛋白	+	+	+	+	存在缺失的	阴参蛋白	-	-	-	-	前提下, 参	亲本株细胞	+	+	+	+	考WB检测	KO细胞	-	+	+	+	结果, 进行		但量减少 仅小片段			且量未减少, 甚至增多	判断	解决方案	上述3种情况可认为基因敲除成功引起了蛋白表达水平的下降或功能受损。			2次WB检测免费 我司抗体免费
阳参蛋白	阴参蛋白	亲本株细胞	结论																																																												
+	-	+	抗体有效																																																												
+	+	+/-	存疑, 更换抗体																																																												
+	-	-, 或极弱	亲本株即无蛋白表达, 无需考虑敲除后的WB阴性保障																																																												
-	+/-	+/-	抗体无效, 更换抗体																																																												
测序结果	WB检测结果																																																														
在明确序列	阳参蛋白	+	+	+	+																																																										
存在缺失的	阴参蛋白	-	-	-	-																																																										
前提下, 参	亲本株细胞	+	+	+	+																																																										
考WB检测	KO细胞	-	+	+	+																																																										
结果, 进行		但量减少 仅小片段			且量未减少, 甚至增多																																																										
判断	解决方案	上述3种情况可认为基因敲除成功引起了蛋白表达水平的下降或功能受损。			2次WB检测免费 我司抗体免费																																																										
<p>费用/周期明细*</p>	<p>1. 费用项*:</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 在KO服务通用交付标准 (见上)</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 抗体费 (600元/50 μL)</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> WB检测费 (1600元, 全膜, 含蛋白Marker, 前后共两次)</p> <p>2. 费用总计*:</p> <p>人民币金额 (大写): 人民币[]百[]拾[壹]万[伍]千[陆]百[捌]拾[零]元整, <u>15680.00元整</u></p> <p>3. 周期总计*:</p> <p>在原KO通用服务周期的基础上延长2-3周, 用于前后共2次WB质检周期。</p>																																																														
<p>双方签字/盖章*</p> <p>无甲/乙双方签名或盖章的协议无法律保障, 不能视为有效合同。</p>	<p>甲方 (盖章):</p> <p>授权代表 (签署) *:</p> <p>身份证件号码:</p> <p>日期: 年 月 日</p>	<p>乙方 (公章):</p> <p>授权代表 (签署) *:</p> <p>身份证件号码:</p> <p>日期: 年 月 日</p> 																																																													