

编号: 1665

苏州大学基础医学与生物科学学院

实验记录本

所在学系 应用生物学系

姓名 王晨晨

学号/工号 20234221253

课题负责人 徐世清

领用日期: 2023 年 9 月 18 日



三. 细胞传代 10.9

1. 细胞状态观察

于26°C培养箱恒温培养, 每隔2-3天更换全培
显微镜下观察细胞密度, 当达到80%左右时即可传代.

2. 细胞传代

吸除旧培养基, (余1ml吸吹多次, 吹掉贴壁不穿的细胞)
加入6ml完全培养基, 轻轻吹打培养瓶底部, 显微镜下观察细胞是否吹散成团.
均匀分至两个新培养瓶
封口后, "十"字摇晃均匀, 使液体铺满瓶底, 作好标记, 26°C恒温培养.

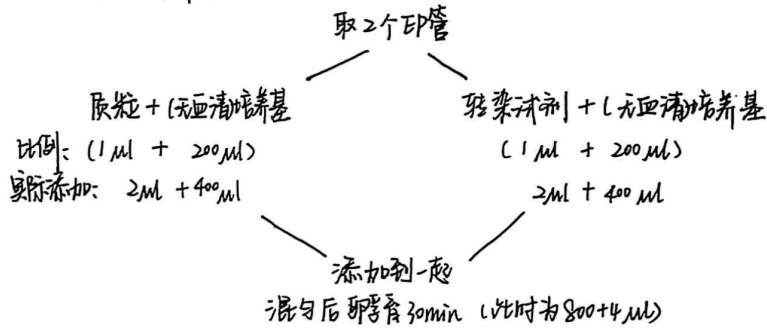
三. 细胞转染 10.10

1. 质粒浓度检测

提前测好 SURF4-V5 质粒浓度 (V5 标签标记的 SURF4-OE 质粒, 荧光显微镜)
其浓度为 3109.7 ng/ml

2. DMN 细胞转染

转染试剂 (蓝色瓶) 在 -20°C



吸除细胞原培养基后, 加入共混液 (转染试剂、质粒共混液)
加 2 ml 无血清培养基, 26°C 恒温培养 6-8 h 后, 更换含血清培养基.
16 h 后即可观察是否有绿色荧光.

实验结果:

未观察到视野中有绿色荧光出现 后期再转染试试.

实验目的: 验证个体水平 (SLAD 脂肪体) SURF4 的敲降效果

实验材料: WT, SURF4-KD 家蚕 SLAD 脂肪体.

实验步骤:

具体操作步骤详见 P12-14.

实验结果:

1. 提 RNA 测浓度

	ng/ml	A260/A280	A260/A230
WT	2217.5	1.96	0.87
SURF4-KD	559.7	1.74	0.85

稀释 WT

	ng/ml	A260/A280	A260/A230
WT	465	1.9	0.79

2. 反转录得 cDNA

RNA 样品与 ddH₂O 添加比例

	RNA 样品	ddH ₂ O
WT	2.151 ml	10.85 μl
SURF4-KD	2.892 ml	10.11 μl

测得 cDNA 浓度

	ng/ml	A260/A280	A260/A230
WT	747.6	1.82	1.99
SURF4-KD	800.4	1.80	1.61

3. 定量 (qPCR).



实验名称:

年 月 日

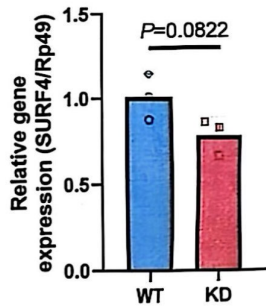
存板:

	Rp49	SURF4
WT	0 0 0	0 0 0
SURF4-KD	0 0 0	0 0 0

体系:

TBGreen	70
Rox	2.8
F	2.8
R	2.8
dH ₂ O	47.6
cDNA	2 μL/30

实验结果:



定量结果显示 SURF4-KD 有一定敲降效果, $P=0.0822$.

考虑到可能启动子效率没有特别高,且敲降效率随机性较大.

原始数据存于: U盘 → SURF4-定量.

实验名称: 细胞转染过表达 SURF4

2024年10月14日-10.

实验目的: 未视成功转染(绿色荧光)的细胞进行 SURF4-OE-15 重转染.

实验材料: ① 设置对照, 看转染成功与否的问题出在哪.

所以准备 P41 转染过(未成功转染)和 未转染过的细胞

②. pm SURF4-OE-15 质粒.

③. 转染试剂

实验步骤:

细胞转染的具体步骤见 P42.

1. 对已转染过的细胞 (记作 a).

9:00 转无血清培养基.

17:00 换成完全培养基

19:00 转染.

2. 对未转染过的细胞 (记作 b)

正常转染.

实验结果:

a. b 组视野中均未发现荧光细胞, 转染未能成功.

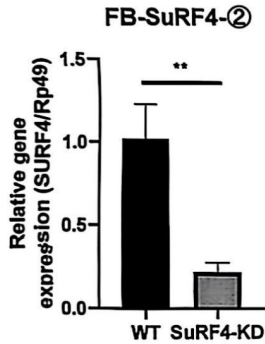
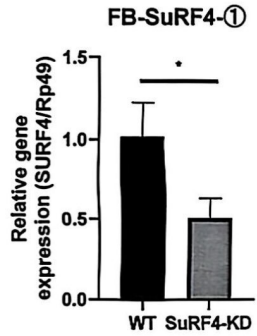
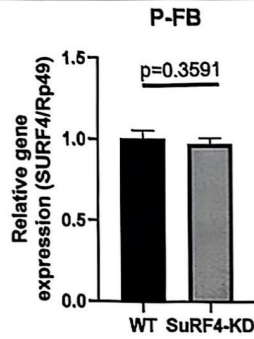
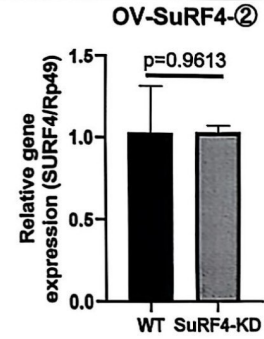


实验目的: 调查 WT 与 SURF4-KD 的早、中、后期是否存在差异 (P>2) 并调查。

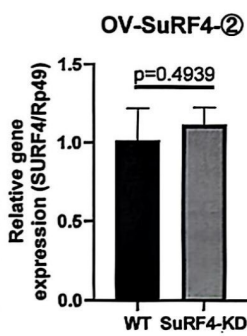
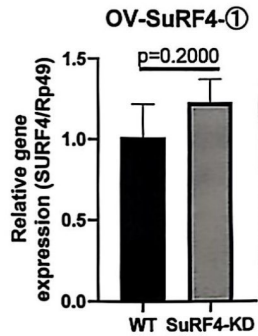
实验材料: ① WT、SURF4-KD P2 时期的早、中、后期。
② 天平、称量纸。

实验结果:

WT-早	全量	茧量	裸蛹
①	1.0741	0.1144	0.9538
②	1.0593	0.1061	0.9485
③	1.1375	0.1038	1.0253
④	1.0647	0.1214	0.9378
⑤	1.1343	0.1205	1.0085
⑥	1.0909	0.1085	0.9771
⑦	1.2075	0.1344	1.0659
⑧	1.0370	0.1206	0.9100
⑨	1.0961	0.1283	0.9607
⑩	0.8824	0.1118	0.7661
⑪	1.2367	0.1147	0.1128
⑫	1.1019	0.1362	0.9582
⑬	0.9473	0.0997	0.8391
⑭	0.9922	0.0896	0.8929



脂肪体仍表现出显著降低



卵巢可能没有敲降效果。

所以质量结果也不合目标。

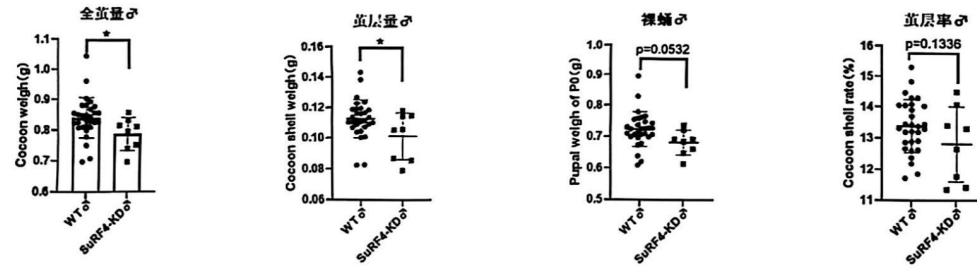
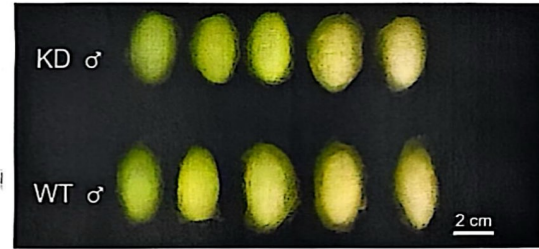
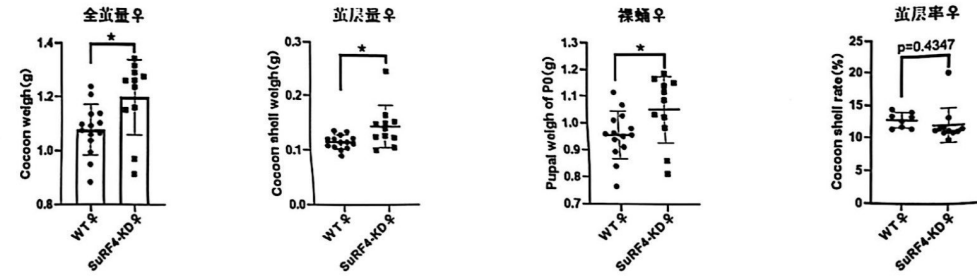
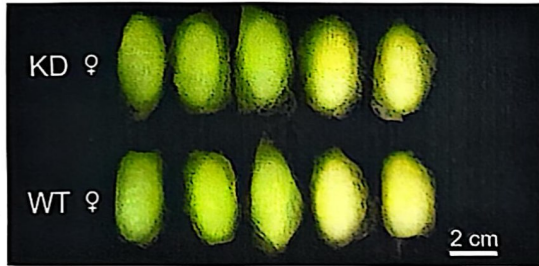
原始数据在: U盘-SuRF4-度量-241117

实验名称:

年 月 日

实验名称: 表型调查

2024年12月3日



降低 ^{茧层率} SURF4 之后, 早在蛹重保持不变的情况下, 全茧量、茧层量及蛹重都有所上调, 而♂则都表现下调

但整体来说, 无明显表型现象。原数据存于: U盘-SURF4-茧蛹拍照+体重数据调查

实验目的: 验证 SURF4 在大蚕中的时、空表达谱以及敲降后表达是否变化

实验材料: 时间: (组织为FB).
 5L1D, 5L3D, 5L5D, W2, P1
 空间: (时间为5L3D)
 OV, TE, MG, SG, FB.

实验步骤: 详见 P12-14.

实验结果与结论:

			OD	加RNA量	ddH ₂ O
WT-FB	5L1D	♀	778.2	1.29	11.71
WT-FB	5L1D	♂	583.1	1.71	11.29
KD-FB	5L1D	♀	700.2	1.43	11.57
KD-FB	5L1D	♂	819.8	1.22	11.78
WT-FB	5L3D	♀	755.1	1.32	11.68
WT-FB	5L3D	♂	889.7	1.12	11.88
KD-FB	5L3D	♀	768.6	1.30	11.70
KD-FB	5L3D	♂	946.6	1.06	11.94
WT-FB	5L5D	♀	1122.6	0.89	12.11
WT-FB	5L5D	♂	913.3	1.09	11.91
KD-FB	5L5D	♀	1218.6	0.82	12.18
KD-FB	5L5D	♂	1268.2	0.79	12.21
WT-FB	W2	♀	1307.8	0.76	12.24
WT-FB	W2	♂	762.5	1.31	11.69
KD-FB	W2	♀	1431.5	0.70	12.30
KD-FB	W2	♂	1087.8	0.92	12.08
WT-FB	P1	♀	1327.2	0.75	12.25
WT-FB	P1	♂	826	1.21	11.79
KD-FB	P1	♀	840.1	1.19	11.81
KD-FB	P1	♂	835.9	1.20	11.80
WT-OV	5L3D		793.2	1.26	11.74
WT-TE	5L3D		943.8	1.06	11.94
KD-OV	5L3D		723	1.38	11.62
KD-TE	5L3D		1024.6	0.98	12.02
WT-SG	5L3D	♀	1010.2	0.99	12.01
WT-SG	5L3D	♂	1157.9	0.86	12.14
KD-SG	5L3D	♀	1285.7	0.78	12.22
KD-SG	5L3D	♂	1154.7	0.87	12.13
WT-MG	5L3D	♀	1153	0.87	12.13
WT-MG	5L3D	♂	1408.4	0.71	12.29
KD-MG	5L3D	♀	1141	0.88	12.12
KD-MG	5L3D	♂	1312.8	0.76	12.24