

# 基因与蛋白表达分析

南模生物提供包括RT-PCR、realtime PCR、Western blot在内的高质量的基因与蛋白表达分析服务，获得可用于文章发表的实验结果。

- [RT-PCR](#)
- [Realtime PCR](#)
- [Western blot](#)

逆转录聚合酶链反应（Reverse transcription PCR, RT-PCR），是将RNA的反转录（RT）和cDNA的聚合酶链式扩增（PCR）相结合的技术。首先经反转录酶的作用从RNA合成 cDNA，再以cDNA为模板，利用变性，退火和延伸多步骤、多循环来扩增目的DNA片段。在该反应过程中，目的DNA产量呈指数增长，使一些极为微量RNA样品检测成为可能。

## 我们提供：

1. 抽取的RNA和逆转录的cDNA样本
2. 操作步骤及详细的试剂和耗材
3. 引物序列
4. 琼脂糖电泳图
5. 原始数据及处理后的正式实验数据

**服务周期：** 7个工作日

## 温馨提醒：

1. 细胞样本 $10^6$ 以上，收集后-80℃保存；组织标本100mg标本；血清或血液1ml以上，干冰运输
2. 单基因10个样本以上
3. 试验周期不包括探针、标准品合成时间
4. 默认的抽提方式TRIZOL，如果需要试剂盒抽提，则需要客户提供
5. 标本公司免费保存一个月，一个月以后自行处理，如果需要邮寄，则需要客户付邮寄费用。

实时荧光定量PCR技术是在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，通过标准曲线对未知模板进行定量分析的方法，或者通过目的基因和内参基因的 $\Delta\Delta Ct$ 比值进行相对定量法。该技术不仅实现了对RNA模板的定量而且具有灵敏度高、特异性和可靠性更强、能实现多重反应、自动化程度高、无污染性、具实时性和准确性等特点。

## 实验步骤:

### 1. 样品获取、处理和制备

1.1 悬浮细胞: 将悬浮细胞 $1 \times 10^6$  个/ml培养液倒入离心管中, 离心沉淀细胞。PBS冲洗2次, 将细胞离心底部, 向离心管中加入500-1000 $\mu$ l Trizol, 然后置于-80度冰箱保存。或者将离心底部的干细胞置于-80度冰箱保存。

1.2 贴壁细胞: 用胰酶消化细胞 $1 \times 10^6$  个/ml, 离心PBS冲洗2次, 将细胞离心底部, 向离心管中加入500-1000 $\mu$ l Trizol, 然后置于-80度冰箱保存。或者将离心底部的干细胞置于-80度冰箱保存。

1.3 组织: 采集新鲜组织100mg, 放入离心管中, 做好标记, 于液氮冷冻片刻后, 置于-80度冰箱保存。

1.4 血液: 用抗凝管收集的全血1ml, 加入RNA保护剂, 做好标记, 置于-80度冰箱保存。

### 2. RNA或DNA质控

### 3. 反转录

### 4. 引物验证

### 5. qPCR过程

### 6. 数据分析

## 我们提供:

1. 抽取的RNA和电泳图及逆转录的cDNA样本

2. 操作步骤及详细的试剂和耗材

3. 引物序列

4. 溶解曲线和扩增曲线

5. 原始数据及处理后的正式实验数据

蛋白质印迹 (Western blotting) 是将蛋白质电泳分离技术与免疫标记技术结合所形成的一种鉴定特异性抗原的方法。蛋白质转印应先将含某抗原的蛋白混合物进行SDS-聚丙烯酰胺凝胶 (SDS-PAGE) 电泳, 使各种蛋白成分根据分子量的不同分离开来; 再通过电转移将各种蛋白成分转印到硝酸纤维素膜 (NC) 或PVDF膜上; 通过特异试剂 (抗体) 作为探针, 与膜上的相应抗原发生结合, 再与酶标记的抗Ig 抗体结合, 洗涤后加入底物进行显色。根据显色条带的位置和深浅, 可以对抗原及其分子量或相对含量进行检测。

## 实验步骤:

1、细胞或组织蛋白提取和定量。

2、SDS-PAGE

- 3、转膜
- 4、封闭
- 5、免疫反应
- 6、扫膜等图像采集
- 7、数据分析

**我们提供：**

- 1、实验结束后剩余样品
- 2、实验报告
- 3、原始条带的荧光或灰度图

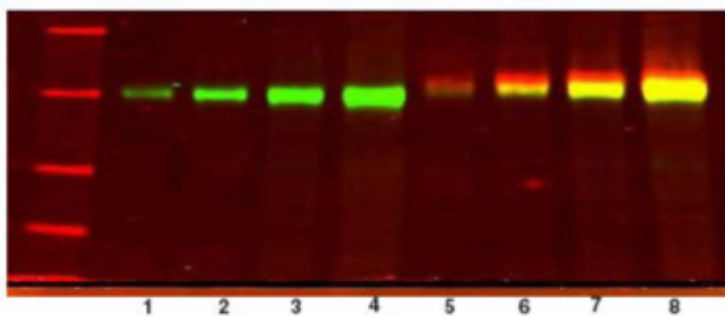
**实验器材：**



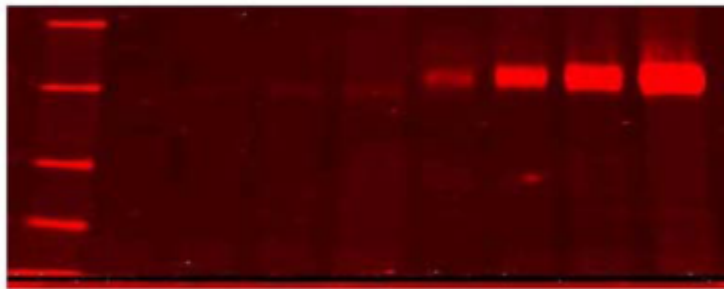
Odyssey红外荧光扫描成像系统

**结果示意图**

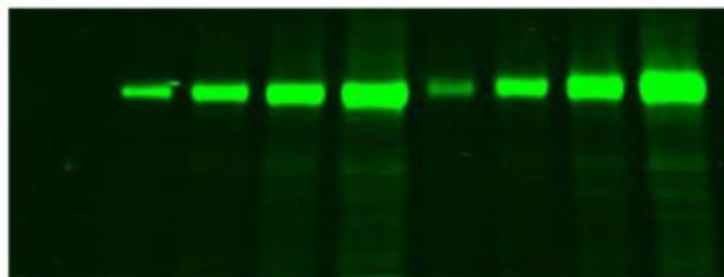
700 nm (red), 800 nm (green),  
and both (yellow).



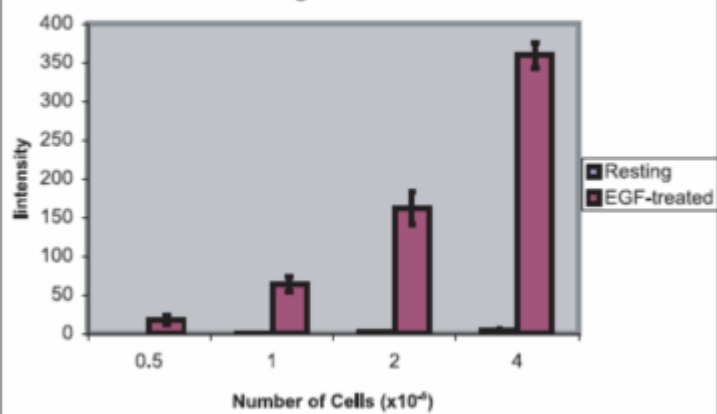
700 nm image.

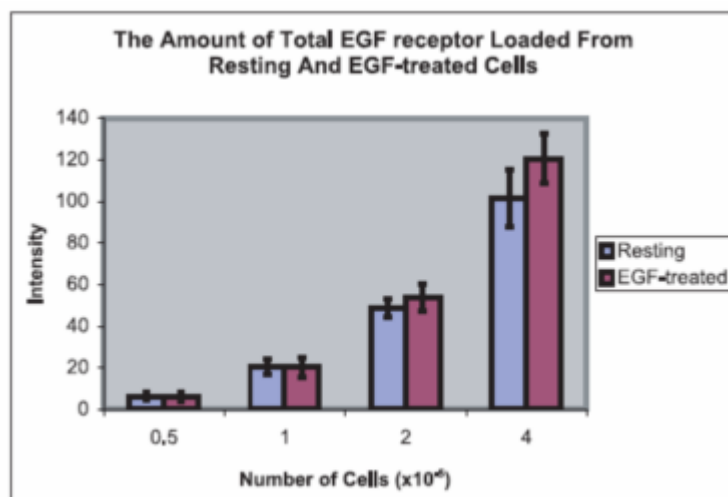


800 nm image.



Quantification of EGF receptor Phosphorylation  
From Resting And EGF-treated Cells





**服务周期：**1个月

**温馨提示：**

1. 细胞样品 $10^6$ 个以上，收集干细胞后放 $-80^{\circ}\text{C}$ 冰箱或液氮保存
2. 组织样品100mg以上， $-80^{\circ}\text{C}$ 冰箱或液氮保存
3. 一抗、核（膜）蛋白抽提试剂盒需客户提供
4. 内参免费（一般选用GAPDH内参）