

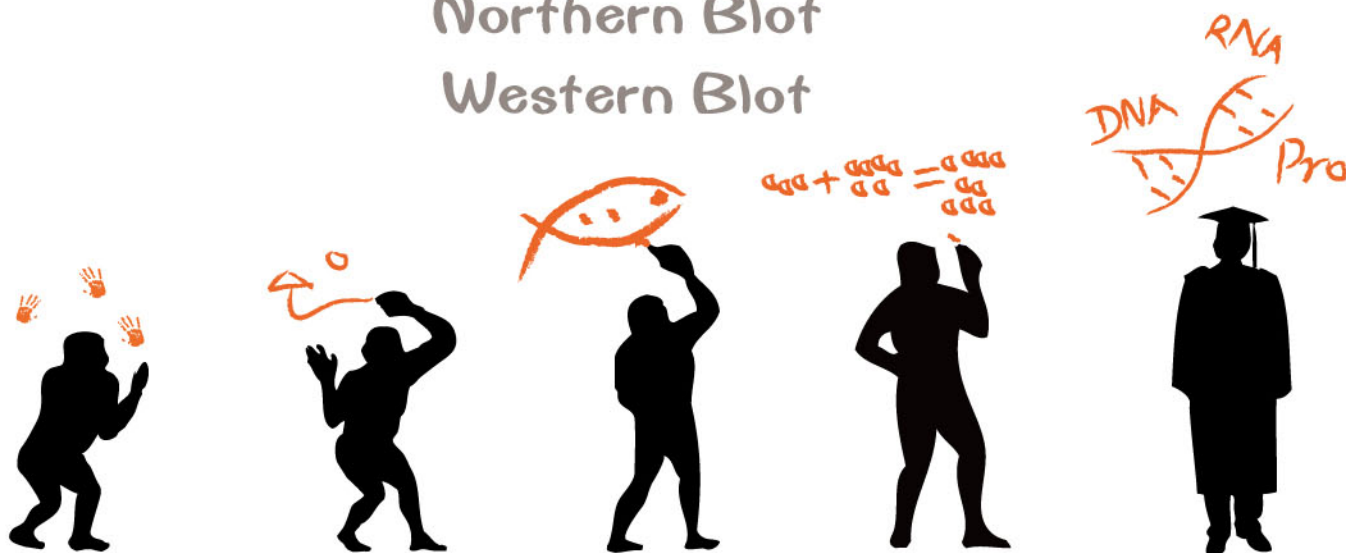


钟鼎生物  
ZOONBIO BIOTECHNOLOGY

# 印迹杂交系列服务

## Southern Blot

Northern Blot  
Western Blot



公司名称：南京钟鼎生物技术有限公司  
分子生物学技术服务 025-84448440-601  
基因工程操作技术服务 025-84448440-608  
免疫学检测技术服务 025-84448440-602  
项目合作 025-84448440-601  
传真：025-84448440-609

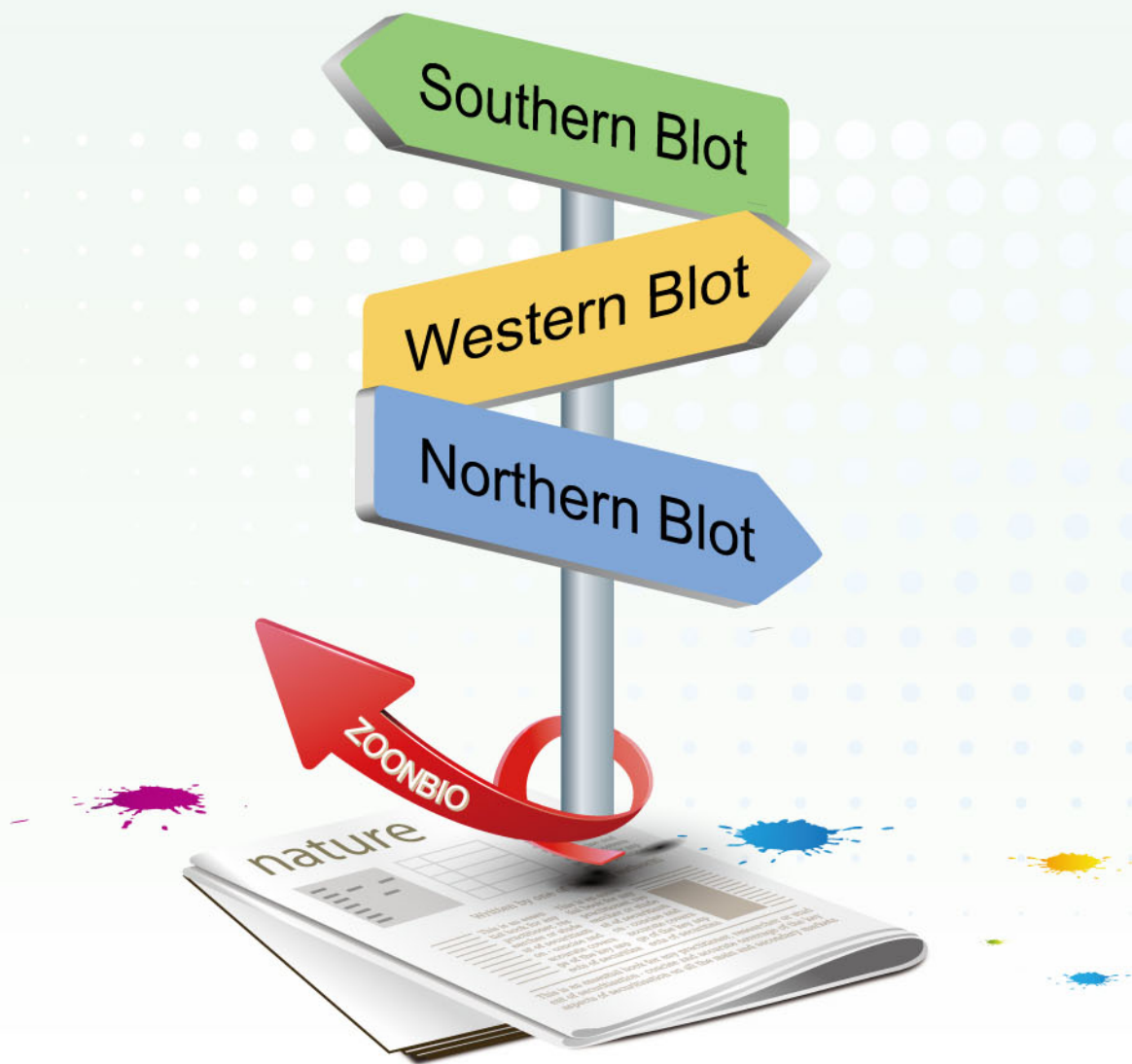
免费热线：400-025-1124  
抗体制备技术服务 025-84448440-611  
蛋白表达技术服务 025-84448440-608  
蛋白质解析服务 025-84448440-608  
行政外联 025-84448440-606

邮箱：order@zoonbio.com 公司网址：www.zoonbio.com

联系地址：江苏省南京市玄武区孝陵卫双拜巷78号紫金山创业科技园A座2楼（邮编 210014）

# 杂交服务哪家强？

## 钟鼎当仁不让



在钟鼎生物的帮助下，客户获得清晰、低噪、客观真实的实验结果，看到客户文章的发表，我们与有荣焉！

[1] Ecdysone receptor isoform-B mediates soluble trehalase expression to regulate growth and development in the mirid bug, *Apolygus lucorum* (Meyer-Dür) *Insect Mol Biol.* 2015 Sep 3.

[2] Effects of a miR-31, Runx2, and Satb2 regulatory loop on the osteogenic differentiation of bone mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev.* 2013 Aug 15;22(16):2278-86

[3] Overexpression of a maize WRKY58 gene enhances drought and salt tolerance in transgenic rice. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 2014, 119:565-577.

文章发表后，请记得与我们一起分享喜悦，我们会送上贴心的祝福。文章正文中明确提出钟鼎享受现金奖励！




## Southern Blot印迹杂交检测-DIG探针标记

Southern印迹杂交是进行基因组DNA特定序列定位的方法。其原理为利用琼脂糖凝胶电泳分离经限制性内切酶消化的DNA片段, 将胶上的DNA变性并在原位将单链DNA片段转移至尼龙膜或其他固相支持物上, 经干烤或者紫外线照射固定, 再与相对应结构的DIG标记探针进行杂交, 用放射自显影或酶反应显色, 从而检测特定DNA分子的含量。

钟鼎生物自建立Southern Blot杂交服务平台以来, 帮助客户完成过拟南芥、大豆、烟草、苜蓿、玉米、棉花、水稻、油菜等多物种检测, 成功发表数十篇高水平论文, 钟鼎生物的探针使用DIG(地高辛)标记, 具有低噪、高敏、无放射性污染等优点。实验过程中保留原始数据和实验材料, 数据真实可信, 具有可重复性。我们使用传统的胶片曝光与最先进的自动化学发光成像检测系统相结合, 确保捕获最佳信噪比的成像时间点, 可以交付给客户品质最好的实验结果, 客户可直接使用钟鼎生物提供的southern blot实验数据向高水平的杂志投稿。



服务名称	服务项目	服务报价
地高辛探针标记	探针标记/基因	1200元/条
Southern Blot杂交	8个样品+1个阳性对照(一张膜)	3980元

 请提供高质量的DNA样品, 如果需要钟鼎生物提取DNA样品, 请提供新鲜的细胞、组织或菌液, 我们会酌量加收部分服务费用。

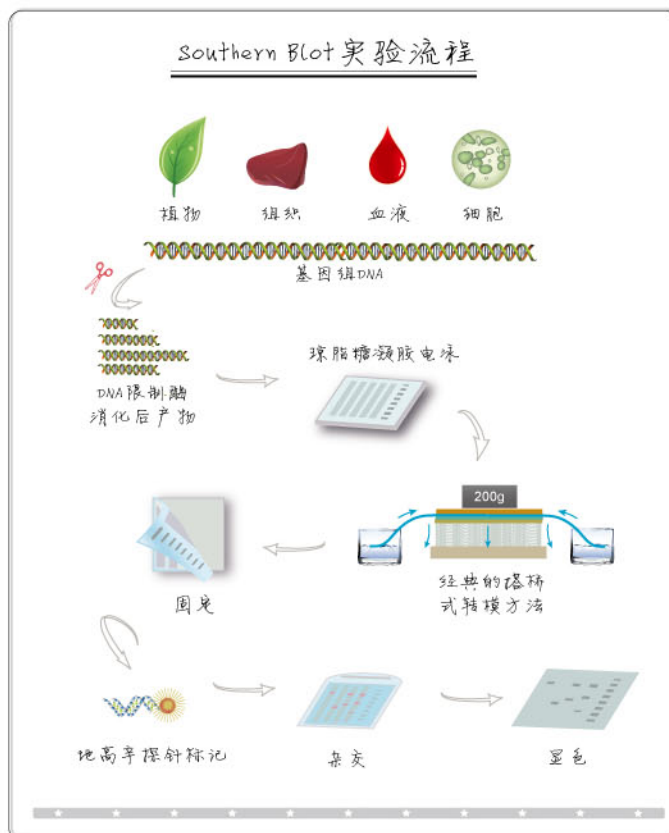
### 客户提供材料及信息

- 待杂交目标基因序列和含有杂交基因对应的质粒或菌株
- 待杂交的高质量DNA样品质量至关重要, 决定实验的成败
  - 完整的DNA, 客户需提供电泳图
  - 纯度: OD260/OD280=1.8-2.0
  - DNA浓度不低于50ng/ul, 总量>10ug, 干冰或冰袋低温运输; 阳性质粒至少2ug
- 下单时注明酶切方案, 如果项目中需要非常规的限制性内切酶, 需额外加收酶切费用或由客户提供。

### Southern Blot服务发货包裹

钟鼎生物负责对客户提供样品进行DIG标记与Southern杂交检测技术服务, 最终提供检测报告及原始图片

- DNA样品电泳检测报告(基因组DNA实验样品不返还, 请注意保留备份)
- DNA样品酶切电泳检测报告
- PCR法制备DIG标记探针电泳检测报告
- 质粒单酶切电泳检测报告
- Southern blot标准实验流程报告
- 实验结果检测报告及原始图片



网页链接<http://www.zoonbio.com/molecular-biology-service-index-Southern.html>



## 钟鼎生物Southern Blot技术服务实验报告示例

### 一、试剂、耗材

- 1、PCR DIG Probe Synthesis Kit: Roche公司, 货号11636090910;
- 2、地高辛杂交检测试剂盒II (化学发光法): Roche公司, 货号11585614910;
- 3、EcoR I: TaKaRa公司, 货号D1040A;
- 4、Hind III: TaKaRa公司, 货号D1060A;
- 5、1Kb DNA Ladder: 钟鼎公司, 货号DM1201;
- 6、AL2000 DNA Marker: 钟鼎公司, 货号DM0101;
- 7、HyBond N+正电荷尼龙膜: Amersham公司, 货号RPN303B;
- 8、引物: SNB015-F, SNB015-R, 客户提供;
- 9、样品: 基因组DNA1、2、3、4、5、6、7、64R阴性, 含目的基因的阳性质粒;
- 10、DNA Molecular-Weight Marker, DIG-labeled: Roche公司, 货号11218590910。

### 二、仪器设备

- 1、梯度PCR仪: TP600型, TaKaRa公司;
- 2、离心机: Sigma 1-14型, Sartorius公司;
- 3、电泳仪: TY2795型, BIO-RAD公司;
- 4、电泳槽: 491型, BIO-RAD公司;
- 5、凝胶成像分析系统: GelDocXR型, BIO-RAD公司;
- 6、移液器: 2.5ul/100ul/200ul/1000ul, Eppendorf公司。

### 三、试剂及配制

- 1、变性液: 0.5 M NaOH, 1.5 M NaCl;
- 2、中和液: 1.5 M NaCl, 0.5 M Tris-HCl;
- 3、20×SSC: 在800 ml水中溶解175.3 g NaCl和88.2 g 柠檬酸钠, 加入数滴10 M NaOH调pH至7.0, 加水定容至1000 ml, 高压灭菌;
- 4、0.2 M EDTA (pH8.0);
- 5、马来酸缓冲液: 0.1 M 马来酸, 0.15 M NaCl, 用固体NaOH调至pH7.5;
- 6、Washing buffer: 马来酸缓冲液, 0.3% Tween 20;
- 7、Detection buffer: 0.1 M Tris-HCl, 0.1 M NaCl, pH9.5;
- 8、TE-buffer: 10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH8.0;
- 9、Blocking solution: 用马来酸缓冲液将10×blocking solution稀释10倍;
- 10、Antibody solution: 用Blocking solution倍稀释Anti-Digoxigenin-AP。

### 四、探针制备

#### 1、采用PCR制备探针模板

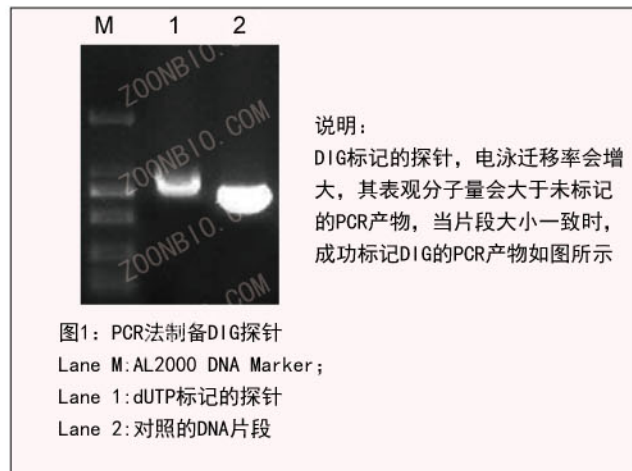
PCR体系 (略)

PCR反应程序如下:

95°C 预变性	2 min	35个循环
95°C 变性	30 s	
61°C 退火	30 s	
72°C 延伸	35 s	
72°C 复性	7 min	

#### 2、琼脂糖凝胶电泳

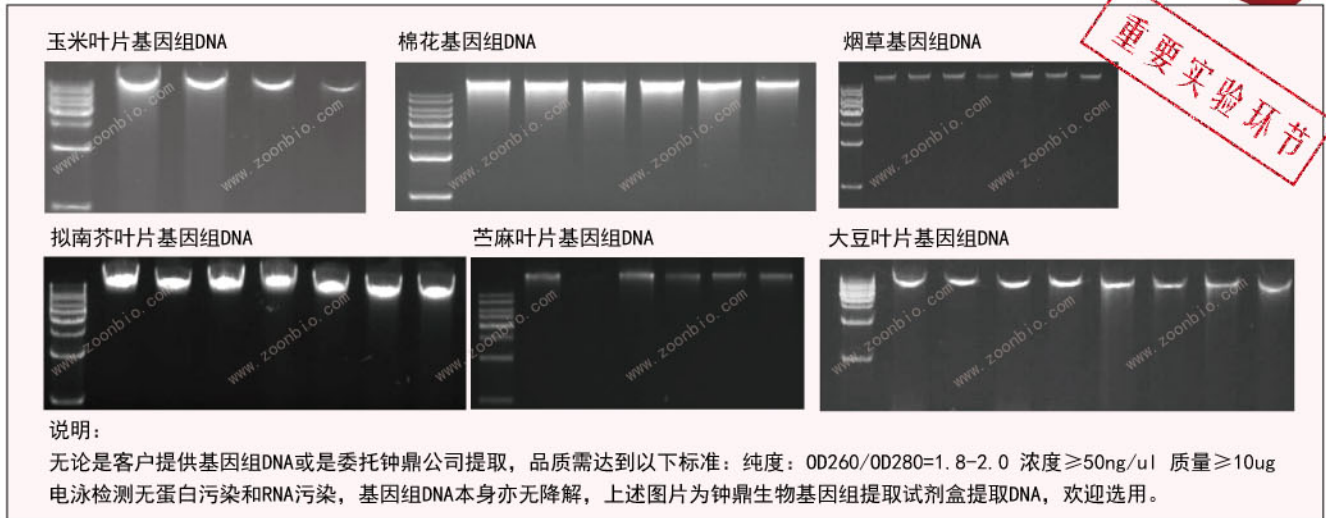
PCR产物进行1%琼脂糖凝胶电泳, 结果如右图1所示:





## 五、基因组DNA的提取和酶切

1、采用CTAB法大量植物基因组DNA快速提取试剂盒（钟鼎公司，货号DN15-10T），提取不同材料的基因组DNA，电泳检测如下组系列图所示：



2、对基因组进行酶切，依据不同的酶，设置不同的酶切体系（详细酶切方案在具体订单中明确阐述，**此处省略**），电泳检测酶切产物，如下左图所示：

六、质粒酶切，根据实际情况设计酶切体系，取20 ul，进行1%琼脂糖凝胶电泳，如下右图所示：

## 七、电泳

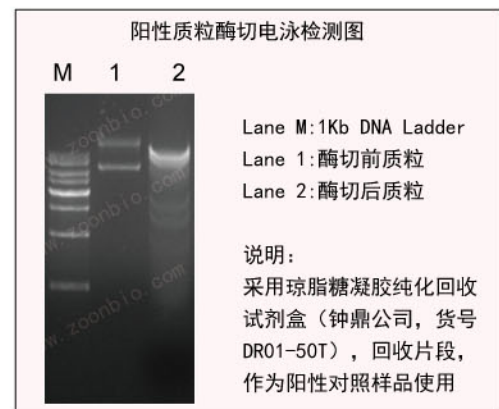
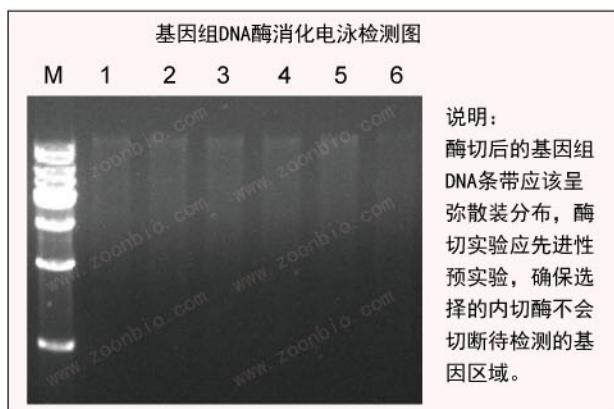
将制备好的样品进行0.7%的琼脂糖凝胶电泳，25V恒压、低温、过夜。

## 八、转膜

- 1、将胶置于平皿、用蒸馏水冲洗一次后，加入数倍体积变性液室温振荡45 min。
- 2、用蒸馏水冲洗2次。加入中和液室温振荡2×15 min。
- 3、用蒸馏水冲洗2次。加入2×SSC以平衡凝胶和带正电荷的尼龙膜5 min。
- 4、向上毛细管法进行转膜20 h。取下膜作好标记，在 2×SSC中漂洗一次，80℃烘烤固定2 h。

## 九、杂交

- 1、预杂交：取10.0 ml Hyb-100，加入杂交管中，37℃预杂交2h。
- 2、探针变性：探针在PCR仪中100℃变性10分钟，立即放冰水浴冷却5min。
- 3、杂交：排尽预杂交液，在10.0ml Hyb-100)加入20ul新变性好的探针，混匀。37℃杂交过夜。





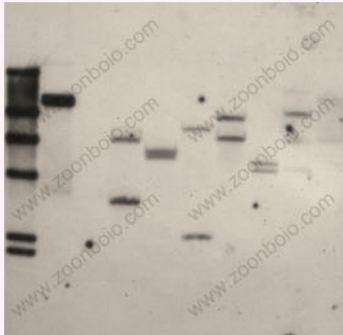
#### 十、洗膜、信号检测

- 1、杂交后室温下, 20 ml 2×SSC/0.1%SDS 洗膜2×5 min。
- 2、65°C, 20 ml 1×SSC/0.1%SDS洗涤2×15 min。
- 3、再将膜置于20 ml洗涤缓冲液中平衡2-5 min。
- 4、将膜在10 ml封闭液中封闭30 min (在摇床上轻轻摇动)。
- 5、Anti-Dig-AP在10000 rpm下离心5 min。离心后将Anti-Dig-AP用封闭液稀释(1:5000), 2.0 ul Anti-Dig-AP加入10 ml 封闭液混匀。
- 6、封闭完成后倒出封闭液, 加入稀释好的10 ml抗体溶液, 浸膜至少30 min。
- 7、去除抗体溶液, 用20 ml 洗涤缓冲液缓慢洗膜2次, 每次15 min。
- 8、在膜的正面(核酸面)滴加1 ml 的CSPD, 隔绝空气15-25°C反应5 min, 去除多余的液体, 37°C孵育10 min。
- 9、在暗房用X-ray film曝光, 显影, 定影, 洗片, 曝光记录结果。

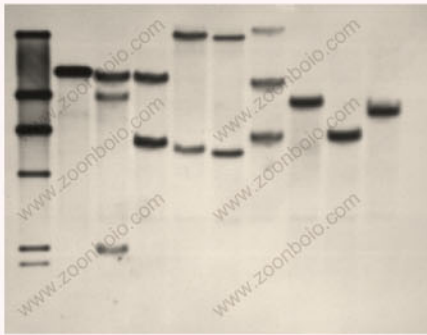
## 还等什么? 下一张完美胶片可能就是您的实验数据!

以下为部分案例, 更多物种实验结果请咨询我们

实验材料:大豆(*Glycine Max*)



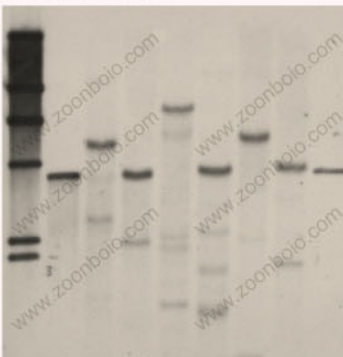
实验材料: 水稻(*Oryza Sativa*)



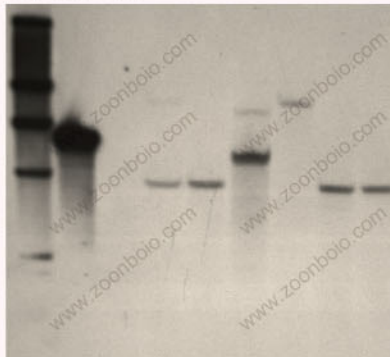
实验材料:玉米(*Zea mays*)



实验材料:小麦(*Triticum aestivum*Linn)



实验材料:烟草(*Nicotiana tabacum* L)



实验材料:苕麻(*Boehmeria nivea*)



#### 说明:

- 1、上述实验图片为钟鼎生物精选的比较好的实验结果, 为原始曝光胶片扫描, 部分结果已见稿。
- 2、由于样品不同, 即使是同一物种的实验材料, 我们不承诺所有客户的订单都可以达到上述图片效果。
- 3、拒绝PS, 钟鼎生物可提供曝光的原始胶片, 确保实验结果真实可靠。

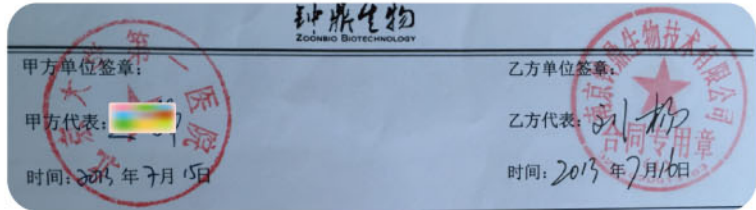
# 合作单位 - 携手共赢

说明: 由于篇幅以及单位科研的保密性, 我们无法将所有的合作单位一一展示, 以下合作单位去除了签名等信息, 如依然对您造成不便, 请通知我们及时去除。

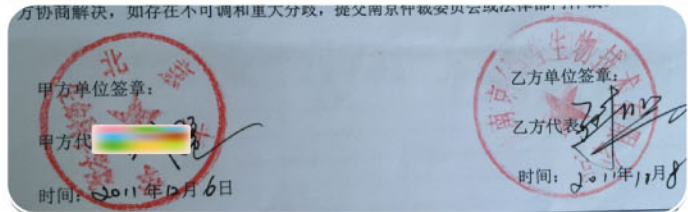
钟鼎生物与中国知名的科研院所、研发机构、医药研发及生产单位都有密切合作, 我们的客户及合作伙伴遍及生命科学覆盖的每一个角落, 这一次, 期待与您的亲密配合。



北大医学部, 无需过多介绍



北大生科院, 最高学府之一



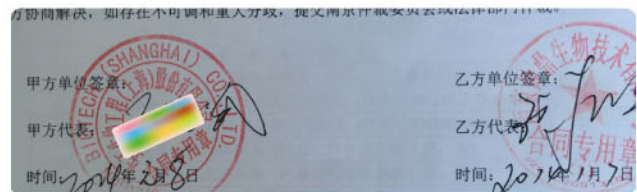
佳洁士 (Crest) 是著名的牙膏品牌, 属于美国宝洁公司



深圳市海普瑞药业股份有限公司, 最知名的肝素钠原料药生产公司。



生工生物工程上海(股份)有限公司, 中国最早一批生物公司, 生物行业的先驱



中国检验检疫科学研究院是隶属于国家质检总局的国家级公益型科研机构。

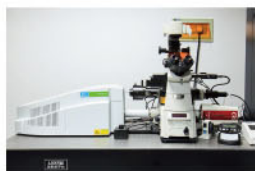
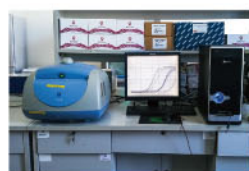


# 了解钟鼎的更多信息



钟鼎生物目前位于南京钟山生命科学园（原紫金山创业园），拥有1500平米的办公及实验场地，公司拥有正式员工60余人，其中博士3名，硕士以上学历员工占40%，拥有细胞房3间，分子实验室、抗体及蛋白研发实验室，各项检测仪器齐全完备，CRO服务能力居国内企业首列。

2015年，南京钟鼎生物自主研发的小分子农药残留检测试纸项目成功申报南京市321人才计划，产品即将推出，将会为百姓的餐桌的食品安全增添一道防护线。2015年7月，捷报频传，钟鼎生物顺利通过中国科技部的高新技术企业认证，成为2015年第一批认定的国家高新技术企业，成为名副其实的“高”“精”“尖”科技企业。



## 选择钟鼎的4大理由

1

### 专家级别的技术平台

美国R&D公司前技术主管领军的博士团队

2

### 国家级高新技术企业

国家科技部火炬中心认定的2015年第一批高新技术企业

3

### 强劲有力的硬件平台

进口设备，标准流程，熟练的技术工作人员

4

### 外包服务经验丰富

钟鼎生物以定制CRO服务为核心业务，具有丰富的外包经验