

上海玉华生命科技发展有限公司

1 公司简介	2
2 产品服务	
2.1 人源重组铜锌超氧化物歧化酶 Cu/Zn-rh-SOD	3
2.2 RNAex Reagent——通用 RNA 抽提试剂	5
3 技术服务	
3.1 酵母双杂交 (Y2H) 系列	7
3.1.1 Y2H cDNA 文库构建	8
3.1.2 Y2H 文库筛选	9
3.1.3 Y2H 检测指定基因对之间的相互作用	9
3.1.4 即将引进膜蛋白 Y2H 系统，敬请期待	9
3.2 蛋白表达与纯化	10
3.3 载体构建	10
3.3.1 克隆装载	10
3.3.2 RNA 干扰载体构建	10
3.4 基因克隆	11
3.5 蛋白质相互作用检测	11
3.5.1 Western blotting	11
3.5.2 GST pull down	11
3.5.3 免疫共沉淀	12
3.5.4 亚细胞定位	12
3.5.5 亚细胞共定位	12
3.6 2D 凝胶电泳分离组织蛋白表达谱	12
3.7 PCR/RT-PCR	13
3.7.1 PCR	13
3.7.2 RT-PCR	13
3.8 组织中总蛋白提取、分离和纯化	13
3.9 基因组 DNA 或 cDNA 文库的构建	14
3.10 载体转水稻/烟草	14
3.11 瞬时转染和稳定转染	14
3.11.1 瞬时转染与表达检测	14
3.11.2 筛选稳定转染细胞株	15
3.12 药物筛选	15



上海玉华生命科技发展有限公司

<http://www.yh-keji.com>

Shanghai Yuhua Life Science & Technology Development Co., Ltd

地址：上海市杨浦区鞍山路5号 杨浦商城22楼A

1 公司简介

上海玉华生命科技发展有限公司(Shanghai Yuhua Life Science&Technology Development Co.,Ltd)是一家面向 21 世纪, 专著于生物开发和研究的现代化生物高科技企业。为了适应我国生物技术产业发展的需要和日益蓬勃发展的市场需求, 公司自 2001 年起依托国内的著名高校和科研机构经过数年的研发, 建立了包括基因克隆表达、蛋白分离纯化、高通量基因筛选、蛋白质功能研究和药物筛选等一系列技术平台, 在利用现代生命科学新理论、新技术开展技术服务和创新产品开发方面奠定了坚实的基础。至今公司已利用生物高新技术克隆编码了人铜/锌-超氧化物歧化酶(Cu/Zn-hSOD)的基因, 并发明了在生产条件下高效表达和分离纯化 SOD 蛋白的新技术, 从根本上解决了 SOD 生产中存在的来源不安全、质量不稳定等方面的问题。

在当前创新知识经济时代, 公司从事生物新技术的不断研发, 以切入市场为导向, 产业化为目标, 自主创新为动力, 不断推出优质的产品和优良的技术服务, 力求把公司营造成一个集产品研发和生产、技术服务、市场营销为一体的具有专业化的高科技公司

上海玉华生命科技发展有限公司隶属于香港玉华亚洲集团。玉华亚洲集团有限公司总部在美国, 亚洲总部研发中心在香港和上海, 是一家以生命工程生物技术为主的综合性公司, 是美国贸易联合体成员之一。作为一家国际化综合性的集团公司, 在不断探索中以商业化要求推进经营和服务活动, 努力为世界提供尖端的生物技术, 从而造福人类。

玉华亚洲集团有限公司近几年来在亚洲市场中不断加强下属的产业公司、研发公司和国际贸易公司的资源整合、人才培养、市场网络培育等, 进而加大财务投资力度。

目前集团公司旗下:

玉华国际药业有限公司; (印度)

玉华国际医药原料贸易有限公司; (印度)

玉华国际生物技术工程有限公司; (泰国)

上海玉华生命科技发展有限公司; (中国上海)

上海玉华医药咨询服务有限公司; (中国上海)

玉华国际物流货物进出口经贸公司; (中国香港)

集团公司属下的分公司及办事处有: 非洲、法国、韩国、新加坡及台湾、北京、上海、广州、等国家和地区。

玉华亚洲集团有限公司在激烈的国际市场竞争环境下, 以先进的技术、一流的服务, 本着勇于开拓、客户至上的原则, 树立了良好的信誉, 2006 年从大陆出口的贸易额也由原来的平均 860 万美元/月增加到 1460 万美元/月。



上海玉华生命科技发展有限公司

<http://www.yh-keji.com>

Shanghai Yuhua Life Science & Technology Development Co. Ltd

地址: 上海市杨浦区鞍山路 5 号 杨浦商城 22 楼 A

市场部

Tel: 021-65030614 转 208

E-mail: helena@yh-keji.com

2 产品服务

2.1 重组人源铜锌超氧化物歧化酶 Cu/Zn-rhSOD

玉华重组人源铜锌超氧化物歧化酶和市面上的普通超氧化物歧化酶提取物有什么区别？

超氧化物歧化酶（SOD）是广泛存在于绝大部分需氧生物体内的一种蛋白酶。它的主要功能是能特异性地清除体内生成过多的强氧化性物质和致衰老因子——超氧自由基，调节体内的氧化代谢和抗衰老功能。超氧化物歧化酶（SOD）为自由基清除剂，可催化超氧自由基发生歧化反应： $2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$

生物体内产生 O_2^- 的途径很多，细胞呼吸能产生 O_2^- ，某些细胞器如线粒体在电子传递过程中发生电子漏也产生 O_2^- ，此外， O_2^- 还是半乳糖氧化酶及其他某些氧化酶反应的中间产物。而 O_2^- 具有细胞毒性，可使脂质过氧化，损伤细胞膜，引起炎症、肿瘤和自身免疫性疾病，并可能促使机体衰老。按照超氧化物歧化酶（SOD）的化学结构和所携带的金属离子，它可以分为 3 类：铜锌超氧化物歧化酶（Cu/Zn-SOD），锰超氧化物歧化酶（Mn-SOD），铁超氧化物歧化酶（Fe-SOD）。其中 Fe-SOD 主要存在于原核生物中，Cu/Zn-SOD 主要存在于包括人类在内的所有高等真核生物中，而 Mn-SOD 则存在于高等生物的线粒体及细菌中。因此最合适人体使用的为 Cu/Zn-SOD。

玉华生命科技是国内唯一有能力把重组人源铜锌超氧化物歧化酶产业化的企业。我们自行克隆编码了人铜锌超氧化物歧化酶（Cu/Zn-hSOD）基因，已实现其在工程菌中的高效表达，SOD 蛋白的量占可溶性蛋白的 50% 左右，并进行了小型罐的发酵及 Cu/Zn-rhSOD 的分离、提取、纯化等优化实验。目前这些技术都已成熟，该工程菌可用于 Cu/Zn-hSOD 的大规模生产，产品的纯度和比活性都以国际标准为基准。

普通的超氧化物歧化酶（SOD）可由牛、猪等的红细胞中提取，亦可由菠菜、小白菜、刺梨中提取。目前国内外已有 SOD 的制剂出现，如德国生产的 Orgotein 为由动物红细胞、肝等分离而得的水溶性 Cu/Zn-SOD，分子量约为 32000，可用作早产婴儿氧中毒症的解毒药及治疗关节炎等炎症的非固醇类消炎药等。但是由于所表达产物为非人源的 SOD，也因为生产工艺导致比活性很低和纯度不够，作为药品和护肤品的活性因子不可避免地产生某些过敏反应，而玉华重组人源超氧化物歧化酶就完全可以避免这些异源污染造成的过敏。

玉华重组人源铜锌超氧化物歧化酶在哪些领域合适使用？

- 1、超氧化物歧化酶（SOD）在化妆品行业被普遍使用：一般纯度 $\geq 85\%$ 、比活 $\geq 6000u/mg$ 的 SOD 合适用在化妆品行业。玉华的超氧化物歧化酶排除了因为外源感染导致过敏问题，因此使用在化妆品上能给品牌带来更好的口碑和企业形象。
- 2、超氧化物歧化酶（SOD）在医药保健行业也有使用：纯度 $\geq 90\%$ 、比活 $\geq 6000u/mg$ 适用。SOD 本身具有的各种消炎抗氧化性质决定其在医药保健领域必定大有可为。国内外很多研究机构都在对这个物质的药物开发进行竞赛。美国一家医药公司正在申请此类药物的 2 期临床实验，其使用安全性和作用效果都是世界认可的。
- 3、生化试剂：纯度 $\geq 95\%$ 、比活 $\geq 6000u/mg$ 的产品为试剂盒或生化试剂适用。玉华的重组超氧化物歧化酶纯度、比活性能达到甚至超过这个标准，作为国内唯一的人源铜锌超氧化物歧化酶生产企业，我们的产品在科研试剂领域的前景是很宽广的。

玉华重组人源铜锌超氧化物歧化酶的质量保证和工艺先进性

先进的重组基因表达技术



上海玉华生命科技发展有限公司

<http://www.yh-keji.com>

Shanghai Yuhua Life Science & Technology Development Co. Ltd

地址：上海市杨浦区鞍山路 5 号 杨浦商城 22 楼 A

玉华重组人源铜锌超氧化物歧化酶是通过克隆人铜锌超氧化物歧化酶(Cu/Zn-hSOD)基因，在工程菌中高效表达，并经过发酵罐发酵和蛋白质分离，提纯等优化实验而获得的。

修饰

通过对 SOD 非活性部位赖氨酸中 $\epsilon - NH_2$ 的修饰，并采用脂质体包覆的形式，大大延长了其半衰期，增强了其稳定性。在化妆品配方中，要求在温度低于 45 °C 条件下加入。

高活性

SOD 的酶活性是衡量 SOD 质量的最优先标准，玉华重组人源铜锌超氧化物歧化酶采用先进的工艺流程和高素质的研发人才投入，确保了玉华超氧化物歧化酶的比活性在 6000u/mg 以上。

玉华重组人源铜锌超氧化物歧化酶的主要技术指标

产品名称	外观	最大吸收波长	分子量	PH	干燥失重	比活力	重金属	纯度	菌落数
重组人源铜/锌超氧化物歧化酶	粉末	260nm	21000	7.4	≤5%	≥6000u	≤ 0.001 % PPM	≥90%	杂菌 <1000/g 无致病菌

玉华重组人源铜锌超氧化物歧化酶在化妆品领域的运用以及方法

玉华重组人源铜锌超氧化物歧化酶 (Cu/Zn-rhSOD) 具有特殊的抗氧化功能。SOD 广泛存在于自然界的生物体内，能催化生物体内超氧自由基的歧化反应，具有清除自由基的能力。

原理：

(1) 随着年龄的增长，机体皮肤组织中 SOD 含量及其活性明显下降，从而使体内超氧自由基——致老因子不断产生和积累。自由基的增加，对皮肤组织中的胶原纤维、网状纤维、弹力纤维的组织细胞以及血管、皮脂腺、汗腺等有着严重影响；特别对皮肤组织中的生物大分子、蛋白质、核酸、透明质酸、糖类、脂肪等进行强氧化性损伤，使皮肤组织的生理结构遭受破坏，新陈代谢发生障碍，营养吸收受阻，最终导致皮肤的衰老。因此，补充皮肤组织中的 SOD，可有效清除自由基，起到抗衰老的功效。

(2) 自由基作用于机体不饱和脂肪酸，产生不稳定的过氧化脂质 (CPO)，进而分解产生丙二醛 (MDA)。丙二醛与蛋白质、核酸、磷脂反应，生成脂褐质沉积于皮肤，形成雀斑、黄褐斑及色素沉着。因此，SOD 通过清除自由基，可有效祛斑，淡化斑痕及色素沉着。

(3) 当皮肤组织表层受到辐射后，产生的自由基使体表的黑色素氧化，颜色变深。SOD 可最大限度地清除超氧自由基，抑制超氧自由基的氧化作用，发挥美白防晒的功效。

(4) 粉刺感染时，均伴有红、肿、热、痛的炎症反应，由于 SOD 对超氧自由基的清除作用，使吞噬细胞对病菌的进攻能力增强，而提高其抗炎症、抗感染和自我防护、自我修复的能力。

用途：

用于祛斑、抗粉刺、美白、防晒、抗衰老、防皱等产品中。

大宝 SOD 蜜是大众熟知的品牌，他就是通过对 SOD 的作用宣传和包装取得了巨大的成功。而玉华重组人源铜锌超氧化物歧化酶能排除异源，完全避免了过敏不适反应，无疑是作为高档化妆品的最理想添加剂。



上海玉华生命科技发展有限公司

<http://www.yh-keji.com>

Shanghai Yuhua Life Science & Technology Development Co. Ltd

地址：上海市杨浦区鞍山路 5 号 杨浦商城 22 楼 A

玉华重组人体铜锌超氧化物歧化酶在保健食品领域的运用以及方法

玉华重组人源铜锌超氧化物歧化酶作为保健食品和药品添加剂使用存在着巨大的空间。针对 SOD 的功效性，国内外曾进行有关 SOD 的多方面研究，结果显示：

(1) 健康人红细胞 SOD，20~29 岁组显著低于儿童组；30~59 岁间，每 10 岁组值逐步轻度下降，但组间无明显差异；60~99 岁间，每 10 岁组值无明显升降；100~108 岁组略有降低趋势。其中，中年期合计组 SOD 值较青年期合计组值有显著降低；但中老年组间、老年与长寿组间，SOD 值无明显差异。总的趋势是 SOD 值随着增龄而下降。

(2) 检查老年人高血压、冠心病、肺心病、糖尿病、自身免疫性疾病及恶性肿瘤患者的 SOD 值，均与正常老年值有极显著差异。

(3) 观察罗布麻茶、“春回”及五味子糖浆对健康老人红细胞 SOD 含量的影响，结果显示三者在给药后，SOD 值均有显著提高。另一研究结果表明，五味子素能提高 SOD 活性，对 O_2^- 有显著的清除作用。给小鼠灌服人参茎叶皂甙后，红细胞 SOD 的活性与对照组比较有明显增高。

(4) 对正常大鼠晶状体及半乳糖诱发大鼠白内障的晶状体中 SOD 的相对含量进行测定，结果白内障晶状体中 SOD 活性下降，提示提高晶状体中 SOD 的活性（特别是在白内障形成的最初阶段），可能是防治白内障发展的途径之一。

(5) 临床试用结果，SOD 制剂用于类风湿关节炎、皮炎、心肌缺血、皮炎、视网膜损伤等有一定疗效，还可用于老年斑的消除、癌症的预防等。

现在国内市场上已经成熟的超氧化物歧化酶产品有多种，如 SOD 胶囊、SOD 牙膏和 SOD 保健酒。而国家质监局也对 SOD 保健食品出台以下要求，以完善 SOD 保健品市场。

申请注册以超氧化物歧化酶（SOD）为原料生产的保健食品应符合下列要求：

(一) 超氧化物歧化酶（SOD）提取加工过程符合食品生产加工要求。

(二) 以超氧化物歧化酶（SOD）为原料生产的保健食品，申报的保健功能暂限定为抗氧化。

(三) 以超氧化物歧化酶（SOD）单一原料申请保健食品时，应提供超氧化物歧化酶（SOD）在人体内口服吸收利用率、体内代谢等的国内外研究资料，证明超氧化物歧化酶（SOD）可经口服吸收。

(四) 以超氧化物歧化酶（SOD）组合其他功能原料申请保健食品时，加入的功能原料应具有抗氧化作用。产品不得以超氧化物歧化酶（SOD）命名，不得宣传超氧化物歧化酶（SOD）的作用。

超氧化物歧化酶的本身效用，加上玉华重组人源铜锌超氧化物歧化酶的安全性，高活性，可以为您打造高质量，高品质的金牌产品提供坚实的后盾。

2.2 RNAex Reagent——通用 RNA 抽提试剂

抽提总 RNA 的标准纯化步骤

1. 样品的裂解-根据您的样品，选择一个使用方法。

A: 组织裂解

方法 a：加入 RNAex 用玻璃匀浆器（少量的可以使用 Pellet Pestle）将组织彻底匀浆，并将匀浆液移入离心管。

方法 b：液氮冷冻条件下将组织捣碎成粉末。在液氮完全挥发前，将捣碎的组织移入已经加了 RNAex 的离心管中，立即用移液器吹打混匀。



上海玉华生命科技发展有限公司

<http://www.yh-keji.com>

Shanghai Yuhua Life Science & Technology Development Co. Ltd

地址：上海市杨浦区鞍山路 5 号 杨浦商城 22 楼 A

B: 细胞的裂解

a: (悬浮培养细胞) $300 \times g$ 离心 5 分钟后彻底弃上清。加入 RNAex, 立即用移液器吹打以彻底混匀。

b: (贴壁培养细胞) 将培养皿中的培养液彻底弃干净。将 RNAex 直接加在培养皿中的细胞上。立即用移液器吹打使细胞壁拖壁后, 将裂解液移入离心管中。

C: 人全血的裂解

先低速离心或者使用其它方法获得白细胞, 再按照悬浮培养细胞操作。

2. 根据样品, 选择使用方法 A 或者方法 B, 如果不确定, 则使用方法 B。

A: (细胞, 血液, 一般动物组织)-室温静置 5 分钟, 再按照 1mlRNAex 使用 200ul 的比例加入氯仿, 用力颠倒离心管以混匀。室温静置 2-15 分钟使之分层后, $4^{\circ}C 12000 \times g$ 离心 15 分钟。

B: (植物, 脂肪及肝脏等某些杂质含量较高的样品)-室温静置 5 分钟, $4^{\circ}C 12000 \times g$ 离心 10 分钟, 将上清移入另外一个离心管中, 再按照 1mlRNAex 使用 200ul 的比例加入氯仿, 用力颠倒离心管以混匀。室温静置 2-15 分钟使之分层后, $4^{\circ}C 12000 \times g$ 离心 15 分钟。

3. 小心将上层水相移至另外一个离心管中, 再加入等体积异丙醇, 混匀。室温放置 5-10 分钟。

4. $4^{\circ}C 12000 \times g$ 离心 5-10 分钟, 小心地彻底弃上清。

5. 在离心管中按照 1ml RNAex 使用加入室温的 75%乙醇, 来回颠倒离心管混匀并将沉淀悬浮起来。室温 $7500 \times g$ 离心 5 分钟。小心地彻底弃上清。

6. 室温静置 5-15 分钟使 RNA 沉淀恰好干燥。溶解后, $-70^{\circ}C$ 保存。

特殊样品的裂解步骤

下面的裂解特指 1mlRNAex 可以裂解的样品最大量。您可以根据您的具体样品量, 等比例增加或者减少试剂用量, 但 RNAex 的最小用量建议不低于 0.8ml

A: 细菌 ($Gram^{-}$) 的裂解 (1×10^9); 将细菌移入 1.5ml 离心管中, 高速离心 10 秒后, 彻底弃上清。再加入 1mlRNAex, 并用移液器抽打以彻底混匀。

B: 特殊样品的前处理

a: 难裂解的细菌 (1×10^9): 在菌体中加入 100ul 含溶菌酶 (浓度: 3mg/ml) 的 $T_{10}E_1$, 振荡混匀。 $37^{\circ}C$ 温浴 5-10 分钟后, 高速离心 10 秒后, 彻底弃上清。加入 1mlRNAex, 立即用移液器吹打以彻底混匀。

b: 酵母菌 (1×10^8): 在菌体中加入 2ml 酵母菌消化液, 振荡混匀。 $30^{\circ}C$ 温浴 10-30 分钟后, $500 \times g$ 离心 5 分钟, 彻底去除上清后, 再加入 1mlRNAex, 立即用移液器吹打以彻底混匀。

酵母菌消化液: 1M Sorbitol, 0.1M EDTA

临用前加入: 0.1%2-巯基乙醇, 500U/ (10^8 cells) lyticase/zymolase

产品说明

RNAex Reagent 可用于从培养细胞, 人和动物组织, 植物, $Gram^{-}$ 菌等样品中直接抽提总 RNA。经过前处理的血液, 酵母菌, $Gram^{+}$ 菌等样品也同样有效。

保存及使用注意事项

上海玉华生命科技发展有限公司

<http://www.yh-keji.com>

Shanghai Yuhua Life Science & Technology Development Co. Ltd

地址: 上海市杨浦区鞍山路 5 号 杨浦商城 22 楼 A

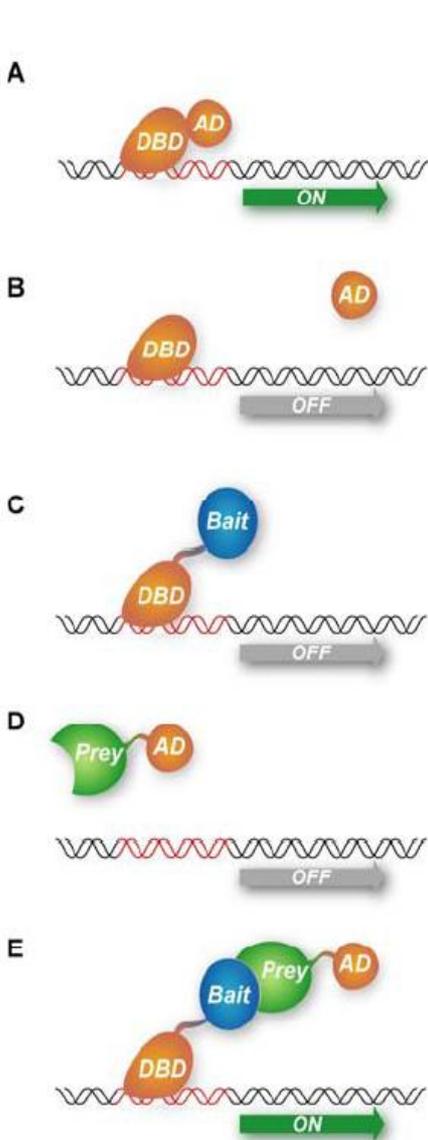
如果在三个月内用完，保存于 4℃；如果三个月内不能用完，每次使用后保存于 -20℃，-20℃可保存一年。

RNAex Reagent 为黄色单相液体，含有苯酚，皮肤与之直接接触将会被灼烧。万一皮肤溅上了 RNAex，立即用自来水冲洗 2 分钟以上（皮肤溅上苯酚或者含苯酚的其它溶液同样处理）。

3 技术服务

3.1 酵母双杂交（Y2H）系列——玉华生命科技专项技术服务

Y2H原理：



酵母双杂交系统的建立与发展基于真核生物转录调控系统，充分利用了真核转录激活因子的组件式结构。转录激活因子通常有两个可分割的、功能相互独立的结构域，即：

DNA特异性结合结构域(DNA-binding domain, DBD)

转录激活结构域(activation domain AD)

DBD结合靶基因上游的操纵子序列，然后AD聚集RNA聚合酶II复合物，从而启动转录。这两个结构域分开时仍各具有功能，但不能激活转录，只有当被分开的两者通过适当的途径在空间上较为接近时，才能重新呈现完整的转录因子活性，并可激活上游激活序列（upstream activating sequence, UAS）的启动子，使下游靶基因得到转录（图A, B）。

基于这一特性，Fields等人于1989年设计了一个检测蛋白质间相互作用的系统，即酵母双杂交系统。

在传统的酵母双杂交技术中，将两个待测蛋白分别与DBD和AD结构域融合，形成的融合蛋白分别称为“bait”蛋白（即诱饵，或已知蛋白，或X蛋白）和“prey”蛋白（即猎物，或靶蛋白，或Y蛋白）（图C, D）。如果这两个待测蛋白存在相互作用，那么融合蛋白上的DBD和AD就能重新形成有活性的转录激活因子，从而激活靶基因的表达（图E）。人为地将靶基因构建为表达蛋白容易鉴定的基因，称为报告基因（report gene），从而通过检测报告基因的表达，来筛选这两个待测蛋白是否存在相互作用。



上海玉华生命科技发展有限公司

Shanghai Yuhua Life Science & Technology Development Co. Ltd

地址：上海市杨浦区鞍山路5号 杨浦商城22楼A

<http://www.yh-keji.com>

市场部

Tel: 021-65030614 转 208

E-mail: helena@yh-keji.com

那么这两个融合蛋白是如何构建的？又是如何进入同一个酵母细胞的呢？

将bait和prey两个融合蛋白的基因分别克隆到两个质粒载体中，构建两个重组质粒，然后将两个重组质粒共同导入酵母细胞中。从而就可以实现在同一个酵母细胞中同时表达两个融合蛋白（如左图所示）。

因此完整的酵母双杂交有三个部分组成：Bait载体，Prey载体和带有报告基因的酵母菌株。

Y2H应用：

- A 定义两个已知蛋白质间的相互作用
- B 筛选新的蛋白质间相互作用（即cDNA libraries筛选）
- C 绘制蛋白质间相互作用图谱
- D 寻找具有药物治疗作用的小分子多肽

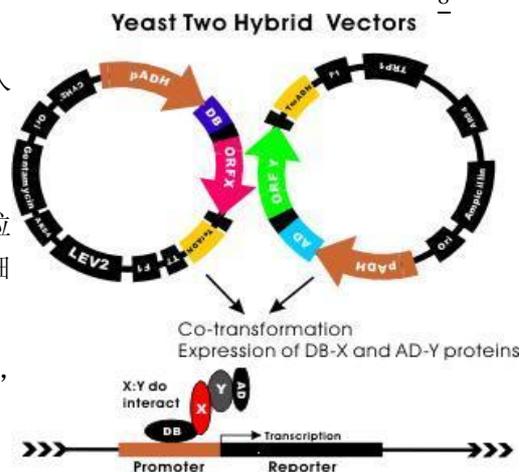
特点与优点：

酵母双杂交系统的最主要的应用是快速、直接分析已知蛋白之间的相互作用及分离新的与已知蛋白作用的配体及其编码基因。

酵母双杂交系统检测蛋白之间的相互作用具有以下优点：

- A 作用信号是在融合基因表达后，在细胞内重建转录因子的作用而给出的，省去了纯化蛋白质的繁琐步骤。
- B 检测在活细胞内进行，可以在一定程度上代表细胞内的真实情况。
- C 检测的结果可以是基因表达产物的积累效应，因而可检测存在于蛋白质之间的微弱的或暂时的相互作用。
- D 酵母双杂交系统可采用不同组织、器官、细胞类型和分化时期材料构建 cDNA 文库，能分析细胞浆、细胞核及膜结合蛋白等多种不同亚细胞部位及功能的蛋白。例如已报道成功分析了 RAP1 与 RIF1ii、P21cip1 与 CDK2iii、p16 与 CDK4iv 等之间的相互作用。
- E 可以用来比对病变组织，更快的找到突变基因或者导致变异的蛋白，更快的找到攻克方向。
- F 以用作大规模的蛋白筛选，在较短时间内对找到某些药物对相关组织主要的作用蛋白，对于药物的修饰和改进明确方向。
- G 可以反复使用，培养快捷，适合大规模筛选使用。

3.1.1 Y2H cDNA 文库构建



上海玉华生命科技发展有限公司

<http://www.yh-keji.com>

Shanghai Yuhua Life Science & Technology Development Co. Ltd

地址：上海市杨浦区鞍山路5号 杨浦商城22楼A

市场部

Tel: 021-65030614 转 208

E-mail: helena@yh-keji.com

技术服务内容：总 RNA 提取、纯化—mRNA 分离—cDNA 制备—cDNA 连接 AD 载体—连接产物转化大肠杆菌—cDNA 文库效价测定—cDNA 文库扩增—cDNA 文库扩增后的质粒 DNA 纯化—纯化后 cDNA 文库质量的鉴定（如 PCR 和酶切鉴定等方法）等

合作方式：为客户构建指定的酵母双杂交基因文库。由客户提供 cDNA 或组织、细胞。

服务完成时提供详细的实验报告以及三种形式的文库：A 该文库转化的大肠杆菌甘油冻存管 B 对转化到宿主菌中的文库进行进一步扩增，获得扩增后的文库大肠杆菌冻存管 C 对扩增的文库提质粒 DNA 纯化，获得纯化后的文库质粒 DNA。

周期：2 个月。

单价：35000 元/文库

3.1.2 Y2H 文库筛选

技术服务内容：载体构建和测序；自激活检验；酵母双杂交和阳性克隆的鉴定，测序，信息学分析。

合作方式：为客户对指定的基因文库进行酵母双杂交筛选。由客户提供诱饵基因和基因文库。

筛选完成后向客户提供详细的筛选报告和阳性克隆实物。

周期：3 个月。

单价：12000 元/诱饵基因。

3.1.3 Y2H 检测指定基因对之间的相互作用

技术服务内容：把 X 基因和 Y 基因分别转入 AD、BD 载体，共转化酵母，通过酵母双杂交系统检测他们之间的相互作用。

合作方式：为客户对指定的 2 个或多个基因之间进行酵母双杂交实验，验证其相互作用。由客户提供基因克隆。

实验完成后向客户提供详细的实验报告和相互作用阳性的酵母共转化菌株。

周期：35 个工作日

单价：6000 元/对基因。超过 5 对以上价格与周期另议。

3.1.4 即将引进膜蛋白 Y2H 系统，敬请期待

适用于整合膜蛋白质、膜相关蛋白和可溶性蛋白间相互作用的研究

由于传统的酵母双杂交系统适用于核内蛋白质间相互作用的研究，存在一定的局限性，在一定程度上限制了它的使用范围，不能够完全满足科研的需求，因此需要改进，实现突破。

传统的酵母双杂交的局限性：

A 只能检测发生在核内的蛋白质间相互作用；无法检测胞膜或胞质的蛋白质间相互作用；

B 不少蛋白质需在内质网或细胞质中经过转录后修饰，才能与其他蛋白质发生相互作用，传统的酵母双杂交无法检测；



上海玉华生命科技发展有限公司

<http://www.yh-keji.com>

Shanghai Yuhua Life Science & Technology Development Co. Ltd

地址：上海市杨浦区鞍山路 5 号 杨浦商城 22 楼 A

C 有些蛋白质本身就是转录激活因子，可以对报告基因的表达进行调控；传统的酵母双杂交也无法检测。

全新的膜蛋白杂交系统突破了传统酵母双杂交的局限，扩大了酵母双杂交的应用范围，因此有望满足更多客户的需求。

3.2 蛋白表达与纯化

我公司蛋白表达平台具有丰富的技术经验，已为大量国外客户成功完成委托服务。我们可以采用大肠杆菌表达系统、酵母表达系统昆虫细胞表达系统为客户提供蛋白表达及纯化研究工作。

技术服务内容：目标蛋白 cDNA 的设计和合成—表达质粒的构建—质粒转化及高表达菌株筛选—转化菌摇瓶培养，诱导表达—目标蛋白纯化—SDS-PAGE 检测表达及纯化情况—大规模发酵及蛋白纯化服务—小量蛋白质复性服务

客户可以依照各自实验情况组合以上步骤，如有特殊要求可以详细商讨。

实验完成后提供一定量的合同约定纯度的纯化后目标蛋白和产品报告（含相关数据、SDS-PAGE 及质粒测序结果等）

周期： 4-6 周

基础报价（包括载体构建和表达菌株筛选）：

大肠杆菌体系： 3500 元

酵母体系： 7000 元

昆虫细胞体系： 15000 元

3.3 载体构建

载体是把外源 DNA（目的基因）导入宿主细胞，使之传代、扩增、表达的工具。载体有质粒（plasmid）、噬菌体、单链丝状噬菌体和粘性末端质粒（粘粒）、病毒等。载体具有自我复制功能，有可选择的便于筛选、鉴定的遗传标记，有供外源 DNA 插入的位点，本身体积小等特征。

3.3.1 克隆装载

技术服务内容：为客户构建或改造特定的载体，将目的基因装载到特定的载体上。

合作方式：由客户提供目的基因。

实验完成后提供完成的产品实物以及基因精确的书面测序报告和电子报告。

周期： 2 周

单价： 2000 元—4000 元/基因。

3.3.2 RNA 干扰载体构建



上海玉华生命科技发展有限公司

<http://www.yh-keji.com>

Shanghai Yuhua Life Science & Technology Development Co. Ltd

地址：上海市杨浦区鞍山路 5 号 杨浦商城 22 楼 A

市场部

Tel: 021-65030614 转 208

E-mail: helena@yh-keji.com

技术服务内容：我们负责设计并合成 shRNA Oligo, 构建 shRNA 载体, 并做 DNA 测序验证。

实验完成后提供完成的产品实物以及基因精确的书面测序报告和电子报告。

周期：2 周

单价：3000 元

3.4 基因克隆

技术服务形式：

A 客户提供 cDNA 文库我们负责设计并合成引物, 钓取目的基因的 cDNA 克隆 5000 元

B 客户提供保质保量的组织或者细胞株

我们负责提取总 RNA, 分离 mRNA, RT-PCR 3000 元

钓取目的基因的 cDNA 克隆 5 元/碱基

C 如果客户不提供上述任何材料

我们负责合成目的基因的全长 cDNA 克隆 7 元/碱基

实验完成后提供完成的产品实物以及基因精确的书面测序报告和电子报告。

3.5 蛋白质相互作用检测

3.5.1 Western blotting

Western 印迹又称免疫印迹, 从细胞提取蛋白质并通过聚丙烯酰胺凝胶电泳将不同大小的蛋白质分开, 分类的蛋白质被转移到硝酸纤维素膜或尼龙膜上, 然后与特定蛋白标记的抗体(同位素或化学发光物标记)结合, 经放射自显影现出带纹, 根据带纹的密度可确定蛋白质表达的相对量。Western 印迹杂交与 Northern 印迹杂交结合, 已广泛应用于基因表达调控的研究。

合作方式：由客户提供目的基因表达质粒和抗体。

技术服务完成后向客户提供详细的实验报告和 SDS-PAGE 电泳照片。

周期：1 个月。

单价：3000 元

3.5.2 GST pull down

用固相化的、已标记的饵蛋白或标签蛋白(生物素-、PolyHis-或 GST-), 从细胞裂解液中钓出与之相互作用的蛋白。通过 Pull-down 技术可以确定已知的蛋白与钓出蛋白或已纯化的相关蛋白间的相互作用关系, 从体外传路或翻译体系中检测出蛋白相互作用关系。

合作方式：由客户提供目的基因表达质粒。

技术服务完成后向客户提供详细的实验报告和 SDS-PAGE 电泳照片。



上海玉华生命科技发展有限公司

<http://www.yh-keji.com>

Shanghai Yuhua Life Science & Technology Development Co. Ltd

地址：上海市杨浦区鞍山路 5 号 杨浦商城 22 楼 A

市场部

Tel: 021-65030614 转 208

E-mail: helena@yh-keji.com

周期：1 个月。

单价：5000 元

3.5.3 免疫共沉淀

研究细胞内蛋白质与蛋白质相互作用的一种技术，其基本原理是，在细胞裂解液中加入抗兴趣蛋白的抗体，孵育后再加入与抗体特异结合的结合于 Pansobin 珠上的金黄色葡萄球菌蛋白 A(SPA)，若细胞中有正与兴趣蛋白结合的目的蛋白，就可以形成这样一种复合物：“目的蛋白—兴趣蛋白—抗兴趣蛋白抗体—SPA\|Pansobin”，经变性聚丙烯酰胺凝胶电泳，复合物四组分又被分开。然后经 Western blotting 法用抗体检测目的蛋白是什么，是否为预测蛋白。这种方法得到的目的蛋白是在细胞内天然与兴趣蛋白结合的，符合体内实际情况，得到的蛋白可信度高。

合作方式：由客户提供已构建好的目的基因表达质粒和抗体。

技术服务完成后向客户提供详细的实验报告和 SDS-PAGE 电泳照片。

周期：1 个月。

单价：7000 元

3.5.4 亚细胞定位

合作方式：由客户提供荧光标记的目的基因表达质粒。

技术服务完成后向客户提供详细的实验报告和荧光共聚焦显微镜照片。

周期：1 个月。

单价：4000 元

3.5.5 亚细胞共定位

合作方式：由客户提供双色荧光标记的目的基因表达质粒。

技术服务完成后向客户提供详细的实验报告和荧光共聚焦显微镜照片。

周期：1 个月。

单价：5000 元

3.6 2D 凝胶电泳分离组织蛋白表达谱

技术服务内容：建立并优化对该样品蛋白质 2D-GeI 电泳各项实验条件的技术参数。进行蛋白质 2D-GeI 电泳与结果分析。

合作方式：由客户提供蛋白质样品。

技术服务完成后向客户提供详细的实验报告。

周期：5 周



上海玉华生命科技发展有限公司

<http://www.yh-keji.com>

Shanghai Yuhua Life Science & Technology Development Co. Ltd

地址：上海市杨浦区鞍山路 5 号 杨浦商城 22 楼 A

市场部

Tel: 021-65030614 转 208

E-mail: helena@yh-keji.com

单价：8000 元/样

3.7 PCR/RT-PCR

3.7.1 PCR

PCR 即聚合酶链反应(Polymerase Chain Reaction ,PCR)是 80 年代中期发展起来的体外核酸扩增技术。它具有特异、敏感、产率高、快速、简便、重复性好、易自动化等突出优点;能在一个试管内将所要研究的目的基因或某一 DNA 片段于数小时内扩增至十万乃至百万倍,使肉眼能直接观察和判断;可从一根毛发、一滴血、甚至一个细胞中扩增出足量的 DNA 供分析研究和检测鉴定。过去几天几星期才能做到的事情,用 PCR 几小时便可完成。PCR 技术是生物医学领域中的一项革命性创举和里程碑。

合作方式: 我公司为客户做 PCR 反应, PCR 产物电泳、测序。由客户提供引物和模板。

实验完成后提供产品实物基因精确的书面测序报告(电子报告)。

周期: 5 个工作日。

单价: 600 元/反应。

3.7.2 RT-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,扩增合成目的片段。RT-PCR 技术灵敏而且用途广泛,可用于检测细胞中基因表达水平,细胞中 RNA 病毒的含量和直接克隆特定基因的 cDNA 序列。作为模板的 RNA 可以是总 RNA、mRNA 或体外转录的 RNA 产物。无论使用何种 RNA,关键是确保 RNA 中无 RNA 酶和基因组 DNA 的污染。

合作方式: 我公司为客户做 RT-PCR 反应,由客户提供引物和模板文库。

实验完成后提供产品实物基因精确的书面测序报告(电子报告)。

周期: 10 个工作日。

单价: 1000 元/反应。

3.8 组织中总蛋白提取、分离和纯化

蛋白质是生物体中含量最高、功能最重要的生物大分子。作为生命的物质基础之一,蛋白质在催化生命体内各种反应、调节代谢、抵御外来物质入侵及控制遗传信息等方面都起着至关重要的作用。因此,蛋白质也是生命科学中极为重要的研究对象。大部分蛋白质都可溶于水、稀盐、稀酸或碱溶液,少数与脂类结合的蛋白质则溶于乙醇、丙酮、丁醇等有机溶剂中,因此,可采用不同溶剂提取分离和纯化蛋白质及酶。

技术服务内容: 我们负责样品的处理和蛋白质的提取、分离和纯化,测定蛋白质浓度与纯度,以便后续的检测使用。

合作方式: 由客户能提供新鲜的组织样品(不少于 20 克)。



上海玉华生命科技发展有限公司

<http://www.yh-keji.com>

Shanghai Yuhua Life Science & Technology Development Co. Ltd

地址: 上海市杨浦区鞍山路 5 号 杨浦商城 22 楼 A

市场部

Tel: 021-65030614 转 208

E-mail: helena@yh-keji.com

技术服务完成后向客户提供详细的实验报告。

周期：3 周

单价：2000 元/样

3.9 基因组 DNA 或 cDNA 文库的构建

技术服务内容：

基因组 DNA 文库的构建：

大分子基因组 DNA 的分离——插入片断的制备——插入片断连接载体——转化宿主菌——基因组文库的生成等。

cDNA 文库的构建：

总 RNA 提取、纯化——mRNA 分离——cDNA 制备——cDNA 连接载体——连接产物转化宿主菌——cDNA 文库效价测定——cDNA 文库扩增——cDNA 文库扩增后的质粒 DNA 纯化——纯化后 cDNA 文库质量的鉴定（如 PCR 和酶切鉴定等方法）等。

合作方式：客户提供足量新鲜的质量保证的组织。

实验完成后提供完成的产品实物以及详细的实验报告。

周期：2 个月

单价：根据复杂程度不同，价格由 10000—20000 元不等。

3.10 载体转水稻/烟草

合作方式：客户提供正确序列的载体，我方负责转入水稻（烟草）。通过显色和测序检验转如是否成功。

提供的技术服务结果为：

- (1)基因转化成功的植株；
- (2)GUS 报告基因表达的显色照片；
- (3)GUS 报告基因转化成功的 PCR 检测结果。

周期：3-4 个月

单价：1—20 个样品，2000 元/每个样品，

20—50 个样品，1800 元/每个样品；

50—100 个样品，1600 元/每个样品。

3.11 瞬时转染和稳定转染

3.11.1 瞬时转染与表达检测

技术服务内容：载体构建——载体对细胞株瞬间转染——用 Western-blotting 和 RT-PCR



上海玉华生命科技发展有限公司

<http://www.yh-keji.com>

Shanghai Yuhua Life Science & Technology Development Co., Ltd

地址：上海市杨浦区鞍山路 5 号 杨浦商城 22 楼 A

市场部

Tel: 021-65030614 转 208

E-mail: helena@yh-keji.com

检测细胞中基因的表达情况。

实验完成后提供完成的产品实物以及详细的实验报告。

周期：5 周

单价：7000 元

3.11.2 筛选稳定转染细胞株

技术服务内容：载体构建，并转染 Hca-F 细胞株——用 Western-blotting 和 RT-PCR 检测细胞中基因的表达情况——筛选稳定转染的细胞株。

实验完成后提供完成的产品实物以及详细的实验报告。

周期：10 周

单价：20000 元

3.13 药物筛选（降胆固醇药物筛选和抗肿瘤药物筛选）

由我公司提供相关的组织文库对药物进行筛选，可以在相对较低成本和较快时间内对一个新的药物得出，其对某些人体组织作用效果和同类已有药物的效果的比较。

实验完成后提供完整的实验数据和书面报告和电子版报告。

价格：面议



上海玉华生命科技发展有限公司

<http://www.yh-keji.com>

Shanghai Yuhua Life Science & Technology Development Co. Ltd

地址：上海市杨浦区鞍山路5号 杨浦商城22楼A

市场部

Tel: 021-65030614 转 208

E-mail: helena@yh-keji.com