

基因组编辑解决方案



基因组编辑简介

CRISPR 相关产品与应用

TALEN 相关产品与应用

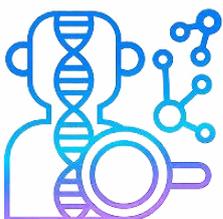
Donor Clone Service

Safe Harbor Knockin

慢病毒包装服务

稳转细胞株的筛选

GeneCopoeia™
Expressway to Discovery



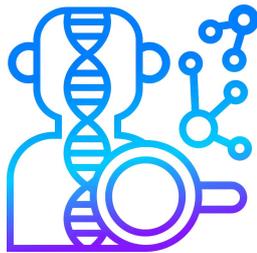
Modalities Bio
模态生物

基因功能研究专家



了解更多产品信息，请登录www.biomodalities.com，或联系当地经销商

当地经销商信息



Modalities Bio
模态生物

Genecopoeia, Inc.

Tel: 4006-020-200

Web: www.genecopoeia.com.cn



扫描二维码关注
官方微信账号
模态生物

基因组编辑简介

基因功能分析的最常用方法之一就是改变基因的序列，进而研究这样的改变对生物本身产生的影响。基因组编辑就是其中一种常用的修饰方法。

基因组编辑即对靶标基因组位点进行特定修饰，对生物学及药学方面的研究有重要意义。TALEN 和 CRISPR 是两种新型基因组编辑技术，都能够在几乎任意基因组序列上生成DNA双链断裂（DSB），并通过非同源末端连接（NHEJ）或同源重组（HR）等细胞修复机制在靶点引入修饰（图2）。

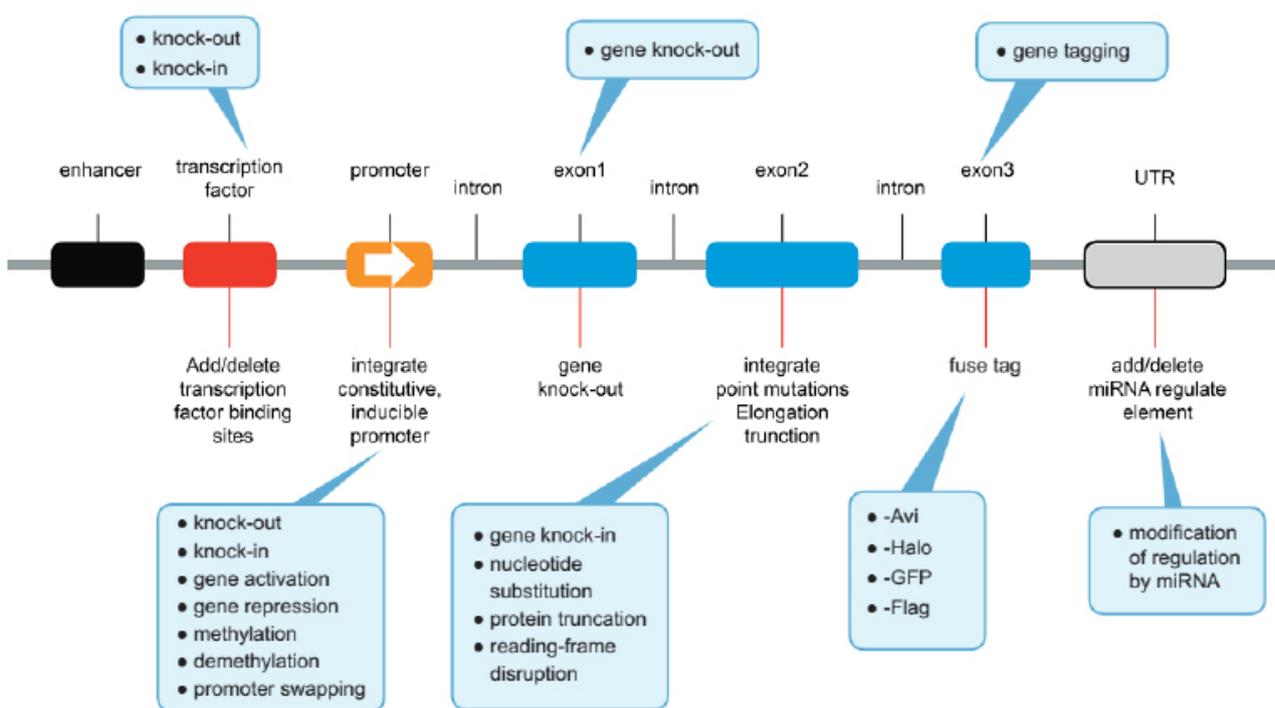


图1. 靶向基因组编辑的应用

基因组编辑简介

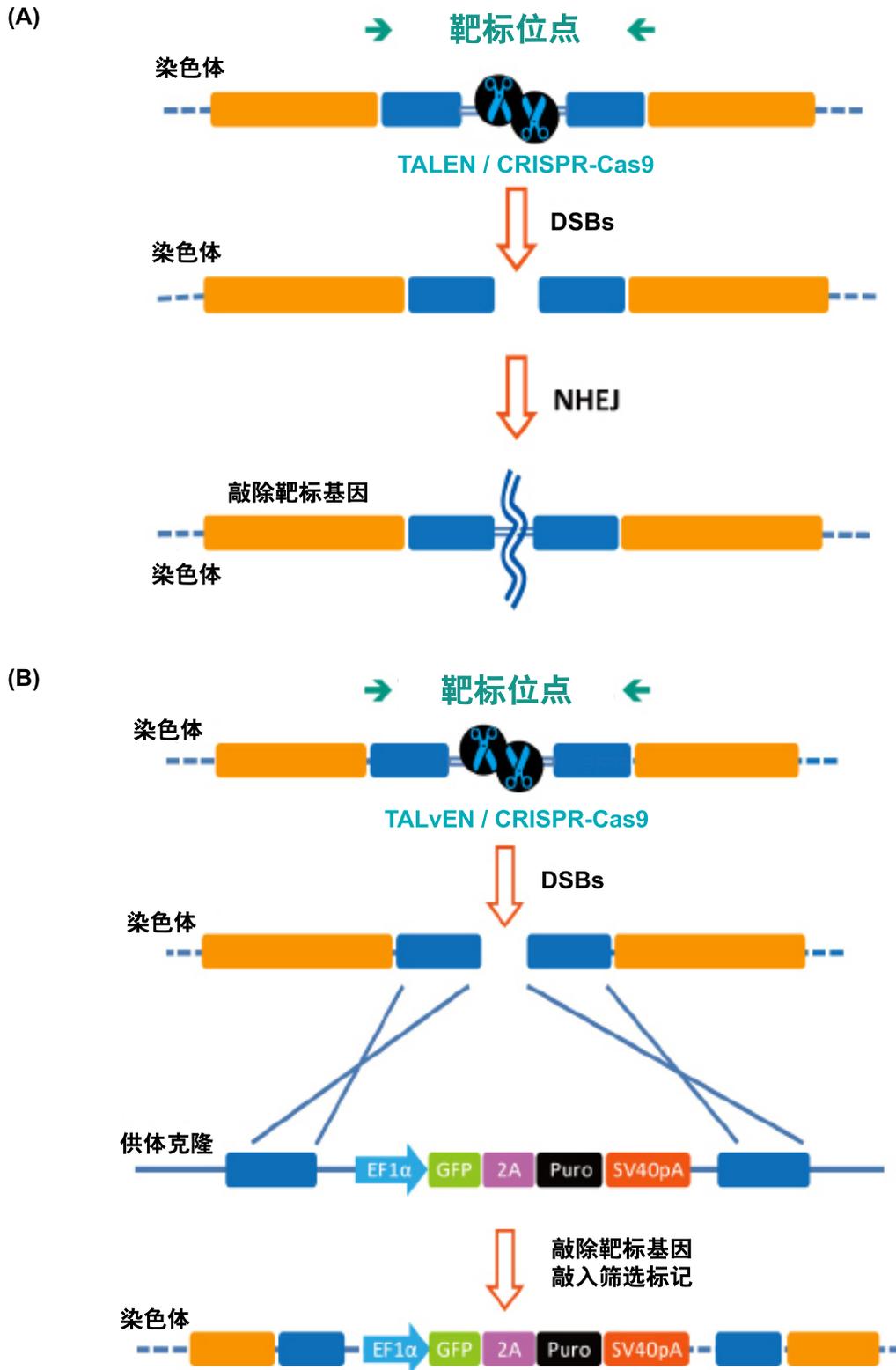


图2. 设计靶向核酸内切酶诱导基因组编辑。

(A) 非同源末端连接 (NHEJ) 机制修复基因组编辑工具生成的DNA双链断裂 (DSB)，诱发插入或缺失突变，实现基因敲除。(B) 基因组编辑工具生成的DNA双链断裂 (DSB) 与供体质粒发生同源重组 (HR)，供体质粒上的目标基因及筛选标记 (或其他遗传因子) 整合到基因组靶点，修复DSB，实现基因敲入。

CRISPR

CRISPR-Cas系统 (clustered, regularly interspaced, short palindromic repeats-associated protein systems) 是一个细菌及古细菌进化出来用以抵御病毒和质粒入侵的适应性机制。CRISPR-Cas系统的高效基因组编辑功能已被应用于多种生物, 包括斑马鱼、小鼠、大鼠、秀丽隐杆线虫、植物及细菌。多个科研小组的研究都显示, 与锌指核酸酶 (ZFNs) 和转录激活样效应核酸酶 (TALEN) 相比较, CRISPR-Cas系统介导的基因组靶向实验在细胞或斑马鱼中显示出相似甚至更高的效率。

在CRISPR-Cas9系统中, CRISPR RNA (crRNA) 与转录激活crRNA (Trans-activating crRNA, tracrRNA) 退火形成的复合物能特异识别基因组序列, 并引导Cas9核酸内切酶在靶点生成DNA双链断裂 (DSB)。识别复合物可以通过融合crRNA与tracrRNA形成sgRNA (single-guided RNA) 进行简化, 与基因组上长约20bp的靶序列互补配对。靶序列末端的三核苷酸区域PAM (5' -NGG-3') 为Cas9识别位点, 是实现剪切功能的关键。

CRISPR-Cas9体系的RNA-DNA识别机制为选择性基因组编辑提供了一个简便而强大的工具。该体系其中一个最重要的优势是Cas9蛋白可在多个不同的sgRNA的引导下同时修饰多个基因组靶点。

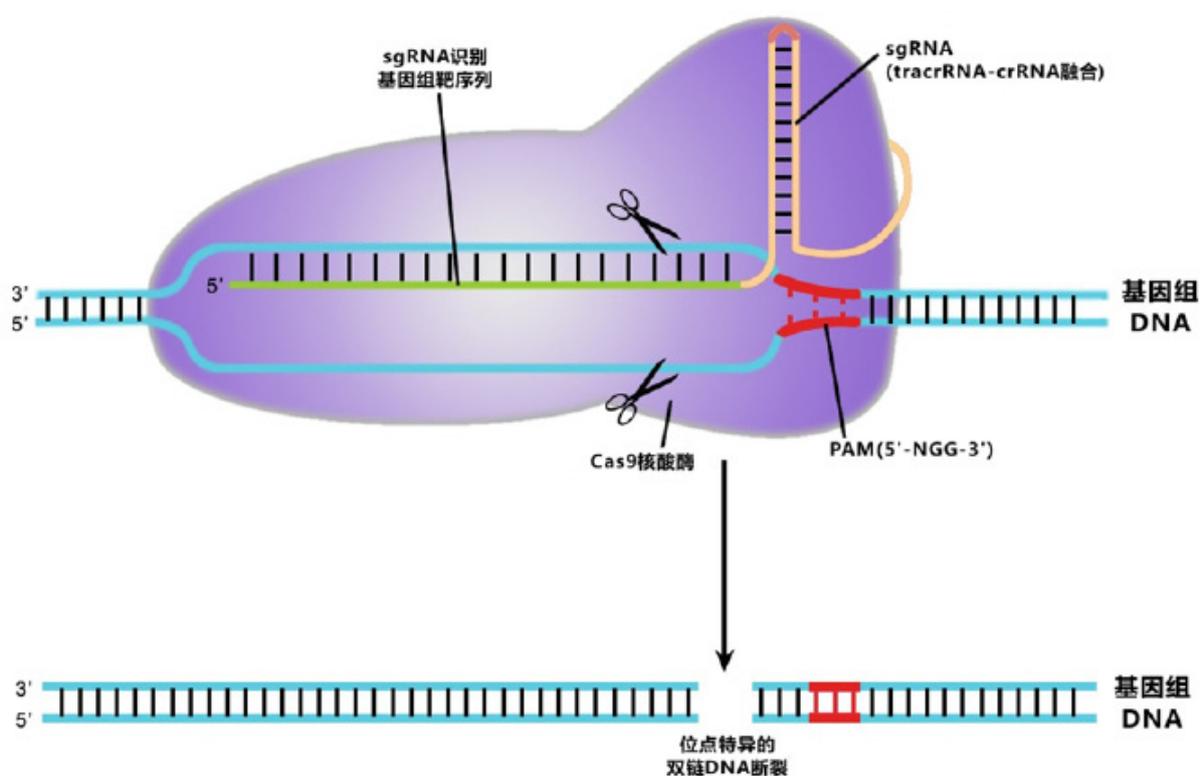


图3. CRISPR-Cas9介导的基因组编辑原理图

CRISPR相关产品与服务

产品/服务	描述
Cas9 核酸酶表达克隆 (慢病毒或非病毒载体)	表达Cas9 核酸酶。Cas9核酸酶能在sgRNA引导下剪切靶标DNA，形成双链断裂 (DSBs)。
Cas9 核酸酶慢病毒颗粒	预制的Cas9 核酸酶慢病毒颗粒，针对难转染细胞而设计。
Cas9 切口酶表达克隆	表达Cas9 切口酶。切口酶与sgRNA 结合后，靶向切割基因组特异位点，生成单链切口。
sgRNA 表达克隆 (慢病毒或非病毒载体)	表达sgRNA。sgRNA 引导Cas9核酸酶作用于基因组特异位点。单独表达sgRNA的克隆或sgRNA, Cas9 共表达克隆。
sgRNA 文库	实现高通量突变筛选
慢病毒包装服务	针对难转染细胞，包装sgRNA 或 Cas9 慢病毒颗粒。
验证服务	CRISPR sgRNA(s) 功能验证
供体敲入克隆	CRISPR介导下，经同源重组将目的序列敲入基因组特异位点。多种报告基因和筛选标记供选择。
Cas9稳转细胞系	稳定表达Cas9核酸酶的细胞系，可配合sgRNA文库使用。
转基因小鼠服务	CRISPR 介导的基因组编辑的转基因小鼠
咨询服务	专家为您设计基于 CRISPR 的基因组编辑实验方案

Cas9 核酸酶和切口酶

Cas9核酸酶与sgRNA形成靶向剪切复合体，在sgRNA的引导下实现对基因组特异位点的靶向切割。切割后，基因组上形成的双链DNA断裂被细胞的非同源末端连接或同源重组方式修复。同源重组需要细胞内同时存在一段带有靶点同源序列的供体DNA作为修复模板，我们可以通过对供体DNA进行设计，以致在众多实验体系中实现基因敲除或者敲入突变等一系列基因组修饰。

随着研究的深入，研究者对Cas9进行改造以降低CRISPR介导的脱靶突变率，因此Cas9切口酶（nickase）应运而生。野生型Cas9具有两个核酸酶结构域，每一个结构域切割一条DNA链。突变其中一个域使Cas9转变成切口酶，该酶切割DNA形成单链断裂。

虽然核酸酶的突变体与sgRNA结合的特异性不会改变，并且仍能被转运到脱靶位点，但单个切口的修复更可能是同源重组，而非NHEJ。Genome-CRISP™ Cas9切口酶（Cas9 D10A切口酶）基因的序列对比野生型在D10A位置有一个有义突变，该突变使得剪切互补链的催化结构域失活，将Cas9核酸内切酶变成只在靶序列结合链切出单链切口。

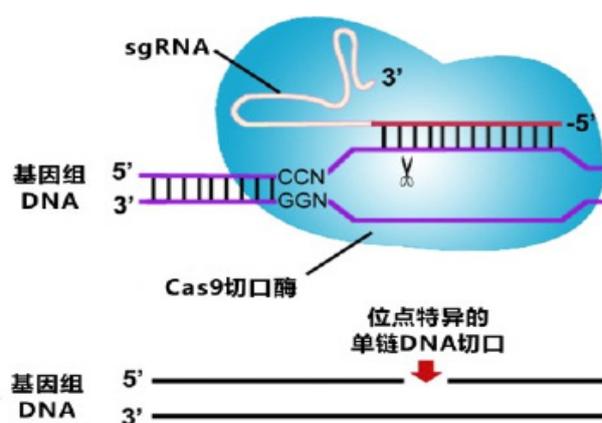


图4. Cas9切口酶工作原理

Cas9核酸酶表达克隆是装载了Cas9核酸内切酶基因的预制克隆。

Cas9切口酶表达克隆装载了表达Cas9切口酶的基因序列。

载体信息：

产品类型	货号	启动子	筛选标记/报告基因	载体类型
Cas9核酸酶表达克隆	CP-C9NU-01	CMV	Neomycin / mcherry	非病毒载体
	CP-LvC9NU-01	CMV	Neomycin	慢病毒载体
	CP-LvC9NU-02	CMV	Neomycin / eGFP	慢病毒载体
Cas9切口酶表达克隆	CP-C9NI-01	CBh	N/A	非病毒载体
	CP-C9NI-02	CMV	Neomycin / mcherry	非病毒载体

sgRNA

GeneCopoeia提供特异目的基因的sgRNA (single-guide RNA) 设计与克隆定制服务。sgRNA克隆表达一个单链sgRNA (由crRNA和tracrRNA融合而成)。当Cas9核酸内切酶存在时, sgRNA识别靶序列并引导Cas9核酸酶剪切靶点, 形成DNA双链断裂 (DSB), 进而实现敲除、敲入及突变等基因组编辑。多个sgRNA克隆与一个Cas9克隆共转染可同时编辑多个基因组靶点, 使实验设计更高效、更灵活。

载体信息:

载体	启动子	sgRNA / Cas9	筛选标记/报告基因	载体类型
pCRISPR-SG01	U6	表达sgRNA	Hygromycin	非病毒载体
pCRISPR-LvSG02	U6	表达sgRNA	Puromycin/mCherry	慢病毒载体
pCRISPR-CG01	U6	共表达sgRNA和CMV 启动下的Cas9	Neomycin/mCherry	非病毒载体
pCRISPR-CG02	U6	共表达sgRNA和CBh 启动下的Cas9	N/A	非病毒载体

注: pCRISPR-SG01, pCRISPR-LvSG02 与 Cas9 核酸酶 (Cat.No. CP-C9NU-01, CP-LvC9NU-01, CP-LvC9NU-02) 和 Cas9 切口酶 (Cat.No.CP-C9NI-01, CP-C9NI-02) 兼容, 可配套使用。

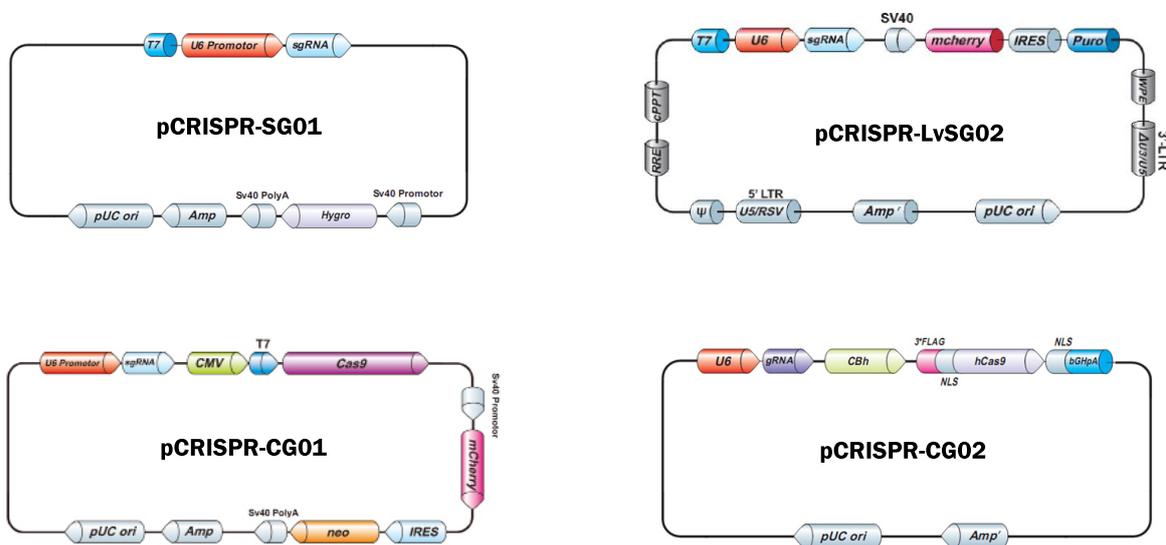


图5. sgRNA载体图谱

sgRNA

NHEJ介导的DNA双链断裂（DSB）修复往往会在基因组靶点上引入插入缺失突变。T7 核酸内切酶I 能够剪切含有错配的双链DNA。因此，验证特异位点核酸酶（如：CRISPR）的功能活性，我们可采用错配剪切试验来检测这些突变造成的错配。转染后，宿主细胞的基因组DNA被提取并经特异引物PCR扩增。PCR产物经纯化、变性和退火后，由错配剪切酶（如 T7 核酸内切酶I）消化。若靶向核酸酶功能正常，错配酶切后将产生3条琼脂糖凝胶电泳条带：未被剪切的全长序列、2条更短的错配酶切产物。

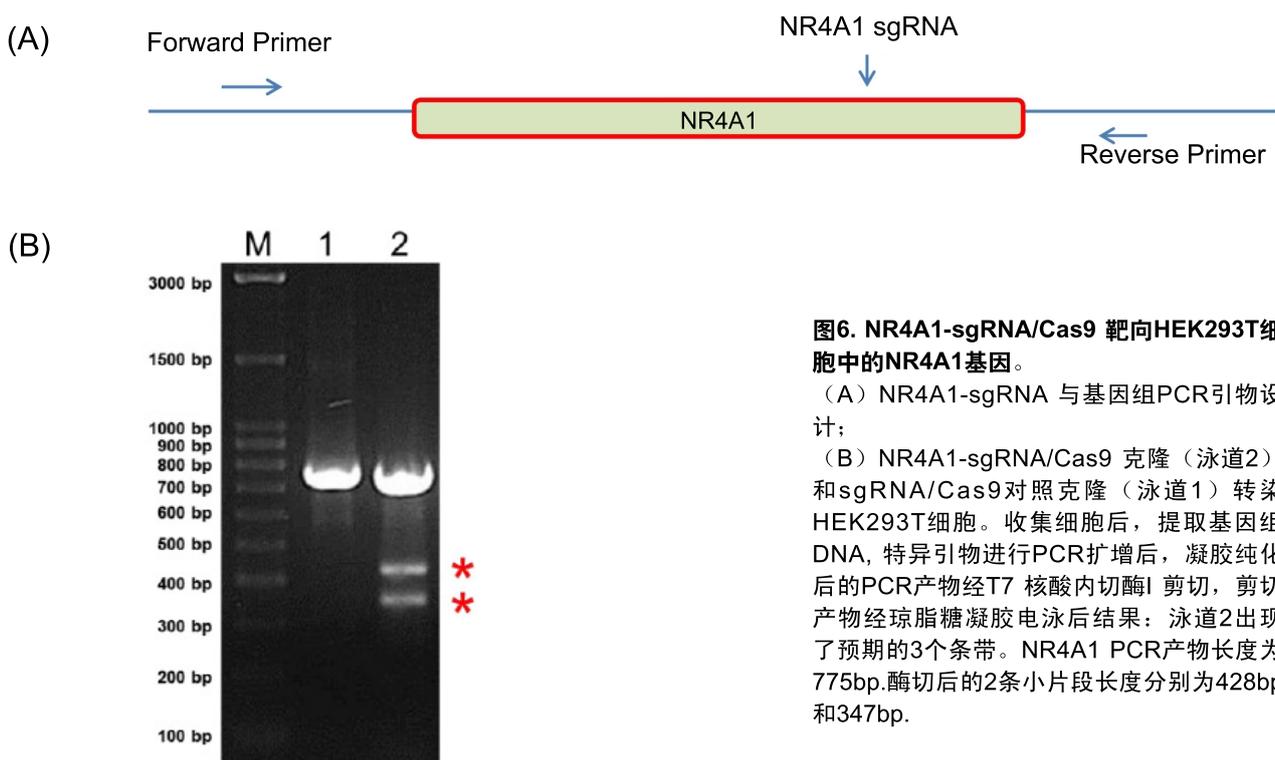


图6. NR4A1-sgRNA/Cas9 靶向HEK293T细胞中的NR4A1基因。

(A) NR4A1-sgRNA 与基因组PCR引物设计；

(B) NR4A1-sgRNA/Cas9 克隆（泳道2）和sgRNA/Cas9对照克隆（泳道1）转染HEK293T细胞。收集细胞后，提取基因组DNA，特异引物进行PCR扩增后，凝胶纯化后的PCR产物经T7 核酸内切酶I 剪切，剪切产物经琼脂糖凝胶电泳后结果：泳道2出现了预期的3个条带。NR4A1 PCR产物长度为775bp。酶切后的2条小片段长度分别为428bp和347bp。

IndelCheck™ TALEN/CRISPR 插入缺失检测体系

IndelCheck™ 检测体系由靶位点PCR试剂盒和T7核酸内切酶I 检测试剂盒两部分组成。它可用于直接从细胞裂解液中扩增基因组上的靶序列，并检测由基因组编辑工具— TALEN/CRISPR 引入的插入缺失突变。

产品名称	描述	货号	规格	目录价
IndelCheck™ CRISPR/TALEN Insertion/Deletion Detection Kit	TPCR-050 + TENI-050	ICPE-050	50 reactions	¥ 1650
	TPCR-200 + TENI-200	ICPE-200	200 reactions	¥ 4980
Target site PCR kit	PCR-amplify targeted genome region	TPCR-050	50 reactions	¥ 1280
		TPCR-200	200 reactions	¥ 3730
T7 endonuclease I assay kit	Detect indel mutations with T7 endonuclease I	TENI-050	50 reactions	¥ 800
		TENI-200	200 reactions	¥ 2400

sgRNA 文库

功能基因组学筛查，特别是通过基因敲除实现的功能缺失筛查，是一个强大的工具，可被用于在哺乳动物细胞上进行系统遗传学分析，推进基因发现，进行基因组级别的功能分析（如信号转导通路分析）以及药物发现（如药物靶标鉴定和药物机制分析）。

Genome-CRISP™ 人类 sgRNA 文库是一个专为大规模功能筛查而设计的慢病毒转导系统，针对每一个靶基因，我们至少会设计和优化2个sgRNA分别靶向基因的不同序列区域，并对这2个sgRNA克隆进行序列确证以保证基因敲除的效果。您可订购预先定义的通路基因组或自定义的基因组混合文库（质粒DNA或慢病毒颗粒）。它们可被用于转染或转导稳定表达Cas9核酸酶的细胞系。

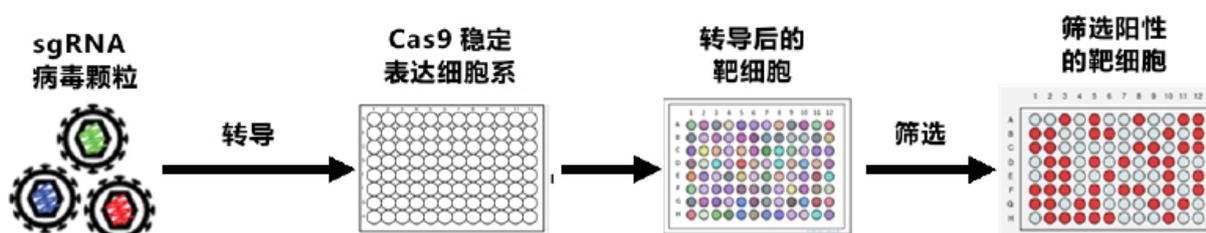


图7. 使用sgRNA文库进行大规模突变筛查图解

产品特性:

- 每个靶基因组合的混合文库内的都由单独构建、经过序列确证的 sgRNA 合并而成，以保证文库的高质量及良好的 sgRNA 代表性。

产品形式:

- 提供预制或客户定制的 sgRNA 文库。
- 每个靶基因设计 2个或更多的 sgRNAs。
- 提供 sgRNA 混合文库质粒、菌液、慢病毒颗粒或单独克隆的 sgRNA 阵列文库。

可选的sgRNA 载体

载体名称	启动子	sgRNA	筛选标记 / 报告基因
pCRISPR-LvSG03	U6	sgRNA 表达载体	Puromycin/mCherry

注：推荐使用稳定表达Cas9 核酸酶的 H1299 单克隆细胞系（货号：SCL-01-CA1）或HEK293T 单克隆细胞系（货号：SCL-01-CA1）。详询技术支持热线4006-020-200。

TALEN

TALEs是植物病原菌黄单胞菌(*Xanthomonas*)分泌的蛋白，能识别并结合到宿主植物靶基因的启动子区，调控相应基因的表达。TALE蛋白中间含有一个重复区域，该区域由含约34个氨基酸的重复单元组成。每个重复单元的氨基酸序列高度保守，除了第12位和13位的两个氨基酸可变，即重复单元可变的氨基酸残基(RVD)。RVD与DNA靶点上的碱基之间存在近乎一一对应的关系：NI = A, HD = C, NG = T, NN = G 或 A。最近的研究还证明NH RVD与NN相比，对鸟嘌呤(G)的结合活性相似，并有更高的识别特异性。因此目前多使用NH替代NN对G进行识别。我们还提供能识别5-甲基胞嘧啶(5mC)的N* RVD。

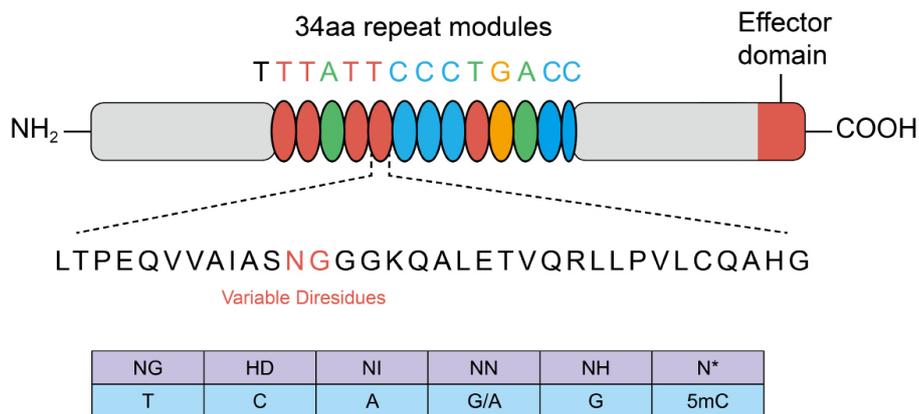


图8. TAL效应子原理图与常用RVD识别密码表

TALEN单体由一个TALE DNA结合域和一个FokI核酸内切酶单体融合而成。一对TALEN单体分别特异结合两个相邻的靶点(相隔14-20bp)，使得各自的FokI靠近形成二聚体，在两个靶点之间剪切，生成DNA双链断裂(DSB)。DSB会诱发细胞内DNA损伤修复机制：非同源末端连接(NHEJ)修复DSB时会在断裂位点引入插入或缺失突变；而当外源双链DNA片段供体存在时，细胞可以通过同源重组(HR)将供体DNA整合到断裂处，修复DSB。目前，TALENs(Transcription activator-like effector nucleases)已被用于制备人胚胎干细胞(ES)和诱导多功能干细胞(IPSCs)的基因修饰稳转细胞株，同时还被用于构建大鼠，线虫，斑马鱼等模式生物的基因修饰动物模型。

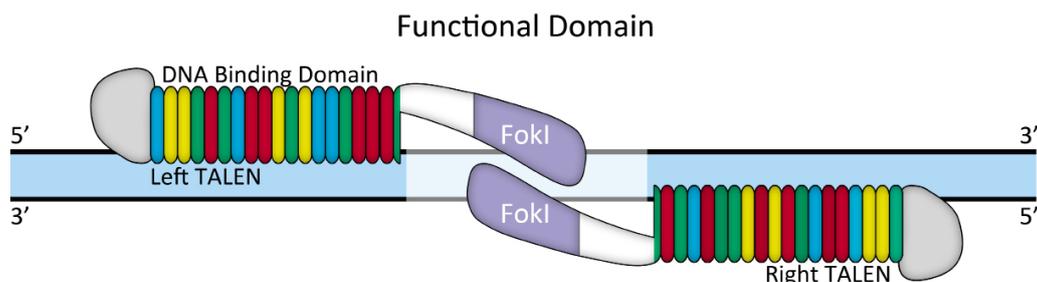


图9. 典型的TALEN设计策略

TALEN 相关产品与服务

产品/服务	描述
TALEN 表达克隆	经序列确证的TALEN 质粒对，表达对基因组特异位点进行剪切的TALE 核酸酶。
TALE-TF 表达克隆	经序列确证的TALE-TF 质粒，表达靶向特异基因的启动子区域的TALE 转录激活子
验证服务	TAL 效应因子的功能验证
供体敲入克隆	TALEN 介导下，经同源重组将目的序列敲入基因组特异位点。多种报告基因和筛选标记供选择。
稳定细胞株筛选服务 (可建细胞库)	TALEN 介导下准确基因组编辑的单克隆稳定细胞株
转基因小鼠服务	TALEN 介导的基因组编辑转基因小鼠
咨询服务	专家为您设计基于 TALEN 的基因组编辑实验方案

TALENs下调靶基因eGFP的表达

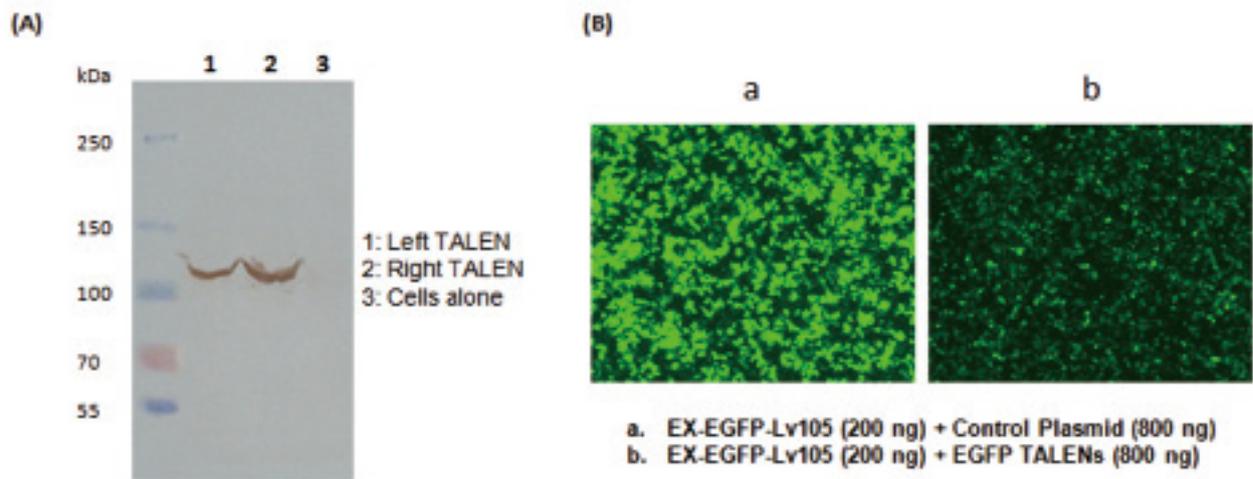


图10. (A) eGFP-TALENs 表达检测：用eGFP-TALEN质粒转染HEK293T细胞（6孔板，转染0.8 μ g质粒每孔）。48小时后收集细胞，通过western blot检测eGFP-TALENs的表达（Flag标签抗体，SDS-PAGE分离胶浓度为8%，eGFP-TALEN分子量约110kDa）。(B) eGFP-TALENs下调靶基因eGFP的表达：用eGFP-TALENs质粒对和EX-eGFP-Lv105（eGFP表达克隆）共转染6孔板中的HEK293T 细胞。48小时后在显微镜下观察eGFP的表达水平。（Nikon Eclipse Ti, 曝光时间：600ms）

TALE-TF

TAL效应子其中一个核心应用方向是靶向激活或抑制细胞内目的基因的表达。TALE-TF由一个TALE DNA结合域和一个VP64转录激活因子结构域融合而成，能特异识别基因组上启动子区域，对目的基因进行精确激活，是选择性调节真核细胞基因表达的强大工具。

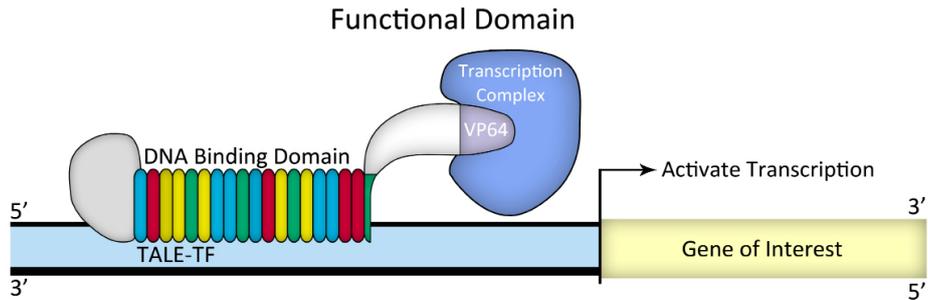


图11. TALE -TF 经典设计

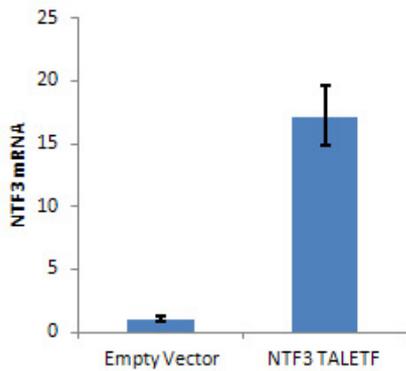


图12. TALE-TF上调内源性NTF3的转录：用NTF3 TALE-TF转染HEK293T细胞（6孔板，每孔转染1 μg 质粒）。实时荧光定量PCR检测表明TALE-TF将HEK293T细胞内NTF3的表达水平提高了17倍左右（以空载体做对照）。

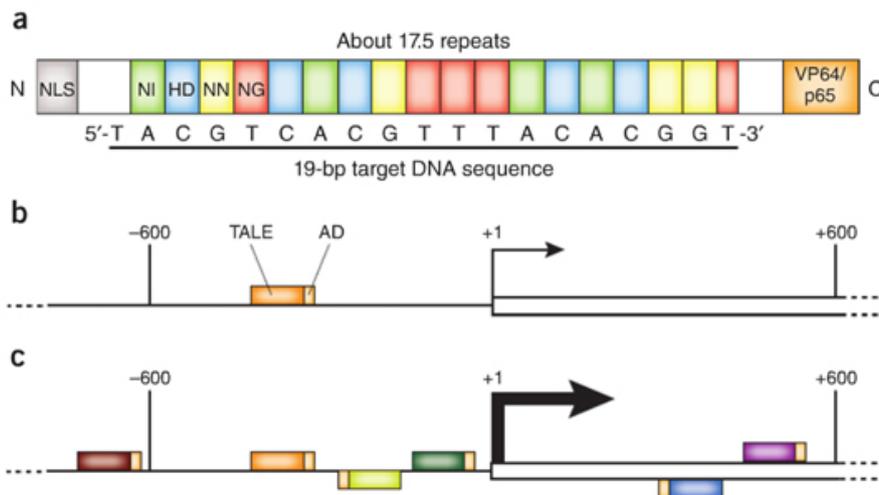


图13. 合成的TALE激活因子对人类基因表达具有协同作用。(a) TALE单体示意图。每个重复单元里被标出的氨基酸可识别其下的碱基。NLS：核定位序列；VP64/p65：转录激活域（ADs）。(b) 单一TALEs以不同效率诱导靶标人类基因。(c) 靶向作用于任一DNA链的TALEs组合可有效地提高基因诱导率。(Nature Methods. 2013 Vol. 10. No. 3: 207-208)

供体克隆服务

GeneCopoeia 提供标准或客户定制的供体克隆载体，应用于基因敲除、突变修饰、融合标签及其他方面。工作原理：借助对具有位点特异性的基因组编辑工具生成的DSBs 的同源重组修复，从而将目的基因、筛选标记或其他遗传因子转入基因组上的特定位点。我们提供带有不同元件的多种载体骨架，可供客户根据自己的实验需要进行选择。

供体克隆的应用

基因组编辑	描述	是否需要供体克隆
基因标记	添加融合标签（如：荧光素酶, GFP），跟踪内源启动子活性或内源蛋白的表达与定位。	需要供体
基因突变	向某内源性基因引入单点或多点突变	需要供体
启动子替换	用外源启动子替代内源启动子（如：诱导型启动子）	需要供体
基因敲除	通过插入药物筛选标记或荧光报告基因实现基因敲除	可选，推荐使用供体
Safe harbor 敲入	将外源基因ORF 或其他遗传因子敲入人或小鼠基因组 safe harbor 位点	需要供体

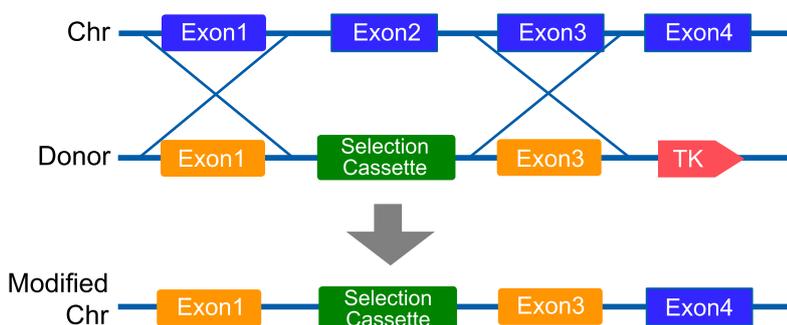


图14. 供体克隆存在下，HR-介导的基因组编辑示例。

供体载体信息

载体	启动子	报告基因	筛选标记	LoxP 位点
pDonor-D01	EF1a	copGFP	Puromycin	N/A
pDonor-D02	CMV	copGFP	Neomycin	N/A
pDonor-D03	CMV	N/A	Neomycin	N/A
pDonor-D04	CMV	N/A	Puromycin	N/A
pDonor-D05	EF1a	N/A	Neomycin	N/A
pDonor-D07	EF1a	copGFP	Puromycin/TK	LoxP
pDonor-D08	CMV	copGFP	Neomycin/TK	LoxP
pDonor-D09	EF1a	N/A	Puromycin/TK	LoxP
pDonor-D10	CMV	N/A	Neomycin/TK	LoxP

Safe harbor 基因组整合

向染色体上特定位点插入目的基因或其他遗传因子改造人类基因组的实验在细胞工程上具有极大的价值。相反，随机整合转入基因的方法将会带来不可预知的突变，构成威胁。为将突变概率降到最低，可将基因转入基因组上一个已知的安全（Safe Harbor）位点。靶向 safe harbor 位点的基因敲入能保证转入基因的正常转录，且无已知的副作用。人类第19号染色体上的 AAVS1（又称为 PPP1R2C 位点）和小鼠第6号染色体上的 ROSA26 位点（又称为 ROSA β geo26 位点）是经过验证的“安全港”位点。

GeneCopoeia 提供人、小鼠 CRISPR / TALEN 介导的 Safe harbor 位点基因敲入试剂盒和敲入克隆。

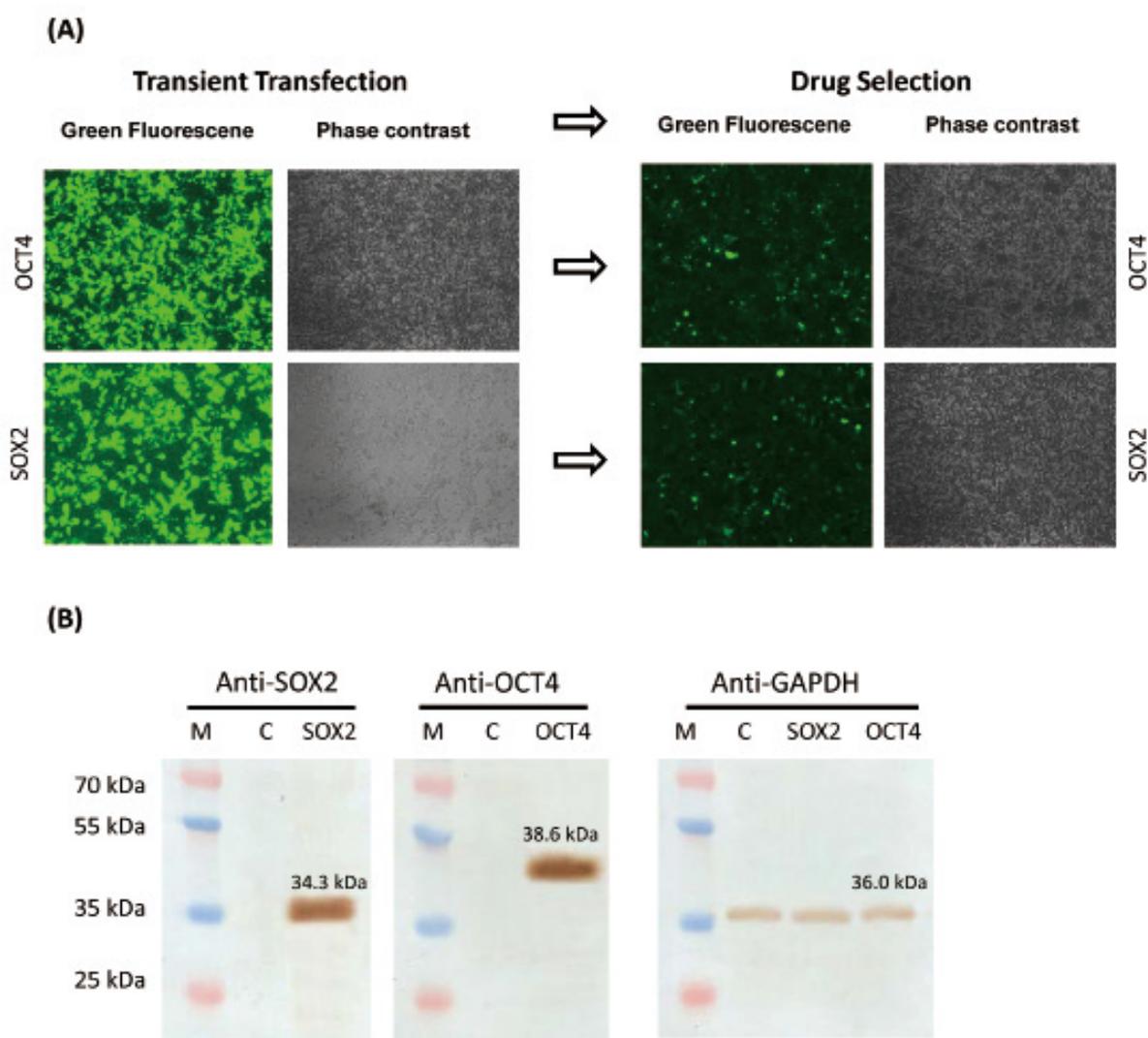


图15. SOX2及OCT4基因敲入人类基因组safe harbor AAVS1 位点实验。(A) 在六孔板上用OCT4 (Cat#: DC-Z0092-SH01)或 SOX2 (Cat#: DC-T2547-SH01) 供体质粒与AAVS1 TALEN组合共转染HEK293T细胞。转染48小时后细胞传代，以嘌呤霉素(1 μ g/ml)筛选2周。转染48小时或筛选2周后用显微镜(Nikon Eclipse Ti)检查CopGFP的表达情况。只用供体质粒转染的对照组在嘌呤霉素筛选后只有少量细胞存活(数据未展示)。(B) 对AAVS1位点稳定整合SOX2(Cat#: DC-T2547-SH01) 或 OCT4 (Cat#: DC-Z0092-SH01) 的HEK293T细胞进行Western blot分析。同个印迹实验中,阴性对照(未经转染的HEK293T 细胞)的内源SOX2或OCT4蛋白水平低至无法检出。

Safe harbor 基因敲入试剂盒

Safe harbor 基因敲入试剂盒专为将外源目的基因、筛选标记或其他遗传因子从供体质粒转移到人类第19号染色体上 AAVS1 位点或小鼠第6号染色体上 ROSA26 位点而设计。TALEN / CRISPR 靶向人或小鼠染色体的 safe harbor (安全港) 位点, 并生成双链断裂 (DSB), ORF 敲入克隆 (供体克隆) 经同源重组, 将目的序列高效率地整合到基因组的安全位点, 实现目的序列的长时间稳定表达。

试剂盒特点

- ✓ 安全位点敲入, 无毒副作用
- ✓ 操作简便, 并且效率高
- ✓ 形成DSB, 实现特异靶向
- ✓ 配套克隆, 可即时实验
- ✓ 价格实惠, 超高性价比

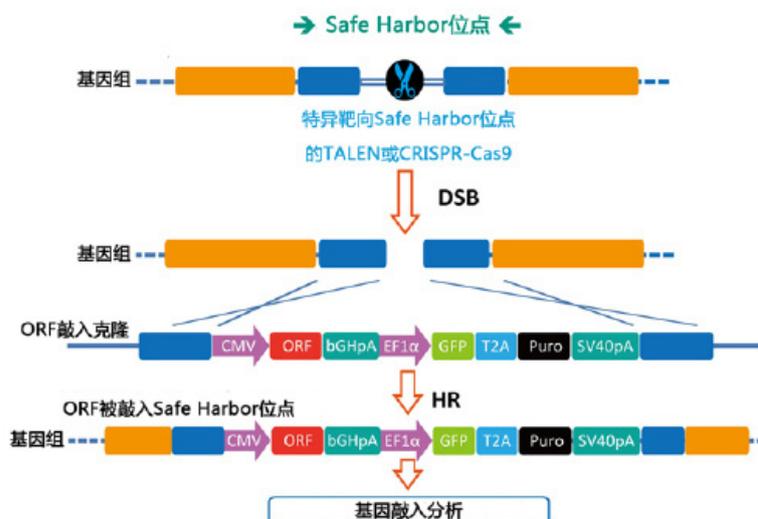


图16. TALEN / CRISPR 靶向Safe harbor位点进行基因敲入工作原理。

货号	产品名称	试剂盒组分
SH-AVS-K100	Genome-TALER™ 人类AAVS1 safe harbor 基因敲入试剂盒	AAVS1 TALEN 组合(TN-AAVS1)
SH-AVS-K000		AAVS1 供体克隆载体 (DC-DON-SH01) AAVS1 阳性对照供体克隆 (DC-RFP-SH01) 基因敲入验证引物组合(HQPAVSHR) 注: SH-AVS-K000 不含供体克隆载体
SH-AVS-K200	Genome-CRISP™ 人类 AAVS1 safe harbor 基因敲入试剂盒	AAVS1 sgRNA/Cas9 表达克隆 (HCP-AAVS1-CG02)
SH-AVS-K002		AAVS1 供体克隆载体 (DC-DON-SH01) AAVS1 阳性对照供体克隆 (DC-RFP-SH01) 基因敲入验证引物组合(HQPAVSHR) 注: SH-AVS-K002 不含供体克隆载体
SH-ROS-K100	Genome-TALER™ 小鼠 ROSA26 safe harbor 基因敲入试剂盒	ROSA26 TALEN 组合(TN-ROSA26)
SH-ROS-K000		ROSA26 供体克隆载体 (DC-DON-SH02) ROSA26 阳性对照供体克隆 (DC-RFP-SH02) 基因敲入验证引物组合(MQPROSHR) 注: SH-ROS-K000 不含供体克隆载体
SH-ROS-K200	Genome-CRISP™ 小鼠 ROSA26 safe harbor 基因敲入试剂盒	ROSA26 sgRNA/Cas9 表达克隆 (MCP-ROSA26-CG01)
SH-ROS-K002		ROSA26 供体克隆载体 (DC-DON-SH02) ROSA26 阳性对照供体克隆 (DC-RFP-SH02) 基因敲入验证引物组合(MQPROSHR) 注: SH-ROS-K002 不含供体克隆载体

Safe harbor 基因敲入供体克隆

人类 AAVS1 和小鼠 ROSA26 safe harbor 基因敲入克隆是被设计用于将超过40,000个人、小鼠基因整合到Safe Harbor 位点。源于GeneCopoeia 的庞大的即用型ORF 表达克隆库，人与小鼠Safe Harbor 敲入ORF 克隆与 CRISPR, TALEN Safe Harbor 基因敲入试剂盒兼容。克隆可通过基因名称或GenBank 序列号从GeneCopoeia 官网 (www.igenebio.com 或 www.genecopoeia.com) 搜索。

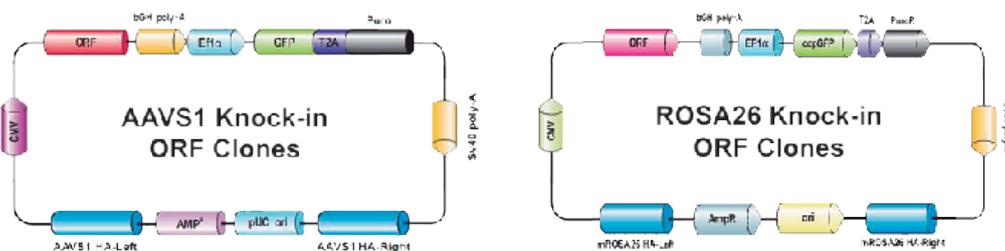


图17. 人类 AAVS1 和小鼠 ROSA26 safe harbor 敲入克隆

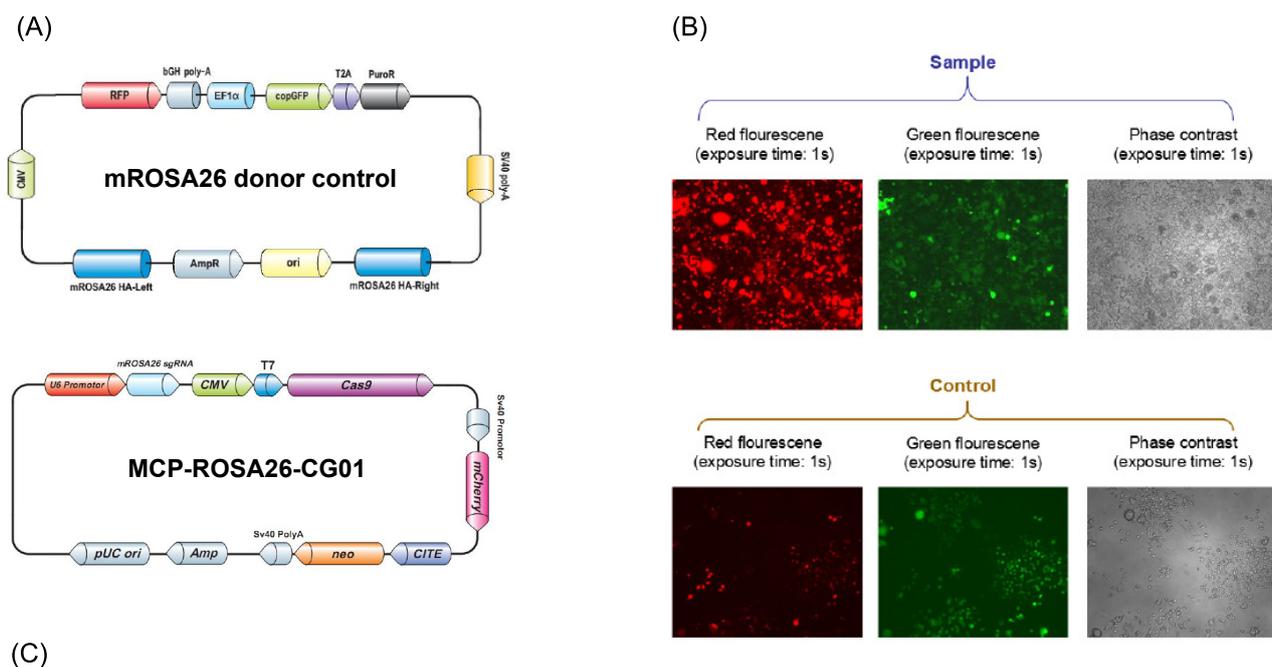
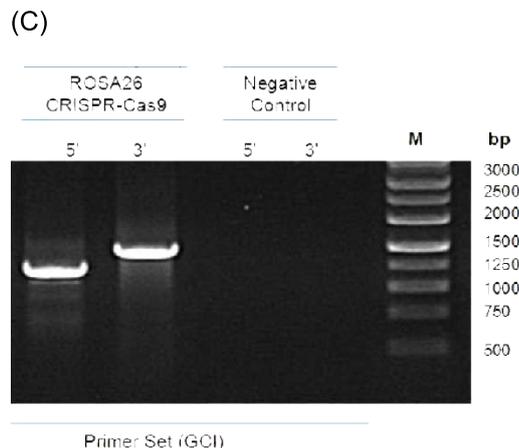


图18. 小鼠基因组 ROSA26 safe harbor 位点基因敲入。(A) 于6孔板中用 ROSA26 阳性对照供体质粒DC-RFP-SH02 (800 ng) 与 ROSA26 sgRNA/Cas9 表达克隆 (800 ng) 共转染或只用 ROSA26 阳性对照供体克隆转染小鼠 Neuro2a 感受态细胞。(B) 转染48小时后，将细胞以1:10比例分配到新的6孔板，用1.0 μg/ml 浓度的嘌呤霉素进行筛选，该图于筛选进行两周后拍摄。只转染 DC-RFP-SH02 的对照组孔内只有极少量细胞。(C) 设计引物组合对同源重组连接位点进行扩增，验证成功整合的克隆。



Primer Set (GCI)

慢病毒包装服务

慢病毒表达系统能够有效地将遗传物质传递到多数模式动物和大部分哺乳动物细胞，包含未分化和难转染细胞，如：神经元细胞、原代细胞和干细胞等。慢病毒已经成为炙手可热的基因投递工具。我们不但提供ORF, shRNA, miRNA, promoter 的慢病毒包装服务，还提供针对基因组编辑工具 - CRISPR(Cas9 & sgRNA) 的慢病毒包装服务。对于部分预制基因过表达慢病毒，免收克隆构建费用。

Cas9 慢病毒表达载体

产品类型	货号	启动子	筛选标记/报告基因
Cas9 核酸酶表达克隆	CP-LvC9NU-01	CMV	Neomycin
	CP-LvC9NU-02	CMV	Neomycin / eGFP

sgRNA 慢病毒表达载体

载体	启动子	sgRNA / Cas9	筛选标记/报告基因
pCRISPR-LvSG02	U6	表达sgRNA	Puromycin / mCherry

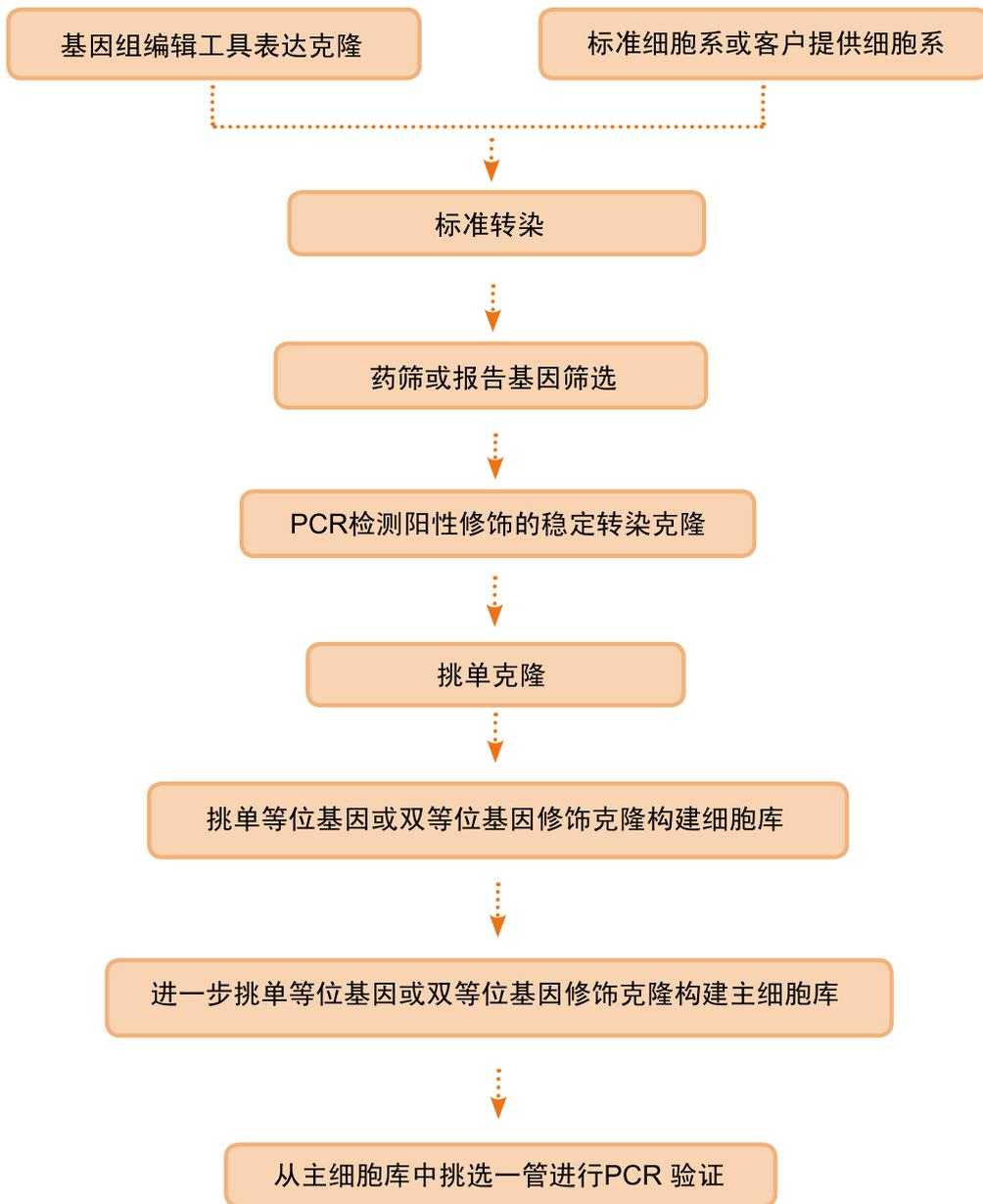
其他慢病毒表达载体

表达克隆	启动子	筛选标记	报告基因
基因过表达	CMV,	Puromycin Neomycin Hygromycin Zeomycin	eGFP
shRNA	EF1a,		eYFP
pre-miRNA	CAG,		eCFP
miRNA 抑制剂	PDK,		mcherry
启动子	SV40,		Luciferase
	H1, U6. inducible		

了解GeneCopoeia慢病毒包装体系与服务详情，请登录官网<http://www.igenebio.com/category/product/lentivirus-system/> 或拨打热线 4006-020-200。

稳转细胞株服务

我们为含有TALEN 或CRISPR-Cas9 介导的基因组修饰的细胞提供单克隆稳转细胞株构建服务及细胞建库服务。



引用文章举例

1. Boch, J. et al. Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors. *Science*. 2009 326(5959):1509-12
2. Christian, M. et al. Targeting DNA Double-Strand Breaks with TAL Effector Nucleases. DOI: 10.1534/genetics.110.120717
3. Morbitzera, R. et al. Regulation of selected genome loci using de novo-engineered transcription activator-like effector (TALE)-type transcription factors. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1013133107
4. Cermak, T. et al. Efficient design and assembly of custom TALEN and other TAL effector-based constructs for DNA targeting. *Nucleic Acids Research*, 2011, Vol. 39, No. 12 e82 doi:10.1093/nar/gkr218
5. Li, T. et al. Modularly assembled designer TAL effector nucleases for targeted gene knockout and gene replacement in eukaryotes. *Nucleic Acids Research*, 2011, Vol. 39, No. 14 6315–6325 doi:10.1093/nar/gkr188
6. Zhang, F. et al. Programmable Sequence-Specific Transcriptional Regulation of Mammalian Genome Using Designer TAL Effectors. *Nat Biotechnol*. 2011 February ; 29(2): 149–153. doi:10.1038/nbt.1775.
7. Marraffini LA, Sontheimer EJ (February 2010). "CRISPR interference: RNA-directed adaptive immunity in bacteria and archaea". *Nat Rev Genet* 11 (3): 181–190.
8. Hale CR, Zhao P, Olson S, et al. (November 2009). "RNA-Guided RNA Cleavage by a CRISPR RNA-Cas Protein Complex". *Cell* 139 (5): 945–56.
9. van der Oost J, Brouns SJ (November 2009). "RNAi: prokaryotes get in on the act". *Cell* 139 (5): 863–5. doi:10.1016/j.cell.2009.11.018.
10. Jinek, M., Chylinski, K., Fonfara, I., Hauer, M., Doudna, J.A., and Charpentier E. (2012). A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptiv bacterial immunity. *Science* 337, 816–821.
11. Jiang, W., Bikard, D., Cox, D., Zhang, F., and Marraffini, L.A. (2013). RNA-guided editing of bacterial genomes using CRISPR-Cas systems. *Nat.Biotechnol*. 31, 233–239.
12. Hsu, P.D., Scott, D.A., Weinstein, J.A., Ran, F.A., Konermann, S., Agarwala, V., Li, Y., Fine, E.J., Wu, X., Shalem, O., et al. (2013). DNA targeting specificity of RNA-guided Cas9 nucleases. *Nat. Biotechnol*. Published online July 21, 2013.
13. Zou, J. et al. 2009. Gene targeting of a disease-related gene in human induced pluripotent stem and embryonic stem cells. *Cell Stem Cell*. 2009 Jul 2;5(1):97-110
14. Sadelain, M. et al. 2011. Safe harbours for the integration of new DNA in the human genome. *Nat Rev Cancer*. 2011 Dec 1;12(1):51-8.
15. van Rensburg, R. et al. 2013. Chromatin structure of two genomic sites for targeted transgene integration in induced pluripotent stem cells and hepatopoietic stem cells. *Gene Therapy*. 2013 20(2):201-14.
16. Papapetrou, EP. et al. 2011. Genomic safe harbors permit high β -globin transgene expression in thalassemia induced pluripotent stem cells. *Nat. Biotechnol*. 2011 29(1):73-8.
17. Lombardo, A. et al. 2011. Site-specific integration and tailoring of cassette design for sustainable gene transfer. *Nat. Methods*. 2011 8(10):861-9.

