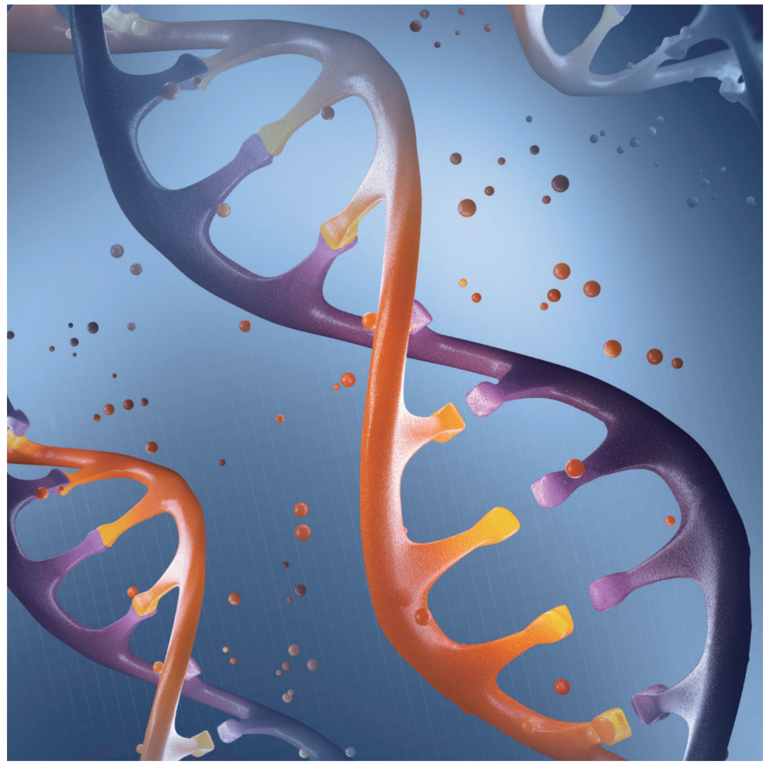
金斯瑞生物科技
Make Research Easy



「2025版」

基因编辑手册

CRISPR Service Handbook

www.genscript.com.cn

Make People and Nature Healthier
Through Biotechnology

关于金斯瑞生物科技

ABOUT US

金斯瑞生物科技股份有限公司（HK.1548）于2002年在新泽西成立，公司通过为研究人员及企业提供开发突破性治疗方法和产品所需的基础研发服务，加速生物科技及医疗保健领域的创新。作为值得信赖的全球领导品牌，金斯瑞以“用生物技术使人和自然更健康”为使命，在全球拥有超过5500名员工，为100多个国家和地区的20余万客户提供优质服务。

我们的愿景

成为最受信赖的生物科技公司

我们的使命

用生物技术使人和自然更健康

我们的核心价值观

客户至上、开拓创新、追求卓越
合作共赢、诚信正直、反求诸己

我们的企业精神

亮剑精神——勇敢、担当、进取

全球业务足迹

Global Footprint

金斯瑞成立于2002年，全球化运营覆盖美洲、欧洲、亚太。

100+
覆盖国家和地区

200,000+
客户

5,500+
全球雇员

~10%
研发人员占比

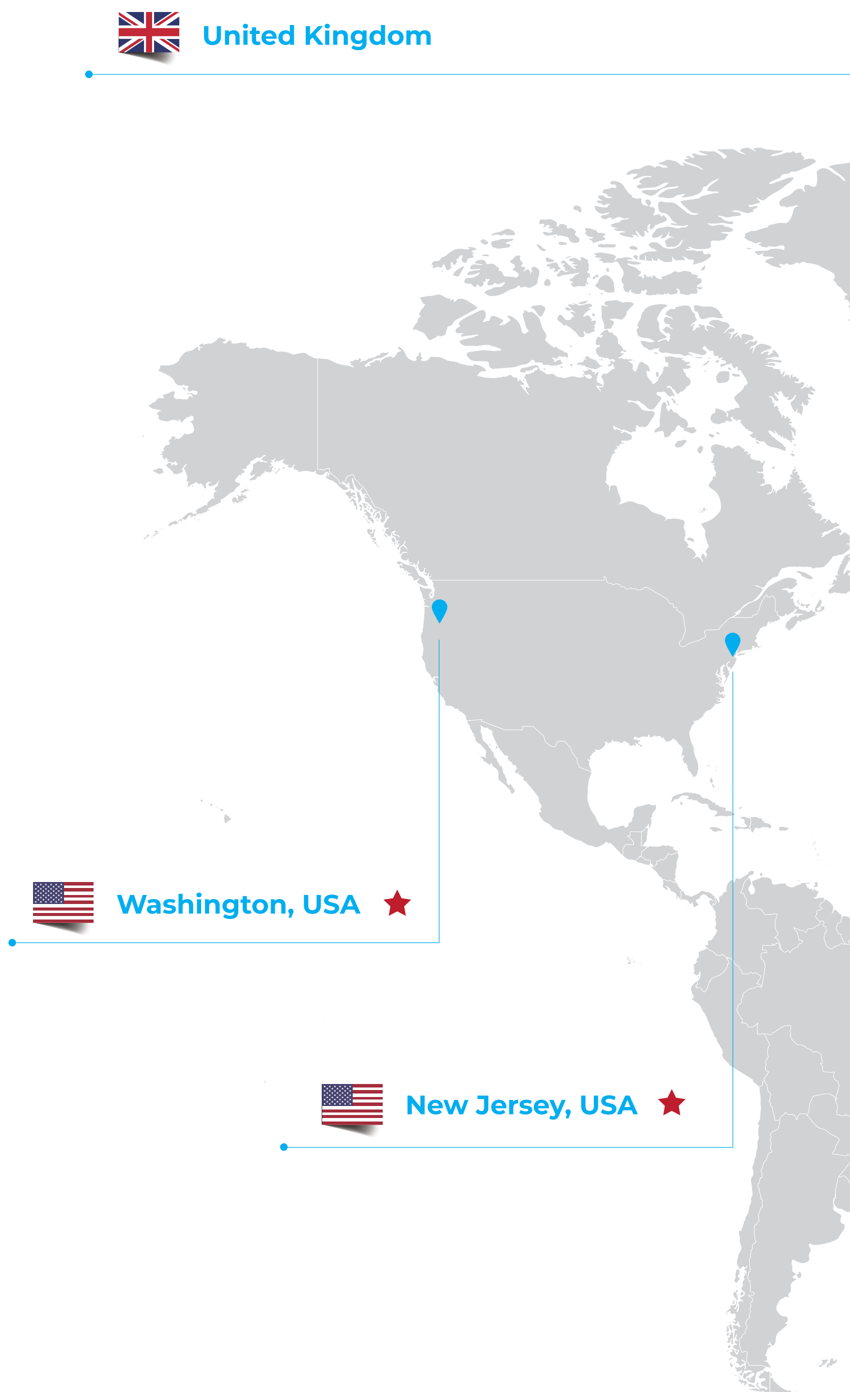
480+
专利申请

250+
持有专利

100,000+
学术期刊文献引述

*数据统计截至2024年12月31日

★ 研发和生产基地　　区域办事处和物流中心




Jiangsu, Shandong, Shanghai, China
Netherlands
Korea
Japan
Singapore
Sydney, Australia

目录

CONTENTS

01 基因编辑服务简介

02 基因编辑试剂服务

03 基因编辑模型构建服务

04 资源中心

05 订购指南及联系方式

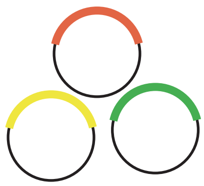
01

基因编辑服务简介

技术平台

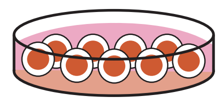
CRISPR/Cas9技术是目前基因编辑的热门工具，通过gRNA识别靶序列以及Cas9蛋白剪切靶序列，更高效的实现目的基因的敲除和敲入。依托22年丰富的合成生物学及基因编辑技术与经验，金斯瑞提供从筛选、研发到临床研究的一站式基因编辑服务，支持靶基因筛选、质粒/慢病毒/RNP多个递送系统实验开展，同时，提供定制化KO/KI细胞系直接用于下游应用。

Step1 靶基因筛选



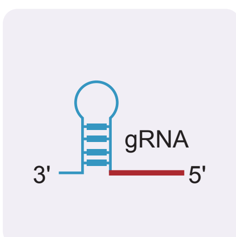
CRISPR gRNA文库

Step3 基因功能研究/药物筛选等应用

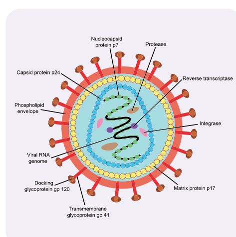


GenCRISPR™
基因编辑细胞系

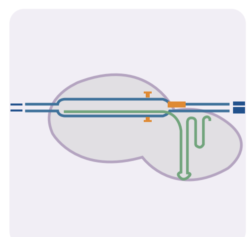
Step2 基因编辑建立模型



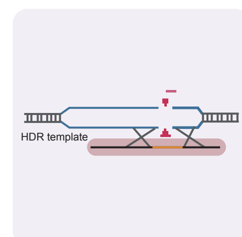
CRISPR gRNA质粒



gRNA/Cas9慢病毒包装



化学合成sgRNA *Hot*



HDR敲入模板

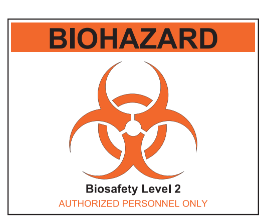
基因与细胞疗法CRISPR原料的解决方案

药物开发阶段	药物发现		临床前研究		临床试验申请	临床试验	
	目的基因序列筛选体外实验	小规模动物体内药效/毒理研究	大规模动物体内药效/安全性药理毒理研究	研究者发起的临床试验		临床Ⅰ期	临床Ⅱ-Ⅲ期

金斯瑞支持编辑体系				
Cas9	Cas12a	碱基编辑 (Base Editing)	先导编辑 (Prime Editing)	更多编辑体系

生产能力

ISO 9001:2015 质量管理认证



P2实验室：符合新生物安全法

省级示范智能车间：通量大、效率高

核酸类CRISPR试剂原料生产平台

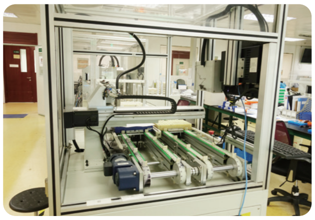
合成

质检

洁净间

纯化

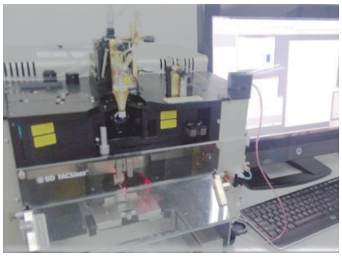
自动分装



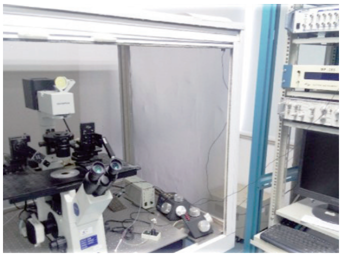
自动贴标签

慢病毒包装、细胞系开发平台

BSL2级别生物安全柜



流式细胞仪



荧光显微镜

服务优势

多样化的技术平台

单条与芯片合成平台、科研与临床级原料
支持筛选、研发、临床申报不同阶段

卓越的生产能力

化学合成sgRNA长达266 nt
基因敲入模板长达20 kb
强大的难度序列与项目完成能力

严苛的质控标准

基于应用，定制针对性QC指标
提高应用成功率与稳定性

专业的技术支持

博士领衔应用科学家和项目经理团队
及时解决生产与应用中的问题

GenCRISPR™ 产品和服务执照许可

金斯瑞为客户提供的GenCRISPR™产品和服务得到美国Broad研究所，哈佛大学、麻省理工学院和ERS Genomics授权许可。GenCRISPR™产品和服务受到US 10,946,108, US 10,930,367, US 10,781,444, US 10,711,285, US 10,577,630, US 9,840,713, US 9,822,372, US 8,999,641, US 8,993,233, US 8,945,839, US 8,932,814, US 8,906,616, US 8,895,308, US 8,889,418, US 8,889,356, US 8,871,445, US 8,865,406, US 8,795,965, US 8,771,945, US 8,697,359及多国同等专利保护，获得Broad Institute, Inc. Cambridge, Massachusetts授权，受到US 10,000,772, US 10,113,167, US 10,227,611, US 10,266,850, US 10,301,651, US 10,308,961, US 10,337,029, US 10,351,878, US 10,358,658, US 10,358,659, US 10,385,360, US 10,400,253, US 10,407,697, US 10,415,061, US 10,421,980, US 10,428,352, US 10,443,076, US 10,487,341, US 10,513,712, US 10,519,467, US 10,526,619, US 10,533,190, US 10,550,407, US 10,563,227, US 10,570,419, US 10,577,631, US 10,597,680, US 10,612,045, US 10,626,419, US 10,640,791, US 10,669,560, US 10,676,759, US 10,752,920, US 10,774,344, US 10,793,878, US 10,900,054及多国同等专利保护，获得ERS Genomics Limited授权。

02

基因编辑试剂服务

CRISPR gRNA合成服务

传统技术将表达质粒转染进宿主细胞进行基因编辑。现在，利用体外合成的gRNA与Cas9蛋白结合形成核糖核蛋白【RNP】进行基因编辑，显著简化基因编辑实验流程，同时提高编辑效率、降低脱靶效应、避免免疫干扰反应，已经成为基因编辑的一种趋势。金斯瑞提供化学合成长单链gRNA (sgRNA)，涵盖Cas9 sgRNA，Cas12a crRNA、Base Editing sgRNA、pegRNA等多个编辑体系gRNA的合成。

化学合成sgRNA合成服务

金斯瑞依托自主研发的化学合成平台，推出保证序列正确和交付量的长单链gRNA合成服务，编辑效率高、毒性低、更稳定，为您的项目提高效率、节省时间人力成本。

服务特色

化学合成sgRNA

- 即买即用、成本低
- 细胞毒性低、稳定性好、编辑效率高
- 序列正确+交付量保证
- 化学合成批次间差异小

体外转录sgRNA (IVT sgRNA)

- 多种试剂原料、5-6步合成操作、成本高
- 细胞毒性高、稳定性差、编辑效率低
- 成功率无保证
- 生物合成批次间差异大

服务详情

根据体外筛选、体内验证、临床申报等不同阶段对sgRNA质量标准和周期的不同要求，金斯瑞提供多种形式的化学合成sgRNA服务。

服务名称	长度（nt）*	纯化方式	规格	周期（工作日）
Cas9 EasyEdit sgRNA	97-103	脱盐	1.5 – 100 nmol	4天起
Cas9 SafeEdit sgRNA	97-103	HPLC		5天起
Cas12a crRNA	40-49	脱盐 / HPLC	2-100 nmol	4天起
pegRNA	110-266	脱盐 / HPLC	2-100 nmol	7天起

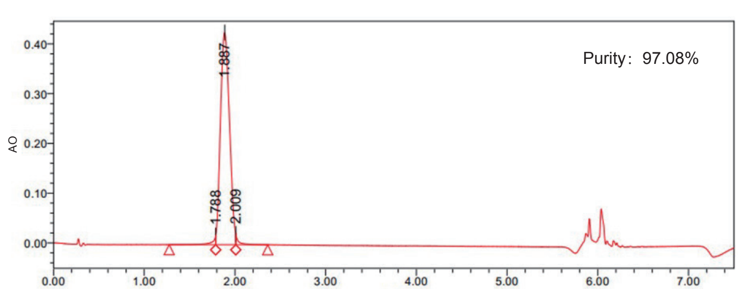
*难度序列需具体评估
*其他长度和规格或定制化服务，欢迎发送邮件至**oligo@genscript.com.cn** 或拨打电话：**400-025-8686**转**5812**或**5815**，专业技术支持团队为您服务。

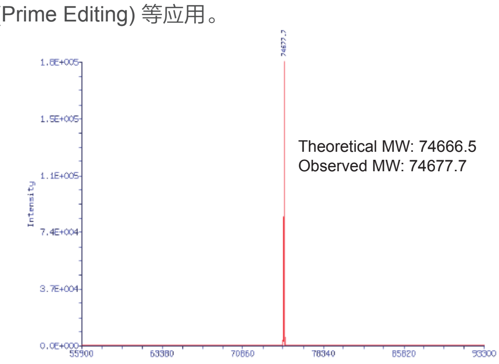
案例展示

案例1：金斯瑞gRNA强大的合成能力

实验结果：

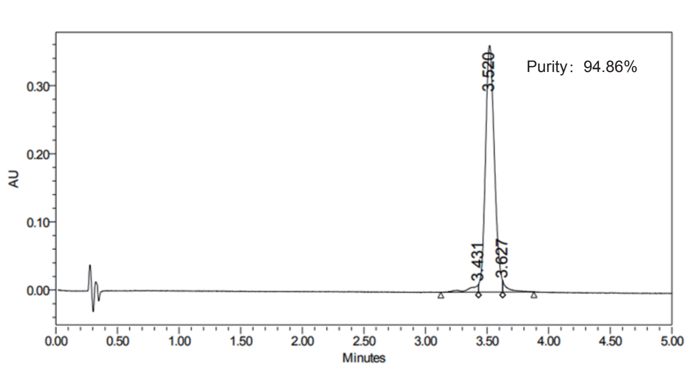
231 nt的gRNA（全化学合成）：纯度高达97.08%，分子量精准，支持先导编辑 (Prime Editing) 等应用。

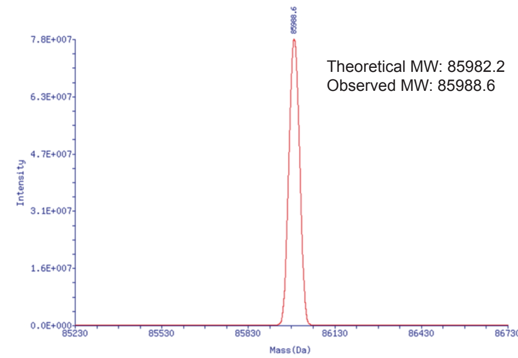




实验结果：

266 nt的gRNA（化学合成+酶连法）：纯度高达94.86%，分子量精准，支持先导编辑 (Prime Editing) 等应用。

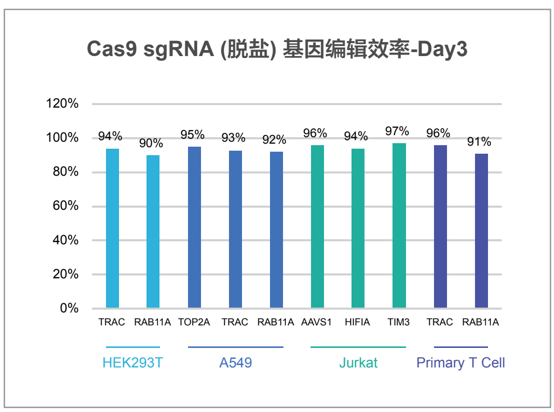


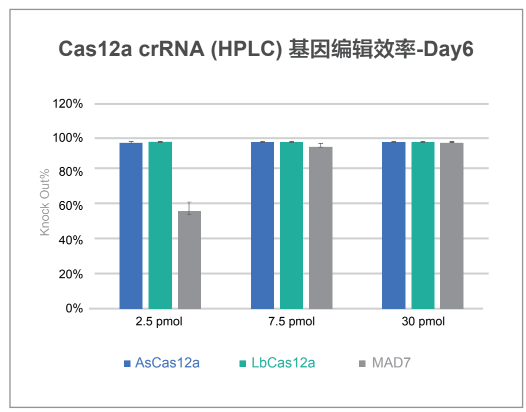


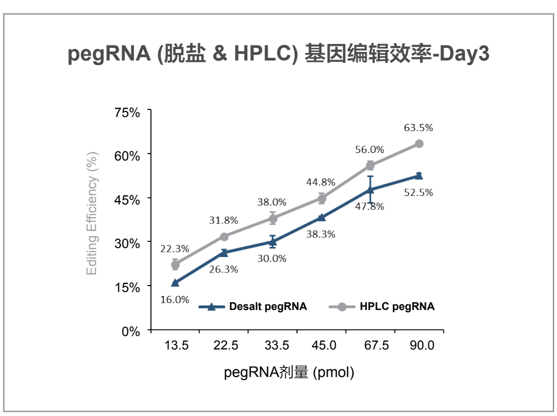
案例2：gRNA编辑效率高

实验结果：

针对Cas9 / Cas12a编辑体系，金斯瑞gRNA编辑效率高达98%；针对先导编辑 (Prime Editing) 体系，金斯瑞gRNA编辑效率高达63%。



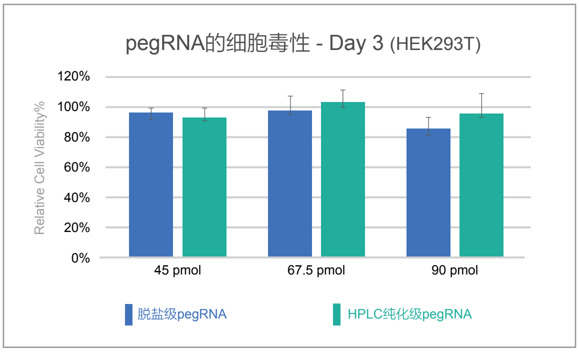




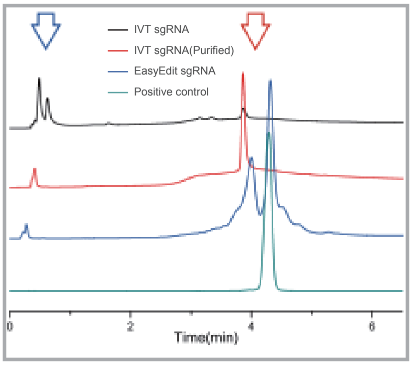
案例3：gRNA细胞毒性低

实验结果：

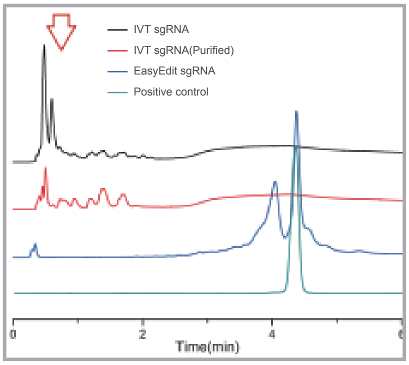
- Relative cell viability% = pegRNA加样组活细胞数量 / 空白对照组活细胞数量
- 脱盐和HPLC纯化的pegRNA细胞毒性均较低，对正常细胞生长影响较小



案例4：稳定性



(37℃存储8 h)



(37℃存储 7 Days)

化学合成的EasyEdit sgRNA稳定性优于IVT sgRNA，IVT sgRNA在储存中出现降解（红色箭头），因为IVT sgRNA无法修饰，**而化学合成的EasyEdit sgRNA可添加修饰，保证sgRNA在储存和实验中更稳定**。IVT sgRNA涉及多步生物反应，产物中存在buffer、酶等杂质（蓝色箭头），**而EasyEdit sgRNA在化学合成工艺上稳定，批次间稳定性优于IVT sgRNA**，保证后续实验间结果的可重复性和一致性。

同源重组修复(HDR)介导基因敲入模板

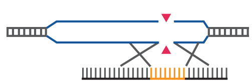
- GenExact™ ssDNA：细胞毒性低、脱靶效应低
- GenWand™ dsDNA：1-10 kb长基因敲入、μg-g交付量
- GenCircle™ dsDNA：环状敲入模板，骨架仅429 bp，删除抗性标记与细菌源序列

在基因编辑技术的CRISPR/Cas体系中，基于同源重组修复 (HDR) 介导基因敲入模板 (homology directed repair, HDR) 机制开展的基因敲入是其重要应用之一，合适的HDR模板是决定基因敲入成败与效率的重要因素。

金斯瑞提供经测序验证的、质量优越的HDR模板，涵盖单链/双链/环状模板，大大提升基因敲入效率、避免潜在的干扰，支持基于CRISPR技术的非病毒细胞疗法的开发。

CRISPR HDR基因敲入模板

GenExact™ ssDNA
精准敲入、毒性更低的单链模板



应用：

细胞治疗、KI细胞系/动物模型构建

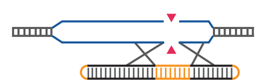
优势：

- **细胞毒性低，特别适合T细胞编辑**
- **精准敲入，脱靶效应低**
- 纯度高、经测序验证

规格：

- 敲入序列长度：150-5,000 nt
- μg to mg级交付量
- 科研至GMP级别

GenWand™ dsDNA
支持长片段敲入的双链模板



应用：

长基因敲入、工艺放大/规模量产

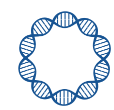
优势：

- **两端共价封闭、可实现高效精准敲入**
- **适合长基因敲入、大规格更经济**
- 纯度高、经测序验证

规格：

- 敲入序列长度：1-10 kb
- μg to g级交付量
- 科研至GMP级别

GenCircle™ dsDNA
无抗性基因的小型环状模板



应用：

替代传统质粒HDR模板，匹配申报合规性

优势：

- **较之传统质粒HDR模板，敲入效率提升高达30%**
- **骨架仅429 bp，毒性低，转染效率高**
- **删除抗性标记与细菌源序列，规避耐药风险与合规性相关风险**
- 纯度高、经测序验证

规格：

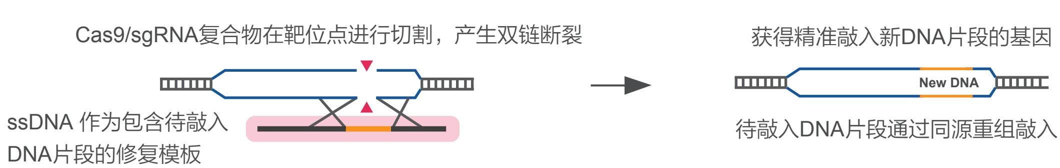
- 敲入序列长度：1-20 kb (8 kb及上需要定制化评估）
- μg to g级交付量
- 科研至GMP级别

GenExact™ ssDNA合成服务

金斯瑞提供序列正确、高纯度的GenExact™ ssDNA（长单链DNA）合成服务，是模式动物构建、细胞与基因治疗等研究中，基于CRISPR技术进行基因插入、置换和修正时，作为同源介导修复模板的绝佳选择，大大提升基因编辑效率和准确性。

依托22年分子生物学经验，金斯瑞GenExact™ ssDNA采用恒温酶法制备，无动物源成分，已获得国家知识产权局发明专利授权，具备优异稳定的质量、快速的生产周期，是您实验成功率、稳定性和高效性的有力保障。

CRISPR基因敲入，为什么选择GenExact™ ssDNA？



☑ 细胞毒性低　☑ 脱靶效应低　☑ 敲入效率高　☑ 提升基因编辑准确性

服务优势

细胞毒性低、脱靶效应低
提升目标基因的敲入效率与精准性
保证细胞治疗产品制备产量

序列正确保证、纯度高
质粒、交付产品Sanger测序正确
深度去除杂质、纯度可高达98%

强大的合成能力
丰富的难度序列合成经验
优化的生产工艺，产量易放大

支持研发至临床申报
支持μg至mg级交付量
提供科研至GMP级产品

服务详情

服务分类	交付量*	周期	交付形式
GenExact™ ssDNA （科研级/临床前研究级#）	科研级：3 μg-2 mg 临床前研究级：50 μg起	3周起	冻干粉（默认） 液体溶液（定制化）

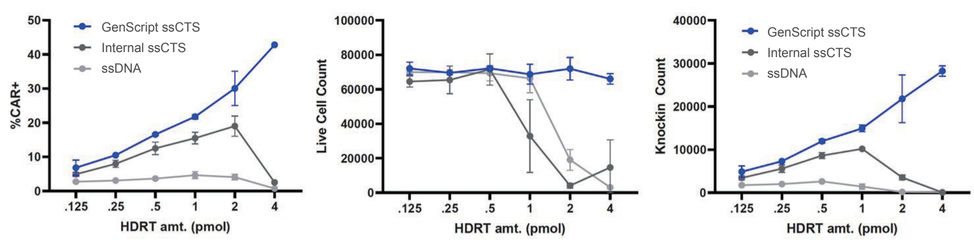
如需要反义链，周期不变。再次订购同样序列更优惠。
#临床前研究级GenExact™ ssDNA可提供更多定制化质控和检测，适用于临床前小规模动物实验等应用。可提供定制化的GenExact™ ssDNA，支持临床申报，欢迎详询。
*其他长度或交付量欢迎详询，特殊难度订单需评估周期，邮件发送至**oligo@genscript.com.cn**或拨打电话**400-025-8686**转**5812**或**5815**，专业技术支持为您服务。

案例展示

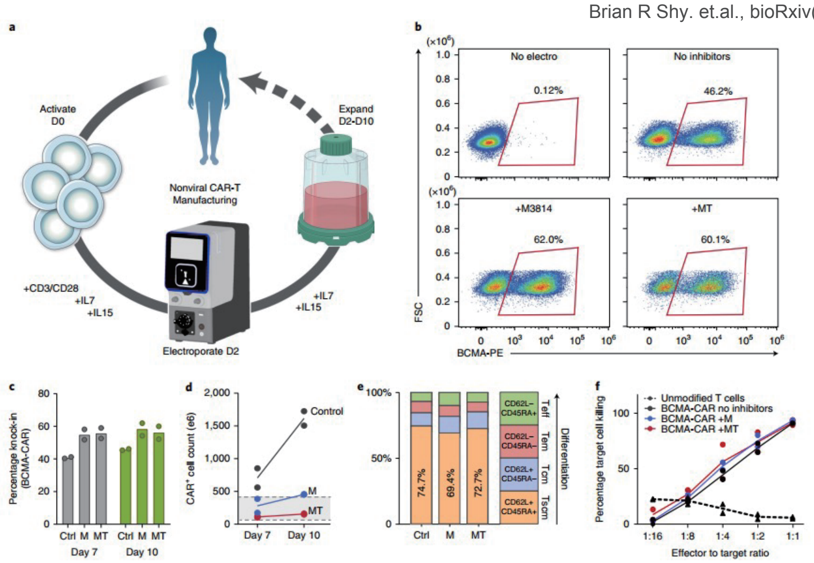
加利福尼亚大学旧金山分校 (UCSF) Marson Lab实验结果表明：

- GenExact™ ssDNA 较之实验室合成的敲入模板，具备**更低的细胞毒性、更高的敲入效率**
- GMP适用规模的GenExact™ ssDNA 在未添加增强剂的条件下，**敲入效率高达46.2%**
- 应用GenExact™ ssDNA 完成基因敲入的细胞**可达到患者使用剂量（1.5×10⁹）**，制备的BCMA-CAR细胞**表现出肿瘤杀伤活性**

ssDNA



ssCTS: ssDNA with CTS（Cas9 target sequences）
Brian R Shy. et.al., bioRxiv(2021)



High-yield genome engineering in primarycells using a hybrid ssDNA repair template and small-molecule cocktails (2022)

GenWand™ dsDNA合成服务

双链DNA (Double-stranded DNA, dsDNA) 是CRISPR 技术中通过同源重组修复(HDR)介导基因敲入模板 (Homology directed repair, HDR) 进行基因敲入的常用模板之一，编辑效率高。

金斯瑞GenWand™ dsDNA 采用自主研发的通用生产载体和恒温酶反应工艺，可针对不同长度和二级结构的序列，进行双端共价封闭的双链DNA的大规模制备，无动物源成分，已申请专利保护。通过双端共价封闭工艺，降低非同源末端连接的风险，提升敲入准确性和编辑效率。

金斯瑞提供交付量高达克 (g) 级别的GenWand™ dsDNA，适用于基于基因编辑技术的药物/靶点筛选、放大生产、工艺开发与临床申报。

为什么选择双端共价封闭的dsDNA 作为CRISPR 基因敲入的模板?

较之实验室自制PCR dsDNA，双端共价封闭的GenWand™ dsDNA 具有以下优势:

- ☑ 专业纯化去除杂质，细胞毒性低
- ☑ 更稳定，避免核酸外切酶消化降解
- ☑ 杜绝引入干扰质粒序列
- ☑ 降低非同源末端连接，敲入效率高
- ☑ 长基因敲入、放大生产性价比高

服务优势

长基因敲入模板
合成长度2-10 kb

放大工艺、规模量产
μg 至g 交付量

严苛的质量管理
严控杂质、内毒素

定制化质控与检测
研发、临床前研究、临床申报

服务详情

服务分类	交付量*	周期	交付形式
GenWand™ dsDNA （科研级/临床前研究级#）	50 μg-10 mg	快至3周	冻干粉（默认） 液体溶液（定制化）

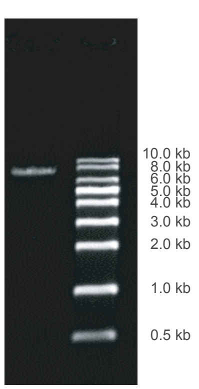
* 其他长度或交付量欢迎详询，邮件发送至**oligo@genscript.com.cn** 或拨打电话**400-025-8686**转**5812**或**5815**，专业技术支持为您服务。

临床前研究级GenWand™ dsDNA 可提供更多定制化质控和检测，适用于临床前小规模动物实验等应用。可提供定制化GenWand™ dsDNA，支持临床申报，欢迎详询。

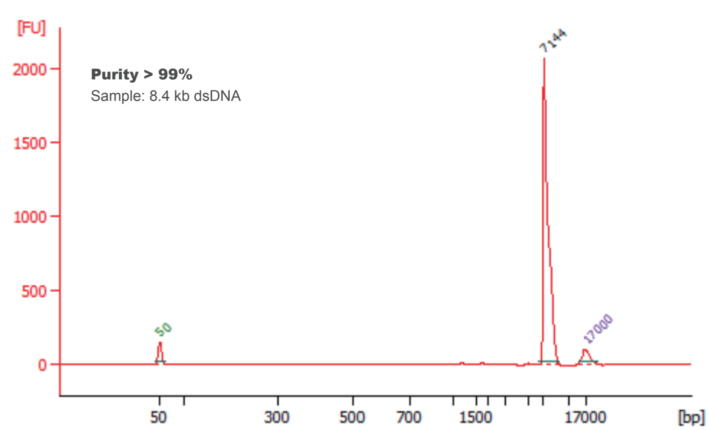
案例展示

纯度高，避免非预期干扰

下图案例中结果显示，GenWand™ dsDNA 产品质检可见单一电泳条带，纯度可达到>99% 的水平。

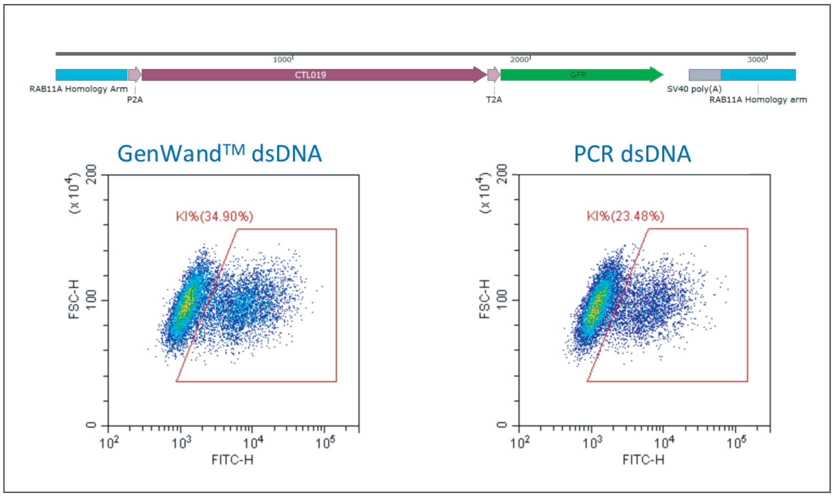


Lane 1: 8.4 kb dsDNA
Lane M: 10000dsDNA marker



基因敲入效率高

采用Neon® 电转体系，加入2 μg dsDNA 模板，检测在HEK293T 细胞的RAB11A 位点插入2.5 kb 序列*的敲入效率，**GenWand™ dsDNA 基因敲入效率高于实验室制备的PCR dsDNA (34.90% vs 23.48%)**。



* 插入序列长度是2.5 kb（不包括同源臂）

金斯瑞GenWand™ dsDNA基因敲入

GenCircle™ dsDNA合成服务

- 无抗性标记与细菌源序列的载体，骨架仅429 bp
- 更安全高效的基因敲入模板、转座子载体、病毒包装质粒、非病毒载体

金斯瑞GenCircle™ dsDNA是一种无抗性标记的微型环状双链DNA载体，可用于搭载目的基因。GenCircle™ dsDNA去除了抗性基因和细菌源序列，载体骨架仅429 bp，因此具有细胞毒性与免疫原性更低、转染效率更高的优势，同时可以规避抗性基因残留带入体内导致耐药的风险，从而提升基因与细胞治疗、疫苗等研究的安全性与效率。

应用领域

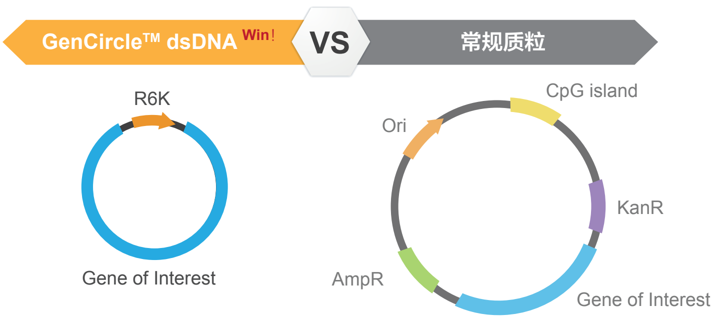
细胞治疗
CRISPR基因敲入模板
转座子/转座酶载体

基因治疗
AAV/慢病毒包装质粒、
非病毒载体、mRNA制备模板

疫苗研究与开发
抗原表达载体
mRNA制备模板

细胞系/模式动物构建
基因功能研究
CRISPR基因敲入模板
转座子/转座酶载体

服务优势



- **更安全！不含抗性标记基因**
  不引入抗生素抗性基因和抗生素，不在非生产菌株中复制
- **更简单！免疫原性/毒性更低**
  去除CpG岛和细菌源序列，干扰因素更小
- **更小巧！载体骨架仅429 bp，保真性好**
  冗余序列更少、细胞毒性低、转染效率高
- **更高效！提升敲入效率、病毒滴度、转录/表达水平**
  敲入效率提升高达30%、病毒滴度提升高达3倍
  转录水平提升高达4倍，蛋白表达水平提升高达39%

服务信息

服务名称	级别	目的基因长度*	交付量*	交付形式	周期#	应用领域
GenCircle™ dsDNA	HighPure级别	1-20 kb（8kb及以上需要定制化评估）	100 μg-g	冻干粉 / 液体（缓冲液可选）	11个自然日起	• 转座子载体 • 病毒包装质粒 • 基因转录&表达模板等
	UltraPure级别					• CRISPR基因敲入模板

1. GenCircle™ dsDNA骨架不含功能元件，功能元件（如HA、ITR等）需添加在插入片段，客户可以选择：
   a. 在金斯瑞合成基因后构建GenCircle™ dsDNA；
   b. 客户自己提供已经合成好的含目的基因的质粒，直接构建GenCircle™ dsDNA。
2. 临床前级GenCircle™ dsDNA可提供残留E.coli DNA，残留HCP等更多质控。
   * 其他目的基因长度和交付量欢迎详询，目的基因长度大于8 kb需评估，邮件发送至oligo@genscript.com.cn或拨打电话400-025-8686转5812或5815，专业技术支持为您服务。
   # 此周期不含基因合成周期。

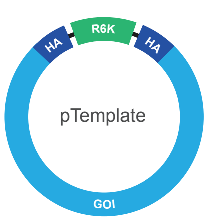
应用案例

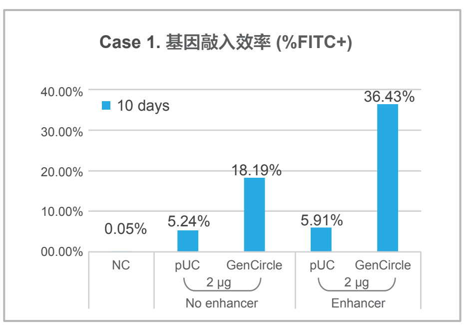
应用1. GenCircle™ dsDNA用于基因敲入模板

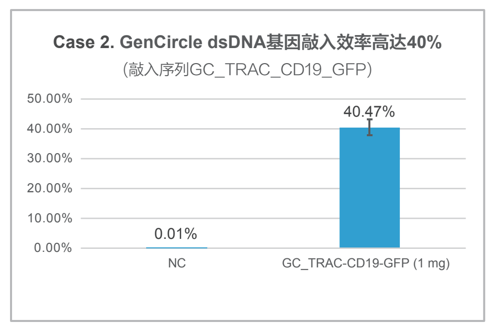
结果：较之常规质粒，基因敲入效率提升高达**30%**，转座效率提升**15%**

CRISPR 基因敲入：通过电转，在T细胞TRAC位点插入2.5 kb的序列 (CD19 CAR+GFP)

GenCircle™ dsDNA作为
基因敲入模板的结构

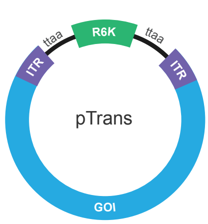


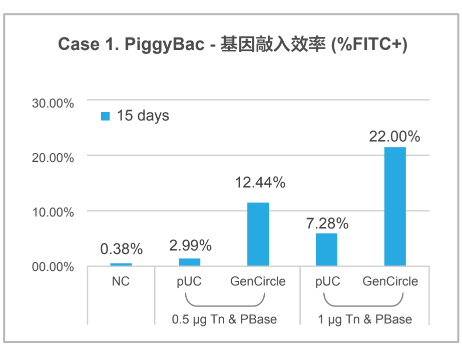


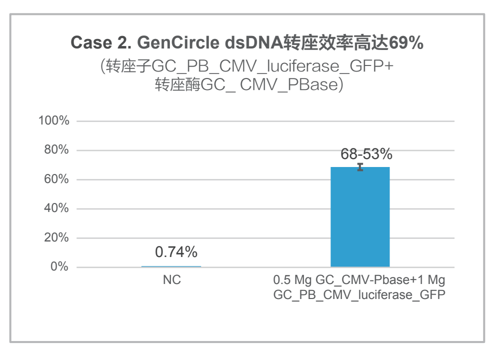


转座子基因敲入：通过电转，在293T细胞插入4.8 kb含GFP的序列

GenCircle™ dsDNA 作为
转座子载体的结构



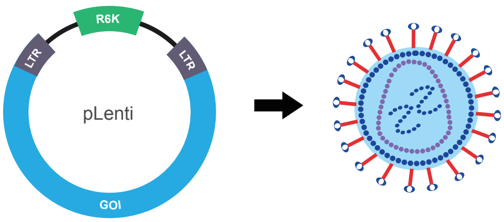




应用2. GenCircle™ dsDNA用于病毒包装

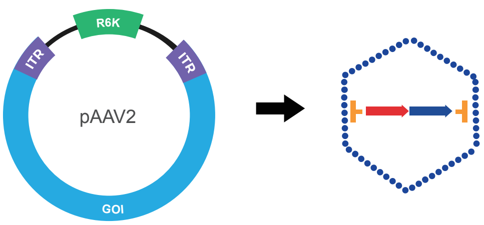
结果： 较之常规质粒，病毒滴度提升到高达 **3倍** 、ITR序列更稳定、规避抗性基因

GenCircle™ dsDNA 作为慢病毒包装质粒的结构



组别	病毒滴度 (IFU/mL)	抗性基因
pRRL-PGK-EGFP（常规质粒）	1.23E+8	检出 (Ct value<30)
pRRL-PGK-EGFP MF (GenCircle™ dsDNA)	3.81E+8	**未检出** (Ct≥35)

GenCircle™ dsDNA 作为AAV病毒包装质粒的结构

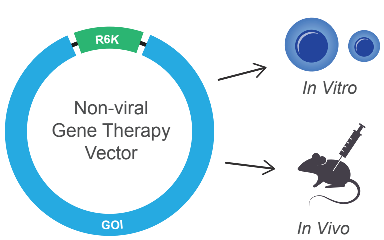


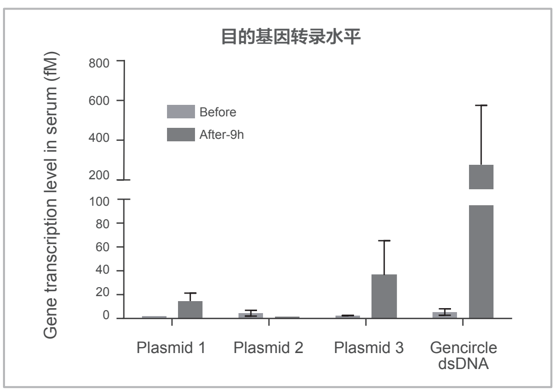
组别	病毒滴度 (copies/mL)	抗性基因
CMV EGFP AAV2（常规质粒）	1.12E+12	2%
CMV EGFP MF (GenCircle™ dsDNA)	1.22E+12	**未检出**

应用3. GenCircle™ dsDNA用于目的基因转录

结果： 较之常规质粒，转录水平提升高达**4倍**，减少免疫反应

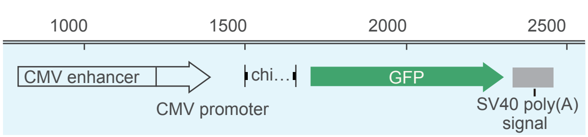
GenCircle™ dsDNA作为基因治疗载体的结构

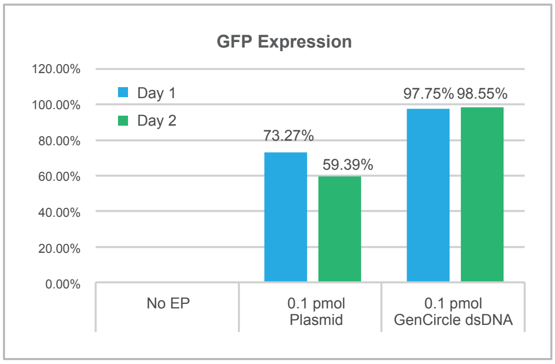




应用4. GenCircle™ dsDNA用于目的基因表达

结果： 较之常规质粒，蛋白表达水平提升高达**39%**，减少免疫反应

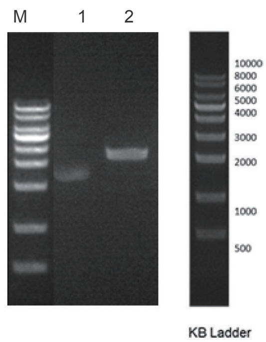




交付经验

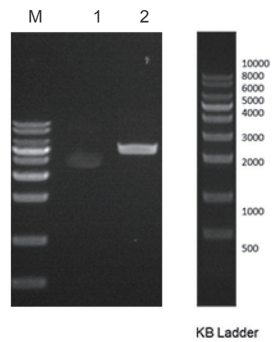
GenCircle™ dsDNA服务成功交付全球多个订单，涵盖不同长度的目的基因，包括多个难度项目

3.8 kb
(AAV transfer plasmid with ITRs, ITR stable)



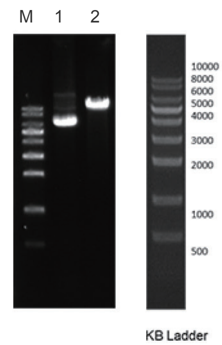
Lane M : KB Ladder Marker
Lane 1 : U33XXXXX90-1 plasmid
Lane 2 : U33XXXXX90-1 plasmid digested by EcoRV

5.1 kb



Lane M : KB Ladder Marker
Lane 1 : U72XXXXX90-1 plasmid
Lane 2 : U72XXXXX90-1 plasmid digested by Ahdl

14 kb



Lane M : KB Ladder Marker
Lane 1 : plasmid
Lane 2 : plasmid digested by Xbal

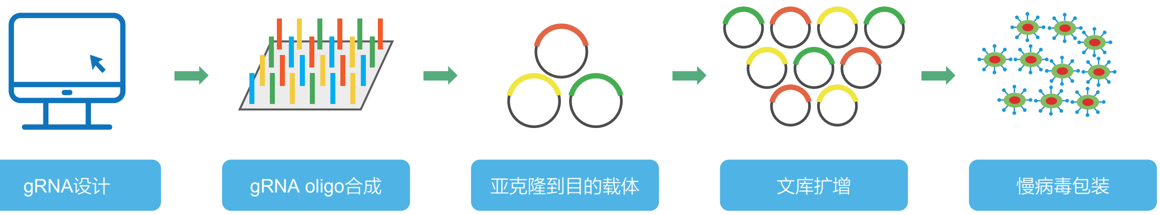
QC项目与标准

QC项目	标准	高纯级	超纯级
Sanger 测序	100%序列正确	✓	✓
限制性酶切分析	酶切后凝胶电泳分析与预期大小一致	✓	✓
分光光度计	交付量保证	✓	✓
Nanodrop UV值测定	A260/280 = 1.8-2.0	✓	✓
电泳检测无可见RNA/基因组DNA残留	无可见条带	✓	✓
Tanon凝胶定量	超螺旋程度高级别质粒≥ 90%	✓	✓
TAL内毒素定半量	< 0.01 EU/μg	✓	
	≤ 0.005 EU/μg		✓
微生物长度	72小时无生长	✓	✓
pH检测	8.0±0.5 (TE缓冲液)		✓
残留*E. coli* DNA（定量PCR）	≤ 5%		✓
全蛋白残留 (NanoOrange)	≤ 1%		✓

CRISPR gRNA文库

CRISPR gRNA文库是用来高通量筛选靶基因的重要工具，利用CRISPR基因编辑技术的高效性和特异性来敲除基因组中的表达基因或调控基因表达。金斯瑞CRISPR gRNA文库构建服务利用引物池合成技术，有效降低成本、节省基因靶点筛选时间。

文库构建流程



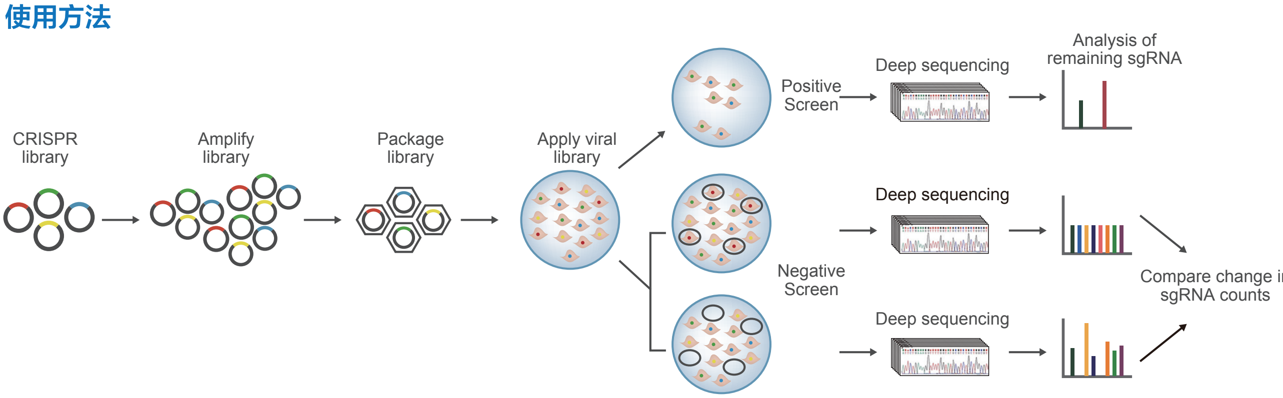
服务特色

- 覆盖率高，NGS测序显示可以达到全覆盖
- 均一度高 (90%/10%)，高于行业水平
- 可提供转染级别质粒，内毒素可低至0.005 EU/μg

服务详情

服务类型		内容	gRNA数量
全基因组范围基因敲除gRNA文库（GeCKO gRNA文库）		人源和小鼠全基因组基因敲除	3条或6条gRNA/基因
CRISPR 转录激活gRNA文库（SAM gRNA文库）		人源和小鼠全基因组中的转录激活	3条gRNA/基因
Pathway-focused gRNA文库		通路或疾病相关基因敲除	依据不同Pathway
定制gRNA文库	Array	gRNA质粒单独合成和克隆	几十-几百
	Pool	不同gRNA质粒混合在一起	可达十万

使用方法



CRISPR gRNA文库使用方法

金斯瑞提供引进于Broad研究所张锋实验室的CRISPR gRNA文库 (GeCKO v2.0)，获专利授权，可以在人或小鼠的基因组内敲除任何基因及miRNA，被广泛应用于原代的人或小鼠细胞、干细胞、癌细胞及各种稳定细胞系。

GeCKO v2.0文库针对每个基因设计了6条不同gRNA序列，分成文库A和文库B，每个文库包含针对每个基因的3条不同gRNA序列，以及1,000条非靶向的对照gRNA。文库A还包含针对miRNA的gRNA(每个miRNA有4条靶向性gRNA)。同时，GeCKO v2.0文库，升级了用于转导的慢病毒载体，可以更高效的富集病毒，提升病毒在原代细胞的转染效率。

为确保针对每个基因的完整敲除，可以同时购买文库A和文库B混合使用。如果细胞样品和后续高通量筛选能力有限，建议可以仅使用文库A进行筛选。

文库详情

文库类型	序列信息	载体	规格
Human Library A	**65,383条序列:** • 靶向19,050个基因，每1个基因有3条靶向性gRNA • 靶向1,864个miRNA，每1个miRNA有4条靶向性gRNA • 1,000条对照（非靶向性）gRNA	pLentiCRISPR v2	25/100/200 μg
		pLentiGuide-Puro pLentiCas9-Blast	
Human Library B	**58,028条序列:** • 靶向19,050个基因，每1个基因有3条靶向性gRNA • 1,000条对照（非靶向性）gRNA	pLentiCRISPR v2	
		pLentiGuide-Puro pLentiCas9-Blast	
Mouse Library A	**67,405条序列:** • 靶向20,611个基因，每1个基因有3条靶向性gRNA • 靶向1,175个miRNA，每1个miRNA有4条靶向性gRNA • 1,000条对照（非靶向性）gRNA	pLentiCRISPR v2	
		pLentiGuide-Puro pLentiCas9-Blast	
Mouse Library B	**62,804条序列:** • 靶向20,611个基因，每1个基因有3条靶向性gRNA • 1,000条对照（非靶向性）gRNA	pLentiCRISPR v2	
		pLentiGuide-Puro pLentiCas9-Blast	

交付标准

- 文库（转染级）以25 μg为一个单位量，100 μg及200 μg文库分别是以4 × 25 μg或者8 × 25 μg形式交付（或以其他定制形式交付）。
- 提供项目报告及NGS验证的统计摘要及COA 文件，如您需要，还可提供完整可用的NGS原始数据。

使用方法

1) GeCKOv2.0文库中每一个gRNA都被克隆进优化的慢病毒载体，双载体系统通过细胞系过表达Cas9，然后用gRNA文库转染293细胞后可形成高滴度的病毒，最终gRNA序列可在目的细胞中实现高效转录；
2) 完成病毒包装的GeCKO v2.0文库应与目的细胞以较低的MOI进行感染，确保进入单个细胞的gRNA数量不超过1个；
3) 在完成转染后，开始筛选工作之前，应进行一轮NGS深度测序，评估细胞池中gRNA的表达情况；
4) 在筛选结束后再进行第二轮NGS深度测序，并对数据进行分析，确定筛选过程中丢失或富集的gRNA序列，从而推导目的基因。

CRISPR 转录激活gRNA文库（SAM sgRNA文库）

将切割活性缺失的dCas9蛋白和转录激活元件进行融合，同时配备靶向基因上游调控区域的gRNA序列，形成转录激活复合物，能精准靶向基因上游转录激活区域并有效激活基因的表达。

构建靶向全基因范围的gRNA文库，结合dCas9和转录激活蛋白协作上调全基因表达水平，SAM sgRNA文库可以被应用于高通量、快速的功能获得型筛选。

CRISPR/Cas9 SAM复合体的组成，包括三个组分：两个MS2的RNA适配体的gRNA、MS2-P65-HSF1激活辅助蛋白、dCas9-VP64融合蛋白

文库详情

文库类型	序列信息	载体	规格
Human SAM Library	**70,290条序列:** • 靶向23,430个基因 • 每1个基因有3条靶向性序列	pLenti sgRNA(MS2)_zeo pLenti dCas9-VP64_Blast pLenti MS2-P65-HSF1-Hygro	25/100/200 μg
		pLenti sgRNA(MS2)_puro pLenti dCas9-VP64_Blast pLenti MS2-P65-HSF1-Hygro	
Mouse SAM Library	**69,225条序列:** • 靶向23,439个基因 • 每1个基因有3条靶向性序列 • 491条对照(非靶向性)gRNA	pLenti sgRNA(MS2)_puro pLenti dCas9-VP64_Blast pLenti MS2-P65-HSF1-Hygro	

交付标准

- 文库（转染级）以25 μg为一个单位量，100 μg及200 μg文库分别是以4 × 25 μg或者8 × 25 μg形式交付（或以其他定制形式交付）。
- 提供项目报告及NGS验证的统计摘要及COA 文件，如您需要，还可提供完整可用的NGS原始数据。

使用方法

1) 完成病毒包装的SAM文库应与目的细胞以较低的MOI进行转染，确保进入单个细胞的gRNA数量不超过1个；
2) 在完成转染后，开始筛选工作之前，应进行一轮NGS深度测序，评估细胞池中gRNA的表达情况；
3) 在筛选结束后再进行第二轮NGS深度测序，并对数据进行分析，确定筛选过程中丢失或富集的gRNA序列，从而推导目的基因。

Pathway-focused gRNA文库

Pathway-focused gRNA文库是靶向筛选特定通路的理想工具。使用经由药物基因交互数据库 (Drug Gene Interaction Database) 确定的基因靶点，设计好的文库可用于通路或疾病相关基因的筛选。所有gRNA序列由Broad研究所预先设计和验证，并可定制化克隆至慢病毒载体中。

文库详情

Pathway	基因数量	gRNA数量
ABC Transporter	100	298
Adult Stem Cells	58	174
Angiogenesis	92	276
Apoptosis	68	204
cAMP & calcium Signaling Pathway	91	271
Cell Cycle	84	252
Cytochrome P450	57	171
Drug Resistance	348	1,044
GPCR	280	840
Hormone Activity	108	324
Ion Channels (Potassium)	67	201
Tumor Metastasis	60	180
Nuclear Hormone Receptors	117	351
Oncogenes	289	867
Tumor Suppressor	720	2,155
WNT Pathway	92	276

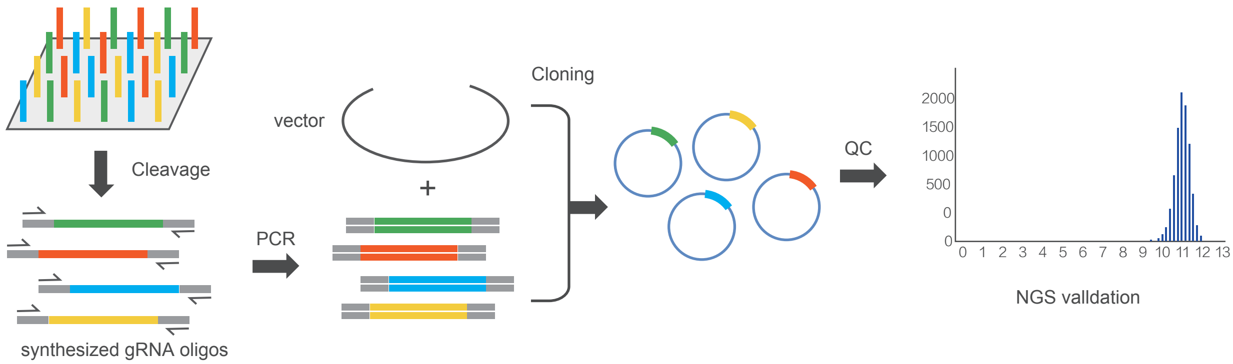
Pathway	基因数量	gRNA数量
Acute myeloid leukemia	45	135
Adipogenesis	126	378
Alzheimer's disease	94	281
B cell receptor signaling pathway	58	174
Bladder cancer	37	111
Cardiovascular Disease	91	273
Chemokine signaling pathway	134	402
Chronic myeloid leukemia	57	171
Colorectal cancer	54	162
Diabetes	44	132
Drug Metabolism	34	102
Drug transporters	84	252
ES Cell Differentiation	334	1,002
Extracellular Matrix & Adhesion	84	252
Growth Factor	161	483
Histone Modification	259	776

欢迎扫码访问CRISPR gRNA文库服务网页，获取更多信息

定制gRNA文库

金斯瑞拥有基于半导体微阵列技术的高通量寡核苷酸合成平台，精准合成单链寡核苷酸，通过PCR扩增后，再将双链gRNA克隆到所选载体来创建筛选文库，搭配高效慢病毒质粒，达到更高的病毒滴度。

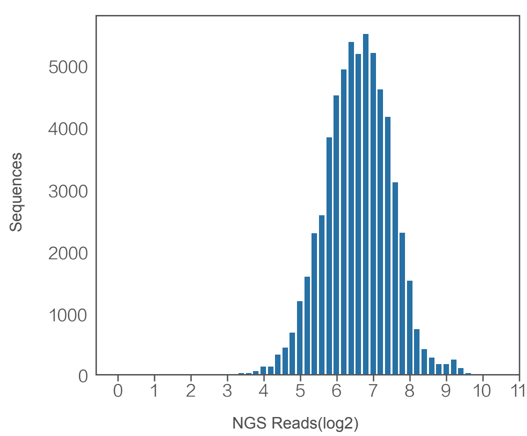
金斯瑞可为CRISPR基因敲除、CRISPRa和CRISPRi提供完全定制化的gRNA文库，提供的定制化gRNA文库具有完整的覆盖范围和均匀的分布。



服务特色

- NGS验证覆盖率> 99%
- 克隆载体多样：张锋实验室授权使用的双载体或all-in-one CRISPR载体或其他指定的载体
- 交付质粒可直接用于病毒包装，交付量灵活（从微克到毫克级别）
- 无序列限制，交货期短至4周

案例展示：NGS验证gRNA文库覆盖率和分布均一性



10%有效读长	44
90%有效读长	206
均一度 (90%/10%)	4.68
平均测序深度	117
最大深度测序	1,068
理论gRNA多样性	62,804
实测gRNA多样性	62,804

对一个理论多样性为62,804的gRNA文库进行NGS检测，结果表明该gRNA文库完全包含覆盖所有设计的gRNA序列。此外，均一度（90%/10%比率）结果小于5，表明文库中所需gRNA分布均匀，确保筛选效率。

GenCRISPR™ gRNA/Cas9质粒构建

金斯瑞提供的CRISPR试剂来源于张锋实验室，所提供的CRISPR产品和服务得到美国 Broad 研究所授权许可。包括：

- 已经被MIT设计并验证的sgRNA序列
- 包含双载体和all-in-one 多种类型的载体，并可根据需要选择筛选抗性或方式
- 经MIT验证的空载类型
- 多种Cas9 类型：包含eSpCas9，SpCas9，SpCas9 Nickase，SaCas9和SAM

服务特色

特异性sgRNA序列
sgRNA序列由MIT验证
确保基因编辑特异性和效率

全基因组数据库
Human和Mouse gRNA数据库
支持SpCas9和SAM应用

专业设计工具
12个物种可选
on-target /off-target评分

在线订购
自定义序列
载体、筛选标记可选

服务详情

定制化Cas9 质粒		表达系统	筛选标记
eSpCas9质粒		Plasmid Lentiviral	Amp, Puro Amp, GFP
SpCas9质粒		Plasmid Lentiviral AAV	Amp Amp, Puro Amp, Neo Amp, GFP
SpCas9 Nickase质粒		Plasmid Lentiviral	Amp Amp, Puro Amp, GFP
SaCas9质粒		AAV	Amp
SAM质粒 （转录激活质粒）	SAM gRNA 质粒	Plasmid Lentiviral	Amp Amp, Zeo
	SAM dCas9-VP64 质粒	Lentiviral	Amp, Blast Amp, GFP
	SAM MS2-P65-HSF1 质粒	Lentiviral	Amp, GFP Amp, Hygro

为满足您的科研需要，金斯瑞提供空载服务，载体序列已经由MIT验证。这些载体包含一个17 bp-1.8 kb的可表达连接体，以代替定制的sgRNA序列，您可根据需要对其进行载体改造。

服务项目	表达系统	筛选标记
eSpCas9 and SpCas9 Broad Plasmid Collection	Plasmid Lentiviral	Amp, Puro Amp, GFP
SpCas9 Nickase Broad Plasmid Collection	Plasmid	Amp Amp, Puro Amp, GFP
SaCas9 Broad Plasmid Collection	AAV	Amp

CRISPR/Cas9相关载体规格

类别	载体	表达类型	交付类型	载体类型	筛选标记
eSpCas9 Plasmids	eSpCas9-2A- GFP (PX458)	eSpCas9 & gRNA	Plasmid	All-in-one Vector	AmpR EGFP
eSpCas9 Plasmids	eSpCas9-2A- Puro (PX459) V2.0	eSpCas9 & gRNA	Plasmid	All-in-one Vector	AmpR PuroR

类别	载体	表达类型	交付类型	载体类型	筛选标记
SpCas9 Plasmids	pLentiCRISPR v2	SpCas9 & gRNA	Lentiviral	All-in-one Vector	AmpR PuroR
SpCas9 Plasmids SpCas9 Nickase Plasmids	pLentiGuide-Puro	gRNA Only	Lentiviral	Dual Vector	AmpR PuroR
SpCas9 Plasmids	pLentiCas9-Blast	SpCas9 Only	Lentiviral	Dual Vector	AmpR BsdR BleoR
SpCas9 Plasmids	pLentiCas9-EGFP	SpCas9 Only	Lentiviral	Dual Vector	AmpR EGFP
SpCas9 Plasmids	pGS-gRNA	gRNA Only	Plasmid	Dual Vector	AmpR
SpCas9 Plasmids	pGS-gRNA-Neo	gRNA Only	Plasmid	Dual Vector	AmpR NeoR
SpCas9 Plasmids	pSpCas9 PX165	SpCas9 Only	Plasmid	Dual Vector	AmpR
SpCas9 Plasmids	pAAV_SpGuide acceptor (PX552)	gRNA Only	AAV	Dual Vector	AmpR EGFP
SpCas9 Plasmids	pAAV-SpCas9 PX551	SpCas9 Only	AAV	Dual Vector	AmpR
SpCas9 Nickase Plasmids	pSpCas9n BB PX460	SpCas9 Nickase & gRNA	Plasmid	All-in-one Vector	AmpR
SpCas9 Nickase Plasmids	pSpCas9n BB-2A-GFP PX461	SpCas9 Nickase & gRNA	Plasmid	All-in-one Vector	AmpR EGFP
SpCas9 Nickase Plasmids	pSpCas9n BB-2A-Puro (PX462) V2.0	SpCas9 Nickase & gRNA	Plasmid	All-in-one Vector	AmpR PuroR
SpCas9 Nickase Plasmids	pLentiCas9n-Blast	SpCas9 Nickase Only	Lentiviral	Dual Vector	AmpR BsdR BleoR
SaCas9 Plasmids	pX601_AAV	SaCas9 & gRNA	AAV	All-in-one Vector	AmpR
Transcription Activation (SAM)	pSgRNA(MS2)	gRNA Only	Plasmid	SAM Multi Vector	AmpR
Transcription Activation (SAM)	pLenti_sgRNA(MS2)_zeo	gRNA Only	Lentiviral	SAM Multi Vector	AmpR ZeoR BeloR
Transcription Activation (SAM)	pLenti_dCas9-VP64_Blast	Cas9 Activator	Lentiviral	SAM Multi Vector	AmpR BlastR BleoR

CRISPR gRNA数据库

金斯瑞提供超20,000种含有gRNA序列的plentiCRISPR v2质粒，所有sgRNA序列已经被MIT验证。在数据库中，您可通过搜索Gene Name、Gene Symbol或Gene ID来查找相关gRNA。您可以通过以下网址或扫描二维码访问数据库。

https://www.genscript.com/gRNA-database.html

CRISPR/Cas基因编辑酶表达服务

Cas核糖核蛋白复合体 (RNP) 介导的CRISPR基因编辑正在成为基因和细胞治疗的新标准。金斯瑞已经为众多基因编辑公司开发和表达了数百种基因编辑酶包括Cas9、Cas12a、Cas13a、MAD7以及碱基编辑器 (base editor) 如ABE、CBE和先导编辑器 (prime editor) 。此外，我们也从Broad Institute的张锋团队取得了一系列高质量的Cas9蛋白的授权，提供经过验证的GMP和RUO级别的包括**碱基编辑器和先导编辑器的目录产品**。

服务优势

行业领先速度
快至3周

专有活性检测平台
自主设计及生产sgRNA和底物DNA

保证交付
纯度和产量保证

商业化生产
GMP项目经验

服务内容

目录产品

- Broad Institute授权低脱靶率Cas变体
- **碱基编辑器和先导编辑器**
- 隔日交付

保证型定制化服务

- 快至3周
- 保证纯度和产量
- 适用于所有Cas变体
- 最低交付量500 μg起

GMP生产

- 6-9个月内快速交付GMP生产
- 批次间高度一致性
- 工艺开发

附加服务

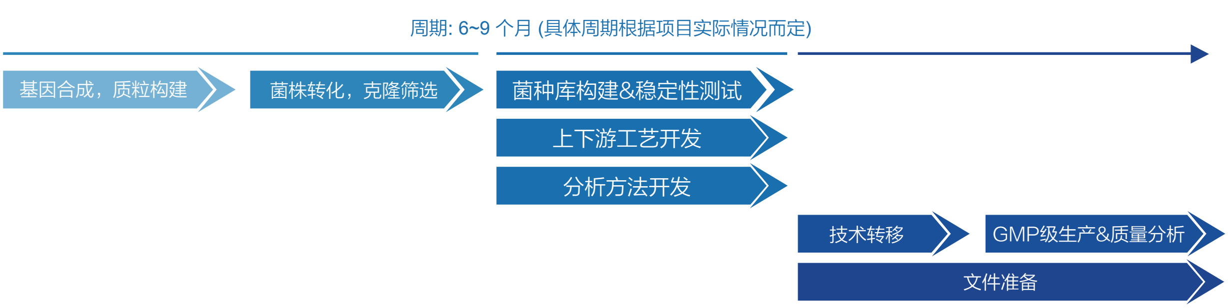
- 活性检测平台
- AI演算法改进酶活性

保证型定制化服务

蛋白类型	质量区间	生产周期	默认QC	产物交付
Cas9, Cas12a, Cas13a, MAD7等CRISPR/Cas基因编辑酶及其变体	200 μg-20 mg	3-6周	• 高纯度≥90% by SDS-PAGE，≥90% by SEC-HPLC； • 控制内毒素水平<10 EU/mg • 可选的浓度1-10 mg/mL • 核酸酶移除	• 带有His-tag标签的蛋白 • COA 报告
碱基编辑器，先导编辑器及其变体	200 μg-5 mg			

定制化GMP级酶表达服务

金斯瑞定制化GMP级酶表达提供一站式综合服务，从基因到蛋白，仅需6-9个月即可交付GMP级基因编辑酶。高度定制化的生产工艺可根据您的需求优化参数，并为您提供全面的注册申报文件。



专有活性检测平台

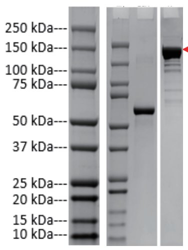
具备内部设计和生产sgRNA和dsDNA底物能力，一站式解决您的需要。

案例分享

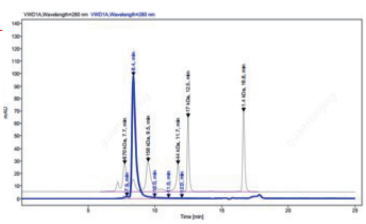
◆ 案例1：凭借专有活性检测平台，金斯瑞基因编辑酶表达服务可直接向客户交付具有切割活性的Cas12a变体。

QC report

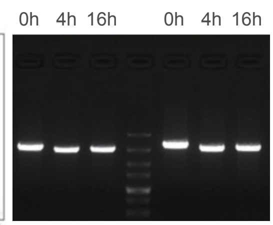
Concentration by Bradford	Endotoxin	Purity by SDS-PAGE	Purity by SEC-HPLC	DNase detection	Amount
4.93 mg/mL	0.648 EU/mg	90%	94%	No detected	~5 mg



SDS-PAGE



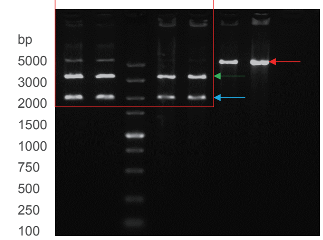
SEC-HPLC



DNase removal result

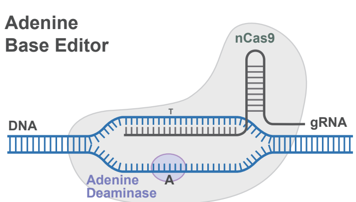
***In vitro* cleavage test**

dsDNA	+	+		+	+	+	+
Commercial Cas12a (wt)	+	+		-	-	-	-
Cas12a mutant	-	-		+	+	+	+
crRNA	+	+		+	+	-	-

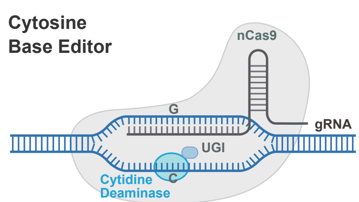


Red arrow: Full-length dsDNA substrate
Green arrow: Fragment-1 dsDNA
Blue arrow: Fragment-2 dsDNA

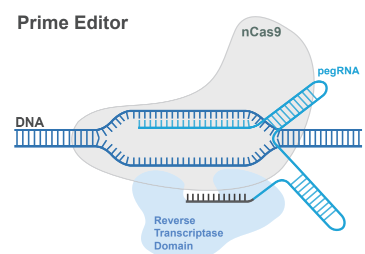
◆ 案例2：金斯瑞具有表达碱基编辑器和先导编辑器的丰富经验，成功交付了多种高纯度、高产量的碱基编辑器和先导编辑器。



Adenine base editor (ABE)

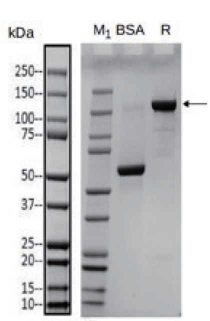


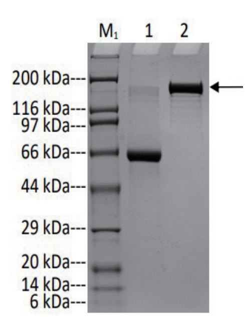
Cytosine base editor (CBE)

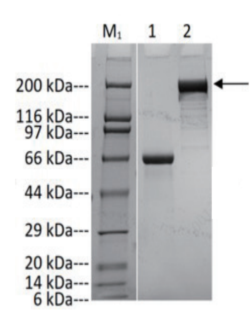


Prime editor (PE)

Type	ABE (TadA_nCas9)	CBE (APOBEC_nCas9)	PE (Cas9_RT)
Purification procedure	Ni columna TEV protease cleavage Ni column Superdex 200 column	Ni column Q sepharose column Superdex 200 column	Ni column Superdex 200 Ni column
Purity	>90%, by SDS-PAGE under reducing conditions	>90%, by SDS-PAGE under reducing conditions.	>90%, by SDS-PAGE under reducing conditions.
Yield	1.6 mg/L	22.03 mg/L	12.3 mg/L







gRNA/Cas9慢病毒包装

慢病毒 (Lentivirus) 是逆转录病毒的一种，已经成为受欢迎的基因转导工具。慢病毒能够将靶基因导入到一些较难转染的细胞， 如原代细胞、干细胞等，从而大大提高目的基因的转染效率。在稳转细胞系的构建中，慢病毒也有广泛的使用。

服务类型

- 定制化慢病毒包装服务
- 高通量慢病毒包装服务

定制化慢病毒包装服务

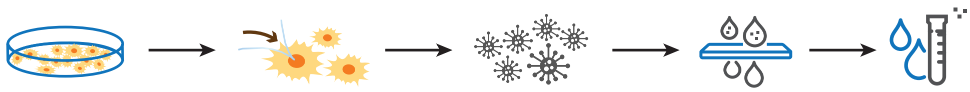
服务优势

具有竞争力的价格
获得相同量的病毒
经费节省20%

快速的交付周期
高于业界平均的交付周期
快至2周

严格的质量控制
高于业界的检测标准
p24 ELISA检测 (TU/mL)

服务流程



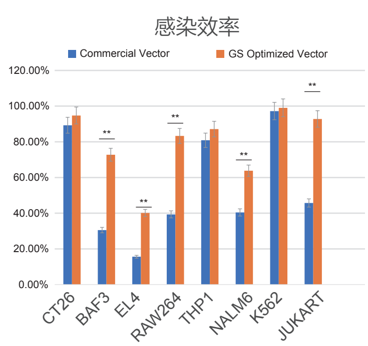
细胞培养 → 转染 → 病毒收集 → 纯化 → 滴度检测

服务内容

定制化慢病毒包装							
	0.1 mL	0.2 mL	0.5 mL	1 mL	2 mL	5 mL	10 mL
>10^7 TU/mL				√	√	√	√
>10^8 TU/mL		√	√	√	√	√	√
>10^9 TU/mL	√	√	√	√	√		
QC标准	p24 ELISA检测Lonza 180检测						
周期	2-4周						

案例分享

载体优化



金斯瑞优化后的载体转染效率更高

细胞系	名称	MOI
CT26	Mouse colony	100
BAF3	Mouse B cell	
EL4	Mouse T lymphoma	
RAW 264.7	Monocyte/macrophage-like cells	
Jurkat	Human acute T cell leukemia	
K562	myelogenous leukemia cell line	
NALM6	B cell precursor leukemia cell	
THP-1	Acute monocytic leukemia	

MOI: Multiplicity of infection

高通量慢病毒包装服务

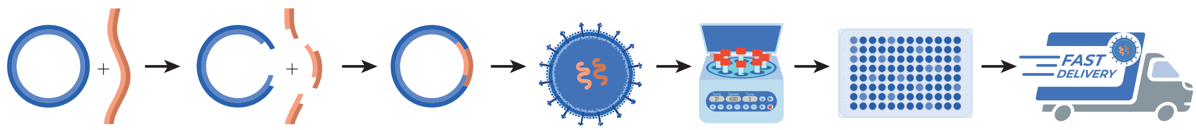
服务优势

100%样品p24滴度检测

快至3周交付慢病毒包装

高通量包装: >600个病毒/月

服务流程



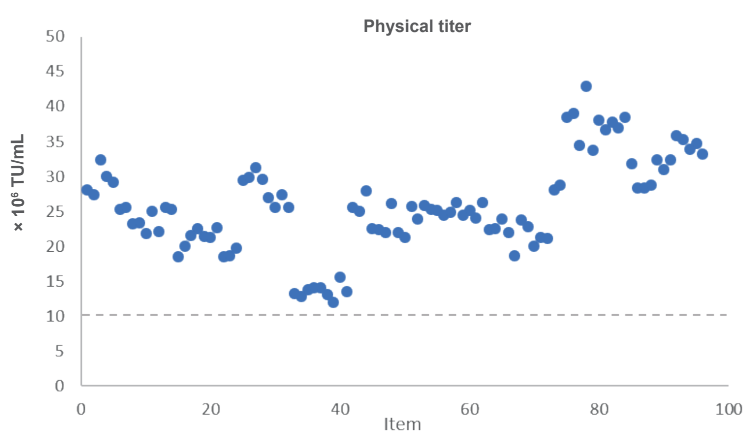
服务内容

GOI长度	病毒滴度	体积	周期 *
sgRNA	> 10^6 TU/mL **	• p24 ELISA (默认) • 支原体检测 (默认) • 转导测试 (可选) • FACS检测 (可选)	100 ~ 200个病毒: 3 ~ 4周 200 ~ 400个病毒: 4 ~ 5周
GOI: < 1,500 bp			
GOI: 1,501-3,000 bp			
GOI: 3,000 - 5,000 bp			100 ~ 200个病毒: 5 ~ 6周 200 ~ 400个病毒: 6 ~ 7周

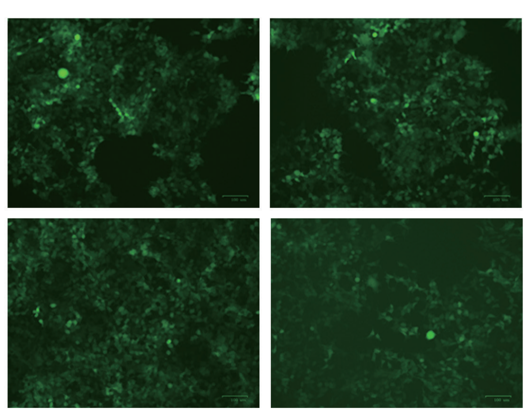
*交付周期包括基因合成、质粒制备和慢病毒包装，在使用金斯瑞骨架的情况下，交付周期予以保证

**对于gRNA和GOI < 3 kb, 我们保证90%的样品滴度> 10^6 TU/mL

案例分享



Transduction Test



03

基因编辑模型构建服务

GenCRISPR™基因编辑细胞系

利用CRISPR/Cas9技术对细胞中的基因进行敲除(Knock-out)、对目的序列进行敲入(Knock-in)，从而得到可以稳定传代的基因编辑细胞系。在基础研究领域，可用于靶基因/蛋白示踪和功能研究等方面；在细胞/基因治疗与药物开发领域，可用于免疫治疗靶点发现、药物筛选、疾病机理/信号通路研究等方面。

金斯瑞优势

金斯瑞提供多种CRISPR基因编辑细胞系，依托优势的**化学合成长单链gRNA**，可采用编辑效率高、毒性低的**RNP递送体系**，同时支持慢病毒、质粒多种递送体系，为您提供指定目的基因、编辑区域和细胞的基因编辑细胞系服务。

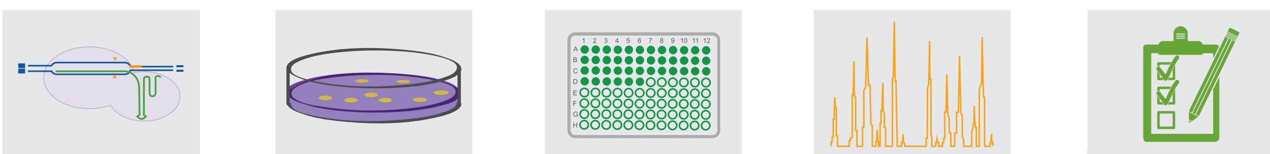
高质量的交付
细胞系/池经测序验证
多种验证、优化、脱靶分析服务

合规的资质
P2实验室：符合新生物安全法
Broad/ERS授权：合规提供CRISPR服务

丰富的经验
全球1,000+细胞系交付经验
卓越的难度项目处理能力

专业的技术服务
项目沟通与推进更高效
Ph.D.项目经理及时答疑

基因编辑细胞系构建流程



1 宿主细胞准备 sgRNA合成 — 3-4 weeks
- 宿主细胞检测
- 启动子验证
- 针对每个基因设计3个sgRNA

2 细胞转染 形成多克隆 — 1-3 weeks
- 转染/病毒/RNP递送：多种方案优化转染效率
- 细胞池检测：测序确认敲除或敲入成功

3 挑单克隆 培养 — 1-4 weeks
- FACS/抗性筛选富集阳性克隆
- 挑单克隆

4 筛选与验证 — 2-3 weeks
- 100+单克隆测序验证，确定目的序列成功敲除或敲入

5 细胞系冻存 与QC — 2-6 weeks
- 细胞冻存
- 细胞活力检测
- 支原体检测
- 测序确认细胞系中等位基因敲除或目的序列敲入

服务详情

服务类型	服务详情	细胞系选项*	交付内容**	交付周期
GenCRISPR™ EZ knock-out服务	• 单基因knock-out稳定细胞池/株 • 多基因knock-out稳定细胞池/株	90+种常见适合转染的细胞株（包括A549, CHO-K1, HT-29, MDA-MB-231, 4T1, A20, HCT116, MCF7, MDCK, U937, RPMI 8866等）	• 2个经测序验证的全等位基因敲除细胞株/1个经测序验证的基因敲除细胞池 • 1个阴性敲除细胞池对照	3-6周（细胞池） 9-15周（细胞株）
GenCRISPR™ 定制化Knock-out服务				8-11周（细胞池） 16-24周（细胞株）
GenCRISPR™ 定制化Knock-in服务	• 点突变 • 无缝点突变 • 内源性基因座/基因标记/报告基因 • 用于遗传变异研究的细 • 胞模型（包括SNV, SV, InDel等） • 目的基因的定点整合插入	任何细胞系	• 1~2个经测序验证的基因敲入细胞株 • 1个未修饰阴性对照细胞池	12-25周（细胞株）
GenCRISPR™ 全长基因敲除服务	敲除整个基因片段	任何癌细胞系	• 1个经测序验证的全等位基因删除细胞株/1个经测序验证的基因删除细胞池 • 1个阴性敲除细胞池对照	13-23周（细胞株） 6-10周（细胞池）

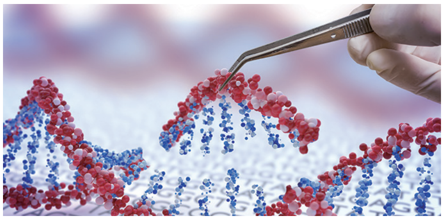
*一般由客户提供细胞系，如果金斯瑞提供细胞系，则需额外收费。且金斯瑞不提供原代细胞、干细胞或IPS细胞的基因编辑服务。
** 根据要求在mRNA或蛋白水平验证全等位基因修饰细胞株。两周一次的项目更新。

其他定制化服务

附加服务	详情
逆转录PCR (RT-PCR)	通过RT-PCR进行测序，在mRNA水平验证敲除克隆在CDS上插入缺失标记
Western blot	通过WB验证敲除克隆，需提供与宿主细胞中靶蛋白特异性结合的有效抗体
FACS分析	通过FACS验证敲除克隆，需提供与宿主细胞中靶蛋白特异性结合的有效抗体
启动子活性分析	宿主细胞中启动子 (Cbh/CMV/EFS) 的活性分析，优化gRNA-Cas9的切割效率
转染方法优化	难转染细胞转染方法的分析，优化gRNA-Cas9的切割效率
脱靶分析	通过对多个潜在的脱靶位点进行测序，来确定基因敲除克隆，分析基因组水平脱靶位点
附加单克隆	从细胞池中挑选出另外一个经测序验证的单克隆发给客户

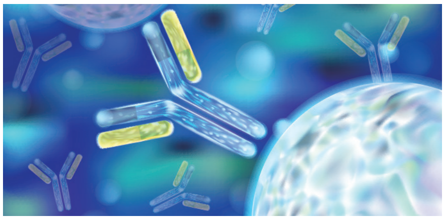
全长基因敲除细胞系应用领域

金斯瑞GenCRISPR™技术可以提供**长达200 kb的长片段多拷贝**全长基因敲除细胞系，全球成功交付20+全长基因敲除项目，尤其适合以下应用场景，为您排除潜在的干扰因素。



未知的基因组或DNA序列

非编码RNA、已知基因的新亚型/功能

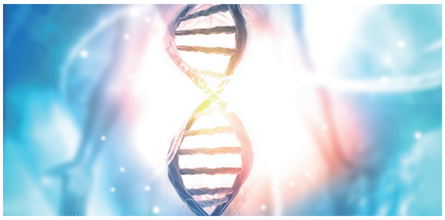


难以获得高度特异性的抗体

基因常规敲除后仍存在非特异性结合

监管机构的特殊要求

诊断试剂盒的阴性对照细胞系

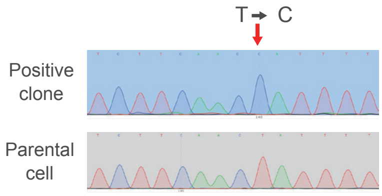


核心信号通路、重要数据研究

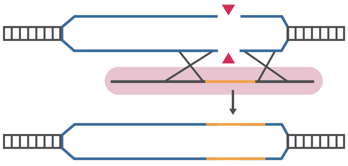
全长基因敲除排除可能干扰因素

基因敲入细胞系应用领域

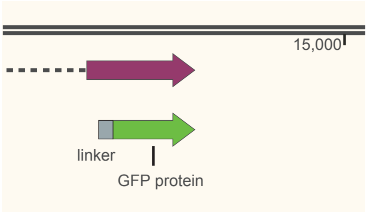
金斯瑞GenCRISPR™技术，编辑效率高，更高效快速的提供经测序验证的全等位基因敲入细胞系。目前，已成功交付数十个项目，包括SHSY5Y、hTERT-RPE1、KM12、HeLa、HCT116、Caco2、C2C12、U2OS、Min6、HepG2、HEK293等细胞，为以下应用提供支持。



SNP研究



精准基因过表达



示踪基因标记

案例分享

案例1：knock-out细胞系服务

实验目的

利用金斯瑞GenCRISPR™技术敲除DG44细胞中的GS等位基因，构建稳定细胞系，QC检测目的基因在DNA和功能水平的敲除效果。

实验结果

sgRNA切割效率：金斯瑞设计的sgRNA切割效率均大于80% (Fig.1)

测序验证：对挑选的单克隆进行测序，证明产生移码突变 (Fig.2)

功能检测：目的基因敲除后的细胞失去对应的功能，不能在不含谷氨酰胺的培养基中生长 (Fig.3)

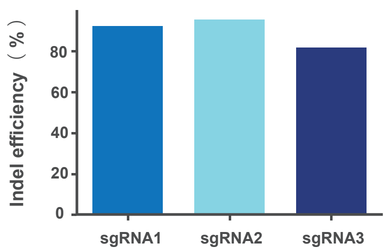


Fig.1 sgRNA敲除效率

Fig.2 敲除GS基因单克隆测序产生移码突变

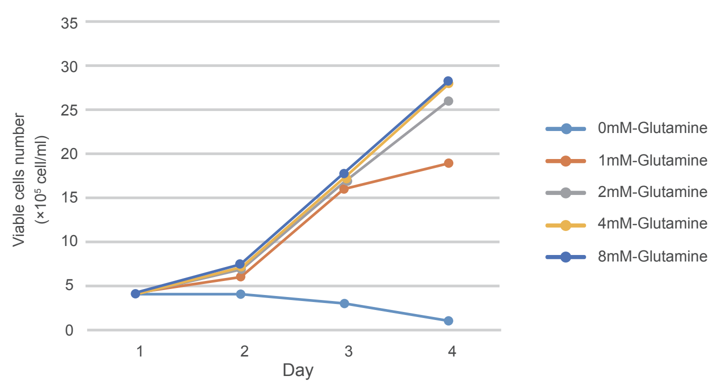
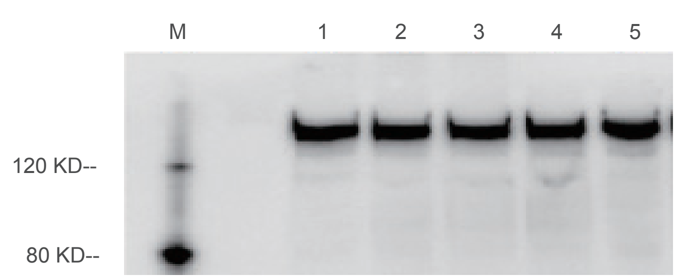


Fig.3 敲除GS基因的DG44细胞生长趋势

案例2：全长基因敲除细胞系服务

实验目的

常规敲除通过引入移码突变引起基因敲除，但某些特殊情况下目标蛋白仍有部分表达，会被某些特异性的抗体检测到。同时，市面上的绝大多数抗体未经过特异性验证，很多抗体在常规敲除的细胞中仍能检测到目标蛋白条带 (Fig.4)。采用全长基因敲除，不再担心有目标蛋白残留，缩短研究周期。



供应商A的抗体

Fig.4 供应商A的抗体检测敲除细胞系样品（1-4为常规敲除目标序列后的样品，5为野生型对照）

实验结果

实验1 PCR和测序： 对基因型A*+B*两种单克隆（泳道1）、基因型A（泳道2）、基因型B（泳道3）样品进行PCR扩增（引物设计方案如Fig.5所示），3个样品的目标基因整段全部敲除 (Fig.6A.B)，残端重新连接 (Fig.6C)。Sanger测序确定结果准确性。

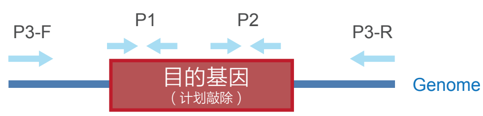


Fig.5 PCR扩增验证全长基因敲除效果的设计方案
*基因型A不含有筛选标记，B含有筛选标记，均符合交付标准

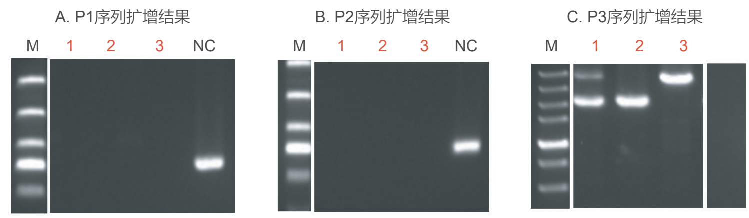


Fig.6 PCR扩增验证全长基因敲除的结果
（A-C中，泳道1：基因型A+B、泳道2：基因型A、泳道3：基因型B）

实验2 Western Blot： 红色箭头标注的目标蛋白已敲除，因为采用全长基因敲除细胞系服务，因此可以确定绿色标注箭头不是目标蛋白降解或不完全表达，而是敲除后的细胞株中表达大幅增加的另一种蛋白 (Fig.7)，排除干扰。

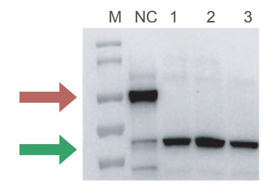
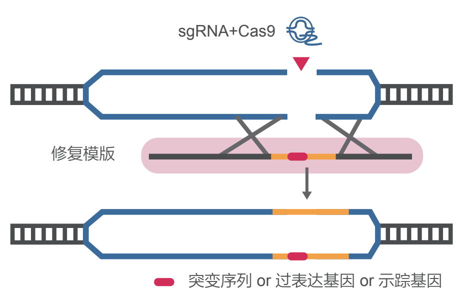


Fig.7 通过Western Blot验证全长基因敲除效果
（1-3为全长基因敲除细胞的样品）

案例3：knock-in细胞系服务

CRISPR 基因敲入技术构建细胞系应用于点突变、过表达和示踪基因的流程



实验1

目的：点突变研究

利用基因敲入技术，将含有点突变的序列敲入目标位点，构建细胞系，实现在生理状态下对点突变引起的改变与机理进行研究。

实验结果

Sanger测序： 利用基因敲入完成点突变，通过测序验证点突变成功完成 (Fig.8)。

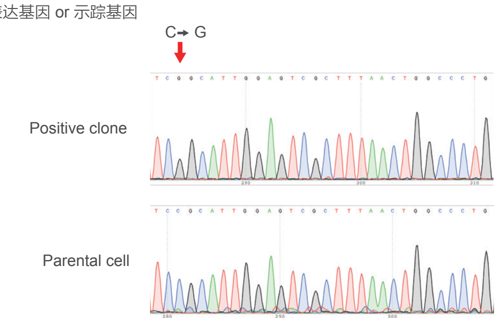


Fig.8 点突变阳性克隆的测序结果

实验2

实验目的：过表达研究

对比不同过表达方法构建的293细胞株的蛋白表达量。

实验结果

蛋白表达量： S2、S3是应用KI方法构建细胞株样品的蛋白表达量，显著高于S1应用质粒转染方法得到样品的蛋白表达量 (Fig.9)。

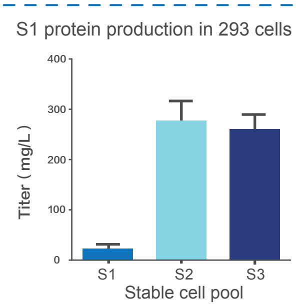


Fig.9 不同过表达方案的蛋白表达量
（S1: 质粒转染，S2, S3: KI细胞系）

▶ 实验3

▷ 实验目的：示踪基因研究

利用金斯瑞GenCRISPR™技术将目的基因 (GFP) 敲入到特定内源基因中，构建融合蛋白，对特定内源基因进行示踪。

▷ 实验结果

流式细胞检测(FACS)：检测阴性细胞对照、敲入细胞池和单克隆中蛋白表达的情况，可在阳性克隆中检测到显著的GFP表达(Fig.10)。

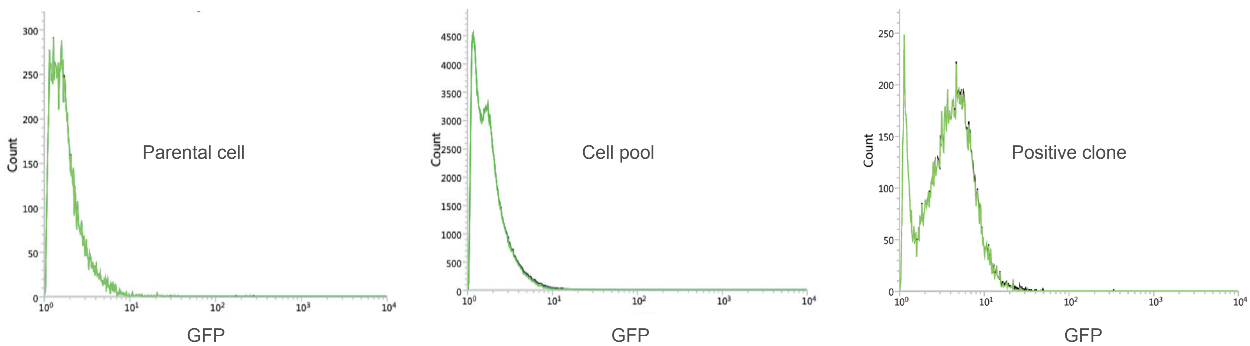
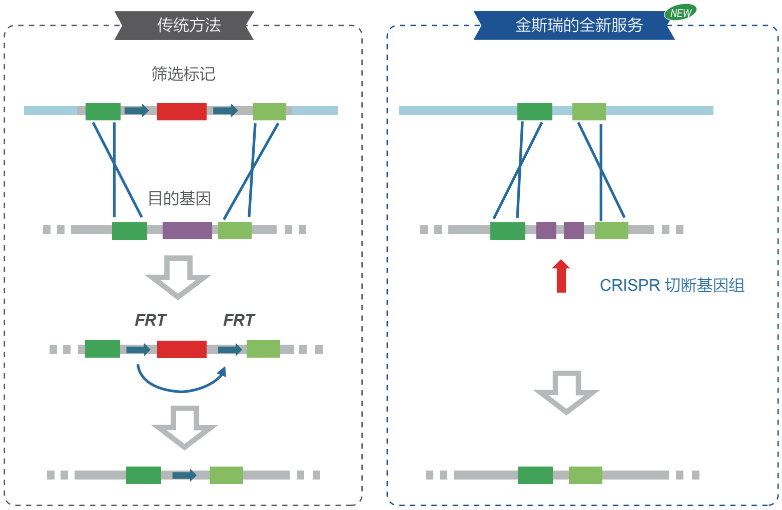


Fig.10 通过FACS检测基因敲入示踪基因GFP的表达

GenCRISPR™微生物基因组改造

金斯瑞推出微生物基因组改造服务，用于细菌（大肠杆菌）的基因敲入、敲出和替换。针对大肠杆菌，金斯瑞开发出新型的λRed-CRISPR/Cas技术，结合传统λRed重组和CRISPR/Cas9方法以实现无痕的靶基因编辑。



服务特色

- 无痕编辑
- 便于筛选：不需要选择性标记
- 精确到碱基
- 多基因编辑：能同时敲除多达3个基因

服务详情

服务项目	客户需提供	交付标准	周期
大肠杆菌基因敲除服务	• 需改造的菌株及信息 • 敲除基因的名称或敲除序列	重组菌株的甘油菌 QC 报告	4-5周起
大肠杆菌基因敲入和替换服务	• 需改造的菌株及信息 • 需敲入的基因名称或序列* • 插入位点/替换序列		

*金斯瑞可为您合成需敲入的基因序列。

感谢中科院上海生命科学研究院的杨晟教授和蒋宇博士提供了微生物基因组改造的原始质粒（参阅文献：Multigene editing in the *Escherichia coli* genome via the CRISPR-Cas9 system, Appl Environ Microbiol 2015 Apr; 81 (7): 2506-2514）。此质粒经过金斯瑞研发团队改造后，以用于满足微生物基因组编辑服务的需求。

欢迎咨询GenCRISPR™微生物基因组改造服务，发送邮件至**gene@genscript.com.cn**或拨打电话：**400-025-8686**转**5820**或**5828**，专业技术支持团队为您服务。

04

资源中心

生物信息学工具

免费！CRISPR sgRNA设计工具

https://www.genscript.com.cn/tools/gRNA-design-tool

- 10+物种，支持Cas9/Cas12a编辑体系
- 采用更新的On target和Off target评分逻辑
- 靶向基因中靠前的外显子，避免生产有功能的截短蛋白
- 设计转录本覆盖率更高，GC%含量更合理的sgRNA
- 操作简单，可直接选择综合排名Top 3的sgRNA
- 经验证，多个细胞系和位点的敲入效率可高达97%

免费！CRISPR 基因敲入设计工具

https://www.genscript.com.cn/tools/gRNA-design-tool/hdr_knock_in

- 10+物种，支持Cas9/Cas12a基因敲入模板和sgRNA的设计
- 长达1.5 kb的删除和长达20 kb的敲入实验的设计
- 单链/双链/环状敲入模板设计
- 更新的On Target和Off Target评分逻辑
- 24种标签和linker可选，提供序列正确性检验功能
- Silent mutation功能、CTS设计、优化的同源臂长度等提升敲入效率

在线订购

金斯瑞化学合成 gRNA (Cas9 sgRNA / Cas12a crRNA / pegRNA)、HDR基因敲入模板 (GenExact™ ssDNA / GenWand™ dsDNA / GenCircle™ dsDNA) 均支持在线订购，敬请登录金斯瑞官网各服务页，选择在线订购。

技术指导资料

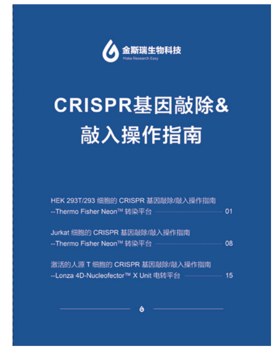
从基因编辑概论、应用到实验细节，金斯瑞为您提供全面的知识和支持，有纸质版、电子版和讲座视频等多种形式，帮助您更快捷高效的获取有价值的信息。

CRISPR技术手册

基因编辑技术的原理和实验流程
下游应用与案例解析

基因编辑服务手册

CRISPR实验试剂选择关键点
金斯瑞一站式CRISPR定制服务



CRISPR基因敲除/敲入操作指南

KO/KI细胞系/文库筛选/脱靶分析
构建原理，验证方法，应用案例

EasyEdit sgRNA

更高效、经济的CRISPR方案
应用案例、关键指标解析

CRISPR实验说明书

基因编辑实验详细操作步骤
sgRNA服务发送电子版文件

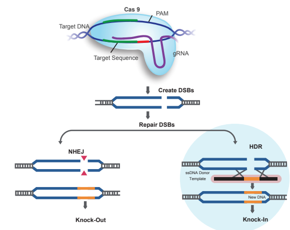
CRISPR网络研讨会

经典文献与实时热点解析
精炼简洁的解读基因编辑知识

欢迎登陆金斯瑞官网-基因编辑资源中心获取以上资料：
（https://www.genscript.com.cn/gene-editing-resource-center.html）
或扫描上方二维码访问

常见问题

CRISPR实验递送体系的选择



Q1：CRISPR/Cas9 如何修饰真核基因组?

A: 针对目标序列编辑的gRNA与Cas9结合，并将Cas9引导到目标序列，目标序列的PAM 序列上游3-4个碱基处，Cas9切割产生双链断裂(DSB)。

两种方法可以修复双链断裂：

1）如果不提供修复模板或供体DNA，则会通过易出错的非同源末端连接(NHEJ) 进行重新链接，产生插入缺失从而敲除蛋白质。

2）如果提供修复模板或供体DNA，则会通过同源重组(HDR)方式修复双链断裂，以精确敲入目标基因。

Q2：CRISPR实验如何选递送体系?

A: 易转染的细胞系可以选择质粒，转染效率低的细胞系建议选择病毒，期望达到编辑效率更高、毒性更低的效果可以选择RNP（即sgRNA+Cas9蛋白）的递送系统。

Q3：质粒递送体系中，all-in-one载体和双载体如何选择?

A: All-in-one载体系统有两个主要优点：

1）只需转染一次宿主细胞　　2）以1:1的比例进行gRNA和Cas9的导入

双载体中，Cas9和gRNA在不同的载体上独立表达。如果您计划表达多个gRNA以进行多重靶向，双载体会更合适。对于这些应用，Cas9应首先在细胞系中稳定表达，然后可以用不同的gRNA载体转染细胞以构建细胞库。

Q4：什么时候需要慢病毒或腺相关病毒 (AAV) 载体?

A: CRISPR 基因编辑的载体选择应考虑应用和细胞类型。

1）在大多数易于转染的细胞系中，非病毒载体可以发挥很好的作用。

2）慢病毒转染可以用在瞬时转染效率低的细胞中，例如原代细胞培养或难以转染的细胞系。

3）AAV载体具有低免疫原性，是体内基因传递的较佳选择。由于 AAV 载体的载量限制通常小于其他载体 (< 5 kb)，将 SpCas9基因包装到这些载体中可能具有挑战性。金黄色葡萄球菌 Cas9 (SaCas9) 比 SpCas9 小，是 AAV 载体的首选 Cas9。

CRISPR实验关键试剂的选择

Q5：化学合成的sgRNA与利用体外转录 (IVT) sgRNA有什么区别?

A: 化学合成sgRNA主要有以下优势：

1）编辑效率高：金斯瑞研发和*Nat.Biotechnol*等文献均发现化学合成sgRNA的编辑效率高于体外转录sgRNA；

2）细胞毒性低：体外转录sgRNA带有5'三磷酸修饰，会引起细胞免疫反应，造成细胞毒性，干扰后续实验，而化学合成的sgRNA则不存在该干扰因素；

3）更稳定：化学合成sgRNA可添加硫代和甲氧基修饰，使其在储存和试验中更稳定，且化学合成工艺的稳定性和一致性优于生物合成，可以保证下游实验的可重复性；

4）操作简单：化学合成sgRNA即买即用，体外转录sgRNA需要2-3天、5-6步合成操作，经济和时间成本高。

因此，金斯瑞化学合成的EasyEdit sgRNA是更高效快捷的基因编辑方案。

Q6：使用合成sgRNA与使用crRNA & tracrRNA有什么不同?

A: 使用sgRNA时，无需在使用前对crRNA和tracrRNA进行退火。更重要的是，几项研究表明，当与Cas9共同作用时，长单链sgRNA比crRNA & tracrRNA具有更好的稳定性，从而有更高的编辑效率[1,2]。

1. Hendel, *et al.*, Chemically modified guide RNAs enhance CRISPR-Cas genome editing in human primary cells. *Nat. Biotechnol.*, 33 (2015) 985-989.

2. Ryan *et al.*, Improving CRISPR–Cas specificity with chemical modifications in single-guide RNAs. *Nucleic Acids Research*, 46 (2018) 2: 792–803.

Q7：gRNA序列应该如何设计?

A: 设计您的gRNA序列包括4个步骤：

1）确定目标基因位点；　　2）寻找适合gRNA靶向的序列；

3）检查脱靶结合的可能性；　　4）选择位于结合区域内的gRNA序列。

通过提供脱靶评分和染色体位置，金斯瑞的gRNA数据库和在线设计工具将消除您在选择gRNA序列时的疑虑，建议至少使用3个gRNA序列，以确保敲除和实验准确性。

Q8：进行CRISPR介导的基因敲入时，如何从各种HDR模板中进行选择？我应该选择双链DNA、质粒DNA还是单链DNA？

A： 这取决于实验目的和宿主细胞类型。与双链DNA供体相比，单链DNA表现出显著提高编辑效率和特异性，以及减少脱靶整合的优势，尤其是在编辑原代细胞、干细胞和开发转基因动物模型方面。

	Plasmid DNA	dsDNA	ssDNA
敲入效率	中等	高	高
脱靶效应	中等	高	低
细胞毒性	高	高	低
成本	低	中等	较高

Q9：金斯瑞为单链DNA模板提供哪些科研级质量控制检测？

A： 我们在冻干前对最终的单链DNA产品进行了两项主要的QC检查：

1）Sanger测序，以确保单链DNA序列的准确性； 2）通过凝胶电泳对最终单链DNA产品进行纯度测试。

在单链DNA的生产过程中，我们进行了两轮测序，以保证序列的准确性。我们首先通过测序选择经过序列验证的质粒DNA模板，以确保最终单链DNA产品的纯度和序列准确性。此外，我们对最终的单链DNA产品使用直接测序来确认单链DNA产品的序列正确性。最终的单链DNA产品仅包含全长、经过序列验证的单链DNA分子。通过使用我们专有的、正在申请专利的酶合成方法，金斯瑞提供的单链DNA产品不含双链DNA。

脱靶效应的检测与规避方案

Q10：影响CRISPR靶向性效率和特异性的因素有哪些？

A： 影响CRISPR靶向效率和特异性的因素有：

1） gRNA设计：金斯瑞开发的gRNA设计软件基于NCBI权威文献开发和验证的算法，选择合适目标序列以避免脱靶效应，该算法在目标基因中寻找一个约20 bp的序列，在其他位置没有出现与其高度相似的序列。因为gRNA和非目标的内源基因组之间的错配数小于3个时，可能发生Cas9介导的脱靶效应。

2） 核酸酶/靶向策略：大多数研究使用从化脓性链球菌中分离的Cas9核酸酶。另一种策略是使用这种酶的突变体Cas9-D10A(切口酶)，它可用于在目的区域两侧诱导两条单链断裂，以进行更特异的敲除。如果您需要用于不同酶的gRNA序列，或者您对CRISPR靶向策略有其他特殊要求，请发送邮件至oligo@genscript.com.cn咨询。

3）gRNA序列的数量：通常单个gRNA足以敲除目标基因；但是，我们建议您为每个目标基因至少订购3个序列的gRNA，以提高基因组编辑的成功率，避免出现脱靶效应。

在金斯瑞订购 gRNA质粒 ，我们会提供一个经过序列验证的质粒，其中包含gRNA表达和基因组结合所需的所有元素：U6 启动子、间隔（目标）序列、gRNA骨架和终止子。我们保证提供的gRNA克隆序列准确；然而，鉴于构建基因组编辑细胞系以及转染和实验的复杂性，我们无法保证使用我们的gRNA进行实验的结果。如果您希望使用CRISPR技术创建经过序列验证的KO或KI细胞系，请参阅GenCRISPR™ 基因编辑细胞系服务。

CRISPR实验的技巧

Q11：设计有效的单链DNA模板有哪些技巧?

A： 对于点突变，建议使用非对称单链DNA设计。对于大片段基因插入，有报道显示插入基因侧翼长度可从300到1,000 bp。在大多数情况下，500 bp长度的同源臂就可以了。需要注意的是设计需要包含沉默突变的ssDNA模板，使sgRNA PAM序列发生突变，以避免二次切割。KI供体设计可能很复杂。强烈建议使用软件（例如snapgene）来查看和编辑序列。您可以阅读以下文章以获取更多设计技巧。

Enhancing homology-directed genome editing by catalytically active and inactive CRISPR-Cas9 using asymmetric donor DNA. *Nature Biotechnology*

Q12：提高CRISPR敲入效率的小技巧

A： 1）sgRNA切割位点应靠近突变位点，并且最好在15 bp之内；
2）在转染gRNA/Cas9和供体模板之前优化转染效率；
3）使用FACS筛选转染的细胞；
4）如果允许的话，使用药物或标记来选择KI克隆（例如，在插入基因的C端标记嘌呤霉素抗性基因以进行选择）。

客户发表文章

金斯瑞提供的服务和产品已被Cell、Science、PNAS等多家国际著名学术期刊引用。多家全球著名机构使用金斯瑞的基因编辑服务和产品发表科研成果，再次证明金斯瑞有能力帮助业内科学家Make Research Easy。

以下是选取的部分科研文章

题目： TnpB homologues exapted from transposons are RNA-guided transcription factors
期刊： *Nature* IF：50.5
Doi： 10.1038/s41586-024-07598-4

题目： Non-viral，specifically targeted CAR-T cells achieve high safety and efficacy in B-NHL
期刊： *Nature* IF：43.07
Doi： 10.1038/s41586-022-05140-y

题目： A time-resolved, multi-symbol molecular recorder via sequential genome editing
期刊： *Nature* IF：43.07
Doi： 10.1038/s41586-022-04922-8

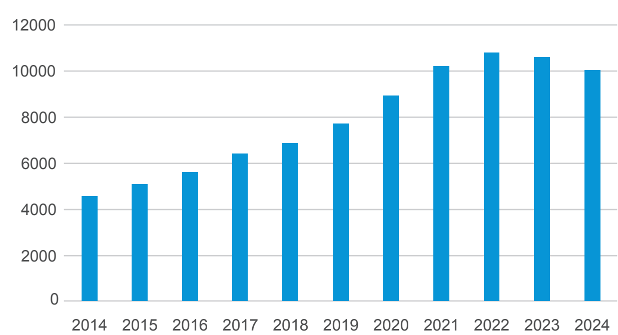
题目： Specification of CNS macrophage subsets occurs postnatally in defined niches
期刊： *Nature* IF：43.07
Doi：10.1038/s41586-022-04596-2

题目： Genome-edited powdery mildew resistance in wheat without growth penalties
期刊： *Nature* IF：43.07
Doi：10.1038/s41586-022-04395-9

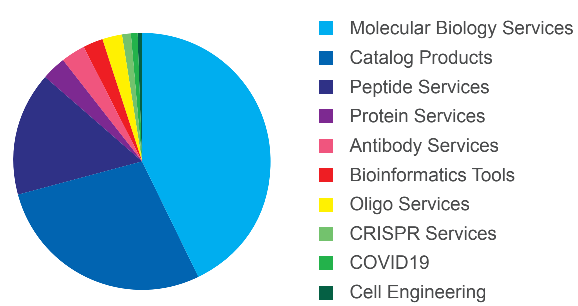
题目： Re-engineering the adenine deaminase TadA-8e for efficient and specific CRISPR-based cytosine base editing
期刊： *Nat Biotechnol* IF：41.667
Doi：10.1038/s41587-022-01532-7

题目： Re-engineering the adenine deaminase TadA-8e for efficient and specific CRISPR-based cytosine base editing
期刊： *Nat Biotechnol* IF：41.667
Doi：10.1038/s41587-022-01532-7

金斯瑞的服务及产品已被*Cell*、*nature*、*Science*、*PNAS*等多家生物医药类杂志引用。
请浏览客户发表文献：https://www.genscript.com.cn/reference_peer-reviewed_literature.html。



金斯瑞2014-2024历年文献数



金斯瑞产品和服务在文献中的比例分布

金斯瑞的成长离不开广大客户的支持，论文及学术成果发表让金斯瑞的价值得到充分体现。为感谢广大客户一直以来对金斯瑞的厚爱，更为了感谢一线科研工作者们为全人类生命科学进步所做出的贡献，金斯瑞特别开展金斯瑞发文章有奖活动。

扫码了解“发文有奖”活动详情

05

订购指南及联系方式

订购方式

金斯瑞官网 CRISPR/Cas9服务 → 在线订购 输入订单信息 → 提交 加入购物车 → 结算 订购完成

在线订购：

通过金斯瑞在线订购系统，填写并提交订单信息，加入购物车，结算完成订单。**金斯瑞sgRNA、ssDNA、CRISPR质粒均支持在线订购。**

客服下单：

提交含有订购信息的询价表（可至金斯瑞官网服务页面下方下载），
发送邮件至oligo@genscript.com.cn, 专业技术支持为您服务。

电话咨询：

拨打电话**400-025-8686**转**5812**或**5815**，咨询客户下单。

订购查询

如何查询?

1.登录您的金斯瑞账户

2.点击账户名–用户中心

3.在页面左边任务栏里点击“我的订单/询单”

4.订单类型选择“所有订单类型”

5.点击订单编号，进入“订单详情”页面查看订单进度。

对于延期和困难订单，欢迎来邮件咨询和确认，我们会在第一时间进行回复跟进。

01 登录金斯瑞官网 → 02 用户中心 → 03 我的订单/询单 → 04 选择服务 → 05 点击订单编号

微信查单

关注**金斯瑞生物科技**官方微信服务号，进入个人中心，点击“我的订单”，查看订单进度。

金斯瑞始终以客户的需求为己任，
致力于让先进技术真正走进千千万万的实验室。

更多新闻活动
欢迎关注“**金斯瑞试剂服务**”

更多详情，欢迎访问

www.genscript.com.cn　oligo@genscript.com.cn

400-025-8686分机5812/5815　江苏省南京市江宁科学园雍熙路28号