

苏州泓迅生物科技股份有限公司



基因功能与靶点发现 CRISPR高通量筛选 全流程解决方案

苏州泓迅生物科技股份有限公司

服务热线: 4000-973-630 引物合成订购咨询: order@synbio-tech.com

传 真: 0512-62600337 基因合成|项目咨询: support@synbio-tech.com

泓迅官网: www.synbio-tech.com.cn

公司地址: 苏州工业园区星湖街218号生物纳米园C20栋

泓迅官网



泓迅微信



CRISPR高通量筛选服务

CRISPR高通量筛选服务利用CRISPR-Cas9 (或CRISPRi/a) 基因编辑技术, 结合全基因组或定制化sgRNA文库, 在细胞水平上对数以万计的基因进行并行扰动 (敲除、抑制或激活), 然后通过特定的表型筛选 (如细胞存活、耐药、迁移、荧光报告等), 快速鉴定出与目标表型相关的关键基因。

泓迅生物CRISPR高通量筛选服务将复杂的实验流程、文库构建和专业的生物信息分析进行一体化整合, 为科研工作者提供从方案设计到验证候选基因的全流程解决方案。

泓迅CRISPR高通量筛选服务三大技术平台

Synbio AI 智能文库构建平台

- ✓ AI设计高靶向专门算法多轮筛选
- ✓ 单、双载体系统, 支持改造/定制
- ✓ 行业质控标杆: 高准确率、高覆盖度、低均一性



Synbio Screen 高通量细胞筛选平台

- ✓ 定制化筛选方案
- ✓ 高通量筛选模型算法



Synbio Analysis 一站式生信分析平台

- ✓ 全流程分析覆盖: 从数据预处理与质量控制-核心差异-生物信息学分析
- ✓ 多元可视化分析结果: 火山图、曼哈顿图、富集分数分布图、通路/GO富集气泡图或条形图等
- ✓ 结论导向输出: 提供候选基因排序与验证建议



全流程解决方案技术路线

构建

sgRNA
设计

Oligo Pool
合成

质粒文库
构建

筛选

病毒包装

细胞Pool
制备

细胞筛选

分析

PCR扩增

测序

靶点分析

Synbio AI 智能文库构建

服务介绍

Synbio AI 智能文库构建服务依托AI驱动的生物设计算法,可针对动物、植物、微生物提供从单基因、特定通路到全基因组范围的sgRNA设计与文库构建,支持高效的基因组编辑与高通量筛选。通过芯片合成技术,单次可合成数十万至上百万条sgRNA,并完成载体构建、质检、电转与病毒包装等全流程服务,实现高准确率、高覆盖度与低文库均一性,确保基因编辑文库的高质量构建。



服务流程



服务优势

- ✓ 专有的设计算法: 优选编辑效率高、脱靶效率低的sgRNA
- ✓ 合成长度可达300nt, 错误率低至1:2,000/nt, 目标序列100%覆盖
- ✓ 构建1000+文库, 覆盖30+物种, 不受物种限制
- ✓ 领先于行业内QC指标: 高准确率、高覆盖度、低均一性

服务项目

sgRNA设计

基于AI驱动的生物设计算法,提供高效、特异的sgRNA设计与优化服务,在确保高编辑效率的同时,有效控制脱靶风险,并可支持客户的个性化设计需求。

即用型sgRNA合成

泓迅生物提供由化学合成或体外转录生成的即用型sgRNA序列,该产品纯度高、操作便捷、可直接注射或转染细胞进行基因编辑实验。

sgRNA载体构建

泓迅生物可针对不同物种设计多种sgRNA质粒构建方案,为您提供快速、优质的sgRNA载体构建服务。

步骤	服务内容	
明确物种和载体	不同物种不同载体	
设计靶点	一般在不同转录产物的共同外显子上设计3-5个靶点,尽可能破坏重要的domain和所有转录产物isoform。	
合成	合成前确认检测靶点是否存在SNP(如果存在SNP,则不能用T7E1酶检测是否存在突变)	
靶点切割活性检测	293T细胞内检测SSA活性	酶体外切割活性验证(推荐)
内源活性验证(有条件选择)	若目的细胞转染率高,如293T细胞,可转染72h后提基因组,扩增靶序列,T7E1酶切验证,进一步测序验证。	

Oligo Pool 芯片合成

利用喷墨技术在芯片上单次平行合成高达100万条寡核苷酸序列,最长可达300 nt。在合成过程中,每个反应位点形成彼此隔离的微液滴,保障零交叉污染,合成的序列准确性高、均一性好。

长度/nt	周期(工作日)
20-120	10-15
121-150	10-15
151-200	10-15
201-250	15-20
251-300	20-25

质粒文库构建

将合成的Oligo Pool克隆至适当的表达载体中,完成重组质粒的构建,确保文库结构完整性与表达效率。我们拥有数十种成品文库,可快速、及时地提供现货供应,确保您的需求在最短时间内得到满足。

文库质检与扩增

通过对构建文库进行浓度、纯度及完整性检测,并结合酶切或PCR技术验证sgRNA插入正确性与序列多样性,确保文库符合设计要求。随后,利用高效制备的感受态细胞,经电穿孔实现文库的高效转化与稳定扩增。

NGS验证

对扩增后的文库进行下一代测序(NGS),全面评估文库覆盖率、序列准确性、多样性及一致性,提供数据分析报告。

Synbio Screen

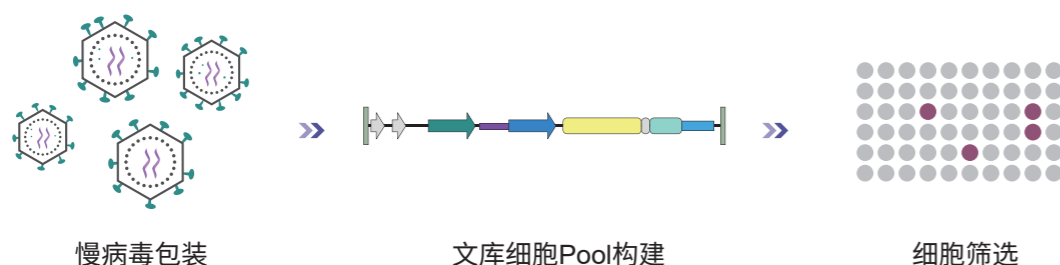
高通量细胞筛选

服务介绍

sgRNA文库细胞Pool是在细胞水平上实现基因组高通量编辑的基础性工具, 不仅为基因、蛋白功能研究/筛选、信号通路研究等基础性研究提供有利工具, 更是治疗靶点(癌症、肿瘤)、抗体靶标筛选、药物筛选、开发及毒性分析等医疗开发的利器。泓迅生物根据不同的高通量测序平台, 提供定制化的细胞筛选方案, 结合高通量筛选模型与算法, 实现对大规模细胞Pool的高效筛选。



服务流程



服务优势

- ✔ 文库质粒去内毒素, 支持慢病毒包装, 滴度 > 1×10^8 TU/ml
- ✔ 文库细胞Pool覆盖度 > 85%
- ✔ 支持任何哺乳动物癌细胞系为目的细胞的构建
- ✔ 高通量筛选灵活多样: 既可进行正向筛选, 也可进行负向筛选, 全面覆盖功能获得与功能丧失研究

服务项目

病毒包装

采用第二代慢病毒包装技术, 慢病毒可在各类细胞中实现高效、稳定且可重复的基因表达, 可感染分裂 / 非分裂细胞。

文库细胞Pool构建

确保文库的充分代表性与实验稳健性, 目标是建立一个基因型高度多样化的起始细胞群体, 为后续筛选奠定统计基础。

细胞筛选

施加选择压力以富集表型相关细胞, 通过模拟生物学过程或疾病状态, 使携带不同sgRNA的细胞产生表型差异, 从而富集或耗竭特定基因编辑的细胞。用于发现癌症依赖基因、病毒宿主因子、免疫检查点调控基因等。

正向筛选法——鉴定赋予细胞选择性优势的功能基因

该方法适用于鉴定其敲除可赋予细胞在特定选择压力下生存或增殖优势的基因, 核心应用于耐药性机制研究、适应性进化相关基因发掘及功能获得性表型的遗传基础解析。

负向筛选法——系统性鉴定细胞必需基因

该方法旨在系统性识别对细胞存活、增殖或特定功能维持不可或缺的基因, 主要应用于合成致死靶点筛选、细胞类型特异性必需基因图谱构建及病毒宿主因子鉴定。

Arrayed筛选——根据表型变化快速定位目标基因

该方法适用于对预设的基因集合进行高通量、多维度表型检测, 核心应用于复杂表型(如形态、迁移、信号动态)的基因功能验证及小规模靶点的精细化机理研究。

服务项目	服务详情	交付	周期
文库系列慢病毒	提供质粒, LTR之间小余9.2kb	2*10 ⁸ TU/ml	2-4周
sgRNA文库细胞Pool构建(可选)	抗性筛选测试	冻存细胞一份; NGS检测报告;	6-9周
	慢病毒量及细胞数评估		
	抗性筛选		
	NGS检测		
靶向药物筛选(可选)	IC50测试	NGS检测报告; 客户定制化数据分析;	5-7周
	药物筛选		
	NGS检测		
NGS检测	咨询	NGS检测报告	1-2周

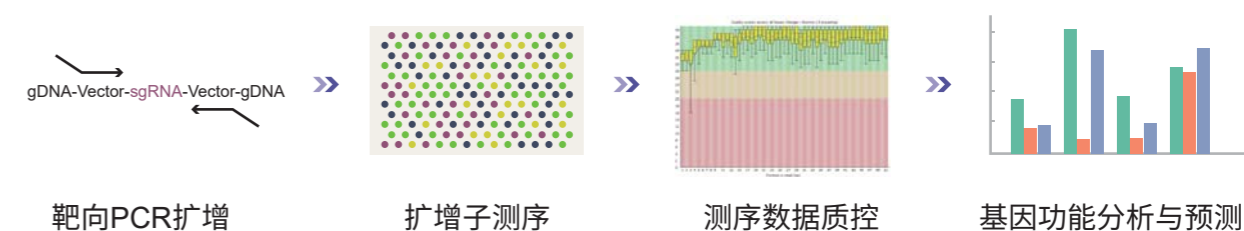
Synbio Analysis

一站式生信分析

服务介绍

Synbio Analysis 一站式生信分析平台覆盖从数据预处理、质量控制到核心差异分析、生物信息学解析的全流程。平台提供多元可视化分析结果(如火山图、曼哈顿图、富集分数分布图、通路/GO 富集图等), 并以结论为导向, 输出候选基因排序与验证建议, 助力后续实验设计。

服务流程



服务优势

- ✔ 可用于各种突变验证和筛选遗传变异
- ✔ 提供个性化的生物信息分析服务
- ✔ 全流程标准化分析, 确保数据可靠
- ✔ 多维交互式可视化, 洞察数据全貌

服务项目

PCR扩增及高通量测序

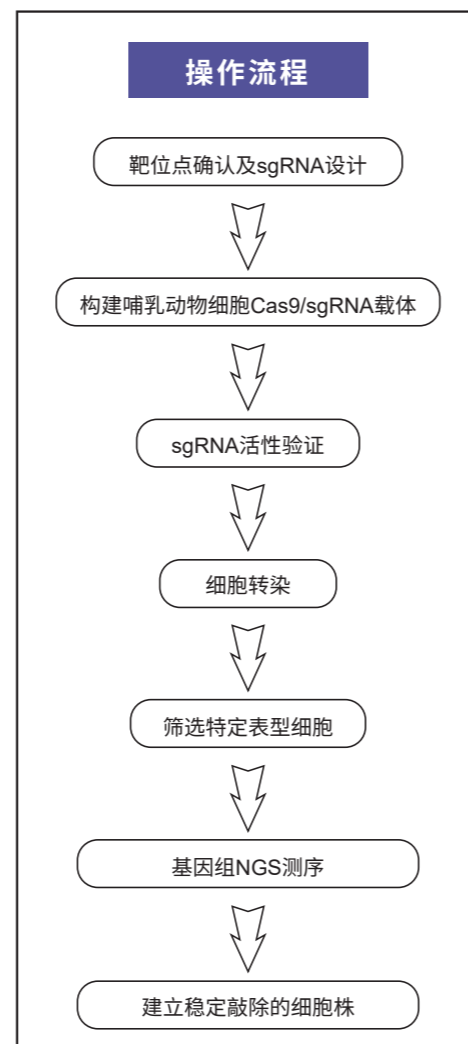
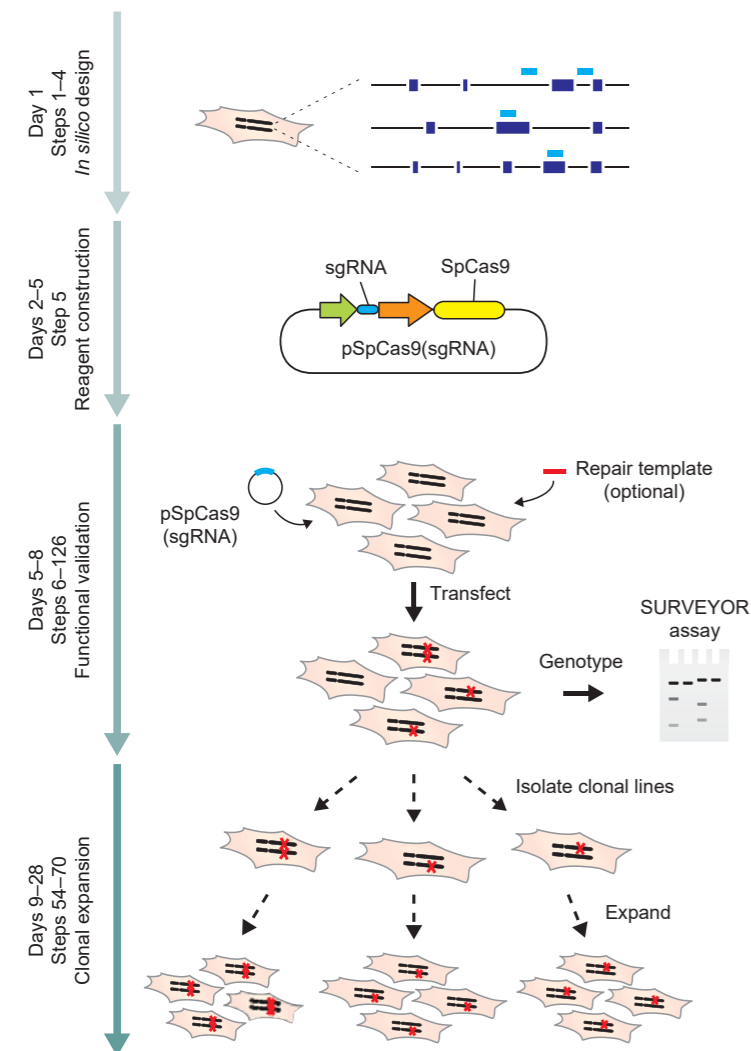
对筛选各组的细胞, 提取基因组DNA后, 对细胞群体内的sgRNA序列进行特异性PCR和NGS测序, 通过对比筛选组别之间的sgRNA种类, 丰度变化, 从而鉴定出一系列与筛选条件有关的候选基因。

应用一 哺乳动物细胞基因/基因组编辑

基因编辑技术的飞速发展,特别是近年来CRISPR技术的广泛应用,使得人类拥有了前所未有的改变和修饰基因组的能力。CRISPR技术来源于细菌本身对抗噬菌体的“免疫系统”,这项技术利用单链引导RNA(sgRNA)和Cas9蛋白,可以在体内和体外简单、迅速、低成本实现基因编辑。利用CRISPR技术不仅可以对编码基因进行有效编辑和基因组的大规模筛选,而且还可以结合NGS对非编码RNA(ncRNA)进行功能研究。

CRISPR技术已经广泛应用于全球各个实验室,几乎可以对所有细胞系和大多数常用实验动物的遗传物质进行改造。CRISPR技术在人类遗传性疾病、病毒感染疾病和癌症的相关研究中具有广阔前景和巨大发展潜力。

操作流程



研究思路

1. 哺乳动物细胞基因敲除 (knock-out) / 敲入 (knock-in)

01

sgRNA设计

- 基因组定制化的sgRNA设计
- 基因组或者Panel范围内的基因调取与sgRNA设计

02

CRISPR-Cas9载体系统构建

- 基因合成与载体构建平台
- sgRNA文库构建平台
- 多模式物种的载体序列设计

03

KO/KI验证与分析

- 体外sgRNA活性验证
- 体内sgRNA活性验证

04

细胞株或者动物模型构建

- 稳定细胞株构建
- 基因敲除动物模型构建

2. 哺乳动物细胞非编码RNA功能研究

01

pg-sgRNA设计

- 基因组或者Panel范围内的基因调取与pg-sgRNA设计

02

CRISPR-Cas9 pg-sgRNA文库构建

- 基因合成与载体构建平台
- sgRNA文库构建平台
- 多模式物种的载体序列设计

03

病毒文库制备与NGS验证与分析

- 慢病毒文库包装
- NGS验证文库质量

04

细胞株水平的靶标筛选

- 筛选前后NGS数据对比
- 细胞株构建或动物模型建立

服务优势



一站式服务

泓迅生物提供从sgRNA设计、合成及活性检测,到稳定细胞株或动物模型构建和筛选的整体解决方案



sgRNA技术平台

专业的sgRNA设计软件,能够高效准确提供多物种序列设计方案



sgRNA文库合成

拥有自主研发的芯片合成平台,文库构建覆盖率>99%



高通量功能筛选平台

可提供全基因组文库高通量筛选,可平行分析大量细胞的基因功能,鉴定相关的候选基因

参考文献

Ran, F.A., et al., Genome engineering using the CRISPR-Cas9 system. Nature Protocols, 2013. 8(11): p. 2281-2308.

【案例】

哺乳动物细胞CRISPR-Cas9的基因编辑

【背景】

靶向核酸酶以其高效性成为了介导基因组编辑的强大工具。目前，世界上应用最广泛的基因编辑工具是从细菌的免疫系统中分离出来的CRISPR-Cas9系统。它是通过sgRNA介导Cas9核酸内切酶对基因组特定的20nt序列进行剪切，并通过非同源末端修复 (NHEJ) 或同源定向修复 (HDR) 来实现基因的敲除或敲入 (knock-out/in), 从而对哺乳动物细胞内或改造细胞株的下游功能进行研究。同时为了最大程度的减少脱靶效率, 采取了双切口策略, 使用成对的sgRNA介导Cas9核酸内切酶。CRISPR-Cas9 技术周期短, 从靶点设计开始, 可以在短至1-2周内实现基因修饰, 并且可以在2-3周内得到修饰过的克隆细胞系。CRISPR-Cas9技术可对哺乳动物基因的编辑进行高效精确的敲除和敲入, 可广泛应用于基因功能的后续验证工作中。

【方法】

1.sgRNA的设计方案

推荐使用CRISPR设计工具(<http://tools.genome-engineering.org>)来进行靶位点的选择(图1);

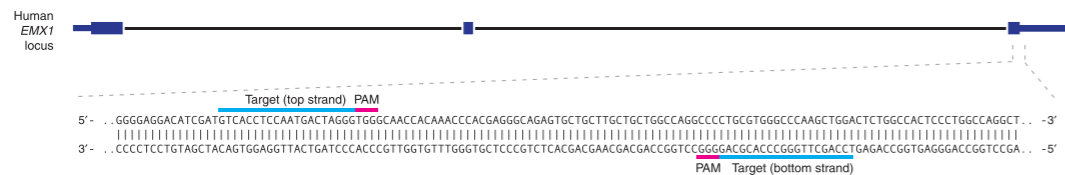


图1. sgRNA靶位点的确定

2.构建sgRNA和Cas9表达载体

根据设计方案构建sgRNA和Cas9载体, 同时在Cas9载体中添加GFP或嘌呤霉素抗性基因以帮助后续筛选转染细胞。分别构建了CRISPR-Cas9的单载体系统和双载体系统(图2);

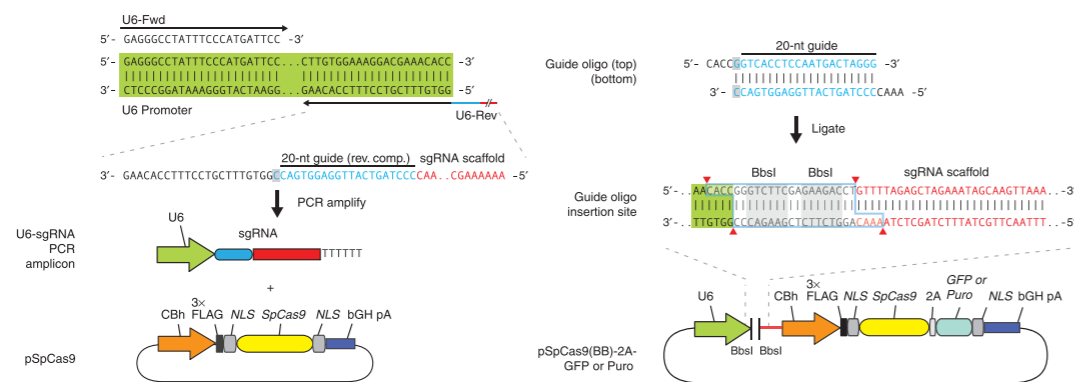


图2. sgRNA表达载体的构建

3.构建修复模版

为了实现基因的敲入, 需要构建同源模板。同源模板由需要敲入的基因和靶位点两侧的序列组成的两同源臂构成。通常情况下, 修复模板为载体的形式, 单侧的同源臂长度要超过500bp; 为单链DNA的形式时, 单侧的同源臂长度至少要40bp(图3);

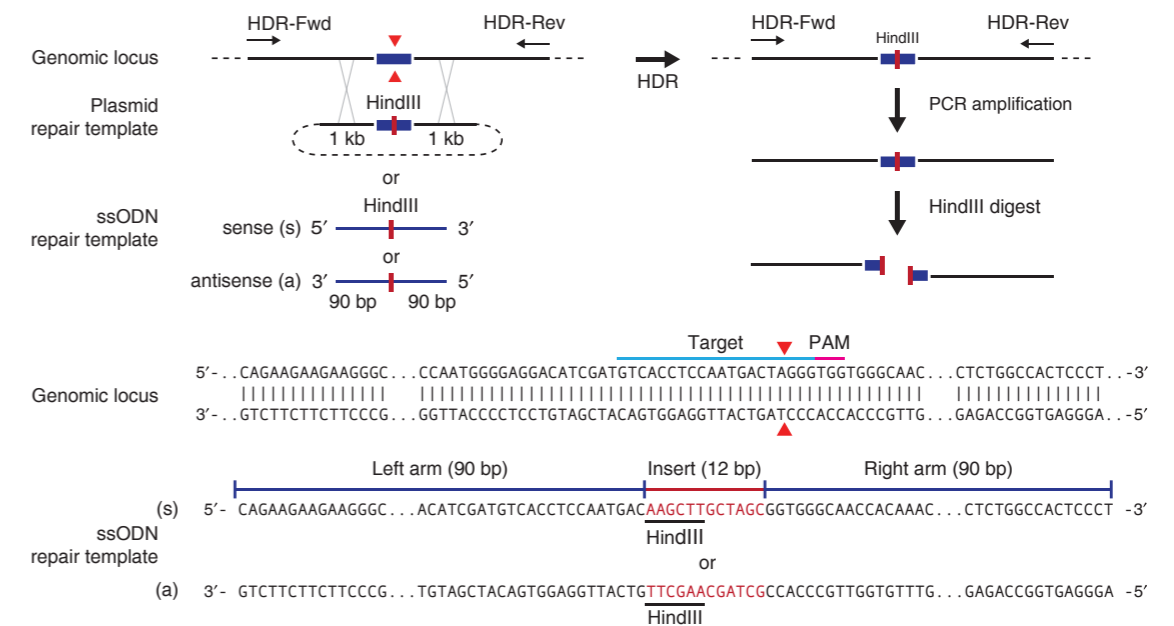


图3. 质粒和ssODN作为模板进行knock-in

4.功能验证

功能验证的方法包括Surveyor错配内切酶检测法、HindIII酶切位点法及测序方法(图4)。Surveyor错配酶可以对同源双链进行切割, 并通过凝胶条带的强度来确定切割DNA的分数, 从而计算Cas9的切割效率 (Indel百分比)(图2); 在插入的目标基因中插入了HindIII酶切位点可对PCR产物进行切割, 同样通过凝胶条带的强度来计算Cas9的切割效率(图3)。



图4. Surveyor错配内切酶验证knock-out

【结论】

1.设计两个sgRNA同时对人类HEK293FT细胞中的*DYRK1A*和*GRIN2B*基因进行敲除,每个位点敲除效率为65~68%(图5),证明了CRISPR-Cas9能够简便且高效的应用于哺乳动物基因组;

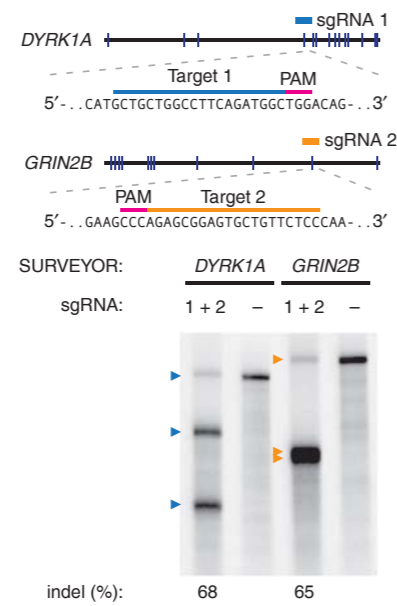


图5. *DYRK1A*和*GRIN2B* knock-out效率

2.成对的sgRNA对*EMX1*基因外显子进行敲除,可对基因造成微小精确的编辑效果(图6);

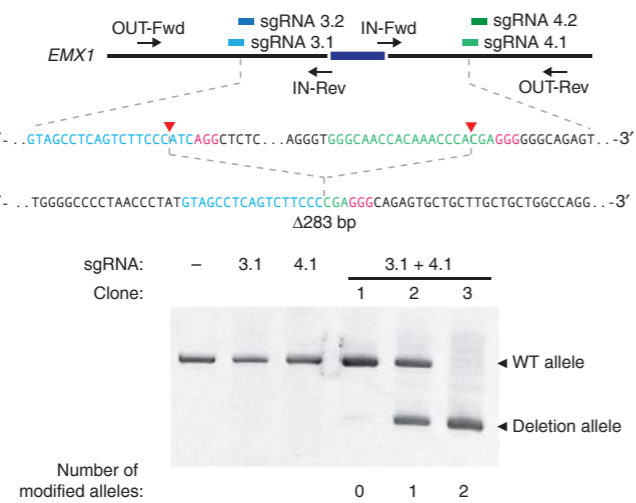


图6. *EMX1*基因外显子敲除效率

3.基因敲入时设计的修复模板既可以是质粒也可以是单链的DNA (ssODN), 基因敲入效率最低为0.18%, 最高也不过是27%。由此可以得知, 基因敲入的效率要远低于基因敲除的效率(图7)。

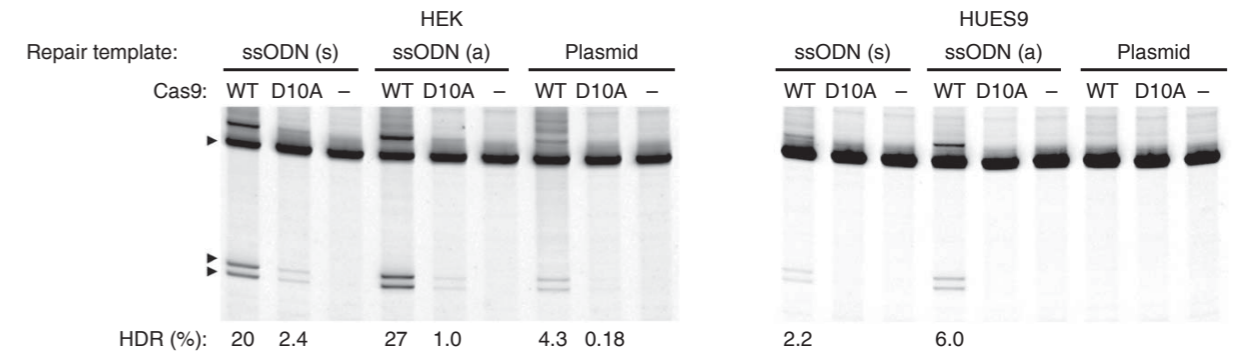


图7. 使用质粒和ssOND修复的基因敲入效率

参考文献

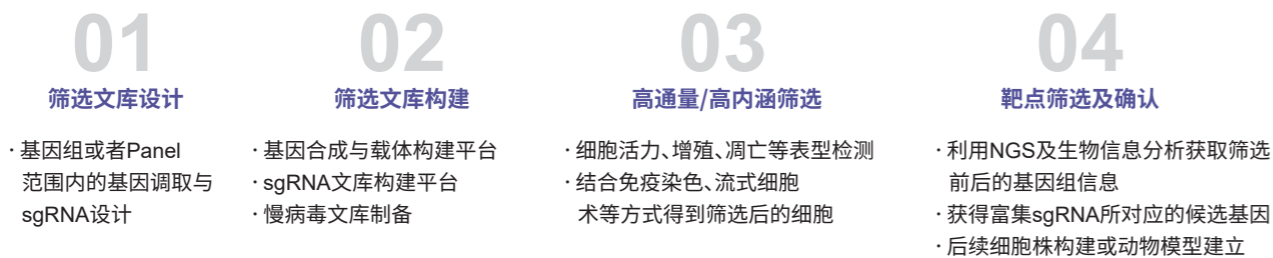
Ran, F.A., et al., Genome engineering using the CRISPR-Cas9 system. Nat Protoc, 2013. 8(11): p. 2281-308.

应用二 新药研发的靶点筛选

现代新药研发的首要任务是筛选、确定和制备有效的药物靶点。CRISPR-Cas9在多种类型的细胞和组织中都具有高效精确的基因编辑能力,据近期文献^[1-3]报道,以CRISPR-Cas9为基础的基因编辑技术在一系列药物靶点筛选中展现出了极大的应用前景。

通过构建sgRNA文库,利用慢病毒转染细胞,对疾病发生、维持癌细胞生长、存活及发展等过程具有重要作用的蛋白及其结构域的大规模筛选,结合NGS及数据分析,对寻找合适的药物作用靶点,研发新药尤其是癌症治疗药物具有重要意义。

研究思路



服务优势

- ✓ **一站式服务**
泓迅生物提供从sgRNA设计、sgRNA文库构建、慢病毒包装,到靶点筛选及后续验证工作的整体解决方案
- ✓ **自主研发的芯片合成平台**
高通量、低成本合成sgRNA文库,文库构建覆盖率>99%
- ✓ **高通量功能筛选平台**
提供全基因组文库筛选,平行分析大量细胞的基因功能,包括细胞活力、增殖、凋亡等表型检测,鉴定相关候选基因
- ✓ **生物信息分析**
经验丰富的生物信息分析团队,可通过分析NGS数据,筛选出靶点候选基因

参考文献

- [1].Parnas, O., et al., A Genome-wide CRISPR Screen in Primary Immune Cells to Dissect Regulatory Networks. Cell, 2015. 162(3): p. 675-86.
- [2].Sanjana, N.E., Genome-scale CRISPR pooled screens. Anal Biochem, 2016.
- [3].Varshney, G.K., et al., A high-throughput functional genomics workflow based on CRISPR/Cas9-mediated targeted mutagenesis in zebrafish. Nat Protoc, 2016. 11(12): p. 2357-2375.

【案例】

基因敲除方法筛选与人类肿瘤生长和抗药性相关的基因

【背景】

目前, RNAi技术是筛选哺乳动物细胞基因组功能缺失的一种主要方法。但是RNAi技术只能通过降解mRNA的方法达到抑制基因表达的效果,无法在基因组水平通过敲除基因造成功能缺失。CRISPR-Cas9技术通过sgRNA介导Cas9蛋白,对哺乳动物基因组的特定位点产生插入/缺失的突变,造成其基因功能永久性缺失,有较好的抑制效果。因此构建慢病毒包装的CRISPR-Cas9的高通量筛选文库可以实现基因组范围内的大规模功能基因的筛选。CRISPR-Cas9高通量筛选文库可广泛应用于人类肿瘤疾病研究中,系统的分析、验证一些与肿瘤生长及抗药性相关基因,筛选与肿瘤疾病治疗相关的药物靶点。

【方法】

1.构建单质粒载体(图1),载体包含了Cas9基因、sgRNA基因以及Puro筛选标记,使用慢病毒包装转染细胞(图2);

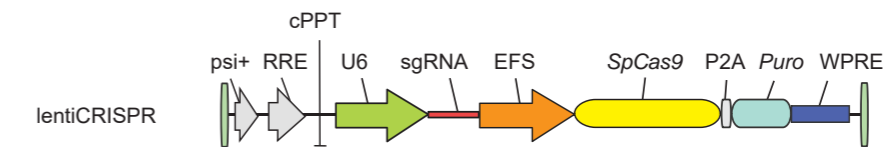


图1. 慢病毒包装单质粒表达载体

2.针对人类基因组中18,080个基因的5'外显子,平均每个基因设计3~4个sgRNA位点,构建含有64,751个sgRNA的文库(图2);

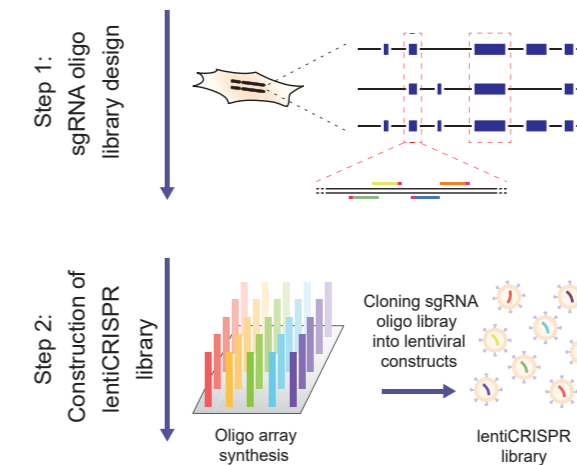


图2. sgRNA文库构建及慢病毒包装

3.为了检测GeCKO文库的敲除效果,采用阴性筛选检测与细胞耐药性相关的基因;采用阳性筛选检测与细胞生长或生存相关的基因。高通量筛选结果的后期分析采用RIGER算法(图3)。

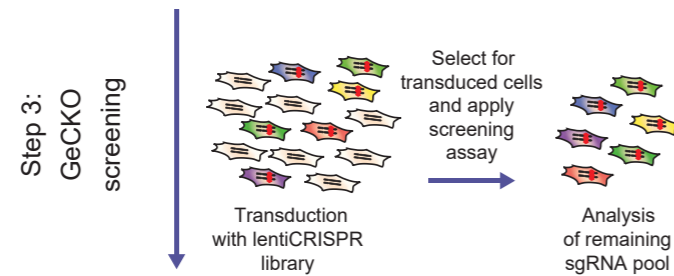


图3. CRISPR基因敲除文库筛选及收集、分析具有筛选表型的细胞

【结论】

- 1.阴性筛选结果显示, GeCKO文库筛选到某些与核糖体结构组成的相关的基因对黑色素瘤A375细胞的生长具有重要的作用;
- 2.阳性筛选结果显示,除了已知的*NF1*和*MED12*基因, *NF2*、*CUL3*、*TADA1*和*TADA2B*这4个基因也参与了威罗菲尼在黑色素瘤A375细胞中的耐药调节过程。

部分客户引用文献

1. Li Z, Lyu C, et al. Repulsions instruct synaptic partner matching in an olfactory circuit. *Nature*. 2026 Jan;649(8097):667-676.
2. Jin S, Zhu Z, et al. Functional RNA splitting drove the evolutionary emergence of type V CRISPR-Cas systems from transposons. *Cell*. 2025 Oct 30;188(22):6283-6300.e22.
3. Liu B, Li W, et al. PKMYT1 kinase ameliorates cisplatin sensitivity in osteosarcoma. *Signal Transduct Target Ther*. 2025 May 21;10(1):165.
4. Wu C, Long L, Wang M, et al. Copper-mediated SEC14L3 promotes cuproptosis to inhibit hepatocellular carcinoma growth via ERK/YY1/FDX1 axis. *Commun Biol*. 2025 Apr 24;8(1):658.
5. Li B, Cui H, et al. DDX10 Exacerbates Exosomal PD-L1-Dependent T Cell Exhaustion via Phase Separation of Rab27b in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Research (Wash D C)*. 2025 May 9;8:0697.
6. Sun L, Xiong F, et al. Transcriptomic insights into fate choice of pallial versus subpallial GABAergic neurons. *Nat Commun*. 2025 May 30;16(1):5032.
7. Wang W, Hao X, et al. Overexpression of miR-99a promoted expansion and suppressed differentiation of hematopoietic stem/progenitor cells. *Sci Rep*. 2025 Mar 14;15(1):8890.
8. Xie Z, Zhou Z, et al. GLUT1 sensitizes tumor cells to EGFR-TKIs by binding with activated EGFR and regulating its downstream signaling pathways. *Cell Commun Signal*. 2025 May 28;23(1):247.
9. Chen W, Yang KB, et al. Synthetic lethality of combined ULK1 defection and p53 restoration induce pyroptosis by directly upregulating GSDME transcription and cleavage activation through ROS/NLRP3 signaling. *J Exp Clin Cancer Res*. 2024 Aug 30;43(1):248.
10. Wu X, Yuan H, et al. Threonine fuels glioblastoma through YRDC-mediated codon-biased translational reprogramming. *Nat Cancer*. 2024 Jul;5(7):1024-1044.