

# 基因编辑技术

基因编辑技术有哪些？CRISPR/Cas9基因编辑技术有哪些优势？什么叫ES细胞打靶(ESC打靶)？

为了使我们的客户获得理想的动物模型，符合他们从基础科研到药物研发的研究需求，南模生物始终专注于模式生物的基因编辑与模型研发，拥有专业的项目设计团队与人工智能自动化分析系统SmartEddi，以及经验丰富、受过严格专业培训的实验技术队伍，自2000年以来建立了稳定而高效的基因工程动物研发服务平台，致力于提供最高标准的基因修饰动物模型解决方案。

我们使用以下三种基因修饰技术构建基因工程动物模型：

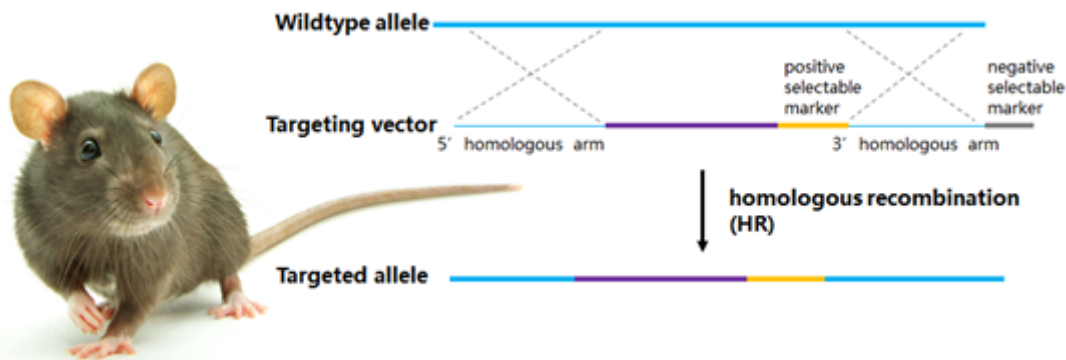
- [ES细胞打靶技术](#)
- [CRISPR基因编辑技术](#)
- [转基因技术](#)

## 三种基因修饰技术的比较

核心技术类型	技术要点	周期	技术应用	优缺点
CRISPR/Cas9技术	核酸酶剪切特定靶点	6-9个月	基因敲除、条件性基因敲除、基因定点插入、点突变、基因人源化	技术周期短、效率高；有潜在脱靶风险，但风险可控（选择合适的sgRNA 可有效降低脱靶风险；通过测序可确定是否脱靶；传代可去除脱靶位点）
ESC打靶	同源重组对靶基因进行修饰	9-12个月	基因敲除、条件性基因敲除、基因定点插入、点突变、基因人源化	技术成熟、效果稳定、无脱靶，可实现大片段重组；实验周期较长
Piggybac转基因技术	转座酶将片段整合到基因组	3-6个月	基因过表达	单拷贝插入，表达阳性率高；多位点插入，后续实验需建系

关于三种基因修饰技术的详细介绍，请见下文，以小鼠为例。

## ES细胞打靶



在小鼠ES细胞中，利用同源重组原理（也就是核苷酸序列在两个相似或相同的DNA分子之间交换的基因重组），获得带有研究者预先设计的遗传修饰的中靶ES细胞。经过遗传修饰的ES细胞仍然保持分化的全能性，可以发育为嵌合体动物的生殖细胞，使得经过修饰的遗传信息经生殖系遗传，最终获得基因修饰小鼠模型。发展至今，仍是最为经典、可靠的小鼠基因修饰或编辑技术。

目前南模生物可提供3种遗传背景的小鼠ES细胞：C57BL/6, 129/S6, B6;129。

可用于获得以下类型小鼠模型：

- 基因敲除
- 条件性基因敲除
- KO first
- 基因敲入
- 点突变

- 条件性点突变
- 定点基因过表达
- 人源化

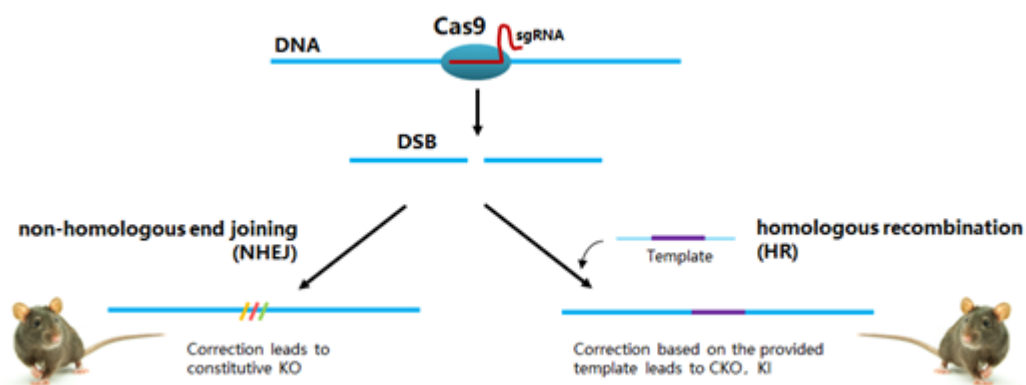
南模生物会对每个项目进行分析与评估，综合时间与风险因素从而选用最合适的技术（ES细胞打靶或CRISPR基因编辑）。

**联系我们，与南模生物的技术顾问讨论如何应用ES细胞打靶技术获得您的动物模型吧！**

## 利用ES细胞打靶技术获得小鼠模型的一般流程

1. 设计并构建同源重组载体
2. 将同源重组载体转入小鼠ES细胞中
3. 筛选并验证中靶的阳性ES细胞克隆
4. 将阳性ES细胞注射到小鼠囊胚腔中
5. 将注射后的小鼠囊胚移植到假孕母鼠子宫内
6. 获得并筛选验证阳性嵌合体小鼠F0
7. 阳性F0通过与野生型小鼠或FLP小鼠交配获得F1代杂合子小鼠

## CRISPR基因编辑



CRISPR / Cas9核酸酶系统需要两个组分：用于切割靶序列的Cas酶和与20个碱基对（bp）的靶序列结合指导RNA（sgRNA）。利用靶点特异性的sgRNA 指导 Cas9 核酸酶在基因组上的特定靶点进行DNA双链剪切。通过非同源末端连接（NHEJ）可导致移码突变，实现基因敲除（KO）；通过同源重组修复（HR）可将外源片段整合到基因组指定位点（KI）。

## CRISPR基因编辑技术的优势

- 与传统的基因打靶方法相比，大大缩短了研发周期。
- 打破对小鼠遗传品系的限制，实现不同遗传背景或在已有基因修饰小鼠模型基础上的基因编辑。
- 降低基因敲除、敲入小鼠模型的定制成本。

南模生物使用最新的CRISPR / Cas9基因编辑技术为您定制属于您的基因工程小鼠模型。

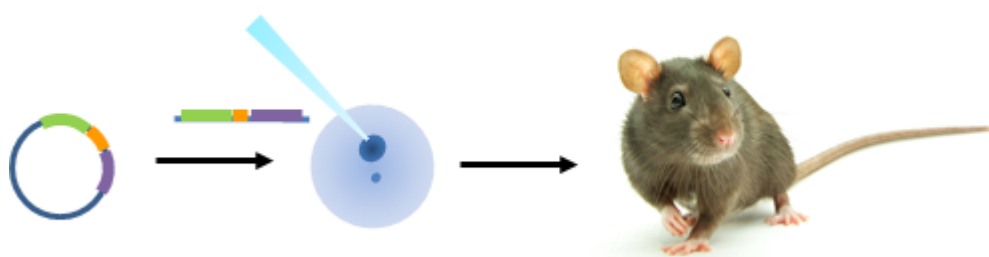
我们会对每个项目进行分析与评估，综合时间与风险因素从而选用最合适的技术（CRISPR基因编辑或ES细胞打靶）。

**联系我们，与南模生物的技术顾问讨论如何应用CRISPR技术获得您的动物模型吧！**

## 利用CRISPR基因编辑技术获得小鼠模型的一般流程

1. 选择靶位点并设计sgRNA，设计同源重组载体（可选）
2. 制备sgRNA和Cas9 mRNA，构建同源重组载体（可选）
3. 将sgRNA和Cas9mRNA（以及同源重组载体（可选））注入小鼠受精卵中
4. 注射后的受精卵移植到假孕母鼠输卵管
5. 获得并筛选验证阳性F0代小鼠
6. 阳性F0通过与野生型小鼠交配获得F1代杂合子小鼠

## 转基因技术



通过原核显微注射，将设计好的基因（或多基因）注射并随机整合到小鼠基因组中，获得随机插入的转基因小鼠。也可以利用高效转座子piggyBac系统，更高效地获得转基因小鼠模型。

**联系我们，与南模生物的技术顾问讨论如何获得您的转基因动物模型吧！**

## 获得随机转基因小鼠模型的一般流程

1. 设计并构建转基因质粒
2. 将线性化的转基因质粒片段注射到小鼠受精卵中
3. 注射后的受精卵移植到假孕母鼠输卵管
4. 获得并筛选验证阳性F0代小鼠

## 利用高效转座子系统获得转基因小鼠模型的一般流程

1. 设计并构建piggyBac转座子质粒
2. 将转座子质粒与piggyBac转座酶共同注射到小鼠受精卵中
3. 注射后的受精卵移植到假孕母鼠输卵管
4. 获得并筛选验证阳性F0代小鼠