



HANBIO

HANBIO 汉恒生物
产品与服务手册

☎ 400-092-0065

📍 上海市浦东新区蔡伦路150号

🌐 www.hanbio.net @ service@hanbio.net



MORE THAN GENE TECHNOLOGY

CONTENTS

目 录

////////// 关于汉恒 01

- 汉恒简介
- 汉恒质量
- 选择汉恒
- 汉恒产品

////////// 基因调控工具 14

- 慢病毒
- 腺相关病毒
- 腺病毒
- 悬浮细胞专用腺病毒
- 原代T细胞专用病毒

////////// 专题研究 44

- 细胞自噬
- CRISPR/Cas9
- 非编码RNA
- 荧光素酶检测

更好的基因科技

////////// MORE THAN GENE TECHNOLOGY

www.hanbio.net 



关于汉恒 1

ABOUT HANBIO

汉恒简介

汉恒生物科技(上海)有限公司(以下简称汉恒生物)创办于2010年,坐落于张江高科技核心园区,是专注于基因技术的研发与应用转化的技术服务公司。汉恒一直致力于基因载体的研发与生产,不仅在腺病毒、慢病毒、腺相关病毒、逆转录病毒、细胞功能学方面有高品质的服务质量,还聚焦结合研究热点,开发基因及信号通路研究工具,包括自噬流研究工具、分子载体探针、基于病毒载体的crispr基因编辑工具等。

作为基因功能研究的专业技术服务公司,汉恒生物为中国生命科学领域的科学家和医药企业提供了诚信和优质的服务,已经有近万篇文章使用了汉恒生物的服务和产品,平均IF>6.3,其中不乏Cell, Nature Medicine, Cancer Cell, Nature Nanotechnology, Cancer Discovery, Nature Medicine, European Heart Journal, Molecular cancer, Circulation, Journal of Hepatology等顶级期刊。

以核心基因技术为基础,汉恒生物更加注重技术应用于临床转化。

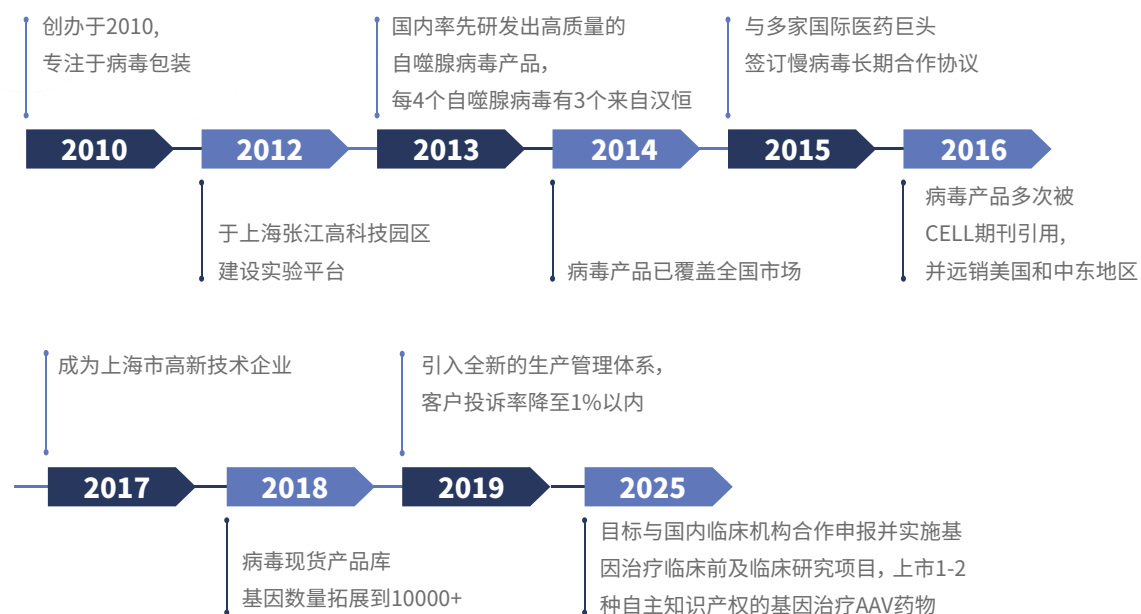
汉恒生物,更好的基因科技。

服务理念:用心做品质,全力助科研

FOCUS

专注病毒包装12+年
年均数千篇SCI期刊引用,包括CELL等顶级期刊
年度合作客户10000+
项目经验10W+

发展历程



SERVICE

完善的客户服务体系
100%硕士及以上学历技术服务团队
准时交付率超98%

STANDARD

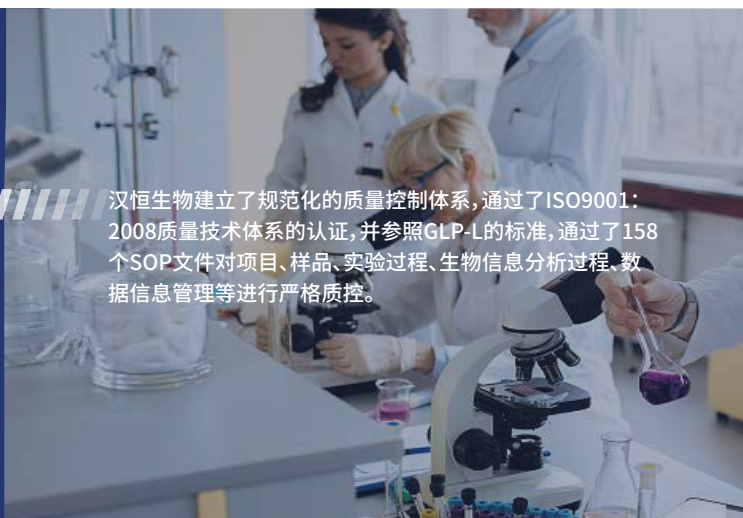
ISO9001认证的质量体系
严格的病毒纯化工艺
专业的内部数据管理
基于专利与知识产权的质量标准

汉恒质量

质量标准



汉恒生物建立了规范化的质量控制体系,通过了ISO9001:2008质量技术体系的认证,并参照GLP-L的标准,通过了158个SOP文件对项目、样品、实验过程、生物信息分析过程、数据信息管理等进行严格质控。



汉恒旗下:
上海科维创生物科技有限公司的《无缝克隆检测试剂盒研发及应用》获得了上海市科技型中小企业技术创新资金项目资助

汉恒研究中心与中科院营养所共同发表肿瘤基因治疗权威文章《Prevention of Muscle Wasting by CRISPR/Cas9-mediated Disruption of Myostatin in Vivo》,发表杂志:Molecular Therapy (IF=6.938,Nature旗下期刊)



选择汉恒

销售网络



汉恒生物销售网络已覆盖全国34个省级行政区,年度合作客户10000+

汉恒专利

- 一种表达腺病毒的细胞株及高效表达腺病毒的方法
- 一种高效表达腺病毒的细胞及制备腺病毒的方法
- 一种可以缓解小鼠心衰症状的携带MG53基因的腺相关病毒载体
- 一种原代T细胞感染试剂盒及其应用
- 一种超敏细胞活力检测试剂盒及其应用
- 一种外泌体分离试剂盒及其应用



汉恒优势

庞大的病毒现货库

领先的病毒包装平台

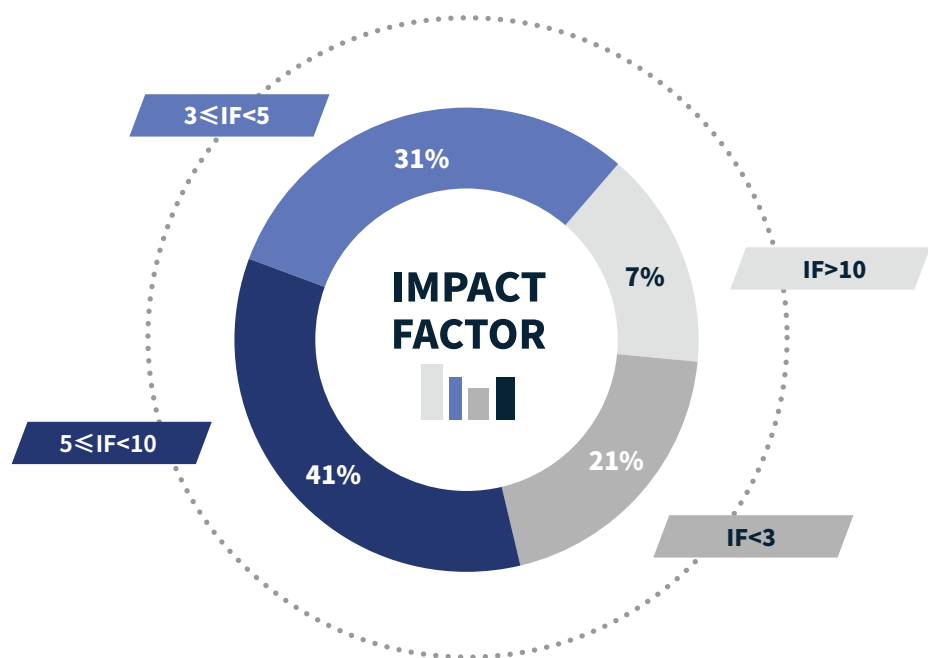
各组织高特异性AAV

免疫细胞(T细胞)高效基因转导工具

自噬研究第一品牌

LncRNA/circRNA等RNA研究工具与策略

科研合作成果



- 汉恒生物病毒产品累计发刊6000+篇, 影响因子分布见上图
- 其中自噬病毒产品累计发刊1000+篇, 平均IF>6.3



合作单位(部分) 按首字母排序

安徽大学	北京理工大学	福建医科大学附属第一医院
安徽农业大学	北京生命科学研究所以(NIBS)	福建医科大学附属协和医院
安徽省立医院	北京师范大学	福建医科大学附属肿瘤医院
安徽医科大学	北京协和医院	福建中医药大学
安徽医科大学第二附属医院	北京中医药大学	复旦大学
安徽医科大学第一附属医院	成都医学院	复旦大学附属儿科医院
澳门科技大学	川北医学院	复旦大学附属妇产科医院
蚌埠医学院	大连医科大学	复旦大学附属华东医院
北京大学	大连医科大学附属第二医院	复旦大学附属华山医院
北京大学第三医院	大连医科大学附属第一医院	复旦大学附属金山医院
北京大学第一医院	大连医科大学附属第一医院	复旦大学附属上海市第五人民医院
北京大学口腔医院	电子科技大学	复旦大学附属眼耳鼻喉科医院
北京大学人民医院	东北师范大学	复旦大学附属中山医院
北京大学医学部	东南大学	复旦大学附属肿瘤医院
北京大学肿瘤医院	东南大学附属中大医院	甘肃省人民医院
北京蛋白质组研究中心	福建省立医院	赣南医学院
北京航空航天大学	福建医科大学	赣南医学院第一附属医院

广东省第二人民医院	吉林大学	厦门大学
广东省农业科学院动物卫生研究所	吉林大学白求恩第一医院	山东大学
广东省人民医院	吉林大学中日联谊医院	山东大学第二医院
广东药科大学	吉林农业大学	山东大学口腔医院
广东医科大学	集美大学	山东大学齐鲁医院
广西大学	济南大学	山东第一医科大学
广西医科大学及附属医院	济南市儿童医院	山东省立医院
广州市红十字会医院	济南市中心医院	山东省千佛山医院
广州医科大学	济宁医学院	山东省眼科研究所
广州医科大学附属第二医院	暨南大学	山东省药学院
广州医科大学附属第三医院	暨南大学附属第一医院	山东省医学科学院基础医学研究所
广州医科大学附属第一医院	江苏大学	山东省医药生物技术研究中心
广州医科大学附属肿瘤医院	江苏大学附属医院	山东省肿瘤防治研究院
广州中医药大学	江苏省肿瘤医院	山西省人民医院
贵阳市第一人民医院	江西省人民医院	山西医科大学及附属医院
贵州医科大学	锦州医科大学	汕头大学
桂林医学院	军事医学科学院	上海大学
哈尔滨医科大学	昆明医科大学及附属医院	上海儿童医学中心
哈尔滨医科大学附属第二医院	昆明医学生物研究所	上海交通大学
哈尔滨医科大学附属第一医院	兰州大学及附属医院	上海交通大学附属第九人民医院
哈尔滨医科大学附属肿瘤医院	兰州军区兰州总医院	上海交通大学附属第六人民医院
海南大学	南昌大学	上海交通大学附属第一人民医院
海南省农业科学院畜牧兽医研究所	南昌大学附属第二医院	上海交通大学附属国际和平妇幼保健院
海南医学院	南昌大学附属第四医院	上海交通大学附属仁济医院
河北大学	南昌大学附属第一医院	上海交通大学附属瑞金医院
河北科技大学	南方科技大学	上海交通大学附属新华医院
河北省人民医院	南方医科大学	上海科技大学
河北医科大学	南方医科大学第三附属医院	上海市第一妇婴保健院
河北医科大学第二医院	南方医科大学南方医院	上海市公共卫生临床中心
河北医科大学第四医院	南方医科大学珠江医院	上海市胸科医院
河北医科大学第一医院	南京大学	上海中医药大学
河南大学	南京大学附属鼓楼医院	上海中医药大学附属龙华医院
河南科技大学	南京农业大学	上海中医药大学附属曙光医院
河南科技学院	南京师范大学	深圳大学
河南农业大学	南京市第一人民医院	深圳大学第三附属医院
河南省儿童医院	南京医科大学	深圳市第二人民医院
河南省妇幼保健院	南京医科大学第二附属医院	深圳市人民医院
河南省农业科学院	南京医科大学第一附属医院	沈阳药科大学
河南省人民医院	南京医科大学附属南京医院	沈阳医学院
河南省医药科学研究所	南京医科大学附属逸夫医院	石河子大学
黑龙江八一农垦大学	南京中医药大学	首都儿科研究所
黑龙江省医院	南开大学	首都医科大学
黑龙江省肿瘤医院	南通大学及附属医院	首都医科大学附属北京安贞医院
湖南省动物实验中心	内蒙古科技大学	首都医科大学附属北京朝阳医院
湖南省肿瘤医院	内蒙古科技大学包头医学院	首都医科大学附属北京地坛医院
华东理工大学	内蒙古农业大学	首都医科大学附属北京世纪坛医院
华东师范大学	内蒙古医科大学	首都医科大学附属北京天坛医院
华南理工大学	宁波大学	首都医科大学附属北京同仁医院
华南农业大学	宁夏医科大学	首都医科大学附属北京胸科医院
华南师范大学	宁夏医科大学总医院	首都医科大学附属北京友谊医院
华西第二医院	青岛大学	首都医科大学附属北京佑安医院
华西科技园	青岛大学附属医院	首都医科大学附属北京宣武医院
华西口腔医院	青岛眼科医院	四川大学
华中科技大学	青岛肿瘤医院	四川大学华西医院
华中科技大学同济医学院附属梨园医院	青海省人民医院	四川农业大学
华中科技大学同济医学院附属同济医院	清华大学	四川省人民医院
华中科技大学同济医学院附属协和医院	三峡大学	四川省肿瘤医院

苏州大学	香港浸会大学	中国人民解放军海军军医大学第一附属医院
苏州大学第二附属医院	香港理工大学深圳研究院	中国人民解放军海军总医院
苏州大学第一附属医院	香港中文大学	中国人民解放军空军军医大学
苏州大学附属儿童医院	香港中文大学深圳研究所	中国人民解放军空军军医大学第二附属医院
天府生命科技园	新疆医科大学	中国人民解放军空军军医大学第三附属医院
天津大学	新乡医学院	中国人民解放军空军军医大学第一附属医院
天津市畜牧兽医研究所	新乡医学院第一附属医院	中国人民解放军空军特色医学中心
天津市第五中心医院	徐州医科大学	中国人民解放军空军总医院
天津市第一中心医院	扬州大学及附属医院	中国人民解放军陆军军医大学
天津市环湖医院	右江民族医学院	中国人民解放军陆军军医大学第二附属医院
天津市口腔医院	云南大学	中国人民解放军陆军军医大学第三附属医院
天津市泌尿外科研究所	云南省第二人民医院	中国人民解放军陆军军医大学第一附属医院
天津市南开医院	云南省第三人民医院	中国人民解放军陆军特色医学中心
天津市眼科医院	云南省第一人民医院	中国人民解放军陆军总医院
天津市肿瘤医院	浙江大学	中国人民解放军南部战区总医院
天津医科大学	浙江大学附属第二医院	中国人民解放军西部战区总医院
天津医科大学第二医院	浙江大学附属第一医院	中国人民解放军中部战区总医院
天津医科大学眼科医院	浙江大学附属儿童医院	中国人民解放军总医院(301医院)
天津医科大学总医院	浙江大学附属妇产科医院	中国人民解放军总医院第七医学中心
天津中医药大学	浙江大学附属口腔医院	中国人民解放军总医院第四医学中心
天津中医药大学第一附属医院	浙江大学医学院附属邵逸夫医院	中国人民解放军总医院第五医学中心
同济大学	浙江省人民医院	中国人民解放军总医院第一医学中心
同济大学附属第十人民医院	浙江省肿瘤医院	中国药科大学
同济大学附属东方医院	浙江医院	中国医科大学
同济大学附属肺科医院	浙江中医药大学	中国医科大学附属第一医院
同济大学附属同济医院	镇江市第一人民医院	中国医科大学附属盛京医院
皖南医学院	郑州大学	中国医学科学院药物研究所
皖南医学院弋矶山医院	郑州大学第二附属医院	中国医学科学院阜外医院
温州医科大学	郑州大学第三附属医院	中国医学科学院肿瘤医院
温州医科大学附属第二医院	郑州大学第一附属医院	中国中医科学院
温州医科大学附属第一医院	中国海洋大学	中南大学
温州医科大学附属眼视光医院	中国科学技术大学	中南大学湘雅二医院
武汉大学	中国科学院成都生物研究所	中南大学湘雅三医院
武汉大学第一临床学院	中国科学院动物研究所	中南大学湘雅医学院
武汉大学附属口腔医院	中国科学院广州生物医药与健康研究院	中南大学湘雅医院
武汉大学人民医院	中国科学院昆明动物研究所	中南大学肿瘤研究所
武汉大学中南医院	中国科学院上海巴斯德研究所	中日友好医院
武汉科技大学	中国科学院上海细胞生物学研究所	中山大学
武汉市第三医院	中国科学院上海药物研究所	中山大学附属第六医院
西安电子科技大学	中国科学院上海营养与健康研究所	中山大学附属第三医院
西安交通大学	中国科学院上海有机化学研究所	中山大学附属第五医院
西安交通大学第二附属医院	中国科学院神经科学研究所	中山大学附属第一医院
西安交通大学第一附属医院	中国科学院生物物理研究所	中山大学附属眼科医院
西安交通大学口腔医院	中国科学院微生物研究所	中山大学孙逸仙纪念医院
西安市第一医院	中国科学院遗传与发育生物学研究所	中山大学肿瘤医院
西安市红会医院	中国农业大学	中美(河南)荷美尔肿瘤研究院
西安医学院	中国农业科学院上海兽医研究所	重庆大学
西北大学	中国人民解放军北部战区总医院	重庆大学附属肿瘤医院
西北工业大学	中国人民解放军第302医院	重庆三峡中心医院
西北农林科技大学	中国人民解放军第305医院	重庆市人民医院
西湖大学	中国人民解放军第307医院	重庆医科大学
西南大学	中国人民解放军第421医院	重庆医科大学附属第二医院
西南医科大学	中国人民解放军第一五七医院	重庆医科大学附属第一医院
西南医科大学第一附属医院	中国人民解放军东部战区总医院	重庆医科大学附属儿童医院
西南医科大学附属口腔医院	中国人民解放军海军军医大学	重庆医科大学附属口腔医院
香港大学	中国人民解放军海军军医大学第二附属医院	重庆医科大学附属永川医院
香港大学深圳研究院	中国人民解放军海军军医大学第三附属医院	遵义医科大学及附属医院

客户发表文献(部分)

- | | | | | | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>01 Fusobacterium nucleatum Promotes Chemoresistance to Colorectal Cancer by Modulating Autophagy
Cell
IF:41.582
上海交通大学医学院附属仁济医院</p> | <p>02 Moderate UV Exposure Enhances Learning and Memory by Promoting a Novel Glutamate Biosynthetic Pathway in the Brain
Cell
IF:41.582
中国科学技术大学</p> | <p>03 LECT2, a Ligand for Tie1, Plays a Crucial Role in Liver Fibrogenesis
Cell
IF:41.582
南方医科大学</p> | <p>25 Laterodorsal tegmentum interneuron subtypes oppositely regulate olfactory cue-induced innate fear
Nature Neuroscience
IF:24.884
浙江大学</p> | <p>26 TRIB3 Interacts with Beta-catenin and TCF4 to Increase Stem Cell Features of Colorectal Cancer Stem Cells and Tumorigenesis
Gastroenterology
IF:22.682
北京协和医院</p> | <p>27 TRIB3 Interacts With β-Catenin and TCF4 to Increase Stem Cell Features of Colorectal Cancer Stem Cells and Tumorigenesis
Gastroenterology
IF:22.682
中国医学科学院北京协和医学院</p> |
| <p>04 Local hyperthermia therapy induces browning of white fat and treats obesity
Cell
IF:41.582
中国科学院上海药物研究所</p> | <p>05 T lymphocyte membrane-decorated epigenetic nanoinducer of interferons for cancer immunotherapy
Nature Nanotechnology
IF:39.213
中国科学院上海药物研究所</p> | <p>06 TRIB3 Promotes APL Progression through Stabilization of the Oncoprotein PML-RARα and Inhibition of p53-Mediated Senescence
Cancer Cell
IF:31.743
中国医学科学院北京协和医学院</p> | <p>28 HACE1-mediated NRF2 activation causes enhanced malignant phenotypes and decreased radiosensitivity of glioma cells
Signal Transduction and Targeted Therapy
IF:18.187
西安交通大学</p> | <p>29 Neuronal NR4A1 deficiency drives complement-coordinated synaptic stripping by microglia in a mouse model of lupus
Signal Transduction and Targeted Therapy
IF:18.005
南京大学医学院附属鼓楼医院</p> | <p>30 TRIB3 reduces CD8⁺ T cell infiltration and induces immune evasion by repressing the STAT1-CXCL10 axis in colorectal cancer
Science Translational Medicine
IF:17.956
中国医学科学院药物研究所</p> |
| <p>07 Neuraminidase 1 is a driver of experimental cardiac hypertrophy
European Heart Journal
IF:29.983
中国药科大学</p> | <p>08 Targeting E3 Ubiquitin-Ligase WWP1 Prevents Cardiac Hypertrophy Through Destabilizing DVL2 via Inhibition of K27-Linked Ubiquitination
Circulation
IF:29.690
航天医学基础与应用国家重点实验室</p> | <p>09 SNO-MLP (S-Nitrosylation of Muscle LIM Protein) Facilitates Myocardial Hypertrophy Through TLR3 (Toll-Like Receptor 3)-Mediated RIP3 (Receptor-Interacting Protein Kinase 3) and NLRP3 (NOD-Like Receptor Pyrin Domain Containing 3) Inflammasome Activation
Circulation
IF:29.690
南京医科大学</p> | <p>31 SIRT3 Acts As a Negative Regulator of Autophagy Dictating Hepatocyte Susceptibility to Lipotoxicity
Hepatology
IF:17.425
芝加哥伊利诺伊大学/浙江大学</p> | <p>32 A New Strategy of Vascular-targeted Therapy for Liver Fibrosis
Hepatology
IF:17.425
南方医科大学</p> | <p>33 E3 ubiquitin ligase RNF5 protects against hepatic ischemia reperfusion injury by mediating PGAM5 ubiquitination
Hepatology
IF:17.425
郑州大学第一附属医院</p> |
| <p>10 CircPSMC3 suppresses the proliferation and metastasis of gastric cancer by acting as a competitive endogenous RNA through sponging miR-296-5p
Molecular Cancer
IF:27.401
南京医科大学第一附属医院</p> | <p>11 The circRNA circSEPT9 mediated by E2F1 and EIF4A3 facilitates the carcinogenesis and development of triple-negative breast cancer
Molecular Cancer
IF:27.401
重庆医科大学</p> | <p>12 Long non-coding RNA NORAD/miR-224-3p/MTDH axis contributes to CDDP resistance of esophageal squamous cell carcinoma by promoting nuclear accumulation of β-catenin
Molecular Cancer
IF:27.401
河北医科大学</p> | <p>34 Low expression of TRAF3IP2-AS1 promotes progression of NONO-TFE3 translocation renal cell carcinoma by stimulating N6-methyladenosine of PARP1 mRNA and downregulating PTEN
Journal of Hematology & Oncology
IF:17.388
南京大学</p> | <p>35 atg7-Based Autophagy Activation Reverses Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity
Circulation Research
IF:17.367
北京中医药大学</p> | <p>36 TNFR2 Stimulation Promotes Mitochondrial Fusion via Stat3- and NF-κB-Dependent Activation of OPA1 Expression
Circulation Research
IF:17.367
浙江大学</p> |
| <p>13 Circ3823 contributes to growth, metastasis and angiogenesis of colorectal cancer: involvement of miR-30c-5p/TCF7 axis
Molecular Cancer
IF:27.401
郑州大学</p> | <p>14 Exosomal circSHKBP1 promotes gastric cancer progression via regulating the miR-582-3p/HUR/VEGF axis and suppressing HSP90 degradation
Molecular Cancer
IF:27.401
南京医科大学第一附属医院</p> | <p>15 CircECE1 activates energy metabolism in osteosarcoma by stabilizing c-Myc
Molecular Cancer
IF:27.401
浙江大学医学院附属邵逸夫医院</p> | <p>37 Longterm Exercise-Derived Exosomal miR-342-5p: A Novel Exerkine for Cardioprotection
Circulation Research
IF:17.367
空军军医大学</p> | <p>38 Protective effect of HINT2 on mitochondrial function via repressing MCU complex activation attenuates cardiac microvascular ischemia-reperfusion injury
Basic Research in Cardiology
IF:17.165
复旦大学附属中山医院</p> | <p>39 PSD93 up-regulates the synaptic activity of corticotropin-releasing hormone neurons in the paraventricular nucleus in depression
Acta Neuropathologica
IF:17.088
中国科学技术大学</p> |
| <p>16 Reducing Hypothalamic Stem Cell Senescence Protects against Aging-Associated Physiological Decline
Cell Metabolism
IF:27.287
中南大学湘雅医院</p> | <p>17 Small extracellular vesicles deliver osteolytic effectors and mediate cancer-induced osteolysis in bone metastatic niche
Journal of Extracellular Vesicles
IF:25.841
陆军军医大学西南医院</p> | <p>18 Extracellular vesicle-mediated delivery of circDYM alleviates CUS-induced depressive-like behaviours
Journal of Extracellular Vesicles
IF:25.841
东南大学</p> | <p>40 High mobility group AT-hook 1 (HMGA1) is an important positive regulator of hepatitis B virus (HBV) that is reciprocally upregulated by HBV X protein
Nucleic Acids Research
IF:16.971
复旦大学上海医学院</p> | <p>41 AKAP1 Deficiency Attenuates Diet-Induced Obesity and Insulin Resistance by Promoting Fatty Acid Oxidation and Thermogenesis in Brown Adipocytes
Advanced Science
IF:16.806
空军军医大学</p> | <p>42 Nanoprobes-Assisted Multichannel NIR-II Fluorescence Imaging-Guided Resection and Photothermal Ablation of Lymph Nodes
Advanced Science
IF:16.806
浙江大学医学院附属邵逸夫医院</p> |
| <p>19 Sja-miR-71a in Schistosoma egg-derived extracellular vesicles suppresses liver fibrosis caused by schistosomiasis via targeting semaphorin 4D
Journal of Extracellular Vesicles
IF:25.841
中山大学</p> | <p>20 Exosomes derived from osteogenic tumor activate osteoclast differentiation and concurrently inhibit osteogenesis by transferring COL1A1-targeting miRNA-92a-1-5p
Journal of Extracellular Vesicles
IF:25.814
空军军医大学西京医院</p> | <p>21 METTL3-mediated N6-methyladenosine mRNA modification enhances long-term memory consolidation
Cell Research
IF:25.617
中国科学院遗传与发育生物学研究所</p> | <p>43 VAScular smooth muscle cell-derived hydrogen sulfide promotes atherosclerotic plaque stability via TFEB (transcription factor EB)-mediated autophagy
Autophagy
IF:16.016
中国医学科学院阜外医院</p> | <p>44 Discovery of a potent SCAP degrader that ameliorates HFD-induced obesity, hyperlipidemia and insulin resistance via an autophagy-independent lysosomal pathway
Autophagy
IF:16.016
中国药科大学</p> | <p>45 Endoplasmic reticulum stress induced by tunicamycin and thapsigargin protects against transient ischemic brain injury: Involvement of PARK2-dependent mitophagy
Autophagy
IF:16.016
浙江大学</p> |
| <p>22 Oncogenic AURKA-enhanced N6-methyladenosine modification increases DROSHA mRNA stability to transactivate STC1 in breast cancer stem-like cells
Cell Research
IF:25.617
大连医科大学</p> | <p>23 Targeting Nestin+ hepatic stellate cells ameliorates liver fibrosis by facilitating TβRI degradation
Journal of Hepatology
IF:25.083
中山大学第三附属医院</p> | <p>24 Anterior cingulate cortex dysfunction underlies social deficits in Shank3 mutant mice
Nature Neuroscience
IF:24.884
空军军医大学</p> | <p>46 Mir143-BBC3 cascade reduces microglial survival via interplay between apoptosis and autophagy: Implications for methamphetamine-mediated neurotoxicity
Autophagy
IF:16.016
东南大学</p> | <p>47 PSMD10/gankyrin induces autophagy to promote tumor progression through cytoplasmic interaction with ATG7 and nuclear transactivation of ATG7 expression
Autophagy
IF:16.016
上海东方肝胆医院</p> | <p>48 HIF1A Alleviates compression-induced apoptosis of nucleus pulposus derived stem cells via upregulating autophagy
Autophagy
IF:16.016
华中科技大学同济医学院附属协和医院</p> |

产品与服务

工具病毒载体

慢病毒	常规基因过表达和干扰; CRISPR/Cas9慢病毒;	miRNA/circRNA/lncRNA慢病毒 慢病毒稳定细胞株; 慢病毒现货
腺相关病毒	常规基因过表达和干扰; 组织特异性启动子系列AAV; 光遗传/化学遗传/钙指示剂; 组织特异性DIO AAV;	常规血清型/特异性血清型 CRISPR/Cas9 腺相关病毒 跨血脑屏障AAV/逆行示踪AAV AAV-Cre circRNA/lncRNA/miRNA腺相关病毒
腺病毒	常规基因过表达和干扰; 悬浮细胞专用腺病毒Ads; 腺病毒现货; 纯化腺病毒;	miRNA/circRNA/lncRNA腺病毒 CRISPR/Cas9腺病毒 荧光探针工具腺病毒

科研热点专题

自噬研究	王牌产品: 自噬检测金指标mRFP-GFP-LC3(现为mCherry-zsGreen-LC3)双标病毒 动物活体自噬检测工具AAV-mRFP-GFP-LC3 线粒体自噬工具 自噬相关基因质粒/病毒现货	
CRISPR/Cas9	CRISPR/Cas9单克隆敲除细胞株; CRISPR/Cas9 慢病毒/腺病毒;	在体敲除AAV-saCas9 CRISPR/Cas9相关质粒
非编码RNA	miRNA过表达/干扰病毒载体; circRNA过表达/干扰病毒载体; miRNA/lncRNA/circRNA功能验证	lncRNA过表达/干扰病毒载体 miRNA/lncRNA/circRNA检测
双荧光素酶检测	转录因子结合位点与启动子活性分析; lncRNA吸附miRNA验证; 编码基因和编码基因的相互作用; 蛋白和RNA相互作用研究	miRNA靶基因验证 circRNA吸附miRNA验证 信号通路激活验证

合成与质粒构建

cDNA合成 siRNA/miRNA合成	病毒载体构建 真核/原核表达载体构建 荧光素酶报告系统载体构建
-------------------------	---------------------------------------

自主研发试剂

Savelt抗支原体系列产品: 抗支原体试剂 细胞培养三抗 抗支原体喷雾 支原体检测试剂盒	HB-infusion无缝克隆试剂盒
转染试剂系列: LipoFiter及LipoFiter3.0高效转染试剂 RNA转染试剂RNAFit 慢病毒包装专用转染试剂LentiFit	CCK-8细胞增殖检测试剂盒
HBStart Green qPCR Premix	黑胶虫去除试剂
	双荧光素酶检测试剂盒 荧光素酶 (Firefly) 检测试剂盒
	HBScript 反转录试剂盒

重点推进五个领域

1 AAV体内基因转导与治疗技术的开发应用

汉恒生物AAV项目: 人类的大部分疾病, 包括癌症, 其根源都是基因的突变导致的基因功能紊乱。基因的问题基因治, AAV是迄今为止最安全、最良好、最有前景的基因治疗工具。汉恒生物建立了国内最大且稳定的AAV技术平台, 2015年正式对国内科研与研发市场开放服务。

2 CRISPR/Cas9基因编辑技术的开发与应用

汉恒生物的CRISPR/Cas9新一代基因编辑技术, 在原有体系的基础上, 进行了AAV-saCas9的进一步研发与提升, 是领先的活体基因编辑工具。未来, 基因编辑有望进军临床, 汉恒已在此领域进行了充分的技术研发储备。

3 免疫细胞基因转导技术的开发与应用

汉恒研发团队基于基因转导的修饰技术, 已开发出国际领先的免疫T细胞基因转导技术, 将持续进行专利申报, 并开始服务于肿瘤免疫治疗的研究和临床应用。

4 药物筛选工具体系开发

汉恒基于药物靶标信号通路的报告基因系统, 陆续开发出适合药物筛选应用的药筛稳定工具细胞, 目前陆续向市场开放, 国内外药物研发人员应用汉恒的药筛工具细胞, 筛选到更多的药物分子。

5 自主知识产权的试剂研发

汉恒试剂团队已陆续开发了LipoFiter™系列转染试剂、Savelt™抗支原体系列产品、HB-infusion™无缝克隆试剂盒、荧光素酶检测试剂盒、CCK-8细胞增殖检测试剂盒。



RESEARCH HOTSPOT

2 基因调控工具

GENE REGULATION TOOL

基因调控工具选择指南

在实际的应用中,我们需要根据实验目的来选择适合的基因操作工具。首先需要考虑的是,研究对象是细胞还是动物,如果是细胞实验,可选择慢病毒或者腺病毒,如果是动物实验,通常选择腺相关病毒(AAV)来实现精准的基因递送;其次还需要考虑工具病毒载体的表达时间与实验观察时间是否相符、其可容纳的基因片段大小与目的基因大小是否匹配等因素。

	质粒	慢病毒	腺相关病毒	腺病毒
是否整合	转染与整合效率很低	随机整合并稳定遗传	不整合	不整合
表达丰度及速度	24hr开始表达	高水平表达,细胞水平72hr达到稳定,动物水平,约需要96hr开始表达	表达慢,细胞水平需要3-4天左右,动物水平需要2周左右开始表达	高水平表达,细胞水平36hr可达到高峰,动物水平约72hr达到高峰
维持表达时间	3-7天	稳定表达	稳定表达3-6月	体内1-3周,体外一周
滴度	-	10 ⁸ TU/ml 10 ⁹ TU/ml	10 ¹² v.g/ml 10 ¹³ v.g/ml	10 ¹¹ PFU/ml 10 ¹⁰ PFU/ml
克隆容量	5-8kb的外源基因片段	不超过4kb的外源片段,滴度随插入片段长度增加可能降低	不超过4kb的外源片段	高达5.5kb的外源片段,滴度随插入片段长度增加而降低
细胞实验	细胞系,部分细胞转染效率低	适合,广谱	AAV-DJ比较适合,其他血清型感染效率较差	适合,广谱,感染效率高,适合原代细胞感染
动物实验	不适合	感染效率低,根据观察时间和注射部位选择	非常适合(首选),极低免疫原性	较适合,免疫原性较高,根据观察时间和注射部位选择

慢病毒

适用于几乎所有细胞系,整合基因组,可用于构建稳定细胞株

慢病毒(Lentivirus)载体是以HIV-1(人类免疫缺陷I型病毒)为基础发展起来的基因治疗载体。慢病毒载体可以将外源基因或外源的shRNA有效地整合到宿主染色体上,可有效地感染分裂细胞和非分裂细胞,如神经元细胞、肝癌细胞、肿瘤细胞、内皮细胞、干细胞等多种类型的细胞(逆转录病毒通常只能感染分裂型细胞),所以慢病毒载体能大大提高目的基因或目的shRNA的转导效率,能够方便快捷地实现目的基因或shRNA的长期、稳定表达。

慢病毒特点

<p>//// 感染范围广</p> <p>慢病毒可有效感染分裂和非分裂细胞, 适合几乎所有细胞系, 如神经元细胞、肝细胞、心肌细胞、肿瘤细胞、内皮细胞、干细胞等。</p>	<p>//// 可稳定表达</p> <p>慢病毒可将外源基因整合到宿主细胞基因组上, 不随着细胞的分裂传代而丢失, 可实现目的基因的长时间稳定表达。</p>	<p>//// 操作安全性高</p> <p>慢病毒采用的是自失活复制缺陷型病毒株, 保障操作安全。</p>
----------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------

汉恒慢病毒优势

低细胞毒性 (超速离心纯化工艺)	无支原体污染	无内毒素、外源微生物 无宿主核酸残留	滴度可高达 10 ⁹ TU/mL	以客户为中心的 强大售后服务体系	庞大的慢病毒现货库
---------------------	--------	-----------------------	--------------------------------	---------------------	-----------

产品类型

常规滴度慢病毒	10 ⁸ TU/ml	适用于普通细胞系感染
高滴度慢病毒	10 ⁹ TU/ml	适用于难转染细胞系, 如悬浮细胞或用于动物体内实验

产品列表

- 常规基因的过表达和干扰定制
- miRNA sponge/antago定制
- 稳定株筛选服务
- circRNA/LncRNA/miRNA过表达和干扰定制
- CRISPR/Cas9慢病毒定制及敲除单克隆
- 慢病毒现货产品

汉恒慢病毒载体

载体名称	用途	启动子	容量	抗药标记	荧光标记
pHBLV-CMV-MCS-EF1-RFP-T2A-puro	过表达	CMV	2.5kb	Puromycin	RFP
pHBLV-CMV-MCS-EF1-ZsGreen-T2A-puro	过表达	CMV	2.5kb	Puromycin	ZsGreen
pHBLV-CMV-MCS-EF1-Luc-T2A-Puro	过表达	CMV	2.0kb	Puromycin	Luc
pHBLV-CMV-MCS-EF1-Puro	过表达	CMV	3.0kb	Puromycin	无
pHBLV-CMV-MCS-T2A-Puro	过表达	CMV	3.0kb	Puromycin	无
pHBLV-CMV-MCS-T2A-ZsGreen	过表达	CMV	3.0kb	无	ZsGreen
pCDH-CMV-MCS-EF1-RFP-T2A-Puro	过表达	CMV	3.0kb	Puromycin	RFP
pHBLV-Tet-on-SV40-puro	Tet-on过表达	TRE3G	1.5kb	Puromycin	无
pHBLV-CMV-crRNA-EF1-zsGreen-T2A-puro	环状RNA过表达	CMV	2.5kb	无	GFP
pHBLV-U6-MCS-EF1-mCherry-T2A-puro	干扰	U6	shRNA	Puromycin	mCherry
pHBLV-U6-MCS-CMV-ZsGreen-PGK-Puro	干扰	U6	shRNA	Puromycin	ZsGreen
pHBLV-U6-MCS-EF1-Luc-T2A-Puro	干扰	U6	shRNA	Puromycin	Luc
pHBLV-U6-MCS-EF1-ZsGreen-T2A-Luc	干扰	U6	shRNA	无	ZsGreen/Luc
pHBLV-U6-MCS-EF1-RFP-T2A-Luc	干扰	U6	shRNA	无	RFP/Luc
pHBLV-U6-MCS-EF1-Luc-T2A-BSD	干扰	U6	shRNA	Blasticidin	Luc
pHBLV-U6-MCS-CMV-ZsGreen	干扰	U6	shRNA	无	ZsGreen
pHBLV-U6-MCS-PGK-puro	干扰	U6	shRNA	Puromycin	无
pHBLV-U6-gRNA-EF1α-Cas9-puro	Cas9/gRNA	EF1α/U6	Cas9/gRNA	Puromycin	无
pHBLV-EF1α-cas9-CMV-puro	cas9	EF1α	Cas9	Puromycin	无
pHBLV-U6-gRNA-EF1α-puro	gRNA	U6	gRNA	Puromycin	无

汉恒慢病毒客户案例

客户案例1

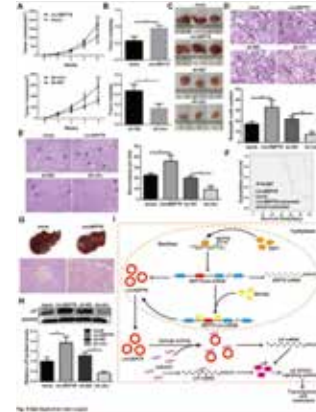
客户单位:重庆医科大学

杂志:Molecular cancer, IF=27.401

The circRNA circSEPT9 mediated by E2F1 and EIF4A3 facilitates the carcinogenesis and development of triple-negative breast cancer

使用方法:

使用慢病毒构建circSEPT9/对照、或sh-circSEPT9/sh-NC的稳定表达MDA-MB-231细胞株,进行小鼠皮下接种,接种量为 2.5×10^6 , 200uL。



● 文章Figure 9 circSEPT9促进TNBC细胞的肿瘤发生和转移

客户案例2

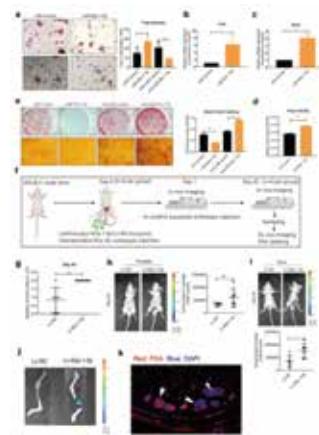
客户单位:第四军医大学西京医院

杂志:Journal of Extracellular Vesicles, IF=25.841

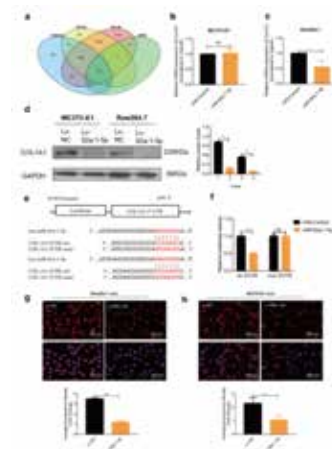
Exosomes derived from osteogenic tumor activate osteoclast differentiation and concurrently inhibit osteogenesis by transferring COL1A1-targeting miRNA-92a-1-5p

使用方法:

用慢病毒(pHBLV-U6-mir-92a-1-5p-EF1-LUC-PURO)转染Raw264.7和MC3T3-E1细胞(MOI=10),后使用 $4\mu\text{g}/\text{mL}$ 嘌呤霉素进行筛选,持续6天。pHBLV-U6-mir-92a-1-5p-EF1-LUC-PURO慢病毒感染PCa细胞,随后将 $25\mu\text{l}$ 细胞悬液(2.510^6 个细胞/接种液)缓慢注入骨髓腔。



● 文章Figure 8 miR-92a-1-5p诱导破骨细胞分化,抑制成骨细胞生成,促进前列腺癌骨转移



● 文章Figure 9 miR-92a-1-5p targets COLA and type I collagen

客户案例3

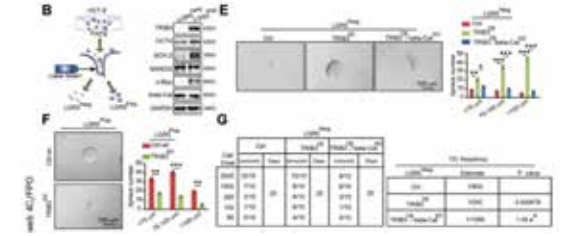
客户单位:北京协和医院

杂志:Gastroenterology, IF=22.682

TRIB3 Interacts with Beta-catenin and TCF4 to Increase Stem Cell Features of Colorectal Cancer Stem Cells and Tumorigenesis

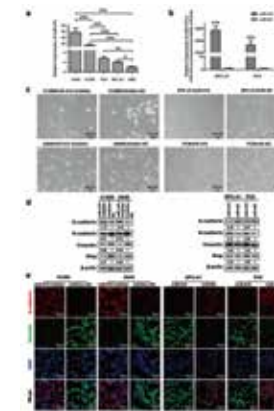
使用方法:

构建稳转株HCT-8/LGR5。感染48小时后,在含有嘌呤霉素的培养基中稳定表达的细胞筛选,培养14天后进行细胞分选。



● 文章Figure S3 TRIB3支持CRC细胞系的CCSC特征

客户案例4



● 文章Figure 1 miR-410促进NSCLC细胞的EMT

客户单位:四川大学华西医院

杂志:Signal Transduction and Targeted Therapy, IF=18.187

miR-410 induces both epithelial-mesenchymal transition and radioresistance through activation of the PI3K/mTOR pathway in non-small cell lung cancer

使用方法:

慢病毒感染SPC-A1和PC9,嘌呤霉素筛选建立稳定的mir-410过表达和对照细胞株。

客户案例5

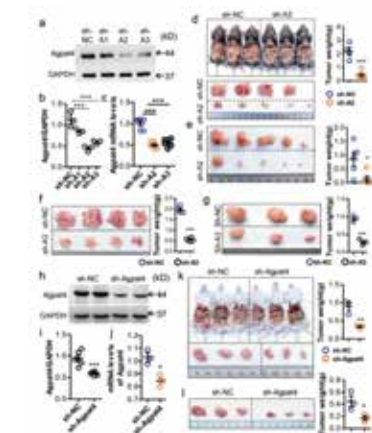
客户单位:西南医科大学

杂志:Signal Transduction and Targeted Therapy, IF=18.187

The Agpat4/LPA axis in colorectal cancer cells regulates antitumor responses via p38/p65 signaling in macrophages

使用方法:

构建3条shRNA慢病毒并选择了最有效的一条,建立Agpat4沉默的MC-38稳转细胞株。腹腔注射MC-38稳转株(每只小鼠0.1mL含 4.0×10^6 个细胞的PBS溶液)。

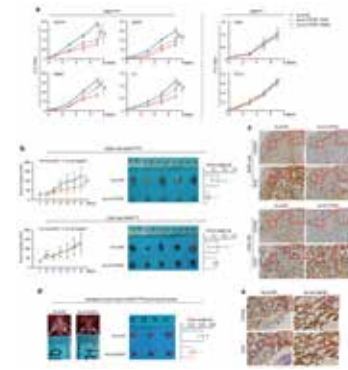


● 文章Figure 2 Agpat4沉默抑制肿瘤进展

■ 客户案例6

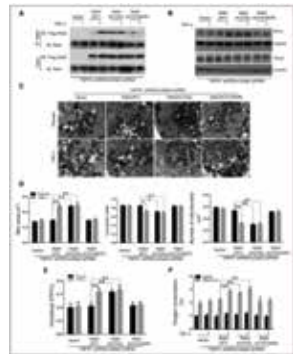
客户单位:西安交通大学附属第一医院
 杂志:Signal Transduction and Targeted Therapy, IF=18.187
 CYP2S1 is a synthetic lethal target in BRAFV600E-driven thyroid cancers

使用方法:
 慢病毒感染8305C和C643细胞(MOI=20-60),后用2μg/mL嘌呤霉素筛选2周。皮下接种慢病毒稳转株8305C(5×10⁶)和C643(3×10⁶)。



● 文章Figure 8 靶向CYP2S1是BRAFV600E突变甲状腺癌细胞的有效治疗策略

■ 客户案例7



● 文章Figure 7 K370和K383的乙酰化对OPA1的表达和TNFR2处理的心肌细胞的线粒体融合至关重要

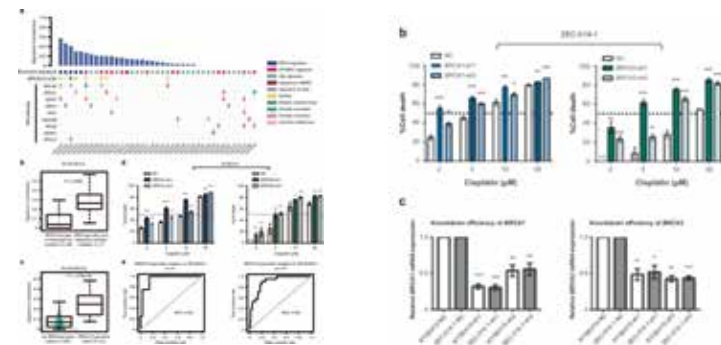
客户单位:浙江大学
 杂志:Circulation research, IF=17.367
 TNFR2 Stimulation Promotes Mitochondrial Fusion via Stat3- and NF-κB-Dependent Activation of OPA1 Expression

使用方法:
 慢病毒感染NMCMs

■ 客户案例8

客户单位:深圳北京大学香港科技大学医学中心
 杂志:Nature Communications, IF= 14.919
 Multi-region sequencing unveils novel actionable targets and spatial heterogeneity in esophageal squamous cell carcinoma

使用方法:
 食管鳞状细胞癌细胞系KYSE410和ZEC-014-1,细胞汇合率达到40-50%时进行慢病毒感染。

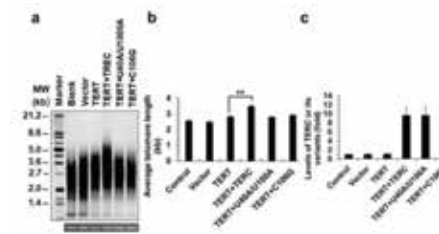


● 文章Figure 4 BRCA1/2基因变异特征是食管鳞状细胞癌的一个潜在治疗靶点
 ● 文章Supplementary Figure 9 BRCA1/2突变与食管鳞状细胞癌对顺铂的敏感性相关

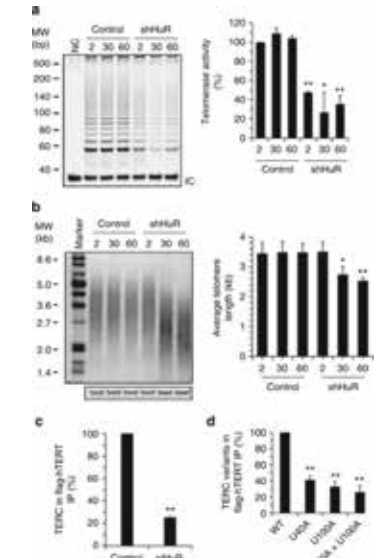
■ 客户案例9

客户单位:北京大学
 杂志:Nature Communications, IF= 14.919
 HuR regulates telomerase activity through TERC methylation

使用方法:
 汉恒提供构建慢病毒表达质粒的载体,客户用于构建过表达和敲低的质粒并包病毒进行细胞(HeLa)感染。

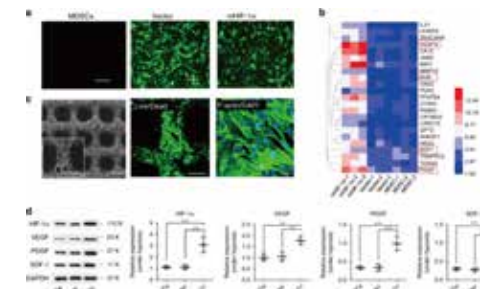


● 文章Supplementary Figure 10 TERC中HuR结合基序的突变或甲基化位点的突变减弱了TERC对端粒酶活性的维持



● 文章Figure 4 (a-b) HuR调控端粒酶活性

■ 客户案例10



● 文章Figure 2 带有HIF-1α基因突变的MDSCs细胞的特点

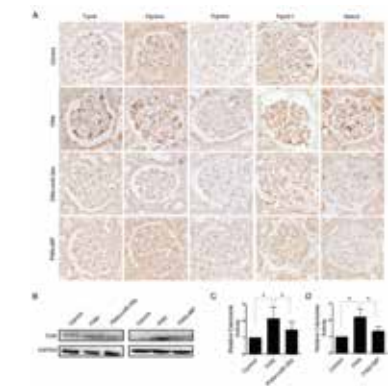
客户单位:广州医科大学第三附属医院
 杂志:Nature Communications, IF= 14.919
 Functional reconstruction of injured corpus cavernosa using 3D-printed hydrogel scaffolds seeded with HIF-1α-expressing stem cells

使用方法:
 MDSCs(muscle-derived stem cells)细胞传至3-4代,细胞汇合率达到30-50%时进行慢病毒感染(MOI=1-20),配合使用polybrene提升感染率,6-8h换液,48-72h进行GFP荧光成像确定转染效率。

■ 客户案例11

客户单位:南京大学
 杂志:The Journal of Clinical Investigation, IF=14.808
 MicroRNA-30 family members regulate calcium/calcineurin signaling in podocytes

使用方法:
 100 μl 慢病毒,肾内注射。



● 文章Supplemental Figure S3 在嘌呤霉素氨基核苷处理的大鼠肾脏足细胞中,过表达外源miR-30a或加入糖皮质激素后,细胞中Trpc6, Ppp3ca, Ppp3cb, Ppp3r1和Nfatc3的蛋白表达变化

客户案例12

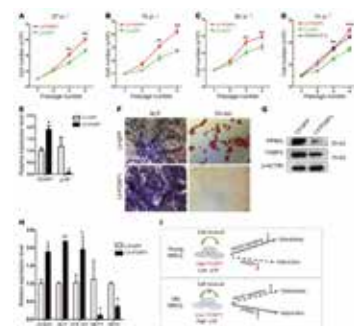
客户单位:上海交通大学仁济医院

杂志: The Journal of Clinical Investigation, IF=14.808

FOXP1 controls mesenchymal stem cell commitment and senescence during skeletal aging

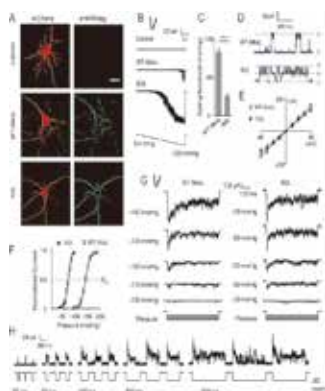
使用方法:

hMPCs细胞 (10⁵ cells/3.5mm dishes, MOI=20), 慢病毒感染24 h, puromycin (1μg/mL) 筛选3天。



● 文章Figure 7 在hMPCs中过表达FOXP1, 可以增强细胞的复制扩增能力

客户案例13



客户单位:浙江大学

杂志: Nano Letters, IF= 11.189

Ultrasonic Control of Neural Activity through Activation of the Mechanosensitive Channel MscL

使用方法:

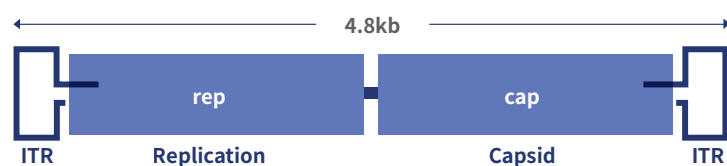
慢病毒感染大鼠海马细胞, 大鼠出生后day0进行海马组织分离纯化, 7天后进行慢病毒感染, 14天后(感染7天之后)进行实验。

● 文章Figure 1 在神经中表达MscL (Escherichia coli mechanosensitive channel of large conductance) 通道

腺相关病毒

适用于动物在体感染, 具有很强的组织特异性

腺相关病毒(AAV)属微小病毒科(parvovirus), 为无包膜的单链线状DNA病毒。典型AAV2的基因组约4800 bp, 包括上下游两个开放阅读框(ORF), 位于分别由145个核苷酸组成的2个反向末端重复序列(ITR)之间。只有在腺病毒或者疱疹病毒等辅助病毒协助下, 宿主才能产生具有感染能力的AAV, 所以AAV才被称作腺相关病毒。AAV具有多种血清型, 可以特异性靶向感染不同的组织或器官, 是动物体内基因转导的首选工具。



● AAV2基因组示意图

AAV特点



安全

AAV不参与任何疾病的发生, 已经用于临床疾病的治疗;



高效

病毒滴度高达10¹³以上, 组织感染能力超强;



表达周期久

AAV免疫原性低, 基因持续表达3-6个月以上;



最全血清型

可以感染几乎所有的组织和脏器;



组织特异性

拥有最全的组织特异性启动子工具箱, 如心脏、肝脏、肌肉以及各种神经元特异的启动子等。

汉恒AAV优势

多次荣登CELL
等顶级期刊

无支原体污染

无内毒素、
外源微生物、
无宿主核酸残留

滴度可高达
10¹⁴v.g/mL

以客户为中心的
强大售后服务体系

血清型全, 可以感染
几乎所有组织和脏器

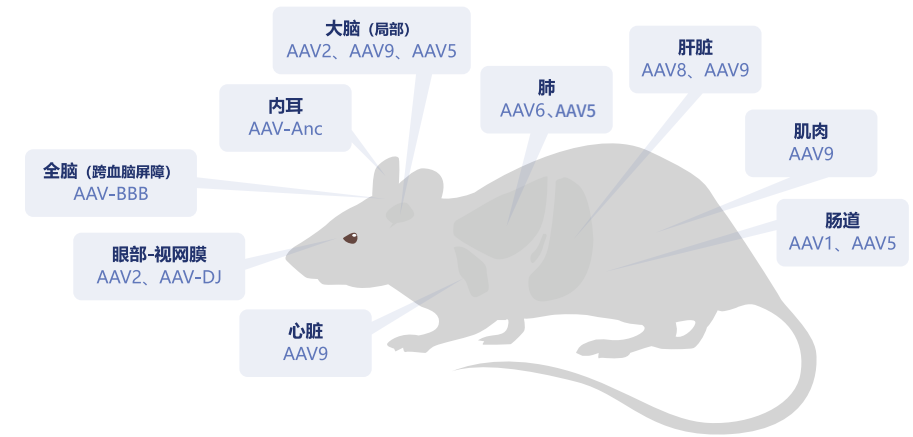
种类丰富的组织
特异性启动子

产品列表

- 常规基因的过表达和干扰定制
- 光遗传、化学遗传、钙指示剂、跨血脑屏障AAV、逆行示踪AAV
- 组织特异性启动子系列AAV
- 组织特异性DIO AAV、AAV-Cre
- CRISPR/Cas9 AAV
- circRNA/LncRNA/miRNA过表达和干扰定制

注射方式及血清型推荐

注射部位	汉恒推荐的血清型	注射方式	动物	注射体积 (μL)
心脏	AAV9	原位多点注射 (局部)	大鼠	10-15μL/点, 5个点
			小鼠	10-15μL/点, 3-5个点
		尾静脉注射 (系统性)	大鼠	250μL (200g 体重)
			小鼠	100μL
肝脏	AAV8	尾静脉注射	大鼠	200μL (200g 体重)
	AAV9		小鼠	100μL
全脑	AAV-BBB	尾静脉注射	大鼠	250-300μL
			小鼠	100μL
大脑 (局部)	AAV9, AAV2, AAV5	立体定位注射	大鼠	1-5μL
			小鼠	0.2-2μL
脊髓	AAV5, AAV1, AAV9	鞘内注射	大鼠	20-50μL
			小鼠	10-20μL
脂肪	AAV9	腹内脂肪-腹腔注射	大鼠	300μL
			小鼠	150-200μL
		皮下脂肪-原位注射	大鼠	10-15μL/点, 5-8个点
			小鼠	10-15μL/点, 5-8个点
骨骼肌	AAV9	原位多点注射	大鼠	10-15μL/点, 3-5个点
			小鼠	10-15μL/点, 3-5个点
眼睛	AAV2	玻璃体腔注射	大鼠	3~5μL
			小鼠	1-2μL
	AAV-DJ	视网膜下腔注射	大鼠	3~5μL
			小鼠	1-2μL
肺脏	AAV6, AAV5	无创气管注射/滴鼻	大鼠	100-150μL (200g体重)
			小鼠	50-75μL
肾脏	AAV2或AAV9	肾脏肾盂原位注射	小鼠	100μL
肠道	AAV1或AAV5	灌肠/腹腔注射	大鼠	250-300μL (200g 体重)
			小鼠	200μL
血管 (内皮为主)	AAV1或AAV5	腹主动脉局部感染	大鼠	50μL



组织特异性AAV

特异性启动子AAV

组织	启动子名称	启动子特性
神经	hSyn	神经元特异性启动子
	mecp2	较短的神经元特异性启动子
	TUBA1A (Ta1)	早期神经元特异性启动子
	c-fos	兴奋神经元启动子
	CaMKIIα	前脑谷氨酸能神经元特异性启动子
	hVGAT	GABA能神经元/中间神经元特异性启动子
	TH	多巴胺神经元特异性表达启动子
	gfaABC1D (minimal GFAP)	星形胶质细胞特异性启动子
	CD68	小胶质细胞特异性启动子
心脏	CNP (NPPC)	少突胶质细胞或施万细胞特异性表达启动子
	cTNT	心肌细胞特异性启动子
肌肉	SM22a	平滑肌特异性启动子
	MHCK7	肌肉特异性启动子
	ACTA1 (synthesized Spc5-12)	肌细胞特异性启动子
肺	SP-C (SFTPC)	肺上皮细胞特异性启动子
肝脏	TBG	肝脏特异性启动子
脂肪	FABP4 (aP2)	脂肪细胞特异性启动子
内皮	TIE	内皮细胞特异性启动子
视网膜	rpe65	视网膜特异性启动子

特异性血清型AAV

血清型名称	对应特异性细胞
AAV-shH10	视网膜穆勒细胞
AAV-Vec	内皮细胞
AAV-MG	小胶质细胞
AAV-br1	脑血管内皮细胞特异
AAV-anc80L	视网膜, 内耳

光遗传学AAV

光遗传学 (optogenetics) 是一门结合了光学 (optics) 及遗传学 (genetics) 的跨学科技术, 其最大的特点是在活体动物甚至是自由运动的动物脑内, 实时精准地控制特定类型神经元的活动。光遗传学在时间上的精确度可达到毫秒级别, 在空间上的精确度则能达到单个细胞级别。2010年, 光遗传学被 Nature Methods 选为年度方法, 同年被 Science 认为是近十年来的突破之一。这项技术目前在神经科学领域应用非常广泛, 未来可能会应用于多种神经和精神疾病的治疗, 如帕金森氏病、阿尔茨海默病、脊髓损伤、精神分裂症等。

激活神经元的通道蛋白

- ChR2(H134R): ChR2的突变体, 将第134个氨基酸由组氨酸突变为精氨酸, 该蛋白质可以产生两倍的光电流, 但通道开关速度也比野生的ChR2慢了一倍;
- ChR2(C128S/D156A): ChR2的突变体, 超灵敏光敏感通道, 用蓝色激光打开通道, 然后用绿色或黄色激光关闭通道, 可以打开其离子通道长达30分钟;
- ChR2(E123T/T159C): ChR2的突变体, 更大的光电流和更快的动力学变化;
- ChETA: ChR2的突变体, 使得神经元在激光刺激下可以发放200 Hz的spike, 而其他的ChR2通道蛋白只能达到
- C1V1: 由ChR1及由团藻发现的VChR1组合在一起的通道蛋白, 在红色激光刺激下打开通道。

抑制神经元活动的通道蛋白

- NpHR: 即为Halorhodopsin, 第一个有效抑制神经元活动的光遗传学工具, 在黄绿激光照射下会将氯离子打进神经元内, 从而抑制神经元活动。当把NpHR表达在哺乳动物脑内时, 会聚集在内质网上, 如果将内质网输出元件加在NpHR基因序列后面, 这样可以使得NpHR在胞内高量表达, 而且不会聚集在内质网上, 这样修改过的NpHR被称为eNpHR2.0。但是eNpHR2.0在细胞膜的聚集仍然不够, 而将一个高尔基体输出元件和来自于钾离子通道Kir2.1的上膜元件加在eNpHR2.0基因序列后面, 这样就能实现在神经元细胞膜上的高量聚集, 这样修改过的NpHR被称为eNpHR3.0。
- Arch: 即为archaerhodopsin, 是一种黄色激光激活的外向整流质子泵, 能够将带正电的质子从神经元内移动到细胞外环境中, 使神经元处于超极化状态, 从而保证神经元处于静息状态。在特定条件下, 可用于增加细胞内pH或减少细胞外基质pH。和NpHR相比, 当激光关闭的时候, Arch立即从通道打开状态恢复到关闭状态。
- Mac: 即为 Leptosphaeria maculans fungal opsins, 蓝色激光激活的质子泵, 能够将带正电的质子从神经元内移动到细胞外环境中, 使神经元保持超极化状态, 从而保证神经元处于静息状态。

化学遗传学AAV

化学遗传学: 通过人工改造大分子 (蛋白、核酸等) 的结构, 使之能特异性的对某种合成的小分子化合物形成应答。化学遗传学和光遗传学类似, 具有实时、精确、可逆调控的特点, 目前广泛应用于信号转导研究、药物筛选等方面。

目前应用最广泛的是一种称为DREADDs (designer receptors exclusively activated by designer drugs, 只由特定药物激活的受体) 的化学遗传学系统。这一系统主要由叠氮平-N-氧化物 (clozapine-N-oxide, CNO) 结合GPCR级联反应中不同的效应蛋白, 如Gq、Gi、Gs、Golf和其中应用最广泛的是Gq-DREADD和Gi-DREADD。

目前Gq-DREADD系统应用最多元件主要是hM3Dq蛋白, 该蛋白改造自人毒蕈碱型乙酰胆碱受体 (the human muscarinic acetylcholine receptor, mAChRs) 亚型M3 (也称为hM3)。改造后的蛋白能特异性结合CNO, 然后和Gq类G蛋白耦合受体耦合, 引起GPCR级联反应, 最终影响了胞内钙离子这一信号通路。在神经元内一半会引起细胞去极化, 加强神经元的兴奋性, 这也是hM3Dq最常用的功能, 即促使神经元的放电活动。

同样的, 研究者改造了mAChRs亚型M4, 形成Gi-hM4Di。因为Gi耦合的GPCRs可以激活G蛋白内向整流钾通道 (内向整流钾离子通道, GIRK), 所以hM4Di起到抑制神经元兴奋性的作用。

AAV现货list

常规血清型AAV现货

荧光对照			
HBAAV-CMV-GFP	HBAAV-CAG-GFP	HBAAV-Syn-EGFP	HBAAV-TBG-GFP
HBAAV-CMV-mcherry	HBAAV-CAG-RFP	HBAAV-Syn-EYFP	HBAAV-TBG-LUC
HBAAV-CMV-DIO-EGFP	HBAAV-CAG-DIO-EGFP	HBAAV-Syn-mCherry	HBAAV-cTNT-GFP
HBAAV-GFAP-EGFP	HBAAV-CAG-DIO-mCherry	HBAAV-Syn-DIO-EGFP	HBAAV-CaMKII-EGFP
HBAAV-GFAP-mcherry	HBAAV-CAG-DIO-EYFP	HBAAV-Syn-DIO-mcherry	HBAAV-CaMKII-mCherry
			HBAAV-CaMKII-EYFP

光遗传AAV现货

HBAAV-CAG-DIO-hChR2(H134R)-mcherry	HBAAV-Syn-hChR2(H134R)-mecherry	pHBAAV-GFAP-eNpHR3.0-EYFP
HBAAV-CAG-DIO-eNpHR3.0-EYFP	HBAAV-Syn-eNpHR3.0-EYFP	pHBAAV-GFAP-hChR2(H134R)-mcherry
HBAAV-CAG-DIO-Arch3.0-EYFP	HBAAV-Syn-Arch3.0-EYFP	pHBAAV-GFAP-ArchT-EYFP
HBAAV-CAG-DIO-hChETA-EYFP	HBAAV-Syn-hChETA-EYFP	pHBAAV-GFAP-Arch3.0-EYFP
HBAAV-CAG-hChR2(H134R)-mcherry	HBAAV-Syn-C1V1 (t/t)-TS-mcherry	pHBAAV-GFAP-hChETA-EYFP
HBAAV-CAG-eNpHR3.0-EYFP	HBAAV-CaMKII-hChR2(H134R)-mecherry	pHBAAV-GFAP-C1V1 (t/t)-TS-mcherry
HBAAV-CAG-Arch3.0-EYFP	HBAAV-CaMKII-eNpHR3.0-EYFP	pHBAAV-GFAP-C1V1 (t/t)-TS-mcherry
HBAAV-CAG-hChETA-EYFP	HBAAV-CaMKII-Arch3.0-EYFP	pHBAAV-CBA-DIO-C1V1 (t/t)-TS-mcherry
	HBAAV-CaMKII-hChETA-EYFP	pHBAAV-CMV-DIO-C1V1 (t/t)-TS-mcherry
	HBAAV-CaMKII-C1V1 (t/t)-TS-mcherry	

化学遗传AAV现货

HBAAV-CAG-DTR-mCherry	HBAAV-Syn-DTR-mCherry	HBAAV-CaMKII-DTR-mCherry
HBAAV-CAG-DIO-DTR-mCherry	HBAAV-Syn-DIO-hM3D(Gq)-mCherry	HBAAV-CaMKII-DIO-hM3D(Gq)-mCherry
HBAAV-CAG-DIO-hM3D(Gq)-mCherry	HBAAV-Syn-hM3D(Gq)-mCherry	HBAAV-CaMKII-hM3D(Gq)-mCherry
HBAAV-CAG-DIO-hM4D(Gi)-mCherry	HBAAV-Syn-hM4D(Gi)-mCherry	HBAAV-CaMKII-DIO-hM4D(Gi)-mCherry
HBAAV-GFAP-hM3D(Gq)-mCherry	HBAAV-Syn-DIO-hM4D(Gi)-mCherry	HBAAV-CaMKII-hM4D(Gi)-mCherry
HBAAV-GFAP-hM4D(Gi)-mCherry		

Cre酶AAV现货

HBAAV-CMV-cre	HBAAV-Syn-cre	HBAAV-GFAP-cre	HBAAV-TBG-cre
HBAAV-CMV-cre-EGFP	HBAAV-Syn-cre-EGFP	HBAAV-GFAP-cre-EGFP	HBAAV-TBG-cre-EGFP
HBAAV-CMV-cre-T2A-ZsGreen	HBAAV-CaMKII-cre	HBAAV-cTNT-cre	
HBAAV-CAG-cre	HBAAV-CaMKII-cre-EGFP	HBAAV-cTNT-cre-EGFP	

钙离子成像AAV现货

HBAAV-CAG-DIO-Gcamp6s	HBAAV-Syn-Gcamp6s	HBAAV-CaMKII-Gcamp6s
HBAAV-CAG-DIO-Gcamp6f	HBAAV-Syn-Gcamp6f	HBAAV-CaMKII-Gcamp6f

自噬AAV现货

HBAAV-CMV-mRFP-GFP-LC3

特殊血清型AAV现货

跨血脑屏障血清型AAV现货

HBAAV2/BBB-CMV-GFP	HBAAV2/BBB-CMV-RFP	HBAAV2/BBB-GFAP-EGFP
HBAAV2/BBB-Syn-GFP		

逆向示踪非跨突触血清型AAV现货

HBAAV2/retro-CMV-EGFP

汉恒AAV客户案例

1) AAV应用于神经

客户案例1

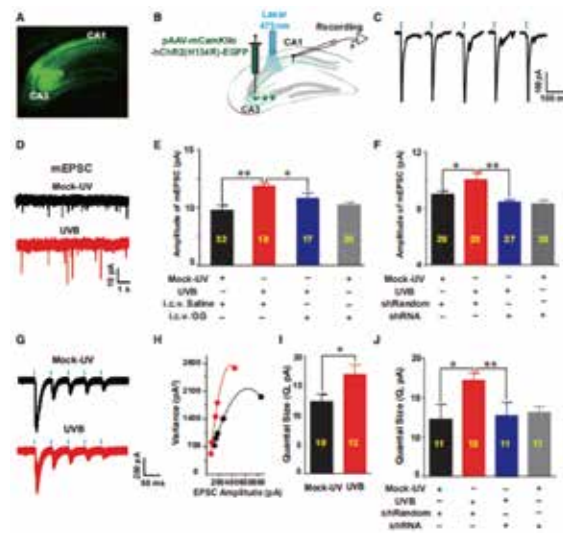
客户单位: 中国科学技术大学

杂志: Cell, IF=38.637

Moderate UV Exposure Enhances Learning and Memory by Promoting a Novel Glutamate Biosynthetic Pathway in the Brain

使用方法:

AAV9脑立体定位注射海马, 注射体积0.5uL/侧, 病毒滴度 1.33×10^{12} v.g/mL



● 文章Figure5 UVB暴露对谷氨酸能突触从HPC CA3传递到CA1的影响

客户案例2

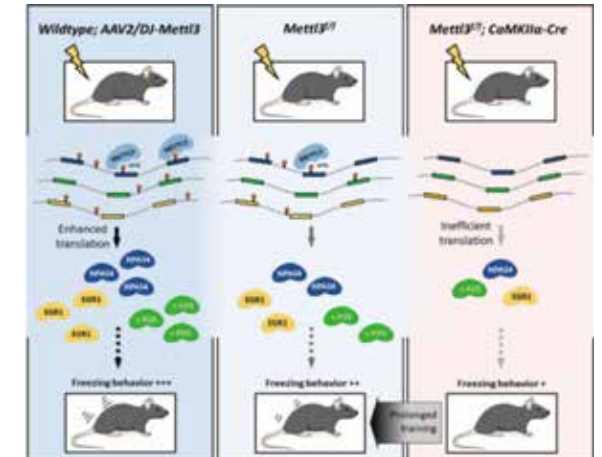
客户单位: 中国科学院

杂志: Cell Research, IF=20.507

METTL3-mediated N6-methyladenosine mRNA modification enhances long-term memory consolidation

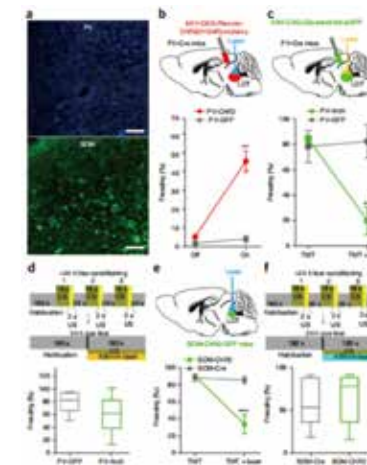
使用方法:

AAV2/DJ脑立体定位注射背侧海马, 位置 (AP = -1.9 mm, ML = ±1.2mm, DV = -1.3mm), 注射速度0.1uL/min, 病毒滴度 $1.0-1.2 \times 10^{12}$ v.g/mL



● 文章Figure7 METTL3介导的m6A修饰调节长期记忆模型

客户案例3



● 文章Figure4 LDT中的PV+和SOM+中间神经元反向调节先天性恐惧

客户单位: 浙江大学

杂志: Nature Neuroscience, IF=20.071

Laterodorsal tegmentum interneuron subtypes oppositely regulate olfactory cue-induced innate fear

使用方法:

AAV2/9脑立体定向注射, 位置LHb (AP, -1.8 mm from bregma; ML, ±0.3 mm; DV, -2.5 mm) 右侧LDT (AP, -5.2 mm from bregma; ML, -0.4 mm; DV, -3.5 mm), 注射体积0.3-0.5 uL/点, 注射速度0.05 uL/min, 病毒滴度 1.0×10^{12} v.g/mL

客户案例4

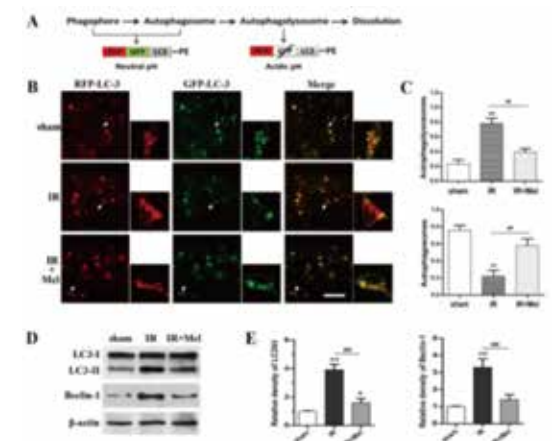
客户单位: 空军军医大学

杂志: Journal of Pineal Research, IF=14.528

Pre-ischemia melatonin treatment alleviated acute neuronal injury after ischemic stroke by inhibiting ER stress-dependent autophagy via PERK and IRE1 signalings

使用方法:

AAV-RFP-GFP-LC3脑立体定向注射小鼠同侧皮层, 注射体积2uL



● 文章Figure3 缺血前褪黑素治疗显著减轻了IR诱导的自噬

■ 客户案例5

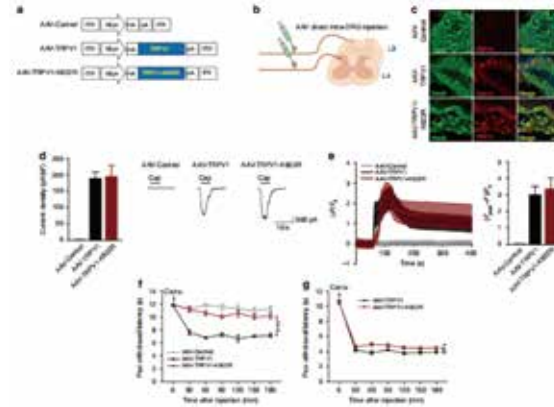
客户单位:复旦大学

杂志:Nature Communications, IF=12.121

TRPV1 SUMOylation regulates nociceptive signaling in models of inflammatory pain

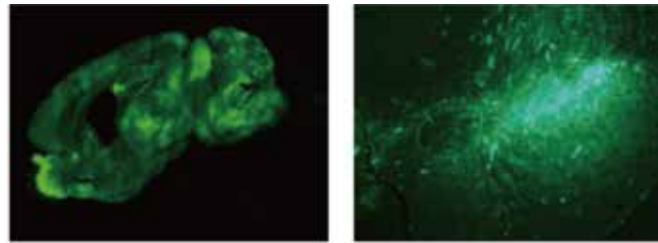
使用方法:

背根神经节注射,注射滴度 1.0×10^{12} v.g/mL以上,注射体积2 μ L,注射速度0.2 μ L/min的速率单侧注入背神经节



● 文章Figure9 TRPV1 SUMO化在炎性热痛觉过敏中起重要作用

■ 客户案例6-7



跨血脑屏障AAV-BBB2.0
小鼠尾静脉注射感染脑部

AAV2/Retro逆行标记SNc

跨血脑屏障AAV-BBB和逆行示踪AAV-retro

2) AAV应用于肝脏

■ 客户案例1

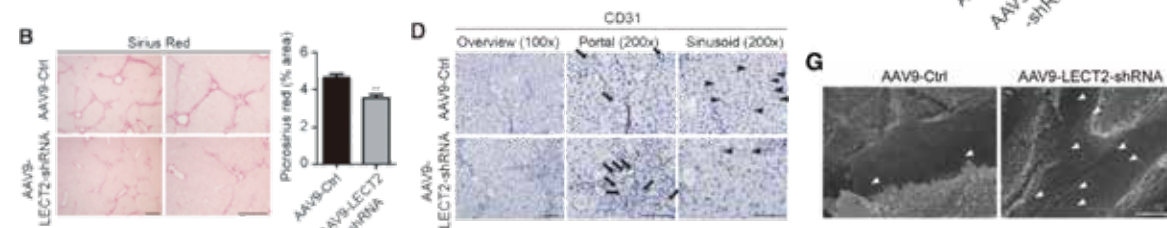
客户单位:南方医科大学

杂志:CELL, IF=38.637

LECT2, a Ligand for Tie1, Plays a Crucial Role in Liver Fibrogenesis

使用方法:

AAV9型尾静脉注射,注射体积100 μ L,病毒滴度 1.0×10^{12} v.g/mL



● 文章Figure7 AAV9-LECT2-shRNA减轻肝纤维化

■ 客户案例2

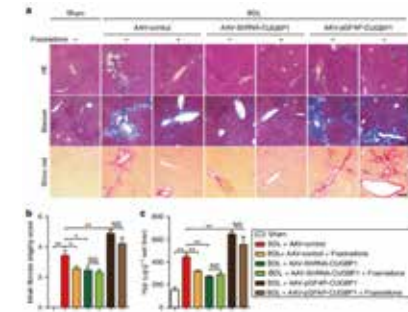
客户单位:南京大学

杂志:Nature Communications, IF=12.121

CUG-binding protein 1 regulates HSC activation and liver fibrogenesis

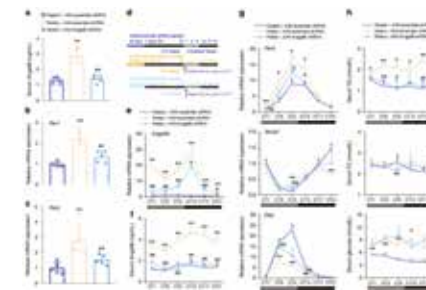
使用方法:

AAV9静脉注射,病毒滴度 1.0×10^{12} v.g/mL



● 文章Figure8 HSC中的CUGBP1促进BDL诱导的鼠肝纤维化

■ 客户案例3



● 文章Figure9 Angptl8敲低可通过食物抑制肝脏时钟重置

客户单位:中国药科大学

杂志:Nature Communications, IF=12.121

Angptl8 mediates food-driven resetting of hepatic circadian clock in mice

使用方法:

AAV8型尾静脉注射,病毒滴度 1.0×10^{12} v.g/mL

3) AAV应用于心血管

■ 客户案例1

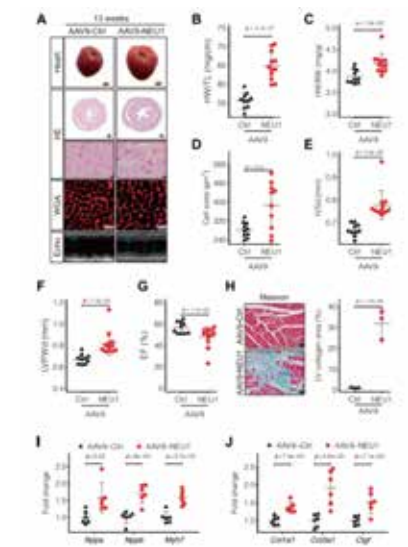
客户单位:中国药科大学

杂志:European heart journal, IF=29.983

Neuraminidase 1 is a driver of experimental cardiac hypertrophy

使用方法:

AAV9尾静脉注射,每只小鼠100 μ L,病毒滴度 1×10^{12} v.g/mL



● 文章Figure 4在生理条件下, NEU1在小鼠心脏的过表达导致心肌肥大和重

客户案例2

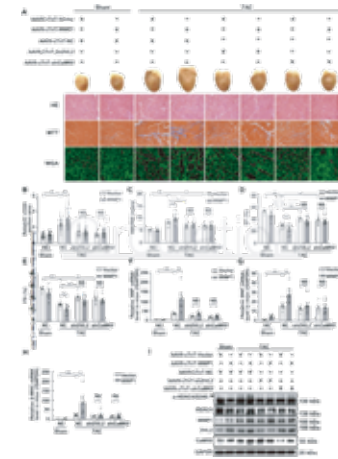
客户单位: 航天医学基础与应用国家重点实验室

杂志: Circulation, IF=29.69

Targeting E3 Ubiquitin-Ligase WWP1 Prevents Cardiac Hypertrophy Through Destabilizing DVL2 via Inhibition of K27-Linked Ubiquitination

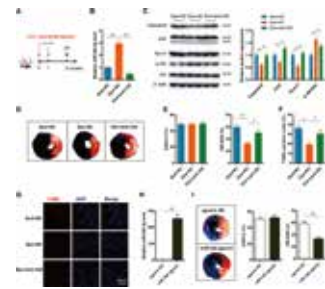
使用方法:

AAV9静脉注射, 注射体积 1×10^{11} v.g./小鼠



● 文章Figure 7 以WWP1为治疗靶点, 通过抑制DVL2-CaMKII-HDAC4-MEF2C通路抑制压力过载诱导的心肌肥厚

客户案例3



客户单位: 空军军医大学

杂志: Circulation Research, IF=14.467

Longterm Exercise-Derived Exosomal miR-342-5p: A Novel Exerkine for Cardioprotection

使用方法:

AAV9大鼠心肌内注射, 病毒剂量 6×10^{10} v.g./只

● 文章Figure7 miR-342-5p对于运动诱导的心脏保护至关重要

客户案例4

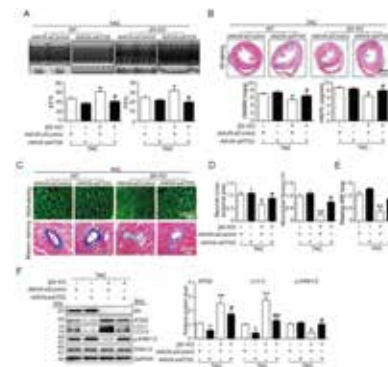
客户单位: 大连医科大学附属第一医院

杂志: Science Advances, IF=13.116

The immunoproteasome catalytic $\beta 5i$ subunit regulates cardiac hypertrophy by targeting the autophagy protein ATG5 for degradation

使用方法:

AAV9尾静脉注射, 病毒滴度 1.04×10^{12} v.g./mL



● 文章Figure S6 AAV9-siATG5显著降低了心脏ATG5蛋白水平

4) AAV应用于肌肉

客户案例

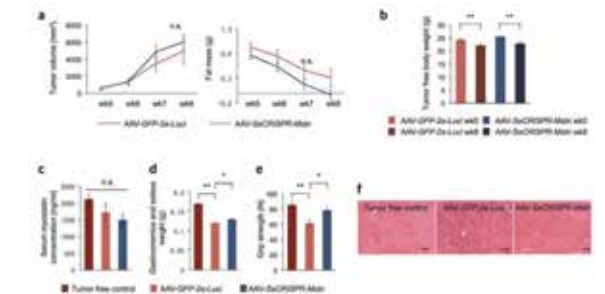
中科院营养所与汉恒生物联合发表

杂志: Molecular Therapy, IF=8.989

Prevention of Muscle Wasting by CRISPR/Cas9-mediated Disruption of Myostatin In Vivo

使用方法:

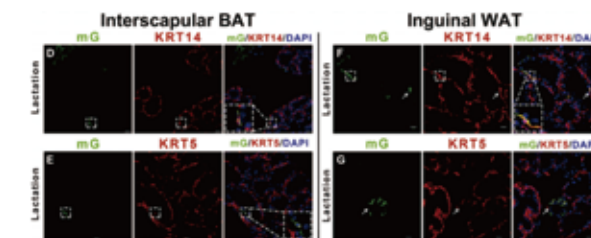
局部腓肠肌注射, 注射40-50uL, 分6-8个位点注射, 病毒滴度 1.0×10^{12} v.g./mL



● 文章Figure1-2 AAV-SaCRISPR / Cas9敲除骨骼肌细胞中Mstn

5) AAV应用于脂肪

客户案例



● 文章Figure2 利用AAV2/9-CAG-DIO-mCherry追踪棕色脂肪细胞的命运

客户单位: 中国科学院

杂志: Molecular Metabolism, IF=6.448

Brown adipocytes can display a mammary basal myoepithelial cell phenotype in vivo

使用方法:

AAV9型肩胛原位置立体定向注射, 注射体积15uL, 注射3个点, 每个点5uL, 病毒滴度 1.2×10^{12} v.g./mL

6) AAV应用于肠道

客户案例

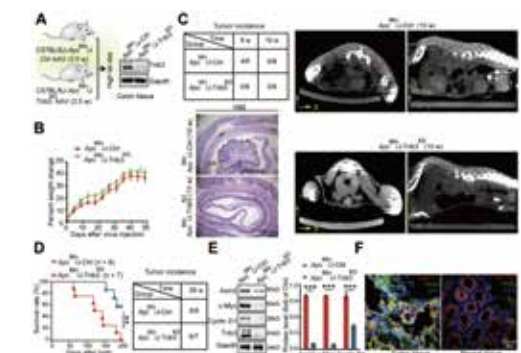
客户单位: 北京协和医院

杂志: Gastroenterology, IF=17.373

TRIB3 Interacts with Beta-catenin and TCF4 to Increase Stem Cell Features of Colorectal Cancer Stem Cells and Tumorigenesis

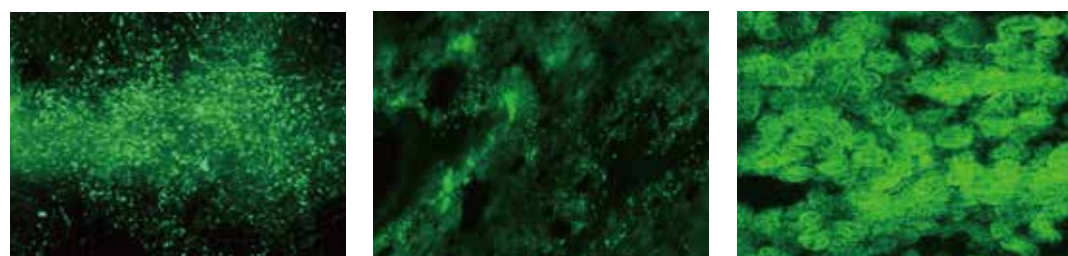
使用方法:

尾静脉注射, 病毒滴度 1.0×10^{12} v.g./mL



● 文章Figure1 AAV-shTRIB3减缓了CRC的发展

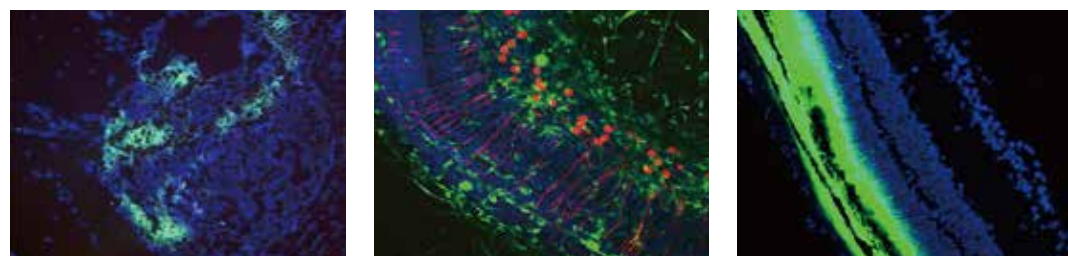
7) 其他AAV应用实例



AAV9感染小鼠颅骨

AAV6感染大鼠肺脏

AAV9感染小鼠肾脏



AAV9实体瘤注射

AAV-DJ感染大鼠耳蜗

AAV-DJ感染小鼠视网膜

腺病毒

适用几乎所有细胞系、原代细胞和部分组织

重组腺病毒 (AdV) 是一种复制缺陷的腺病毒载体系统, 在基因治疗、基础生命科学研究等领域被广泛应用。目前常用的腺病毒载体基于人腺病毒5型 (Ad5), 其基因组是36kb长的线性双链DNA。腺病毒通过自身的纤毛 (fiber) 和细胞表面的受体结合被内吞进入细胞, 然后从内吞体 (endosome) 转移到细胞质和细胞核内, 借助细胞的转录和翻译机器启动病毒的复制组装。一个完整的病毒生活周期会引发细胞死亡从而释放出病毒粒子。

重组腺病毒具有以下几个显著优点: 感染范围广, 几乎可以感染所有的分裂和不分裂细胞系、原代细胞和部分组织; 感染效率可高达100%, 全面超越其他病毒载体工具和脂质体对外源基因容量能力大 (可以高达5-7Kb); 不整合基因组; 滴度高, 操作方便。因此, 重组腺病毒是一种最具有潜力的基因递送工具。

腺病毒特点

<p>感染范围广</p> <p>腺病毒可适用于普通细胞系的感染, 也可用于悬浮细胞、原代细胞等。</p>	<p>高效</p> <p>腺病毒的滴度可高达10^{11}PFU/ml, 感染效率高, 可感染悬浮细胞、原代细胞等。</p>	<p>载体容量大</p> <p>腺病毒的载体容量较大, 最高可达8kb。</p>
-------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------

汉恒腺病毒优势

多次荣登CELL等顶级期刊	无支原体污染	无内毒素、外源微生物 无宿主核酸残留	滴度可高达 10^{11} PFU/mL
以客户为中心的 强大售后服务体系	低细胞毒性 (氯化铯密度梯度离心工艺)	庞大的腺病毒现货库	

产品类型

普通重组腺病毒Ad5	适用于普通细胞系、原代细胞感染
悬浮细胞专用腺病毒Ads	适用于悬浮细胞兼容原代细胞、普通细胞, 效率更高

产品列表

- 常规基因的过表达和干扰定制
- CRISPR/Cas9腺病毒定制
- miRNA sponge/antago定制
- 腺病毒纯化服务
- circRNA/LncRNA过表达和干扰定制
- 腺病毒现货产品/工具腺病毒

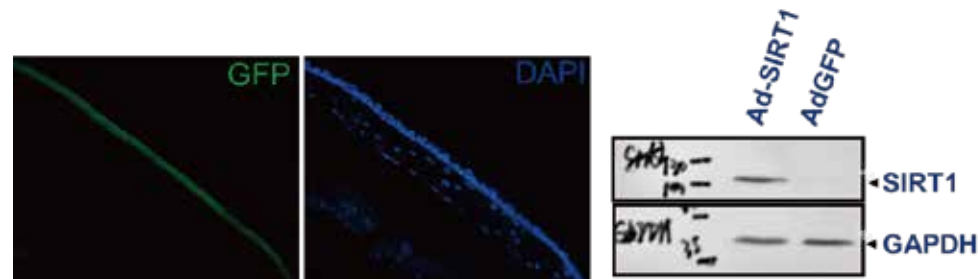
工具腺病毒现货列表

载体名称	用途	滴度 (非纯化)	提供规格
pHBmTur-Actin	Actin定位	10^{10} PFU/mL	1mL
pHB-GCaMP6m	超敏Ca ²⁺ 探针, 中等反应速度	10^{10} PFU/mL	1mL
pHB-GCaMP6s	超敏Ca ²⁺ 探针, 慢反应速度	10^{10} PFU/mL	1mL
pHB-GCaMP6f	超敏Ca ²⁺ 探针, 快反应速度	10^{10} PFU/mL	1mL
pHBmTur-Peroxi	过氧化物酶体定位	10^{10} PFU/mL	1mL
pHB-Laconic	乳酸测定	10^{10} PFU/mL	1mL
pHBmTur-NES	NES定位	10^{10} PFU/mL	1mL
pHB-CAG-VSFP	细胞膜电位测定	10^{10} PFU/mL	1mL

pHB-Hglu	高剂量葡萄糖测定	10 ¹⁰ PFU/mL	1mL
pHB-Lglu	低剂量葡萄糖测定	10 ¹⁰ PFU/mL	1mL
pHBmTur-Mito	Mito定位	10 ¹⁰ PFU/mL	1mL
pHB-AdATP/ADP-probe	ATP/ADP ratio测定	10 ¹⁰ PFU/mL	1mL
pHBmTur-Palmito	Palmito定位	10 ¹⁰ PFU/mL	1mL
pHBC1-HyPer-3	H ₂ O ₂ sensitive probe	10 ¹⁰ PFU/mL	1mL
pHB-Pyronic	丙酮酸测定	10 ¹⁰ PFU/mL	1ml
pHB-Mag1	Mg ²⁺ 离子	10 ¹⁰ PFU/mL	1mL
pHBmTur-Tubulin	Tubulin定位	10 ¹⁰ PFU/mL	1mL
pHBMag6	Mg ²⁺ 离子对照质粒	10 ¹⁰ PFU/mL	1mL
pHBmTur-ER	ER定位	10 ¹⁰ PFU/mL	1mL
pHBATeam1.03	ATeam1.03	10 ¹⁰ PFU/mL	1mL
pHB-Lamp1-RFP	溶酶体定位	10 ¹⁰ PFU/mL	1mL
pHBmTur-Golgi	Golgi定位	10 ¹⁰ PFU/mL	1mL

腺病毒用于动物实验

腺病毒纯化的滴度可达到10¹¹PFU/mL, 用于动物实验。



● 小鼠眼部结膜下注射纯化腺病毒Ad-SIRT1和对照AdGFP:
PFU=10¹¹/mL, 3μL/single eye; 48hr后观察GFP表达。

汉恒腺病毒客户案例

客户案例1

客户单位: 上海交通大学附属仁济医院

杂志: Cell, IF=41.582

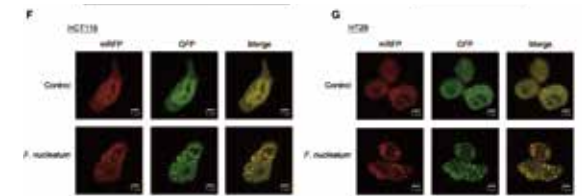
Fusobacterium nucleatum Promotes Chemoresistance to Colorectal Cancer by Modulating Autophagy

研究背景:

作者发现肠道菌群产生的一种物质 (Fusobacterium nucleatum) 能改变机体的免疫反应和激活癌细胞的自噬, 增加肿瘤细胞对化疗药物的耐受性。在研究Fusobacterium nucleatum对癌细胞自噬的作用时, 使用了mRFP-GFP-LC3 串联荧光蛋白腺病毒。

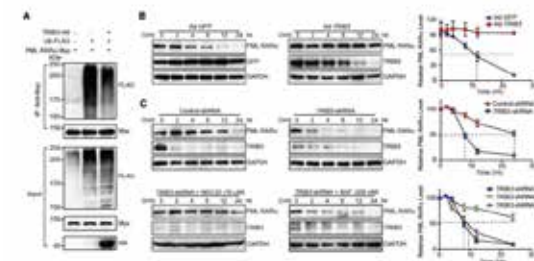
使用方法:

HCT116细胞和HT29细胞接种于六孔板中, 汇合度在50%~70%时使用带有mRFP-GFP-LC3腺病毒感染, 使用共聚焦显微镜拍照统计, 当红色斑点和黄色斑点均增加时表示自噬流增加, 若只有黄色斑点增加而红色没有改变或者黄色和红色斑点均未改变说明自噬流没有增加, 结果见右图。



● 文章Figure 2 Fusobacterium nucleatum对结肠癌细胞自噬的影响

客户案例2



● 文章Figure 5 TRIB3抑制PML-RARα的降解

客户单位: 中国医学科学院

杂志: Cancer Cell, IF= 31.743

TRIB3 Promotes APL Progression through Stabilization of the Oncoprotein PML-RARα and Inhibition of p53-Mediated Senescence

研究背景:

作者认为TRIB3调节PML-RARα在急性早幼粒细胞白血病中起到了关键作用

使用方法:

在细胞实验中通过腺病毒载体来过表达NB4细胞中的TRIB3, 发现 PML-RARα的泛素化水平和半衰期均有所改变, 而敲低TRIB3得到相反的实验结果, 结果见上图。

客户案例3

客户单位: 武汉大学

杂志: Nature Medicine, IF= 30.641

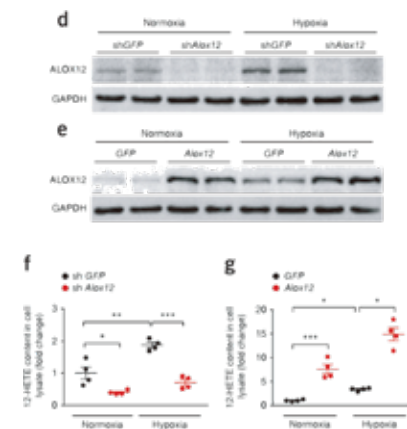
An ALOX12-12-HETE-GPR31 signaling axis is a key mediator of hepatic ischemia-reperfusion injury

研究背景:

作者猜测ALOX12-12-HETE-GPR31轴在肝脏缺血再灌注的损伤中起到了关键作用

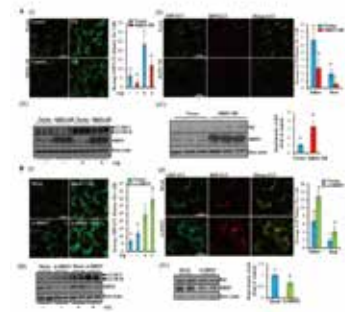
使用方法:

在细胞实验中通过腺病毒作为载体来感染肝脏原代细胞, 过表达或敲低ALOX12, WB检测验证后, 检测12-HETE的改变, 结果见右图。



● 文章Figure 2 12-HETE是肝脏缺血再灌注时ALOX12的主要代谢产物

■ 客户案例4



● 文章Figure1 SIRT3对细胞自噬的调节

客户单位:浙江大学

杂志: Hepatology, IF= 17.425

SIRT3 Acts As a Negative Regulator of Autophagy Dictating Hepatocyte Susceptibility to Lipotoxicity

使用方法:

细胞使用chloroquine (一种溶酶体酸化的抑制剂) 进行预处理, 过表达或干扰SIRT3后使用mRFP-GFP-LC3腺病毒在细胞中表达mRFP-GFP-LC3融合蛋白, 使用共聚焦显微镜每组至少记录50个细胞, 对细胞内的荧光信号进行统计, 结果见左图。

■ 客户案例5

客户单位: 第四军医大学

杂志: Advanced Science, IF= 16.806

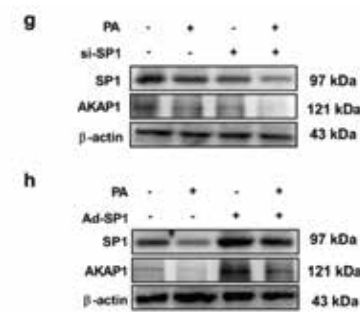
AKAP1 Deficiency Attenuates Diet - Induced Obesity and Insulin Resistance by Promoting Fatty Acid Oxidation and Thermogenesis in Brown Adipocytes

研究背景:

作者经研究发现AKAP1与肥胖存在关联, 在机制的研究中, 通过一系列的研究证实了SP1参与了棕色脂肪组织在能量代谢的调节, 是AKAP1的转录因子。

使用方法:

使用腺病毒作为过表达SP1的载体, 以MOI 100:1感染棕色脂肪细胞(病毒滴度 1.2×10^{10} PFU/mL), 细胞分化后, 加入棕榈酸继续培养24h后收集细胞, WB结果显示过表达SP1能显著增加AKAP1的表达, 结果见上图。



● 文章Figure S7 在脂肪代谢中SP1参与了AKAP1的调节

■ 客户案例6

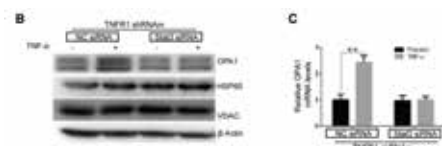
客户单位: 浙江大学

杂志: Advanced Science, IF= 16.806

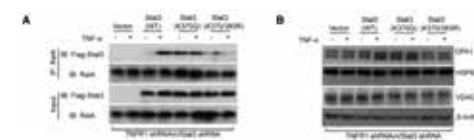
TNFR2 Stimulation Promotes Mitochondrial Fusion via Stat3- and NF- κ B-Dependent Activation of OPA1 Expression

研究背景:

作者经研究发现TNF α 除了参与炎症和凋亡外, 也参与了线粒体融合和功能的调节, 此过程与TNF α 的受体TNFR2有关; 作者为了检验转录因子Stat3是TNFR2的下游, 通过构建shRNA- Stat3的慢病毒敲低Stat3的表达和构建腺病毒过表达Stat3。



● 文章Figure 3 Stat3信号通路参与了TNF α 对线粒体功能的调节



● 文章Figure 7 Stat3 K370和K383乙酰化是OPA1表达所必须的

使用方法:

使用腺病毒作为过表达Stat3的载体, 以MOI 50:1感染乳鼠的原代心肌细胞。慢病毒通过携带shRNA实现Stat3的敲降, 以MOI 20:1感染乳鼠的原代心肌细胞(培养基添加polybrene促进感染, 终浓度8 μ g/mL), 两种病毒感染过夜后更换新鲜培养基, 敲低和过表达的效果通过western blot进行检验。通过敲低和过表达Stat3后, 加入TNF α 刺激细胞观察OPA1 (OPA1调节线粒体的融合) 的表达, 证明了Stat3参与了TNF α 对线粒体功能的调节以及Stat3乙酰化的位点, 结果见上图。

■ 客户案例7

客户单位: 南京中医药大学

杂志: Nature Communications, IF= 14.919

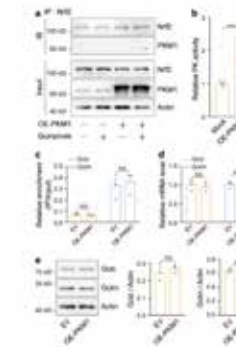
Pyridoxine induces glutathione synthesis via PKM2-mediated Nrf2 transactivation and confers neuroprotection

研究背景:

GSH表达的下降与帕金森存在关联; 作者发现DRD2能通过PKM2/Nrf2途径调节GSH的表达。

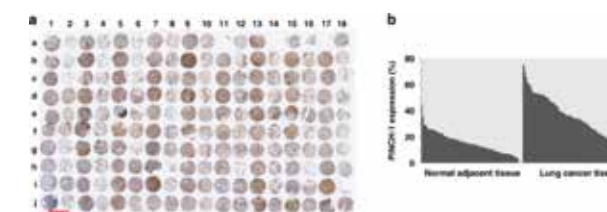
使用方法:

为了验证DRD2是否通过PKM1作用于转录因子Nrf2来调节GSH的表达, 作者定制了PKM1的过表达腺病毒, 感染星形胶质细胞, 结果见右图。



● 文章FigureS4 PKM1并不与Nrf2结合或影响其转录活性

■ 客户案例8



● 文章Figure 1 (e) 肺腺癌中PINCH-1表达上调
图e: Ad-Cre感染Kras^{LSL-G12D}/+小鼠诱导小鼠肺腺癌模型, 十六周后取材进行实验

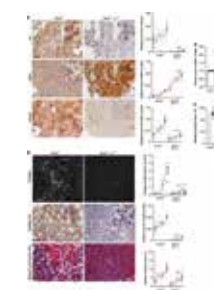
客户单位: 南方科技大学

杂志: Nature Communications, IF= 14.919

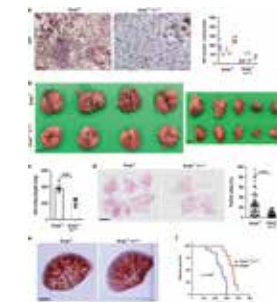
PINCH-1 regulates mitochondrial dynamics to promote proline synthesis and tumor growth

使用方法:

6-8周龄小鼠麻醉后, 90uL 3×10^7 pfu Ad-Cre腺病毒和CaCl₂混合物 (CaCl₂终浓度为10mM) 以滴鼻方式分两次注入 (每次滴入45uL, 中间间隔3min), 进行肺部感染。

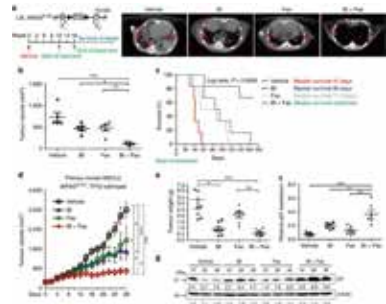


● 文章Figure 9 体内敲除PINCH-1, 会减少脯氨酸和胶原基质的合成
Ad-Cre感染Kras^{fl/+}即Kras^{LSL-G12D/+} (对照) 和 Kras^{fl/+} P1^{fl/fl} (实验组) 得到小鼠肺腺癌模型或肺腺癌模型并同时敲除PINCH-1



● 文章Figure 10 体内敲除PINCH-1, 会抑制肺腺癌的生长
Ad-Cre感染Kras^{fl/+}即Kras^{LSL-G12D/+} (对照) 和 Kras^{fl/+} P1^{fl/fl} (实验组) 得到小鼠肺腺癌模型或肺腺癌模型并同时敲除PINCH-1

客户案例9



● 文章Figure 5 同时抑制 PLK1 和 ROCK 的体内功效

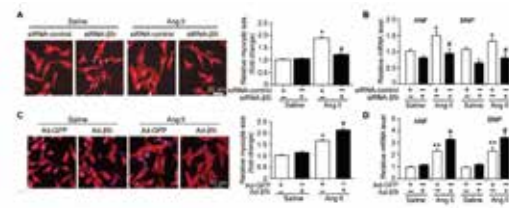
客户单位:华东师范大学
杂志: Nature Communications, IF= 14.919
Suppression of KRas-mutant cancer through the combined inhibition of KRAS with PLK1 and ROCK

使用方法:
6周龄小鼠麻醉后, 125uL 5×10^7 PFU Ad-Cre腺病毒和CaCl₂混合物 (CaCl₂终浓度为10mM) 以鼻腔给药方式分两次注入 (每次滴入62.5uL, 中间间隔5min), 进行肺部感染。

客户案例10

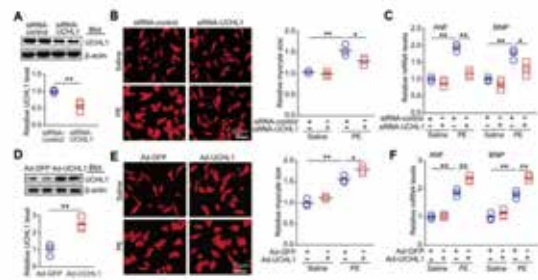
客户单位:大连医科大学
杂志: Science Advances, IF=14.136
The immunoproteasome catalytic $\beta 5i$ subunit regulates cardiac hypertrophy by targeting the autophagy protein ATG5 for degradation

使用方法:
乳鼠原代心肌细胞感染腺病毒 (MOI 50) 24小时后通过荧光显微镜观察和Western blot检验过表达效果。病毒感染后使用血管紧张素II诱导心肌细胞肥厚, 研究 $\beta 5i$ 对心肌肥厚的影响, 结果见右图。



● 文章Figure2 敲低 $\beta 5i$ 抑制心肌细胞的肥厚

客户案例11



● 文章FigureS2 UCHL1敲低可减少体外实验诱导的心肌肥厚

客户单位:大连医科大学
杂志: Science Advances, IF=14.136
The deubiquitinase UCHL1 regulates cardiac hypertrophy by stabilizing epidermal growth factor receptor

研究背景:
研究UCHL1与心肌肥厚的关系

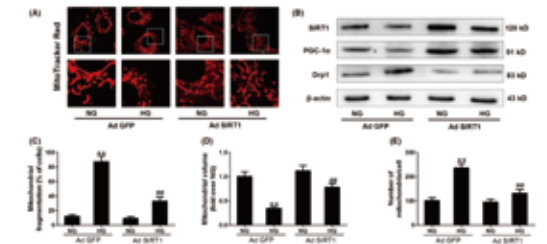
使用方法:
原代心肌细胞提取后培养18小时后, 使用腺病毒过表达或干扰UCHL1的表达 (MOI 50:1), 结果见左图。

客户案例12

客户单位:第四军医大学 杂志: Journal of Pineal Research, IF= 13.007
Melatonin prevents Drp1-mediated mitochondrial fission in diabetic hearts through SIRT1-PGC1 α pathway

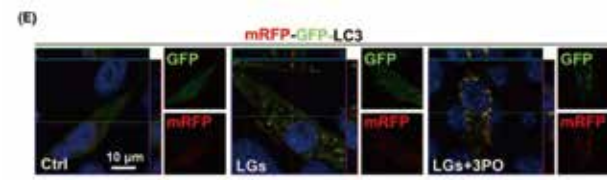
研究背景:
经过一系列的研究证实, 褪黑素通过调节线粒体的分裂和融合过程, 来防止糖尿病对心脏的损伤。作者认为褪黑素通过SIRT1来调节线粒体的分裂和融合, 通过腺病毒过表达/干扰H9c2细胞的SIRT1来检验是否能减弱和增强褪黑素的功能。

使用方法:
使用腺病毒作为过表达SIRT1的载体, 带有空载体的腺病毒作为对照, 以MOI 50:1感染H9c2细胞, 感染后高糖培养48h, 结果见右图。



● 文章Figure 4 褪黑素通过SIRT1- PGC1 α 信号通路降低Drp1的表达抑制线粒体的分裂

客户案例13



● 文章Figure 7 在低糖培养下TP53和TIGAR对自噬的抑制作用

客户单位:浙江大学
杂志: Journal of Pineal Research, IF= 13.007
Melatonin ameliorates hypoglycemic stress-induced brain endothelial tight junction injury by inhibiting protein nitration of TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator

研究背景:
作者研究发现褪黑素对低糖诱导的脑损伤具有保护作用

使用方法:
将脑内皮细胞接种于24孔板中, 使用带有mRFP-GFP-LC3的腺病毒感染细胞后添加药物并低糖培养24小时后, 在共聚焦显微镜下观察自噬, 结果见左图。

悬浮细胞专用腺病毒Ads

在野生型腺病毒Ad5基础上, 针对悬浮细胞特殊的细胞膜结构对病毒进行了改造, 感染体系也进行了极大的优化, 最终研发出了悬浮细胞专用腺病毒-Ads。该病毒可以极大改善对血液系统和免疫系统来源悬浮细胞的感染能力, 同时也可以提高对贴壁细胞的感染效率, 但由于腺病毒不会整合在基因组中, 所以会比较安全, 这一特点也决定了Ads不适用于构建稳转细胞系。

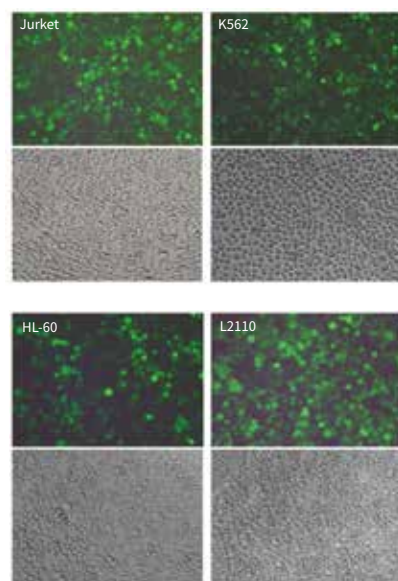
产品特点

- 对病毒结构和感染体系进行了优化改造, 极大提高对悬浮细胞的感染能力
- 兼容贴壁细胞, 感染能力大幅度增强

📁 感染实例

悬浮细胞专用腺病毒Ads 感染悬浮细胞

病毒: Ads-GFP, 1×10^{10} PFU/mL
 感染细胞: Jurkat, K562, HL-60, L2110
 感染方式: MOI=500
 检测方法: 感染72 h后荧光显微镜检测



//// 原代T细胞专用病毒

汉恒原代T细胞专用病毒是专门针对原代T细胞难以做基因转导而研制,其特殊的病毒结构和转导试剂保证了超高的感染效率。原代T细胞专用病毒包括两种:T细胞专用慢病毒和悬浮细胞专用的腺病毒Ads。慢病毒可以用来构建稳转系,悬浮细胞专用腺病毒 Ads,对人、小鼠等物种的原代T细胞均具有很高的感染效率。另外,Ads也非常适用感染其他悬浮细胞,如Jurkat、K562、HL-60和L2110等。

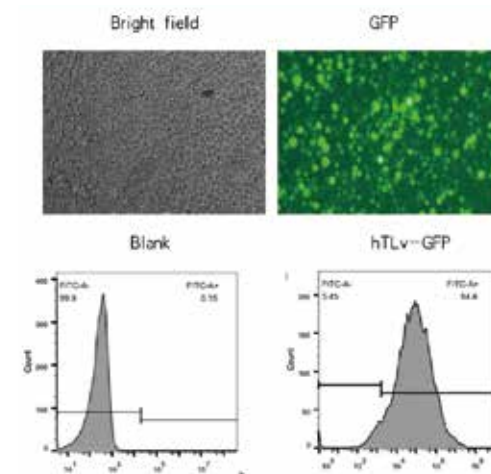
📁 产品类型

- 悬浮细胞专用腺病毒(Ads)
- T细胞专用慢病毒(LV)

📁 产品特点

- 高效感染原代T细胞
- 兼顾稳转和非稳转感染需求

📁 感染实例

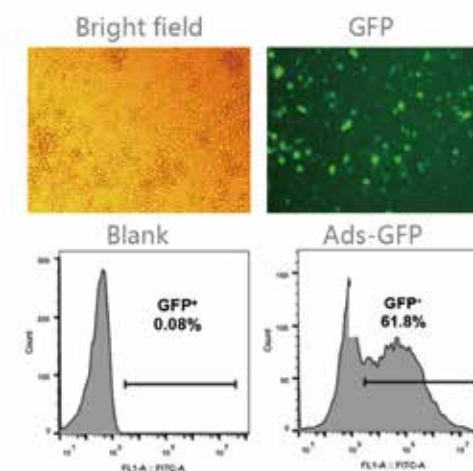


T细胞专用慢病毒 感染人原代CD4⁺ T细胞

细胞: 人原代CD4⁺T细胞
 刺激方式: CD3/CD28抗体和IL-2激活48h
 病毒: hTLV-GFP慢病毒, 1×10^8 TU/mL
 使用方式: MOI=50

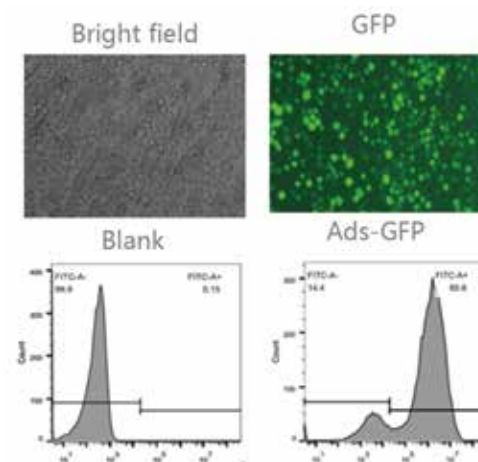
悬浮细胞专用腺病毒Ads 感染小鼠原代CD4⁺ T细胞

细胞: 小鼠原代CD4⁺ T细胞
 刺激方式: CD3/CD28抗体和IL-2激活48h
 病毒: Ads-GFP, 1×10^{10} PFU/mL
 使用方式: MOI=500



悬浮细胞专用腺病毒Ads 感染人原代CD4⁺ T细胞

细胞: 人原代CD4⁺ T细胞
 刺激方式: CD3/CD28抗体和IL-2激活48h
 病毒: Ads-GFP, 1×10^{10} PFU/mL
 使用方式: MOI=100



3 专题研究

MONOGRAPHIC STUDY

细胞自噬

自噬简介

自噬 (Autophagy), 是指溶酶体中的水解酶非特异地降解细胞质中蛋白质、细胞器等底物的过程, 它同时还受复杂信号精细调控, 研究比较清楚的有PI3K-I和PI3K-III、mTOR等。

自噬过程一般分为三个阶段:

自噬起始阶段、自噬小体形成阶段、自噬溶酶体阶段。它参与着肿瘤、衰老、炎症、免疫应答、心脑血管疾病、氧化应激、神经退行性疾病、代谢、发育等重要生物学过程。

自噬研究的切入角度:

通常除了研究自噬本身, 更多的是把自噬作为一个机制来研究, 如自噬如何参与肿瘤的发生发展、自噬如何参与肿瘤的耐药性、自噬如何参与炎症反应、自噬如何参与氧化应激、甚至自噬如何参与自闭症、阿尔兹海默症的发生与治疗等。



● 调控自噬的主要信号通路和相关基因

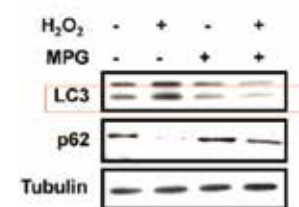
衡量自噬的“黄金标准”

• LC3剪切的变化

• 电镜直接观察到自噬囊泡

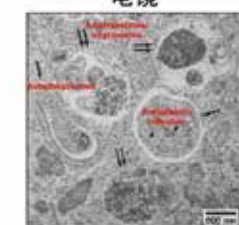
• 荧光蛋白标记的LC3监测自噬流

LC3剪切增强提示自噬



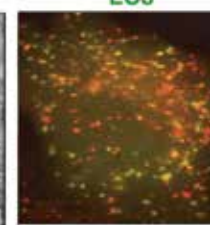
图A

电镜



图B

LC3



图C

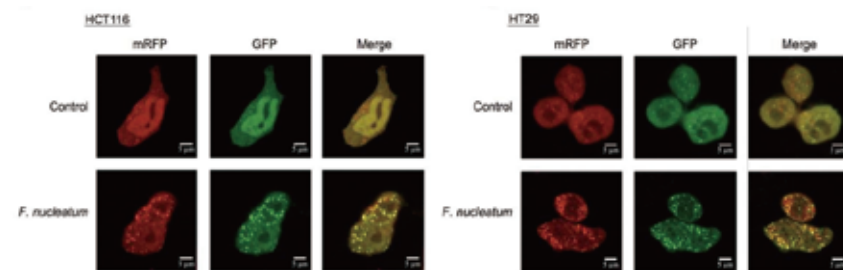
● 衡量自噬的三个“黄金标准”, 分别是LC3的翻译后加工及脂化修饰(图A)、利用电镜直接观察自噬小体和自噬溶酶体的多少(图B)、荧光蛋白标记的LC3监测自噬流(图C)

汉恒产品特点

<p>权威性高</p> <p>汉恒自噬双标腺病毒荣登CELL主刊</p>	<p>现货全</p> <p>多种自噬相关基因病毒及工具病毒现货</p>	<p>种类多</p> <p>提供慢病毒、腺病毒、腺相关病毒以及质粒</p>
---------------------------------------------	--------------------------------------------	----------------------------------------------

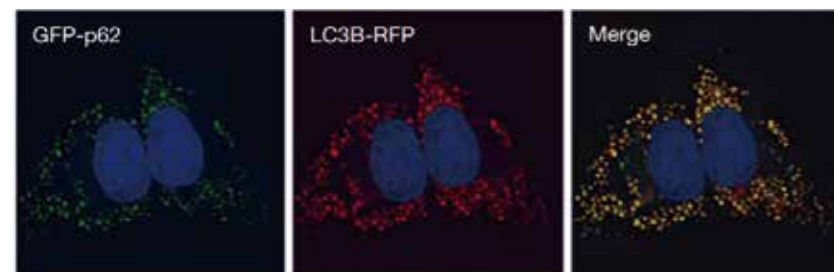
汉恒生物自噬领域的研究工具

主流自噬示踪工具一：mRFP-GFP-LC3自噬双标腺病毒(现为mCherry-eGFP-LC3)



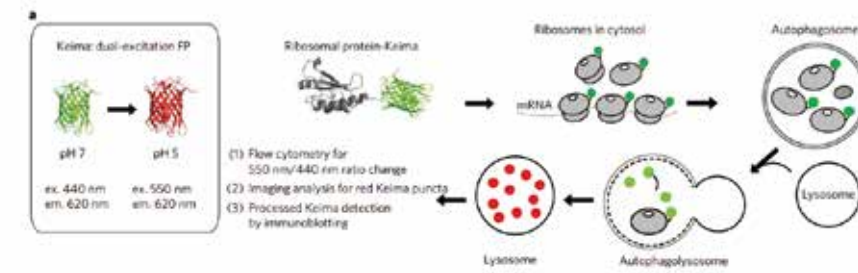
- 红色且没有绿色的斑点代表自噬溶酶体(mRFP)，黄色斑点代表自噬小体(RFP+GFP)，(由于GFP 荧光蛋白对酸性敏感，当自噬体与溶酶体融合后GFP 荧光发生淬灭,此时只能检测到红色荧光)
- Fusobacterium nucleatum Promotes Chemoresistance to Colorectal Cancer by Modulating Autophagy. 汉恒客户 2017年发表于Cell, IF>40

主流定位示踪工具二：p62



- U2OS用GFP-p62和LC3-RFP同时标记。然后用60 μM 氯喹处理16hr。可以观察到二者有着明显的共定位。(当诱导自噬时，GFP-p62融合蛋白被招募到自噬小体上，呈现绿色小点。如果此时加入氯喹抑制自噬流，那么GFP-p62就会累积在自噬小体和自噬溶酶体上)

选择性自噬定位工具：Keima探针



● Keima探针研究核糖体选择性自噬的基本原理

汉恒生物自噬相关产品一览

LC3病毒/质粒现货

种类	产品用途	腺病毒提供	慢病毒提供	腺相关病毒(AAV)提供
mCherry-eGFP-LC3	标记自噬小体与自噬溶酶体	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL	10 ⁸ TU/mL, 1mL	10 ¹² v.g/mL, 1mL
eGFP-LC3	标记自噬小体	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL	10 ⁸ TU/mL, 1mL	10 ¹² v.g/mL, 1mL
mCherry-LC3	标记自噬小体	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL	10 ⁸ TU/mL, 1mL	10 ¹² v.g/mL, 1mL
mCherry-eGFP-LC3 (G120A)	LC3突变体, 用作自噬对照	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL	10 ⁸ TU/mL, 1mL	10 ¹² v.g/mL, 1mL
eGFP-LC3 (G120A)	LC3突变体, 用作自噬对照	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL	10 ⁸ TU/mL, 1mL	10 ¹² v.g/mL, 1mL
mCherry-LC3 (G120A)	LC3突变体, 用作自噬对照	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL	10 ⁸ TU/mL, 1mL	10 ¹² v.g/mL, 1mL

P62病毒/质粒现货

产品名称	规格
过表达P62腺病毒	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
过表达P62慢病毒	10 ⁸ TU/mL, 1mL
过表达P62AAV(腺相关病毒)	10 ¹² v.g/mL, 1mL
过表达P62质粒	5μg

自噬相关基因病毒现货列表

基因名称	基因功能	种属	蛋白标签 (tag)	慢病毒		腺病毒	
				标记	规格	标记	规格
ATG5	与ATG16、ATG12结合,形成复合物,参与自噬小体的形成	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
ATG7	与ATG12结合,并激活ATG12	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
ULK1	形成ULK复合物,与mTOR受体相互作用	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
ULK3	形成ULK复合物,与mTOR受体相互作用	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
Beclin1/ATG6	与PI3K形成复合体,调控自噬活性	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
LKB1	使AMPK活化,激活自噬	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
ULK2	形成ULK复合物,与mTOR受体相互作用	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
NBR1	自噬受体蛋白	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
ATG16L1	形成ATG12-ATG5-ATG16L1复合物,参与自噬小体的形成	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
ATG13	形成ULK1复合物,与mTOR受体相互作用	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
ATG16L2	与ATG12、ATG5形成复合物,参与自噬小体的形成	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
ATG4A	切割LC3蛋白,形成LC3-I	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
ATG4B	切割LC3蛋白,形成LC3-I	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
ATG9B	参与PAS的形成	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
EI24	介导自噬小体与溶酶体融合	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
ATG9A	参与PAS的形成	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
ATG14	形成atg14-vps15-vps34复合物,参与膜泡的形成	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
ATG3	与ATG7一起将LC3-I加工成LC3-II	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
ATG4C	切割LC3蛋白,形成LC3-I	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
DRAM2	抑制自噬的起始阶段	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
ATG4D	水解pro-LC3	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
ATG10	激活ATG12	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
DRAM1	介导自噬小体与溶酶体融合	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
ATG101	与ATG13结合,防止ATG13降解	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
ATG12	形成ATG12-ATG5-ATG16L1复合物,参与自噬小体的形成	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
Parkin	线粒体自噬关键蛋白	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL
TOMM20	线粒体膜蛋白	human/mouse	3xflag	GFP+PURO	10 ⁸ TU/mL, 1mL	GFP	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL

分子伴侣介导的自噬(CMA)病毒/质粒现货

种类	产品用途	腺病毒规格	慢病毒规格	腺相关病毒(AAV)规格
KFERQ-PAmCherry1	检测CMA活性	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL	10 ⁸ TU/mL, 1mL	10 ¹² v.g/mL, 1mL
PAmCherry1-KFERQ-NE	检测CMA活性	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL	10 ⁸ TU/mL, 1mL	10 ¹² v.g/mL, 1mL

内质网自噬(ER-phagy)病毒/质粒现货

种类	产品用途	腺病毒规格	慢病毒规格	腺相关病毒(AAV)规格
mCherry-EGFP-RAMP4	内质网自噬	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL	10 ⁸ TU/mL, 1mL	10 ¹² v.g/mL, 1mL
mCherry-RAMP4	内质网自噬	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL	10 ⁸ TU/mL, 1mL	10 ¹² v.g/mL, 1mL
ssmRFP1-EGFP-KDEL	内质网自噬	10 ¹⁰ PFU/mL, 1mL	10 ⁸ TU/mL, 1mL	10 ¹² v.g/mL, 1mL

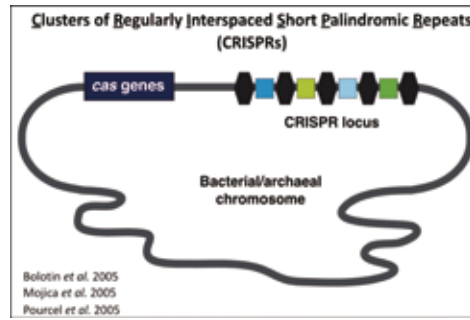
细胞器定位工具病毒现货(腺病毒)

定位	病毒名称	病毒滴度	病毒体积
线粒体	AD-mito-RFP	10 ¹⁰ PFU/mL	1mL
	AD-mito-mTur	10 ¹⁰ PFU/mL	1mL
高尔基体	AD-Golgi-RFP	10 ¹⁰ PFU/mL	1mL
溶酶体	AD-Lyso-RFP	10 ¹⁰ PFU/mL	1mL
内质网	AD-ER-RFP	10 ¹⁰ PFU/mL	1mL

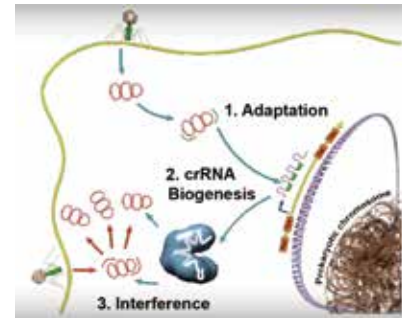
CRISPR/Cas9

背景介绍

CRISPR/Cas系统全称为常间回文重复序列丛集/常间回文重复序列丛集关联蛋白系统(clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR-associated proteins)。这一系统是源于古细菌中的一种后天免疫系统(图1)。该系统可以把侵入细菌的噬菌体遗传物质整合到自身基因组一个或者多个CRISPR位点作为永久的“记忆”,当古细菌被再次入侵的时候,CRISPR位点被转录生成CRISPR RNAs(crRNAs)。crRNA随后会引导DNA核酸内切酶Cas9根据序列互补的原则剪切入侵的外源核酸序列,消灭外来遗传物质,发挥保护功能(图2)。简而言之,源于CRISPR/Cas系统的基因组编辑技术被工程化为一段介导定位作用的RNA序列(guide RNA和crRNA合二为一的杂合RNA序列,称为sgRNA)加上一个DNA水解酶Cas9组成的二元系统。

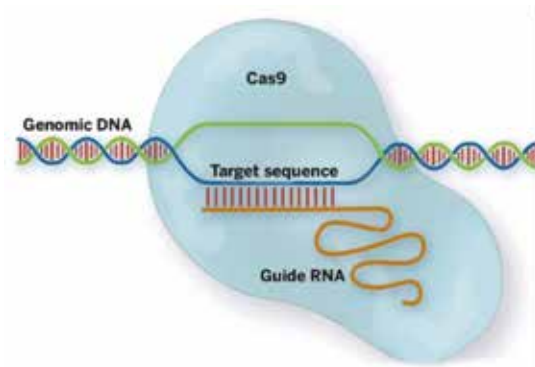


● 图1 CRISPR/Cas系统来源于细菌的“免疫系统”



● 图2 细菌利用CRISPR/Cas系统攻击噬菌体入侵示意图

研究者把这一系统工程化成可以用于编辑哺乳动物细胞的CRISPR/Cas9系统。具体包括适于哺乳动物表达的Cas9基因和定位作用的sgRNA(图3)。如果计划利用这一系统编辑某个目的基因,我们唯一要做的就是定制一条有效的sgRNA。



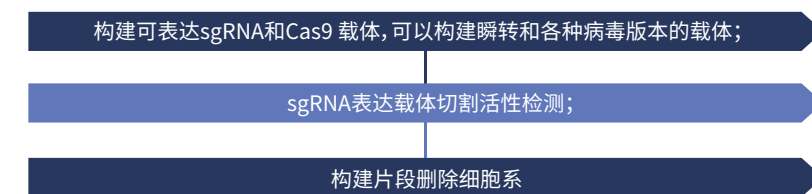
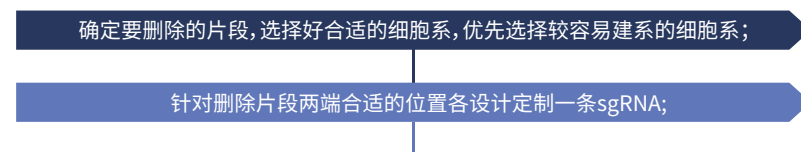
● 图3 工程化的CRISPR/Cas系统。该系统是个二元系统:负责切割的Cas9核酸酶和定位用的guide RNA (sgRNA)

CRISPR/Cas9技术服务路线

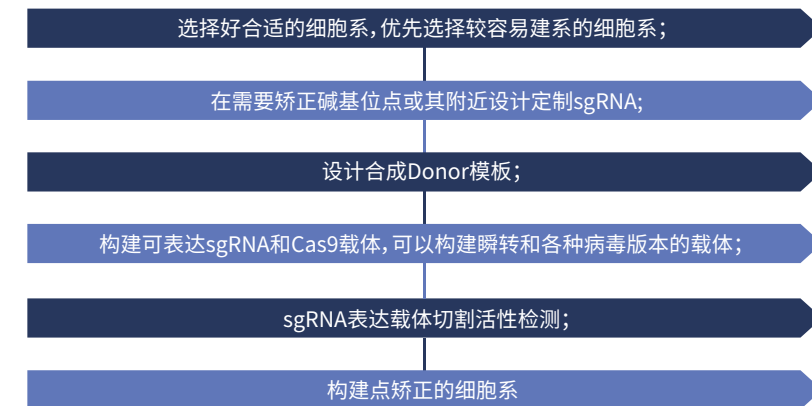
1. 建立基因敲除细胞系流程



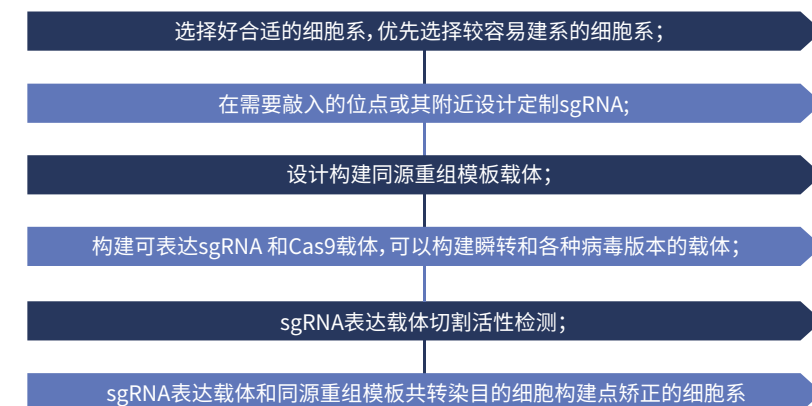
2. 基因组片段删除流程



3. 碱基位点矫正流程



4. 大片段敲入流程



CRISPR/Cas9产品

CRISPR/Cas9质粒 (pSpCas9(BB)-2A-EGFP/PURO)	瞬时转染, 低转染效率
CRISPR/Cas9 慢病毒 (Lentiviral vector-mediated spCas9 system)	整合基因组, 有脱靶潜在风险
CRISPR/Cas9 腺病毒 (Adenoviral vector-mediated spCas9 system)	非整合, 高效细胞KO体系
CRISPR/Cas9 腺相关病毒 (AAV-saCas9)	在体基因编辑利器
单克隆敲除细胞株 (编码基因、非编码基因)	
组织特异性表达Cas9的各种血清型AAV病毒	

非编码RNA

miRNA

MicroRNA(miRNA)是在真核生物中发现的一类内源性的具有调控功能的非编码RNA,其大小长约20~25个核苷酸,miRNA进化保守,数量种类丰富,而且不被翻译成蛋白质,但具有调控基因表达的重要功能。miRNA能特异地结合到信使RNA(mRNA)内的互补区域以促进其降解或抑制翻译,miRNA广泛参与细胞增殖、分化、凋亡及细胞周期调控等过程,在基因实验中起着关键作用。

miRNA的过表达和封闭

miRNA的过表达可以使用miRNA的模拟物,或者将pri-mir构建至表达载体上。构建miRNA的下调即封闭,主要的技术是sponge技术或者miRNA inhibitor (miRNA互补单链的模拟物)来实现。sponge技术是通过将若干段连续miRNA成熟序列反向互补序列串联,使之在细胞内表达,吸附目标microRNA,达到下调miRNA的目的。

miRNA靶基因双荧光素酶检测服务

荧光素(Luciferase)是自然界中能够产生生物发光的酶的统称,其中最具有代表性的是来自萤火虫体内(Firefly)和海肾(Renilla)体内的两类萤光素酶。在萤光素酶的催化下,萤光素底物可以高效的转变成氧萤光素,同时发出强烈的光。

鉴于此,研究者利用萤光素酶开发出一套极其灵敏且使用方便的基因报告系统。目前这一系统被广泛用于miRNA靶基因的验证、转录因子结合位点与启动子活性分析、RNA降解、信号转导、药物筛选、动物活体成像等领域。

汉恒生物miRNA服务

miRNA过表达和封闭质粒构建	miRNA过表达和封闭病毒包装	基于慢病毒技术的稳定细胞系构建服务	miRNA和靶基因的荧光素酶验证服务
-----------------	-----------------	-------------------	--------------------

LncRNA

长链非编码RNA(Long non-coding RNA, lncRNA)是一类长度超过200nt的长链非编码RNA分子,是RNA聚合酶II转录的副产物,它可在多种层面上(表观遗传调控、转录调控以及转录后调控等)调控基因的表达,是遗传学的研究热点。

汉恒生物基于 ceRNA 调控机制的 LncRNA 系统研究方案

- 1) 验证LncRNA的表达水平和细胞内亚定位;
- 2) 通过网络数据库,预测LncRNA可能结合的miRNAs;
- 3) LncRNA结合的miRNAs的信息学筛选及荧光素酶进一步筛选验证;
- 4) miRNA结合靶基因预测与功能富集分析;
- 5) miRNA结合靶基因的筛选、验证及相关功能研究;
- 6) LncRNA-miRNA-mRNA 调控网络的验证。

LncRNA与靶基因竞争结合microRNA验证服务优势

- 1) 利用专业软件进行miRNA与LncRNA和靶基因的结合位点预测;
- 2) 采用Promega公司特有psiCHECK质粒;
- 3) 所采用的Luciferase双荧光报告系统,可以获得宽泛的线性定量范围与极高的灵敏度;
- 4) 采用瞬时转染技术,操作简便、快速,周期短,适用于绝大多数细胞类型。

汉恒生物LncRNA服务

LncRNA过表达和干扰质粒构建	LncRNA过表达和干扰的病毒包装	基于慢病毒技术的稳定细胞系构建服务	LncRNA与靶基因竞争结合microRNA验证服务	ceRNA机制研究服务
------------------	-------------------	-------------------	----------------------------	-------------

circRNA

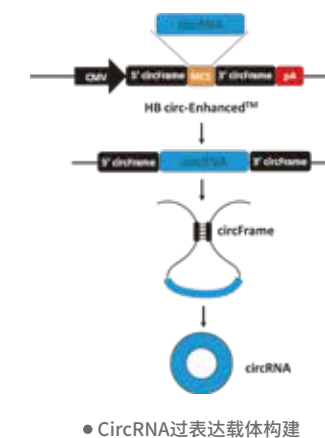
circRNAs是一类不具有5'末端帽子和3'末端poly(A)尾巴、并以共价键形成环形结构的非编码RNA分子。circRNA是区别于传统的线性RNA,具有闭合环状结构,大量存在于真核转录组中。大部分的环状RNA是由外显子序列构成,在不同的物种中具有保守性,同时存在组织及不同发育阶段的表达特异性。

circRNA过表达

汉恒生物研发了一款高效成环过表达载体系统。该载体可用来转染哺乳动物细胞,可高效表达circRNA并促使其高效成环。

技术特点:

- 1) 人巨细胞病毒的CMV启动子可以高效表达目的circRNA;
- 2) 上下游成环元件Front circ-signal和Back circ-signal可以高效促使表达的circRNA环化;
- 3) 线性化的载体非常方便目的circRNA直接无缝克隆,极大降低无关序列参与成环的几率。



circRNA吸附miRNA双荧光素验证

近几年的研究表明circRNA富含miRNA结合位点,能在细胞中起到了miRNA海绵(miRNA sponge)的作用。circRNA通过对miRNA的吸附进而解除miRNA对其靶基因的抑制作用,升高靶基因的表达水平,这一作用机制被称为竞争性内源RNA(ceRNA)机制。研究circRNA的调控机制需要先找到与circRNA相互作用的miRNA,而荧光素酶报告基因实验可以用来证明miRNA与circRNA相互作用。

汉恒生物circRNA服务

circRNA过表达和干扰质粒构建	circRNA过表达和干扰病毒包装	基于慢病毒技术的稳定细胞系构建服务	circRNA和靶基因的荧光素酶验证服务	circRNA精确成环验证	ceRNA机制研究服务
-------------------	-------------------	-------------------	----------------------	---------------	-------------

汉恒生物非编码RNA相关服务

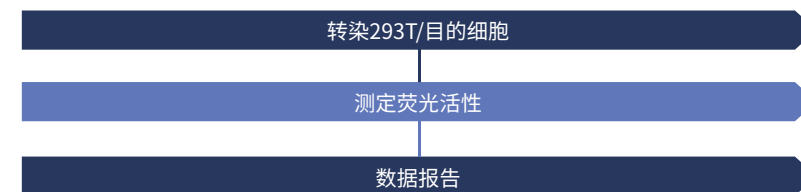
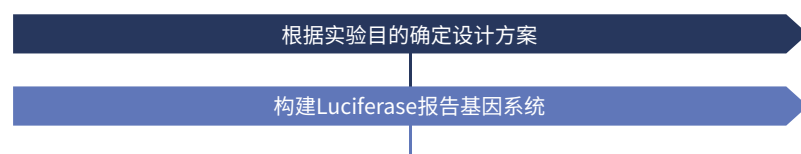
服务内容	服务形式一	服务形式二
双萤光素酶检测	质粒构建	整体实验外包
miRNA过表达	质粒构建	慢病毒/腺病毒/腺相关病毒
miRNA干扰	质粒构建	慢病毒/腺病毒/腺相关病毒
LncRNA过表达	质粒构建	慢病毒/腺病毒/腺相关病毒
LncRNA干扰	质粒构建	慢病毒/腺病毒/腺相关病毒
LncRNA敲除	质粒构建	慢病毒/腺病毒/腺相关病毒
circRNA过表达	质粒构建	慢病毒/腺病毒/腺相关病毒
circRNA干扰	质粒构建	慢病毒/腺病毒/腺相关病毒
circRNA敲除	质粒构建	慢病毒/腺病毒/腺相关病毒
piRNA过表达	质粒构建	慢病毒/腺病毒/腺相关病毒
piRNA干扰	质粒构建	慢病毒/腺病毒/腺相关病毒
snoRNA过表达	质粒构建	慢病毒/腺病毒/腺相关病毒
snoRNA干扰	质粒构建	慢病毒/腺病毒/腺相关病毒
tRNA过表达	质粒构建	慢病毒/腺病毒/腺相关病毒
tRNA干扰	质粒构建	慢病毒/腺病毒/腺相关病毒

荧光素酶检测

荧光素酶 (Luciferase) 是自然界中能够产生生物发光的酶的统称, 其中最有代表性的是来自萤火虫体内 (Firefly) 和海肾 (Renilla) 体内的两类荧光素酶, 分别命名为 F-Luciferase (萤火虫荧光素酶) 和 R-Luciferase (海肾荧光素酶)。在荧光素酶的催化下, 荧光素底物可以高效的转变成氧荧光素, 同时发出强烈的光。

鉴于此, 研究者利用荧光素酶开发出一套极其灵敏且使用方便的基因报告系统。目前这一系统被广泛用于转录因子结合位点与启动子活性分析、RNA降解、信号转导、药物筛选、动物活体成像等领域。

双荧光素酶服务技术路线



技术特点

- 强大的学术支持团队协助设计科学合理的实验方案;
- 极简的HB-Infusion™无缝克隆策略极大缩短载体构建周期;
- 高效的LipoFiter™转染试剂和病毒转导系统, 确保结果稳定和可重复性;
- 专业的研发生产团队极具专业的验证实验操作手法;
- 详细的原始数据和实验结果分析, 确保结论清晰可靠。

服务推荐



靶基因与miR的结合验证涉及的产品



启动子与转录因子的结合验证涉及的产品

