

# 合成生物学

加速发现，激发创造



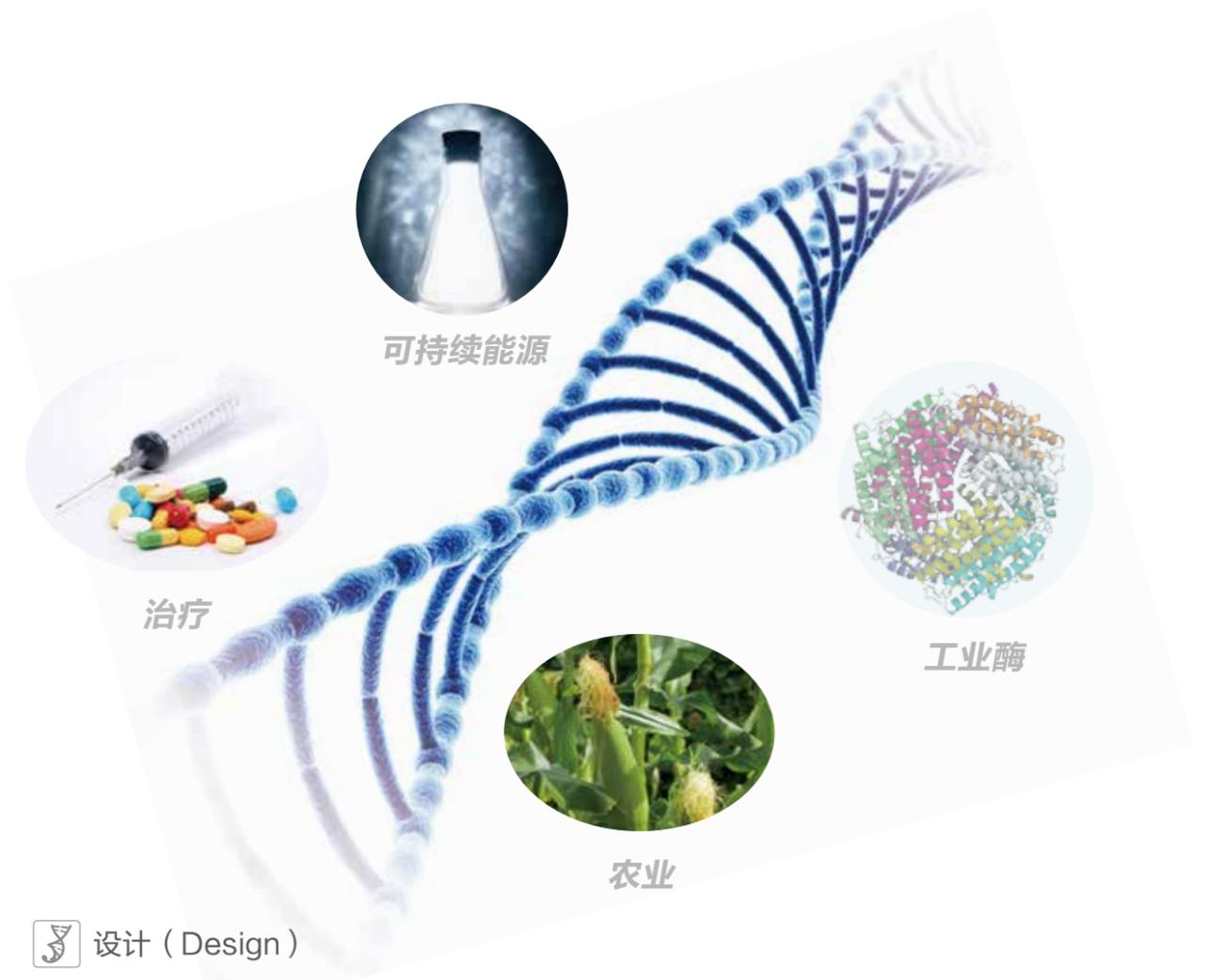
南京金斯瑞生物科技有限公司

www.genscript.com.cn

江苏省南京市江宁科学园雍熙路28号

gene@genscript.com.cn

400-025-8686-5820/5828



设计 (Design)

构建 (Build)

制备 (Generate)

# 金斯瑞一站式服务 推动合成生物学研究

生物传感器

农业产品

制药

抗体

生物材料

疫苗

工业酶

生物燃料

金斯瑞相信合成生物学将带来全新、有效的疾病治疗方法，创造更多的食物及能源，开发清除有毒物的可持续生态系统，及为生命所需的基本元素提供科学的预见。

金斯瑞作为首家为科研机构提供基因合成服务的商业实体，目前业务已延伸至基于实验解决方案的多样化服务，以使合成生物学研究变得简单。金斯瑞公司属性的独特组合赋予了我们的服务可为合成生物学研究者们提供强有力的工具，以用来设计与构建基因调控回路及有机体，这些有机体可以生产可利用资源（如生物燃料，农作物粮食及药物等），将大大改变我们的世界。



构建

- Gene-on-Demand™基因合成
- CloneEZ™无缝克隆
- 点突变
- 突变文库
- 质粒制备

设计

- OptimumGene™密码子优化

制备

- 蛋白服务
- 生物工程服务

Experience

Collaboration

Precision



Innovation

Ingenuity

Dedication

# 设计 (Design)

合成生物学者们需设计最优的遗传途径，后续在模式及非天然宿主中表达有用的产物。然而，未经优化的遗传途径在宿主细胞中表达产生目的蛋白的产量及溶解度不尽人意。金斯瑞密码子优化技术为遗传途径的优化提供解决方案，基因经过该技术优化，可表达出高产量的工业酶或药物蛋白。

## OptimumGene™ 密码子优化技术

OptimumGene™ 密码子优化技术可大大提高宿主表达系统中的蛋白表达量及可溶性

- 对转录、翻译和蛋白折叠等多种相关参数进行优化设计
- 可大大提高蛋白表达量，最高可达100倍
- 技术升级后，约50%优化后的蛋白在表达量上高于同行公司水平
- 实现原核、酵母、哺乳、昆虫及植物等多种宿主表达系统中的序列优化

### OptimumGene™ 优化参数

转录效率:

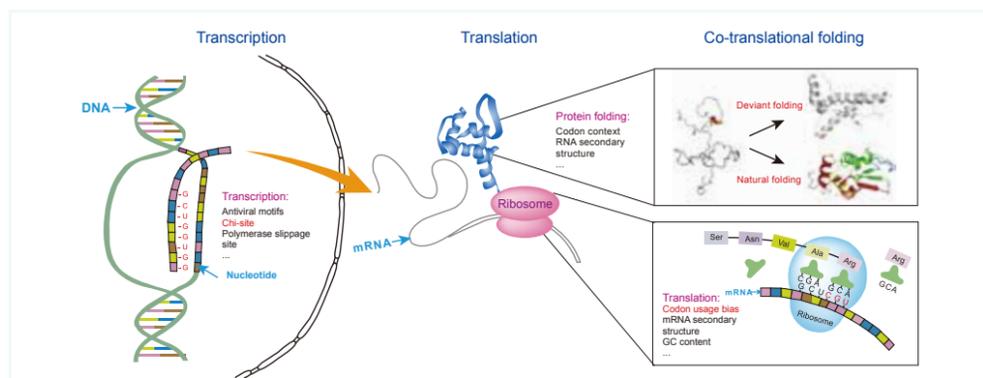
- GC含量
- 隐蔽剪接位点
- 阴性CpG岛
- TATA框
- 终止信号
- CpG二核苷酸含量
- SD序列

翻译效率:

- 密码子使用偏爱性
- 抑制位点
- GC含量
- mRNA二级结构
- PolyA早期信号
- mRNA自由能稳定性
- RNA不稳定性基序
- 潜在的Chi序列和核糖体结合位点

蛋白折叠:

- 密码子偏爱性
- 密码子上下文关联
- RNA二级结构
- 密码子与反密码子交互作用



**技术亮点:** 2012年，金斯瑞OptimumGene™密码子优化技术获得专利 ( U.S. Pat No.8326547, “Method of sequence optimization for improved recombinant protein expression using a particle swarm optimization algorithm” ) .

# 构建 (Build)

经过设计的基因及基因回路是合成生物学的基础。合成生物学发展的瓶颈之一，是不能及时地构建大片段、结构复杂且无突变的DNA 质粒。

金斯瑞基因合成及突变服务能帮您解决这个问题，可为您构建任何需要的质粒。无论短片段的基因或整个基因组，都能在最短的时间内交付您100%序列验证的质粒。

## Gene-on-Demand™ 基因合成及克隆

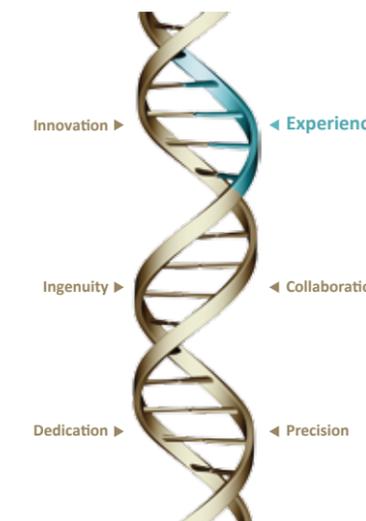
金斯瑞拥有世界顶级水平的基因服务专家队伍，搭建了Gene-On-Demand™ 技术平台，并整合了先进的OptimumGene™ 密码子优化技术及CloneEZ™ 无缝克隆技术，可为客户合成所需的任何长度基因及各种复杂基因。

- 基因合成——合成1.5 kb以内的基因，仅需5个工作日
- 克隆——克隆基因至任何载体
- 载体构建——构建您需要的任何载体



合成纪录	合成实力
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 99.9%的合成成功率</li> <li>• 98%的及时交付率</li> <li>• 最长合成&gt;50 kb的基因</li> <li>• 已合成600,000余条基因</li> <li>• 10余年基因合成经验</li> </ul>	成功合成如下基因: <ul style="list-style-type: none"> <li>• GC含量 (&gt;70%或&lt;30% GC)</li> <li>• 高度重复序列</li> <li>• 复杂二级结构</li> <li>• 连续单一碱基重复</li> </ul>

**技术亮点:** CloneEZ™ 无缝克隆技术能在30分钟内克隆任何基因至任何载体，无需限制性内切酶及连接反应。



模块 合成基因组 优化代谢通路 基因线路 振荡器  
基因组编辑 微量细胞 细胞间传导通路

## 合成实力：TALEN基因合成

TALENs(transcription activator-like (TAL) effector nucleases) 是基因组编辑技术之一。TALENs是由高特异性，高亲和力的DNA结合蛋白-TALE蛋白与功能核酸酶（如核酸内切酶，*FokI*）两部分组成。生物学家可以利用TALE蛋白的可编程性，精准编辑基因组上核酸内切酶结合的靶位点。



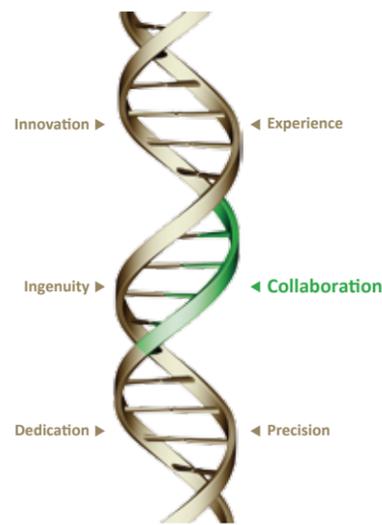
TALENs的合成与组装关键是合成TALE蛋白串联重复区的编码DNA序列。要合成这种高度重复序列具有一定的困难与挑战。金斯瑞在合成难度基因方面具有十分丰富的经验，曾成功为客户合成过多达18个重复，100个核苷酸长度的TALENs序列。

## GenBrick™合作：参与人工合成酵母基因组计划（Sc2.0）



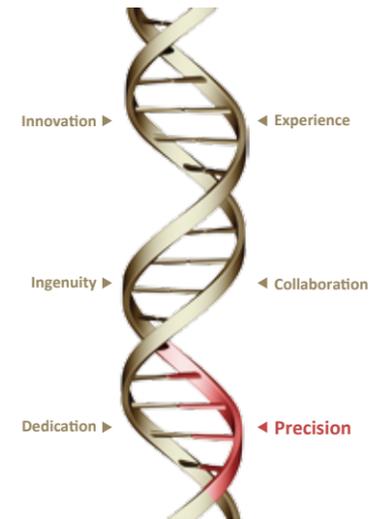
金斯瑞GenBrick™基因合成服务可合成长达8-15 kb的长片段基因。该服务同时可应用于构建单个的基因回路甚至整个基因组（如下所述）。

约翰-霍普金斯大学 (Johns Hopkins University) 发起与组织的酵母基因组人工合成计划 (Sc2.0)，该项目已合成首个真核生物基因组 (syntheticyeast.org/sc2-0/)，研究的最终目的是合成一个理想的模型生物体，并为制造药物、燃料和其它物质设计一个人工合成生物系统。金斯瑞作为唯一一家受邀参与该大型计划的商业实体，利用领先的技术平台完成了大块、特定长度酵母染色体臂的人工合成。即在很短时间内合成酵母染色体VI的17个预设大片段（平均长度为10 kb，总长度为170 kb）。



## 点突变及突变文库

定点突变可以设计并改造出具有全新功能的蛋白。这些高效的突变子能够分解生物质从而制备出生物燃料或提高碳固定速率促进农作物的生长，改善人类粮食供应。基于强大的基因合成服务，金斯瑞点突变服务及文库构建能引入任何突变，无论是随机设计的单条基因上的定点突变，还是定向进化及扫描的随机文库均可为您完成。



- 定点突变服务（一条基因上不限制突变点数）
- 突变文库：
  - 定点突变
  - 扫描突变
  - 随机简并突变
  - 截短文库
  - 组合文库

**技术亮点：**合成生物学研究中，大规模的突变文库是有效筛选工程蛋白的关键。金斯瑞高通量蛋白变体表达服务，包括从基因合成、突变、亚克隆、原核蛋白中试规模表达及一步纯化，凭借业界首屈一指的高通量生产能力，能够在30个工作日交付多达1,000个蛋白突变体。

## 质粒制备服务

蛋白或抗体生产中合成生物学构建体的转染及合成疫苗的研究，都需要用到大规模高纯度的质粒。

### 金斯瑞服务特色：

- 100 μg - 1,000 mg高拷贝或低拷贝质粒可供选择
- ≥90%超螺旋质粒（转染级）
- ≤0.01 EU/μg内毒素（转染级）
- 生物计数测定（转染级）
- 无菌过滤（可选）



## 微生物基因组改造

微生物，如大肠杆菌和酿酒酵母，广泛用于工业微生物生产。利用代谢工程以及合成生物学的方法在基因组上优化微生物基因的表达和调节，可以提高化学品、生物能源产品和重组蛋白的产量。随着CRISPR/Cas9技术的突破，细菌及酵母的基因组改造已经变得越来越高效和准确。

金斯瑞推出微生物基因组改造服务，用于细菌（大肠杆菌）和酵母（酿酒酵母）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λ Red-CRISPR/Cas技术，结合传统λ Red重组和CRISPR/Cas9方法以实现无痕的靶基因编辑。对酿酒酵母，金斯瑞借助CRISPR/Cas9技术可以实现高效的基因组编辑。

## 金斯瑞服务特色

- 无痕编辑
- 精确到碱基
- 高效编辑：在单倍体和二倍体酵母菌中也能实现高效编辑
- 多基因编辑：能同时敲除多达3个基因
- 便于筛选：不需要选择性标记

## 服务内容

服务项目	交付结果	周期（工作日）
<i>E. coli</i> 基因敲除服务	重组菌株的甘油菌 QC 报告	4~5周起
<i>E. coli</i> 基因敲入和替换服务		4~5周起
酵母基因敲除服务		5~6周起
酵母基因敲入和替换服务		5~6周起

## Case Study: CRISPR技术敲除酿酒酵母CAN1基因

- CRISPR/Cas9技术用于删除CAN1基因中的一个400 bp序列阻断基因表达(Figure 1)。
- PCR结果显示，重组菌株中400 bp条带缺失，证明基因敲除成功(Figure 2)。

Figure1: Targeting strategy for CAN1 knock-out in *S. cerevisiae*.

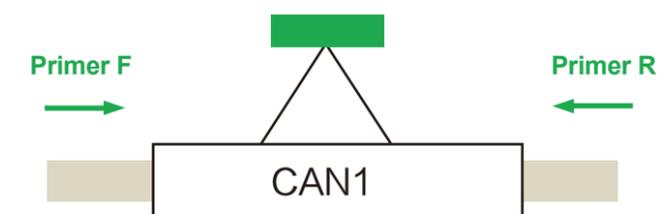
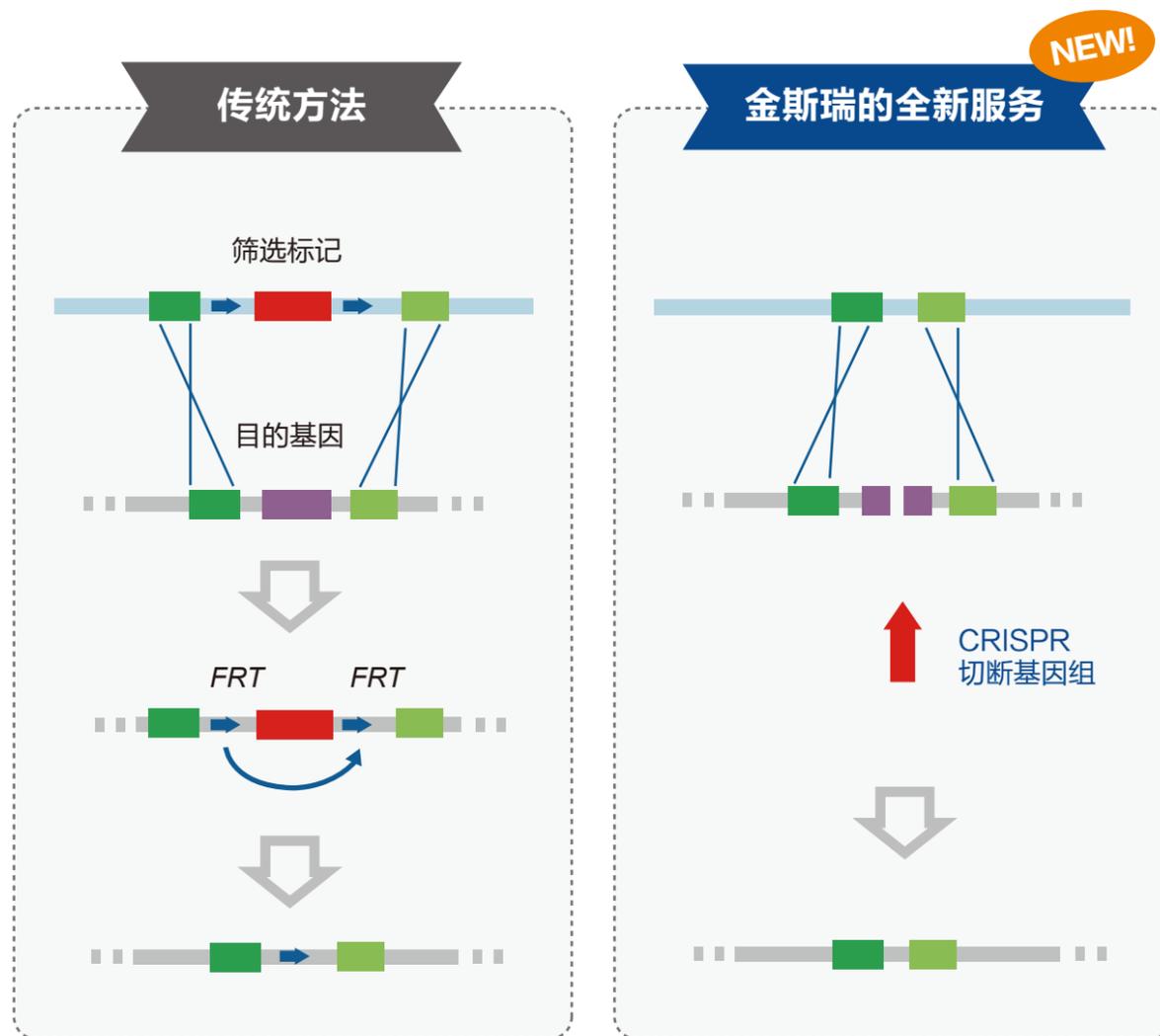
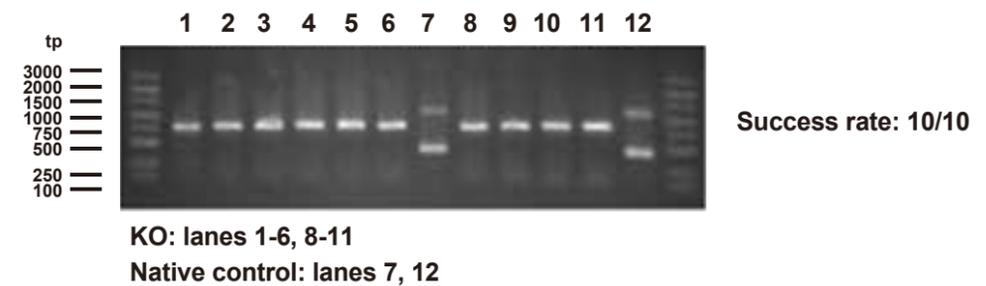
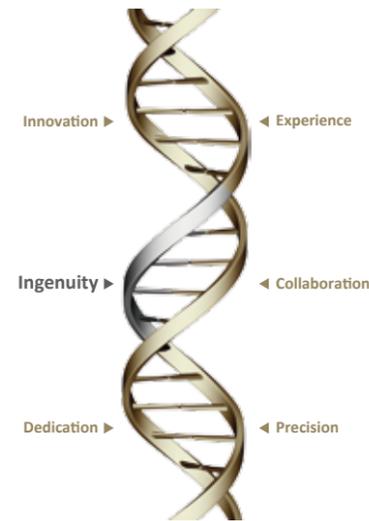


Figure2: PCR Results for CAN1 knock-out



# 制备 (Generate)

合成生物学研究远不仅是优化设计基因通路，纯化的蛋白、细胞系及抗体通常才是合成生物学家们期望得到或研究的最终产物。同时，这些生物分子的大规模生产是研究及开发工艺中重要的一步。金斯瑞一站式服务，正满足了这些研究需求，将您的基因设计引领到下游水平。



## 蛋白服务

灵活选择表达系统，表达规格，纯化方法，各种定制套餐，满足您蛋白制备需求。

### 金斯瑞服务特色：

- 表达系统灵活选择：原核，酵母，杆状病毒-昆虫细胞，哺乳动物细胞。
- BacPower™保证型蛋白表达套餐：从基因合成开始做起，最终交付纯化好的蛋白。
- 灵活的纯化系统：亲和柱(GST, Ni-IDA, protein A/G/L resins), 凝胶过滤, 离子交换, 疏水层析, 高性能液体色谱。
- 大规模蛋白生产：制备高达2,000 L (原核及酵母表达系统)。

## 生物工程服务

金斯瑞哺乳动物细胞表达系统能够表达工业酶或抗体。大规模制备服务可满足制备高产量重组蛋白的需求。

- 瞬时蛋白表达
- MamPower™保证型蛋白及抗体套餐——从基因合成开始，交付纯化好的蛋白或抗体
- 生产型稳定细胞系构建
- 工艺开发



# Our Commitment



数年来，金斯瑞已赞助、合作各类活动及组织，以支持合成生物学研究：

- 国际遗传工程机器大赛 (iGEM) : iGEM已逐步成为合成生物学领域的国际顶级赛事，金斯瑞连续数年赞助iGEM参赛团队
- 合成酵母基因组 (Sc2.0) : 唯一一家受邀参与该项目的商业实体
- 国际基因合成协会 (IGCS) : 创始会员，积极推动生物技术安全应用
- 冷泉港亚洲合成生物学论坛：赞助者及演讲者



## 金斯瑞将继续支持及推动合成生物学研究的发展

