

# 单细胞分辨率的高通量CRISPR功能性筛选

CRISPR筛选是一种强大的方法，可以研究某些基因的定量表达如何影响复杂的细胞表型和进程。有了10x Genomics的Chromium单细胞CRISPR筛选解决方案，研究人员如今能够以单细胞分辨率分析数百个不同的CRISPR扰动，并检测与基因表达表型直接相关的单链向导RNA (sgRNA)。与批量CRISPR筛选或逐一敲除相比，这种全面的方法让研究人员能够实现更高的通量、更高的实验效率和分辨率，从而探索遗传扰动的整体转录组影响。

## 联系我们

10x Genomics  
6230 Stoneridge Mall Road  
Pleasanton, CA 94588-3260

+1 925 401 7300  
+1 800 709 1208

[info@10xgenomics.com](mailto:info@10xgenomics.com) [10xgenomics.com/cn](https://10xgenomics.com/cn)

了解美国、欧洲和亚洲的更多办事处，请访问：

[10xgenomics.com/cn/company/#locations](https://10xgenomics.com/cn/company/#locations)



获取最新资讯

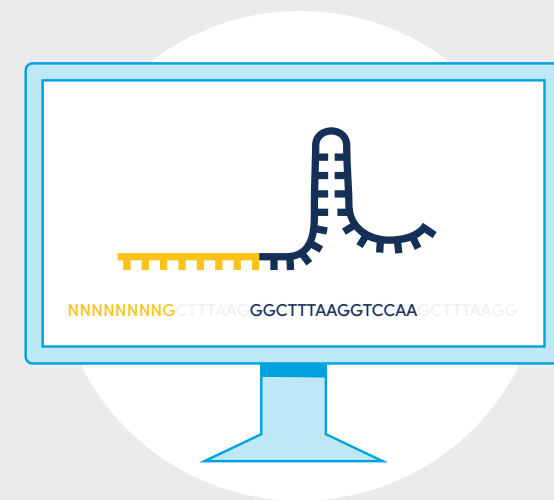
请关注 10x Genomics 公众号

请访问 [10xgenomics.com/cn](https://10xgenomics.com/cn) 了解更多

01

## 设计 CRISPR文库

- 选择目标基因
- 每个基因使用2-5条sgRNA
- 每条向导用于100-250个细胞
- 采用在线工具来设计向导，或从经过验证的数据库中选择

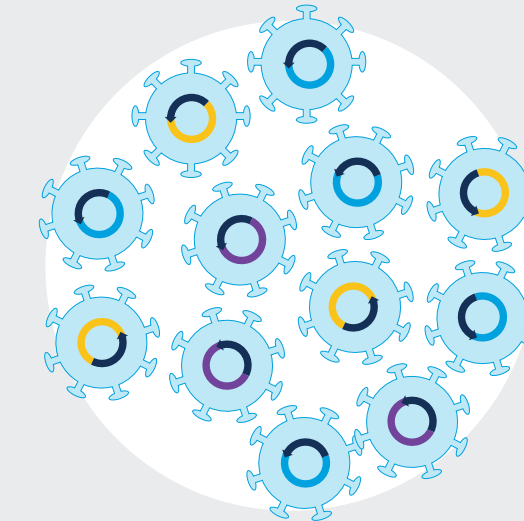


注：在设计向导时包含10x Genomics的捕获序列。 [点击此处](#)了解更多

02

## 组装 慢病毒

- 将向导克隆到10x Genomics的兼容载体上
- 将载体加入病毒中，或直接感染细胞
- [点击此处](#)查找慢病毒的生成方案
- 或者，通过Sigma-Aldrich®\* 购买 10x Genomics兼容的CRISPR慢病毒载体

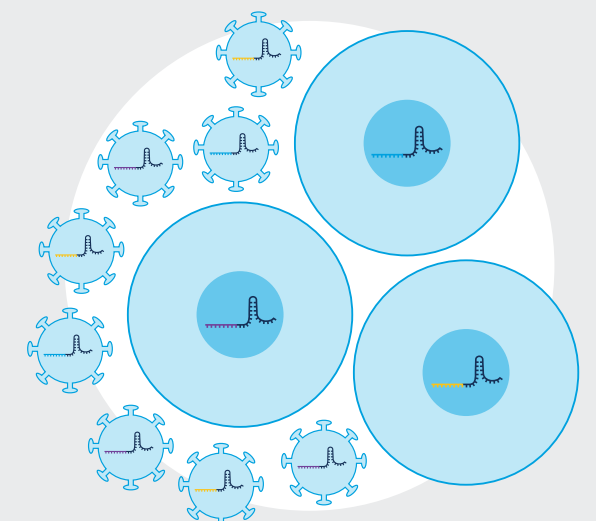


注：10x Genomics的兼容质粒可在[此处](#)和[此处](#)找到。

03

## 感染并 挑选细胞

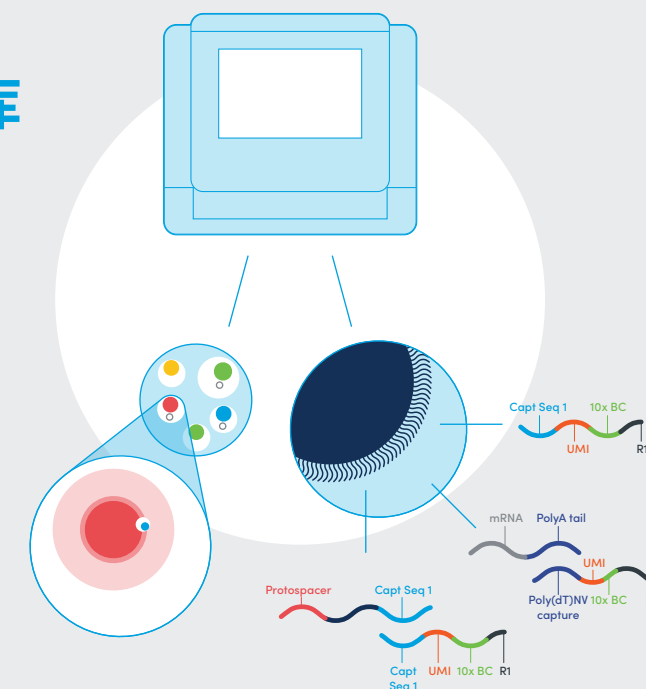
- 用慢病毒文库感染细胞，以便递送sgRNA
- 通过FACS和/或抗生素耐药性挑选表达向导的细胞
- 刺激细胞参与感兴趣的进程或通路
- 阅读这篇[转导方案](#)，了解详情



04

## 构建 10x Genomics文库

- 将单细胞悬液上样到Chromium Controller系统中
- 捕获的sgRNA和细胞mRNA将共享一个细胞条形码，将向导与转录组影响相关联

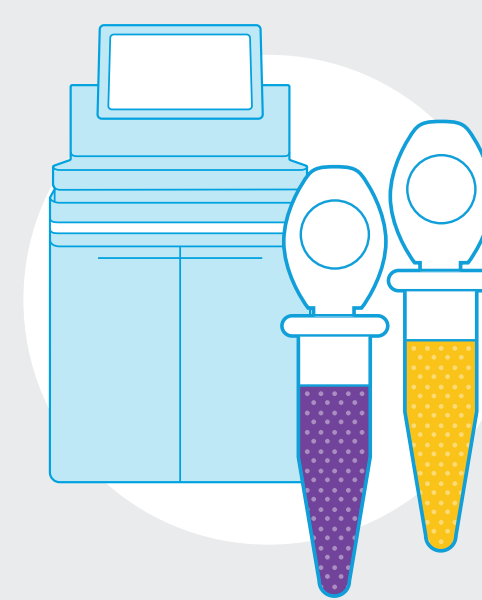


\*Sigma-Aldrich是德国达姆施塔特的Merck KGaA公司或其附属公司的商标。所有其他商标均为其各自所有者的财产。有关商标的详细信息可通过公共资源获取。

05

## 对文库 进行测序

- Chromium工作流程将产生基因表达和CRISPR (Feature Barcode) 文库
- 采用我们[用户指南](#)中概述的单细胞基因表达流程，在兼容的短读长测序仪上对这两个文库进行测序



06

## 获得 新见解

- 通过10x Genomics易用的软件工具Cell Ranger和Loupe Browser分析单细胞数据
- 评估不同细胞进程中的基因功能，评定基因对疾病的贡献，或验证新的药物靶点

