

TCATCCAG

CATAGT

TCGTCTGT

CGGGG

基因突变文库手册

高质量，定制化

CCTGCGGGGCTGCGGC

CATCA

ATACTCCCGTCATTACGT

苏州泓迅生物科技股份有限公司

基因突变文库

以原DNA/蛋白序列为模板,对其中目标序列特定碱基位点的碱基或者氨基酸位点上的氨基酸种类进行人为突变设置,根据设置结果合成多样化的DNA序列并构建至特定载体,所获得的质粒集合被称为基因突变文库。作为高通量筛选的重要工具,高质量的基因突变文库在推动功能蛋白或元件的定向进化中发挥重要作用,尤其适用于在抗体工程、酶工程、合成生物学等领域相关研究中。根据人为设置的突变形式不同,基因突变文库主要分为扫描突变文库、定点突变文库、定域突变文库、组合突变文库等多种类型。

基因突变文库以其序列长、突变位点多样等特点,在实现高质量构建方面具有较大难度。泓迅生物基于多年的基因合成及文库构建技术经验优势,结合不同基因突变文库类型特点制定了一对一的合成方案,目前已成功交付了数百个定制化基因突变文库定制化服务。

服务优势



根据需求进行一对一的方案定制



序列设计-序列合成-文库构建-NGS数据辅助分析的一站式服务



交付形式(PCR产物、质粒形式)可选



01 方案设计

- 引物序列设计与合成
- 载体
- 克隆策略



02 质粒文库构建

- 序列扩增
- 连接
- 电转
- 质粒抽提



03 质检

- 正确率
- 覆盖率



04 发货

- 文库质粒
- 菌种
- CoA文件

CONTENTS

目录

01	扫描文库	01
02	定点突变文库	02
	2.1 碱基定点突变文库 02	
	2.2 氨基酸定点突变文库 03	
03	定域突变文库	05
	3.1 以碱基为单位的定域突变文库 05	
	3.2 以氨基酸为单位的定域突变文库 06	
04	组合突变文库	07
05	DNA突变文库产品： AAV9衣壳蛋白多肽展示库 (现货)	08
06	文库相关服务	09
07	常见问题	10

01 扫描文库

扫描文库是指以原目标氨基酸序列为模板下单个特定氨基酸位点一次突变的构建，是若按条单点（以氨基酸位点为单位）突变序列分别构建在特定载体上的质粒集合。最终构建中的每条序列与原目标序列相比，均有1个氨基酸位点发生突变。按照每个位点设置的氨基酸种类数不同可以分为单氨基酸扫描文库、多氨基酸扫描文库和饱和扫描文库。

应用

- 定位蛋白功能的关键aa

- 功能元件的关键位点

扫描突变文库构建的序列模式图如下：



*X位点表示人工设置的氨基酸位点，X处的氨基酸种类可为1种或多种氨基酸

02 定点突变文库

定点突变文库是指以原序列(碱基序列或者氨基酸序列)为模板下特定位点的碱基/氨基酸种类进行人为选定并分别构建在特定载体上的质粒集合。最终构建中的每条序列与原序列相比,均有多个位点发生突变。根据模板序列类型不同,主要分为碱基定点突变文库和氨基酸定点突变文库。

2.1 碱基定点突变文库

碱基定点突变是指目标模板序列为碱基序列,人为设置突变时以单个碱基位点为单位。按照位点上设置的碱基种类不同,可分为饱和突变、简并突变、可选突变。

2.1.1 饱和突变:选定位点碱基突变为N, N代表为A、G、C、T。



2.1.2 简并突变:选定位点碱基突变为K/R/Y等简并碱基。



2.1.3 可选突变:客户根据自身需求对需要突变的位点进行设置。

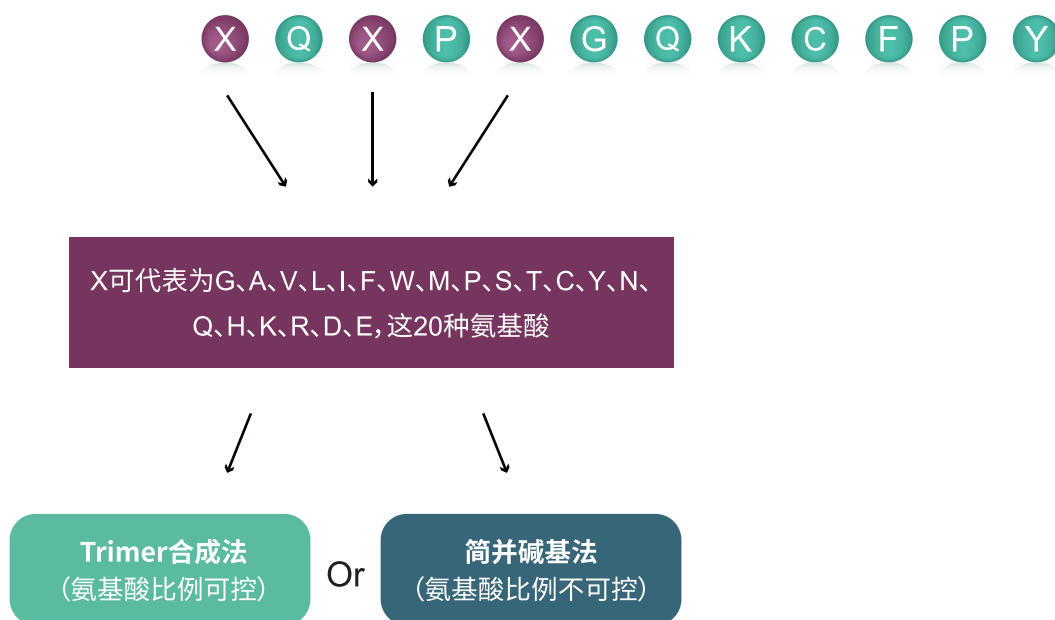


02 定点突变文库

2.2 氨基酸定点突变文库

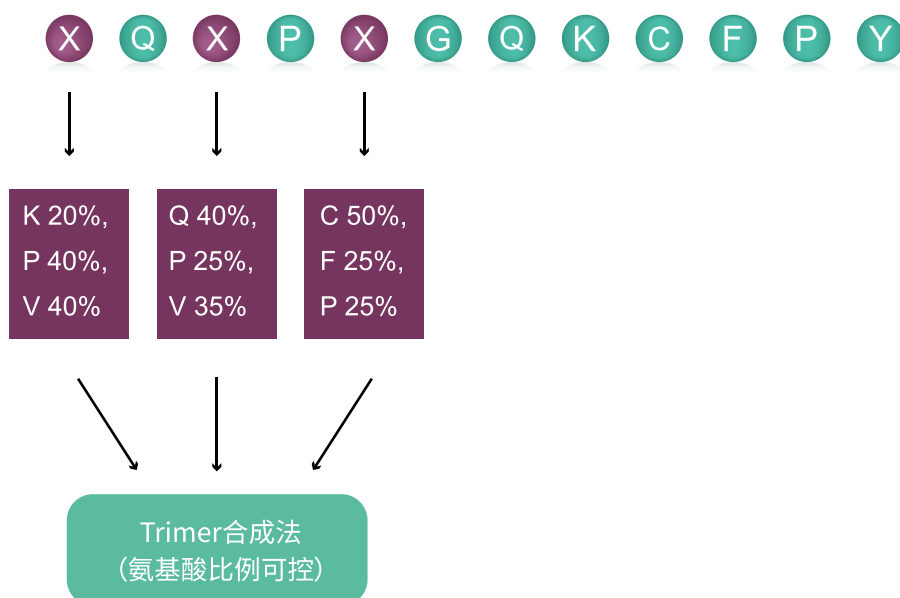
氨基酸定点突变文库是指目标模板序列为氨基酸序列, 人为设置突变时以单个氨基酸位点为单位。按照位点上设置的氨基酸种类不同, 可分为饱和突变、可选突变。合成方法主要为Trimer合成法、简并碱基合成法 (NNN/NNK等)。

2.2.1 饱和突变: 某个或多个氨基酸位点均按照20种氨基酸等比例变化进行突变。



02 定点突变文库

2.2.2 可选突变文库:某氨基酸位点按照客户需求进行氨基酸种类及比例进行突变。



2.2.3 案例分享



客户需求:

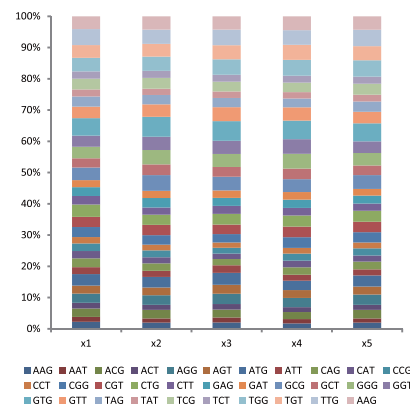
目标氨基酸序列模板上的5个氨基酸位点进行氨基酸饱和突变(每种氨基酸无需比例控制,但要尽可能避免出现终止密码子)。



合成方案:

利用NNK简并引物合成法进行构建, NNK简并引物包含了32(4x4x2)种密码子组合(N= A/C/G/T, K= G/T), 覆盖了所有20种氨基酸, 可以将任意位点的氨基酸进行饱和突变。

构建文库的质检NGS分析结果如下:



由上图可知, 每个突变位点均覆盖了20种氨基酸, 且给出了每种密码子对应的比例。

03 定域突变文库

定域突变文库是指以原序列(碱基序列或者氨基酸序列)为模板下的特定区域的碱基/氨基酸种类进行人为选定并分别构建在特定载体上的质粒集合。根据模板类型主要分为以碱基为单位的定域突变文库和以氨基酸为单位的定域突变文库。

3.1 以碱基为单位的定域突变文库

3.1.1 饱和突变, 选定序列区碱基突变位点均为N, N代表为A、G、C、T。

模式图如下:



3.1.2 可选突变, 选定序列区碱基突变位点均为N, N所代表碱基类型可由客户设置。

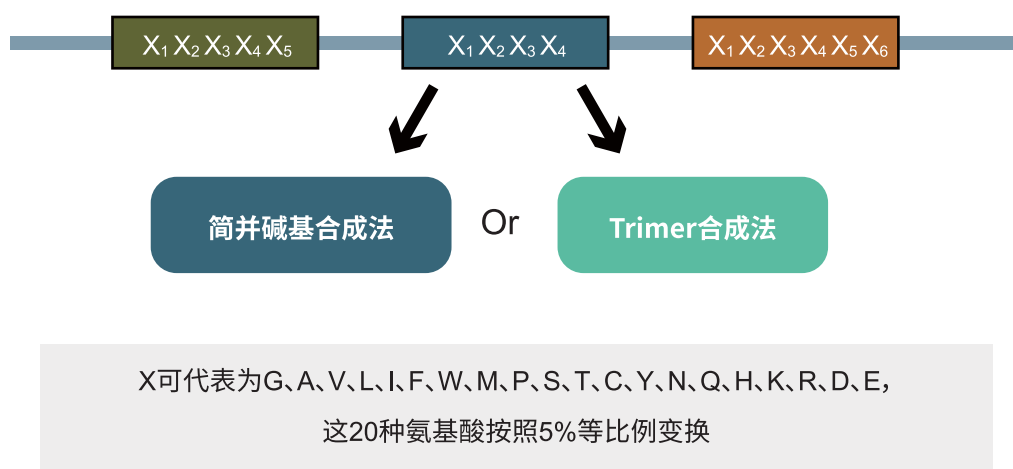
模式图如下:



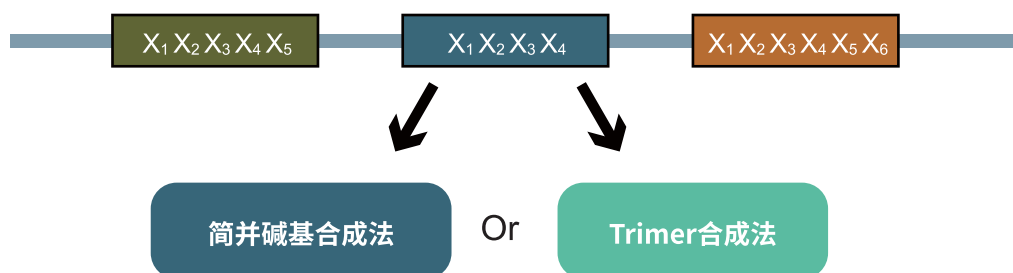
03 定域突变文库

3.2 以氨基酸为单位的定域突变文库

3.2.1 饱和突变, 选定序列区的氨基酸突变位点均为X, X代表20种氨基酸, 构建方法用NNN/NNK简并碱基合成法 (该方法合成下的氨基酸比例不可设置) 或者Trimer合成法 (该方法合成下的氨基酸比例可设置)。

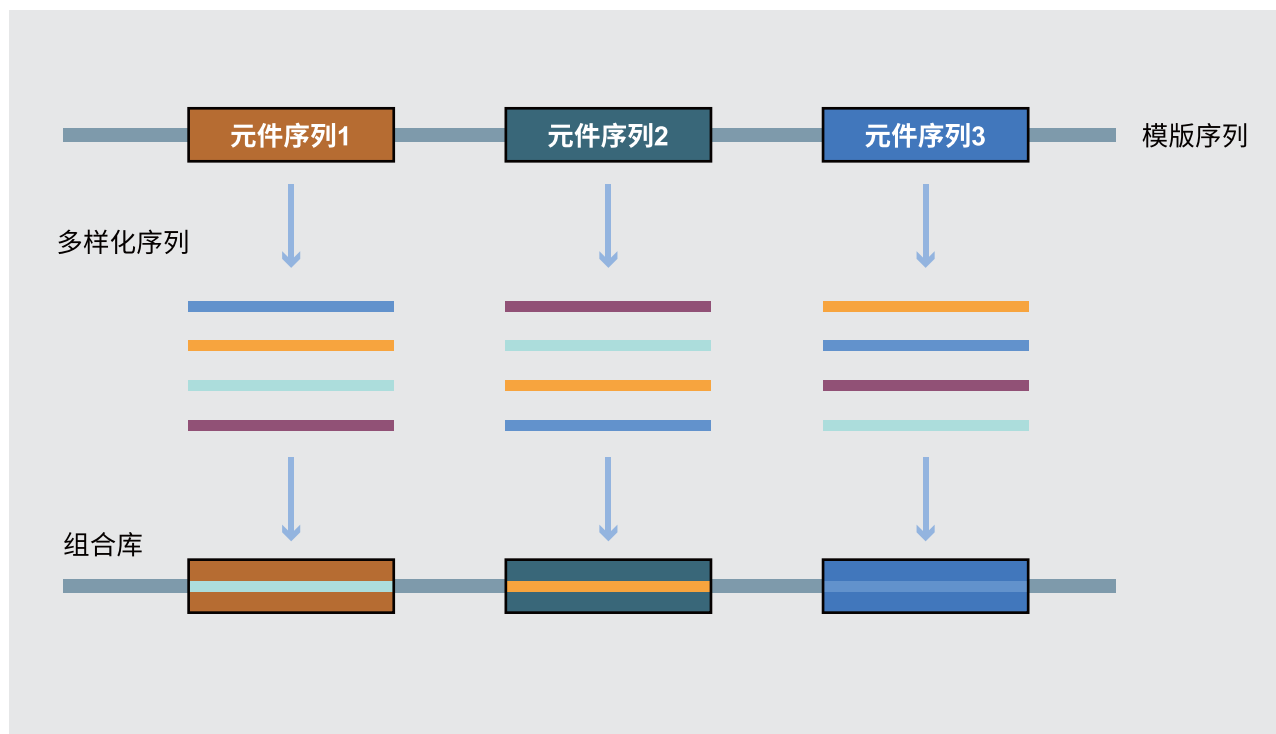


3.2.2 可选突变, 选定序列区的氨基酸突变位点均为X, X代表的氨基酸种类可由客户设置。构建方法主要有简并碱基合成法 (该方法合成下的氨基酸比例可设置) 和Trimer合成法 (该方法合成下的氨基酸比例不可设置)。



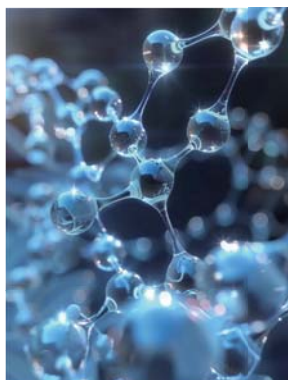
04 组合突变文库

组合突变文库，将多个蛋白/元件功能区的多样化序列同时构建在一个载体上，实现不同元件之间组合的多样化。使用该类文库，有利于筛选出功能元件的最佳组合。尤其适用于代谢工程中，同时优化多个酶或调控元件，为提高代谢通路的代谢途径提供有效工具。



05 DNA突变文库产品: AAV9衣壳蛋白多肽展示库

现货



泓迅生物基于现有的基因突变文库构建平台,推出了AAV9衣壳蛋白多肽展示成品库,为基因递送载体AAV提供重要工具。

为助力开发更优AAV,便于客户筛选性能更优的AAV衣壳(如组织特异性、免疫逃逸和转基因表达),我们还可针对12种不同AAV血清型(AAV1-AAV12)提供定制化的AAV衣壳蛋白定向进化文库构建、病毒包装和生信分析等一站式服务。

产品编号	产品名称	多肽展示长度	载体		正确率	发货形式
			名称	筛选条件		
STAAV229211	AAV9衣壳蛋白多肽展示A库	7个aa	pSBT-AAV9	Amp	96.63%	200 µg
STAAV229212	AAV9衣壳蛋白多肽展示B库	8个aa			96.47%	200 µg
STAAV229213	AAV9衣壳蛋白多肽展示C库	9个aa			96.19%	200 µg

06 文库相关服务

Trimer引物合成

Trimer引物是3个核苷按预定种类和顺序连接起来所形成的三联核苷 (Trimer phosphoramidites), 这些不同的三联核苷与不同的氨基酸的一一对应。泓迅生物采用一种新的基于密码子水平的Trimer引物合成技术来合成突变引物, 一条Trimer引物中可插入多至20个Trimer位点, 保证您下游实验筛选的多样性和筛选的便捷性。我们能够根据客户的实际需求提供多种氨基酸定制服务。Trimer引物合成可用于下游文库构建, 广泛应用于蛋白定向进化、抗体筛选、药物靶点筛选与药物发现、酶的优化等方面的研究。

服务优势

灵活定制服务

支持多位点突变与氨基酸比例定制, 适配各类复杂文库构建需求。



精准控制氨基酸分布

氨基酸密码子比例控制精准且不受物种限制, 方便客户设计与选择。



文库设计更精准

去除冗余和终止密码子, 精准性更强, 提升突变效率与文库有效性。



高覆盖、高均一性

引物覆盖度高、均一性优, 显著增强文库多样性与实验成功率。



服务详情

Trimer引物长度	一条引物中Trimer位点数	纯化方式	交付周期	交付内容
≤120nt	≤20	PAGE/HPLC	2-6周	• Trimer引物 • CoA • NGS测序分析结果

07 常见问题

Q1: 如何选择适合的突变文库?

选择适合的突变文库需要根据具体的研究目的和实验需求来决定。例如,如果需要探索单个氨基酸在蛋白质功能中的作用,可以选择扫描文库或者定点突变文库;如果需要研究多个氨基酸位点的功能,可以选择定点突变文库或定域突变文库。如果需要对多个功能元件进行协同研究,可以选择组合突变文库。

Q2: 基因突变文库的应用领域有哪些?

功能优化:通过精确调控目标蛋白关键氨基酸/碱基位点的种类变化,构建具有特定功能或性质的蛋白/功能元件变体,以适应不同应用场景需求。

新功能发现:引入多样氨基酸变异以发现新蛋白功能,如催化新反应、结合新配体等,促进蛋白功能性筛选和进化。

药物靶点发现:精准控制和定向突变已知靶点特定区域,产生具有新结构和功能特性的变体,为新药物靶点发现提供工具和平台。

药物筛选:高通量筛选大量不同序列蛋白质变体,找到与特定药物高亲和力的靶点,加速药物筛选,提高药物发现效率。

Q3: 基因突变文库具有哪些优势?

高度多样性:基因突变文库通过引入多种氨基酸变异,能够产生大量不同的突变体。这种多样性使得研究人员能够在更广泛的范围内筛选具有特定功能的突变蛋白,从而提高发现新功能和优化现有功能的可能性。

精确性:定点突变文库,如定点饱和突变文库和氨基酸定制文库,能够精确地在特定位点引入突变。这种精确性使得研究人员能够更准确地研究蛋白质的结构和功能关系,以及探索特定氨基酸在蛋白质功能中的作用。

高效性:基因突变文库构建高效,能够在短时间内产生大量的突变体。这使得研究人员能够快速筛选和优化目标蛋白,加速药物研发、酶工程等领域的进展。

苏州泓迅生物科技股份有限公司



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: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

(Synbio Technologies 202505V)

泓迅官网



泓迅微信

