**GenCRISPR - formulário 2**

**Cliente:**

**Instituição:**

**1. Edição genômica (knock-out)**

•para selecionar a opção, clique duas vezes sobre o quadrado e selecione “checked” ou preencha com o texto•

|  |  |
| --- | --- |
| **1.1 Qual será o propósito de seu projeto?** [ ]  Knock-out em um único gene [ ]  Knock-out multiplex **-** especifique o número de genes:      **1.2 Nome do alvo:**       **NCBI Accession Number (Gene ID):**      **1.3 Em que área o seu alvo se enquadra?**[ ]  Codificação de proteína [ ]  MicRNA[ ]  IncRNA[ ]  Promotor[ ]  Sítio ligação – fator transcrição[ ]  Outro – especifique       |   |
| **1.4 Você precisa que as gRNA seqs sejam desenhadas pela plataforma GenScript?** [ ]  Não – estou fornecendo as sequencias:      [ ]  Sim – especificar os produtos gênicos (e.g. NCBI accession ID, NM or NP) ou sequencia a ser editada:       |  |

<copie e cole sua sequencia aqui>

**1.5 O knock-out irá afetar o crescimento celular?**

[ ]  Não

[ ]  Sim

[ ]  Não tenho certeza

**1.6 O knock-out irá afetar a sobrevivência celular?**

[ ]  Não

[ ]  Sim

[ ]  Não tenho certeza

**2. Linhagem celular hospedeira**

•para selecionar a opção, clique duas vezes sobre o quadrado e selecione “checked” ou preencha com o texto•

|  |  |
| --- | --- |
| **2.1 Nome do alvo celular:**       **Linhagem celular alternativa (se houver):**      **2.2 A linhagem celular escolhida está disponível comercialmente?**[ ]  Sim [ ]  Não |   |
| **2.3 Quem fornecerá a linhagem celular?** [ ]  O contratante pesquisador (alerta para cultivos livre de Mycoplasma[ ]  Parceiro FastBio – GenScript (apenas linhagens ATCC – taxas serão incluídas)**2.4 Quantas cópias do gene alvo existem na linhagem escolhida?** [ ]  uma [ ]  três[ ]  duas [ ]  não tenho certeza**2.5 Orientações para o cultivo celular:** [ ]  meios      [ ]  aditivos      **2.6 Método sugerido para a transfecção celular:** [ ]  quimio-transfecção[ ]  eletroporação[ ]  nucleofecção[ ]  lentivírus•se já tiver experiência com o método, indique a taxa de eficiência:      **2.7 Quais promotores funcionam na linhagem celular?** [ ]  CMV[ ]  CBh[ ]  EF1-a[ ]  Não tenho certeza[ ]  Outro      **2.8 Qual método deseja para enriquecer as células transfectadas?** [ ]  Seleção – Puromicina (a construção gRNA-Cas9-puro poderá ser integrada no genoma celular aleatoriamente)[ ]  FACS sorting (poderá haver taxa extra)**2.9 Condições de crescimento da linhagem celular?** [ ]  Aderente[ ]  Suspensão[ ]  Ambos• A linhagem celular é passada       vezes por semana, à razão de:      **2.10 A linhagem celular será imortalizada?** [ ]  Sim[ ]  Não[ ]  Não tenho certeza**2.11 A diluição seriada afetará a taxa de crescimento celular?** [ ]  Sim[ ]  Não[ ]  Não tenho certeza**2.11 A linhagem celular contem algum patógeno humano?** [ ]  Sim[ ]  Não |  |

**2.12. Outros comentários relevantes:**

|  |  |
| --- | --- |
|   |   |

**3. Requisitos para a produção de linhagem transgênica personalizada**

•para selecionar a opção, clique duas vezes sobre o quadrado e selecione “checked” ou preencha com o texto•

|  |  |
| --- | --- |
| **3.1 Genótipo celular desejado?** [ ]  único alelo [ ]  dois alelos[ ]  múltiplos alelos[ ]  todos os alelos (número desconhecido)**3.2 Número de clones a serem produzidos (taxas poderão ser recalculadas):** [ ]  um clone[ ]  dois clones[ ]  três clones[ ]  mais clones:      **3.3 Serviços extras oferecidos para análises da linhagem transgênica:**[ ]  Curva de crescimento [ ]  Western blot (anticorpo fornecido pelo pesquisador)[ ]  Análises de off-targets[ ]  PCR – transcrição reversa**3.4 Por gentileza, selecione a aplicação de sua linhagem transgênica:**[ ]  Análise funcional de gene(s) [ ]  Desenvolvimento experimental[ ]  Screening de fármacos[ ]  Mapear bioprocessos[ ]  Outro – favor indicar a aplicação e requisitos:  |   |

**4. Informações adicionais do projeto**

•para selecionar a opção, clique duas vezes sobre o quadrado e selecione “checked” ou preencha com o texto•

|  |  |
| --- | --- |
| **4.1 É para submissão em agência de financiamento público?** [ ]  Não, já tenho fomento [ ]  Sim: [ ]  FAPESP [ ]  CNPq [ ]  FINEP [ ]  Outra:      **4.2 Estimativa de início do projeto:** [ ]  imediato[ ]  30 dias[ ]  90 dias[ ]  6 meses ou mais  |   |

**4.3 Comentários adicionais:**

|  |  |
| --- | --- |
|   |   |