**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:**

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |