

Dúvidas frequentes – Síntese de gene



1 - Por que usar o gene sintético em vez da clonagem por PCR?

A clonagem por PCR, o método mais comum de obtenção de genes, pode não ser capaz de produzir um gene de qualidade suficiente. Primeiro, uma biblioteca de cDNA para um tipo específico de tecido deve ser preparada ou comprada, o que requer tempo ou despesa. Em segundo lugar, o gene deve ser abundante na biblioteca de cDNA ou será muito difícil de clonar de maneira útil. Em terceiro lugar, quando a PCR é bem sucedida, seus produtos podem ter mutações ou polimorfismos de nucleotídeos únicos, o que pode causar problemas durante a experimentação ou outras aplicações. Finalmente, com a clonagem de PCR, você se limitará às sequências de cópias que existem na natureza, e precisará empregar métodos de mutagênese e recombinação demorados para criar construções personalizadas, como para genes que contém *introns*, *reporter genes*, proteínas de fusão, viés de códon, etc. A síntese de genes oferece flexibilidade completa para projetar sua sequência, incluindo otimização de códon para melhorar os níveis de expressão proteica. Nossos fornecedores garantem precisão na sequência (em 100%), isentos de mutações. Se toda a cadeia for computada, sintetizar genes tem preço mais econômico do que a clonagem por PCR.

Comparação	Clonagem por PCR	Síntese de gene
Construções	A construção de uma biblioteca de cDNA pode ser necessária	Flexibilidade para criar a sequência de interesse
Custo	Equipamento, reagentes, Oligonucleotídeos, Kits, sequenciamento. <small>Não considera: energia elétrica, homem-hora, tentativas/erros.</small>	Somente com a síntese
Otimização de códon	Difícil e desafiador	Flexível e fácil
Tempo	Média E.U.A.: 9 meses	30 a 40 dias úteis (FastBio)
Controle de qualidade	Sem garantia	Com garantia e controle de qualidade
Mutações	Produtos gerados podem ter mutações	Sem mutações

2 - Qual o tempo de manufatura da síntese de gene? Qual o prazo de entrega?

O tempo de manufatura irá variar de acordo com o comprimento e complexidade do gene. Nosso prazo estimado de entrega é de 30 a 40 dias úteis, podendo ser alterado de acordo com a complexidade do projeto e da quantidade de sínteses.

3 - Quais vetores podem ser usados para clonar o gene de interesse?

Os genes de interesse podem ser clonados em vetores-padrão, sem custo adicional. Nas tabelas abaixo temos os vetores-padrão de cada parceiro de manufatura.

Vetores-padrão Biomatik
pUC57-amp
pUC57-kan
pBSK (+) Simple-amp
pBSK (+) Simple-kan
pBluescript II SK (+)-amp

Vetores-padrão GenScript
pUC57
pUC57-kan
pUC57-Simple
pUC18
pUC19
pUC57-Mini

Além destes, nós temos também um inventário bem amplo com vetores para subclonagem. Caso o vetor de seu interesse não esteja em nosso inventário, você pode enviá-lo para FastBio e nós ficaremos encarregados de devolver seu inserto posicionado no vetor enviado. Como haverá um frete internacional, o envio de seu vetor poderá ter um custo adicional.

4 – O que vocês entregam?

Nós entregamos 4 µg de plasmídeo liofilizado, sem custo adicional, em temperatura ambiente, com o gene de interesse no vetor solicitado. Podemos entregar maiores quantidades da construção, com custo a ser avaliado.

5 - Quais informações do controle de qualidade são fornecidas?

As seqüências de genes são confirmadas por sequenciamento de DNA e padrão de digestão em eletroforese. Apenas amostras com 100% de fidelidade são entregues.

As informações fornecidas por e-mail são:

- Cromatogramas de seqüência cobrindo seu gene (eletrônico)

- Mapa de construção do plasmídeo (eletrônico)
- Certificado de garantia de qualidade

6 - O que é a otimização de códons? Qual a vantagem em otimizar?

Cada organismo (bactéria, levedura, etc.) tem uma preferência de uso de códons. Os códons mais utilizados em um gene humano, por exemplo, podem ser raros nas bactérias, e isso pode dificultar a expressão da proteína de interesse. Dessa forma, a otimização de códons é a alteração da sequência de codificação por uma sequência otimizada, ou seja, pelos códons “preferidos” pelo organismo que irá produzir a proteína. A otimização tem como vantagem aumentar a eficiência da expressão protéica e, conseqüentemente, o rendimento da proteína expressa. É possível também que seja realizado a otimização de códons para 2 organismos diferentes.

7 - Qual a diferença entre síntese de oligonucleotídeo e síntese de genes?

A síntese de oligonucleotídeo gera DNA fita simples com tamanho limitado, normalmente até 180 bases. Além disso, oligos não são clonados em vetores. A síntese de genes permite que a sequência tenha 20Kb, ou mais, é uma síntese de fita dupla e clonada em um vetor de sua escolha. A entrega em vetores garante que você possa obter novas preparações em seu laboratório.

8 - Qual o comprimento máximo que um gene pode ter para ser sintetizado?

Embora o método de síntese gênica não tenha limites teóricos, genes mais longos requerem um planejamento cuidadoso, tempo de manufatura mais demorado e, às vezes podem ser muito difíceis de sintetizar. Aconselhamos não sintetizar mais que 10kb de comprimento. Entretanto, a FastBio já entregou genes maiores que 11kb.

9 - Quais são as aplicações da síntese gênica?

A síntese de genes tem uma variedade de aplicações, incluindo a criação de bibliotecas especializadas de cDNA, produção em larga escala de cDNA pronto para microarray, desenho de vetores de terapia gênica, síntese de variantes gênicas, além de estudos de expressão de proteínas.

10 - Se eu não tiver a sequência, você pode sintetizar o gene para mim?

Não. Precisamos da sequência polinucleotídica ou polipeptídica para sintetizar

um gene. Se você souber o nome e a origem do gene que deseja, mas não a sequência completa, poderá procurá-lo no banco de dados GenBank através do site <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

11 - Quais são os passos no processo de síntese de genes?

As etapas na síntese de genes incluem a concepção e síntese de oligos, montagem de oligos para obter genes completos, correção de mutações e confirmação da sequência. Saiba mais sobre os desafios e técnicas usadas para a síntese de genes baixando o manual.

12 - Você pode usar a síntese genética para concluir meu clone parcial?

Sim. Contanto que você tenha a sequência, pode-se sintetizar a extremidade 5' ou a extremidade 3' do gene e ligá-lo ao seu clone parcial para obter o gene completo.

13 - Vocês fornecem serviços de expressão de proteínas para genes que foram otimizados?

Sim. Fornecemos serviços de expressão e purificação de proteínas utilizando diversos sistemas: bactérias, leveduras, baculovírus e células de mamíferos.

14 – É melhor realizar uma modificação genética ou sintetizar um gene?

Se são modificações por todo o gene, ou em grande parte dele, é mais econômico realizar uma síntese gênica completa, pois você pode otimizar outras características além das modificações, como uso de códons e sítios de restrição. A modificação genética é preferível se forem poucas ou agrupadas em uma pequena parte do gene.

15 – Vocês sintetizam genes “difíceis”?

Nossos parceiros possuem uma vasta experiência em síntese de genes complexos. Eles possuem uma plataforma que permite produzir genes com alto conteúdo de GC, elementos repetitivos ou bases degeneradas. A FastBio opera desde 2011, e não houve síntese solicitada que não fora entregue.

16 – Como posso solicitar um orçamento?

Para solicitar o orçamento para Síntese de genes entre em nossa página (<https://www.fastbio.com.br/sintese-de-genes>), clique em “Solicite orçamento”,

preencha o formulário para síntese de gene (Passo 1), preencha com seus dados o formulário no passo 2, anexe o formulário preenchido previamente e envie-nos. Nosso prazo de resposta é um dia útil. Ou entre em contato através do e-mail: patricia@fastbio.com.br ou biomol@fastbio.com.br; telefone: (16) 3315-9967; Whatsapp: (16) 99382-4579.

Fonte:

- Disponível em:
https://www.biomatik.com/content/service_docs/gene_synthesis_faqs.pdf
- Disponível em:
<https://www.genscript.com/faq?category=custom+gene+synthesis#1?src=leftbar>