

SERVICE PRODUCTION DE VECTEURS AAV

Formulaire à retourner complété et signé

Demande à adresser par mail à melissa.desrosiers@inserm.fr

Date de la demande :

Nom du laboratoire :

Chef d'équipe / PI :

Nom du demandeur :

Titre, description du projet en quelques lignes (Application/pathologie concernée) :

Informations pour la production du vecteur

Nom complet du plasmide de transgène (*incluant le promoteur, le transgène, protéine rapportrice s'il y a lieu et polyA*) :

Sélectionnez le sérotype demandé : AAV1

pZac2.1 GfaABC1D mCherry-hPMCA2w/b

Les informations suivantes nous permettent d'adapter les productions en fonction de votre attente dans la mesure du possible :

Nombre de lots demandés : (1 lot = en moyenne 250µl de vecteur)	Titre minimum nécessaire :	vg/ml
Titre habituellement obtenu :	vg/ml	<input type="checkbox"/> Vecteur jamais produit
Application :	<input type="checkbox"/> <i>InVitro</i>	<input type="checkbox"/> Stéréotaxie
	<input type="checkbox"/> autre, précisez :	<input type="checkbox"/> IV
		<input type="checkbox"/> Intra oculaire (IVT, SR)

Informations sur le plasmide vecteur

IMPORTANT : Ne seront produits que les vecteurs dont le niveau de confinement est classé L2 selon les recommandations CGG

☐ Je confirme que le plasmide utilisé est inclus dans la demande d'agrément ou déclaration OGM numéro

☐ Je confirme que je possède les droits pour utiliser ce plasmide (MTA en règle)

Fonction du transgène (enzyme, facteur de croissance, oncogène etc) :

Est-ce que la séquence du plasmide a été confirmée par séquençage ? ☐ OUI ☐ NON

Sinon quelle méthode a été utilisée :

Taille de la séquence ITR à ITR : ☐ Simple brin (ss) ☐ Double brin (sc)

Maximum de 4.7kb pour les plasmides ss et 3.0 Kb pour les plasmides sc.

Au delà l'efficacité d'encapsulation diminue beaucoup

Joindre à votre demande la séquence complète de votre plasmide avec les positions exactes des ITRs, promoteur, transgène et poly A (fichier .gb ou Word).

Informations pour la conservation du vecteur

(Nous vous recommandons de conserver les vecteurs au +4° pendant 6 mois, au delà, les vecteurs se conservent à -80°C)

Volume souhaité des aliquots :

X 50µl

X 100µl

X 200µl

X 500µl

(Nous ferons un maximum de 5 aliquots. Nous pouvons conserver 3 de ces aliquots au -80°C)

Souhaitez-vous conserver des aliquots au -80°C de la plateforme: ☐ OUI Lesquelles

Titration souhaitée par Q-PCR sur les ITR (vg/ml) : ☐ OUI ☐ NON

Signature :

Quantité de plasmide vecteur à fournir et contrôle qualité :

Nous faire parvenir 100µg de votre plasmide vecteur par lot de vecteur demandé.

IMPORTANT : Remettre au service de production un format papier de cette page complétée en même temps que le plasmide vecteur.

Date :

Nom du demandeur :

Nom du plasmide vecteur :

1-Vérifier la présence des ITRs du plasmide par digestion SmaI et coller la photo du gel de migration ci-dessous (merci de noter les tailles du DNA ladder)

L'enzyme SmaI coupe dans les ITR. Vérifier que le profil sur gel est conforme à la taille du plasmide coupé au niveau des ITR, plus autre éventuel site SmaI présent sur le vecteur. Faire un contrôle avec le plasmide non digéré .

Commentaire :

2-Concentration du plasmide vecteur :

3-Pureté du plasmide vecteur (DO 260/280) :