**北京大学实验动物中心Cas9/sgRNA小鼠胚胎注射申请单**

申请日期\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

实验室/研究计划AP

联系人 \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 联系人电话 \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 联系人E-mail

基因修饰类型

KO CKO KI（插入片段大小 bp）

修饰基因名称 \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ GeneBank ID

gRNA 载体 浓度

Cas9 载体 浓度

DNA Donor 浓度

纯化方法和使用KIT（去除内毒素）

样品溶剂（DNase RNase free）

**注意事项：**

1. 注射当天送注射样品，需给出样品各组分测定浓度，须送样之前跑胶确认RNA是否降解，邮件发验证电泳图片，样品有降解情况，需重新提供。
2. 请使用RNase Free buffer 或 H2O 溶解并混匀样品，13000rpm离心10min，取上清交中心注射。每个样品至少提供10ul，枪头、EP管需使用DNase/RNase Free一次性耗材。

3. 注射浓度中心建议：

* 原核注射（Cas9/gRNA /donor浓度建议40/20/10ng/ul）；
* 胞质注射（Cas9/gRNA 浓度建议100/50 ng/ul）。

最终注射浓度，各实验室可根据自己实验提出要求，样品须标明Cas9，gRNA 或donor各成分的浓度。

4. 注射方式：

* Cas9 KO：无特殊要求中心采用胞质注射；
* Cas9 KI：无特殊要求中心采用原核和胞质同时注射。
* 如对注射样品浓度和注射方式有特殊要求，需提前说明。

5. 收费：按注射次数收费

* KO：注射70-100枚受精卵，4000元/例；
* CKO和KI：注射200-300枚受精卵，10000元/例。

1. F0出生中心剪尾移交组织后1周内反馈基因型鉴定结果，超期后开始收取笼位费。
2. 确认以上所有内容并签名。

联系人签字： 日期：

PI签字: 日期: