

Генная инженерия ЖИВОТНЫХ

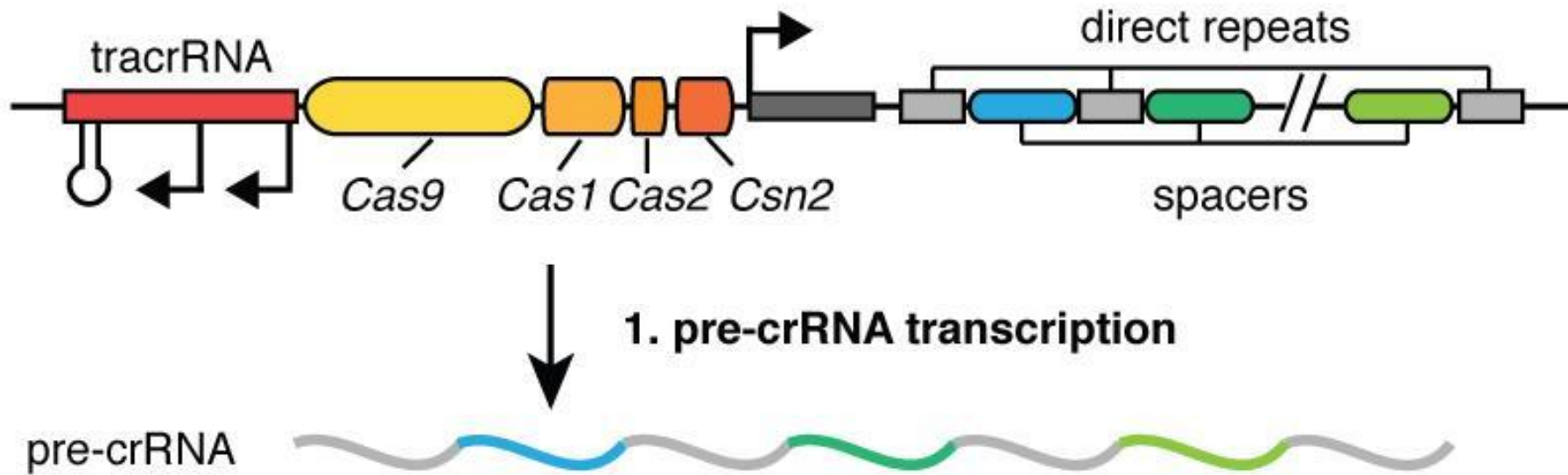
Практикум

ФББ МГУ – ЦКП ИБГ РАН

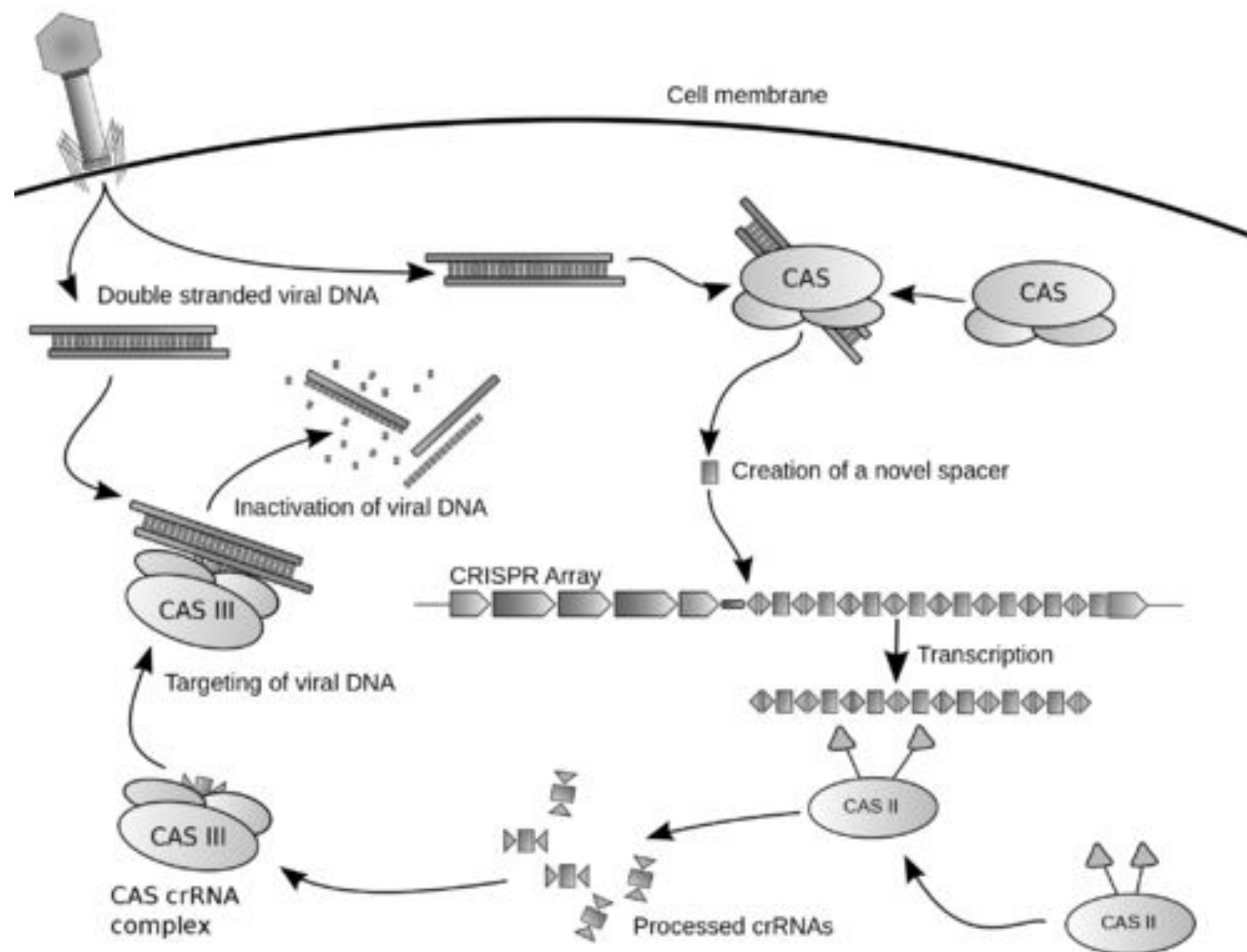
2015

Локус CRISPR

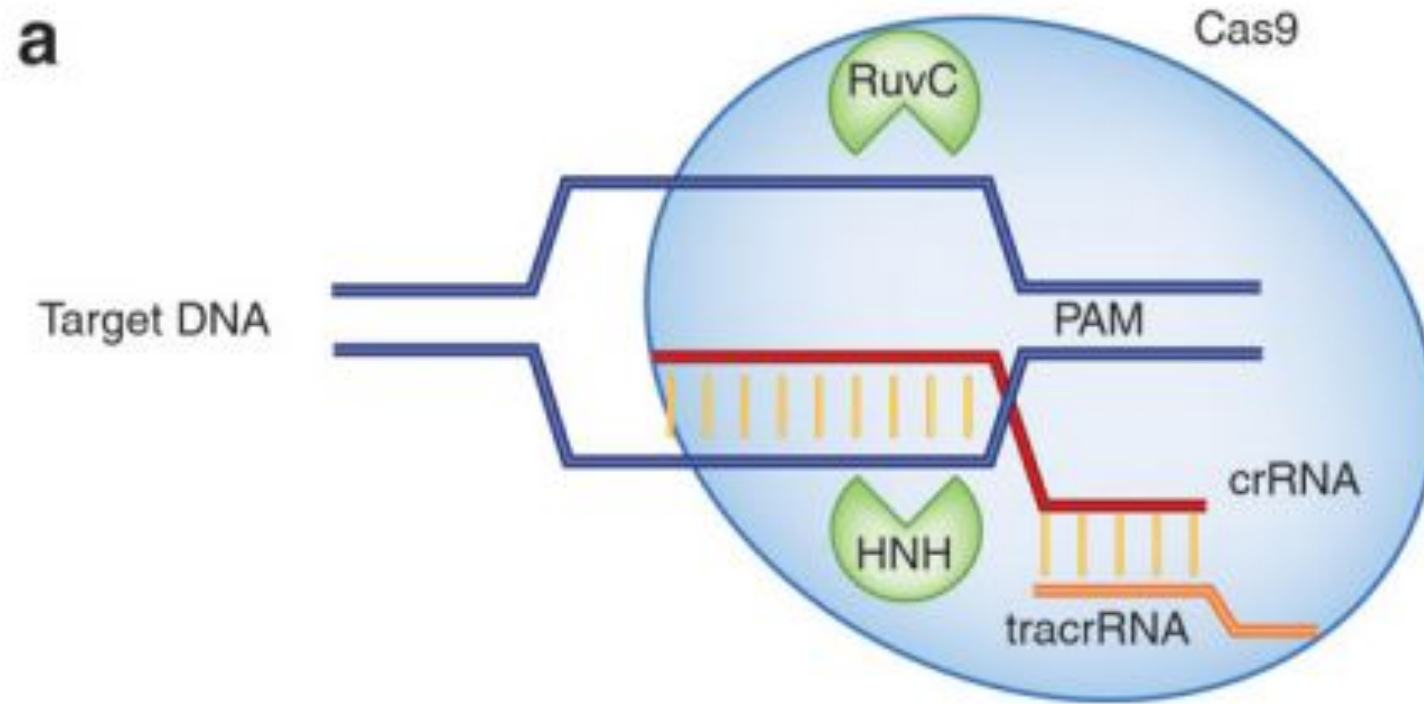
Streptococcus pyogenes SF370 CRISPR locus 1



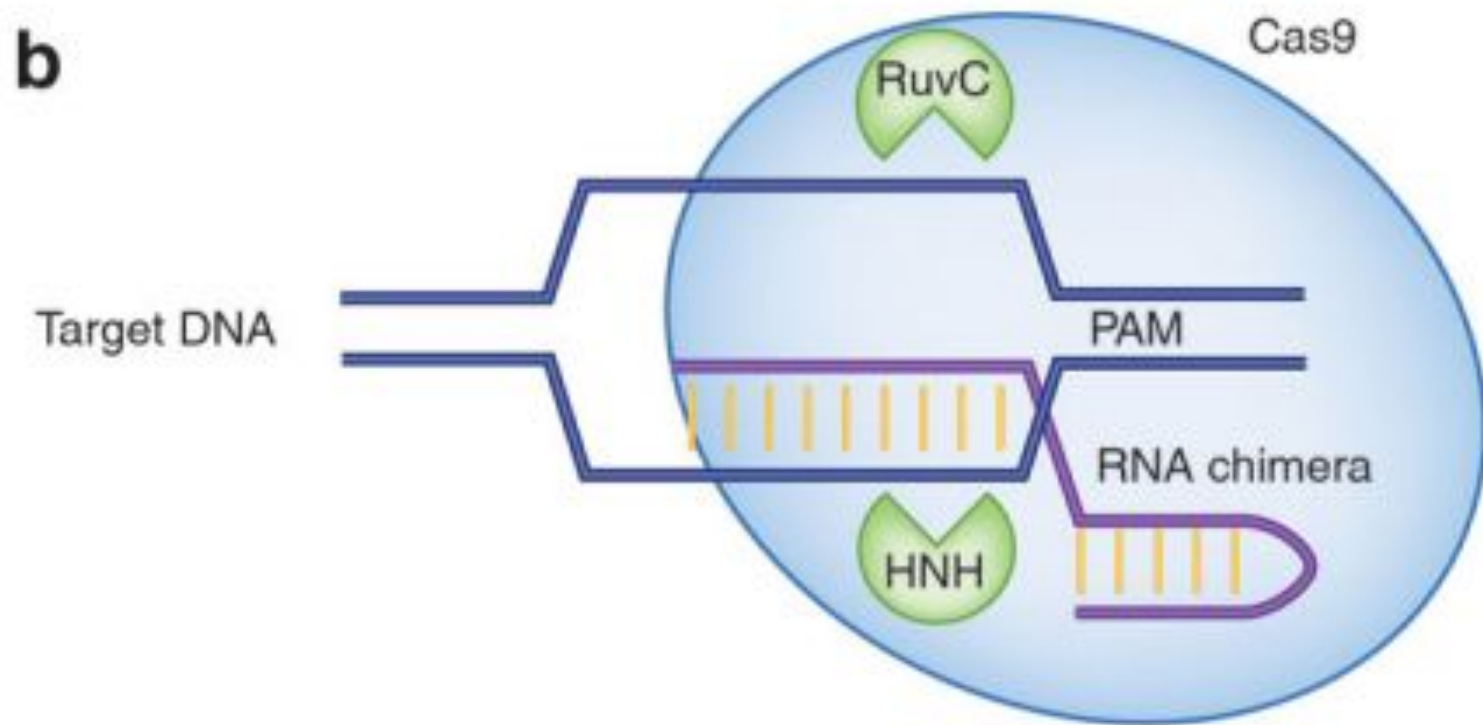
Зачем оно вообще нужно?



Cas9:crRNA:tracrRNA комплекс – программируемая нуклеаза

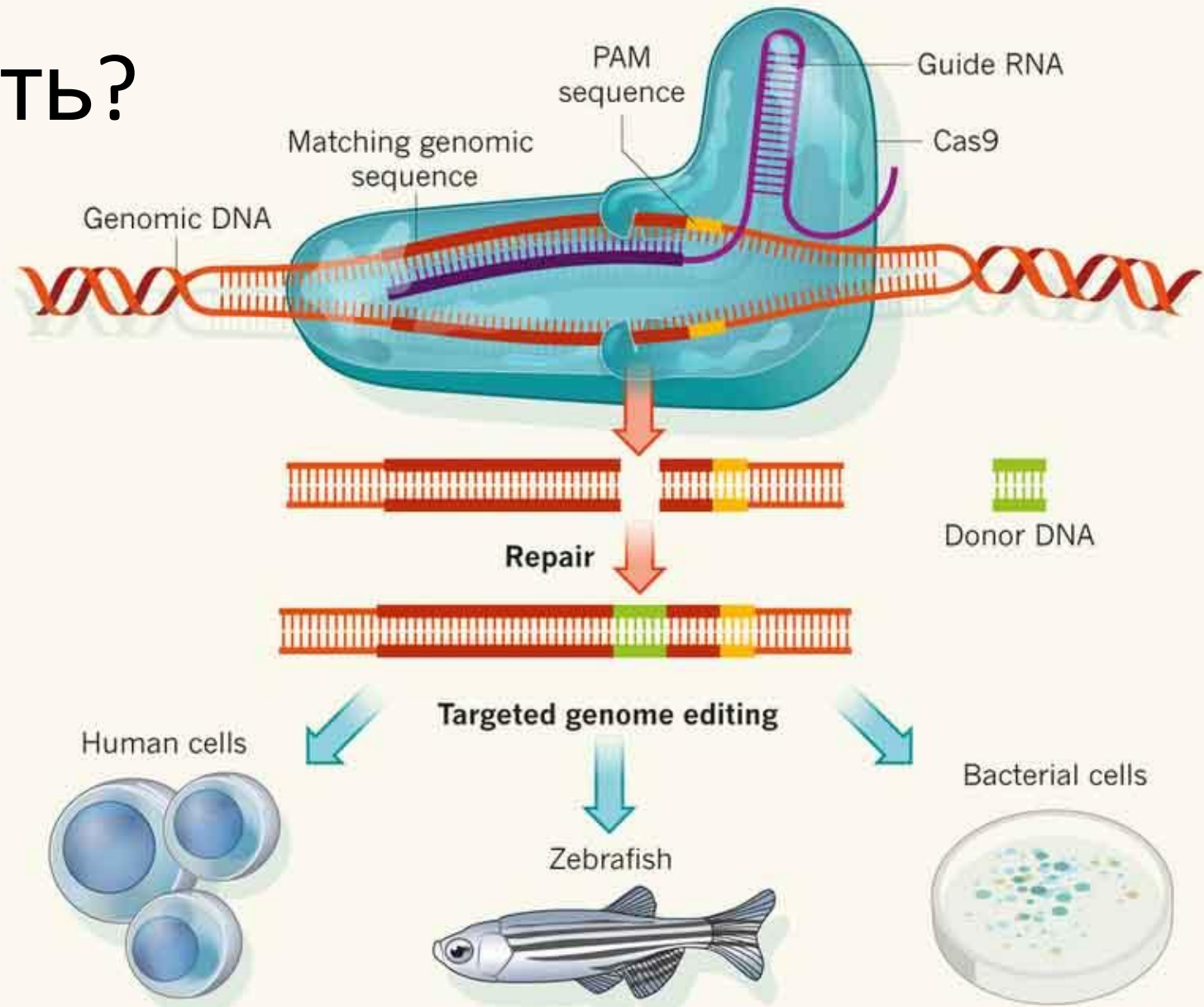


Химерная sgRNA



Что можно делать?

- Короткие инделы
- Крупные делеции
- Инсерции



Способы доставки

- Плазмида с Cas9 mRNA и sgRNA
- Cas9 mRNA и sgRNA
- Белок и sgRNA



Пробоподготовка

- Буфер для инъекций: TE (1/10 E): 10mM T, 0.1 mM E
- Инкубация белка с мРНК
- Предварительная инкубация РНК для разрушения агрегатов после заморозки – 65С
- Предварительная инкубация ДНК для разрушения агрегатов после заморозки – 95С
- Фильтрация
- Центрифугирование