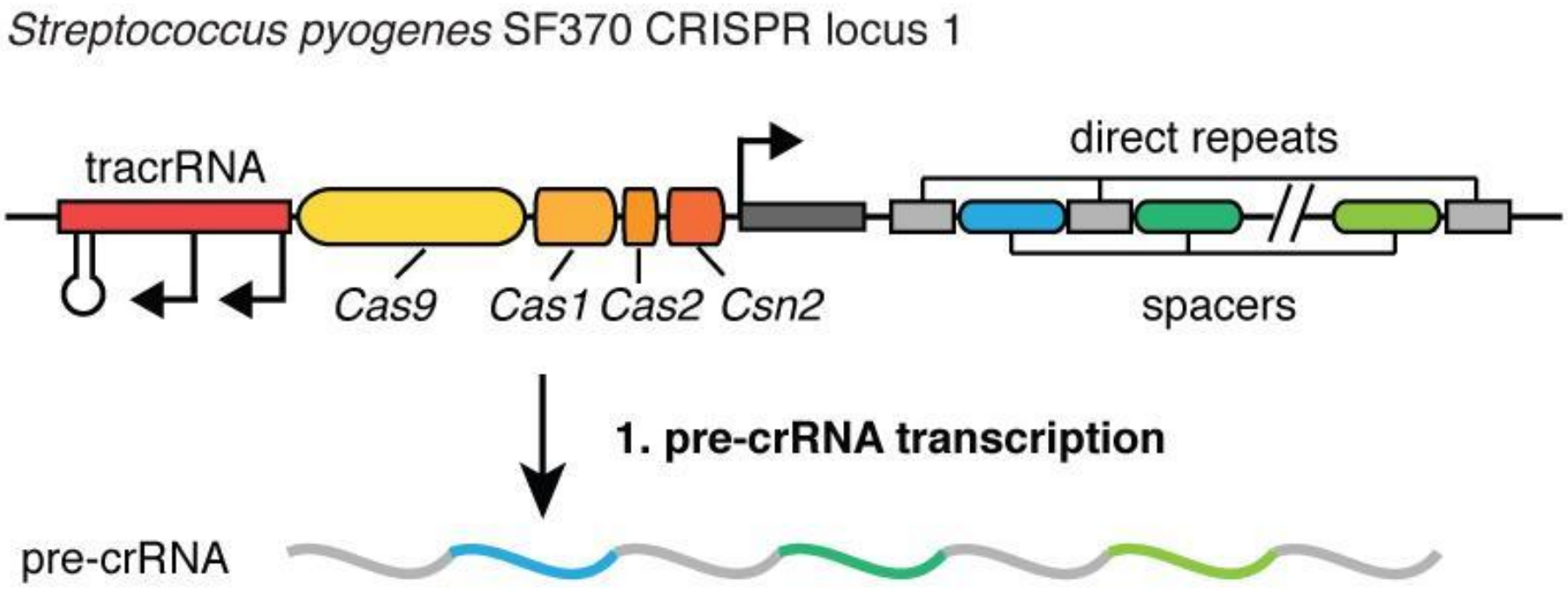
Генная инженерия животных

Практикум

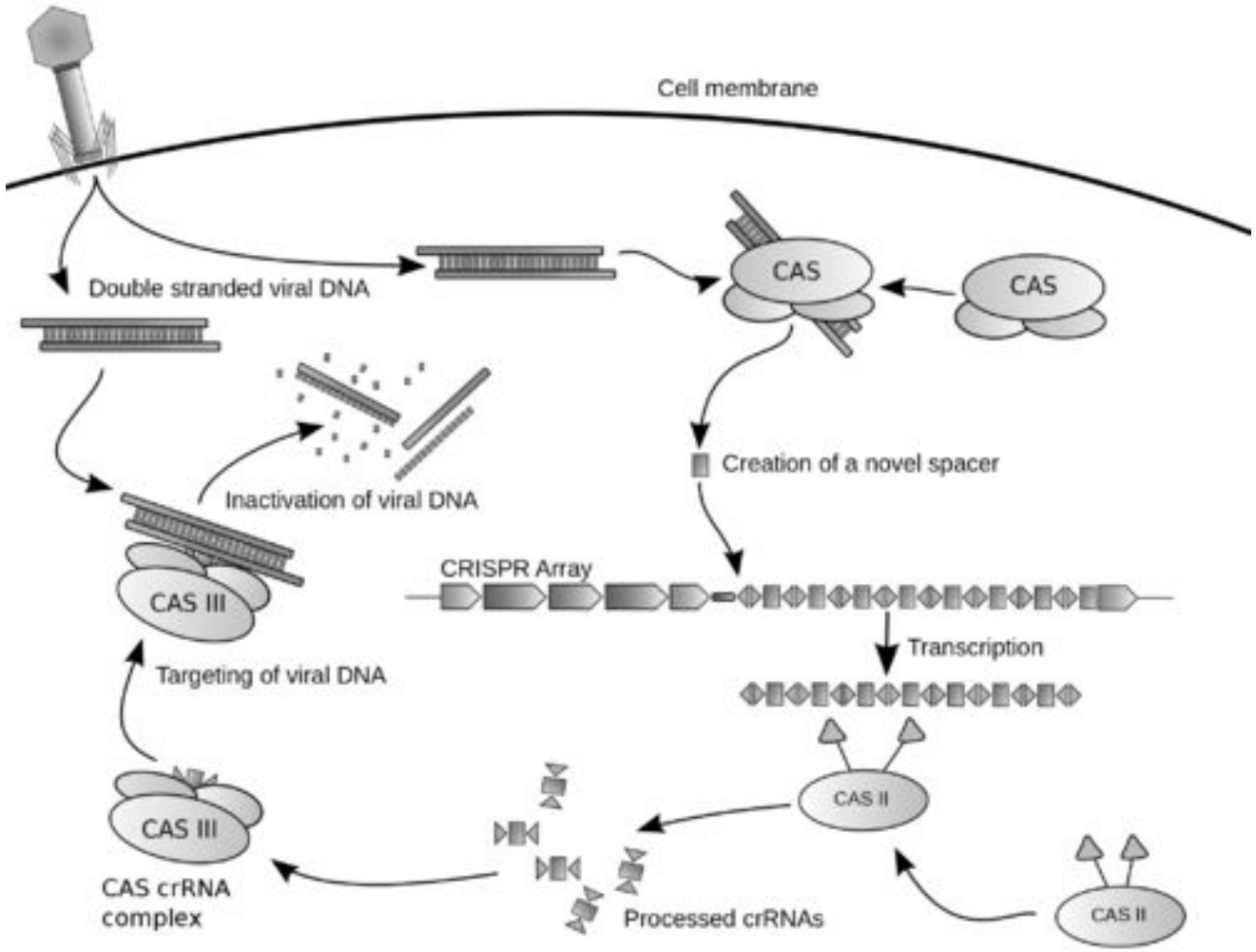
ФББ МГУ – ЦКП ИБГ РАН

2015

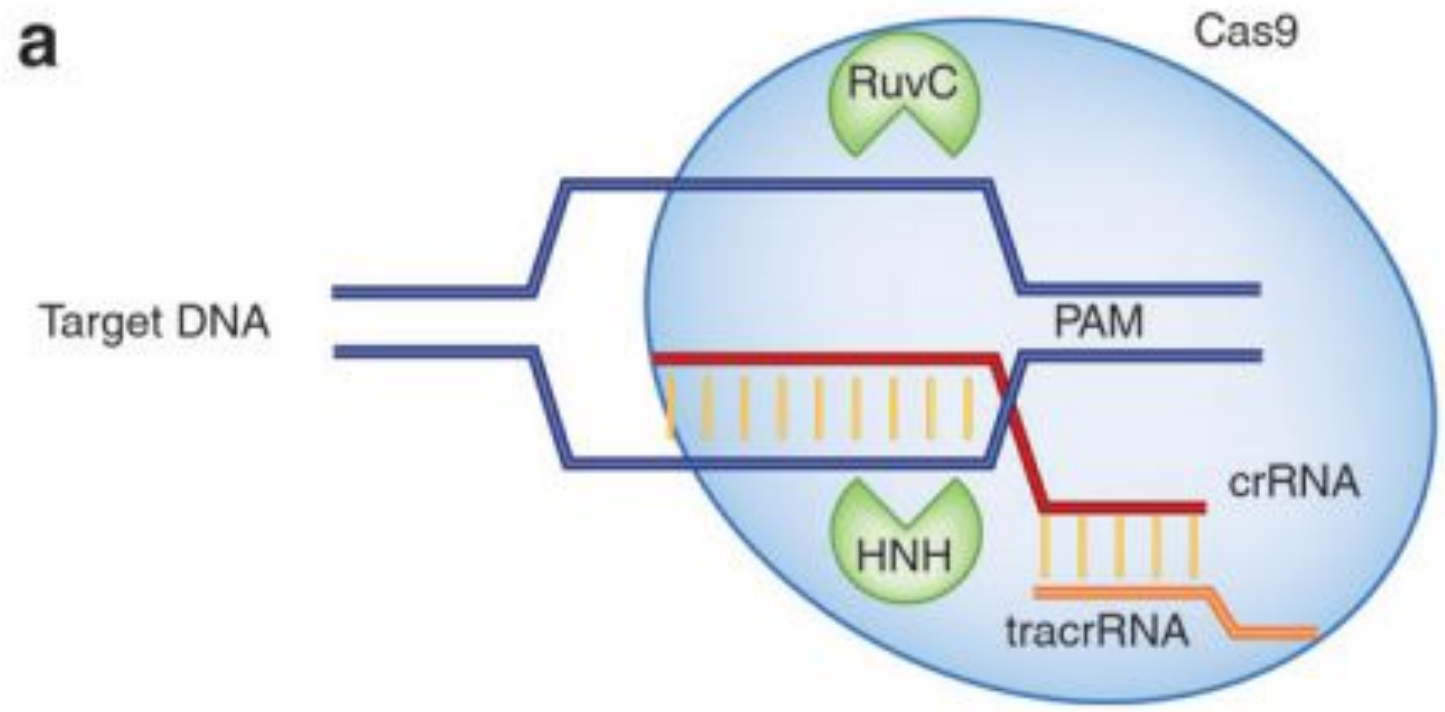
Локус CRISPR



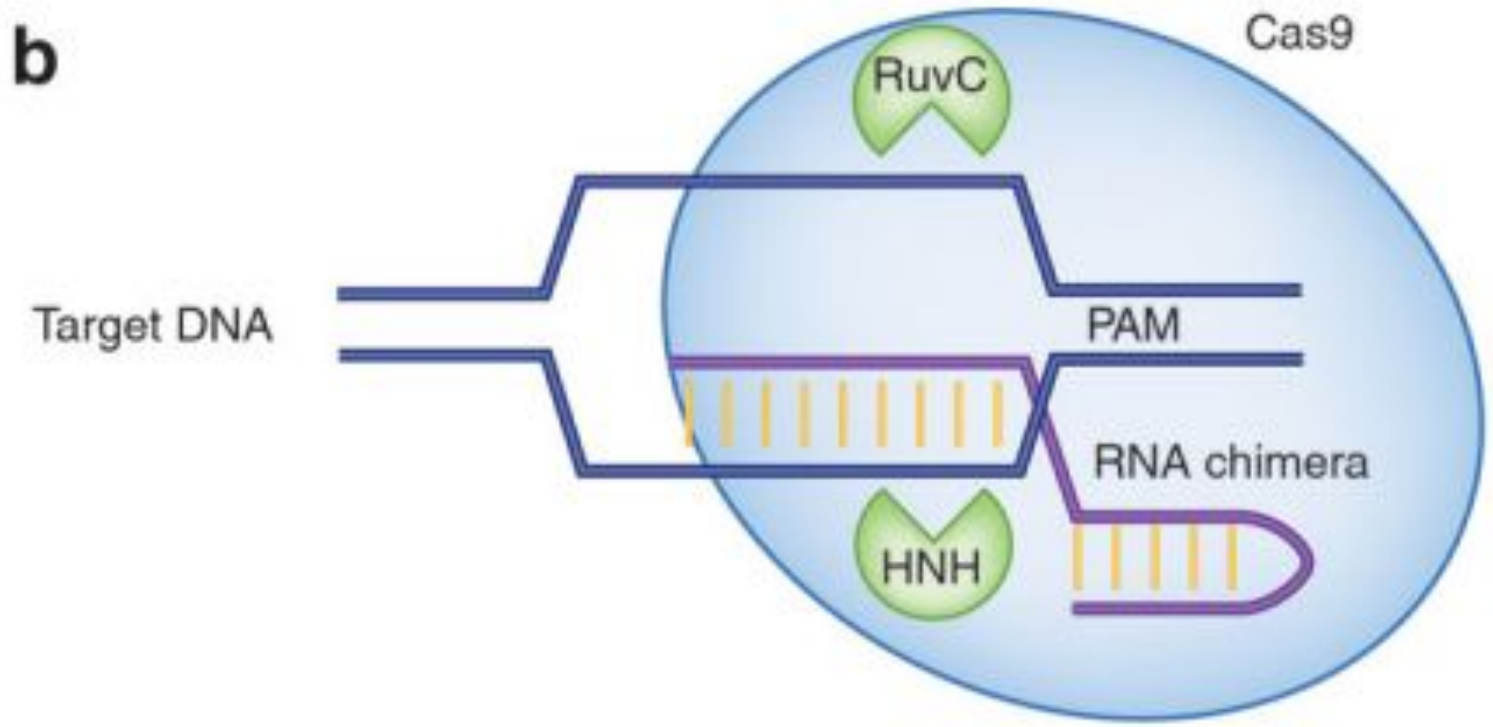
Зачем оно вообще нужно?



Cas9:crRNA:tracrRNA комплекс – программируемая нуклеаза

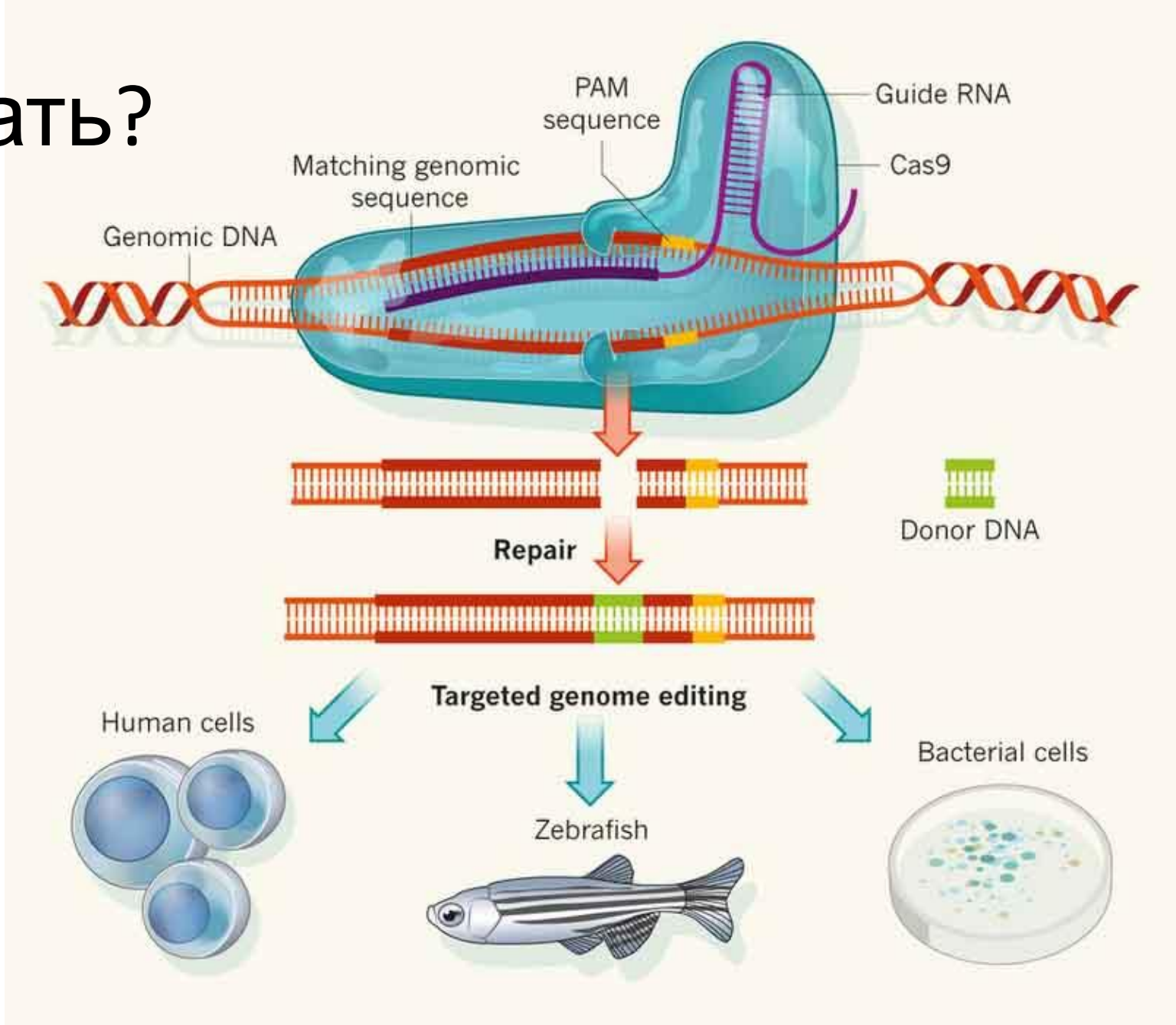


Химерная sgRNA



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: ТЕ (1/10 Е): 10mM Т, 0.1 mM Е
- Инкубация белка с мРНК
- Предварительная инкубация РНК для разрушения агрегатов после заморозки – 65С
- Предварительная инкубация ДНК для разрушения агрегатов после заморозки – 95С
- Фильтрация
- Центрифугирование