

Material 5 – Version B

Verwendung von CRISPR-Cas9 zur genetischen Veränderung des *doublesex*-Gens

Wiederholung:

In den Materialien 1 und 2 haben wir uns mit der Sexualentwicklung der Anophelesmücken beschäftigt und dabei gelernt, dass durch alternatives Spleißen der prä-mRNA des *doublesex*-Gens von *Anopheles gambiae* zwei unterschiedliche Proteine (*dsx-male* und *dsx-female*) gebildet werden, welche die Ausprägung des männlichen und weiblichen Phänotyps bedingen. Um lebensfähige, aber unfruchtbare Weibchen zu erzeugen, sollte der Spleißvorgang, der letztlich zur Bildung der mRNA des Proteins *dsx-female* führt, durch Veränderung der Basensequenz im Übergang von Intron 4 zu Exon 5 unterbunden werden. Hierfür werden Kenntnisse der Basenabfolge dieses Bereichs benötigt.

Abbildung 1 zeigt die Basensequenz des *doublesex*-Gens im Bereich des Übergangs von Intron 4 zu Exon 5. Die Abbildungen 2 und 3 zeigen die Internetauftritte der Firmen *World of CRISPR technologies* und *Genetic solutions* mit Bestellfenstern für Nucleotidsequenzen. Abbildung 4 zeigt den Übergang von Intron-4 zu Exon 5 des *doublesex*-Gens ohne Basensequenz.

Abbildung 1 – Basensequenz im Intron-4-Exon-5-Übergang des *doublesex*-Gens

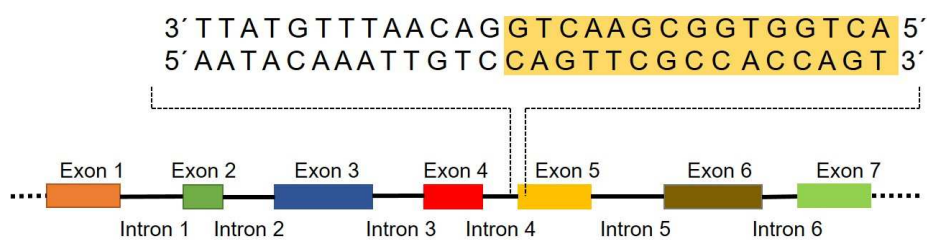


Abbildung erstellt durch Frank Harder, ZPG Biologie

Abbildung 2 - Internetauftritt der Firma *World of CRISPR technologies*

WOCt World Of CRISPR Technologies

PRODUCTS ▾ SERVICES ▾ SUPPORT ▾ SERVICES ▾ ABOUT ▾

Home / Products / Cas9 / Cas9-guideRNA /sequence generator

- Cas9
- Cas9 gene
- Cas9 mRNA
- Cas9 guideRNA
- Sequence-Generator

Cas9-associated guide RNA

Specific guideRNA allows Cas9 site-specific DNA restriction.
WocT-Sequence-Generator allows you to create your site-specific guide-RNA

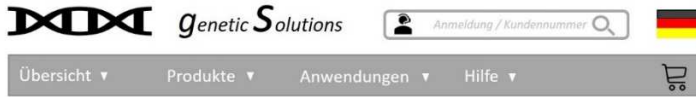
Article	Description	Price [Euro]	Order
CC1663	Specific guideRNA for Cas9 from <i>Streptococcus pyogenes</i> (Article CC1475), 20ug	275	✓

5'-AAGCAGUGCUAUGACAGAUAGCACUGGCAUC-3'

5' - AAGCAGUGCUAUGACAGAUAGCACUGGCAUC 3'

Abbildung erstellt durch Frank Harder, ZPG Biologie

Abbildung 3 - Internetauftritt der Firma Genetic solutions



Nucleotidsequenzen ohne Grenzen

Sonderpreis: Doppelstrang-DNA-Sequenzen ab 99 € (Angebot nur nur bis 12.2020 gültig)

Doppelstrang-DNA nach Vorgabe - effizient und präzise

Express-Gene-Service

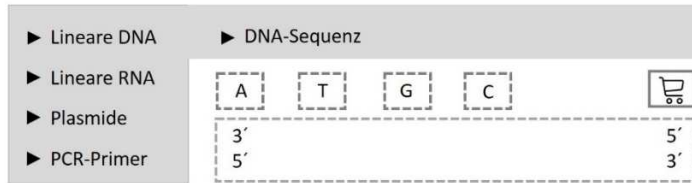


Abbildung erstellt durch Frank Harder, ZPG Biologie

Abbildung 4 – Übergang Intron-4-Exon-5 des *doublesex*-Gens nach erfolgter genetischer Veränderung

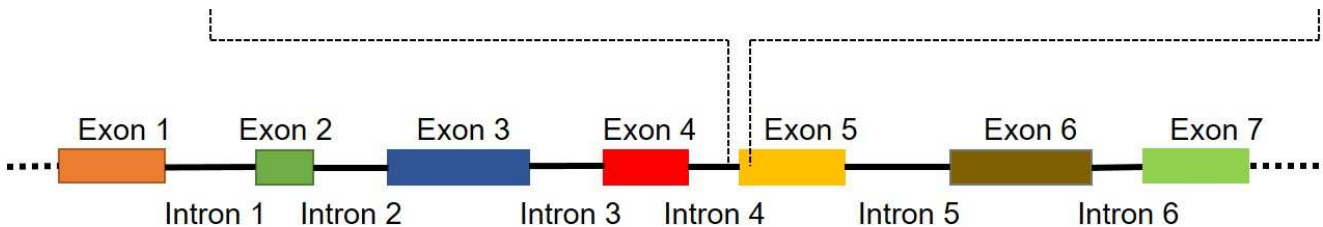


Abbildung erstellt durch Frank Harder, ZPG Biologie

Aufgaben:

1. Erweitern Sie im Bestellfenster für guide-RNA (Abbildung 2) die guide-RNA-Sequenz bis zum 3'-Ende. Tragen Sie in das Bestellfenster DNA (Abbildung 3) eine mögliche Sequenz für den Einsatz der homologen Rekombination ein. Begründen Sie die von Ihnen bestellte Nucleotidabfolgen.
2. Tragen Sie die von Ihnen genetisch veränderte Sequenz in die Abbildung 4 ein.
3. Erläutern Sie anhand Ihrer Sequenzen die Prozesse, die zur Veränderung der Basensequenz im Intron-4-Exon-5-Übergang führen und damit die Bildung von funktionsfähigem dsx-female unterbinden.

Verwenden Sie gegebenenfalls bereitgestellte Hilfen!

Hilfe 1

Ihre guide-RNA soll direkt im Bereich des Übergangs von Intron zu Exon einen Cas9-Schnitt hervorrufen, z.B.

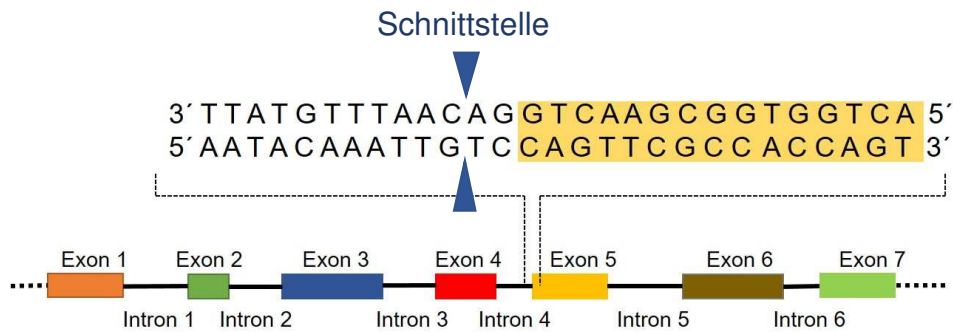


Abbildung erstellt durch Frank Harder, ZPG Biologie

Hilfe 2

Beachten Sie die Orientierung der guide-RNA.

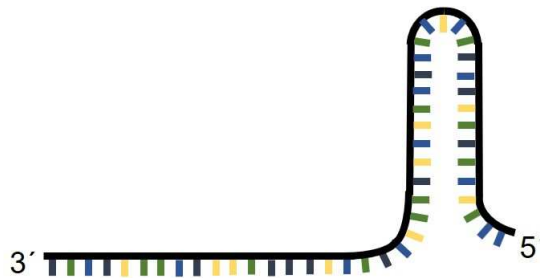


Abbildung erstellt durch Frank Harder, ZPG Biologie

Hilfe 3

Ihre guide-RNA-Sequenz muss komplementär zum 5'-3'-Strang der zu schneidenden DNA sein.

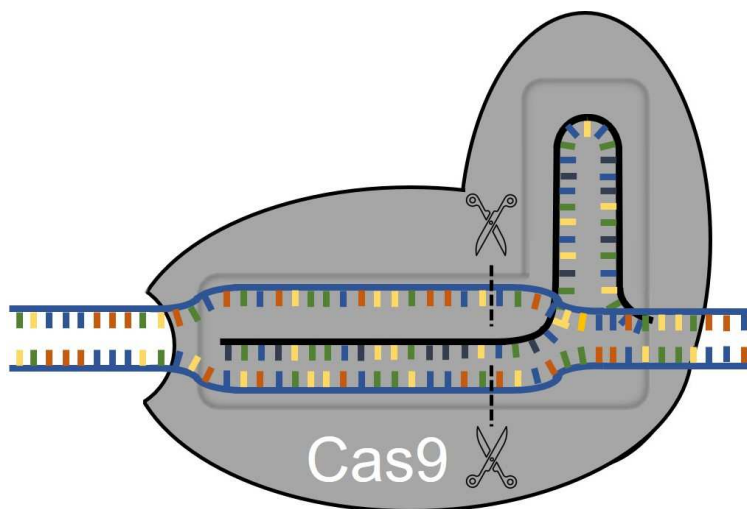


Abbildung erstellt durch Frank Harder, ZPG Biologie

Hilfe 4

Ihre DNA für die homologe Rekombination muss den Übergangsbereich Intron-4-Exon-5 verändern um ihn unkenntlich zu machen

Dieser Bereich muss von homologen Bereichen umgeben sein

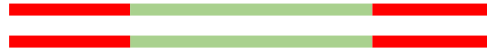


Abbildung erstellt durch Frank Harder, ZPG Biologie

Hilfe 5

Ihre DNA für die homologe Rekombination muss den Übergangsbereich Intron-4-Exon-5 verändern um ihn unkenntlich zu machen

Dieser Bereich muss von homologen Bereichen umgeben sein

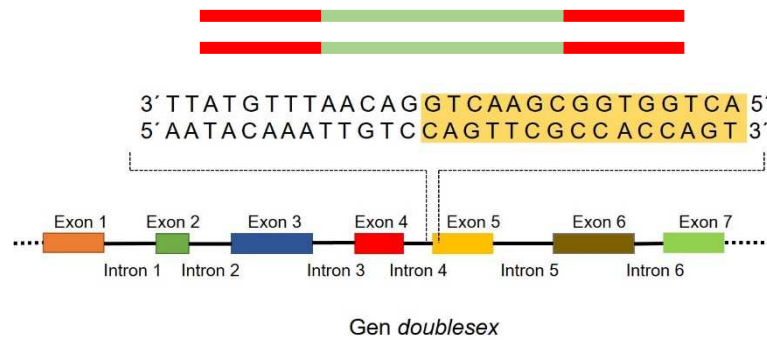


Abbildung erstellt durch Frank Harder, ZPG Biologie