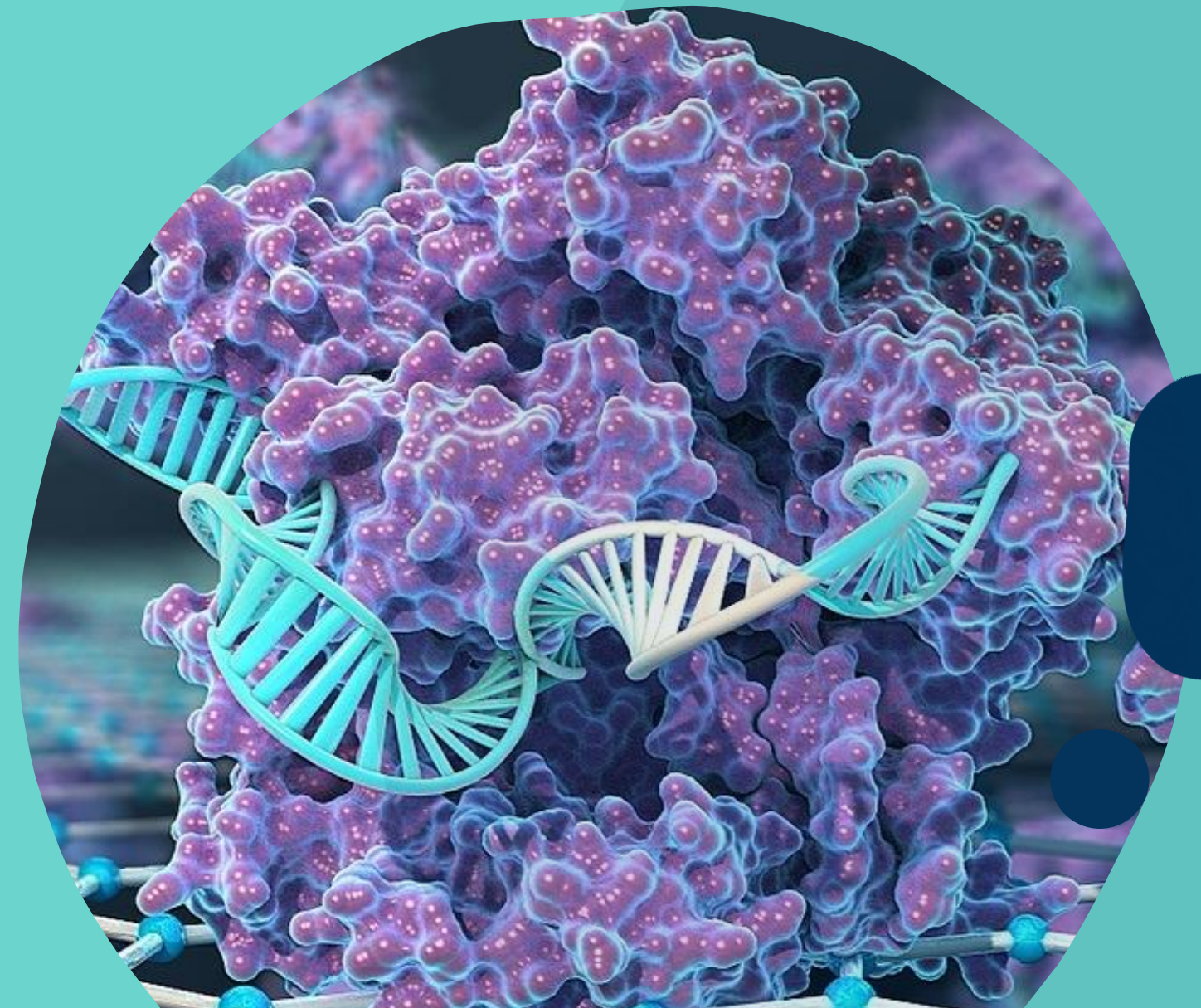


**РАЗРАБОТКА ИНФОРМАЦИОННОЙ
МОДЕЛИ ПРОЦЕССА ОПТИМИЗАЦИИ
ИДЕНТИФИКАЦИИ АЛЬТЕРНАТИВНЫХ
РАМ – ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ДЛЯ
УСЛОВИЙ IN VITRO.**

Работу выполнил
обучающийся ГБОУ АО ДО
«Региональный школьный технопарк»
Заплавнов Дмитрий Александрович
Руководитель:
преподаватель отдела «Кванториум»
ГБОУ АО ДО
«Региональный школьный технопарк»
Андреева Мария Петровна

ЦЕЛЬ РАБОТЫ:

создание метода идентификации РАМ *in vitro* с использованием универсальной рандомизированной библиотеки последовательностей ДНК без увеличения числа копий гена с помощью плазмид.



CRISPR/CAS9

технология редактирования ДНК, подсмотренная у прокариот

ПРИМЕНЕНИЕ:

- лечение генетических болезней
- улучшение свойств сельскохозяйственных животных и растений
- конструирование новых метаболических путей и осуществление направленной эволюции биомолекул
- исследование механизмов работы клетки



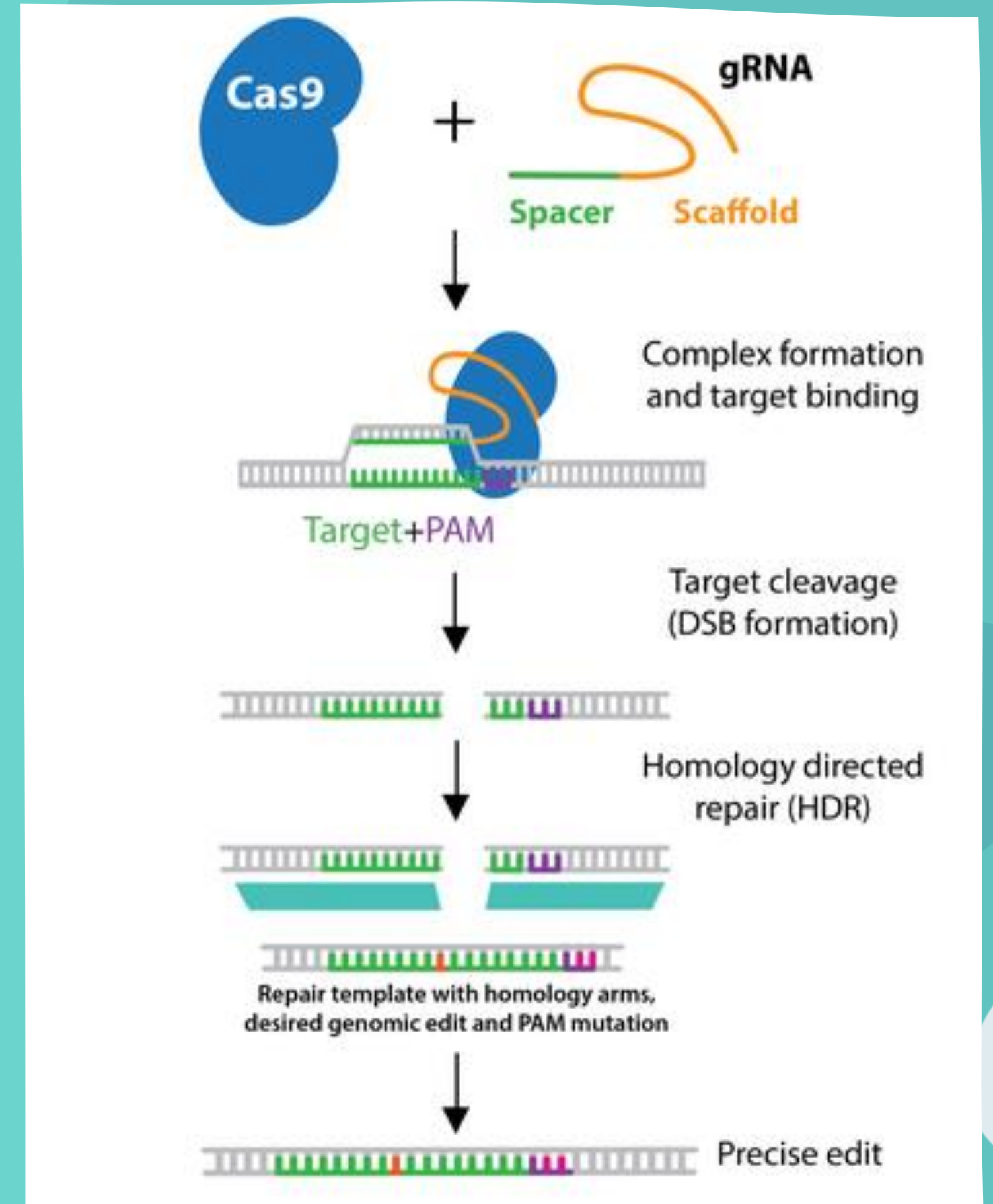
БИОМЕХАНИЗМ

Необходимые компоненты:

- белок Cas9
- sgРНК

Условия:

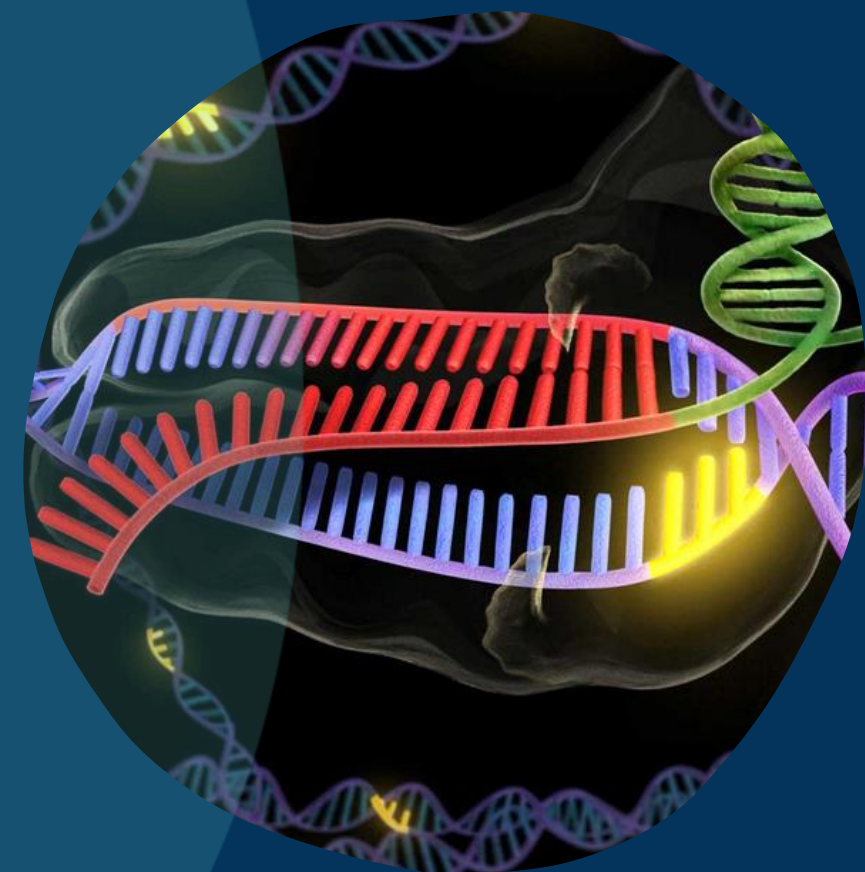
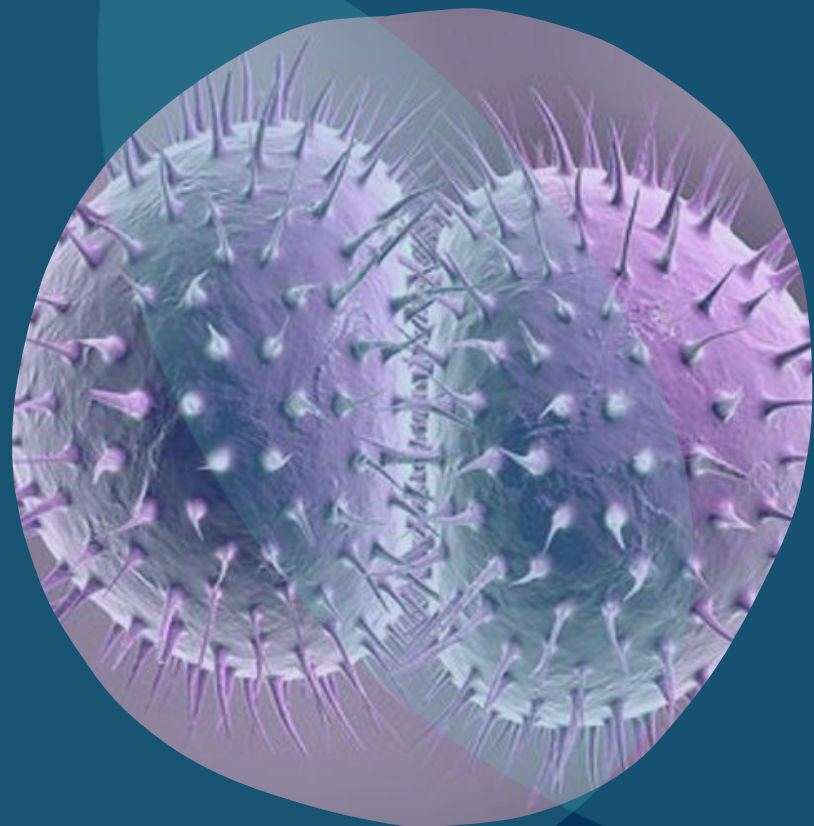
- комплементарный протоспейсер
- PAM



ОГРАНИЧЕНИЕ

ОТКРЫТИЯ НОВЫХ CAS-БЕЛКОВ РАЗЛИЧНЫХ ПРОКАРИОТ
ПОЗВОЛЯЮТ СОЗДАВАТЬ БОЛЕЕ ГИБКИЕ КОМПЛЕКСЫ
РЕДАКТИРОВАНИЯ

ОДНАКО
КАЖДЫЙ CAS БЕЛОК МОЖЕТ ОБЛАДАТЬ СВОЕЙ УНИКАЛЬНОЙ
ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬЮ РАМ



МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ РАМ

IN SILICO

Компьютерное
моделирование

IN VITRO

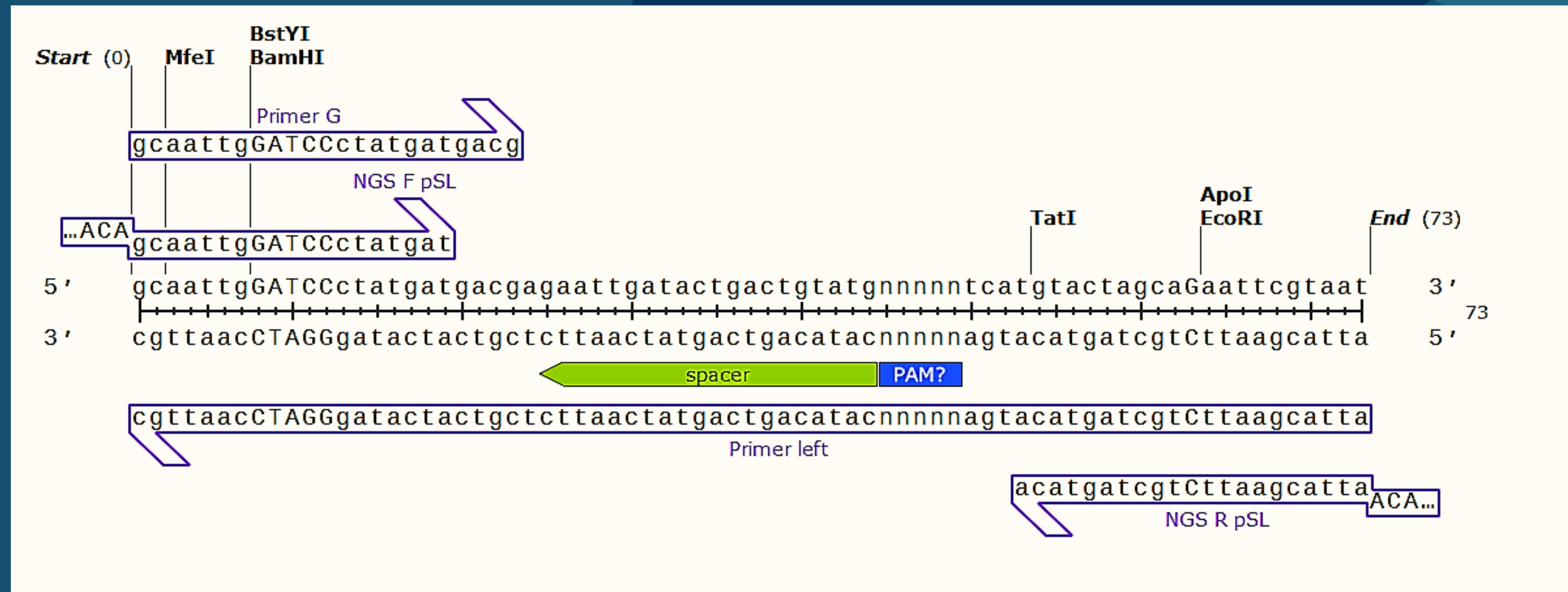
Исследование в пробирке

IN VIVO

Исследование в живом
организме



ГЕНЕРАЦИЯ ЦЕЛЕВОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ



Подбираем праймеры



Аmplицируем

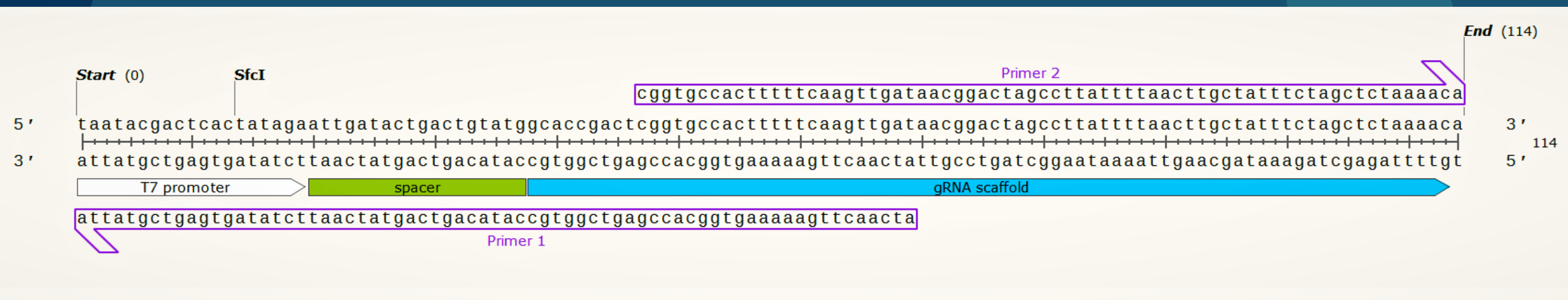


Очищаем

ГЕНЕРАЦИЯ ЦЕЛЕВОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ С АДАПТЕРАМИ



ГЕНЕРАЦИЯ SG-PHK



Олигонуклеотиды

ПЦР



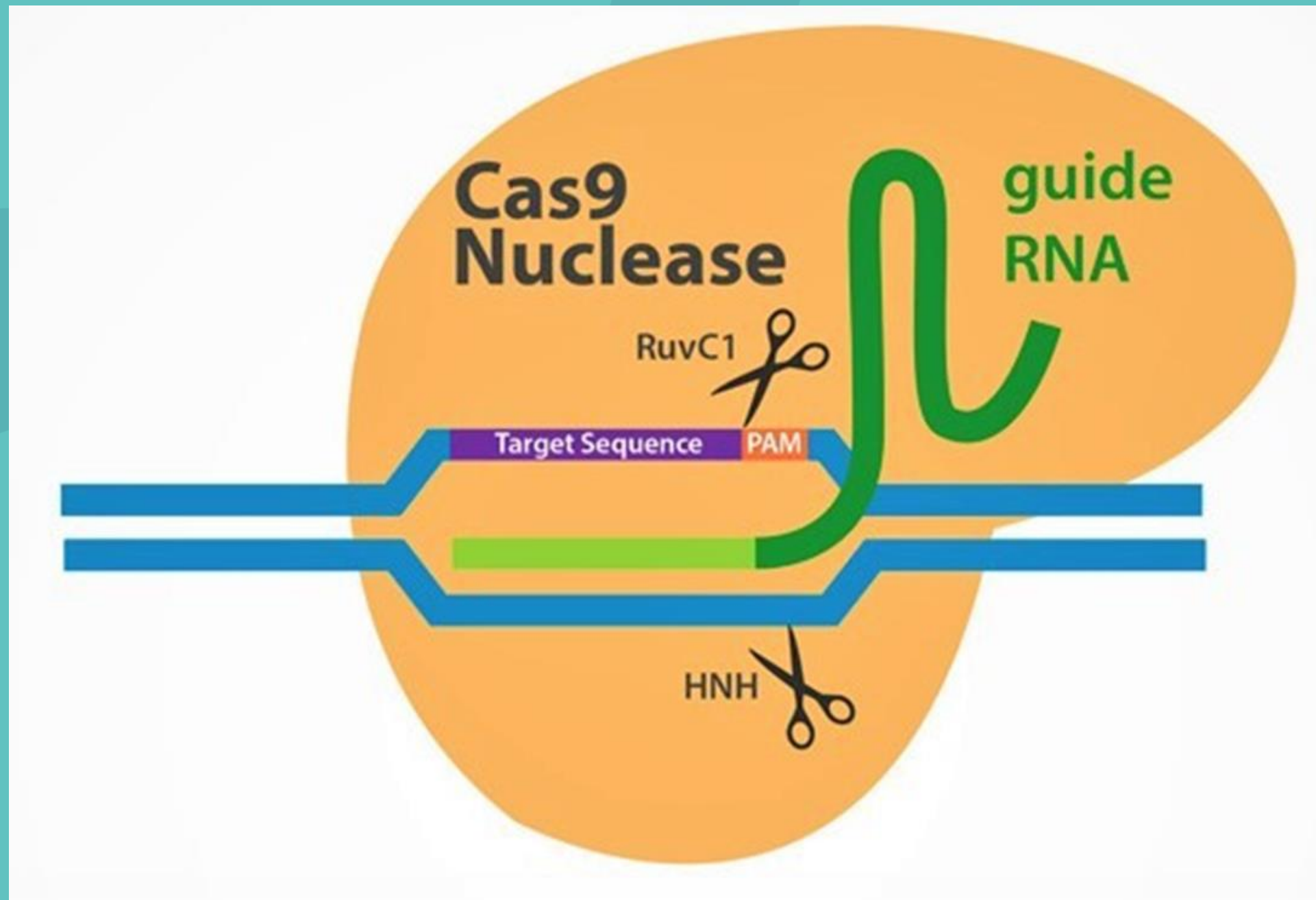
ДНК-матрица

Транскрипция

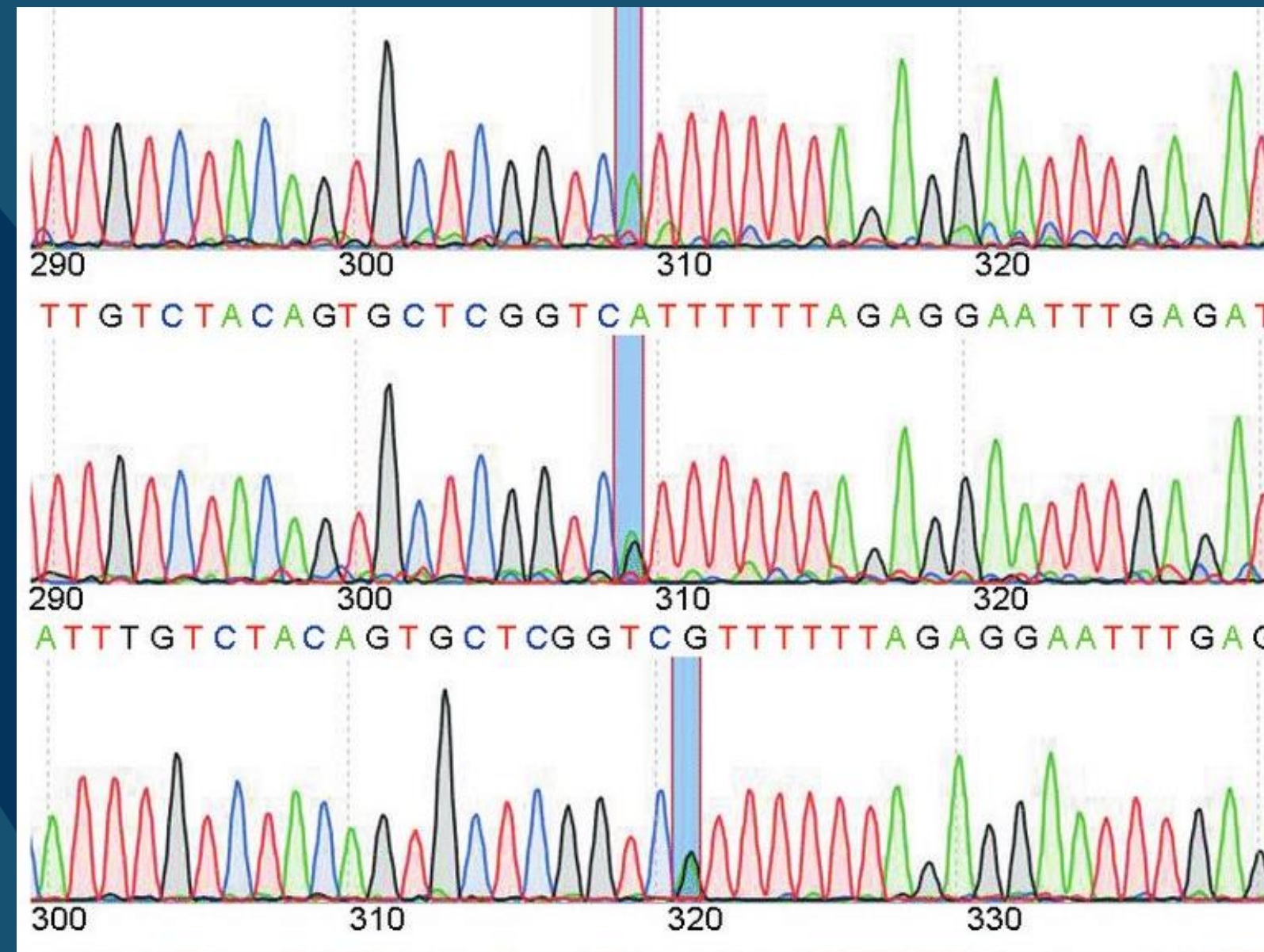


sg-PHK

ТАРГЕТИРОВАНИЕ ДНК С ПОМОЩЬЮ CAS9



АНАЛИЗ РАНДОМИЗИРОВАННЫХ БИБЛИОТЕК

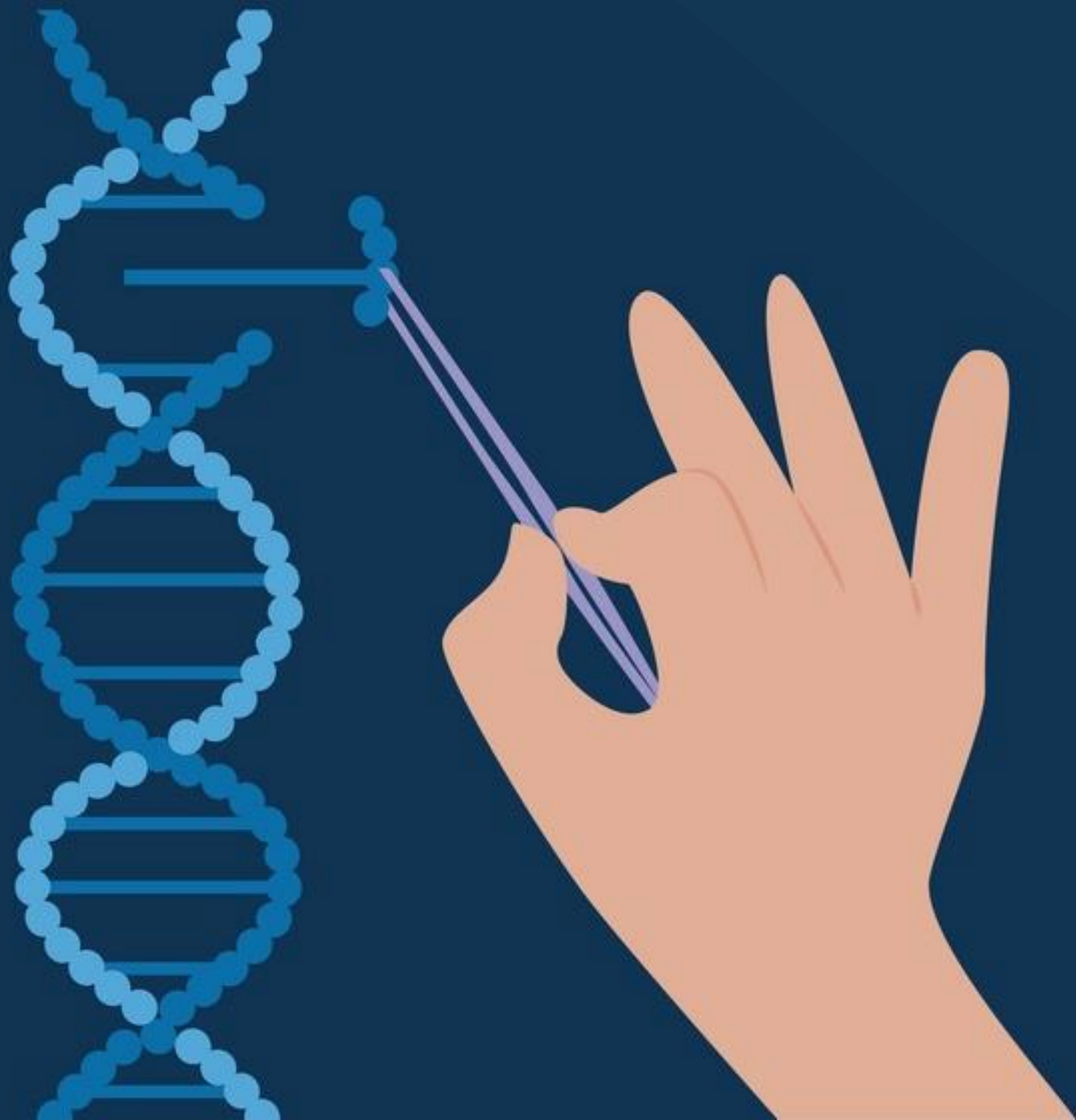


БЛАГОДАРЯ ОПТИМИЗАЦИИ БЫЛИ ИСКЛЮЧЕНЫ ЭТАПЫ:

- РЕСТРИКЦИИ ЦЕЛЕВОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ И ПЛАЗМИДЫ
- ЭЛЕКТРОФОРЕЗА ПЛАЗМИДЫ
- ЛИГИРОВАНИЯ ПЛАЗМИДЫ И ПРОТОСПЕЙСЕРА
- ВНЕСЕНИЯ ПЛАЗМИДЫ
- В БАКТЕРИЮ
- РАЗМНОЖЕНИЯ БАКТЕРИЙ И ИХ ОТБОРА
- ВЫДЕЛЕНИЯ ПЛАЗМИДЫ С ЦЕЛЕВОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ИЗ БАКТЕРИЙ

БЛАГОДАРЯ ОПТИМИЗАЦИИ ПРОЦЕСС ОПРЕДЕЛЕНИЯ **РАМ** БЫЛ СОКРАЩЁН ДО СЛЕДУЮЩИХ ЭТАПОВ:

- ГЕНЕРАЦИЯ ЦЕЛЕВОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ
- ГЕНЕРАЦИЯ ЦЕЛЕВОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ С АДАПТЕРАМИ
- ГЕНЕРАЦИЯ SG-RNK
- ТАРГЕТИРОВАНИЕ ДНК С ПОМОЩЬЮ CAS9
- АНАЛИЗ РАНДОМИЗИРОВАННЫХ БИБЛИОТЕК



CRISPR -CAS9

GENE EDITING TOOL