

# Toelichting genome editing met Cas9

## voorbereiding

1. Print voor alle leerlingen (of per tweetal) een werkblad, bij voorkeur in kleur.
2. Print (en knip en plak) eventueel ook een aantal stroken papieren hemoglobine. Voor de uitvoering van deze activiteit is dat niet strikt noodzakelijk.

## aanwijzingen

1. Bij deze activiteit gaat het er met name om dat de leerlingen zich realiseren dat je eenvoudig door het kiezen/ontwerpen van spacers, Cas9 heel precies in het DNA kunt laten knippen. Er moet een combinatie van twee spacers worden gevonden die zorgt voor een breuk/knip aan weerszijden van de gegeven puntmutatie. Laat de leerlingen de instructies op het werkblad stap voor stap volgen.
2. Op slide 19 in de PowerPoint wordt per PAM aangegeven waar Cas9 zou knippen. De streepjes staan maar aan één kant (bij de streng waar ook de PAM ligt), maar Cas9 knipt in werkelijkheid natuurlijk beide strengen (*blunt ends*).
3. Op slide 20 in de PowerPoint staan in groen vier spacers weergegeven, waarvan er twee zorgen voor een knip 'links' van de puntmutatie (de bovenste en de derde van boven), en twee voor een knip 'rechts' van de puntmutatie (de tweede en de vierde van boven). Spacers die gedeeltelijk buiten het getoonde fragment zouden vallen laten we hier buiten beschouwing.
4. De vier spacers op slide 20 leveren in principe vier mogelijke combinaties/paren op. De combinatie van de tweede en derde van boven kan echter niet gebruikt worden omdat Cas9 dan in de PAM van de ander zou knippen.

## **nabespreking**

Ga bij de nabespreking in op de leerdoelen hieronder. Daarnaast kan besproken worden op welke andere manieren met behulp van Cas9 kan worden ingegrepen in het genoom of de genexpressie van een organisme (zie de bronnen op de laatste pagina van dit boekje).

## **doelen**

Leerlingen kunnen in grote lijnen beschrijven hoe Cas9 gebruikt kan worden om in te grijpen in het genoom (of de genexpressie) van organismen.

Leerlingen kunnen aangeven wat de voordelen zijn van Cas9 ten opzichte van andere eiwitten die in de biotechnologie gebruikt worden om DNA te knippen (zoals restrictie-enzymen).

Leerlingen kunnen uitleggen waarom bij de synthese van het gRNA rekening gehouden moet worden met het voorkomen van een PAM op het target DNA.

Leerlingen kunnen in grote lijnen beschrijven hoe de reparatiemechanismen non-homologous end joining en homology directed repair verlopen.

Op dit lesmateriaal is de Creative Commons Naamsvermelding-Niet-commercieel-Gelijk delen 4.0 Nederland Licentie van toepassing (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.nl>).

Het materiaal werd ontwikkeld door Caspar Geraedts (Vrije Universiteit, Amsterdam).