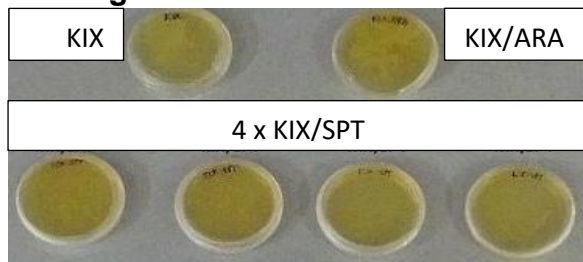


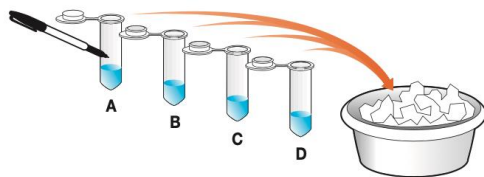
# Ablaufplan Gen Editierung mit CRISPR

## Benötigte Kulturen und Nährböden:

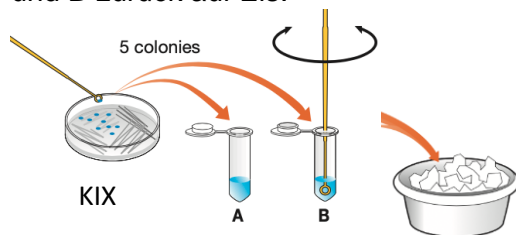


## 1. Gen Editierung mit CRISPR

1.1 Pipettieren Sie jeweils 250  $\mu$ L eisgekühlte Transformationslösung (TS) in 4 mit A - D beschriftete Tubes und stellen Sie diese auf Eis.

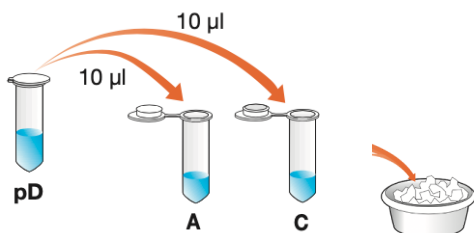


1.2 Picken Sie mit einer Impföse jeweils 5 Kolonien von der **KIX**-Starterplatte und überführen Sie die Bakterien in die Transformationslösung (TS) der Tubes A und B und bringen Sie die Tubes A und B zurück auf Eis.



1.3 Picken Sie mit einer Impföse jeweils 5 Kolonien von der **KIX/Ara**-Starterplatte und überführen Sie die Bakterien in die Transformationslösung der Tubes C und D und bringen Sie die Tubes C und D zurück auf Eis.

1.4 Pipettieren Sie jeweils 10  $\mu$ L *pLZDonor Plasmid (pD)* in die Tubes A und C, durchmischen Sie und bringen Sie beide Tubes zurück auf Eis.

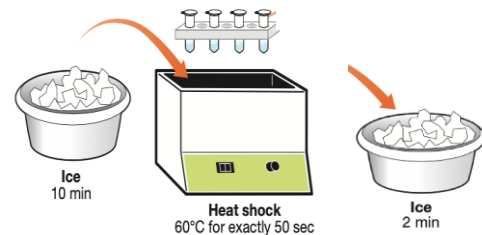


1.5 Pipettieren Sie jeweils 10  $\mu$ L *pLZDonor Guide Plasmid (pDG)* in die Tubes B

und D, durchmischen Sie und bringen Sie beide Tubes zurück auf Eis.

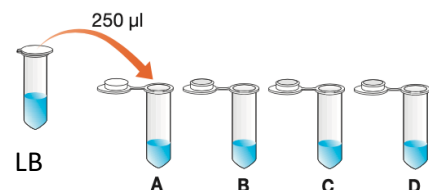
1.6 Inkubieren Sie die Tubes A – D für 10 Minuten auf Eis.

1.7 Überführen Sie die 4 eisgekühlten Tubes A – D auf einem Schwimmer für exakt 50 Sekunden in ein 60 °C heißes Wasserbad.

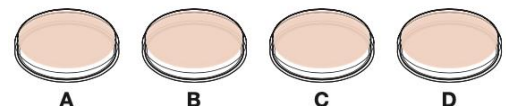


1.8 Bringen Sie die 4 Tubes A – D nach den 50 Sekunden im 60 °C Wasserbad für 2 Minuten zurück auf Eis.

1.9 Pipettieren Sie in die 4 Tubes A – D jeweils 250  $\mu$ L LB Flüssigmedium und durchmischen Sie durch Anschneiden. Inkubieren Sie 20 Min. bei RT.



1.10 Beschriften Sie 4 **KIX/SPT** Platten mit A – D und Ihrer Gruppennummer.



1.11 Resuspendieren Sie die Bakterien in Tube A durch Anschneiden.

1.12 Plattieren Sie 50  $\mu$ L aus Tube A mittels Drigalski-Spatel auf Platte A aus.

1.13 Wiederholen Sie die Schritte 1.11 und 1.12 jeweils mit den Tubes B, C und D sowie den Platten B, C und D.

1.14 Inkubieren Sie Ihre 4 Platten A – D mit dem Plattenboden nach oben für 24 Stunden bei 37 °C im Wärmeschrank.

## Auswertung des Experiments

Werten Sie Ihre 4 Platten nach der Inkubationsphase aus.