

# CRISPR I SKOLAN

Enligt Bio-Rad är det än så länge få skolor som beställt CRISPR/Cas9-kitet. Bland dem Maja Beskow-gymnasiet i Umeå. Läs om deras erfarenheter på nästa sida.

**CRISPR-tekniken belönades med Nobelpriset 2020, och har nog uppmärksamats i många kemi- och biologiklassrum sedan dess. Men går det att göra laborationer med denna teknik i skolan? Och är det tillåtet?**

TEXT: Ammie Berglund, Bioresurs

Ett sätt att arbeta med genmodifiering via CRISPR/Cas9 i skolan är att använda Bio-Rads kit *Out of the blue*. Resultatet av laborationen är tydligt då genmodifieringen får bakteriekolonier av *E. coli* att gå från blå till färglösa.

Genen *lacZ* kodar normalt för enzymet betagalaktosidas som bakterierna använder för att bryta ned laktos (mjölksocker). Enzymet kan även bryta ned molekylerna X-gal och då bildas ett blått färgämne. Så länge *lacZ*-genen fungerar och uttrycks blir bakteriekolonier blå.

I laborationen används CRISPR/Cas9 för att klippa upp genen för *lacZ* på en specifik plats, där en sekvens med ett stopp-kodon infogas. En bakterie som har modifierats kommer därmed inte producera fungerande

betagalaktosidas och heller inte kunna bryta ner X-gal. Utan nedbrytning av X-gal fås ingen blå färg och bakteriekolonier blir färglösa: "Out of the blue"!

## Tillåtet i skolan?

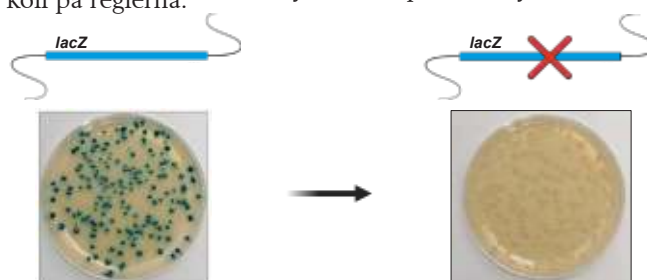
I kontakt med Arbetsmiljöverket har Bioresurs fått svaret att vilken teknik som används för genmodifiering inte avgör om försöket är tillåtet eller ej, det gör riskbedömningen för de mikroorganismer som används och framställs. Även om kit enkelt kan köpas via nätet måste man ha koll på reglerna.

Arbete med genmodifierade mikroorganismer ska anmälas som en F-verksamhet till Arbetsmiljöverket (*innesluten användning med försumbar risk*). Undantag finns, till exempel om man enbart överför plasmider med en gen för GFP (grönt fluorescerande protein) och där antibiotika inte används för odlingen. Men ingår antibiotika i det kit ni vill beställa ska ni anmäla en F-verksamhet.

I kitet *Out of the blue* används två olika antibiotikasorter: kanamycin och spectinomycin.

Genen *lacZ* inaktiveras med hjälp av CRISPR/Cas9.

KÄLLA: Bio-Rad Laboratories, Inc



## BIORESURS TESTAR

Under hösten 2021 testade elever från två gymnasieskolor Bio-Rads kit *Out of the Blue* åt Bioresurs som en del av deras gymnasiearbeten. Eleverna gjorde alla förberedelser och insåg att det inte är så enkelt att "bara modifiera" en bakterie. De upptäckte hur mycket som sker bakom kulisserna. Eleverna prövade även tilläggskitet *Genotyping extension kit* där DNA extraheras och PCR och gelelektrofores ingår som tekniker.

**Elev:** "Det var roligt att få göra agarosgeler själv. Har pipetterat mycket, tror det gett mig bra grunder för hur man jobbar på labb och är en fördel när jag ska plugga vidare. Det var bra att träna på engelska också, läsa instruktionerna noga. Det mest intressanta steget var heat-shock. Att det var så enkelt och jag tänkte, aha, nu sker det!"

**Elev:** "Man lär sig mycket. Vi jobbade mer intensivt än om vi hade gjort laborationen med klassen. Det var bra att flera moment gjordes flera gånger, bra med upprepningar och jag har blivit säker på pipettering och fått rutin på att jobba sterilt. Roligt med en längre laboration, större ansvar, vi fick ju göra allt!"



FOTO: privat

# Två lärares erfarenheter av en CRISPR-labb

TEXT: Monika Vestling (till vänster) och Hanna Uvell (till höger), som undervisar i bland annat biologi och bioteknik på Maja Beskow-gymnasiet i Umeå, har svarat på några frågor från Bioresurs.

## INTERVJU Biologilärarna Monika Vestling och Hanna Uvell provade Bio-Rads CRISPR/Cas9-kit Out of the blue i ett gymnasiearbete under 2021. Våren 2022 fick eleverna som läser bioteknik göra laborationen.

Varför ville ni göra laborationen, och hur gick det för eleverna?

Den stora fördelen med laborationen är att eleverna får använda en modern bioteknikmetod. Det är mycket roligt att kunna utföra en sådan laboration på skolan, utan att behöva samarbeta med ett universitet eller en högskola. Vi har kört laborationen både som gymnasiearbete och på bioteknikkursen. Eleverna får genom att göra laborationen verkligen sätta sig in i hur metoden fungerar. Det laborativa utförandet är lätt, det är förståelsen och analysen som är svår.

Gymnasiearbete eller bioteknikkurs – fanns det några skillnader?

Gymnasiearbets eleverna blev mer lämnade att själva läsa in teorin och hade gott om tid för detta. På bioteknikkursen hade vi föreläsningar där vi tog upp bakgrunden, både till den specifika laborationen och till CRISPR/Cas9-systemet. På bioteknikkursen föregicks laborationen också av flera lektioner där vi bland annat gick igenom transformation och transkriptionell reglering\*.

Gymnasiearbets eleverna fick göra allt förberedelsearbete själva

\* Reglering av transkription, det vill säga bildandet av mRNA, sker med hjälp av transkriptionsfaktorer.

men även eleverna på bioteknikkursen fick göra mycket av detta på egen hand. Det finns en viss finess med att veta vad som finns i agarplattorna, för att sedan förstå varför resultaten blir som de blir. Troligtvis skulle vi lärare göra hela förberedelsearbetet om laborationen istället skulle utföras i kurserna Biologi 1 eller 2.

En dyr laboration?

Kostnaden för kitet tycker vi inte är någonting att diskutera, för 2 500 kronor får man ett mycket bra kit. I förhållande till exempelvis lönekostnader är detta småpengar. Vi har en skolledning som supportar laborationer.

Bild från en elevpresentation efter laborationen, en poster

**Tillämpning av CRISPR-Cas9**

Plasmidernas innehåll	CRISPR-Cas9 metoden	Resultat
<ul style="list-style-type: none"> <li>★ Olika gener</li> <li>★ pLZDonorGuide: LacZ Donor, LacO med sgDNA och Streptomycin</li> <li>★ pLZDonor: LacZ Donor, och Spectinomycin</li> </ul> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 10px;"> </div> <p style="font-size: 8px; margin-top: 5px;">Bild 1. Plasmid pLZDonorGuide    Bild 2. Plasmid pLZDonor</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>★ Genmodifiera E.colibakterier med CRISPR-Cas9 metoden</li> <li>★ CRISPR klipper vid PAM-sekvenser</li> <li>★ PAM-sekvens finns före LacZ-genen i bakteriens DNA</li> <li>★ sgRNA behövs för funktionellt CRISPR</li> <li>★ sgRNA bildas från sgDNA i plasmiden</li> <li>★ CRISPR klipper sönder LacZ</li> <li>★ DNA:t måste lagas HDR-systemet, aktiveras av arabinos</li> <li>★ Byta ut homologa delar från LacZDonor till sitt DNA.</li> <li>★ Laga sitt DNA med LacZ gör att det bildas stoppkodon i sin LacZgen.</li> <li>★ LacZ genen inte uttrycks → bakterierna blir färglösa</li> <li>★ LacZ genen uttrycks → bakterierna blir blåa.</li> <li>★ Där CRISPR har använts är bakterierna inte blåa.</li> </ul>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> </div> <p style="font-size: 8px; margin-top: 5px;">Bild A: plasmid A innehållande IPTG, sgDNA, arabinos och bakterierna med pLZDonor    Bild B: plasmid B innehållande IPTG, sgDNA, arabinos och bakterierna med pLZDonorGuide</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> </div> <p style="font-size: 8px; margin-top: 5px;">Bild C: plasmid C innehållande IPTG, sgDNA, arabinos och bakterierna med pLZDonor    Bild D: plasmid D innehållande IPTG, sgDNA, arabinos och bakterierna med pLZDonorGuide</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>★ Spectinomycin - selektiv markör som visar att plasmiden tagits upp</li> </ul> <p style="font-size: 8px; margin-top: 5px;">Agnes Ridfeldt, Hugo Ekdahl, Celia Ridder</p>

## ZOOMA MED BIORESURS

Hanna Uvell, biologilärare på Maja Beskow-gymnasiet i Umeå, gästar Zooma med Bioresurs den 2 maj kl 16–17. Hon har använt molekylära metoder i sin tidigare forskning och föreläser nu om transkriptionell reglering och hur det kan tas upp i skolan. Se Fortbildning på [www.bioresurs.uu.se](http://www.bioresurs.uu.se).