

关于举办第十期 CRISPR/Cas9 基因靶向修饰技术学习班的通知

玮瑜主办 江苏.南京 2017 年 4 月 7-9 日

(理论与实验相结合, 请认准 南京大学模式动物研究所赵庆顺教授主讲)

作为基因组靶向改造(敲除和敲入)的遗传学手段, 基因组编辑技术历经 ZFN、TALEN 和 CRISPR/Cas9, 已发展成为自 20 世纪 70 年代生物技术时代开启以来最重要的基因工程技术。因没有物种限制、简单、高效, 以 CRISPR/Cas9 为代表的基因组编辑技术已广泛应用于人、大鼠、小鼠、斑马鱼、果蝇、猪、羊、水稻、小麦和拟南芥等动植物(细胞)以及细菌等微生物的基因组靶向改造, 成为后基因组时代的功能基因组研究、动植物品种改良、疾病模型建立以及基因治疗等不同领域研究与应用的利器。

为让更多从事医学和生命科学事业的研究人员及时掌握基因组靶向修饰新技术、交流使用心得, 更高质量地完成科研任务, 上海玮瑜生物科技有限公司联合具多年 CRISPR/Cas9 技术专业经验的南京尧顺禹生物科技有限公司, 在多次成功举办基因组编辑技术培训与经验交流会的基础上, 定于 4 月上旬在南京举办第 10 期全国基因组编辑技术培训与经验交流会。

届时, 将聘 南京大学赵庆顺教授 为各位学员系统讲解基因组编辑知识, 聘请专业技术人员指导完成基因组编辑基础实验。学员除在全面了解基因组编辑理论知识之外, 均可在专业人员指导下, 独立完成以 CRISPR/Cas9 技术进行基因组编辑研究的系列实验; 参会人员更可提前做好自己科研中遇到的问题, 通过三天现场的“讲座 + 实验 + 答疑”的学习和交流, 有机会全面掌握 CRISPR/Cas9 技术应用的方法及技巧; 同时免费获得一份 CRISPR/Cas9 三合一对照质粒(含 CMV 启动子驱动的人源化 Cas9 表达构件、爪蛙 Efla 启动子驱动的绿色荧光蛋白筛选标记表达构件、以及人 U6 启动子驱动的靶向识别人 P53 基因的 sgRNA 表达构件---含可用于制备 sgRNA 体外转录模板的 sgRNA 骨架模板)。

主讲老师简介

赵庆顺, 1987 年本科毕业于南京大学, 获学士学位; 1990 年硕士研究生毕业于南京大学, 获硕士学位; 2001 年博士研究生毕业于普渡大学获博士学位。2001-2003 年在杜克大学医学中心 Elwood Linney 教授指导下进行博士后训练。1990-1996, 先后任南京大学助教和讲师; 2003 加入南京大学模式动物研究, 任副教授, 2006 年晋升为教授, 2007 年聘为博导。

日程安排

第一天上午 9:00-12:00

理论一、基因组靶向修饰技术简介

- 1、基因功能研究的分子遗传学技术简介
- 2、基于 NHEJ 修复的基因敲除和基于 HR 修复的基因敲入
- 3、ZFN 和 TALEN 技术
- 4、CRISPR-Cas9 技术

理论二、CRISPR 的设计

- 1、目标基因结构及功能的生物信息学分析
- 2、CRISPR 的设计原则
- 3、CRISPR 的在线设计(可自带可无线上网之笔记本电脑或手机)(在线互动设计演练)

第一天下午 13:00-17:00

理论三、基因组编辑工具递送至生物体细胞内的策略

- 1、靶向编辑基因的基因型确认
- 2、基因组编辑工具之 DNA 表达元件的制备与递送策略
- 3、基因组编辑工具

转录产物制备及递送策略 4、基因编辑工具 RNP 的制备与递送策略

实验（或技术细节答疑）一：CRISPR/Cas9 基因组编辑工具 All-in-One 表达质粒的构建（1）

1、CRISPR 模板引物的订购 2、CRISPR 模板的退火 3、退火 CRISPR 模板与线性化 CRISPR/Cas9 All-in-One 载体的重组 4、大肠杆菌的转化 5、转化子的涂板培养

第二天上午 9:00-12:00

理论四、sgRNA 活性验证

1、体外法 2、体内法 2.1 插入缺失（Indel）突变检测的基本策略 2.2 基于胚胎反应器的活性验证方法 2.3 基于细胞系的活性验证方法

实验（或技术细节答疑）二：CRISPR/Cas9 基因组编辑工具 All-in-One 表达质粒的构建（2）

基因组编辑工具之 CRISPR/Cas9 All-in-One 重组子的快速验证法（PCR 法）

实验（或技术细节答疑）三：基因组编辑子等位基因的基因型鉴定

1、基因组 DNA 模板制备 2、目标基因的基因组 DNA 片段的 PCR 扩增

理论五、利用 CRISPR 技术创建基因组编辑人及动物细胞系

1、创建基因组编辑细胞系的基本过程 2、基因敲入的供体 DNA 的设计原则及基因敲入供体设计实例 3、表达 CRISPR 的 All-in-One 表达质粒（和供体）导入细胞系的方法 4、阳性细胞克隆筛选 5、靶向突变的基因型鉴定及基因组编辑细胞系的建立 6、敲入基因和敲除基因（无效等位基因）的确认 7、建立基因组编辑细胞系的优选策略

第二天下午 13:00-17:00

理论六、利用 CRISPR 技术创建基因敲除或敲入动物

1、创建基因组编辑动物突变体的基本过程 2、sgRNA/Cas9 mRNA（和供体）共显微注射入受精卵中建立初建者 3、初建者体细胞携带靶向突变等位基因的确认 4、基因敲除/敲入动物（F1）的鉴定 5、基因敲除/敲入动物品系（F2）的建立 6、敲除/敲入基因的确认 7、建立基因敲除或敲入突变体动物的优选策略

理论七、利用 CRISPR 技术创建基因敲除或敲入植物

1、创建基因组编辑植物突变体的基本过程 2、双元载体的转染 3、基因敲除/敲入植物（F1）鉴定

实验（或技术细节答疑）四：实验结果的点评与讨论

1、CRISPR/Cas9 All-in-One 重组子的 PCR 产物电泳检测结果点评 2、基因组编辑等位基因的基因型鉴定电泳检测结果的点评 3、测序是验证基因组编辑结果的金标准

第三天上午 9:00-12:00（12:00 以后课程结束）

理论八、基因组编辑技术的脱靶问题

1、脱靶的产生原因 2、脱靶检测 3、解决脱靶问题的方法 4、脱靶问题对不同领域研究者的意义

理论九、利用 CRISPRi 或 CRISPRa 技术调控基因在细胞中的表达

1、dCas9 的特征简介 2、运用 CRISPR 技术调控基因在细胞中表达的基本实验过程 3、CRISPR 技术的转录

抑制 4、CRISPR 技术的转录活化

理论十、CRISPR 技术的伦理学问题

1、新型基因组编辑技术的发展（碱基编辑） 2、基因组编辑技术的应用 3、基因组编辑技术对未来社会的革命性的影响 4、基因组编辑技术的伦理学问题

【主办单位】 上海玮瑜生物科技有限公司

【时间地点】 2017 年 4 月 7-9 日 南京市 江北新区 浦口经济开发区低碳谷

【住 宿】

为了便于接送、统一指定南京龙华大酒店，住宿自理

标准间（含早）280 元/人 合住 140 元/人 南京浦口区江浦街道龙华路 2 号近南京工业大学浦口校区

【收费标准】

3300 元/人（不含住宿费） 授课期间发放纸质邀请函（盖章） 按交费先后顺序确定名额及座位，注册费包含教材、午餐等费用。

【付款方式】

1，转账或支付宝：

A：银行转账

账户名称：上海服淡信息科技有限公司 账 户 号：31578103002581719

开 户 行：上海银行桃浦支行

B：支付宝转账

收款人：wybiot@163.com 支付宝户名：上海玮瑜生物科技有限公司

2，现场刷卡或现金（支持刷公务卡）

联系人：谢老师 13611825136 指定报名邮箱：wybiot@126.com

回执表

单位名称					
单位地址					
开票名称					
学员姓名	性别	学员常用邮箱	手机	研究方向	导师邮箱
费用合计	(大写) 万 仟 佰 拾 元整			小写： 元（不包括住宿费）	
备 注					

温馨提示： 1、回执表务请发送到：wybiot@126.com 邮箱后来电至 13611825136 或发信息予以确认。

2、请您不要直接回复收到通知的邮箱，如果您超过 2 天没有收到回复请致电 13611825136
