การอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่อง “Genome Engineering using CRISPR/Cas9 system”
ระหว่างวันที่ 8 –11 มกราคม 2562
ณ สถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล
มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตศาลายา อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม

1. หลักการและเหตุผล

การพัฒนาเทคโนโลยีการปรับแต่งจีโนมได้มีความก้าวหน้าไปอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะอย่างยิ่งเทคโนโลยี “คริสเปอร์-แคสไนน์ (CRISPR-Cas9)” ดังจะเห็นได้จากจำนวนผลงานตีพิมพ์ในวารสารนานาชาติ และสิทธิบัตรที่เพิ่มขึ้นจำนวนมากในช่วง 6 ปีที่ผ่านมา เนื่องจากเทคโนโลยีนี้สามารถทำได้ง่ายไม่ยุ่งยาก และให้ประสิทธิภาพสูง จึงได้มีการนำเทคโนโลยีคริสเปอร์-แคสไนน์มาประยุกต์ใช้ในงานทางเทคโนโลยีชีวภาพ และงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์อย่างกว้างขวาง ตั้งแต่การหยุดยั้งการทำงานของยีน (gene knock out) หรือดัดแปลงยีนในเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เพื่อศึกษาหน้าที่ของยีนต่าง ๆ ในเซลล์ การปรับปรุงพันธุ์พืช การกำจัดมะเร็ง การฆ่าเชื้อดื้อยา การทำลายเชื้อเอดส์ที่แทรกอยู่ในเซลล์ วิศวกรรมจุลินทรีย์ การรักษาโรคพันธุกรรม การพัฒนาปศุสัตว์ ไปจนถึงการทำไบโอเซนเซอร์ เป็นต้น ซึ่งเทคโนโลยีคริสเปอร์-แคสไนน์นี้ ทำให้งานวิจัยระดับโมเลกุล หรือระดับยีน มีความก้าวหน้าอย่างรวดเร็ว

สถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล มหาวิทยาลัยมหิดล ได้เล็งเห็นถึงความสำคัญในการพัฒนาศักยภาพของนักวิจัยและผู้ที่มีความสนใจในเทคโนโลยีการปรับแต่งจีโนม จึงกำหนดจัดการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่อง **“Genome Engineering using CRISPR/Cas9 system”** เพื่อเผยแพร่ความรู้ เทคนิคพื้นฐาน และการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีปรับแต่งจีโนม คริสเปอร์-แคสไนน์ ให้แก่นักวิจัยและผู้ที่สนใจ โดยแบ่งเป็นภาคบรรยาย และภาคปฏิบัติการ ทั้งนี้ผู้เข้าร่วมอบรมจะได้เข้าใจหลักการทฤษฎีพื้นฐาน การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีคริสเปอร์-คาสไนน์ เพื่อใช้ในการปรับแต่งจีโนม รายละเอียดขั้นตอนในการปรับแต่งจีโนมแบบ knock in และ knock out ในเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ตั้งแต่การออกแบบคริสเปอร์อาร์เอ็นเอให้จับจำเพาะกับดีเอ็นเป้าหมายด้วยตนเอง โดยใช้ซอฟต์แวร์ในการออกแบบ การทดสอบการตัดขาดดีเอ็นเป้าหมายของคริสเปอร์อาร์เอ็นด้วย reporter plasmid การออกแบบดีเอ็นเอต้นแบบ วิธีการขนส่งระบบคริสเปอร์-แคสไนน์เข้าสู่เซลล์ รวมไปถึงวิธีการตรวจสอบเซลล์ที่ผ่านการปรับแต่งจีโนมด้วยวิธีการ T7 endonuclease I assay และดิจิตอลพีซีอาร์ (digital PCR) อันจะเป็นประโยชน์แก่ผู้เข้ารับการฝึกอบรมในการนำความรู้ไปประยุกต์ใช้ในการปฏิบัติงานจริงต่อไป การอบรมดังกล่าวดำเนินการตามประกาศสถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล มหาวิทยาลัยมหิดล เรื่องหลักเกณฑ์และวิธีดำเนินการการจัดประชุมทางวิชาการ พ.ศ. 2561 ฉบับลงวันที่ 12 ตุลาคม พ.ศ. 2561

2. วัตถุประสงค์

2.1 เพื่อพัฒนาความรู้ ความสามารถของผู้เข้าอบรมให้เข้าใจถึงความรู้พื้นฐาน เทคนิค และการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีคริสเปอร์-คาสไนน์

2.2 เพื่อเพิ่มประสบการณ์การใช้เทคโนโลยีคริสเปอร์-คาสไนน์ในการทำวิจัย จากกรณีศึกษาที่จะแสดงทั้งในภาคบรรยายและภาคปฏิบัติการ

2.3 เพื่อแลกเปลี่ยนความคิดและประสบการณ์การทำวิจัยโดยใช้เทคโนโลยีคริสเปอร์-คาสไนน์ ระหว่างวิทยากรและระหว่างผู้เข้าร่วมอบรมด้วยกัน

3. ผู้รับผิดชอบโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อลิสา ทับสุวรรณ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นริศร กิติยานันท์

ดร.ถาวรีย์ ถิละเวช

อาจารย์ ดร.นที เจียรวิริยะไพศาล

4. เวลาและสถานที่

ระหว่างวันที่ 8 – 11 มกราคม 2562 ณ สถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล มหาวิทยาลัยมหิดล ตำบลศาลายา อำเภอพุทธมณฑล จังหวัดนครปฐม

5. แนวทางการอบรม

ฟังบรรยายหลักการและทฤษฎีพื้นฐานที่เกี่ยวข้องจากคณะวิทยากรผู้ที่มีความรู้ความเชี่ยวชาญ และผู้เข้าร่วมอบรมต้องฝึกปฏิบัติการจริงภายใต้การดูแลชองคณะวิทยากร

6. ผู้เข้ารับการอบรม

อาจารย์ นักศึกษา นักวิจัยทางชีววิทยาศาสตร์ หรือสาขาที่เกี่ยวข้อง หรือผู้สนใจทั่วไป

7. จำนวนเปิดรับเข้าการอบรม

ภาคบรรยายจำนวน 52 ราย

ภาคบรรยายและปฏิบัติการจำนวน 48 ราย

8. ค่าลงทะเบียน

- ภาคบรรยาย (วันที่ 8 มกราคม 2562) รายละ 1,200 บาท (หนึ่งพันสองร้อยบาท)
  (อาหารว่าง 2 มื้อ และอาหารกลางวันเป็นอาหารกล่อง 1 มื้อ)

- ภาคบรรยายและปฏิบัติการ (วันที่ 8–11 มกราคม 2562) รายละ 8,500 บาท (แปดพันห้าร้อยบาท)
  (อาหารว่าง 5 มื้อ และอาหารกลางวันเป็นอาหารกล่อง 1 มื้อ และ บุฟเฟต์ 3 มื้อ)

9. รายชื่อวิทยากร

วิทยากรภายใน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อลิสา ทับสุวรรณ

อาจารย์ ดร.นที เจียรวิริยะไพศาล

ดร.ถาวรีย์ ถิรเวช

วิทยากรภายนอก

ดร.นวพล ขันแก้ว

ดร.บรรพต ศิริเดชาลิดก

10. ผลที่คาดว่าจะได้รับ

10.1 ผู้เข้ารับการอบรมได้รับความรู้ ความเข้าใจพื้นฐาน และการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีปรับแต่งจีโนมในงานด้านวิทยาศาสตร์ รวมทั้งขั้นตอนในการปรับแต่งจีโนมในเซลล์

10.2 ผู้เข้ารับการอบรมสามารถนำความรู้และประสบการณ์ที่ได้จากการปฏิบัติจริงไปประยุกต์ใช้ในงานวิจัยของตนเองได้

10.3 เกิดการแลกเปลี่ยนความรู้ ข้อคิดเห็น ประสบการณ์ต่าง ๆ ระหว่างผู้เข้ารับการอบรม วิทยากร และสามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่อการบริการ งานวิจัย การศึกษา รวมทั้งเกิดเครือข่ายความร่วมมือระหว่างผู้เข้ารับการอบรม

11. ติดต่อ/สอบถามรายละเอียดเพิ่มเติม ได้ที่

นางสาวชนิกานต์ บุญช่วย โทรศัพท์ 09 9245 1698 หรือ 02-4419903-6 ต่อ 1205 และ 1242 งานวิจัยและพัฒนานวัตกรรม สถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล มหาวิทยาลัยมหิดล

12. ขั้นตอนการสมัครเข้าอบรม

12.1 ผู้ที่สนใจสามารถ สมัครออนไลน์ได้ที่ Website : www.mb.mahidol.ac.th

12.2 เจ้าหน้าที่จะแจ้งผลการสมัครให้ท่านทราบด้วย e-mail

12.3 เมื่อท่านได้รับการยืนยันสิทธิเข้าร่วมอบรม ให้ผู้สมัครโอนเงินค่าลงทะเบียนตามบัญชีที่แจ้งไว้

วิธีการจ่ายเงินค่าลงทะเบียน

12.3.1 โอนเงินเข้าบัญชีออมทรัพย์ ธนาคารไทยพาณิชย์ สาขาศิริราช

ชื่อบัญชี **“มหาวิทยาลัยมหิดล”**

เลขที่บัญชี 016-2-10322-3 หรือ

12.3.2 บัญชีกระแสรายวัน ธนาคารไทยพาณิชย์ สาขาศิริราช

ชื่อบัญชี **“มหาวิทยาลัยมหิดล”**

เลขที่บัญชี 016-3-00325-6 หรือ

12.4 สำเนาเอกสารการโอนเงิน หรือ scan หรือถ่ายรูปเอกสารการโอนเงินส่งมาที่

นางสาวรตินันทร์ จีนสมุทร์ 02-4419903-6 ต่อ 1242 โทรสาร 02-4419906

หรือ e-mail address : **ratinan.jee@mahidol.ac.th**

12.5 เจ้าหน้าที่ส่ง e-mail ตอบรับเข้าร่วมประชุม กรุณาปฏิบัติตามขั้นตอนที่ได้แจ้งไว้

“การลงทะเบียนจะเสร็จสมบูรณ์ต่อเมื่อได้โอนเงินค่าลงทะเบียนและส่งเอกสาร pay-in-slip”

หมดเขตรับสมัคร ภายในวันที่ 19 ธันวาคม 2561

การอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่อง “Genome Engineering using CRISPR/Cas 9 system”

ระหว่างวันที่ 8–11 มกราคม 2562

ณ สถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล

วันที่ 8 มกราคม 2562	**ภาคบรรยาย**
08.15 – 09.00	ลงทะเบียน
09.00 – 09.15	พิธีเปิดการอบรม โดยผู้อำนวยการสถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล
09.15 – 10.15	Introduction to CRISPR/Cas system โดย ดร.นวพล ขันแก้ว
10.15 – 11.15	CRISPR/Cas applications โดย ดร.บรรพต ศิริเดชาดิลก นักวิจัย ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ
11.15 – 12.00	Overview: Genome editing using CRISPR/Cas9 โดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อลิสา ทับสุวรรณ
12.00 – 13.00	พักรับประทานอาหารกลางวัน
13.00 – 14.00	Genome editing detection methods โดย อาจารย์ ดร.นที เจียระวิริยะไพศาล
14.00 – 15.00	Genome editing screening using digital PCR (BIORAD) โดย วิทยากรจาก บริษัท ไบโอราด
15.00 – 15.30	พักรับประทานอาหารว่าง
15.30 – 16.30	**ภาคปฏิบัติ 1: Guide RNA design using computational software** โดย อาจารย์ ดร.นที เจียระวิริยะไพศาล และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อลิสา ทับสุวรรณ

วันที่ 9 มกราคม 2562	**ภาคปฏิบัติ 2 Preparation of CRISPR/Cas9 expression construct and functional validation of sgRNAs** โดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อลิสา ทับสุวรรณ	
	กลุ่มที่ 1	**กลุ่มที่ 2**
09.00 – 11.00	Cloning sgRNA into the Cas9 expression vector (1)	Functional validation of sgRNAs: HEK 293T cell culture and transfection
11.00 – 12.00	Cloning sgRNA into the Cas9 expression vector (2)	พักรับประทานอาหารกลางวัน
12.00 –13.00	พักรับประทานอาหารกลางวัน	Cloning sgRNA into the Cas9 expression vector (1)
13.00 –15.00	Functional validation of sgRNAs: HEK 293T cell culture and transfection	Cloning sgRNA into the Cas9 expression vector (2)
15.00 – 15.15	พักรับประทานอาหารว่าง	
15.15 – 16.30	transformation and plating bacteria	

วันที่ 10 มกราคม 2562	**ภาคปฏิบัติ 3 และ 4 Genome editing (gene knock-in and knock out) screening using T7 endonuclease I assay and digital PCR** โดย อาจารย์ ดร.นที เจียรวิริยะไพศาล	
	กลุ่มที่ 1	**กลุ่มที่ 2**
09.00 – 12.00	PCR product re-annealing and digestion with T7 endonuclease I	Gene knock in screening using digital PCR
12.00 – 13.00	พักรับประทานอาหารกลางวัน	
13.00 – 14.00	Gel electrophoresis	Question and answers
14.00 – 14.15	**พักรับประทานอาหารว่าง**	
14.15 – 15.30	Result interpretation and discussion	Result interpretation and discussion
15.30 – 16.30	Bacterial colony inspection Result interpretation and discussion	
วันที่ 11 มกราคม 2562	**ภาคปฏิบัติ 3 และ 4 Genome editing (gene knock-in and knock out) screening using T7 endonuclease I assay and digital PCR** โดย อาจารย์ ดร.นที เจียรวิริยะไพศาล	
	กลุ่มที่ 1	**กลุ่มที่ 2**
09.00 – 12.00	Gene knock in screening using digital PCR	PCR product re-annealing and digestion with T7 endonuclease I (Guide RNA functional analysis) during 1 hour incubation:
12.00 – 13.00	พักรับประทานอาหารกลางวัน	
13.00 – 14.00	Guide RNA functional analysis	Gel electrophoresis
14.00 – 14.15	**พักรับประทานอาหารว่าง**	
14.15 – 15.30	Result interpretation and discussion	Result interpretation and discussion
15.30 – 16.30	Guide RNA functional analysis: Result interpretation, and discussion	Guide RNA functional analysis: Result interpretation, and discussion
16.30 – 17.00	Closing	

<u>รายละเอียดภาคปฏิบัติการ</u>

ปฏิบัติการ 1: Guide RNA design using computational software

(โดย อาจารย์ ดร.นที เจียรวิริยะไพศาล และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อลิสา ทับสุวรรณ)

ผู้เข้าร่วมอบรมจะได้เรียนรู้และทดลองปฏิบัติ ดังนี้ การออกแบบ guide RNA (gRNA) ด้วยตนเอง และซอฟต์แวร์คอมพิวเตอร์ (ผู้เข้าร่วมอบรมนำคอมพิวเตอร์ Notebook มาใช้ประกอบการเรียนรู้)

ปฏิบัติการ 2: Guide RNA and Cas9 expression plasmid construction and their functional validation

(โดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อลิสา ทับสุวรรณ)

ผู้เข้าร่วมอบรมจะได้เรียนรู้และทดลองปฏิบัติ ดังนี้ การสร้างพลาสมิดมีการแสดงออกของโปรตีนคาสไนน์ และไกด์อาร์เอ็นเอ การขนส่งโปรตีนคาสไนน์และไกด์อาร์เอ็นเอเข้าสู่เซลล์เป้าหมายด้วยวิธีการต่าง ๆ เช่น การใช้กระแสไฟฟ้าและสารเคมี รวมทั้งทดสอบคุณสมบัติในการตัดขาดดีเอ็นเอเป้าหมายของเทคโนโลยีคริสเปอร์-คาสไนน์ด้วยการใช้ reporter พลาสมิด การวิเคราะห์และการแปลผล

ปฏิบัติการ 3: Genome editing detection using T7 endonuclease I assay

(โดย อาจารย์ ดร.นที เจียรวิริยะไพศาล)

ผู้เข้าร่วมอบรมจะได้เรียนรู้และทดลองปฏิบัติดังนี้ การตรวจสอบการปรับแต่งจีโนมแบบ gene knockout ด้วยวิธีพีซีอาร์ตามด้วยการตัดชิ้นส่วนพีซีอาร์ด้วยเอ็นไซม์ T7 endonuclease I assay การวิเคราะห์และแปลผลการทดลอง

ปฏิบัติการ 4 : Genome editing detection using digital PCR

(โดย วิทยากรจากบริษัท BIO-RAD.)

ผู้เข้าร่วมอบรมจะได้เรียนรู้และทดลองปฏิบัติดังนี้ การตรวจสอบการปรับแต่งจีโนมแบบ gene knock in ด้วยเครื่องดิจิตอลพีซีอาร์ ตามด้วยการวิเคราะห์และแปลผลการทดลอง