



导航

🏠 首页 / 新闻 / 要闻

正文字体:大 中 小

脑科学与康复医学研究院费继锋教授在Nature子刊 Nature Protocols 发表原创性方法学研究论文

2018-11-15 11:55:15 2565 👍 4 🍎

📖 科学研究

近日，华南师范大学脑科学与康复医学研究院珠江学者费继锋教授以第一作者、通讯作者在Nature子刊Nature Protocols (五年影响因子：15.269) 发表题为“Application and optimization of CRISPR/Cas9-mediated genome engineering in axolotl (*Ambystoma mexicanum*)”的原创性方法学研究论文 (DOI: 10.1038/s41596-018-0071-0)，华南师范大学为第一通讯单位。



Application and optimization of CRISPR-Cas9-mediated genome engineering in axolotl (*Ambystoma mexicanum*)

Ambystoma mexicanum

Ji-Feng Fei^{1*}, Wilson Pak-Kin Lou^{2,3}, Dunja Knapp⁴, Prayag Murawala³, Tobias Gerber⁵, Yuka Taniguchi³, Sergej Nowoshilow³, Shahryar Khattak⁴, Elly M. Tanaka³

Genomic manipulation is essential to the use of model organisms to understand development, regeneration and adult physiology. The axolotl (*Ambystoma mexicanum*), a type of salamander, exhibits an unparalleled regenerative capability in a spectrum of complex tissues and organs, and therefore serves as a powerful animal model for dissecting mechanisms of regeneration. We describe here an optimized stepwise protocol to create genetically modified axolotls using the CRISPR-Cas9 system. The protocol, which takes 7-8 weeks to complete, describes generation of targeted gene knockouts and knock-ins and includes site-specific integration of large targeting constructs. The direct use of purified CAS9-NLS (CAS9 containing a C-terminal nuclear localization signal) protein allows the prompt formation of guide RNA (gRNA)-CAS9-NLS ribonucleoprotein (RNP) complexes, which accelerates the creation of double-strand breaks (DSBs) at targeted genomic loci in single-cell-stage axolotl eggs. With this protocol, a substantial number of F₀ individuals harboring a homozygous-type frameshift mutation can be obtained, allowing phenotype analysis in this generation. In the presence of targeting constructs, insertions of exogenous genes into targeted axolotl genomic loci can be achieved at efficiencies of up to 15% in a non-homologous end joining (NHEJ) manner. Our protocol bypasses the long generation time of axolotls and allows direct functional analysis in F₀ genetically manipulated axolotls. This protocol can be potentially applied to other animal models, especially to organisms with a well-characterized transcriptome but lacking a well-characterized genome.

论文首页截图

该文详细介绍了在蝾螈中进行靶向基因组修饰的策略和方法。通过在墨西哥钝口螈 (Axolotl) 卵细胞中注入预先组装的Cas9/gRNA核糖核蛋白复合物，可高效地靶向基因组位点进行修饰，进而生成基因敲除和敲入遗传修饰动物模型中进行功能及表型分析和研究。

蝾螈具有强大的再生能力，四肢、心脏、脊髓等各种组织都能再生，是发育生物学和再生医学的经典研究模型。但因蝾螈基因组庞大（10倍于人类基因组），长期缺乏基因组详细信息和有效的基因编辑手段，阻碍了其在生物学中的应用。2018年初，费继锋教授实验室与来自欧洲的多个实验室合作，在国际顶尖期刊Nature 上首次报道了墨西哥钝口螈的基因组测序和基因编辑成果 [Nature. 2018, 554(7690):50-55]，助推以蝾螈为模式生物在发育生物学和再生医学中的应用。此次费继锋教授实验室发表在Nature Protocols上的原创性方法学成果，是前期研究工作的延续，以先进的基因编辑手段精准地在拥有如此庞大基因组的蝾螈体内进行高效编辑，必将对发育生物学和再生医学的发展做出巨大贡献。

费继锋，博士生导师，于2016年11月以青年拔尖人才引进，受聘于脑科学与康复医学研究院，主持建立神经发育与再生研究实验室，专门从事中枢神经系统损伤修复与再生的重大科学难题的攻关研究。2018年，被聘为广东省神经生物学珠江学者特聘教授。自组建实验室以来，以第一作者或通讯作者在Nature [2018, 554 (7690): 50-55]、PNAS [2017,114(47):12501-12506]、Nature Protocols [DOI: 10.1038/s41596-018-0071-0] 等国际顶级学术期刊上发表高水平研究成果，引起国内外学术界广泛关注。研究工作得到了国家自然科学基金及华南师范大学高水平大学建设专项基金的资助。

作者/通讯员:费继锋 | 来源:脑科学与康复医学研究院 | 编辑:杨柳青

推荐



- ▶ 我校在全国“挑战杯”竞赛中斩获6奖
- ▶ 《光明日报》刊发陈金龙教授论党内政治文化理论文章
- ▶ 《南方都市报》：陈金龙：“教师的教学要能让学生 “ ‘解渴’ ”
- ▶ 陈长琦：以学术为生命
- ▶ 金羊网：广东取材、韶关拍摄、华师班底……这部电影题材很罕见

排行



- ▶ 文汇报：史家的足迹——关文发先生学术生平
- ▶ 关文发教授的学术人生
- ▶ 我校女子篮球队勇夺2016年广东省大学生篮球联赛冠军
- ▶ 华师男足勇夺2016-2017年中国大学生五人制足球联赛（广东赛区）亚军
- ▶ 张恒亮：不允许自己不努力

影像



一夜春雨遍地金黄，最美华师惊艳了广州城！





“你的名字是？” “华师。”

版权所有：华南师范大学党委宣传部 华南师范大学新闻中心

Copyright © 2001-2016 news.scnu.edu.cn. All rights reserved.

技术支持：广州可媒

☎ 电话：(020)85211027

✉ 电邮：xiaobao@m.scnu.edu.cn

☁ 累积访问量：29988852

👆 今日访问量：22076