

CRISPRスクリーニング解析

gRNA

NGS

■解析概要

CRISPR gRNA ライブラリを使用したゲノムワイドスクリーニングにご利用いただける次世代シーケンス解析サービスです。

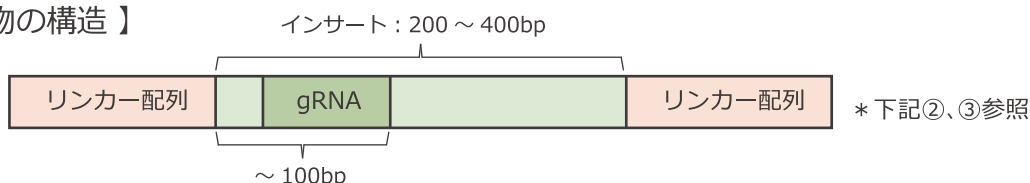
gRNA 領域の PCR 産物をご提供いただき、ディープシーケンス、gRNA のリードカウントを行います。



■ご用意いただくもの

- サンプル：gRNA 領域の PCR 産物 ※ 下記①～④の条件を必ずご確認ください。

【 PCR 産物の構造 】



- ① ご提供いただく PCR 産物の量は 5ng (0.2ng/μL) 以上を目安にご用意ください。
- ② 弊社指定のリンカー配列 (※ 配列はお問い合わせください) を付加したプライマーで PCR を行っていただき、リンカー配列の付いた PCR 産物をご提供ください。
- ③ PCR 産物 (リンカー配列を除くインサートサイズ) は 200 ~ 400bp 程度、その内 5' 側の 100bp 以内に gRNA 領域を含むようプライマーを設計してください。(上図参照)
- ④ PCR 産物の精製を行ってください。

- 参照データ：gRNA リスト

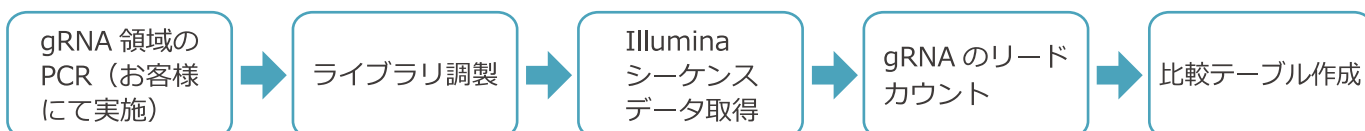
gRNA の ID、配列、対象 Gene の対応表をご提供ください。
データ解析 (gRNA のリードカウント) で使用いたします。

【 gRNA リスト例 】

gRNA ID	gRNA配列	Gene
ID_0001	AAATACAAACAACCTCTGAG	GeneA
ID_0002	GAAGTGTCCTCCAGGGCGAGG	GeneB
ID_0003	ACTCTATCACATCACACTG	GeneC

■サービス内容

gRNA 領域の PCR 産物をご提供いただき、ライブラリ調製、Illumina シーケンスデータ取得、gRNA のリードカウントを実施いたします。比較対象のサンプルがある場合は、比較テーブル作成も承ります。



納品データ

シーケンスで得られたリード配列から gRNA 領域を切り出し、各 gRNA のリード数を集計します。
Control、Treat の比較実験の場合は、gRNA リード数集計後、各サンプルで算出された gRNA カウント情報にもとづき、Control サンプルと Treat サンプルのカウント比較テーブルを作成します。
また、gRNA のエンリッチ情報をもとに、gRNA がターゲットとする遺伝子ごとの negative/positive selection 情報も算出します。

【 gRNA のリードカウントテーブル 】

gRNA ID	gRNA Sequence	SampleA Count
ID_0001	AAATACAAACA ACTCTGAG	213
ID_0002	GAAGTGTCCCAGGGCGAGG	294
ID_0003	ACTCTATCACATC AACTG	35

【 gRNA のカウント比較テーブル 】

gRNA ID	SampleA (Control)	SampleB (Control)	SampleC (Treat)	SampleD (Treat)	LOG2FC	p_value	FDR	High in Treat
ID_0001	213	274	883	175	1.12	0.9996	0.00699	FALSE
ID_0002	294	412	1554	1891	2.29	0.0000	0.00000	TRUE
ID_0003	421	368	566	759	0.75	0.9995	0.00726	FALSE


【 遺伝子の negative/positive selection 情報 】

Gene	negative selection			positive selection		
	p_value	FDR	Rank	p_value	FDR	Rank
RPS5	0.000	0.000236	1	1.000	1.000	19147
YARS	0.000	0.000236	2	1.000	1.000	19146
GTF2B	0.000	0.000236	3	1.000	1.000	19145
NRF1	0.000	0.000236	4	1.000	1.000	19144
NLE1	0.000	0.000236	5	1.000	1.000	19143

代理店

 北海道システム・サイエンス株式会社

〒001-0932 札幌市北区新川西2条1丁目2-1

 0120-613-190

TEL : 011-768-5901 FAX : 011-768-5951

E-mail : hss-ngs@hssnet.co.jp

URL : <https://www.hssnet.co.jp>

※ 本サービスの仕様は、予告なく変更する場合がございます。