

guideRNA デザイン法 改訂版

2022.09.27.

中原若辰

I. CRISPick (BROAD Institute)にアクセスする

- URL: <https://portals.broadinstitute.org/gppx/crispick/public>

II. Reference Genome を選択する

- CRISPRa/i の場合…NCBI reference data set を推奨
- CRISPRko の場合…Ensembl data set を推奨

III. Mechanism を選択する

IV. Enzyme を選択する

- Vector の tracrRNA が GTTTV(V≠T)で開始の場合…SpyoCas9(NGG) Chen(2013)を使用
- Vector の tracrRNA が GTTTT で開始の場合…SpyoCas9(NGG) Hsu(2013)を使用
(pLKO5.sgRNA.EFS.tRFP657、pLKO5.sgRNA.EFS.GFP、lentiGuide-Puro の場合、tracrRNA は GTTTT で開始)

V. Target(s)を入力する

VI. Submit を実行、しばらく待つ

VII. Picking Results を選択してダウンロード、Excel で開く

VIII. Target Sequence に対し、以下のように Oligo をデザインする

Oligo 1: **CACCG**(Target Sequence)

Oligo 2: **AAAC** (Reverse Complement of Target Sequence)**C**

e.g.

Target Sequence: AATCACGAAATGGCCAACGG

Reverse Complement: CCGTTGGCCATTTTCGTGATT

(http://www.bioinformatics.org/sms/rev_comp.html)

Oligo1: **CACCG**AATCACGAAATGGCCAACGG

Oligo 2: **AAAC**CCGTTGGCCATTTTCGTGATT**C**