猫も杓子も

Geneious Prime でシーケンス解析

第 19 回 CRISPR 編集結果の解析(その 2)



Analyze CRISPR Editing Results ツールにより、CRISPR 編集実験から得られた NGS リードをアラインメント、クラスタリング、解析し、バリエーションの頻度やタンパク質への影響を判断することができます。前回([第 18 回 CRISPR 編集結果の解析\(その1\)](#))に引き続き今回は、解析のセットアップ方法(その 2)についてご紹介します。

Analyze CRISPR Editing Results ツールは、マージしたリードをリファレンス配列にマッピングし、CRISPR 編集サイト周辺の目的領域までトリミングした後、クラスターに落とし込み、各クラスター内のリード数を全体に占める割合で出力します。

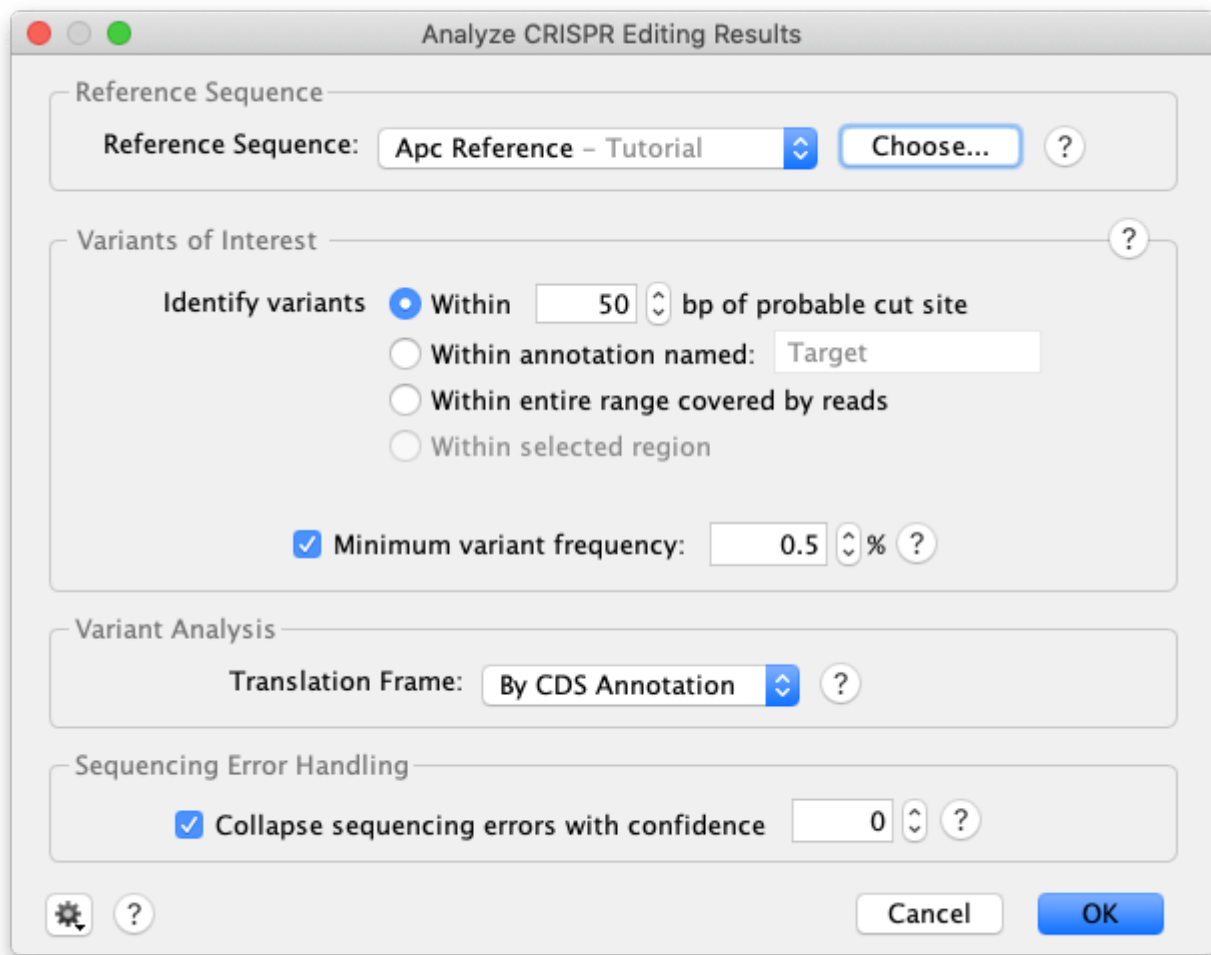
リファレンス配列は、CRISPR 編集サイトにまたがる短い配列で、リードと同程度の長さのものを使用します。通常は未編集のアンプリコン配列となります。リファレンス配列は、解析のセットアップダイアログで設定するか、解析を開始する前にサンプルリードと一緒に選択することができます。

前回作成した **Sample Reads (trimmed) (merged)** ファイルと一緒に、リファレンスファイル **Apc Reference** を選択します(Ctrl(Windows)/Command(mac)キーをクリックしながら両方のファイルを選択します)。次に、Annotate and Predict メニューから **Analyze CRISPR Editing Results** を開くと、Apc Reference がリファレンス配列として自動的に設定されているはずで

す。リファレンス配列は APC 遺伝子の一部であり、部分的に CDS のアノテーションが付与されています。これにより、正しいフレームを使用してタンパク質のバリエーション効果を解析することができます。もしお使いのリファレンス配列に CDS アノテーションがない場合は、**Variant Analysis** セクションで、どの翻訳フレームを使用するかを設定することができます。

セットアップダイアログの **Variants of Interest** セクションでは、CRISPR 切断サイトの上流と下流でどの程度バリエーションを探索するかなどを指定することができます。**Minimum variant frequency** 設定で、結果に含まれるバリエーションの最小頻度を設定します。

例えば、デフォルトの **Within 50 bp of probable cut site** のままで、**Minimum variant frequency** を 0.5% にすると、セットアップウィンドウは、以下のように表示されます。**OK** をクリックすると、解析が開始されます。



解析が完了するまでには数分間かかる場合があります。
次回は結果の表示と解釈についてご紹介する予定です。

Geneious 製品概要・フリートライアルリクエストについては[こちら](#)

『Geneious Prime でシーケンス解析』の過去の記事は[こちらでチェック!](#)

