DBCLS
Database Center
for Life Science

GGGenome & CRISPRdirect

塩基配列検索およびゲノム編集のための ウェブツール

2019年10月 5日
ライフサイエンス統合データベースセンター (DBCLS)
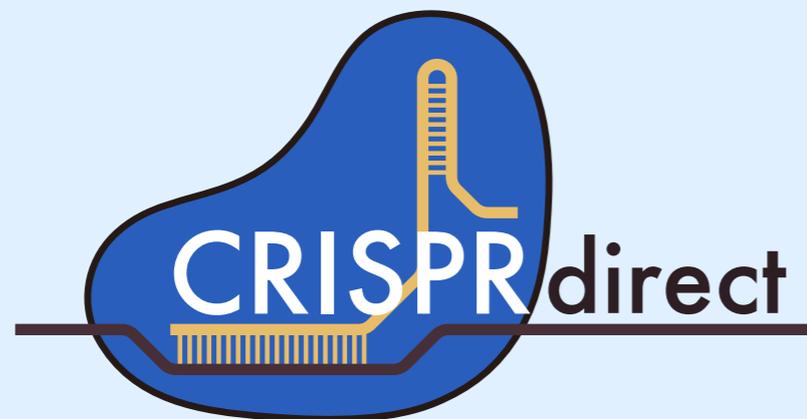### 内藤雄樹

GGGenome

塩基配列をさがす

https://GGGenome.dbcls.jp/

- **ゲノムを高速に検索可能**
  350種の生物種に対応
- **ミスマッチや挿入欠失を含む短い配列の検索に強い**

CRISPRdirect

CRISPRガイドRNA設計

https://crispr.dbcls.jp/

- **CRISPRガイドRNA設計**
  PAMに隣接する20塩基の選択
- **オフターゲット検索**
  powered by GGGenome

GGGenome による塩基配列検索

DBCLS
Database Center
for Life Science

http://GGGenome.dbcls.jp/

超絶高速ゲノム配列検索　Help | English

GGGenome

| | 検索 | Human genome, GRCh37/hg19 (Feb, 2009) |

許容するミスマッチ/ギャップの数：0　(検索する塩基配列の長さの25%まで)
⦿ 双方向を検索　◯ ＋方向のみ検索　◯ ー方向のみ検索

検索例：

- [TTCATTGACAACATT] …… 塩基配列を検索
- 詳細な使い方
- 遺伝子や転写産物のキーワード検索は GGRNA 《ぐぐるな》へ
  - 例）ヒトの「nanog」を検索： http://GGRNA.dbcls.jp/hs/nanog

検索結果へのリンク：

- http[s]://GGGenome.dbcls.jp/db/k/[strand]/sequence[.format][.download]
  - db → hg19, mm10, dm3, ce10, TAIR10, pombe, refseq, etc. 省略時は hg19
    検索可能なデータベース一覧
  - k → 許容するミスマッチ/ギャップの数。あまり大きいとしぼうする。省略時は 0
  - strand → '+' ('plus') または '-' ('minus') で特定の方向のみ検索。省略時は両方向を検索
  - sequence → 塩基配列。大文字・小文字は区別しない
  - format → html, txt, csv, bed, gff, json。省略時は html
  - download → URLの最後に付加すると検索結果をファイルとしてダウンロードできる
- 例1：http://GGGenome.dbcls.jp/TTCATTGACAACATT
  - ヒトゲノム hg19 (省略可) で
  - ミスマッチ/ギャップを許容せず (省略可)
  - TTCATTGACAACATT を検索し
  - html 形式 (省略可) で結果を返す
- 例2：http://GGGenome.dbcls.jp/mm10/2/+/TTCATTGACAACATTGCGT.txt
  - マウスゲノム mm10 で
  - 2 ミスマッチ/ギャップまで許容して

GGGenome による塩基配列検索

GGGenome による塩基配列検索

ゲ ゲ ゲ

GGGenome による塩基配列検索

ゲ ゲ ゲ

DBCLS Database Center for Life Science

GGGenome による塩基配列検索

ゲ ゲ ゲ

DBCLS Database Center for Life Science

GGGenome による塩基配列検索
ゲ ゲ ゲ

GGGenome のしくみ

● **分割統治法**

30 mer / **5ミスマッチ**以内

分割すると、どれかは必ず
10 mer / **1ミスマッチ**以内

● **接尾辞配列 (suffix array) ＋ FM-index**

● **インデックスをSSDに置くことにより高速化**

漏れのない検索を高速に実行

GGGenome を他のツールとつないで使う

ゲ ゲ ゲ

● アドレス ＝ 検索クエリ になっている

● 結果をさまざまな形式で出力できる

検索例：

http[**s**]://GGGenome.dbcls.jp/**hg38**/**2**/**ATAGGACCATA**[**.txt**]

暗号化通信
に対応

①ヒトゲノム
hg38に対し

③この配列を検索

②最大ミスマッチ・
挿入欠失 ＝ **2** で

④結果はテキスト
(**txt**) 形式で。

GGGenome を他のツールとつないで使う

GGGenome を他のツールとつないで使う

ゲ ゲ ゲ

gggenome.dbcls.jp/2/TTCACTGACAACATTGAGTA.json

'json'

```
{ ...
  • database: "Human genome, GRCh37/hg19 (Feb, 2009)",
  • error: "none",
  • results:
    -
    [ ...
      ° -
        { ...
          ▪ align: "||||||| |||||||| ||||",
          ▪ del: 0,
          ▪ edit: "==========I========X======",
          ▪ ins: 1,
          ▪ match: 18,
          ▪ mis: 1,
          ▪ name: "chr1",
          ▪ position: 77930953,
          ▪ position_end: 77930971,
          ▪ query: "TTCACTGACAACATTGAGTA",
          ▪ sbjct: "TTCACTG-CAACATTCAGTA",
          ▪ snippet: "TCATGAAATGGAAGTGCTGCCACTTCAGGGTCCTGTAAAGAGATAATGCTGATGCCAGGCCAGGGAAAAAAGCAGTACTCAAGATCACCTTTTTTTAAAGTTCACTGCAACA
          ▪ snippet_end: 77931071,
          ▪ snippet_pos: 77930853,
          ▪ strand: "+"
        },
      ° -
        { ...
          ▪ align: "||||||| |||| |||||||||",
          ▪ del: 1,
          ▪ edit: "=========D=====I==========",
          ▪ ins: 1,
          ▪ match: 19,
          ▪ mis: 0,
          ▪ name: "chr1",
          ▪ position: 106947513,
          ▪ position_end: 106947532,
          ▪ query: "TTCACTG-ACAACATTGAGTA",
          ▪ sbjct: "TTCACTGCACAA-ATTGAGTA",
```

TogoGenome を塩基配列から検索

TogoGenome を塩基配列から検索

ターミナルから塩基配列検索

表計算ソフトから GGGenome 検索

= ImportData(D2)

PCRプライマー配列

表計算ソフトから GGGenome 検索

ゲゲゲ
GGGenome まとめ

● **ゲノムを高速に検索可能**　　http://GGGenome.dbcls.jp/

　　ゲノム、転写産物 (RefSeq, GENCODE)、pre-mRNA (理研D3G)

● **短い塩基配列の検索に強い**

　　ミスマッチや挿入欠失が多くても見落としのない検索

● **他のツールから呼び出すことができる（REST API）**

　　Googleスプレッドシートの ImportData() 関数

　　Excel 2013以降の WEBSERVICE() 関数

　　R、Ruby、Galaxy、ゲノムブラウザ・・・

● **ウェブ版は無償で自由に利用可能**

　　商用利用であっても無償。

　　利用記録は当センターにおいて機密扱い。

● **Docker版をレトリバ社から販売予定 →**

GGGenome

塩基配列をさがす

https://GGGenome.dbcls.jp/

CRISPRdirect

CRISPRガイドRNA設計

https://crispr.dbcls.jp/
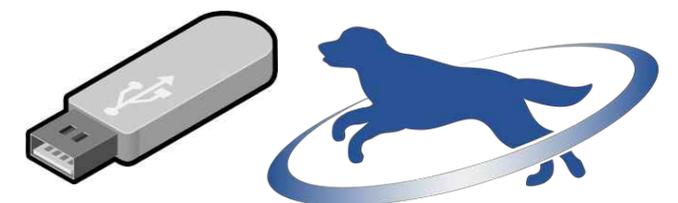
● **ゲノムを高速に検索可能**
　350種の生物種に対応
● **ミスマッチや挿入欠失を
含む短い配列の検索に強い**
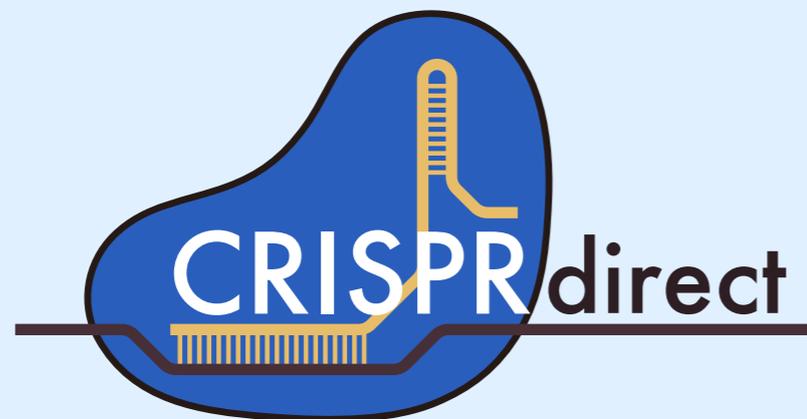
● **CRISPRガイドRNA設計**
　PAMに隣接する20塩基の選択
● **オフターゲット検索**
powered by **GGGenome**

CRISPR-Cas9 のガイド RNA 設計

PAMに隣接する配列の選択

ガイドRNA
設計支援ツール
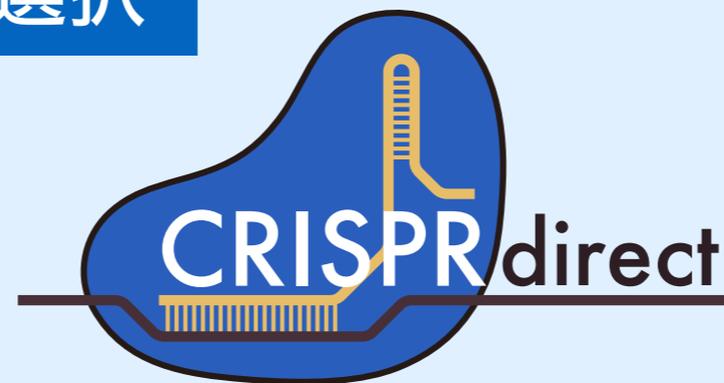
CRISPRdirect

オフターゲット配列検索

GGGenome

高速で正確な塩基配列検索ツール

GAAG**G**CAGT**C**CAGT**G**AAATG
GAAG**C**CAGT**A**CAGA**G**AAATG

wordが完全一致せず
BLASTで検索できない

CRISPRdirect によるガイド RNA 設計

http://crispr.dbcls.jp/

CRISPRdirect — Rational design of CRISPR/Cas target. Help
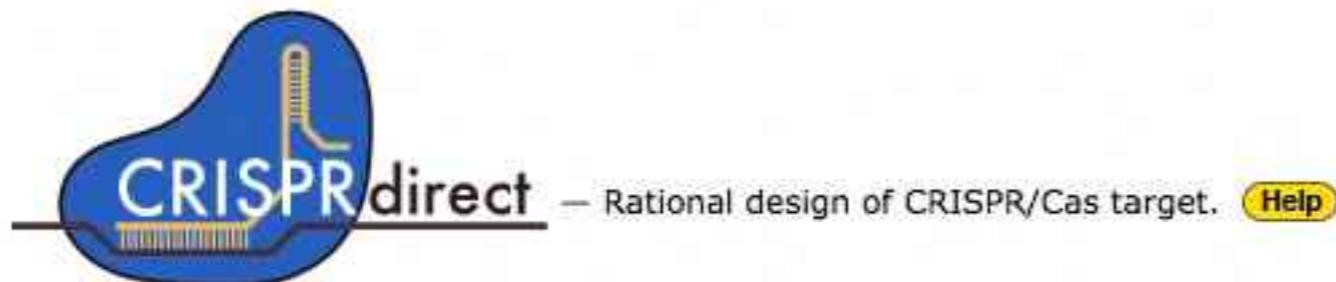
Enter an accession number (e.g. NM_006299) or genome location (e.g. hg19:chr7:

[retrieve sequence]

Accession番号

or Paste a nucleotide sequence:

```
agtgcacctccccgttcgcctcgctcgcgagctcgcgttactttacaccgccgccgccgagctctccagactccggaggaggaagcg
atcgttacacgtacgcctcgtcaagcagaagcagaacatctgaagaatggctgacgaggatattcaacctattgtgtgcgacaatg
gcactggaatggtcaaggcaggtttttgctggtgatgatgcaccaagggccgtcttccctagcattgtagggagaccacgtcacacc
ggtgtcatggttgggatgggccaaaaggatgcctatgtgggtgatgaagctcaggcaaaaaggggtatcctgactctaaagtaccc
aattgaacatggaattgtcaataactgggatgacatggagaaaatatggcaccacaccttctacaatgagcttcgtgttgcacctg
aagatcaccctgtattactaactgaagcccctctcaatcccaaagccaacagagagaagatgacacagataatgtttgagaccttc
aattgcccagcaatgtatgtcgcaatccaggctgttctatccttgt
```

または
塩基配列 を入力

or upload sequence file: [ファイルを選択] 選択されていません

PAM sequence requirement: NGG (e.g. NGG, NRG)

Specificity check: Human (Homo sapiens) genome, GRCh37/hg19 (Feb, 2009)

[design]

Whats' new:

- 2017-06-19 Added 8 species - List

DBCLS
Database Center
for Life Science

CRISPRdirect によるガイド RNA 設計

数文字ほど入力すると **生物種を検索** できる

オフターゲット検索のための **生物種** を選択

CRISPRdirect によるガイド RNA 設計

- Target sequences with TTTTs are also shown in gray. Avoid TTTTs in gRNA vectors with pol III promoter.

☐ show **highly specific** target only

Show [20 ▾] entries   Search: [   ]

position			target sequence	sequence information				number of target sites ❓		
start - end	+ −		20mer+PAM (total 23mer)	GC% of 20mer	Tm of 20mer	TTTT in 20mer	restriction sites	20mer +PAM	12mer +PAM	8mer +PAM
7 - 29	-		cct cccgttcgcctcgctcgcga [gRNA]	75.00 %	83.48 °C	-	NruI	1 [detail]	5 [detail]	370 [detail]
10 - 32	-		ccc gttcgcctcgctcgcgagct [gRNA]	70.00 %	81.73 °C	-	NruI	1 [detail]	1 [detail]	276 [detail]
11 - 33	-		ccg ttcgcctcgctcgcgagctc [gRNA]	70.00 %	81.09 °C	-	NruI SacI	1 [detail]	4 [detail]	911 [detail]
18 - 40	-		cct cgctcgcgagctcgcgttac [gRNA]	70.00 %	80.24 °C	-	NruI SacI	1 [detail]	4 [detail]	1072 [detail]
47 - 69	-		ccg ccgccgcgagctctccaga [gRNA]	75.00 %	84.25 °C	-	SacI	1 [detail]	305 [detail]	79033 [detail]
50 - 72	-		ccg ccgccgagctctccagactc [gRNA]	70.00 %	80.41 °C	-	SacI	1 [detail]	37 [detail]	3555 [detail]
53 - 75	+		ccgccgagctctccagactc cgg [gRNA]	70.00 %	80.41 °C	-	SacI	1 [detail]	3 [detail]	175 [detail]
53 - 75	-		ccg ccgagctctccagactccgg [gRNA]	70.00 %	80.27 °C	-	SacI	1 [detail]	15 [detail]	2679 [detail]
56 - 78	+		ccgagctctccagactccgg agg [gRNA]	70.00 %	80.27 °C	-	BspEI SacI	1 [detail]	4 [detail]	793 [detail]
56 - 78	-		ccg agctctccagactccggagg [gRNA]	65.00 %	79.68 °C	-	BspEI SacI	1 [detail]	1 [detail]	1295 [detail]
59 - 81	+		agctctccagactccggagg agg [gRNA]	65.00 %	79.68 °C	-	BspEI	1 [detail]	2 [detail]	608 [detail]
65 - 87	-		cca gactccggaggaggaagcga [gRNA]	65.00 %	78.93 °C	-	BspEI	1 [detail]	6 [detail]	375 [detail]
72 - 94	-		ccg gaggaggaagcgatcgttac [gRNA]	55.00 %	73.00 °C	-	BsiEI PvuI	1 [detail]	14 [detail]	3180 [detail]
102 - 124	-		cct cgtcaagcagaagcagaaca [gRNA]	50.00 %	71.33 °C	-		0 [detail]	3 [detail]	588 [detail]
114 - 136	+		gaagcagaacatctgaagaa tgg [gRNA]	40.00 %	65.99 °C	-		0 [detail]	7 [detail]	1117 [detail]
123 - 145	+		catctgaagaatggctgacg agg [gRNA]	50.00 %	69.80 °C	-		1 [detail]	2 [detail]	1388 [detail]
151 - 173	+		caacctattgtgtgcgacaa tgg [gRNA]	45.00 %	69.15 °C	-		1 [detail]	3 [detail]	303 [detail]
154 - 176	-		cct attgtgtgcgacaatggcac [gRNA]	50.00 %	72.27 °C	-		1 [detail]	1 [detail]	667 [detail]
157 - 179	+		attgtgtgcgacaatggcac tgg [gRNA]	50.00 %	72.27 °C	-		1 [detail]	2 [detail]	499 [detail]
162 - 184	+		gtgcgacaatggcactggaa tgg [gRNA]	55.00 %	74.69 °C	-		1 [detail]	6 [detail]	677 [detail]

Showing 1 to 20 of 71 entries   [First] [Previous] [1] [2] [3] [4] [Next] [Last]

Graphical View:

CRISPRdirect によるガイド RNA 設計

CRISPRdirect によるガイド RNA 設計

- Target sequences with TTTTs are also shown in gray. Avoid TTTTs in gRNA vectors with pol III promoter.

☐ show **highly specific** target only

Show 20 ⇕ entries   Search: [   ]

position			target sequence	sequence information				number of target sites ❓		
start ▲ - end ▽	+ ▲ − ▽		20mer+[PAM] (total 23mer)	GC% of 20mer	Tm of 20mer	TTTT in 20mer	restriction sites	20mer +PAM	12mer +PAM	8mer +PAM
7 - 29	-		[cct]cccgttcgcctcgctcgcga [gRNA]	75.00 %	83.48 °C	-	NruI	1 [detail]	5 [detail]	370 [detail]
10 - 32	-		[ccc]gttcgcctcgctcgcgagct [gRNA]	70.00 %	81.73 °C	-	NruI	1 [detail]	1 [detail]	276 [detail]
11 - 33	-		[ccg]ttcgcctcgctcgcgagctc [gRNA]	70.00 %	81.09 °C	-	NruI SacI	1 [detail]	4 [detail]	911 [detail]
18 - 40	-		[cct]cgctcgcgagctcgcgttac [gRNA]	70.00 %	80.24 °C	-	NruI SacI	1 [det...		
47 - 69	-		[ccg]ccgccgcgagctctccaga [gRNA]	75.00 %	84.25 °C	-	SacI			
50 - 72	-		[ccg]ccgccgagctctccagactc [gRNA]	70.00 %	80.41 °C	-	SacI	1 [det...		
53 - 75	+		ccgccgagctctccagactc[cgg] [gRNA]	70.00 %	80.41 °C	-	SacI	1 [det...		
53 - 75	-		[ccg]ccgagctctccagactccgg [gRNA]	70.00 %	80.27 °C	-	SacI	1 [det...		
56 - 78	+		ccgagctctccagactccgg[agg] [gRNA]	70.00 %	80.27 °C	-	BspEI SacI	1 [detail]	4 [detail]	793 [detail]
56 - 78	-		[ccg]agctctccagactccggagg [gRNA]	65.00 %	79.68 °C	-	BspEI SacI	1 [detail]	1 [detail]	1295 [detail]
59 - 81	+		agctctccagactccggagg[agg] [gRNA]	65.00 %	79.68 °C	-	BspEI	1 [detail]	2 [detail]	608 [detail]
65 - 87	-		[cca]gactccggaggaggaagcga [gRNA]	65.00 %	78.93 °C	-	BspEI	1 [detail]	6 [detail]	375 [detail]
72 - 94	-		[ccg]gaggaggaagcgatcgttac [gRNA]	55.00 %	73.00 °C	-	BsiEI PvuI	1 [detail]	14 [detail]	3180 [detail]
102 - 124	-		[cct]cgtcaagcagaagcagaaca [gRNA]	50.00 %	71.33 °C	-		0 [detail]	3 [detail]	588 [detail]
114 - 136	+		gaagcagaacatctgaagaa[tgg] [gRNA]	40.00 %	65.99 °C	-		0 [detail]	7 [detail]	1117 [detail]
123 - 145	+		catctgaagaatggctgacg[agg] [gRNA]	50.00 %	69.80 °C	-		1 [detail]	2 [detail]	1388 [detail]
151 - 173	+		caacctattgtgtgcgacaa[tgg] [gRNA]	45.00 %	69.15 °C	-		1 [detail]	3 [detail]	303 [detail]
154 - 176	-		[cct]attgtgtgcgacaatggcac [gRNA]	50.00 %	72.27 °C	-		1 [detail]	1 [detail]	667 [detail]
157 - 179	+		attgtgtgcgacaatggcac[tgg] [gRNA]	50.00 %	72.27 °C	-		1 [detail]	2 [detail]	499 [detail]
162 - 184	+		gtgcgacaatggcactggaa[tgg] [gRNA]	55.00 %	74.69 °C	-		1 [detail]	6 [detail]	677 [detail]

Showing 1 to 20 of 71 entries

[First] [Previous] [1] [2] [3] [4] [Next] [Last]

> 配列に関する情報
> **制限酵素サイト** も

Graphical View:

CRISPRdirect によるガイド RNA 設計

CRISPRdirect によるガイド RNA 設計

CRISPRdirect によるガイド RNA 設計

- Target sequences with TTTTs are also shown in gray. Avoid TTTTs in gRNA vectors with pol III promoter.

☐ show **highly specific** target only

Show [20] entries   Search: [   ]

position			target sequence		sequence information				number of target sites ❓		
start ▲ - end	+/−		20mer+PAM (total 23mer)		GC% of 20mer	Tm of 20mer	TTTT in 20mer	restriction sites	20mer +PAM	2mer +PAM	8mer +PAM
7 - 29	-	cct	cccgttcgcctcgctcgcga [gRNA]		75.00 %	83.48 °C	-	NruI	1 [detail]	[detail]	370 [detail]
10 - 32	-	ccc	gttcgcctcgctcgcgagct [gRNA]		70.00 %	81.73 °C	-	NruI	1 [detail]	1 [detail]	276 [detail]
11 - 33	-	ccg	ttcgcctcgctcgcgagctc [gRNA]		70.00 %	81.09 °C	-	NruI SacI	1 [detail]	4 [detail]	911 [detail]
18 - 40	-	cct	cgctcgcgagctcgcgttac [gRNA]		70.00 %	80.24 °C	-	NruI SacI	1 [detail]	4 [detail]	1072 [detail]
47 - 69	-	ccg	ccgccgcgagctctccaga [gRNA]		75.00 %	84.25 °C	-	SacI	1 [detail]	305 [detail]	79033 [detail]
50 - 72	-	ccg	ccgccgagctctccagactc [gRNA]		70.00 %	80.41 °C	-	SacI	1 [detail]	37 [detail]	3555 [detail]
53 - 75	+	ccgccgagctctccagactc	cgg [gRNA]		70.00 %	80.41 °C	-	SacI	1 [detail]	3 [detail]	175 [detail]
53 - 75	-	ccg	ccgagctctccagactccgg [gRNA]		70.00 %	80.27 °C	-	SacI	1 [detail]	15 [detail]	2679 [detail]
56 - 78	+	ccgagctctccagactccgg	agg [gRNA]		70.00 %	80.27 °C	-	BspEI SacI	1 [detail]	4 [detail]	793 [detail]
56 - 78	-	ccg	agctctccagactccggagg [gRNA]		65.00 %	79.68 °C	-	BspEI SacI	1 [detail]	1 [detail]	1295 [detail]
59 - 81	+	agctctccagactccggagg	agg [gRNA]		65.00 %	79.68 °C	-	BspEI	1 [detail]	2 [detail]	608 [detail]
65 - 87	-	cca	gactccggaggaggaagcga [gRNA]		65.00 %	78.93 °C	-	BspEI	1 [detail]	6 [detail]	375 [detail]
72 - 94	-	ccg	gaggaggaagcgatcgttac [gRNA]		55.00 %	73.00 °C	-	BsiEI PvuI	1 [detail]	14 [detail]	3180 [detail]
102 - 124	-	cct	cgtcaagcagaagcagaaca [gRNA]		50.00 %	71.33 °C	-		0 [detail]	3 [detail]	588 [detail]
114 - 136	+	gaagcagaacatctgaagaa	tgg [gRNA]		40.00 %	65.99 °C	-		0 [detail]	7 [detail]	1117 [detail]
123 - 145	+	catctgaagaatggctgacg	agg [gRNA]		50.00 %	69.80 °C	-		1 [detail]	2 [detail]	1388 [detail]
151 - 173	+	caacctattgtgtgcgacaa	tgg [gRNA]		45.00 %	69.15 °C	-		1 [detail]	3 [detail]	303 [detail]
154 - 176	-	cct	attgtgtgcgacaatggcac [gRNA]		50.00 %	72.27 °C	-		1 [detail]	1 [detail]	667 [detail]
157 - 179	+	attgtgtgcgacaatggcac	tgg [gRNA]		50.00 %	72.27 °C	-		1 [detail]	2 [detail]	499 [detail]
162 - 184	+	gtgcgacaatggcactggaa	tgg [gRNA]		55.00 %	74.69 °C	-		1 [detail]	6 [detail]	677 [detail]

Showing 1 to 20 of 71 entries

[First] [Previous] [1] [2] [3] [4] [Next] [Last]

Graphical View:

CRISPRdirect によるガイド RNA 設計

CRISPRdirect によるガイド RNA 設計

151 - 173	+	caacctattgtgtgcgacaa`tgg` [gRNA]	45.00 %	69.15 °C	-		1 [detail]	3 [detail]	303 [detail]
154 - 176	-	`cct`attgtgtgcgacaatggcac [gRNA]	50.00 %	72.27 °C	-		1 [detail]	1 [detail]	667 [detail]
157 - 179	+	attgtgtgcgacaatggcac`tgg` [gRNA]	50.00 %	72.27 °C	-		1 [detail]	2 [detail]	499 [detail]
162 - 184	+	gtgcgacaatggcactggaa`tgg` [gRNA]	55.00 %	74.69 °C	-		1 [detail]	6 [detail]	677 [detail]

Showing 1 to 20 of 71 entries

First Previous **1** 2 3 4 Next Last

Graphical View:

```
          10        20        30        40        50        60        70        80        90       100
agtgcacctcccgttcgcctcgctcgcgagctcgcgttactttacaccgccgccgccgagctctccagactccggaggaggaagcgatcgttacacgtac
                                            >   >   >
             <       <<        <                       <   <   <   >       <           <
         110       120       130       140       150       160       170       180       190       200
gcctcgtcaagcagaagcagaacatctgaagaatggctgacgaggatattcaacctattgtgtgcgacaatggcactggaatggtcaaggcaggttttgc
              >        >                        >       >       >   >        >            >>
         <                                                                   <
         210       220       230       240       250       260       270       280       290       300
tggtgatgatgcaccaagggccgtcttccctagcattgtagggagaccacgtcacaccggtgtcatggttgggatgggccaaaaggatgcctatgtgggt
              >>             >         >   >>    >>        >        >>              >         >>
            <       <        <       <<                  <           <
         310       320       330       340       350       360       370       380       390       400
gatgaagctcaggcaaaaaggggtatcctgactctaaagtacccaattgaacatggaattgtcaataactgggatgacatggagaaaatatggcaccaca
>
<          <                  >        >>        >           <<
         410       420       430       440       450       460       470       480       490       500
ccttctacaatgagcttcgtgttgcacctgaagatcaccctgtattactaactgaagcccctctcaatcccaaagccaacagagagaagatgacacagat
            <       <                            <           <<            <<<           <<        <
         510       520       530       540       550       560
catgtttgagaccttcaattgcccagcaatgtatgtcgcaatccaggctgttctatccttgt
              >
                             <          <<
```

Data Export:

- Tab-delimited text: Open in new window | Download
- JSON format: Open in new window | Download

Tab-delimited text can be copy-pasted into spreadsheet softwares (e.g. Excel) or text editors.

[CRISPRdirect | 2017-06-28 07:12:12]

CRISPRdirect によるガイド RNA 設計

```
          <       <                      <          <<                        <<<        <<       <
      510      520      530      540      550      560
catgtttgagaccttcaattgcccagcaatgtatgtcgcaatccaggctgttctatccttgt
                    >
                          <              <<
```

Data Export:

- Tab-delimited text: Open in new window | Download
- JSON format: Open in new window | Download

Tab-delimited text can be copy-pasted into spreadsheet softwares (e.g. Excel) or text editors.

```
# [ CRISPRdirect | 2017-06-28 07:12:12 ]
# sequence_name:
# pam_sequence: NGG
# specificity_check:    Rice (Oryza sativa ssp. japonica) genome, Os-Nipponbare-Reference-
IRGSP-1.0 (Oct, 2011)
# start end   strand  sequence          GC      Tm      TTTT    RE_sites        hit_20mer
hit_12mer        hit_8mer
#
7       29      -       cctcccgttcgcctcgctcgcgga 75.00   83.48   0       NruI    1       5
370
10      32      -       cccgttcgcctcgctcgcgagct  70.00   81.73   0       NruI    1       1
276
11      33      -       ccgttcgcctcgctcgcgagctc  70.00   81.09   0       NruI,SacI       1
4       911
18      40      -       cctcgctcgcgagctcgcgttac  70.00   80.24   0       NruI,SacI       1
4       1072
47      69      -       ccgccgccgccgagctctccaga  75.00   84.25   0       SacI    1       305
79033
50      72      -       ccgccgccgagctctccagactc  70.00   80.41   0       SacI    1       37
3555
53      75      +       ccgaccgagctctccagactccgg 70.00   80.41   0       SacI    1       3
175
53      75      -       ccgaccgagctctccagactccgg 70.00   80.27   0       SacI    1       15
2679
56      78      +       ccgagctctccagactccggagg  70.00   80.27   0       BspEI,SacI      1
4       793
56      78      -       ccgagctctccagactccggagg  65.00   79.68   0       BspEI,SacI      1
1       1295
59      81      +       agctctccagactccggaggagg  65.00   79.68   0       BspEI   1       2
```

CRISPRdirect によるガイド RNA 設計

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	# [CRISPRdirect | 2017-06-28 12:37:35]												
2	# sequence_name:												
3	# pam_sequer	NGG											
4	# specificity_	Rice (Oryza sativa ssp. japonica) genome, Os-Nipponbare-Reference-IRGSP-1.0 (Oct, 2011)											
5	# start	end	strand	sequence	GC	Tm	TTTT	RE_sites	hit_20mer	hit_12mer	hit_8mer		
6	#												
7	7	29	-	cctcccgttcgcctcgctcgcga	75	83.48	0	NruI	1	5	370		
8	10	32	-	cccgttcgcctcgctcgcgagct	70	81.73	0	NruI	1	1	276		
9	11	33	-	ccgttcgcctcgctcgcgagctc	70	81.09	0	NruI,SacI	1	4	911		
10	18	40	-	cctcgctcgcgagctcgcgttac	70	80.24	0	NruI,SacI	1	4	1072		
11	47	69	-	ccgccgccgccgagctctccaga	75	84.25	0	SacI	1	305	79033		
12	50	72	-	ccgccgccgagctctccagactc	70	80.41	0	SacI	1	37	3555		
13	53	75	+	ccgccgagctctccagactccgg	70	80.41	0	SacI	1	3	175		
14	53	75	-	ccgccgagctctccagactccgg	70	80.27	0	SacI	1	15	2679		
15	56	78	+	ccgagctctccagactccggagg	70	80.27	0	BspEI,SacI	1	4	793		
16	56	78	-	ccgagctctccagactccggagg	65	79.68	0	BspEI,SacI	1	1	1295		
17	59	81	+	agctctccagactccggaggagg	65	79.68	0	BspEI	1	2	608		
18	65	87	-	ccagactccggaggaggaagcga	65	78.93	0	BspEI	1	6	375		
19	72	94	-	ccggaggaggaagcgatcgttac	55	73	0	BsiEI,PvuI	1	14	3180		
20	102	124	-	cctcgtcaagcagaagcagaaca	50	71.33	0		0	3	588		
21	114	136	+	gaagcagaacatctgaagaatgg	40	65.99	0		0	7	1117		
22	123	145	+	catctgaagaatggctgacgagg	50	69.8	0		1	2	1388		
23	151	173	+	caacctattgtgtgcgacaatgg	45	69.15	0		1	3	303		
24	154	176	-	cctattgtgtgcgacaatggcac	50	72.27	0		1	1	667		
25	157	179	+	attgtgtgcgacaatggcactgg	50	72.27	0		1	2	499		
26	162	184	+	gtgcgacaatggcactggaatgg	55	74.69	0		1	6	677		
27	168	190	+	caatggcactggaatggtcaagg	50	72.31	0		5	8	545		
28	172	194	+	ggcactggaatggtcaaggcagg	60	77.26	0		0	2	447		
29	181	203	+	atggtcaaggcaggttttgctgg	50	73.64	1		0	1	1511		
30	197	219	+	ttgctggtgatgatgcaccaagg	50	73.43	0		1	4	553		
31	198	220	+	tgctggtgatgatgcaccaaggg	50	73.43	0		1	9	616		
32	214	236	-	ccaagggccgtcttccctagcat	60	80.62	0		1	1	121		
33	220	242	+	gccgtcttccctagcattgtagg	55	76.01	0		1	2	796		
34	221	243	+	ccgtcttccctagcattgtaggg	50	72.87	0		1	3	538		
35	221	243	-	ccgtcttccctagcattgtaggg	50	73.65	0		1	6	1777		

CRISPRdirect まとめ

- **PAMに隣接し、特異性の高い20塩基を選択**

  ゲノムのほかの領域とは塩基配列が一致せず、標的とする部位とだけ完全一致する配列を選択。特にPAM近傍のseed (12塩基または8塩基) の特異性を重視。

- **大量設計にも対応**

  ヘルプページにてスクリプトを公開

- **多くの生物種に対応**

  350種の生物種に対応 (GGGenomeと同じ)

- **無償で自由に利用可能**

  商用利用であっても無償。

  利用記録は当センターにおいて機密扱い。

生物種の追加について

ゲノムが公開されていれば対応します。
ゲノム配列の所在、**生物種に関する情報**
をご連絡ください（項目はヘルプページ
の一覧を参照）

検索可能なデータベース一覧(ゲノム)

Show 25 entries   Search: plant

Database	Source	Group	Species	生物種	Latin name	Assembly information
ASM34733v1	EnsemblPlants	Plant	Tausch's goatgrass	タルホコムギ	Aegilops tauschii	ASM34733v1 (Dec, 2013)
AMTR1.0	EnsemblPlants	Plant	A. trichopoda	アムボレラ・トリコポダ	Amborella trichopoda	AMTR1.0 (Jan, 2014)
Araly_v.1.0	EnsemblPlants	Plant	Lyre-leaved rock-cress	シロイヌナズナ属	Arabidopsis lyrata	v.1.0 (Dec, 2008)
TAIR10_en	EnsemblPlants	Plant	Thale cress	シロイヌナズナ	Arabidopsis thaliana	TAIR10 (Sep, 2010)
Bradi_v1.0	EnsemblPlants	Plant	Purple false brome	セイヨウヤマカモジ, ミナトカモジグサ	Brachypodium distachyon	v1.0 (Jan, 2009)
Braol_v2.1	EnsemblPlants	Plant	Wild cabbage	ヤセイカンラン, ワイルドキャベツ	Brassica oleracea	v2.1

ご清聴ありがとうございました