

目次

序	3
執筆者一覧	6

概　論 CRISPR が一新した現代の遺伝子同定

遊佐宏介

8

第 1 章 基本フローと各フローにおける検討ポイント

1. CRISPR スクリーニングで最も重要な「数」を理解する

遊佐宏介, 樽本雄介 13

2. ゲノム編集手法～種類と選び方

佐久間哲史, 永友大暉 23

3. Cas9 発現マテリアルの準備

樽本雄介, 遊佐宏介 31

4. gRNA ライブラリ：既製品と自作

樽本雄介, 遊佐宏介 39

5. 変異細胞ライブラリの作製

遊佐宏介, 樽本雄介 50

6. 表現型アッセイ

遊佐宏介, 樽本雄介 56

7. NGS サンプル調製とシークエンス

遊佐宏介, 樽本雄介 64

8. 統計解析によるヒット遺伝子の同定

石川雅人 71

第 2 章 実践 基本プロトコール

1. レンチウイルスの基本操作

—ウイルス作製と細胞への感染

遊佐宏介 79

2. Cas9 レポーターアッセイ

遊佐宏介 86

3. gRNA ライブラリの複製

遊佐宏介 90

4. フォーカスライブラリ自作と既存ライブラリ載せ替え

遊佐宏介 94

5. 変異細胞ライブラリの作製と Fitness スクリーニング

遊佐宏介 104

6. 選択圧によるスクリーニング	遊佐宏介..... 109
7. ソーターを使ったスクリーニング	遊佐宏介..... 116
8. NGS ライブラリ作製	遊佐宏介..... 122
9. MAGeCK を用いたgRNAカウントデータの解析	樽本雄介, 遊佐宏介..... 128

第 3 章 実践 応用プロトコール

1. 抗がん剤耐性・感受性因子の探索	仙波雄一郎, 前田高宏..... 138
2. ウィルスの増殖にかかわる宿主遺伝子の探索	牧野晶子..... 151
3. がん免疫療法抵抗性にかかわる遺伝子の探索	伊藤能永..... 162
4. ATAC-seq によるクロマチン・アクセシビリティ制御因子の探索	宮成悠介..... 171
5. O-ClickFC を用いた脂質表現型スクリーニング	土谷正樹, 浜地 格..... 181
6. <i>in vivo</i> スクリーニングによる腫瘍免疫抑制因子の探索	乾 緋彩, 合山 進..... 192
7. 精子機能を標的とする <i>in vivo</i> sgRNA ライブラリスクリーニングの方法論	野口勇貴, 鈴木 淳..... 206

第 4 章 発展的な活用事例

1. スキャニングとしての利用：タンパク質機能ドメインの解析	星居孝之..... 224
2. 遺伝子間の機能的相互作用を狙った CRISPR スクリーニング	吉永正憲, 竹内 理..... 232
3. アレイ型 CRISPR スクリーニング	福田康二..... 240
4. DepMap データを用いたがん治療標的因子の探索	渋江 司..... 248
5. シングルセル解析と CRISPR スクリーニングの融合	樽本雄介, 遊佐宏介..... 255

索引 262