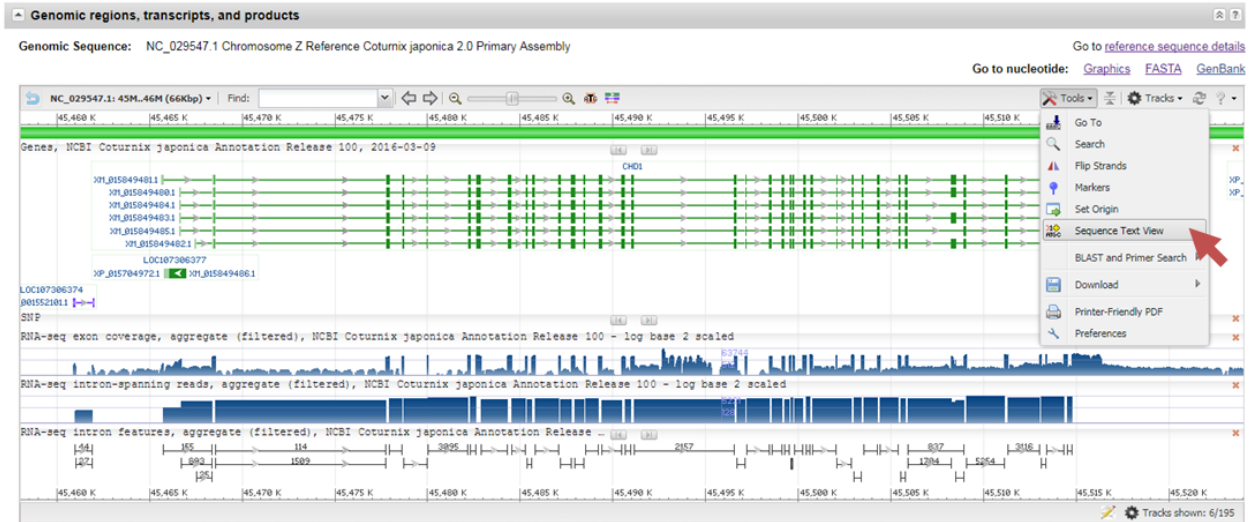


## CHD1 遺伝子配列の取得

1. **NCBI** (National Center for Biotechnology Information) のホームページにアクセスする。  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
2. 検索ボックスに「**CHD1 Quail**」と入力する。
3. 検索ボックス横のプルダウンメニューから「**Gene**」を選択し、「**Search**」をクリックする。
4. 検索結果が出てくる。「**Tools**」から「**Sequence Text View**」を選ぶ。



5. 配列中の exon がピンクに表示され、対応するアミノ酸が青字で表示されている。Intron は緑で表示される。



6. ウィンドウ左上の「**Prev Page**」を押して配列を上流にさかのぼり、開始コドン (ATG; M) を見つける。

7. 開始コドンから始まるのが「exon 1」である。Exon 1 の次が intron 1 で、その次の exon は「exon 2」である。
8. 「**exon 16**」(CATTGATA...) と、その近くにある短い「**exon 17**」(AGACTTGAT...) を見つける。
9. Word ファイルに、exon 16 と exon 17 の配列をペーストし、適当な名前を付けて保存する。

**Exon 16: (5'-3')**

```
CATTGATACGTAGCAGCGGGAACTGATCCTTCTTGACAAGTTACTGATTCGTCTGCGAGAACGT  
GGCAACAGAGTTCTGATTTTCTCTCAGATGGTGAGGATGCTGGACATCCTAGCAGAATATCTAAAG  
TATCGCCAGTTTCCCTTCCAG
```

**Exon 17: (5'-3')**

```
AGACTTGATGGATCAATAAAAGGGGAACTGAGGAAACAAGCACTGGATCATTTCATGCAGAAGG  
ATCAGAG
```

10. 取得した Exon 17 の配列はセンス鎖 (5'-3') である。  
Exon 17 のアンチセンス鎖 (5'-3') の配列を Word ファイル、および最後のページに記入しなさい。

## CHD1 プライマーの設計

1. **OligoAnalyzer** のホームページにアクセスする。  
<http://sg.idtdna.com/calc/analyzer>
2. Exon 16 から 20 塩基前後の適当な配列をコピーし、OligoAnalyzer の「**Sequence**」に入力する。
3. 「**Analyze**」をクリックすると、入力した配列の情報が出力される。

RESULTS	
SEQUENCE	5'- TTT GAT GGT AGT AGC CAA GA -3'
COMPLEMENT	5'- TCT TGG CTA CTA CCA TCA AA -3'
LENGTH	20
GC CONTENT	40 %
MELT TEMP	50.8 °C
MOLECULAR WEIGHT	6196.1 g/mole
EXTINCTION COEFFICIENT	204700 L/(mole cm)
nmole/OD <sub>260</sub>	4.89
µg/OD <sub>260</sub>	30.27

- COMPLEMENT: 入力した配列に対して相補的な配列。
  - LENGTH: 配列の長さ。
  - GC CONTENT: GC 含有量。配列中の G または C の割合。
  - MELT TEMP: **Tm 値**ともいう。二本鎖 DNA の 50%が解離して一本鎖 DNA になる温度のこと。
4. 以下の条件を満たすプライマー配列を、Exon 16 のセンス鎖、および Exon 17 のアンチセンス鎖から見つけなさい。
    - LENGTH: 20~24
    - GC CONTENT: 40~60% (できれば 45~55%)
    - MELT TEMP: 55~65°C (可能な限り、2つのプライマー配列で同じにする)
  5. 設計したプライマーによって増幅される PCR 産物の長さを計算しなさい。  
 なお、Z 染色体の intron 16 の長さは 445 base、W 染色体の intron 16 の長さは 277 base である。
  6. 設計したプライマーは実際に合成します。グループの中で、誰のプライマーを合成するか決めなさい。
  7. 次のページに、設計したプライマーの情報を記入して提出すること (全員)。

学籍番号： \_\_\_\_\_

氏名： \_\_\_\_\_

Exon 17 のアンチセンス鎖の配列 (5'-3')

\_\_\_\_\_

Exon 16 センス鎖のプライマー配列 (5'-3'):

\_\_\_\_\_

Exon 17 アンチセンス鎖のプライマー配列 (5'-3'):

\_\_\_\_\_

	Exon 16 sense	Exon 17 antisense
プライマーの長さ		
GC 含有量 (%)		
Tm 値 (°C)		
Z 染色体の PCR 産物の長さ (base)		
W 染色体の PCR 産物の長さ (base)		

このプライマーを： (○で囲む)

合成する

合成しない