

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 特 許 公 報 (B 2)

(11)特許番号

第2664646号

(45)発行日 平成9年(1997)10月15日

(24)登録日 平成9年(1997)6月20日

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 Q 1/68	Z N A	7823-4B	C 1 2 Q 1/68	Z N A Z

請求項の数4(全7頁)

(21)出願番号	特願平7-17784	(73)特許権者	595018411 陰山 聡一 北海道上川郡新得町字新得西4線36番地
(22)出願日	平成7年(1995)2月6日	(72)発明者	陰山 聡一 北海道上川郡新得町字新得西4線36番地
(65)公開番号	特開平8-205895	(74)代理人	弁理士 湯浅 恭三 (外6名)
(43)公開日	平成8年(1996)8月13日	審査官	平田 和男

(54)【発明の名称】 牛胚の性別別に用いるプライマー

1

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】 牛胚性別のための複製連鎖反応 (P C R) に用いるプライマーを製造する方法であって、配列番号1に示す雄特異的塩基配列から以下の条件を満たす2つの領域を選択し：

- 1) 各領域の長さが15 - 30塩基であること；
- 2) 各領域中のG + Cの割合が40 - 60%であること；
- 3) 各領域中のA、T、GおよびCの分布が部分的に大きく偏らないこと；
- 4) 各領域間の距離が100 - 1000塩基であること；
- 5) 各領域自身の中または2つの領域間に相補的な配列部分が存在しないこと；そして
上記領域と同じ塩基配列若しくは上記領域に相補的な塩

2

基配列を有する一本鎖DNAを製造し、さらに必要であれば上記雄特異的配列に対する結合特異性を失わないように修飾した上記一本鎖DNAを製造する、ことからなる方法。

【請求項2】 請求項1の方法により製造された牛胚の性別のためのPCRに用いるプライマー。

【請求項3】 配列番号1の塩基番号522 - 549、770 - 792、770 - 792、919 - 947、6 - 19若しくは506 - 529の領域の塩基配列またはこれらに相補的な塩基配列中の少なくとも15塩基の長さの部分を含んでなる、牛胚の性別のためのPCRに用いるプライマー。

【請求項4】 牛胚からDNA試料を調製し、該試料を鋳型として請求項2または3に記載のプライマー2種類を用いてPCRを行い、プライマーに挟まれた領域とほ

ば同じ長さの増幅産物を与える胚を雄、それ以外の胚を雌とする、牛胚の性別判別方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、牛胚の性別判別に用いる新規プライマーおよびその製造方法に関する。より具体的には、本発明は牛の雄に特異的な遺伝子の情報に基づいて牛胚の性別判別のためのPCRに使用する新規プライマーを製造する方法に関する。本発明はさらにまた、該新規プライマーを用いて牛胚の性別判別を行う方法に関する。

【0002】

【従来の技術】牛の性別を胚、即ち、受精卵の初期段階で判別し必要な性の胚のみを選択して育成することは、畜産業において重要である。

【0003】牛の性別を出生前の早い段階で判別するために、複製連鎖反応(PCR)を利用した方法が実用化されつつある。PCRは2種類の一本鎖DNAをプライマーとして用い、これらのプライマーが挟んで結合(アニーリング)したDNAの特定の領域をDNAポリメラーゼを使って増幅させる方法である(例えば、Molecular Cloning、J. Sambrook et al.参照)。現在知られているPCRを用いた牛の性別判別方法は、雄または雌のいずれか一方に特異的な遺伝子配列と同一の配列を有する一本鎖DNAを合成し、かかる合成一本鎖DNAのうち2種類を1組のプライマーとして採用し、牛胚から得られたDNA試料を鋳型としてPCRを行うものである。上記特異的配列を有する性の牛胚では鋳型DNAが増幅されて検出が可能となるが、別の性の場合は増幅されず検出されない。

【0004】このように、PCRを利用した性別判別方法は微量の鋳型を何倍にも増幅させて検出するため、目的のDNA領域のみを増幅させるためには、アニーリングの温度、反応のサイクル数、プライマーの種類等の各条件を正確に定めることが必要となる。例えば、プライマーの種類によっては目的領域以外の配列にわずかでもアニーリングしてしまうと増幅により予想外の産物が生じてしまうので、プライマーの選定は特に重要である。にもかかわらず、現在、牛胚の性別判別用プライマーとしては、「XYセクター」(伊藤ハム、オーストラリア特許第29818/92号)等が知られているのみである。そこで、より精度の高い判別を行うためにも、新たなプライマーの開発が必要とされている。

【0005】特に、PCRでの増幅用に受精卵から採取できる細胞試料は非常に微量であるため、例えば、雄特異的なDNAにアニーリングするプライマーのみでは、期待した増幅が認められなかった場合に、雌と判定すべきなのか、細胞試料を入れ損なった等の操作ミスなのかを確実に知ることができない。そのため、実際に性別判別を行う場合、雄特異的なDNA断片とは別に雄雌共通の

DNA断片が増幅されるようなプライマーも用意し、2組のプライマーを同時に用いてPCRが行われている。

【0006】しかしながら、PCRにおけるDNA分子の挙動は予測不可能な部分も多く、特にプライマーを複数組用いる場合は、増幅の効率が1組の場合に比べて悪くなったり、予想外の増幅産物ができてしまうことがある。従って、1組のプライマーで性別の判定と操作ミスのチェックが同時にできるようなものが望まれる。

【0007】

10 【発明が解決しようとする課題】本発明は、牛胚の性別判別のためのPCRに用いる新規プライマーを提供することを目的とする。

【0008】本発明は、また、牛胚の性別判別のためのPCRに用いる新規プライマーの製造方法を提供することを目的とする。

【0009】本発明は、その一態様において、性別の判定と操作ミスのチェックをただ1組のプライマーを用いて行うことができる新規プライマーを提供することを目的とする。

20 【0010】本発明は、さらに、新規プライマーを用いて牛胚の性別判別を行う方法を提供することを目的とする。

【0011】

【課題を解決するための手段】

用語の定義

本明細書において下記の用語は特に示さない限り以下の意味で用いる。

【0012】牛胚：牛受精卵

30 PCR：複製連鎖反応法(polymerase chain reaction)。2種類の一本鎖DNAをプライマーとして用い、試料中のDNAに特異的に結合(アニーリング)させ、DNAポリメラーゼを使ってアニーリング部位に挟まれたDNAの特定の領域を増幅させる反応方法である。反応温度を適宜変化させて、アニーリング、ポリメラーゼ反応、反応生成物の熱変性からなるサイクルを繰り返すことにより、DNAの特定領域を約 10^7 倍まで増幅することができる。

40 【0013】プライマー：PCRによってDNAを増幅させる際に使われるDNA断片。PCRでは増幅させたDNA領域の両端の配列と相補的な2種類のプライマーが使用される。

【0014】相補的塩基配列：互いに塩基対(GとCまたはAとG)を形成して結合(アニーリング)しうる核酸の塩基配列をいう。例えば、二本鎖DNAのおおの鎖は互いに相補的な塩基配列からなり、塩基対合を行っている。

【0015】新規プライマーの作製

50 本発明の新規プライマーは配列番号1に示す1542塩基対からなる雄特異的配列(以下、単に「雄特異的配列」というときはこの配列を意味する。)に基づいて製

造できる。雄特異的配列は後述する実施例 A に記載された方法によって雄牛の白血球 DNA から本発明者が単離した雄牛に特異的な新規塩基配列である。本発明は、この新規配列が雄牛に特異的で雌牛には存在しないことを利用する。即ち、本発明のプライマーは雄特異的配列から以下の条件を満たすように 2 つ選定することができる。

【0016】1) プライマーの長さが 15 - 30 塩基対、好ましくは、20 - 25 塩基対であること；
2) プライマー中の G (グアニン) + C (シトシン) の割合が 40 - 60 %、好ましくは 45 - 55 %、より好ましくは約 50 % であること；
3) プライマーの配列に含まれる A (アデニン)、T (チミン)、G (グアニン)、C (シトシン) の分布が部分的に偏らないこと、例えば、配列番号 1 の塩基番号 141 - 190 のように GT が繰り返し分布するような領域は特異性が低いと考えられるのでプライマーとして*

プライマー A

センスプライマー-A1 (522-549) : CCATGGACTGTGCGCCTATCAGGCTCCTC (配列番号 2)

アンチセンスプライマー-A2 (770-792) : CTCACATCCTCTGCAGCACTTG (配列番号 3)

プライマー B

センスプライマー-B1 (770-792) : CAAGTGCTGCAGAGGATGTGGAG (配列番号 4)

アンチセンスプライマー-B2 (919-947) : GAGTGAGATTTCTGGATCATATGGCTACT (配列番号 5)

プライマー C

センスプライマー-C1 (6-19) : CCATGATAGTTCAGAGTTAGGAC (配列番号 6)

アンチセンスプライマー-C2 (506-529) : GTCCATGGGGTCGCAAGAGTCGG (配列番号 7)

* 各プライマーのかっこ内の数字は雄特異的塩基配列の対応する領域における塩基番号を示す。

【0020】現在判明している最も好ましいプライマーの組は B である。プライマー B の組み合わせを用いて PCR を行った場合、後述するように予想される 178 塩基対のバンドが雄特異的にあらわれるだけでなく、これとは別のより短いバンド (約 150 塩基対) が雄雌共通に生じる。従って、このプライマーの組み合わせを用いることにより、従来の方法のように 2 組のプライマーを用いなくても 1 組のプライマーのみで雌雄の判別と操作ミスのチェックができるので都合がよい。

【0021】しかしながら、本発明のプライマーは上述した組み合わせ A - C に限られない。即ち、プライマー A 1 から C 2 に基づいて当業者は容易に以下のような改変を考えることができる。

【0022】1) プライマー A 1 から C 2 の 6 種類のプライマー間で、上述した選定条件を満たすものであれば A - C 以外の組み合わせも可能である。例えば、プライマー A 1 と B 2 の組み合わせ、プライマー C 1 と A 2 の組み合わせ等が考えられる。

【0023】2) さらに、各プライマーに相補的で逆向きの配列もプライマーとして使用可能である。

【0024】3) さらに、プライマー A 1 から C 2 に基づき、これらに塩基の削除、付加、変更等により修飾し

* 採用できない；

4) 選定される 2 つのプライマーに対応する雄特異的配列上の領域間の距離が 100 - 1000 塩基、好ましくは、150 - 500 塩基、より好ましくは 150 - 300 であること；および

5) 各プライマー自身の内部または 2 つのプライマー間に相補的な配列部分が存在しないこと。

【0017】プライマーの配列が選定されれば市販の DNA 合成機 (例えば、PERKINELMER の Model 391-04) により慣用された方法により、プライマーとなる一本鎖 DNA を合成できる。

【0018】上記 1) - 5) の条件を満たす好ましいプライマーの組の例を表 1 に示す。これらのプライマーの雄特異的配列における対応する領域を示したのが図 1 である。

【0019】

【表 1】

たものも、雄の DNA に特異的にハイブリダイズする性質を失わないものは PCR のプライマーとして採用しうる。例えば、プライマーの長さは約 15 塩基以上のものであれば PCR に使用できるので、プライマー A 1 から C 2 の配列の一部の配列なるより短いプライマーも使用できる。また、対立遺伝子に関する多型性 (polymorphism) により、雄特異的配列においてプライマー A 1 から C 2 に対応する領域の配列が変異している場合には、変異に対応したプライマーを採用することもできる。

【0025】5) さらにまた、雄特異的配列においてプライマー A 1 から C 3 を選定した箇所から、5' 側または 3' 側に例えば数塩基ずれた配列も、雄の DNA に特異的にハイブリダイズする性質を失わないものは PCR のプライマーとして採用しうる。例えば、プライマー A 1 は塩基番号 522 - 549 の配列を採用しているが、これから 1 塩基対 3' 側にずれた配列 A 1' CATGACTGTGCGCCTATCAGGCTCCTCC (523 - 550) も使用できる。

【0026】プライマー A 1 から C 2 に基づいて上述のような改変プライマーを採用することは当業者によって容易になしうることであり、本発明の技術的範囲に含ま

れる。

【0027】さらに、プライマーA1からC2に基づかない配列でも雄特異的配列の他の領域から、上述した選定条件を満たすように選定したもの、およびそれらの配列を雄のDNAに特異的にハイブリダイズする性質を失わないように、塩基の追加、削除、変更等により修飾した配列も本発明の範囲に含まれる。即ち、本発明は、従来知られていなかった雄に特異的な配列、雄特異的配列を開示し、該配列に基づいて牛胚性判別のためのPCRに用いるプライマーを製造する方法を提供するものである。

【0028】PCRを用いた牛胚の性判別

本発明のプライマーを用いて牛胚の性判別のためにPCRを行う。プライマーは例えば、PCR反応溶液100μlあたり約20-50pmol使用する。鋳型はウシ受精卵のDNAを約1-20pg使用する。受精卵のDNAは例えば、体外受精させて試験官培養した受精卵を細胞数約100-200の時期にマイクロマニピュレーターで10細胞程取り分けて、そこから抽出したものを使用できる。この場合、残りの細胞は適宜培養してから凍結保存しておき、性判別後に必要に応じて雌胚または雄胚を選んで雌牛体内に移植して、発育させることができる。PCRのDNA鎖合成反応に用いるポリメラーゼは熱耐性ポリメラーゼ(Taqポリメラーゼ)を使用するのが好ましい。PCR反応用のポリメラーゼ、デオキシリボ核酸(dATP、dCTP、dGTP、dTTP)、反応溶液等は必要であればキットとして市販されている。

【0029】PCR反応は、鋳型DNAとプライマーとのアニーリング、ポリメラーゼ反応、および熱変性の3工程からなる1連の複製反応を1サイクルとする。必ずしも以下の条件に拘束されるわけではないが、本発明においては、アニーリングは48-55、好ましくは50-53、より好ましくは約52で、0.5-2分、好ましくは0.5-1分、行う。ポリメラーゼ反応は70-80、好ましくは約72で、0.5-2分、行う。熱変性は93-95で、0.5-1分、行う。サイクル数は、35-45回とするのが好ましい。PCR反応は、市販のPCR用自動機器(例えば、PERKIN ELMER Gene Amp PCR System 9600)を用いて行うことができる。

【0030】PCR反応の結果、鋳型DNAが雄のものである場合、使用した2種類のプライマーの間の領域が増幅される。反応後の溶液をアガロースやポリアクリルアミドゲル等の媒体上で電気泳動すると、使用したプライマーから予想される長さのバンドを検出することができる。例えば、プライマーA、B、Cの組み合わせを用いた場合には、それぞれ、約271塩基対、約178塩基対、約524塩基対のバンドが検出される。鋳型DNAが雌のものである場合、これらのバンドは検出されな

い。このように、PCR反応後の溶液を電気泳動するだけで容易に雄と雌の判別を行うことができる。

【0031】さらに、プライマーBの組み合わせを用いた場合は、178塩基対のバンドとは別にこれより短い約150塩基対のバンドが雄、雌に共通して検出される。従って、雄の場合は178塩基対と約150塩基対の2本のバンド、雌の場合は約150塩基対の1本のバンドが検出される(図2中、プライマーB)。このようにプライマーBの組み合わせを用いた場合は1組のプライマーのみで雌雄の判別と操作ミスのチェックができる。この組み合わせで牛胚の性判別を行うと、ほぼ100%の確率で雌雄の判別を行うことができる。

【0032】以下、本発明を説明するために実施例をあげるが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【0033】

【実施例】

実施例A. 雄特異的配列のクローニング

雄牛の白血球から慣用方法によりDNAを抽出した。次に、抽出したDNAを制限酵素EcoRIで完全に消化した。一方、プラスミドp118をあらかじめEcoRIで完全に消化し、アルカリフォスファターゼで処理し末端リン酸基を除いておいた。DNAリガーゼを用いてEcoRI消化したDNAとプラスミドとを結合させた。こうして雄牛のDNAを挿入断片として含むプラスミドのライブラリーを作製した。

【0034】次に、各プラスミドの挿入断片をプローブとして、牛の雄および雌のゲノムDNAに対してサザンハイブリダイゼーションを行った。雄牛および雌牛から抽出されたDNAを各レーンあたり約10μgアガロース上で電気泳動した後、ナイロン膜に転写し固定したものをハイブリダイゼーション用のフィルターとして用いた。ハイブリダイゼーションの条件は、68、5×SSCとし、0.1×SSCでフィルターを洗浄した。

【0035】プラスミドS4と命名したプラスミドの挿入断片をプローブとした場合に雄と雌でハイブリダイゼーションパターンに相違が見られた。プラスミドS4は1542塩基対の挿入配列を含み、その塩基配列は配列番号1に示すとおりである。この配列は牛の雄に特異的な配列であり、本明細書中において「雄特異的配列」と呼ばれる。

【0036】実施例B. PCRによる牛胚の性判別

配列番号1の情報に基づいて選択された上述のプライマーの組、A、B、Cの3組を採用し、PCRを行った。鋳型DNAは、細胞数約150-200の時期の受精卵からマイクロマニピュレーターで10細胞程取り分けてそこから抽出したものをを用いた。各反応溶液50μlあたりプライマーをそれぞれ20pmole、鋳型DNAを約10pg、Taqポリメラーゼを1unit(酵素単位)使用した。

【0037】PCR反応は、アニーリング52、1

分、ポリメラーゼ反応 7 2 、 1 分、熱変性 9 5 、 3 0 分を 1 サイクルとして 4 5 サイクル行った。反応は A S T E C 社の P C - 7 0 0 を用いて行った。

【 0 0 3 8 】 反応後のサンプルをアガロース電気泳動した結果を図 2 に示す。プライマー A を用いた場合、約 2 6 9 塩基対のバンドが検出されたサンプルとバンドが全く検出されなかったサンプルとの 2 種類にはっきりと分かれ、前者は雄の受精卵由来のサンプル、後者は雌の受精卵由来のサンプルであった (図 2 のプライマー A) 。プライマー C を用いた場合も同様に 5 6 4 塩基対のバンドが検出されたサンプルとバンドが全く検出されなかったサンプルとに分かれた (図 2 のプライマー C) 。プライマー B を用いた場合は、 1 7 8 塩基対と約 1 5 0 塩基対の 2 本のバンドが検出されたサンプルと、約 1 5 0 塩基対の 1 本のバンドが検出されたサンプルとに分かれ、前者は雄の受精卵由来のサンプル、後は雌の受精卵由来のサンプルであった (図 2 のプライマー B) 。プライマー B の場合は特に、鋳型 DNA を入れ忘れたミスサンプルを雌のサンプルと誤って判断する可能性を除去することができた。尚、電気泳動のサイズマーカーはブサイ X * 20

* 1 7 4 の DNA を制限酵素 H i n c I I で消化したものをを用いた。

【 0 0 3 9 】 尚、本実施例においては、クローン化したプラスミド S 4 を鋳型として同様に P C R を行ったものを陽性コントロールとしたが、陽性コントロールは、実際の性判別において省略することもできる。

【 0 0 4 0 】 実施例 C . 染色体検査結果との比較

3 6 個の牛胚についてプライマー B の組を用いて実施例 B と同様の P C R による性判別を行った。同一の牛胚サンプルについて染色体検査も行った。牛は 2 9 組の相同染色体と 2 本の性染色体の計 6 0 本の染色体を有するが、染色体検査は性染色体の形により雌雄の判別を行う方法で、この方法によれば確実に性判別を行うことができる。P C R による判別と染色体検査による判別の結果を比較したところ、表 2 に示すように全て一致した。これは、本発明のプライマーを用いた P C R 法による性判別法の精度が非常に高いことを示す。

【 0 0 4 1 】

【表 2】

検査胚数	染色体検査結果	P C R による判定結果	判定一致率 (%)
3 6	雄 2 6 雌 1 0	雄 2 6 雌 1 0	1 0 0 1 0 0

【 0 0 4 2 】

【配列表】

配列番号： 1

配列の長さ： 1 5 4 2

配列の型：核酸：

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類： G e n o m i c D N A

起源

生物名： 雄ウシ

配列

```

GAATTCCATG ATAGTTCAGA GGTTAGGACT CCACGCTTTC CTATCAGGGG CCTGGGTAGG 60
GTTCTCAACC AGGAAACTGT CATTCAAGCT GCATAGCACA GCGAAACTA TGACAACAAC 120
AATAAAACAA CACTGTAAC TGTGTGTGT GTGTGTGTGT GTGTGTGTGT GTGTGTGTGT 180
GTGTGTGTGT GTATTAGTTG CTCAGTCATG TATGAGTCTT TGCTTTTACA TGGACTGTTG 240
CCCATCAGGC TCCTTTGTCC ATGGGGTTCT CCAGGCAAAA ATACTGGAGT GGGTTGCCAT 300
TTCTTTCTCC AAAAAGGCTG ATGAAAGTAT GTGAAATACT TAGCATGTAA AAATGGTTAA 360
AATGGTGAAA ATTTAAGTTA GATTTTTTTT TTTTACAAC AATTA AAAAC TTTTAACAAC 420
CAGGAAAAGA ATTTGAATAG ACATTTCCACC AAAAATACTG CTTAACATGA TTGAAAGTGA 480
AAGAAATTA GTTGCTCAGT CCTGTCCGAC TCTTTGCGAC CCCATGGACT GTCGCCTATC 540
AGGCTCCTCC ATCCATGGGA TTTTCCAGGC AAGAGTGCTG GGGTGGATTG TCATTTCTT 600
CTCCAGGGGA TCTTCTGAC CCAGGAATCA AACCCAGGTC TCCTGCATTG CAGGCAGACA 660
CTTTACCTTC TGAGCCACCA GGGAAGCCCT TAGCAAAATG TAAATCAGTT TCATTGAAAT 720
ACTACTTCAC ACACATTAGC TTGGCTATAA TCAAAACCAG GAAAAATAAC AAGTGCTGCA 780
GAGGATGTGG AGAAAACGAA TCTTCATATA TTGTTGAAAA ATGTTGAAAA TATACTGCTG 840
AAATATATTG TTGAAAATAT ATTGCTCTAA AATGGTACAA CCACTTTGGT TTGTCAGTAC 900
CTCAAAAATT AAATATATAG TAGCCATATG ATCCAGAAAT CTCACTCTTT TGTATATATA 960
TATAAAAAAA AAAATCCCTG AAACATTTAA GTCCATTCAA AACAGTGTT CCCAACAGCA 1020
TACTACTACAA GAGCCACAAA GAATACACCA TCCAAATATT ATCTATTAAT TGATGAATGG 1080
ATAAAAAATC GTGGTAATTG TTCACAATGG AGTTCATGTA AGCCATATAC CATATTGATG 1140
TACCATATAC AGCCATTA AAATGCATT GCTATACAGC CAAGAAGTGG ATGAATCTTG 1200

```

11

12

AAAATACACA AACTAGGGGA CTCCCTGGA AATGTTAAG TGTTAAGAC TATGCACAGT 1260
 TTCCATCCCT GGCAGGGAA CTAAGATCCC ACATGCCACA TAGCTAAATA AATAATATT 1320
 TTAAGAGAAA ATGTGACATC TGTATAAAGC CAGACACAGA GGTCACACAT TGCATGTGGA 1380
 AGAACTGTAG GTAGAAAAGA AGCAGGAAAG AGAAGCATTG TGTAACGCAA ATGAAACATT 1440
 TTTTCCAGG GAGGAGGAAA TGCCTGCTC TGATAAAGGC TGCAATAAA TTAATAAAA 1500
 TAACAACTAA AAATTGACCA CTGAGTAAA CATTTGGAAT TC 1542

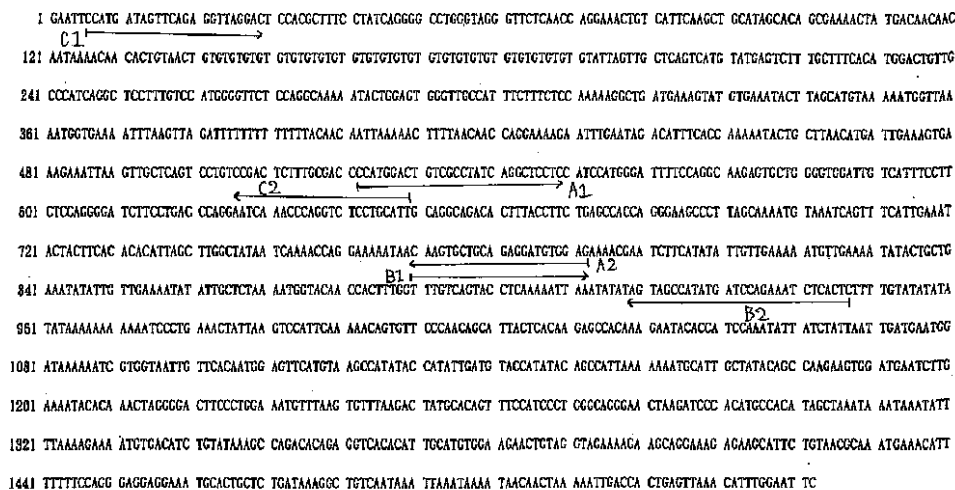
配列番号：2
 配列の長さ：28
 配列の型：核酸
 鎖の数：二本鎖
 トポロジ：直鎖状
 配列の種類：他の核酸 合成DNA
 配列：
 CCATGGACTGTCGCCTATCAGGCTCCTC 28
 配列番号：3
 配列の長さ：23
 配列の型：核酸
 鎖の数：二本鎖
 トポロジ：直鎖状
 配列の種類：他の核酸 合成DNA
 配列
 CTCCACATCCTCTGCAGCACTTG 23
 配列番号：4
 配列の長さ：23
 配列の型：核酸
 鎖の数：二本鎖
 トポロジ：直鎖状
 配列の種類：他の核酸 合成DNA
 配列：
 CAAGTGCTGCAGAGGATGTGGAG 23
 配列番号：5
 配列の長さ：29
 配列の型：核酸

* 鎖の数：二本鎖
 トポロジ：直鎖状
 配列の種類：他の核酸 合成DNA
 10 配列
 GAGTGAGATTTCTGGATCATATGGCTACT 29
 配列番号：6
 配列の長さ：24
 配列の型：核酸
 鎖の数：二本鎖
 トポロジ：直鎖状
 配列の種類：他の核酸 合成DNA
 配列：
 CCATGATAGTTCAGAGGTTAGGAC 24
 20 配列番号：7
 配列の長さ：24
 配列の型：核酸
 鎖の数：二本鎖
 トポロジ：直鎖状
 配列の種類：他の核酸 合成DNA
 配列：
 GTCCATGGGGTCGCAAGAGTCCG 24

【図面の簡単な説明】

【図1】 図1は、雄特異的配列におけるプライマーA
 30 1からC2に対応する領域を示す。
 【図2】 図2は、牛の受精卵由来のゲノムDNAを鋳
 * 型としてPCRを行ったサンプルをアガロース電気泳動
 した結果である。

【図1】



【図 2】

