

一般研究用キット

リアルタイム PCR プライマーセット (マウス脂肪細胞用)

【 Real Time PCR Primer Set For Adipose (Mouse), 品番 : PCRM2 】

2024年7月1日改訂

※本マニュアルをご精読のうえ、研究目的にのみご使用ください。

本キットはリアルタイム PCR (サイバーグリーン法) 用に最適化したマウス脂肪細胞用プライマーセットです。本キットには、脂肪細胞または脂肪組織の研究で使用例の多い分化マーカーや代謝マーカーから 29 遺伝子、リファレンス遺伝子として 3 遺伝子をそれぞれ選定し組み合わせたセットになります。マウス由来の初代脂肪細胞や 3T3-L1 細胞、マウス脂肪組織などの遺伝子発現解析に使用できるようになっています。

《I. キット構成》

内容 (遺伝子名は Official Symbol で表記)	容量	本数	保存温度
リファレンス遺伝子プライマー (3 遺伝子) <ul style="list-style-type: none">ActbGapdhHprt	1000 pmole each		
ターゲット遺伝子プライマー(29 遺伝子) <ul style="list-style-type: none">AdipoqAdrb3CebpaCebpbCebpdFabp4 (別名 aP2)Il10Il1bIl6InsrIrs1Irs2LepCcl2 (別名 MCP1)Serpine1 (別名 PAI-1)Plin1PpargRbp4RetnSlc2a1 (別名 Glut-1)Slc2a4 (別名 Glut-4)TnfUcp1Ucp2Ucp3Ppargc1a (別名 PGC1A)LipeHsd11b1Prdm16	500 pmole each	各 1 本 (計 32 本)	室温 (溶解後は 4℃)

※各遺伝子プライマーは、FW および RV プライマーが等量 (1000 pmole もしくは 500 pmole) ずつ含まれています。

※本キットは、乾燥粉末状で出荷しております。使用時には滅菌水またはTEバッファーなどに溶解してご利用下さい。

※遺伝子プライマーデザインアルゴリズムは、LightCycler ST300・LC480 (ロシュ・ダイアグノスティックス社製) およびDNA Engine Opticon 2 (MJ リサーチ社、現バイオ・ラッドラボラトリーズ社製) による増幅曲線および融解曲線解析で検証済みです。

※本キットの各遺伝子プライマーは、RT-PCR 用として使用することができます。

《Ⅱ-1. リファレンス遺伝子プライマーの情報》

遺伝子名 (Official Full Name)	ラベル表示名	アクセッション番号	増幅サイズ	Tm 値	
				FW プライマー	RV プライマー
actin, beta	Mouse_ACTB(F+R)	NM_007393	200	62.1	62.2
glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	Mouse_GAPDH(F+R)	NM_008084	241	62.0	62.2
hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase	Mouse_HPRT1(F+R)	NM_013556	195	62.0	61.5

《Ⅱ-2. ターゲット遺伝子プライマーの情報》

遺伝子名 (Official Full Name)	ラベル表示名	アクセッション番号	増幅サイズ	Tm 値	
				FW プライマー	RV プライマー
adiponectin, C1Q and collagen domain containing	Mouse_ADIPOQ(F+R)	NM_009605	203	61.0	59.8
adrenergic receptor, beta 3	Mouse_ADRB3(F+R)	NM_013462	202	62.2	62.0
CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), alpha	Mouse_CEBPA(F+R)	NM_007678	186	62.7	61.9
CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), beta	Mouse_CEBPB(F+R)	NM_009883	195	58.4	59.6
CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), delta	Mouse_CEBPD(F+R)	NM_007679	216	57.5	57.8
fatty acid binding protein 4, adipocyte	Mouse_FABP4(F+R)	NM_024406	194	59.3	59.9
interleukin 10	Mouse_IL10(F+R)	NM_010548	189	61.3	61.2
interleukin 1 beta	Mouse_IL1B(F+R)	NM_008361	208	58.1	60.4
interleukin 6	Mouse_IL6(F+R)	NM_031168	219	57.0	56.7
insulin receptor	Mouse_INSR(F+R)	NM_010568	194	61.5	61.8
insulin receptor substrate 1	Mouse_IRS1(F+R)	NM_010570	208	58.7	57.9
insulin receptor substrate 2	Mouse_IRS2(F+R)	NM_001081212	195	59.6	60.5
leptin	Mouse_LEP(F+R)	NM_008493	204	57.6	57.9
chemokine (C-C motif) ligand 2	Mouse_MCP1(F+R)	NM_011333	200	61.3	62.5
serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade E, member 1	Mouse_PA11(F+R)	NM_008871	201	62.1	61.0
perilipin 1	Mouse_PLIN(F+R)	NM_175640	203	62.7	62.3
peroxisome proliferator activated receptor gamma	Mouse_PPARG(F+R)	NM_011146	205	62.1	61.7
retinol binding protein 4, plasma	Mouse_RBP4(F+R)	NM_011255	218	58.0	58.6
resistin	Mouse_RETN(F+R)	NM_022984	192	58.1	57.5

遺伝子名 (Official Full Name)	ラベル表示名	アクセッション番号	増幅 サイズ	Tm 値	
				FW プライマー	RV プライマー
solute carrier family 2 (facilitated glucose transporter), member 1	Mouse_SLC2A1(F+R)	NM_011400	183	60.4	60.4
solute carrier family 2 (facilitated glucose transporter), member 4	Mouse_SLC2A4(F+R)	NM_009204	181	59.7	60.0
tumor necrosis factor	Mouse_TNF(F+R)	NM_013693	212	58.8	57.8
uncoupling protein 1 (mitochondrial, proton carrier)	Mouse_UCP1(F+R)	NM_009463	238	60.4	61.9
uncoupling protein 2 (mitochondrial, proton carrier)	Mouse_UCP2(F+R)	NM_011671	188	61.7	62.5
uncoupling protein 3 (mitochondrial, proton carrier)	Mouse_UCP3(F+R)	NM_009464	193	60.5	60.1
peroxisome proliferative activated receptor, gamma, coactivator 1 alpha	Mouse_PGC1A(F+R)	NM_008904	198	62.2	62.1
lipase, hormone sensitive	Mouse_LIPE(F+R)	NM_001039507	209	61.0	61.8
hydroxysteroid 11-beta dehydrogenase 1	Mouse_HSD11B1(F+R)	NM_001044751	196	61.9	61.9
PR domain containing 16	Mouse_PRDM16(F+R)	NM_001177995	210	61.5	62.5

《Ⅲ-1. 遺伝子プライマーの 溶解方法 》

※リファレンス遺伝子プライマーとターゲット遺伝子プライマーでは、1 遺伝子あたりの容量が異なります。溶解時の添加量にご注意ください。

1. 各遺伝子プライマーの中身は乾固しておりチューブの蓋に付着している場合がありますので、開封する前に遠心して底に落としてください。
2. ご使用のリアルタイム PCR 装置の反応条件を確認の上、実験の目的に適した濃度になるように溶媒（滅菌水またはTE バッファーなど）を下記の表に従って添加し、溶解してください。

リファレンス遺伝子プライマーの場合 (1000 pmole each/チューブ)

添加量	プライマーの終濃度
50 μ L	20 μ M each
100 μ L	10 μ M each
200 μ L	5 μ M each
1000 μ L	1 μ M each

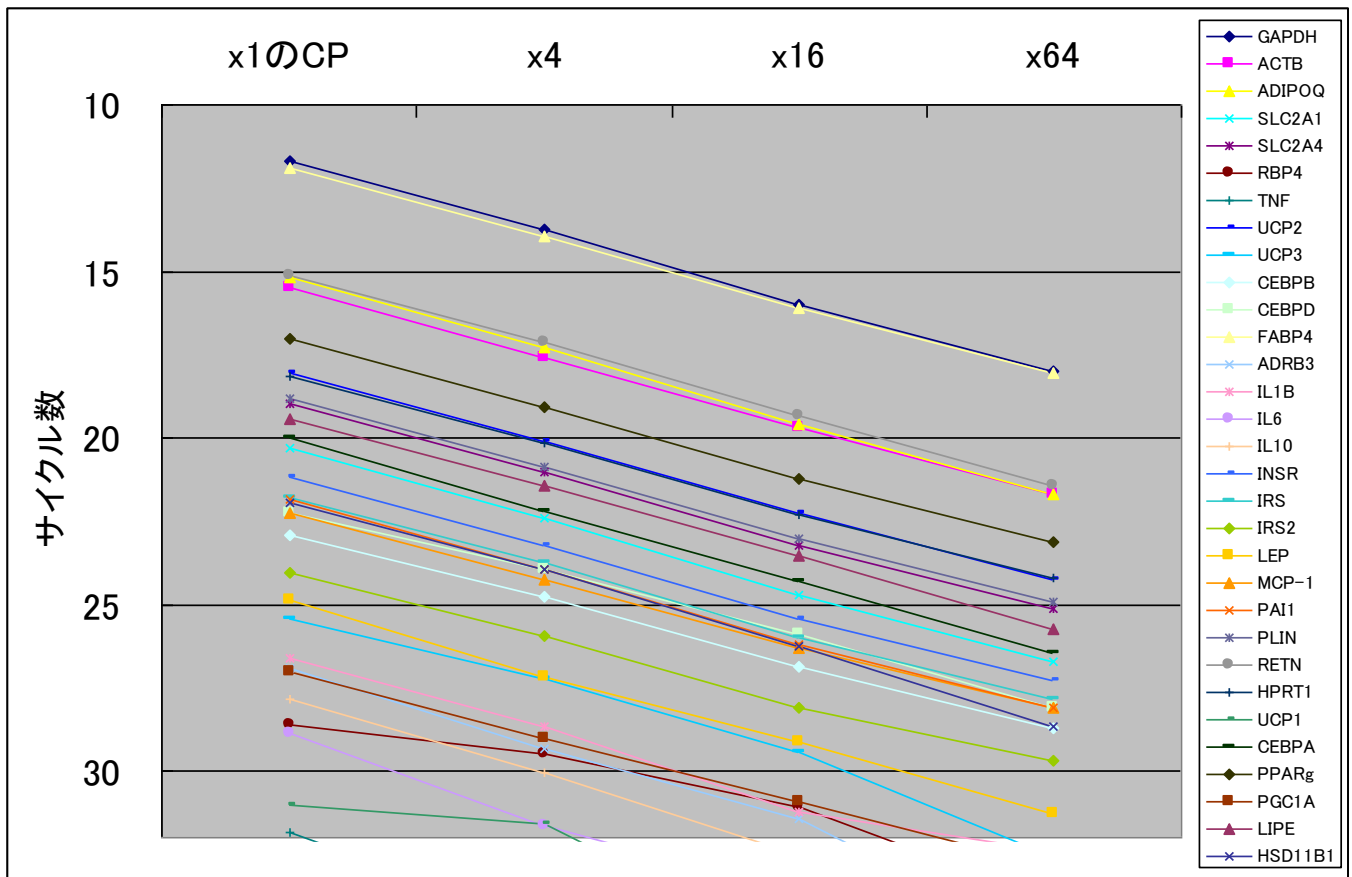
ターゲット遺伝子プライマーの場合 (500 pmole each/チューブ)

添加量	プライマーの終濃度
25 μ L	20 μ M each
50 μ L	10 μ M each
100 μ L	5 μ M each
500 μ L	1 μ M each

3. 溶解後は4°Cで保管してください。

《Ⅲ-2. 遺伝子プライマーの 特異性について 》

遺伝子プライマーは、リアルタイム PCR 装置での増幅曲線および融解曲線解析の結果から適正な増幅効率と特異性を確認しております。下図は、3T3-L1 細胞由来 1st strand cDNA 希釈系列 (1、4、16、64 倍希釈) を LightCycler ST300・LC480 (ロシュ・ダイアグノスティックス社製) で解析した結果になります。

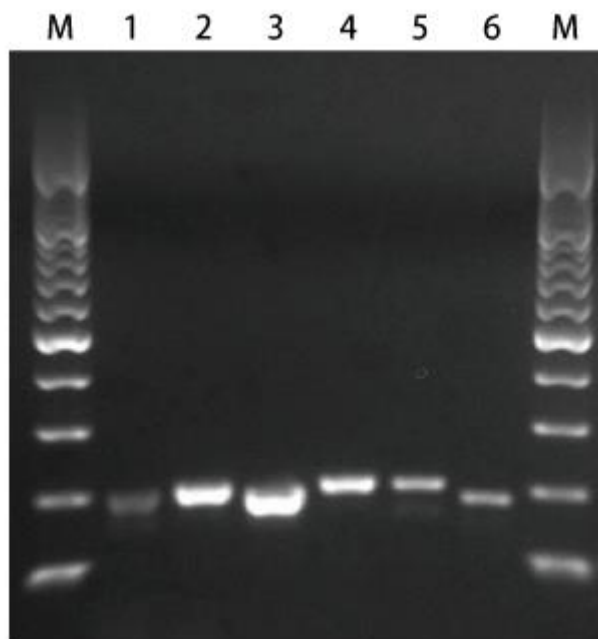


※図は一例になりますので、条件によって測定値は異なります

《Ⅲ-3. RT-PCR での解析例—3T3-L1 細胞を用いた例》

本キットは、常法でも検出可能な PCR 産物長になるようデザインされており、通常の RT-PCR においてもご使用が可能です。 (注) PCR 産物量はサンプルや PCR 試薬、装置に依存するため、お客様による至適化が必要です。

下図は、3T3-L1 細胞から調製した 1st strand cDNA をテンプレートにした RT-PCR で増幅 (25 サイクル) 後にアガロースゲルで解析した泳動図になります。



1 : Hprt
 2 : Actb
 3 : Fabp4
 4 : Pparg
 5 : Adipoq
 6 : Slc2a4
 M : 100bp ラダー