

一般研究用キット

リアルタイム PCR プライマーセット (ラット脂肪細胞用)

【 Real Time PCR Primer Set For Adipose (Rat), 品番 : PCRR1 】

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) 用に最適化したラット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 25 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せたセットになります。ラット由来の初代脂肪細胞やラット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">ActbGapdhHprt1	1000 pmole each		
ターゲット遺伝子プライマー(25 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)TnfUcp1Ucp2Ucp3	500 pmole each	各 1 本 (計 28 本)	室温 (溶解後は 4°C)

※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 (ロシュ・ダイアグノスティクス社製) 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	Rat_ACTB(F+R)	NM_031144	200	62.1	62.2
glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	Rat_GAPDH(F+R)	NM_017008	241	62.0	62.2
hypoxanthine phosphoribosyltransferase 1	Rat_HPRT1(F+R)	NM_012583	208	61.4	61.9

《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	Rat_ADIPOQ(F+R)	NM_144744	192	60.3	58.6
adrenergic, beta-3-, receptor	Rat_ADRB3(F+R)	NM_013108	200	62.1	62.3
CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), alpha	Rat_CEBPA(F+R)	NM_012524	186	62.7	61.9
CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), beta	Rat_CEBPB(F+R)	NM_024125	195	58.4	59.6
CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), delta	Rat_CEBPD(F+R)	NM_013154	216	57.5	57.8
fatty acid binding protein 4, adipocyte	Rat_FABP4(F+R)	NM_053365	204	59.2	59.7
interleukin 10	Rat_IL10(F+R)	NM_012854	220	58.4	59.9
interleukin 1 beta	Rat_IL1B(F+R)	NM_031512	209	60.7	60.1
interleukin 6	Rat_IL6(F+R)	NM_012589	209	59.8	59.3
insulin receptor	Rat_INSR(F+R)	NM_017071	194	61.5	61.8
insulin receptor substrate 1	Rat_IRS1(F+R)	NM_012969	219	59.8	59.3
insulin receptor substrate 2	Rat_IRS2(F+R)	NM_001168633	182	58.6	58.3
leptin	Rat_LEP(F+R)	NM_013076	204	57.6	57.9
chemokine (C-C motif) ligand 2	Rat_MCP1(F+R)	NM_031530	204	61.4	62.2
serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade E, member 1	Rat_PA11(F+R)	NM_012620	205	62.1	61.8
perilipin 1	Rat_PLIN(F+R)	NM_013094	207	61.7	61.4
peroxisome proliferator activated receptor gamma	Rat_PPARG(F+R)	NM_013124	205	62.1	61.7
retinol binding protein 4, plasma	Rat_RBP4(F+R)	NM_013162	218	58.0	58.6
resistin	Rat_RETN(F+R)	NM_144741	180	60.4	61.5
solute carrier family 2 (facilitated glucose transporter), member 1	Rat_SLC2A1(F+R)	NM_138827	183	60.4	60.4
solute carrier family 2 (facilitated glucose transporter), member 4	Rat_SLC2A4(F+R)	NM_012751	181	59.7	60.0
tumor necrosis factor (TNF superfamily, member 2)	Rat_TNF(F+R)	NM_012675	212	58.8	57.8
uncoupling protein 1 (mitochondrial, proton carrier)	Rat_UCP1(F+R)	NM_012682	238	60.4	61.9

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
uncoupling protein 2 (mitochondrial, proton carrier)	Rat_UCP2(F+R)	NM_019354	188	61.7	62.5
uncoupling protein 3 (mitochondrial, proton carrier)	Rat_UCP3(F+R)	NM_013167	193	60.5	60.1

《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

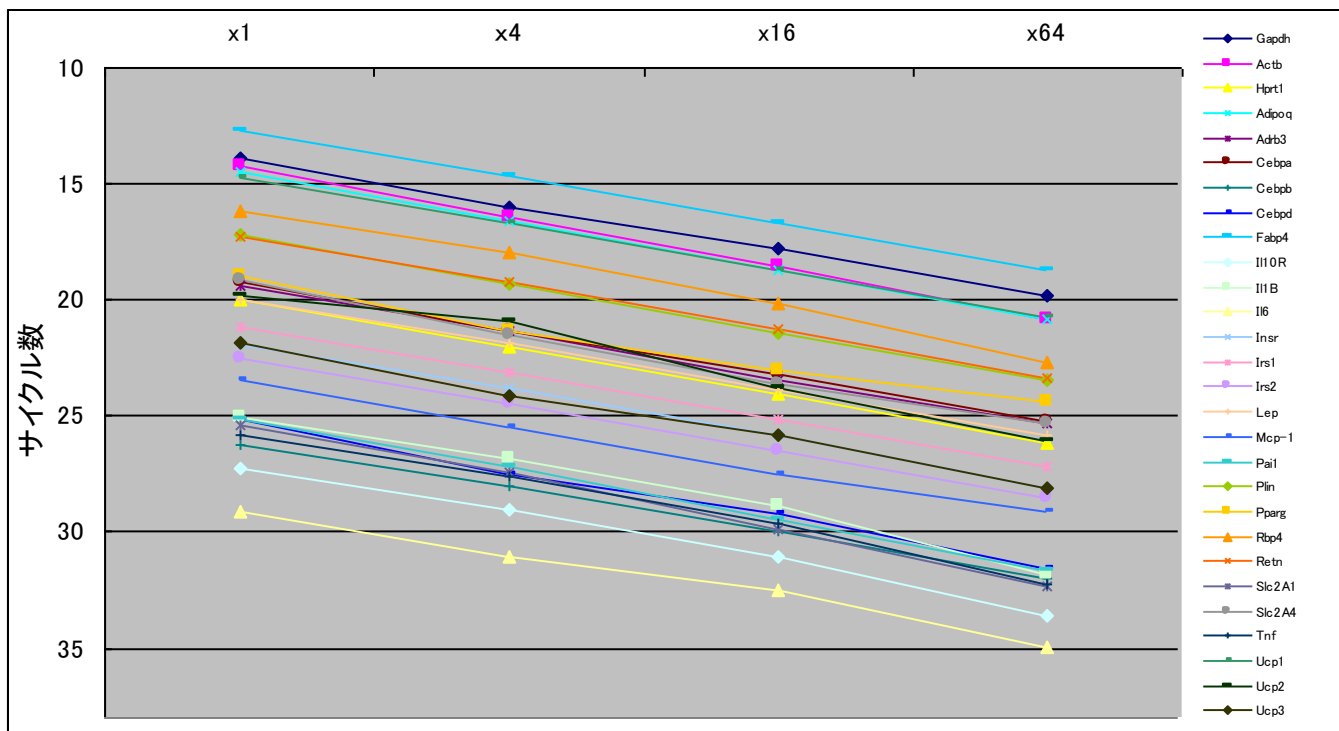
ターゲット遺伝子プライマーの場合 (500 pmole each/チューブ)

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、ラット脂肪組織（褐色脂肪・皮下白色脂肪・内臓脂肪）由来 1st strand cDNA 希釈系列（1、4、16、64 倍希釈）を LightCycler ST300（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 での解析例ーラット脂肪組織を用いた例》

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。（注意）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、ラット脂肪組織（褐色脂肪・皮下白色脂肪・内臓脂肪）から調製した 1st strand cDNA をテンプレートにした RT-PCR で増幅（27 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。

