



Application

## インテグリンの発現定量解析のためのサンプル調製

製品名

FastGene™ RNA Premium Kit (FG-81050, FG-81250)

メーカー名

日本ジェネティクス株式会社

下記のデータは、広島大学大学院医歯薬保健学研究科 インテグリン治療開発フロンティア研究室 大谷 水景 様のご厚意により掲載させていただきました。

### 概要

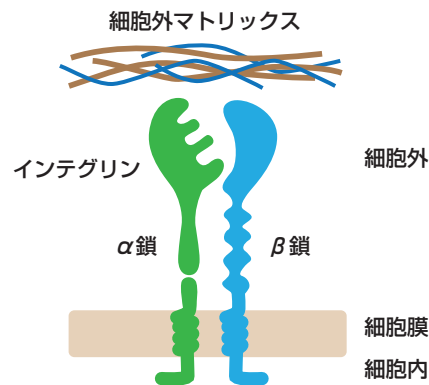
iPS 細胞におけるインテグリンの役割を調査したいと考え、発現しているインテグリンの種類を qPCR によって確認する事にした。私たちが注目しているインテグリン数種類について詳しい考察が出来る様、それらのインテグリンを発現していると報告があった SW480 をコントロールとして用いる事にした。

その際のサンプル調製にて、FastGene™ キットを用いた RNA 抽出をおこなった。

#### Q. インテグリンって何？

細胞の表面にある細胞接着分子。構造は  $\alpha$  鎖と  $\beta$  鎖の 2 つのサブユニットからなるタンパク質分子であり、それぞれ異なる  $\alpha$  鎖、 $\beta$  鎖が多数存在するため、その組み合わせによって多種のインテグリンが存在する。

各インテグリンはそれぞれ特異的な細胞外マトリックスの受容体としての機能を持ち、細胞外マトリックス（または細胞）との細胞接着を基本とし、細胞の伸展や移動、増殖、発生における組織形成、細胞外からの情報の伝達、がんの転移、組織の修復・血液凝固など多くの役割を持っている。



### 実験条件

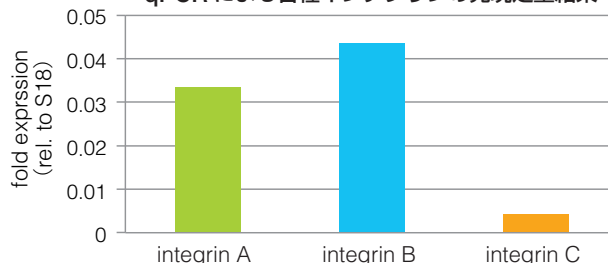
- サンプル  
ヒト結腸癌由来株化細胞 (SW480 細胞)  $6 \times 10^6$  cells  
※10cm Dish で 90%コンフルエント程度あったもの
- 前処理方法：1×PBS (-) で 1 回 wash をおこなった
- 溶出バッファー RE 量：20  $\mu$ L
- 収量・純度測定装置：NanoDrop™ 2000  
(Thermo Fisher Scientific)
- 逆転写反応条件  
インプット RNA 量：2.5  $\mu$ g (1 反応 20  $\mu$ L あたり)  
逆転写酵素：ReverTra Ace (TOYOBO)
- リアルタイム PCR 条件  
インプット cDNA 量：逆転写反応液 1  $\mu$ L (1 反応 20  $\mu$ L あたり)  
リアルタイム試薬：Brilliant III Ultra-Fast SYBR Green QPCR Master Mix (Agilent Technologies)  
リアルタイム装置：7300 Real-Time PCR System  
(Applied Biosystems)

### 結果

#### RNA 抽出結果

サンプル量	収量	純度	
		$A_{260}/A_{280}$	$A_{260}/A_{230}$
$6 \times 10^6$ cells	3.8 mg/ml (20 $\mu$ L 溶出)	2.12	2.16

#### qPCR による各種インテグリンの発現定量結果



#### お客様のコメント

時に多量のサンプルから RNA を抽出しなければならない時がありますが、このキットだと操作が 30 分程度で終了し、値段も安価。  
収量もまったく問題ない量とれるので、重宝しています。純度・濃度ともに問題なく抽出できている事からも御社の RNA 抽出キットの良さを様々な面で感じました。