

タイトル: 細胞からのcDNA増幅 ～使用可能な細胞数～

カテゴリ: リアルタイムPCR (定量PCR、qPCR)

キーワード: cDNA増幅 リアルタイムPCR 遺伝子発現 少数細胞 微量total RNA

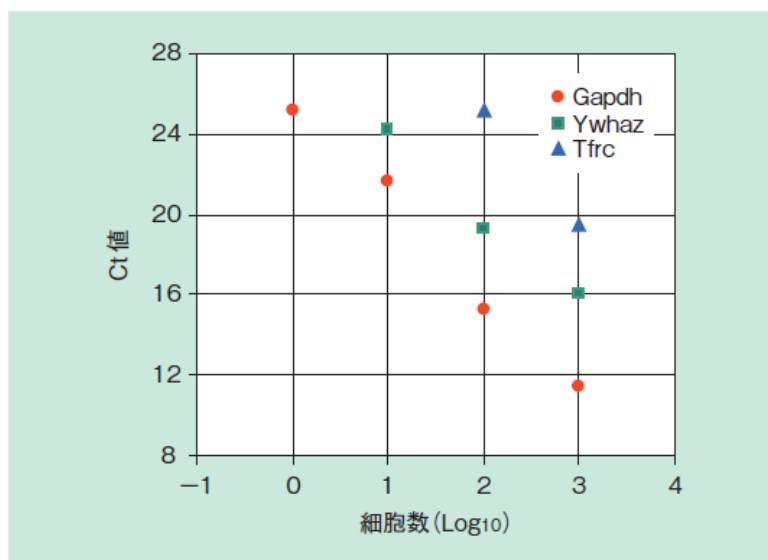
データソース: タカラバイオ株式会社、BIOVIEW No.58 11

方法:

マウス3T3 細胞をPBS で 2×10^6 cells/ml になるように調製し、これを 2×10^3 cells/mlまで10 倍ごとに段階希釈して、各0.5 μ l (1、10、100、1,000細胞相当量)をcDNA増幅の鋳型とした。CellAmp® Whole Transcriptome Amplification Kit (Real Time) Ver.2 ([製品コード 3734](#))を用いてcDNA増幅を行い、得られたcDNA増幅産物を10倍希釈し、そのうち2 μ lをリアルタイムPCRの鋳型とした。

結果:

リアルタイムPCRにより発現量の異なる3 種類の遺伝子を検出した結果を示します。発現量の多いGapdhでは、1～1,000細胞の範囲で細胞数依存的な測定結果が得られました。Gapdhより発現量が少ないYwhazは10 ～1,000細胞、Tfrcは100 ～1,000細胞の範囲で検出されており、検出可能な細胞数の範囲は遺伝子の発現量によって異なることがわかります。また、細胞の種類によって、1 反応に持ち込み可能な細胞数も変わります。



装置 : Thermal Cycler Dice® Real Time System
試薬 : SYBR® Premix Ex Taq™ (Perfect Real Time)
ターゲット : Mouse Gapdh, Ywhaz, Tfrc
プライマー : Perfect Real Time サポートシステムのプライマー

備考: