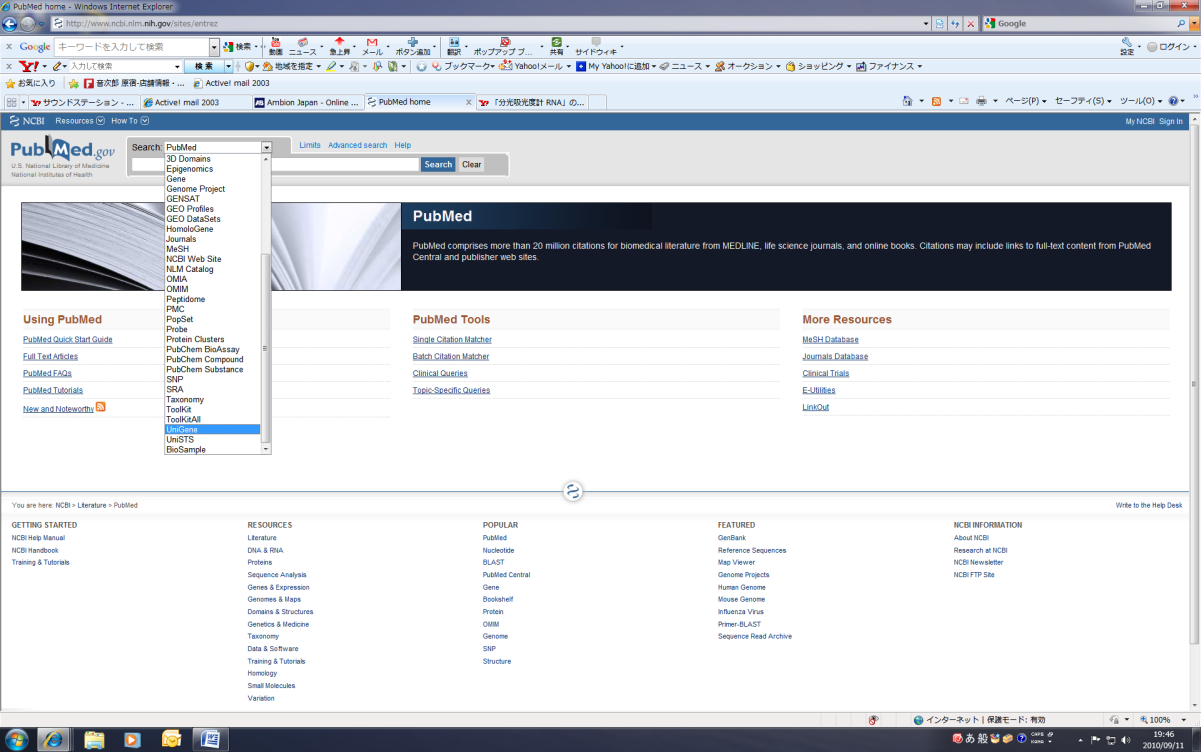
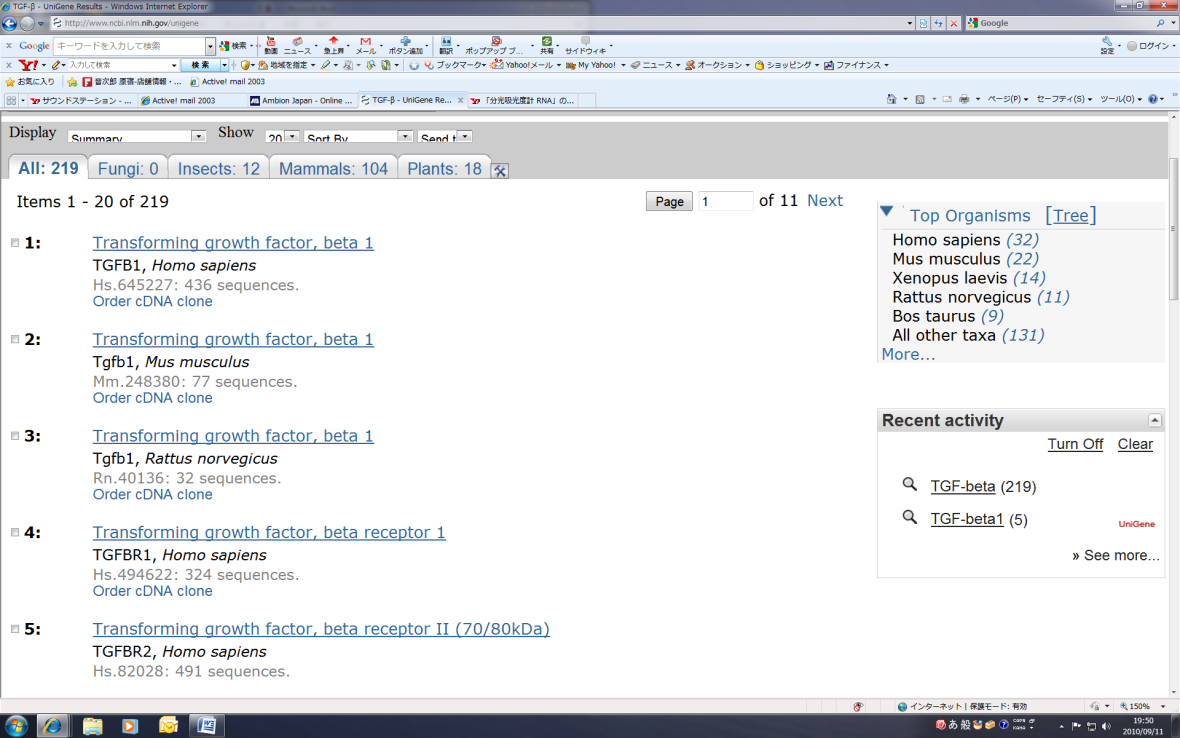
**【ラットTGF-β１の遺伝子プライマー作成手順】**

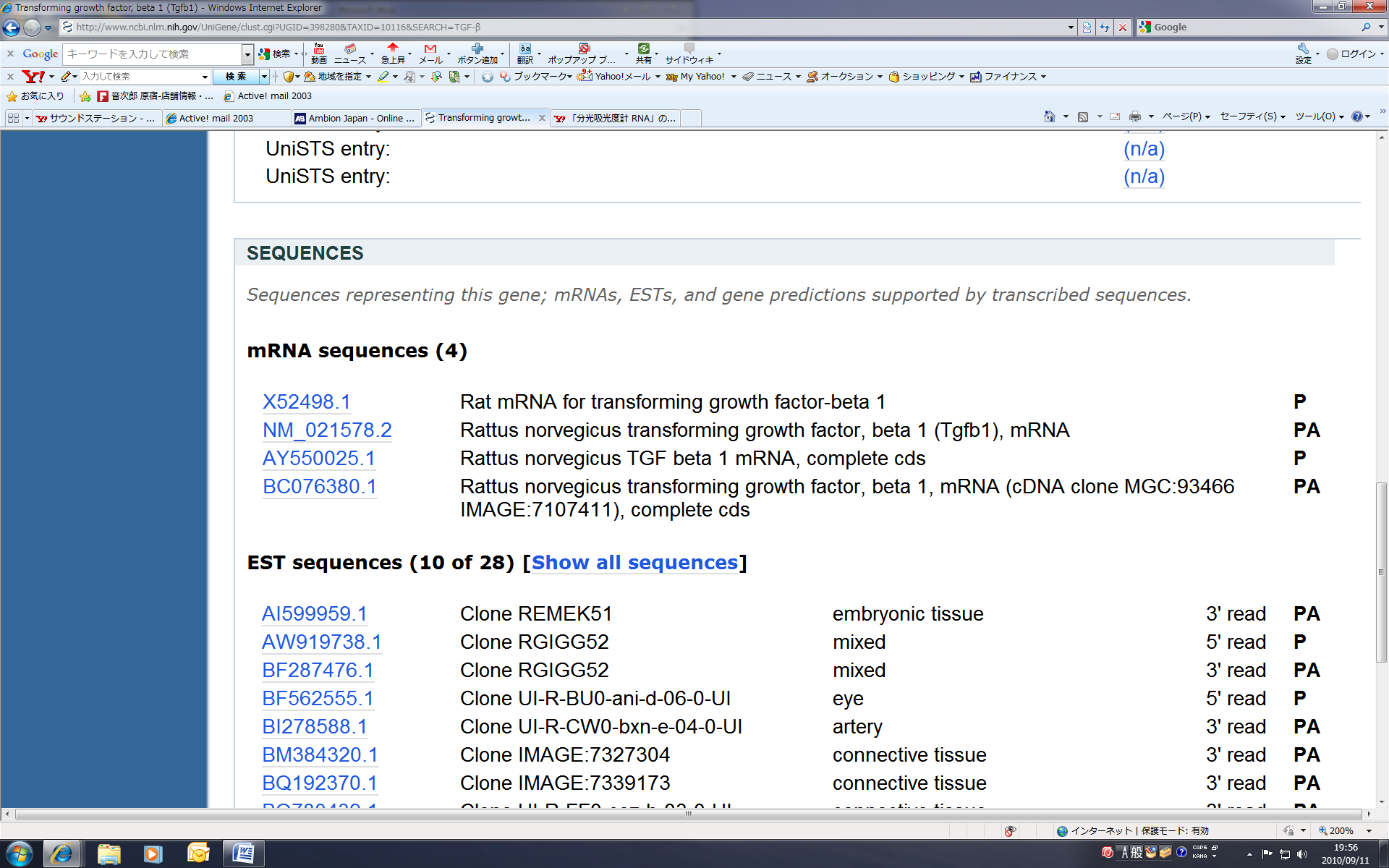
1. **目的遺伝子の塩基配列（シークエンス）をNIHのデータバンクから探す。**
2. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>にアクセスする。
3. Serch boxから「UniGene」を選択し、TGF-βを入力し検索する。



1. Rattus norvegicus（ラット）のTransforming growth factor, beta 1を選択する



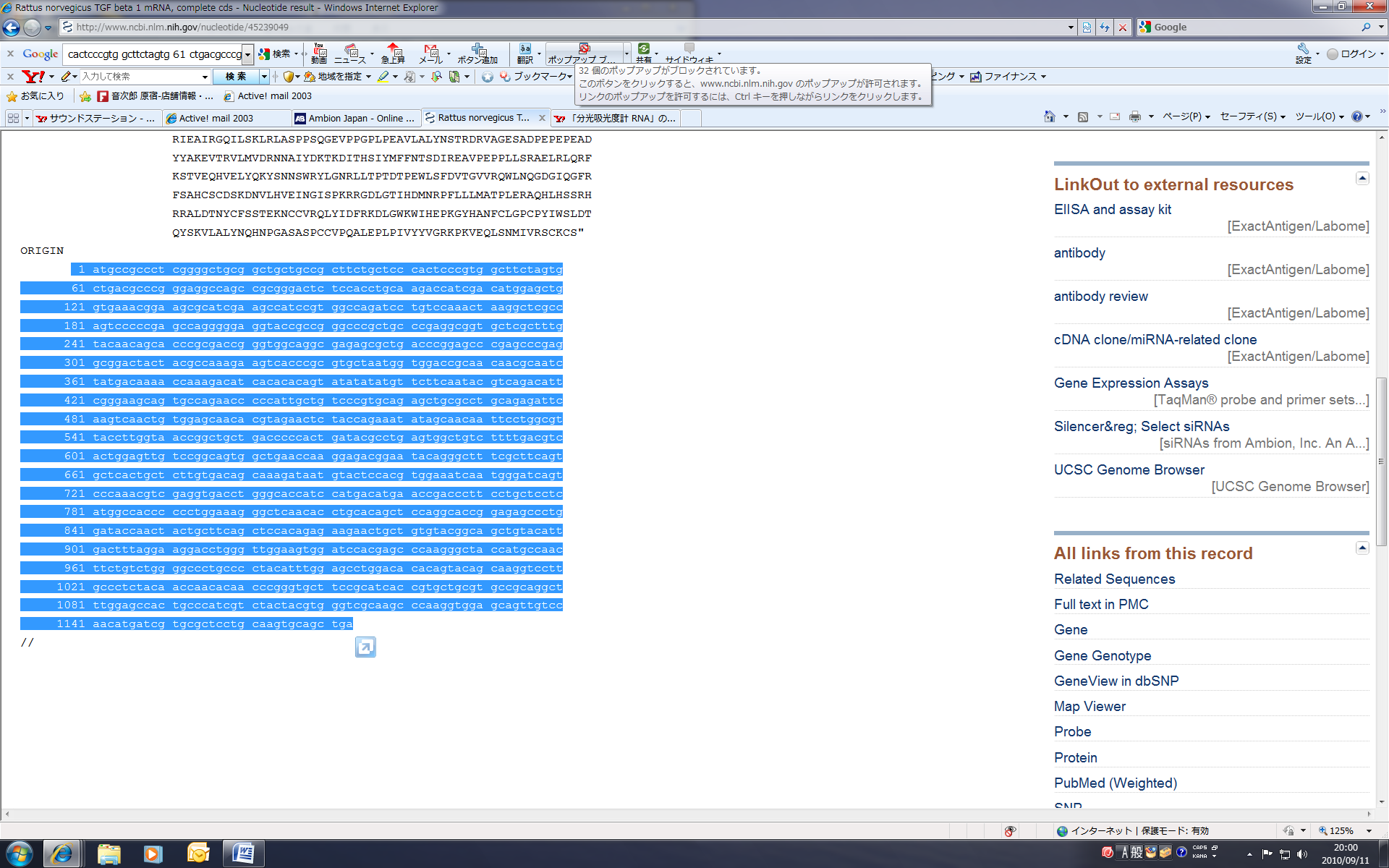
1. ページ中ほどの「SEQUENCES」欄から「mRNA, complete cds」と表記されているものを選択する。



1. 「GenBank entry」の横の数字をクリックする。



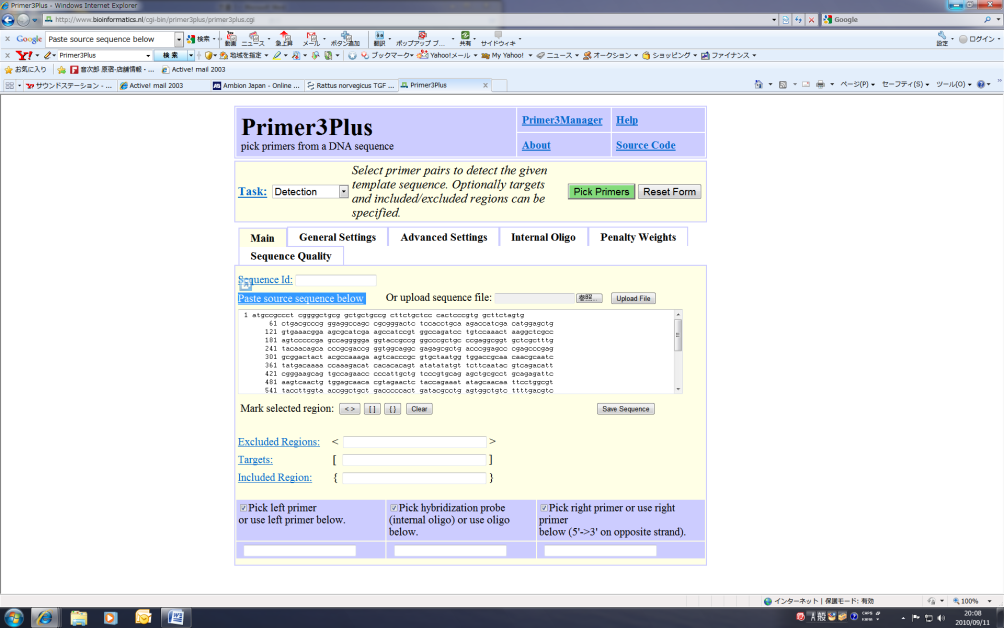
1. ページ下段の遺伝子配列を見て、コピーする。



1. **プライマーの設計**

　入手した遺伝子情報を用いて，プライマーの設計を行う。代表的なアプリケーションとしてPrimer3Plusを用いる。

1. Primer3Plusにアクセスする（<http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi>）
2. 「main」タグの「Paste source sequence below」の欄に先の遺伝子の塩基配列をペーストする。（図の緑枠）



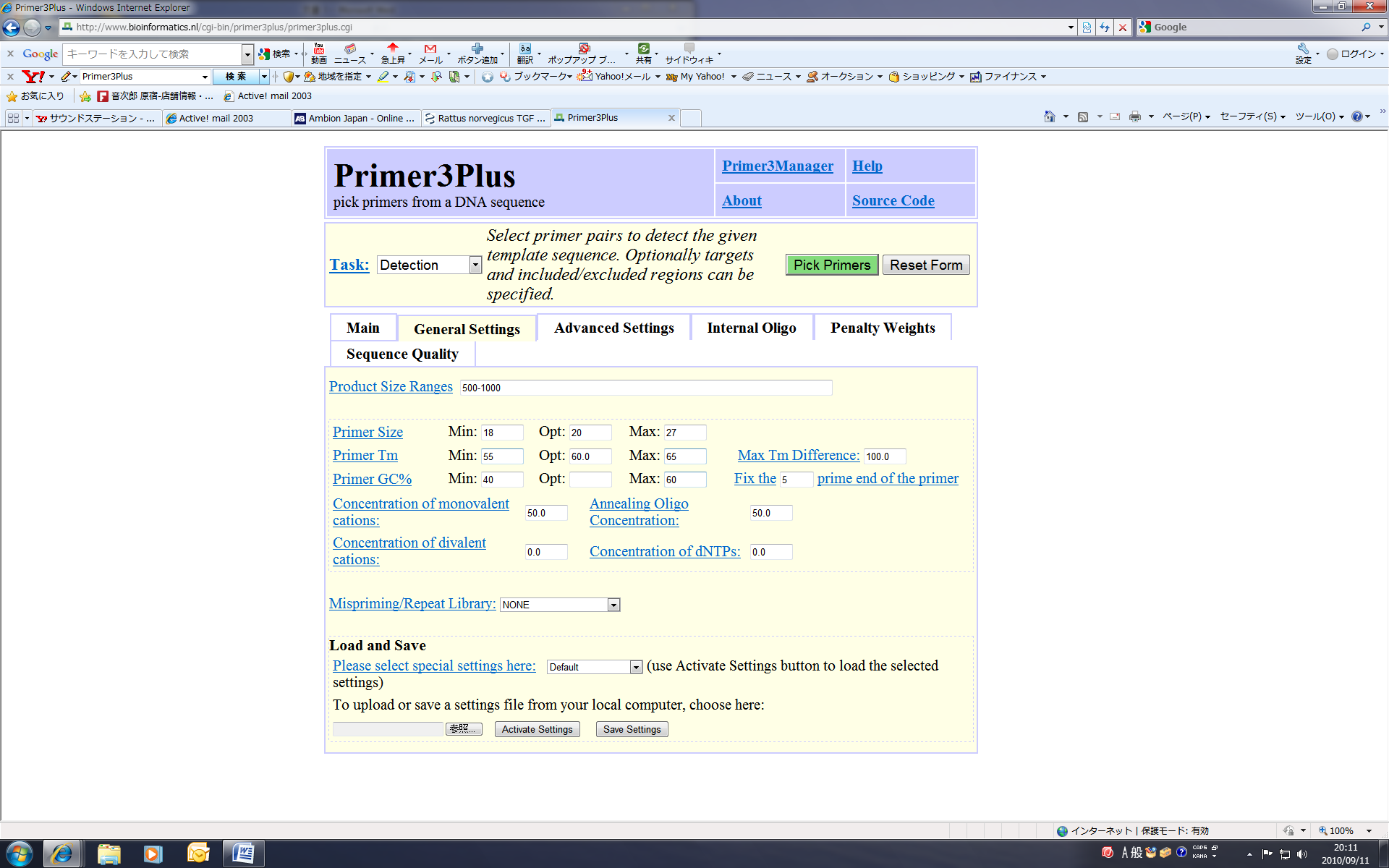
1. 下段の「Pick hybridization probe」にチェックを入れる。
2. 以下に示す一般的なRT-PCRに適した条件を反映するように「General Settings」のタグで調整する。

塩基サイズ：100-500bp

プライマーサイズ：18-24塩基

Tm値：変更しない

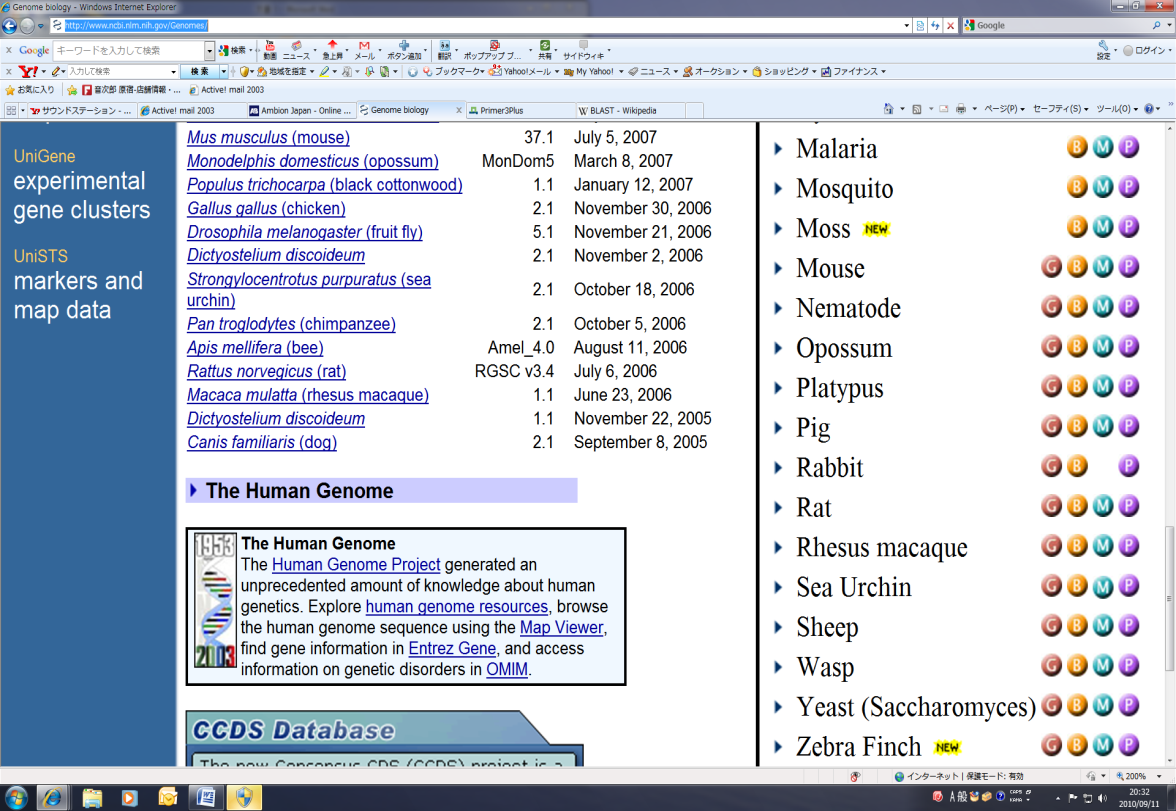
GC含有率：45-55％



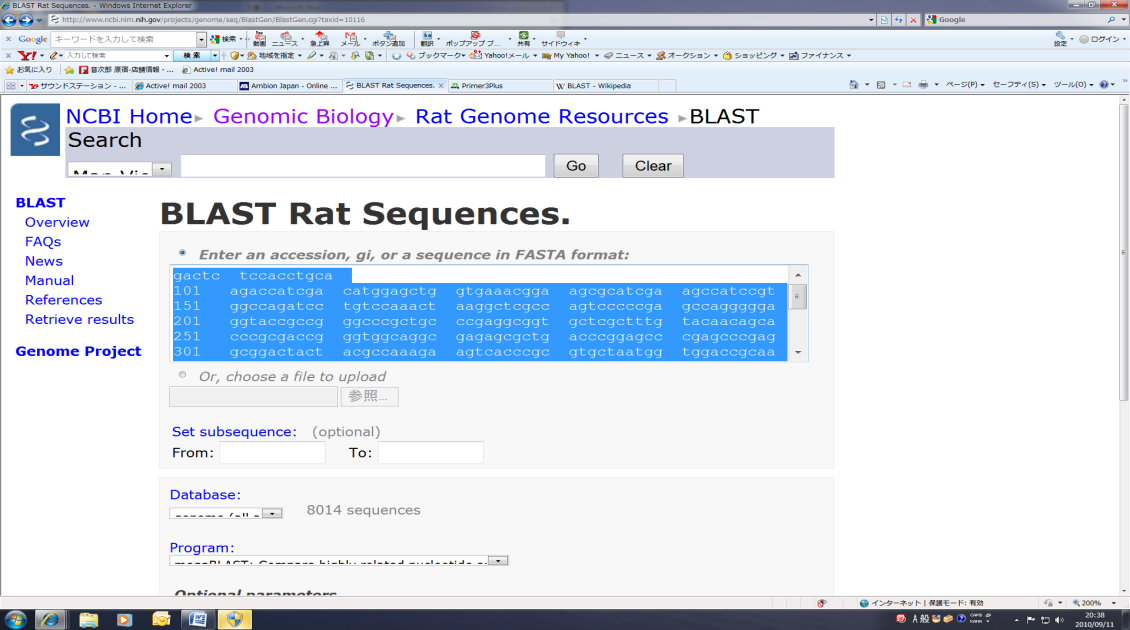
1. 「Pick Primer」をクリックする。
2. プライマーの設計結果が表示される。



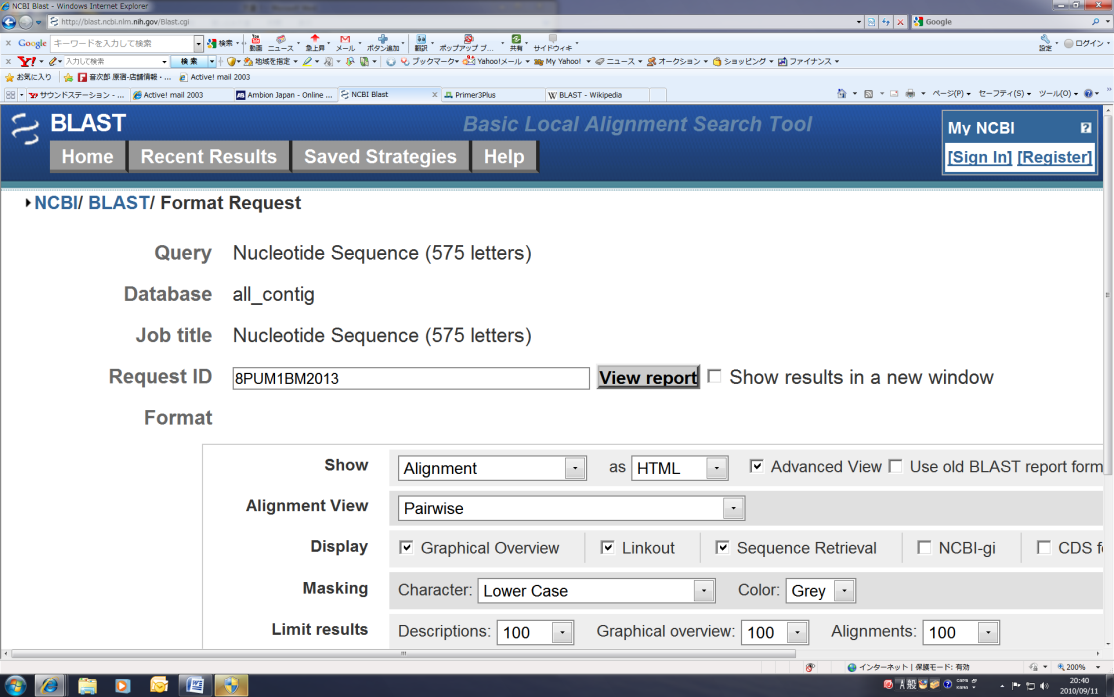
1. **設計されたプライマーをチェックする**
2. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genomes/にアクセスする。
3. ページ右側中央に「Rat」があるので、その横の「B」をクリックする。



1. 先に設計された塩基配列を空欄に貼り付ける。ページ下段の「Begin Search」をクリックする。



1. 「View report」をクリックする。



1. 入力した塩基配列に対応する遺伝子情報が出てくる。ここにTGF-β1以外があるとTGF-β1以外の物質をPCR反応で増幅してしまうのでプライマーの設計をやり直す。

