mTORC2 sustains thermogenesis via Akt-induced glucose uptake and glycolysis in BAT

Verena Albert, Kristoffer Svensson, Mitsugu Shimobayashi, Marco Colombi, Sergio Muñoz, Veronica Jimenez, Christoph Handschin, Fatima Bosch, Michael N. Hall

Appendix

Table of contents

Appendix Table S1. Primer sequences used for qRT-PCR

Target	forward primer (5'-3')	reverse primer (5'-3')
CACT	CTGCGCCCATCATTGGA	CAGACCAAACCCAAAGAAGCA
CPT-1β	ATCATGTATCGCCGCAAACT	CCATCTGGTAGGAGCACATGG
Dio2	GAGGAAGGAAGAAGAGGAAGCAA	TTCTTCCAGTGTTTTGGACA TGC
D-loop	GGTTCTTACTTCAGGGCCATCA	GATTAGACCCGTTACCATCGAGAT
HKII	AAAACCAAGTGCAGAAGGTTGAC	GAACCGCCTAGAAATCTCCAGAA
LCAD	CCAGCTAATGCCTTACTTGGAGA	GCAATTAAGAGCCTTTCCTGTGG
Ndufv1	CTTCCCCACTGGCCTCAAG	CCAAAACCCAGTGATCCAGC
PGC-1α	GAGAATGAGGCAAACTTGCTAGCG	TGCATGGTTCTGAGTGCTAAGACC
RFP	GCGGCCACTACACCTGCGAC	TCGGCGTGCTCGTACTGCTC
RPL0	CTGCTGAACATGCTGAACATCTC	CTTCAGGGTTATAAATGCTGCCG
TBP	TGCTGTTGGTGATTGTTGGT	CTGGCTTGTGTGGGAAAGAT
UCP1	TGATGAAGTCCAGACAGACAGTG	TTATTCGTGGTCTCCCAGCATAG

Appendix Table S2. p-values for statistical tests.

Figure	p-value			
	control vs. AdRiKO 22°C	**control vs. AdRiKO 4°C**	**control 22°C vs. 4°C**	**AdRiKO 22°C vs. 4°C**
2D	0.00004 (***)	n.d.	n.d.	n.d.
2F	n.d.	1h: 0.04 (*) 2h: 0.04 (*) 4h: 0.006 (**) 5h: 0.000003 (***) 6h: 0.00004 (***) 7h: 0.00002 (***) 8h: 0.0000006 (***)	n.d.	n.d.
3B	n.s.	0.0001 (***)	0.00000003 (###)	0.0000004 (###)
3C	n.s.	n.s.	0.0001 (###)	0.00002 (###)
3F	n.s.	0.0096 (**)	0.03 (#)	0.006 (##)
4A	PGC-1α: 0.0008 (***)	n.s.	UCP1: 0.00006 (###) Dio2: 0.00007 (###) PGC-1α: 0.0006 (###)	UCP1: 0.04 (#) Dio2: 0.0002 (###) PGC-1α: 0.001 (##)
4C	n.s.	n.s.	CACT: 0.04 (#) LCAD: 0.0096 (##)	CACT: 0.02 (#) LCAD: 0.02 (#)
4G	n.s.	n.s.	0.003 (##)	0.0008 (###)
4H	n.s.	0.01 (*)	0.0000002 (###)	0.000001 (###)
5A	n.s.	0.01 (*)	0.00001 (###)	0.02 (#)
5B	n.s.	0.01 (*)	0.003 (##)	n.s.
5F	n.s.	0.02 (*)	0.004 (##)	n.s.
5G	n.s.	n.s.	0.003 (##)	n.s.
	control vs. AdRiKO AAV-empty	**control vs. AdRiKO AAV-HKII or AAV-Akt2^{S474D}**	**control AAV-empty vs. AAV-HKII or AAV-Akt2^{S474D}**	**AdRiKO AAV-empty AAV-HKII or AAV-Akt2^{S474D}**
6A	n.s.	n.s.	0.00000096 (###)	0.000000004 (###)
6B	0.005 (**)	n.s.	0.001 (##)	0.01 (#)
6C	0.02 (*)	n.s.	n.s.	0.01 (#)
6D	1h: 0.00003 (*a*) 2h: 0.046 (*a*) 3h: 0.02 (*a*,*)	1h: 0.03 (*b*)	n.s.	2h: 0.02 (*d*) 3h: 0.02 (*d*,#)
6F	0.001 (**)	0.008 (**)	n.s.	0.01 (#)
6G	0h: 0.0085 (*a*) 1h: 0.004 (*a*) 3h: 0.02 (*a*,*)	1h: 0.01 (*b*) 3h: 0.03 (*b*,*)	n.s.	0h: 0.01 (*d*) 3h: 0.03 (*d*,#)
6H	0.01 (*)	n.s.	n.s.	n.s.
	control vs. AdRiKO veh.	**control vs. AdRiKO NE**	**control veh. vs. NE**	**AdRiKO veh. vs. NE**
EV1E	n.s.	0.01 (*)	0.04 (#)	n.s.
	control vs. AdRiKO 22°C	**control vs. AdRiKO 4°C**	**control 22°C vs. 4°C**	**AdRiKO 22°C vs. 4°C**
EV1F	Akt-pS473: 0.002 (**)	Akt-pS473: 0.00006 (***) mTOR-pS2481: 0.005 (**)	Akt-pS473: 0.008 (##)	n.s.
EV1H	light phase: 0.01 (*)	n.d.	n.d.	n.d.
EV1I	n.d.	7h: 0.03 (*) 8h: 0.03 (*) 10h: 0.001 (**)	n.d.	n.d.
EV1J	n.d.	0.02 (*)	n.d.	n.d.
EV3A	n.s.	0.04 (*)	0.002 (##)	0.002 (##)
EV3B	0.01 (*)	n.s.	0.008 (##)	0.002 (##)
EV3C	n.s.	raptor-pS792: 0.004 (**)	n.s.	raptor-pS792: 0.00009 (###) ACC-pS79: 0.03 (#)

n.d.=not determined, n.s.=not significant (p>0.05)