

B6J.Cg-Sst^{tm2.1(cre)}Zjh

品系编号：GAP1003

品系简称：Sst-IRES-Cre knock-in (C57BL/6J)

品系特点：

Sst-IRES-Cre 敲入小鼠在表达生长抑素的神经元中表达 Cre 重组酶，该品系小鼠可用于研究树突抑制性中间神经元的相关领域。

遗传学信息：

遗传背景：C57BL/6J

品系类型：基因敲入

相关基因：Sst

饲养信息：**配繁策略：**

Homozygote x Homozygote

配繁特性：

当维持种群时，一般可以纯合子进行保种。

基因型鉴定方案：**1) 鉴定引物：**

引物名称	序列 (5'-3')	引物类型
GAP1003-1	TCTGAAAGACTTGCGTTTGG	野生型-forward
GAP1003-2	TGGTTTGTCCAAACTCATCAA	转基因-forward
GAP1003-3	GGGCCAGGAGTTAAGGAAGA	共同-reverse

2) PCR 反应体系及扩增程序：**反应程序 A：**

组分	终浓度
ddH2O	
Kapa 2G HS buffer	1.30 X

扩增程序

步骤	温度(°C)	时间	说明
1	94.0	5min	
2	94.0	30s	

MgCl ₂	2.60 mM	3	65.0	30s	每循环降 0.5℃
dNTP KAPA	0.26 mM	4	68.0	45s	
GAP1003-1	0.50 μM	5			2-4 步重复 10 个循环
GAP1003-3	0.50 μM	6	94.0	30s	
甘油	6.50 %	7	60.0	30s	
Kapa 2G HS taq polym	0.03 U/μl	8	72.0	45s	
Dye	1.0 X	9			6-8 步重复 28 个循环
DNA		10	72.0	5min	
		11	10.0	hold	保持

反应程序 B:

组分	终浓度
ddH ₂ O	
Kapa 2G HS buffer	1.30 X
MgCl ₂	2.60 mM
dNTP KAPA	0.26 mM
GAP1003-2	0.50 μM
GAP1003-3	0.50 μM
甘油	6.50 %
Kapa 2G HS taq polym	0.03 U/μl
Dye	1.0 X
DNA	

扩增程序

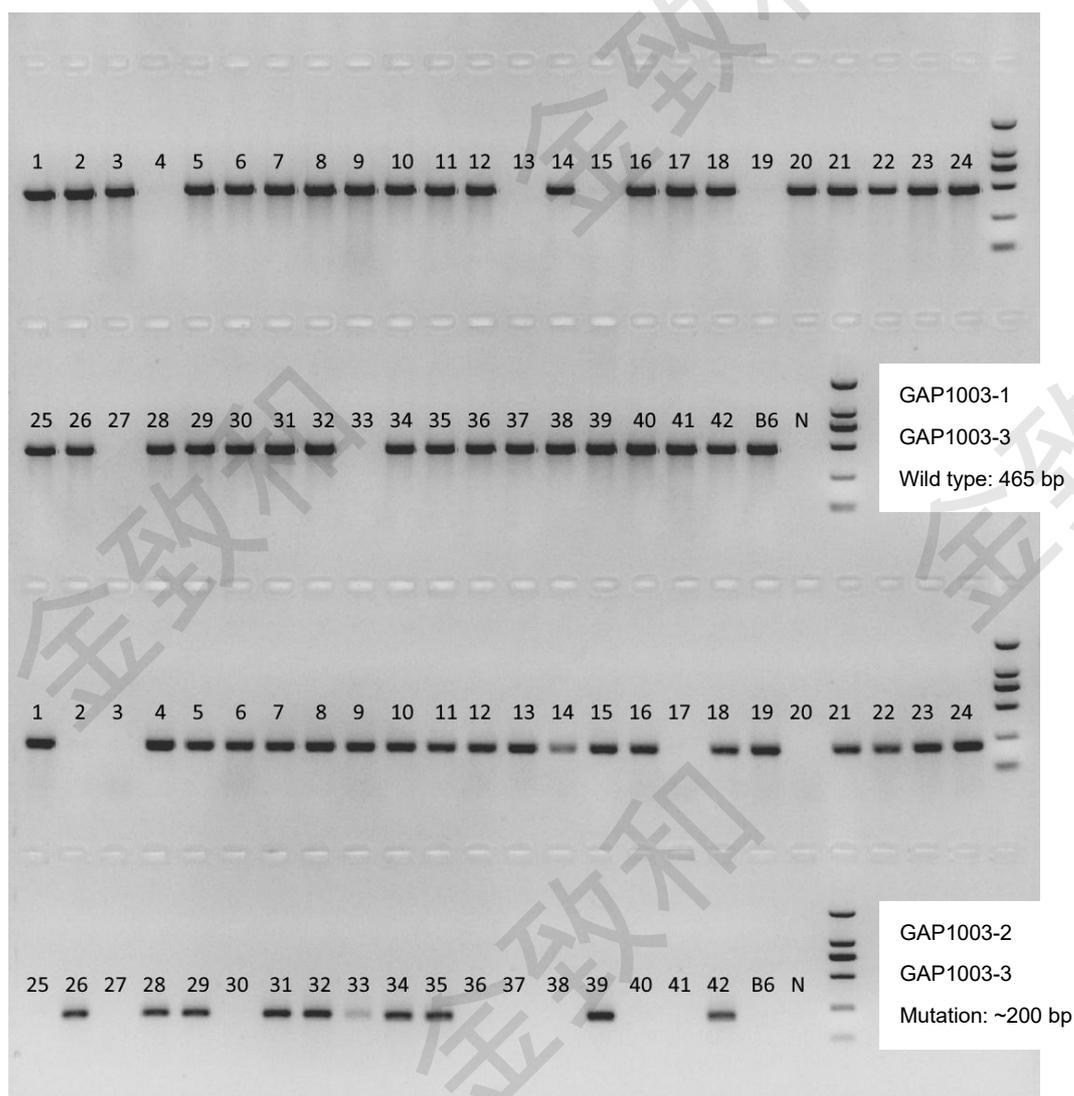
步骤	温度(℃)	时间	说明
1	94.0	5min	
2	94.0	30s	
3	65.0	30s	每循环降 0.5℃
4	68.0	45s	
5			2-4 步重复 10 个循环
6	94.0	30s	
7	60.0	30s	
8	72.0	45s	
9			6-8 步重复 28 个循环
10	72.0	5min	
11	10.0	hold	保持

3) 预期结果:

使用 2.0%琼脂糖进行凝胶电泳

基因型	预期结果
纯合子	~200 bp
杂合子	~200 bp 和 465 bp
野生型	465 bp

4) 凝胶电泳结果示例:



注：B6 为阴性对照，是 B6 小鼠基因组 DNA

N 为空白对照，无模板对照

DL2000 Marker: 2000bp\1000bp\750bp\500bp\250bp\100bp

应用领域：

在生长抑素基因座的 3' UTR 敲入 Sst-IRES-Cre 等位基因，其具有内部核糖体进入位点和 Cre 重组酶 (Sst)。因此，内源性 Sst 启动子/增强子元件将 cre 重组酶在表达生长抑素的神经元中表达。虽然 Sst-IRES-Cre 被设计为 3' 敲入等位基因，但研究表明它显著降低了内源性 Sst 表达。Sst-IRES-Cre 等位基因的 Sst RNA 表达减少，纯合小鼠活动异常（雄性在昼夜节律活动期运动减少，雌性在昼夜周期活跃期结束时运动增加）。

参考文献:

1. <https://www.jax.org/strain/028864>