

Vglut2-ires-cre

品系编号: GAP1008

品系特点:

Vglut2-ires-cre 敲入小鼠具有针对兴奋性谷氨酸能神经元细胞体内表达 Cre 重组酶, 而不会破坏内源性 Vglut2 的表达。这些小鼠可用于产生条件突变, 以研究与谷氨酸能神经元相关的功能的获得或丧失和/或发育命运图谱。

遗传学信息:

遗传背景: C57BL/6J

品系类型: 基因敲入

相关基因: Slc17a6

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
GAP1008-1	ACACCGGCCTTATTCCAAG	转基因-reverse
GAP1008-2	AAGAAGGTGCGCAAGACG	共同的-forward
GAP1008-3	CTGCCACAGATTGCACTTGA	野生型-reverse

2) PCR 反应体系及扩增程序:

反应程序

扩增程序

组分	终浓度	步骤	温度(°C)	时间	说明
ddH2O		1	94.0	5min	
Kapa 2G HS buffer	1.30 X	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	
GAP1008-1	0.50 μM	5			2-4 步重复 10 个循环
GAP1008-2	0.50 μM	6	94.0	30s	
GAP1008-3	0.50 μM	7	60.0	30s	
甘油	6.50 %	8	72.0	45s	
Kapa 2G HS taq polym	0.03 U/μl	9			6-8 步重复 28 个循环
Dye	1.0 X	10	72.0	5min	
DNA		11	10.0	hold	保持

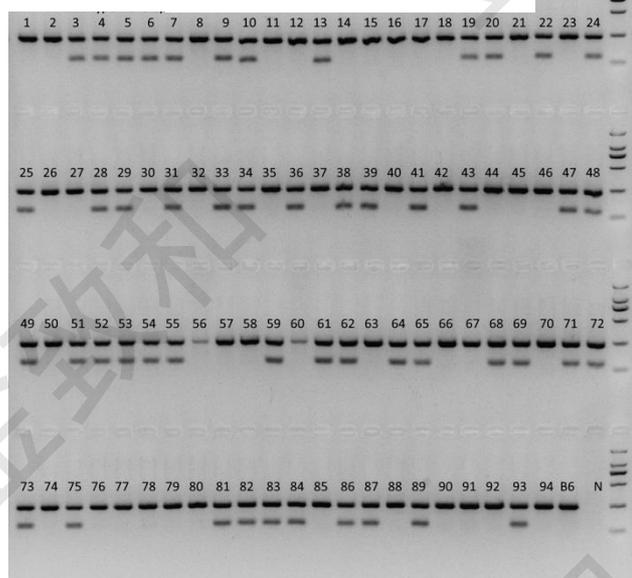
3) 预期结果:

使用 2.0%琼脂糖进行凝胶电泳

基因型	预期结果
纯合子	124 bp
杂合子	124 bp 和 245 bp
野生型	245 bp

4) 凝胶电泳结果示例:

GAP1008-1 Mutation: 124 bp
 GAP1008-2 Heterozygote: 124 bp & 245 bp
 GAP1008-3 Wild type: 245 bp



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:

Vglut2-ires-Cre 敲入小鼠具有针对兴奋性谷氨酸能神经元细胞体的 Cre 重组酶表达, 而不会破坏内源性囊泡谷氨酸转运蛋白 2 表达。具体而言, 在兴奋性谷氨酸能、VGLUT2 阳性、丘脑神经元细胞体、脑室旁核、外侧嗅觉核、杏仁核基底外侧核、腹内侧下丘脑、梨状皮层、下丘脑后部、腹侧前核、丘脑下核、内侧基因核、网状核、脑桥灰色、外丘脑核和外侧网状核中检测到 Cre 重组酶活性。当与含有 *loxP* 序列的小鼠品系杂交时, Cre 介导的重组导致后代组织特异性缺失相应序列。纯合子 Vglut2-ires-Cre 敲入小鼠是可育的, 未报告异常。

参考文献:

1. Vong, L., et al. (2011). "Leptin action on GABAergic neurons prevents obesity and reduces inhibitory tone to POMC neurons." *Neuron* **71**(1): 142-154.
2. <https://www.jax.org/strain/028863>