

B6.129P2(C)-Cx3cr1^{tm2.1(cre/ERT2)}Jung

品系编号: GAP1012

品系简称: Cx3cr1^{CreER}**品系特点:**

Cx3cr1^{CreER} 敲入/敲除小鼠在单核吞噬细胞系统的 Cx3cr1 启动子的指导下表达他莫昔芬诱导的 Cre 重组酶, 使其可用于单核细胞和巨噬细胞区室以及小胶质细胞的发育命运研究。

遗传学信息:

遗传背景: B6.129

品系类型: 靶向突变

相关基因: CX3CR1

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
GAP1012-1	AAGACTCACGTGGACCTGCT	突变体-forward
GAP1012-2	CGGTTATTCAACTTGCACCA	突变体-reverse
GAP1012-3	AAGACTCACGTGGACCTGCT	野生型-forward
GAP1012-4	AGGATGTTGACTTCCGAGTTG	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	--
Kapa 2G HS buffer	1.30 X	2	94.0	--
MgCl ₂	2.60 mM	3	65.0	-- 每循环降 0.5℃
dNTP KAPA	0.26 mM	4	68.0	--
GAP1012-1	0.50 μM	5		-- 2-4 步重复 10 个循环
GAP1012-2	0.50 μM	6	94.0	--
甘油	6.50 %	7	60.0	--
Kapa 2G HS taq polym	0.03 U/μl	8	72.0	--
Dye	1.0 X	9		-- 6-8 步重复 28 个循环
DNA		10	72.0	--
		11	10.0	-- 保持

反应程序

组分	终浓度
ddH2O	
Kapa 2G HS buffer	1.30 X
MgCl ₂	2.60 mM
dNTP KAPA	0.26 mM
GAP1012-3	0.50 μM
GAP1012-4	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

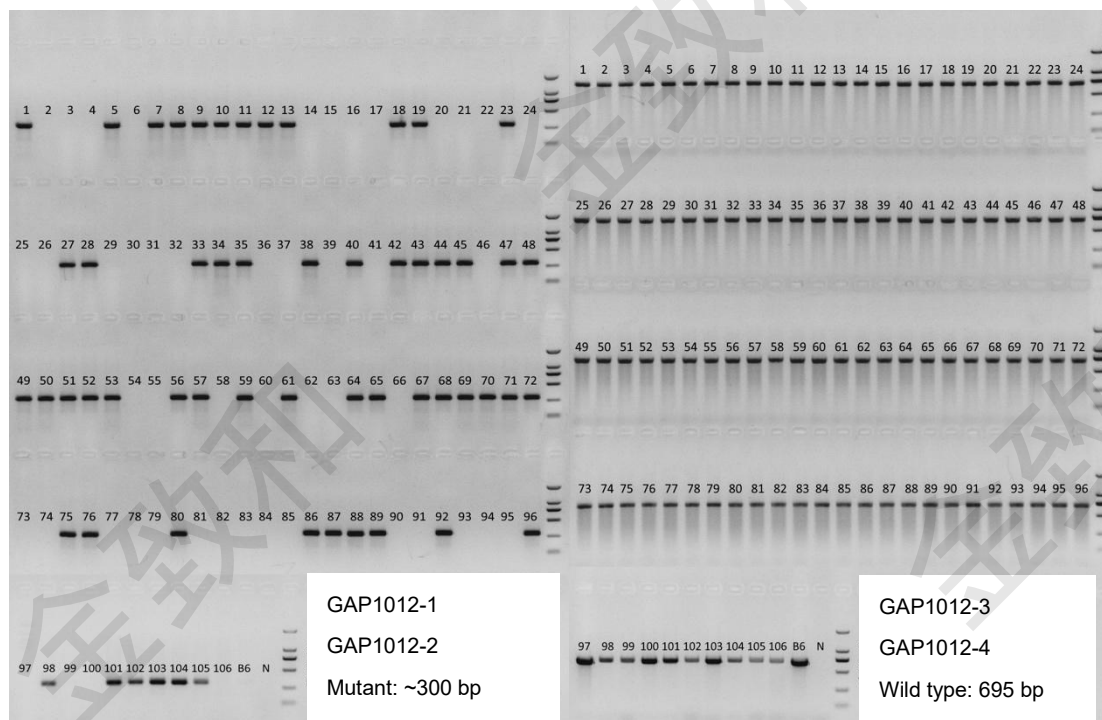
步骤	温度(℃)	时间	说明
1	94.0	--	
2	94.0	--	
3	65.0	--	每循环降 0.5℃
4	68.0	--	
5		--	2-4 步重复 10 个循环
6	94.0	--	
7	60.0	--	
8	72.0	--	
9		--	6-8 步重复 28 个循环
10	72.0	--	
11	10.0	--	保持

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
突变体	~300 bp
野生型	695 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：

Cx3cr1^{CreER} 敲入/敲除小鼠以内源性 *Cx3cr1* 启动子/增强子元件中表达 Cre-ER 融合蛋白。Cre-ER 融合蛋白的插入敲除内源性 CX3CR1 表达。CX3CR1 是一种特异性在单核吞噬细胞系统以及小胶质细胞中表达的趋化因子受体。当 Cx3cr1 CreER 小鼠与含有 loxP 侧翼序列的小鼠繁殖时，他莫昔芬诱导的 Cre 介导的重组将导致 floxed 序列的缺失。

参考文献：

1. <https://www.jax.org/strain/020940>