

B6(Cg)-Crh^{tm1(cre)}Zjh

品系编号: GAP1013

品系简称: CRH-ires-CRE

品系特点:

CRH-ires-CRE 敲入小鼠具有通过促肾上腺皮质激素释放激素基因座 (*Crh*) 的内源性启动子/增强子元件驱动, 在 CRH 阳性神经元中特异性表达 Cre 重组酶。

遗传学信息:

遗传背景: C57BL/6

品系类型: 靶向突变

相关基因: *Crh***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
GAP1013-1	GCCCCGCAGCCCTTGAA	野生型-forward
GAP1013-2	ACGCTGTTTTGTTACGAC	野生型-reverse
GAP1013-3	CACGACCAGGCTGCGGCTAAC	突变体-forward
GAP1013-4	TTGGCGAGAGGGGAAAGACC	突变体-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	--
GAP1013-1	0.50 μM	5		-- 2-4 步重复 10 个循环
GAP1013-2	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
GAP1013-3	0.50 μM
GAP1013-4	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

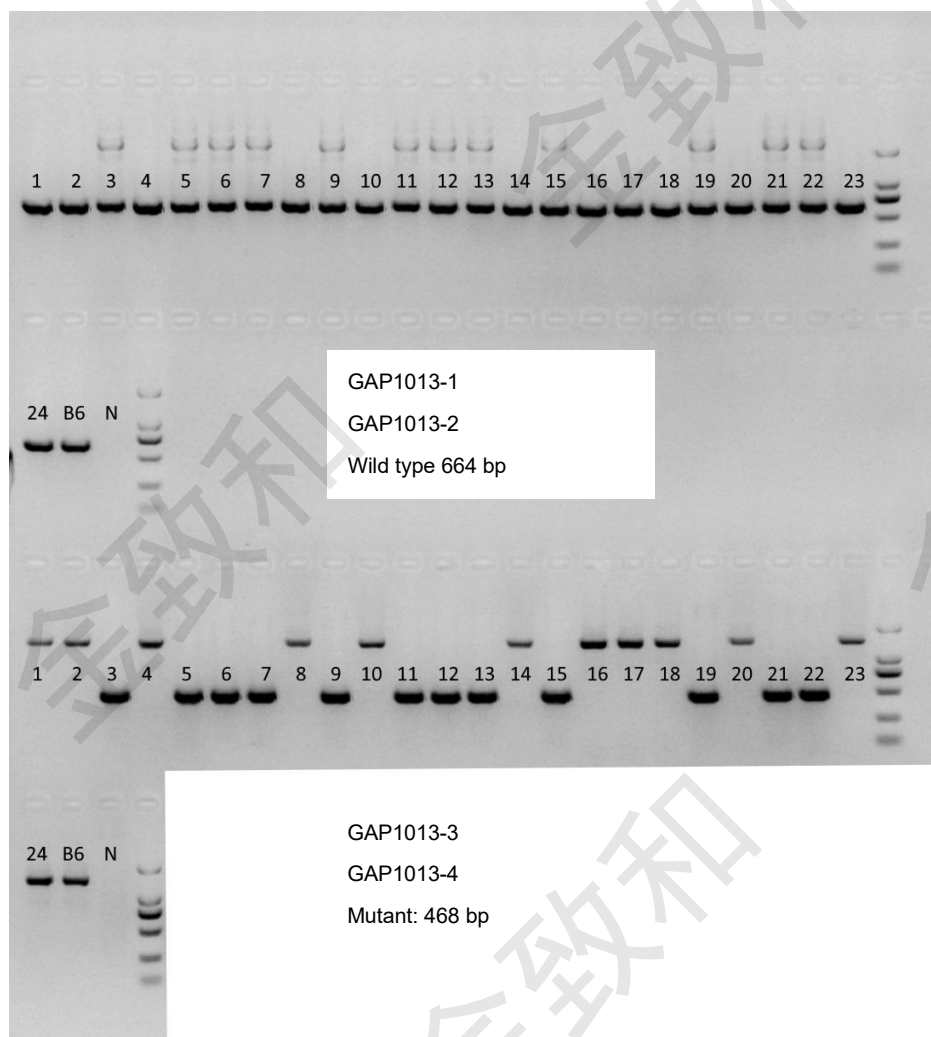
步骤	温度(℃)	时间	说明
1	94.0	--	
2	94.0	--	
3	65.0	--	每循环降 0.5℃
4	68.0	--	
5		--	2-4 步重复 10 个循环
6	94.0	--	
7	60.0	--	
8	72.0	--	
9		--	6-8 步重复 28 个循环
10	72.0	--	
11	10.0	--	保持

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
转基因	468 bp
野生型	664 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:

CRH-ires-CRE 等位基因在促肾上腺皮质激素释放激素基因 *Crh* 的 3' UTR 中具有内部核糖体进入位点和 Cre 重组酶。因此, cre 表达由内源性 *Crh* 启动子/增强子指导。当 CRH-ires-CRE 小鼠与含有 loxP 侧翼序列的小鼠配繁时, Cre 介导的重组将导致后代中表达 *Crh* 的细胞中的 floxed 序列缺失。

该品系小鼠的 Cre 重组酶特异地表达在 CRH 阳性神经元(一些中间神经元)中, 并且未检测到大脑以外的组织中的 cre 表达。

参考文献:

1. <https://www.jax.org/strain/012704>