

C57BL/6-Tg(Nes-cre/ERT2)KEisc

品系编号: GAP1014

品系简称: Nes-cre/ERT2

品系特点:

Nestin-Cre/ERT2 转基因小鼠在成年和发育中的小鼠大脑(包括神经元和神经胶质细胞前体)中表达他莫昔芬诱导的 Cre 重组酶。

遗传学信息:

遗传背景: C57BL/6J

品系类型: 转基因

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
GAP1014-1	GACCAGGTTTCGTTCACTCA	nestin-forward
GAP1014-2	CAAGTTAGGAGCAAACAGTAGC	nestin-reverse
GAP1014-3	CTAGGCCACAGAATTGAAAGATCT	Internal gene-forward
GAP1014-4	GTAGGTGGAAATTCTAGCATCATCC	Internal gene-reverse

2) PCR 反应体系及扩增程序:

反应程序 A**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	--	
GAP1014-1	0.50 μM	5		--	2-4 步重复 10 个循环
GAP1014-2	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 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
GAP1014-3	0.50 μM
GAP1014-4	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

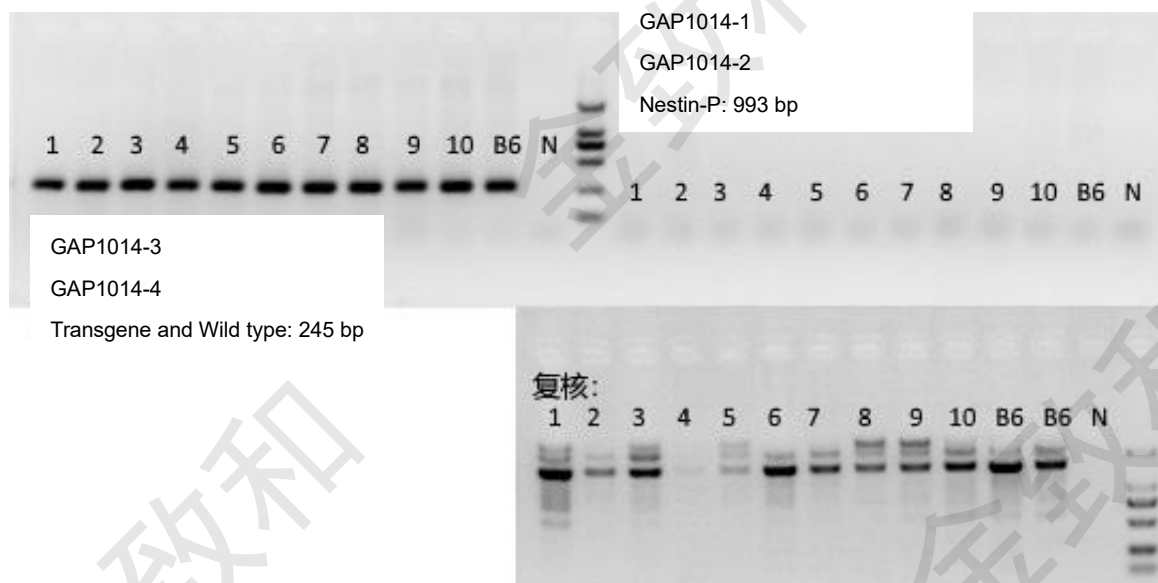
步骤	温度(℃)	时间	说明
1	94.0	--	
2	94.0	--	
3	65.0	--	每循环降 0.5℃
4	68.0	--	
5		--	2-4 步重复 10 个循环
6	94.0	--	
7	60.0	--	
8	72.0	--	
9		--	6-8 步重复 28 个循环
10	72.0	--	
11	10.0	--	保持

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	993 bp & 324 bp
野生型	324 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:

Nestin-Cre/ERT2 转基因小鼠在大鼠巢蛋白(*Nes*)启动子的控制下表达 *CreERT2* 融合蛋白。该品系纯合子是可存活至成年、可育的且大小正常。巢蛋白是一种中间丝蛋白，在发育过程中主要在放射状胶质细胞和神经干细胞中表达。*Cre-ERT2* 融合基因活性是可诱导的。当 *Nestin-Cre/ERT2* 转基因小鼠与含有 *loxP* 序列的小鼠繁殖时，他莫昔芬诱导的 *Cre* 介导的重组将导致后代细胞中 *floxed* 序列的缺失。具体来说，*Nestin-Cre/ERT2* 转基因指导 *cre* 在脑内表达巢蛋白的细胞中表达，通常局限于脑室下区 (SVZ) 和颗粒下区 (SGZ)。该菌株可用于研究巢蛋白表达细胞的谱系以及成年和发育中的小鼠大脑中巢蛋白表达细胞基因缺失的影响。

Cre-ERT2 融合蛋白由人雌激素受体的三重突变形式融合的 *Cre* 重组酶组成，该受体在生理浓度下不结合其天然配体 (17 β -雌二醇)，但会结合合成雌激素受体配体 4-羟基三苯氧胺 (OHT 或他莫昔芬)。*Cre-ERT2* 主要表达在细胞质，只有在接触他莫昔芬后才能进入细胞核内。

参考文献:

1. Sun, M. Y., et al. (2014). "Specificity and efficiency of reporter expression in adult neural progenitors vary substantially among nestin-CreER(T2) lines." J Comp Neurol **522**(5): 1191-1208.
2. Battiste, J., et al. (2007). "Ascl1 defines sequentially generated lineage-restricted neuronal and oligodendrocyte precursor cells in the spinal cord." Development **134**(2): 285-293.
3. Lagace, D. C., et al. (2007). "Dynamic contribution of nestin-expressing stem cells to adult neurogenesis." J Neurosci **27**(46): 12623-12629.
4. <https://www.jax.org/strain/016261>