

组分	终浓度	步骤	温度(°C)	时间	说明
ddH ₂ O		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°C
dNTP KAPA	0.26 mM	4	68.0	--	
GAP1023-1	0.50 μM	5		--	2-4 步重复 10 个循环
GAP1023-2	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

ddH ₂ O	
Kapa 2G HS buffer	1.30 X
MgCl ₂	2.60 mM
dNTP KAPA	0.26 mM
GAP1023-3	0.50 μM
GAP1023-4	0.50 μM
甘油	6.50 %
Kapa 2G HS taq polym	0.03 U/μl
Dye	1.0 X
DNA	

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	~371 bp
杂合子	~371 bp 和 446 bp
野生型	446 bp

应用领域:

Oligo2-cre 小鼠将 Cre 重组酶通过点突变的形式插入少突胶质细胞转录因子 2 (*Olig2* 基因) 的唯一外显子中。Cre 的存在破坏了 *Olig2* 的正常表达。

OLIG2 是脊髓中少突胶质细胞和运动神经元规范以及后脑体运动神经元发育所需的基本螺旋-环-螺旋转录因子。杂合子小鼠是健康且可育的。当该品系小鼠与含有 *loxP* flanked 序列的小鼠繁殖时, Cre 介导的重组将导致后代中表达 Cre 重组酶细胞中的 flanked 序列缺失。

参考文献:

1. Zawadzka, M., et al. (2010). "CNS-resident glial progenitor/stem cells produce Schwann cells as well as oligodendrocytes during repair of CNS demyelination." Cell Stem Cell 6(6): 578-590.
2. <https://www.jax.org/strain/025567>