

B6;129S-Penk^{tm2(cre)}Hze

品系编号: GAP1030

品系简称: Penk-IRES2-Cre

品系特点:

Penk-IRES2-Cre 敲入小鼠具有来自前脑啡肽原基因座的内源启动子/增强子元件的 Cre 重组酶表达。该品系小鼠的 Cre 重组酶在皮层的第 2 层和第 6 层以及嗅觉区域、海马结构、纹状体、苍白球和下丘脑内的受限人群中表达。在丘脑、中脑、脑桥、髓质和小脑中观察到分散的表达。

遗传学信息:

遗传背景: C57BL/6

品系类型: 靶向突变

相关基因: *Penk*

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
GAP1030-1	GGGGGCTTTATGCGGTTCT	野生型-forward
GAP1030-2	CAGTTGGGGTCACGGGTTTATT	野生型-reverse
GAP1030-3	GACGCCCGAGTGGTGGAT	突变体-forward
GAP1030-4	GCCCCTTGTTGAATACGCTTGAG	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
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	--	
GAP1030-1	0.50 μM	5		--	2-4 步重复 10 个循环
GAP1030-2	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
ddH ₂ O	
Kapa 2G HS buffer	1.30 X
MgCl ₂	2.60 mM
dNTP KAPA	0.26 mM
GAP1030-3	0.50 μM
GAP1030-4	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(°C)	时间	说明
1	94.0	--	
2	94.0	--	
3	65.0	--	每循环降 0.5°C
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	610 bp
野生型	322 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:

Penk-IRES2-Cre 敲入突变具有 IRES2 序列和插入前脑啡肽原基因 (Penk) 的翻译终止密码子下游的 Cre 重组酶基因。因此, Penk-IRES2-Cre 小鼠通过 Penk 基因座的内源启动子/增强子元件定向到 Penk 表达细胞表达 Cre 重组酶。当 Penk-IRES2-Cre 小鼠与含有 loxP 侧翼序列的小鼠繁殖时, Cre 介导的重组将导致后代中表达 Penk 的细胞中的 floxed 序列缺失。该品系小鼠的 Cre 重组酶的表达模式与内源性 Penk 相似, 具体来说, Cre 重组酶表达在皮层的第 2 层和第 6 层以及嗅觉区域、海马形成、纹状体、苍白球和下丘脑内的受限人群中富集。在丘脑、中脑、脑桥、髓质和小脑中观察到分散的表达。杂合子小鼠未见严重的身体或行为异常。

参考文献:

1. <https://www.jax.org/strain/025112>