

B6;129S-Gt(ROSA)26Sor^{tm32(CAG-COP4*H134R/EYFP)}Hze

品系编号: GAP4014

品系简称: Ai32

品系特点:

Ai32 小鼠在暴露于 Cre 重组酶后表达改进的通道视紫红质-2/EYFP 融合蛋白。这些小鼠可用于光遗传学研究,通过蓝光(450-490 nm)照射快速激活可兴奋细胞。

遗传学信息:

遗传背景: B6129SF2/J

品系类型: 基因敲入

相关基因: CAG-COP4*H134R/EYFP

饲养信息:**配繁策略:**

Homozygotex Homozygote

配繁特性:

当维持种群时,一般可以 Homozygote 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
GAP4014-1	CAT TGG TGG CAC TGA GAT TG	Mutant-Forward
GAP4014-2	AAG GGA GCT GCA GTG GAG TA	野生-Forward
GAP4014-3	CCG AAA ATC TGT GGG AAG TC	野生-Reverse
GAP4014-4	GAA CTT CAG GGT CAG CTT GC	Mutant-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	--	
GAP4014-1	0.50 μM	5	--	--	2-4 步重复 10 个循环
GAP4014-2	0.50 μM	6	94.0	--	
GAP4014-3	0.50 μM	7	60.0	--	
GAP4014-4	0.50 μM	8	72.0	--	
甘油	6.50 %	9	--	--	6-8 步重复 28 个循环
Dye	1.00X	10	72.0	--	
Kapa 2G HS taq polym	0.03 U/μl	11	10.0	--	保持

DNA

3) 预期结果:

基因型	预期结果
纯合子	220bp
杂合子	220bp 和 297bp
野生	297bp

应用领域:

ChR2(H134R)-EYFP 融合蛋白由莱茵衣藻衍生的通道视紫红质 2 组成, 该通道具有与增强的黄色荧光蛋白框内融合的功能获得性 H134R 替代。与 ChR2 相比, ChR2(H134R) 旨在产生更大的固定光电流。细菌视蛋白是结合了光敏结构域和离子通道或泵的视网膜结合蛋白。为细菌提供依赖于光的离子转运、膜电位改变和感觉功能。这种 ChR2(H134R) 充当蓝光驱动阳离子通道, 使细胞去极化并产生动作电位。因此, 用蓝光 (450-490 nm) 照射表达 ChR2(H134R) 的细胞会导致这些细胞中动作电位放电活动的快速和可逆的光刺激。

参考文献:

1. <https://www.jax.org/strain/012569>