

STOCK Gt(ROSA)26Sor^{tm1(DTA)Jpmb}

品系编号：GAP4015

品系简称：ROSA26-eGFP-DTA

品系特点：

ROSA26-eGFP-DTA 小鼠具有侧翼 loxP 的 STOP 盒，可防止白喉毒素片段 A (DTA) 的表达。暴露于 Cre 重组酶会去除 lox 终止片段 - 导致 cre 表达细胞的消融。这些 ROSA26-eGFP-DTA 小鼠可用于 Cre 诱导的特定细胞群的缺失。

遗传学信息：

遗传背景：C57BL/6J

品系类型：基因敲入

相关基因：eGFP-DTA

饲养信息：**配繁策略：**

Homozygote x Heterzygote

配繁特性：

当维持种群时，一般可以纯合雌、杂合雄进行保种。

基因型鉴定方案：

1) 鉴定引物：

引物名称	序列 (5'-3')	引物类型
GAP4015-1	GCG AAG AGT TTG TCC TCA ACC	Mutant-Reverse
GAP4015-2	AAA GTC GCT CTG AGT TGT TAT	共有-Forward
GAP4015-3	GGA GCG GGA GAA ATG GAT ATG	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	--
GAP4015-1	0.50 μM	5	--	2-4 步重复 10 个循环
GAP4015-2	0.50 μM	6	94.0	--
GAP4015-3	0.50 μM	7	60.0	--
甘油	6.50 %	8	72.0	--
Dye	1.00X	9	--	6-8 步重复 28 个循环
Kapa 2G HS taq polym	0.03 U/μl	10	72.0	--
DNA		11	10.0	-- 保持

3) 预期结果:

基因型	预期结果
转基因	~265bp
内参	324bp

应用领域:

ROSA26 -eGFP-DTA 等位基因在白喉毒素 A 亚基 (DTA) 基因上游具有 loxP 侧翼终止序列 (EGFP ::PGK-neo::3xpolyA)。突变小鼠显示 EGFP 的广泛表达, 但强转录终止序列阻止了 DTA 转录。当与在感兴趣的启动子控制下表达 Cre 重组酶的小鼠繁殖时, floxed-STOP 盒被移除并激活 DTA 表达 - 导致表达 cre 的细胞的特异性消融。纯合小鼠是有活力的, 大小正常, 并且没有表现出任何明显的身体或行为异常。报告显示, 一些纯合雄性不育。

ROSA26-eGFP-DTA 小鼠可单独用作荧光报告基因, 或与表达 cre 的小鼠组合以产生特定细胞群的条件缺失。ROSA26-eGFP-DTA 小鼠也可能在毒理学和蛋白质合成研究中具有应用。

例如，当与在中脑和脊髓背侧表达 Cre 重组酶的菌株杂交时，DTA 表达被激活，从而消除了表达 cre 的细胞，这种突变小鼠品系可用于中脑和神经管发育的研究。

例如，当与在角质形成细胞中表达他莫昔芬诱导型 Cre 重组酶的菌株杂交时，DTA 表达被激活，导致 KRT7 表达细胞的位置和形态发生改变，并且可能在酸反流的研究中 useful。

参考文献：

1. <https://www.jax.org/strain/006331>