

Tg(Col2a1-cre/ERT)KA3Smac

品系编号: GAP1001

品系简称: Col2CreER^T

品系特点:

Col2CreER^T 品系小鼠与含有感兴趣的 loxP 侧翼序列的小鼠繁殖时, 他莫昔芬诱导的 Cre 重组酶可介导重组将导致软骨细胞及其他表达内源性 II 型胶原基因的细胞类型中侧翼序列的缺失。

遗传学信息:

遗传背景: FVB/N

品系类型: 转基因

相关基因: *Col2a1*

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
GAP1001-1	CTCTTCGCTATTATTACCCCTCAGCTT	转基因-forward
GAP1001-2	CTTGCGAACCTCATCACTCGTTG	转基因-reverse
GAP1001-3	CTAGGCCACAGAATTGAAAGATCT	野生型-forward
GAP1001-4	GTAGGTGGAAATTCTAGCATCATCC	野生型-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
----	-----	----	--------	----	----

ddH2O		1	94.0	5min	
Kapa 2G HS buffer	1.30 X	2	94.0	30s	
MgCl ₂	2.60 mM	3	65.0	30s	每循环降 0.5℃
dNTP KAPA	0.26 mM	4	68.0	45s	
GAP1001-1	0.50 μM	5			2-4 步重复 10 个循环
GAP1001-2	0.50 μM	6	94.0	30s	
甘油	6.50 %	7	60.0	30s	
Kapa 2G HS taq polym	0.03 U/μl	8	72.0	45s	
Dye	1.0 X	9			6-8 步重复 28 个循环
DNA		10	72.0	5min	
		11	10.0	hold	保持

反应程序

组分	终浓度
ddH2O	
Kapa 2G HS buffer	1.30 X
MgCl ₂	2.60 mM
dNTP KAPA	0.26 mM
GAP1001-3	0.50 μM
GAP1001-4	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

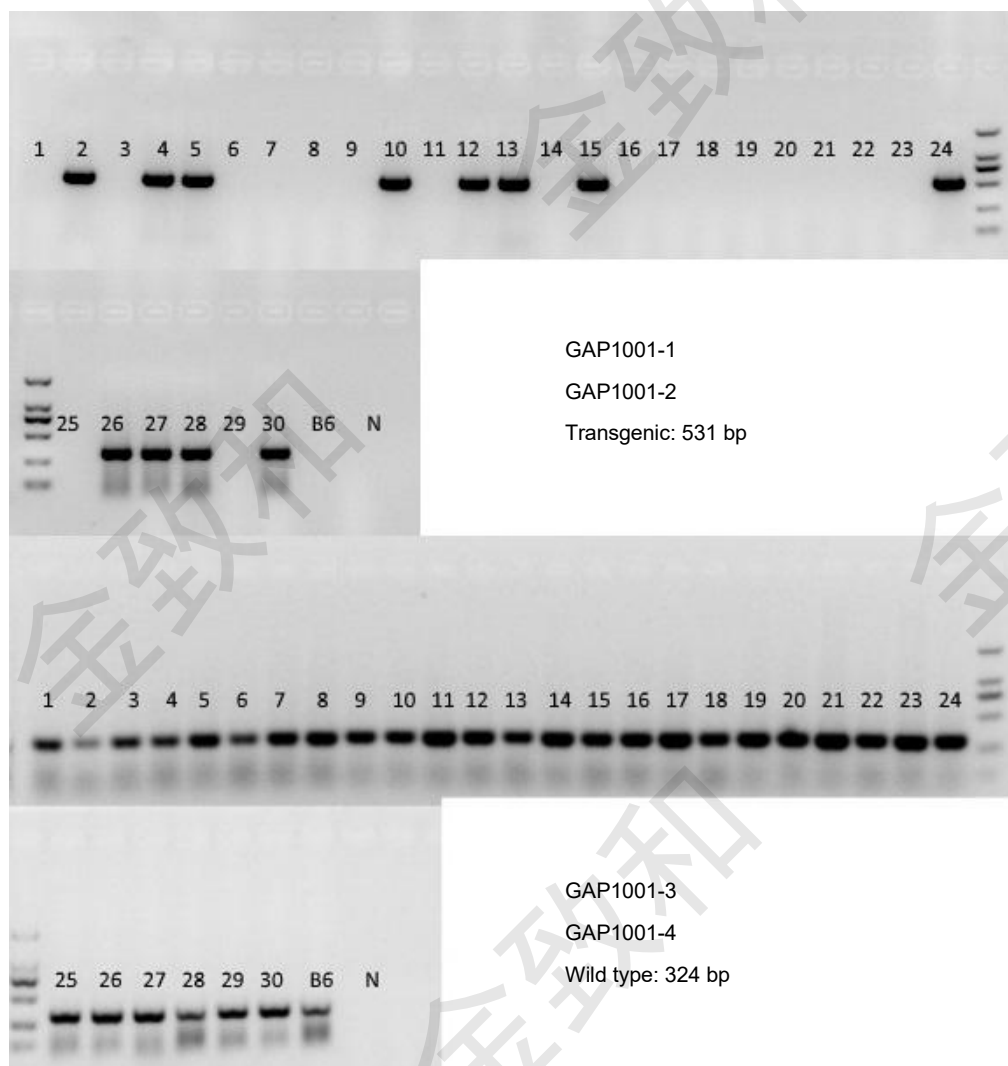
步骤	温度(℃)	时间	说明
1	94.0	5min	
2	94.0	30s	
3	65.0	30s	每循环降 0.5℃
4	68.0	45s	
5			2-4 步重复 10 个循环
6	94.0	30s	
7	60.0	30s	
8	72.0	45s	
9			6-8 步重复 28 个循环
10	72.0	5min	
11	10.0	hold	保持

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	531 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：

Col2CreER^T 转基因小鼠的 CreER^T 蛋白由与人类雌激素受体突变形式融合的 Cre 重组酶组成；它在生理浓度下不与其天然配体（17 β -雌二醇）结合，但会结合合成的雌激素受体配体 4-羟基三苯氧胺。受限于细胞质，CreER^T 只有在接触他莫昔芬后才能进入细胞核。为了抵消他莫昔芬注射液的混合雌激素激动剂作用，这可能导致怀孕小鼠晚期胎儿流产，可以联合使用黄体酮。

Col2CreER^T 品系小鼠与含有感兴趣的 loxP 侧翼序列的小鼠繁殖时，他莫昔芬诱导的 Cre 重组酶可介导重组将导致软骨细胞及其他表达内源性 II 型胶原基

因的细胞类型中侧翼序列的缺失。

参考文献：

1. <https://www.jax.org/strain/006774>