

B6.Cg- Gcg^{tm1.1(cre/GFP)}Rpa

品系编号: GAP1090

品系简称: Gcg^{cre:GFP}**品系特点:**

Cre 重组酶由小鼠 Gcg (胰高血糖素) 启动子表达。当与携带感兴趣的 loxP 侧翼序列的小鼠杂交时, 在孤束核(NTS)的表达 Gcg 的细胞中切除 floxed 区域。核定位信号 (NLS) 将 cre 的表达引导至细胞核。Myc-tag 功能尚未经过测试。虽然纳入了靶向结构, 但 GFP 荧光太低, 无法直接或通过免疫组织化学观察。该杂合小鼠是可行的、可生育的, 并且由于基因的编码区不受影响, 因此没有表现出明显的表型。

遗传学信息:

遗传背景: C57BL/6J

品系类型: 转基因

相关基因: cre/GFP

饲养信息:**配繁策略:**

Heterzygote x Wildtype or Wildtype x Heterzygote

配繁特性:

当维持种群时, 一般可以杂合子进行保种。

基因型鉴定方案:

1) 鉴定引物:

引物名称	序列 (5'-3')	引物类型	反应程序
GAP1090-1	GCA TTG GAG CCA TAA GCA G	共有引物	A,B
GAP1090-2	CAA TAC GTC CCT CCA AAC C	Wild type-Reverse	A
GAP1090-4	AGG CAA ATT TTG GTG TAC GG	Mutant-Forward	B

2) PCR 反应体系及扩增程序:

反应 A:

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
GAP1090-1	0.50 μM
GAP1090-2	0.50 μM
甘油	6.50 %
Dye	1.00X
Kapa 2G HS taq polym	0.03 U/μl
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

反应 B:

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
GAP1090-1	0.50 μM
GAP1090-3	0.50 μM
甘油	6.50 %
Dye	1.00X
Kapa 2G HS taq polym	0.03 U/μl
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:

基因型	预期结果
纯合子	~250bp

杂合子	~250bp 和 340bp
野生	340bp

应用领域：

胰腺 α 细胞特异性表达。

参考文献：

1. <https://www.jax.org/strain/030542>