

B6;129-Tg(APP^{Swe},tauP301L)1LfaPsen1^{tm1Mpm}

品系编号：GAP2006

品系简称：3X^{Tg}-AD**品系特点：**

3x^{Tg}-AD 小鼠主要应用于研究与突触功能障碍及阿尔茨海默症相关的斑块和缠结病理学相关领域。

遗传学信息：

遗传背景：C57BL/6J;129

品系类型：转基因

相关基因：APP^{Swe}, tauP301L, *Psen1***饲养信息：****配繁策略：**

Tg(APP^{Swe},tauP301L)1Lfa 小鼠与 PSNE1 的突变鼠杂交

配繁特性：

当维持种群时，一般共同注射的 APP^{Swe} 和 tauP301L 转基因纯合和 PS1M146V 敲入突变纯合的小鼠是可存活且可育的。该转基因小鼠尾部会有小扭结。

基因型鉴定方案：

1) 鉴定引物：

引物名称	序列 (5'-3')	引物类型
GAP2006-1	AGGACTGACCACTCGACCAG	APP ^{Swe} -forward
GAP2006-2	CGGGGGTCTAGTTCTGCAT	APP ^{Swe} -reverse
GAP2006-3	TGAACCAGGATGGCTGAG	tau-forward
GAP2006-4	TTGTCATCGCTTCCAGTCC	tau-reverse
GAP2006-5	CGCAGACCTCACAGTGAATTAC	Psen1 KI-forward
GAP2006-6	AACTGCACACGCACACTCTGAC	Psen1 KI-reverse

2) PCR 反应体系及扩增程序:

反应程序 A

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
GAP2006-1	0.50 μM
GAP2006-2	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

反应程序 B

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
GAP2006-3	0.50 μM
GAP2006-4	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

反应程序 C

组分	终浓度
ddH ₂ O	
Kapa 2G HS buffer	1.30 X
MgCl ₂	2.60 mM

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

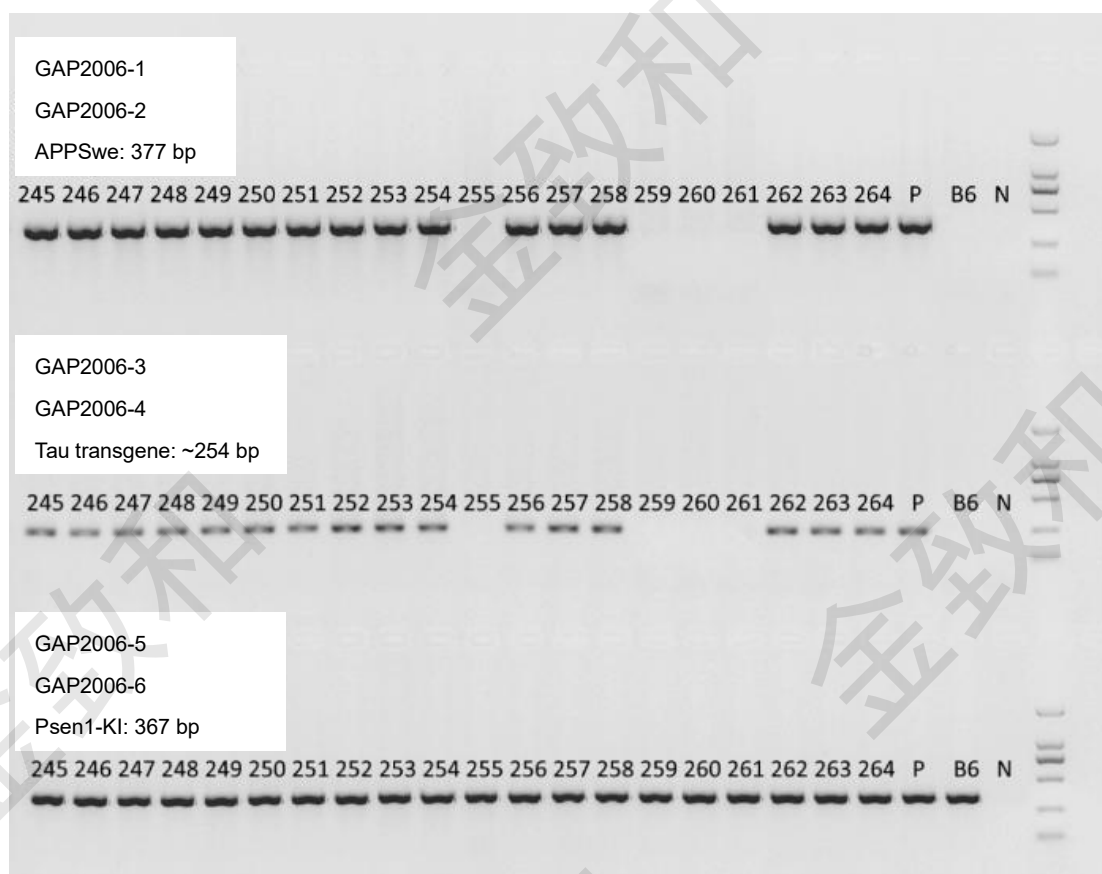
dNTP KAPA	0.26 mM	4	68.0	--
GAP2006-5	0.50 μM	5	--	2-4 步重复 10 个循环
GAP2006-6	0.50 μM	6	94.0	--
甘油	6.50 %	7	60.0	--
Kapa 2G HS taq polym	0.03 U/μl	8	72.0	--
Dye	1.0 X	9	--	6-8 步重复 28 个循环
DNA		10	72.0	--
		11	10.0	-- 保持

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	377 bp, ~254 bp 和 367 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:

阿尔兹海默症: 该转基因小鼠由 Tg(APP^{Swe},tau^{P301L})1Lfa 小鼠与 PSEN1 的突变鼠杂交获得。过表达的转基因仅限于中枢神经系统,特别是海马和大脑皮层等与在阿尔兹海默病相关区域。该品系小鼠表现为 β 淀粉样肽沉积逐渐增加,早在 3-4 个月时在某些大脑区域就检测到细胞内免疫反应性。在 6 月龄小鼠中可见突触传递明显受损。在 12-15 月龄,可在海马体中检测到构象改变和过度磷酸化的 tau 聚集体。这种突变小鼠表现出与突触功能障碍相关的斑块和缠结病理学,类似于在阿尔兹海默病患者中观察到的特征,可用于进行相关研究。

表型分析:

1. 行为、神经学表型

与野生型小鼠相比,该品系小鼠表现有认知障碍,在 4 月龄时表现为长期情境恐惧的记忆保留不足,且与海马和杏仁核中神经内 A β 的积累有关,但此时斑块和缠结尚不明显。在 6 月龄时,表现出对情境恐惧的长期和短期记忆显著受损。

2. 神经系统表型

该品系小鼠在 4 个月时出现明显的神经元内 β 淀粉样肽积累;6 月龄时,细胞外 A β 会沉积在额叶皮层第 4 和第 5 层,并随着年龄的增长而不断聚集。海马 CA1 区锥体神经元和基底外侧杏仁核及皮层神经元可见细胞内聚集;LTP 降低、基础突触传递受损。7 月龄时,GFAP 免疫反应性星形胶质细胞和 IBA-1 免疫反应性小胶质细胞的密度增加。

6 月龄无 tau 病理;到 12 月龄时,海马 CA1 神经元产生 tau 免疫反应性,随后在皮层中产生使用 A- β 抗体治疗该品系小鼠会清除海马和皮质中的神经内 A- β 。

参考文献:

1. Oddo, S., et al. (2003). "Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular Abeta and synaptic dysfunction." *Neuron* **39**(3): 409-421.
2. <https://www.jax.org/strain/004807>