

B6J.129S6(FVB)-Slc32a1^{tm2(cre)Low}

品系编号：GAP1041

品系简称：Vgat-ires-cre knock-in

品系特点：

Vgat-ires-Cre 敲入小鼠具有针对抑制性 GABA 能神经元细胞体的 Cre 重组酶表达，而不会破坏内源性囊泡抑制性氨基酸转运蛋白的表达。这些小鼠可用于产生条件突变，以研究与 GABA 能神经元功能相关的功能增益或损失和/或命运映射。

遗传学信息：

遗传背景：C57BL/6

品系类型：靶向突变

相关基因：Slc32a1

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
GAP1041-1	CTTCGTCATCGGCGGCATCTG	野生型-forward
GAP1041-2	CAGGGCGATGTGGAATAGAAA	野生型-reverse
GAP1041-3	CTTCGTCATCGGCGGCATCTG	突变体-forward
GAP1041-4	CCAAAAGACGGCAATATGGT	突变体-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	--	
GAP1041-1	0.50 μM	5		--	2-4 步重复 10 个循环
GAP1041-2	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

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
GAP1041-3	0.50 μM
GAP1041-4	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

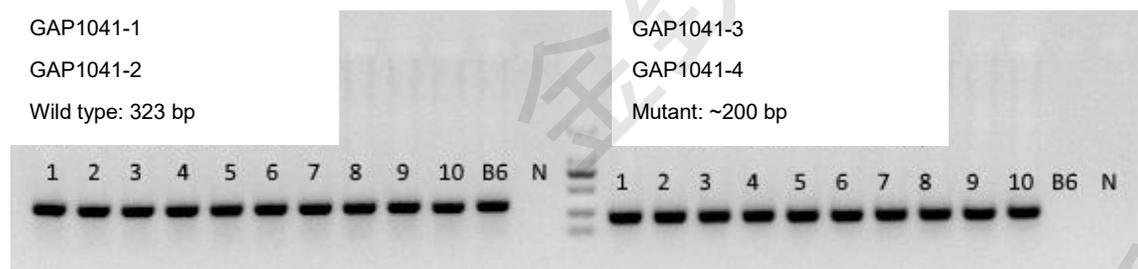
步骤	温度(°C)	时间	说明
1	94.0	--	
2	94.0	--	
3	65.0	--	每循环降 0.5°C
4	68.0	--	
5		--	2-4 步重复 10 个循环
6	94.0	--	
7	60.0	--	
8	72.0	--	
9		--	6-8 步重复 28 个循环
10	72.0	--	
11	10.0	--	保持

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
突变体	~200 bp
野生型	323 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:

Vgat-ires-Cre 敲入小鼠具有针对抑制性 GABA 能神经元细胞体的 Cre 重组酶表达, 而不会破坏内源性囊泡抑制性氨基酸转运蛋白的表达。杂合子和纯合子小鼠都是可行的和可生育的, 没有明显的身体异常。该品系小鼠在尾壳核、视交叉上核、中央杏仁核和无定带、伏隔核、侧隔、内侧隔、丘脑网状核、黑质网状核和小脑浦肯野细胞层表达 Cre 重组酶。当与含有 loxP 位点侧翼序列的菌株杂交时, Cre 介导的重组会导致后代中侧翼序列的组织特异性缺失。

参考文献:

1. <https://www.jax.org/strain/028862>