B6J.Cg-Vip^{tm1(cre)Zjh}

品系编号: GAP1043

品系简称: Vip-IRES-cre

品系特点:

Vip-IRES-Cre 小鼠通过血管活性肠多肽基因座的内源性启动子/增强子元件具有针对表达 *Vip* 的细胞的 Cre 重组酶表达。在新皮质、海马、嗅球、视交叉上核和其他离散的中脑和脑干区域中检测到 Cre 活动。该品系小鼠可能有助于研究整个哺乳动物大脑的神经 GABA 能回路。

遗传学信息:

遗传背景: C57BL/6

品系类型: 靶向突变

相关基因: Vip

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 |
|-----------|----------------------|-------------|
| GAP1043-1 | GGACACAGTAAGGGCACACA | 共同-reverse |
| GAP1043-2 | CCCCTGAACCTGAAACATA | 突变体-forward |
| GAP1043-3 | TCCTTGGAACATTCCTCAGC | 野生型-forward |

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(℃) 时间 说明

| ddH2O | | 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℃ |
| dNTP KAPA | 0.26 mM | 4 | 68.0 | |
| GAP1043-1 | 0.50 μΜ | 5 | | 2-4 步重复 10 个循环 |
| GAP1043-2 | 0.50 μΜ | 6 | 94.0 | |
| 甘油 | 6.50 % | 7 | 60.0 | W/K |
| Kapa 2G HS taq polym | 0.03 U/µI | 8 | 72.0 | |
| Dye | 1.0 X | 9 | | 6-8 步重复 28 个循环 |
| DNA | | 10 | 72.0 | l/Xv |
| | | 11 | 10.0 | 保持 |
| | | | | |

反应程序

扩增程序

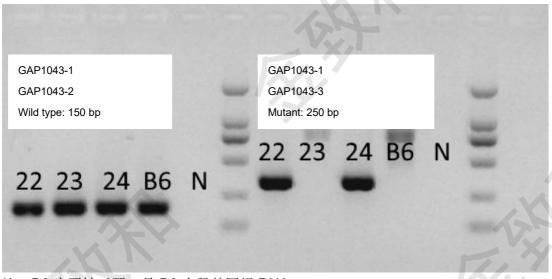
| <i></i> | | • | • | | |
|----------------------|-----------|----|-------|----|----------------|
| 组分 | 终浓度 | 步骤 | 温度(℃) | 时间 | 说明 |
| ddH2O | | 1 | 94.0 | | |
| Kapa 2G HS buffer | 1.30 X | 2 | 94.0 | | |
| MgCl ₂ | 2.60 mM | 3 | 65.0 | | 每循环降 0.5℃ |
| dNTP KAPA | 0.26 mM | 4 | 68.0 | | |
| GAP1043-1 | 0.50 μΜ | 5 | | | 2-4 步重复 10 个循环 |
| GAP1043-3 | 0.50 μΜ | 6 | 94.0 | | |
| 甘油 | 6.50 % | 7 | 60.0 | | |
| Kapa 2G HS taq polym | 0.03 U/µI | 8 | 72.0 | | |
| Dye | 1.0 X | 9 | | | 6-8 步重复 28 个循环 |
| DNA | | 10 | 72.0 | | |
| | | 11 | 10.0 | FZ | 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 | 468 bp |
| 野生型 | 664 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:

Vip-IRES-Cre 等位基因在血管活性肠多肽基因座的 3'UTR 含有一个内部核糖体进入位点和 Cre 重组酶。因此,该品系小鼠被设计成具有指导新皮质、海马、嗅球、视交叉上核和其他离散的中脑和脑干区域中的 cre 表达的内源性 Vip 启动子/增强子元件。

当 Vip-IRES-Cre 小鼠与含有 loxP 侧翼序列的小鼠繁殖时, Cre 介导的重组将导致后代中表达 Vip 的细胞中的 floxed 序列缺失。。

参考文献:

1. https://www.jax.org/strain/031628