

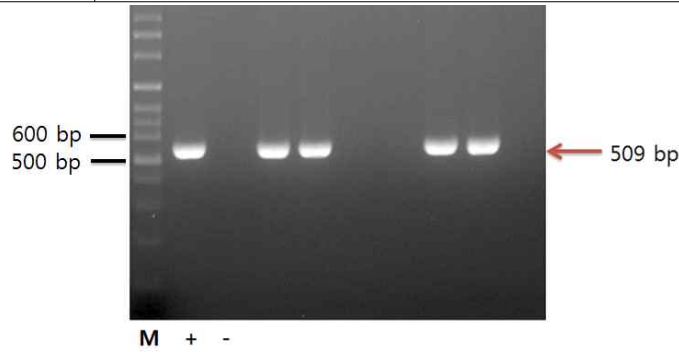
## 질환모델동물 정보서

관리번호	18-NIFDS-M-NE-04
<b>질환모델동물 정보</b>	
질환모델동물명	C57BL/6-Tg(NSE-hAPPsw)Korl
유전자 조작 방법	Transgenic
Background Strain	C57BL/6NKorl
<b>제작방법</b>	
wedish amyloid precursor protein(APPsw; Lys670→Asn, Met671→Leu)을 뇌조직에서 과발현하여 치매 발병 촉진한 모델	
<b>활용연구분야</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- 알츠하이머 치매 발병기전 연구</li> <li>- 타겟 치료제 탐색 연구</li> </ul>	
<b>Genetic Engineering 정보</b>	
유전자명	Human $\beta$ -amyloid precursor mutation protein(K670N/M671N); hAPPsw
유전자 기능	Amyloid $\beta$ 42 및 COX-2 단백질의 생성을 촉진
<b>유전자 조작 위치(Chr/gene/exon no. 포함)</b>	
<input type="checkbox"/> Chromosome Location : Unknown	
<b>Construct/Mutation Map</b>	
<div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: center;"> <div style="margin-bottom: 20px;"> <p><b>A</b></p> </div> <div> <p><b>B</b></p> </div> </div>	

## Genotyping Strategy

### Genotyping Primer 정보 및 결과

<b>Primer Sequence</b>	NSE-5	5'-CTG AGT CTG CAG TCC TCG A-3
	APP-3	5'-CTC TTC TCA CTG CAT GTC TC-3'



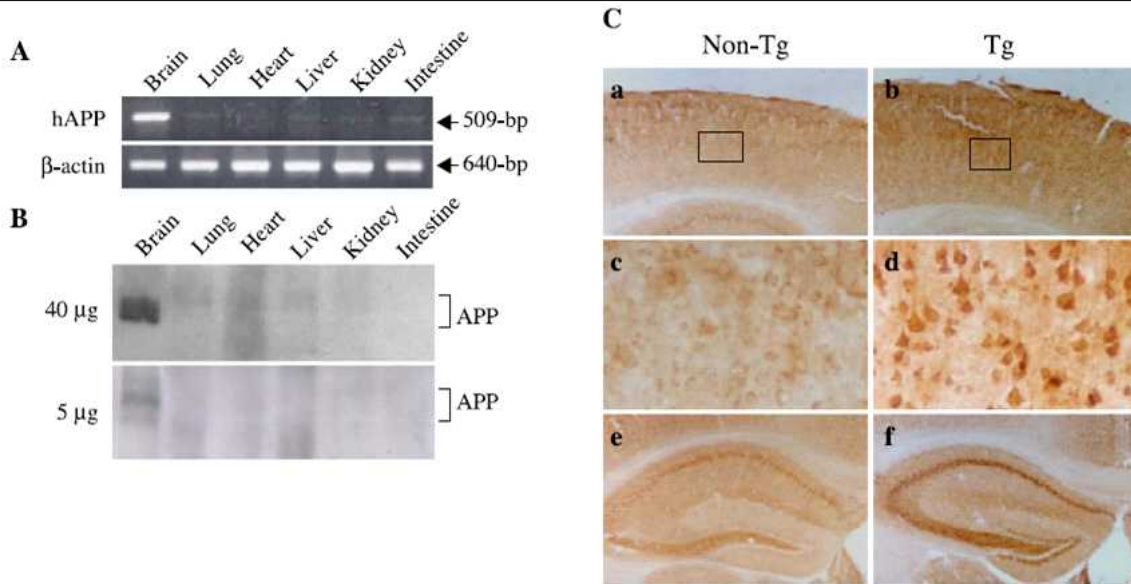
### Genotyping Protocol

PCR 반응액 조제	구성물		농도		양	
	Sterile water			-	16	$\mu\text{L}$
	Genomic DNA	50~100	$\text{ng}/\mu\text{L}$		2	$\mu\text{L}$
	Forward primer	10	$\text{pM}$		1	$\mu\text{L}$
	Reverse primer	10	$\text{pM}$		1	$\mu\text{L}$
	PCR Premix	2	$\times$		20	$\mu\text{L}$
PCR 반응 조건	단계		온도		시간	
	Pre-denaturation	95	$^{\circ}\text{C}$	5 min	sec	
	Denaturation	95	$^{\circ}\text{C}$	30 sec		
	Annealing	62	$^{\circ}\text{C}$	30 sec		
	Elongation	72	$^{\circ}\text{C}$	1 min	sec	
	cycle 수	30 cycle				
	Post-elongation	72	$^{\circ}\text{C}$	7 min	sec	
	hold	4	$^{\circ}\text{C}$			
증폭 산물 크기	WT	ND				bp
	APPsw	509				bp

## 특이사항

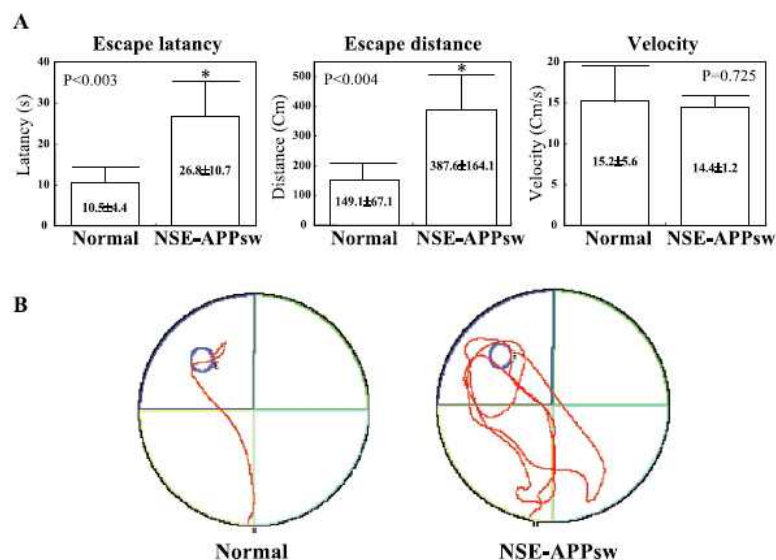
- PCR product는 2% agarose gel에서 구별됨
- 반응액 구성에 필요한 dNTP, PCR buffer, Taq polymerase는 PCR Premix로 대체하여 사용할 수 있음. 본 결과의 PCR 조건 확립에는 PCR Premix (Bioneer, Cat#K2016)가 사용되었음

## Expression test 정보 및 결과



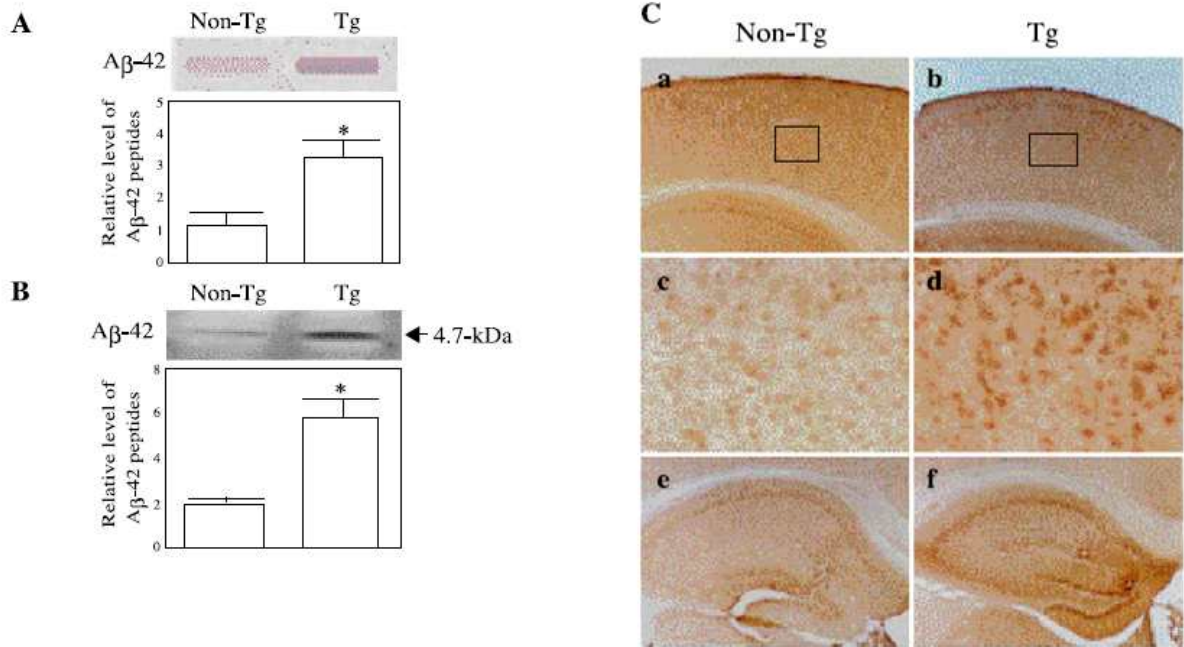
- 조직 특이적 발현 (RT-PCR , IHC)
  - : hAPP transcript(A)와 단백질(B)이 뇌조직에서 특이적으로 발현
  - : 형질전환마우스의 대뇌피질과 해마조직에서 APP가 대조군에 비해 과발현

## Phenotype 정보



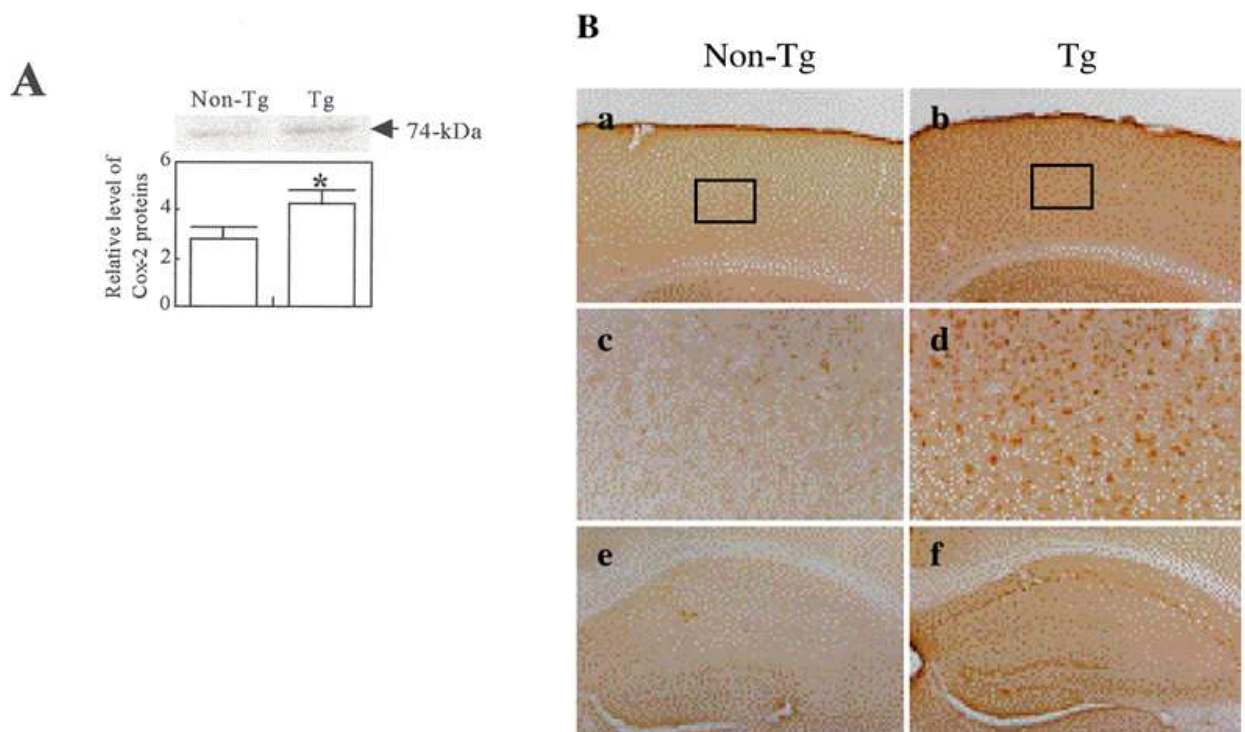
- Water maze test
  - : Long term memory(Learning memory)를 12개월령 마우스에서 측정

: 형질전환마우스는 대조군에 비해 도피시간 및 거리가 증가하고 움직이는 속도가 저하됨



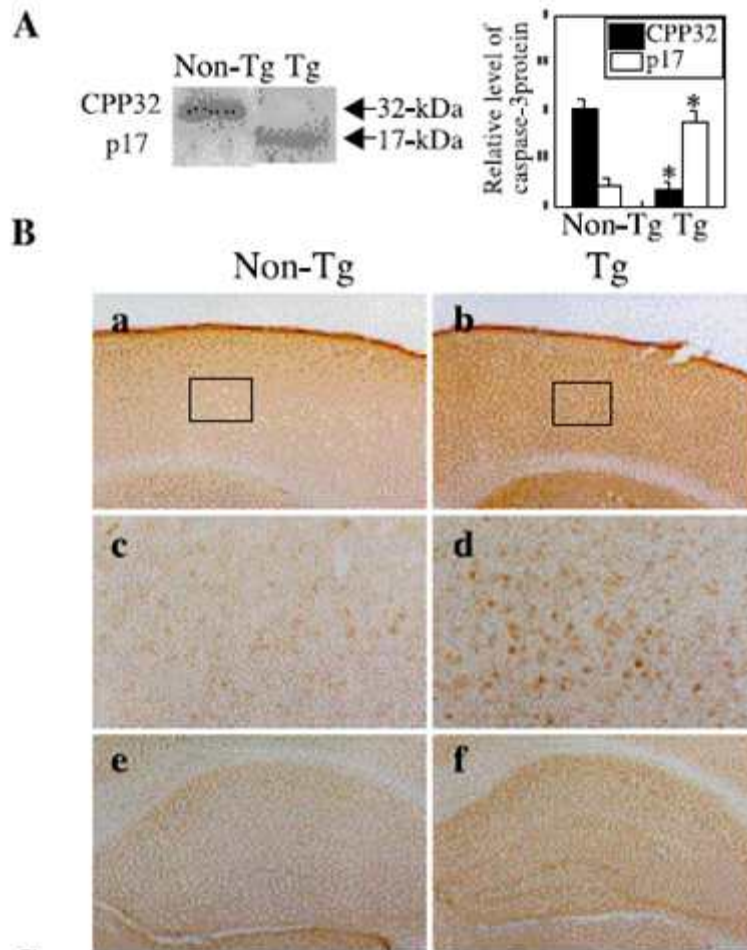
○ Aβ-42 depositon (Dot blot, Western blot, IHC)

: 형질전환마우스에서 Aβ -42 발현이 대조군에 비해 증가



○ COX2 발현 (Dot blot, IHC)

: 형질전환마우스에서 COX2 level이 대조군에 비해 증가



○ COX2 발현 (Western blot, IHC)

: (A) Caspase3의 activated form인 p17이 형질전환마우스에서 대조군에 비해 증가한 반면, precursor of Caspase3(CPP32)는 감소

: (B) 형질전환마우스에서 Caspase3의 positive neuron이 대뇌피질과 해마조직에서 관찰됨

## 사육관리 정보

### 번식능력 및 번식방법(Breeding Scheme)

- 번식능력 : 6-9마리
- 번식방법 : hemizygote × wild type

### 사육관리에서 특별히 요구되는 사항

## Reference

- Jee SW et al. 2007. Analysis of differentially expressed genes in early- and late-stage APPsw-transgenic and normal mice using cDNA microarray. International Journal of Molecular Medicine. 19(3):461-468.

- Seung W. Jee et al. 2006. Oligonucleotide-based analysis of differentially expressed genes in hippocampus of transgenic mice expressing NSE-controlled APPsw. *Neurochem Res.* 31:1035-1044.
- Seung W. Jee et al. 2005. cDNA microarray-based analysis of differentially expressed genes in transgenic brains expressing NSE-controlled APPsw. *International journal of molecular medicine.* 16:547-552.
- Dae Y. Hwang et al. 2005. Aging-related correlation of insulin-degrading enzyme with  $\gamma$ -secretase-generated products involving insulin and glucose levels in transgenic mice. *Neurochemical Research.* 30(9):1171-1177.
- Dae Y. Hwang et al. 2004. Aberrant expressions of pathogenic phenotype in alzheimer's diseased transgenic mice carrying NSE-controlled APPsw. *Experimental Neurology.* 186:20-32.
- Se H. Min et al. 2003. Differential expression of proteins of caspases and Bcl-2 families in the brain of mice. *International Journal of Molecular Medicine.* 12:181-183.
- Sun B. Shim et al. 2008. Nicotine leads to improvements in behavioral impairment and an increase in the nicotine acetylcholine receptor in transgenic mice. *Neurochem Res.*

특허 :

- APPsw 유전자를 발현하는 형질전환 치매 마우스 (등록번호 : 10-2004-011073)