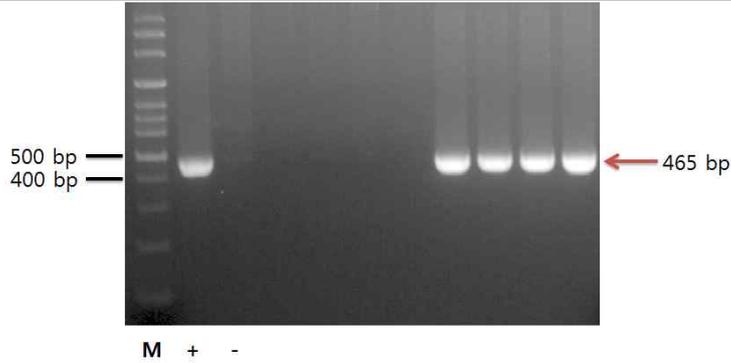


Genotyping Strategy

Genotyping Primer 정보 및 결과

Primer Sequence	NSE-5	5'-CTG AGT CTG CAG TCC TCG A-3'
	hTau-4	5'-CGA TCC CCT GAT TTT GGA G-3'



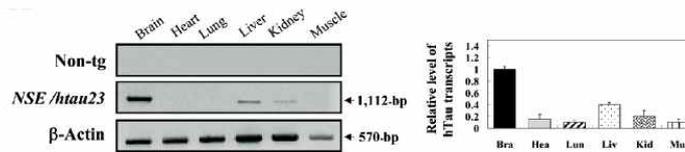
Genotyping Protocol

PCR 반응액 조제	구성물	농도		양		
	Sterile water		-	16	$\mu\ell$	
	Genomic DNA	50~100	$\text{ng}/\mu\ell$	2	$\mu\ell$	
	Forward primer	10	μM	1	$\mu\ell$	
	Reverse primer	10	μM	1	$\mu\ell$	
	PCR Premix	2	\times	20	$\mu\ell$	
	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	$^{\circ}\text{C}$			

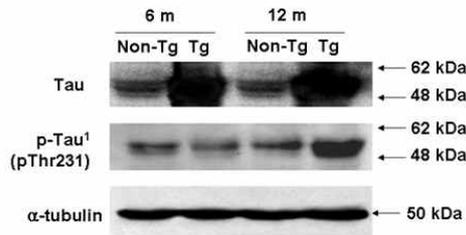
증폭 산물 크기	WT	-	bp
	TG	465	bp
특이사항	<ul style="list-style-type: none"> ○ PCR product는 1% agarose gel에서 구별됨 ○ 반응액 구성에 필요한 dNTP, PCR buffer, Taq polymerase는 PCR Premix로 대체하여 사용할 수 있음. 본 결과의 PCR 조건 확립에는 PCR Premix (Bioneer, Cat#K2016)가 사용되었음 		

Expression test 정보 및 결과

Tau 단백질 발현 및 인산화 (Western Blot)



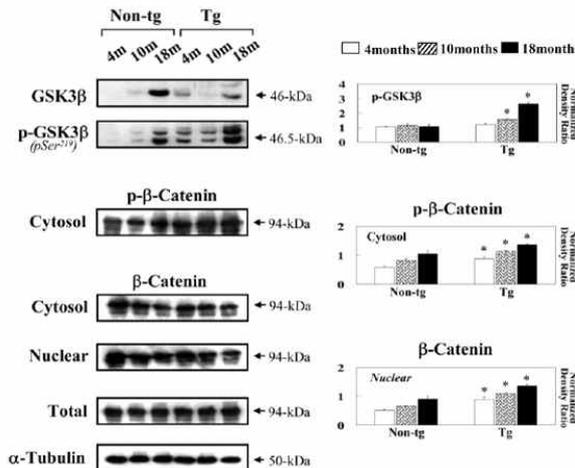
- Tau 단백질이 뇌조직에서 특이적으로 과발현됨



- 6개월령과 12개월령의 Tg마우스에서 tau가 모두 과발현 되었으며 특히 12개월령에서 Tau의 과인산화 확인

치매 관련 단백질 발현 (Western blot)

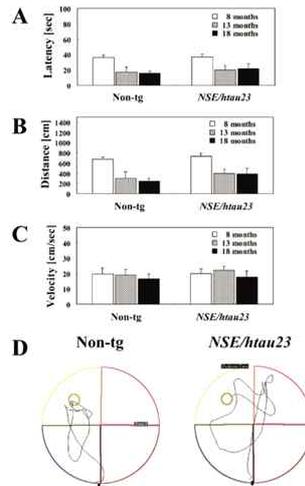
- 형질전환 마우스에서 연령이 증가할수록 GSK3β 발현 및 인산화 발현 증가
- GSK3β에 의해 인산화되는 β-catenin 단백질 발현 또한 연령이 증가할수록 증가



Phenotype 정보

행동변화분석 - 장기기억능력 측정 (Water maze test)

• 형질전환마우스는 대조군에 비해 도피시간 및 거리 증가, 움직이는 속도 감소



사육관리 정보

번식능력 및 번식방법(Breeding Scheme)

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

사육관리에서 특별히 요구되는 사항

Reference

- Woo JM et al. Characterization of changes in global gene expression in the brain of neuron-specific enolase/human Tau23 transgenic mice in response to overexpression of Tau protein. *Int J Mol Med*. 2010;25(5):667-75
- Shim SB et al. Tau overexpression in transgenic mice induces glycogen synthase kinase 3beta and beta-catenin phosphorylation. *Neuroscience*. 2007;146(2):730-40
- Leem YH et al. Repression of tau hyperphosphorylation by chronic endurance exercise in aged transgenic mouse model of tauopathies. *J Neurosci Res*. 2009;87(11):2561-70

특허

- hTau24 유전자 발현 형질전환 치매 마우스 및 그 제조방법 (등록번호 : 10-0734815)