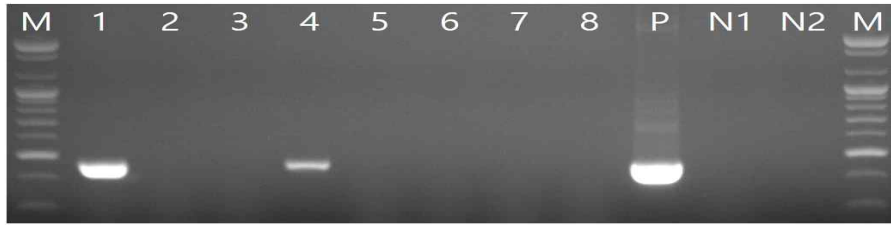




질환모델동물 정보서

관리번호		
질환모델동물 정보		
질환모델동물명	FVB-Tg(Defa6- ^{ERT2} Cre ^{ERT2})1snupy/Korl	
유전자 조작 방법	Random insertion	
Background Strain	FVB	
개발자	성명	염 수 청
	연락처	033-339-5750 / scyeom@snu.ac.kr
분석자	성명	염 수 청
	연락처	033-339-5750 / scyeom@snu.ac.kr
개발일	2015.7.25.	
이관동물 세대수		
Live animal	F5	
수정란/정자		
Genetic Engineering 정보		
유전자명	Defa6- ^{ERT2} Cre ^{ERT2}	
유전자 기능	Cre recombinase enzyme	
유전자 조작 위치(Chr/gene/exon no. 포함)		
<input type="checkbox"/> Chromosome Location: Unknown		
Construct/Mutation Map		
<p>Defa6: mouse Defa6 promoter, 6.6 kb (-6.57 kb to +0.04 kb) Open box, rabbit β-globin intron ERT2-Cre-CRT2: Cre recombinase flanked by ERT2 Closed box: SV40 poly A sequence</p>		
Genotyping Strategy		
Genotyping Primer 정보 및 결과		
Primer Sequence	F	'5- CTGGCATTCTGGGGATTG-3'
	R	'5- GCTTGCATGATCTCCGGT -3'



+: Defa6 tg mouse
 -: Defa6 non-tg mouse

○ P/C: injection DNA, TG(#1, #3), Wild type(#2, 3, 5, 6, 7, 8 – no PCR band)

Genotyping Protocol

PCR 반응액 조제	구성물		농도		양	
	Sterile water			-	18	μL
	Genomic DNA		30	$\text{ng}/\mu\text{L}$	1	μL
	dNTP			mM		μL
	PCR buffer			x		μL
	Forward primer		100	pM	0.5	μL
	Reverse primer		100	pM	0.5	μL
	Taq polymerase			$\text{U}/\mu\text{L}$		μL
PCR 반응 조건	단계		온도		시간	
	Pre-denaturation		94	$^{\circ}\text{C}$	5 min 00 sec	
	Denaturation		94	$^{\circ}\text{C}$	0 min 30 sec	
	Annealing		55	$^{\circ}\text{C}$	0 min 30 sec	
	Elongation		72	$^{\circ}\text{C}$	0 min 30 sec	
	cycle 수		30 Cycles			
	Post-elongation		72	$^{\circ}\text{C}$	7 min 00 sec	
증폭 산물 크기	WT					bp
	Tg				455	bp
특이사항	○ Premix 사용함					

Expression test 정보 및 결과

RT-PCR 정보 및 결과

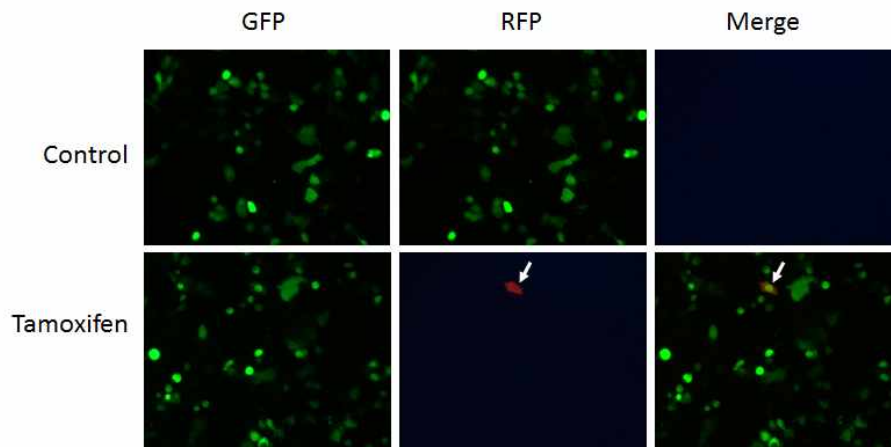
Primer	F					
	R					
Sequence						
PCR 반응 조건	단계		온도		시간	
	Pre-denaturation			$^{\circ}\text{C}$	min	sec
	Denaturation			$^{\circ}\text{C}$	min	sec
	Annealing			$^{\circ}\text{C}$	min	sec
	Elongation			$^{\circ}\text{C}$	min	sec
	Post-elongation			$^{\circ}\text{C}$	min	sec
	cycle 수		cycles			

해당사항 없음

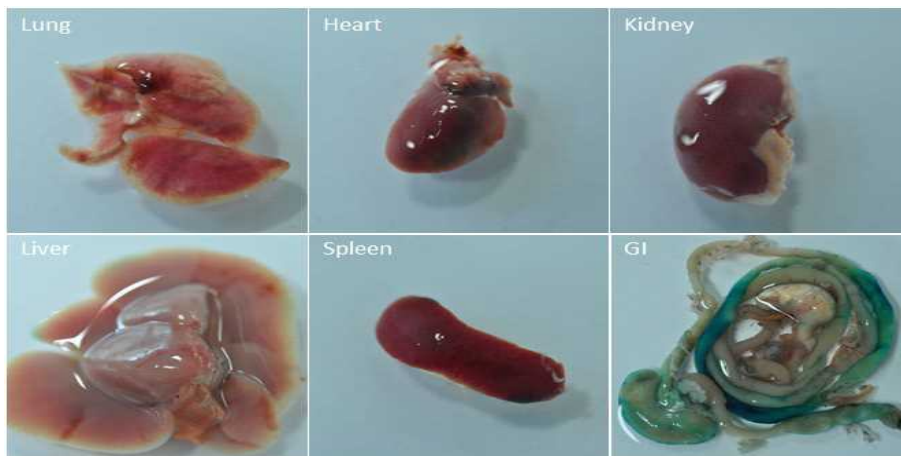
Western blot 정보 및 결과

antibody				
	해당사항 없음			

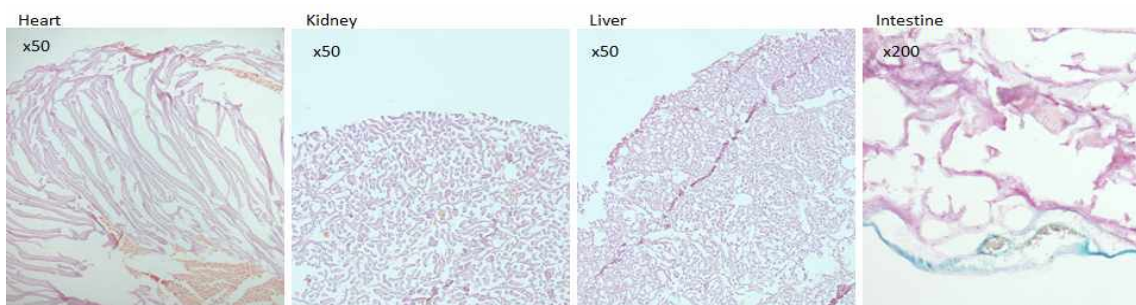
Phenotype 정보



- 4-OHT 처리한 Defa6-^{ERT2}cre^{ERT2} and PCMV-eGFP/RFP cotransfected HCT116 cell에서 RFP signal을 확인하여 발현분석 완료 (10uM of tamoxifen for 48h)



- FVB.Tg(Defa6-^{ERT2}cre^{ERT2}) mouse와 B6.Rosa26-loxp2-stop-loxp-LacZ의 번식을 통해 생산한 6주령 double mutant mouse의 장기 (lung, heart, kidney, liver, spleen, Intestine)을 대상으로 LacZ stain 진행
- 주로 소장 하단부에서 LacZ stain positive region이 확인됨



※ X-gal whole mount staining

- Tamoxifen treatment : volume : 9mg/40g, frequency : 3 times
- X-gal stain
 - 시기 : tamoxifen 투여 후 24시간 이후

•X-gal stain solution 조성 : 1X PBS(pH8.5), 5mM potassium ferricyanide , 5mM potassium ferrocyanide, 0.1% X-gal solution, 2mM MgCl₂, 0.02% Igepal CA-630, 0.01% sodium deoxycholate

•stain condition : 37°C, 3hr

- Clearing & Imaging

•Clearing : Glycerol + 1% KOH •Imaging : Leica M205 FA

사육관리 정보

번식능력 및 번식방법(Breeding Scheme) (Tg×WT 기준)

○ 번식방법 : hemizygote transgenic × wild type

○ 번식특성 : 우수한 번식형질

○ Genotyping : 산자 중 PCR을 통하여 확인된 산자를 활용하여 계대번식/backcrossing

사육관리에서 특별히 요구되는 사항

해당없음

Reference

해당없음