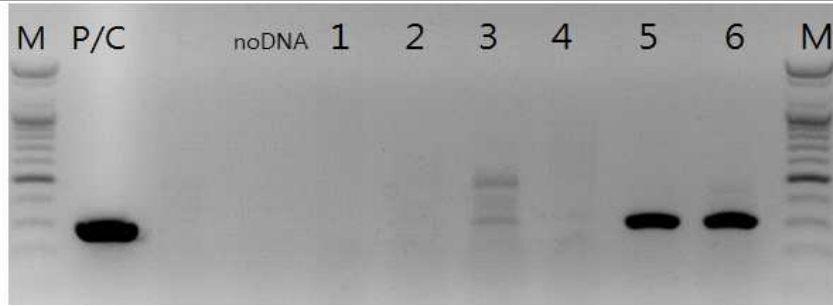




질환모델동물 정보서

관리번호		
질환모델동물 정보		
질환모델동물명	FVB-Tg(DCLK1- ^{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	2016	
이관동물 세대수		
Live animal	F8	
수정란/정자		
Genetic Engineering 정보		
유전자명	MMTV- ^{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>Alb-E: mouse albumin enhancer, 2 kb (-11.2 to -9.2 kb) Alb-P: mouse albumin promoter, 0.85 kb (-0.81 kb to +0.04 kb) Int: rabbit β-globin intron ERT2-Cre-CRT2: Cre recombinase flanked by ERT2 Closed box: SV40 poly A sequence</p>		
○ Cut with SacII/KpnI or NotI/KpnI and purify 6.7 kb (2.9 for vector) fragment for injection DNA preparation		
Genotyping Strategy		
Genotyping Primer 정보 및 결과		
Primer	F	'5- GGATGATAGGCAGGCAATAG-3'
	R	'5- TCATGTCTCCAGCCATGGTG -3'
Sequence		



○ P/C: injection DNA, TG(#5, #6), Wild type(#1, 2, 3, 4, 5 – 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	60	$^{\circ}\text{C}$	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	301				bp
특이사항	○ Premix 사용함					

Expression test 정보 및 결과

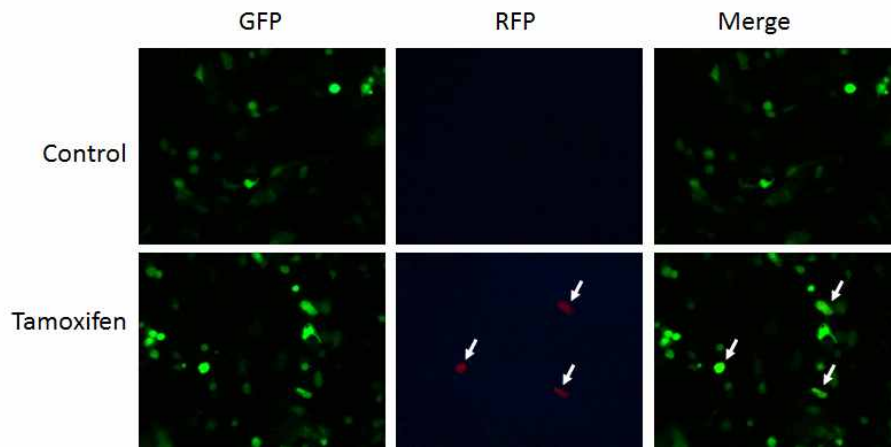
RT-PCR 정보 및 결과

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						

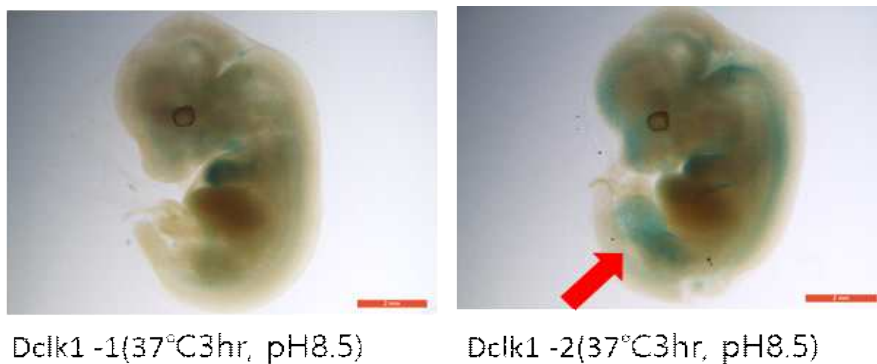
Western blot 정보 및 결과

antibody	
해당사항 없음	

Phenotype 정보



- 4-OHT 처리한 $Dclk1^{-ERT2}cre^{ERT2}$ and PCMV-eGFP/RFP cotransfected HCT116 cell에서 RFP signal을 확인하여 발현분석 완료 (10uM of tamoxifen for 48h)



<Dclk1-1 : wild type , Dclk1-2 : transgenic>

- FVB.Tg($Dclk1^{-ERT2}cre^{ERT2}$) mouse와 B6.Rosa26-loxp2-stop-loxp-LacZ의 번식을 통해 생산한 double mutant fetus (15.5d)을 대상으로 LacZ stain 진행
 - DCLK1은 tumor stem cell marker로서 정상적으로 신경세포(nerve system), musculoskeletal system 및 소화기(alimentary system)에서 주로 발현됨
- ※ 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