www.firstlight.cn

返回首页

人t-PA突变体cDNA打靶敲入小鼠ES细胞b-酪蛋白位点的研

摘要 应用克隆的基因组序列作为同源臂，构建了小鼠b-酪蛋白基因定位敲入打靶载体。短臂长2 5′端侧翼区、第1外显子、第1内含子、部分第2外显子。长臂包括小鼠b-酪蛋白基因部分第2内含子、第 子、部分第7内含子，长3.4 kb。人t-PA突变体cDNA在第2外显子中，与小鼠b-酪蛋白信号肽序列融合。 白基因第2内含子中部，负筛选标记tk位于短臂外侧。ES细胞株TC-1在滋养层上培养扩增。处理ES细胞 后，将45 mg线性化的打靶载体DNA与1 ml细胞混匀后电击。转染的细胞在含G418和Gancyclovir的选择 2个抗性克隆，扩增、提取基因组DNA， EcoR I酶切后，用打靶载体5¢端内侧探针进行Southern杂交， β-酪蛋白基因由于敲入的人t-PA突变体携带一个EcoR I位点，中靶等位基因出现6.6 kb。从78株ES细胞 组的中靶ES细胞。为构建基因打靶小鼠模型奠定了基础。

存档文本