

人t-PA突变体cDNA打靶敲入小鼠ES细胞b-酪蛋白位点的研究

林福玉, 杨晓, 邓继先, 陈红星, 黄培堂^①

军事医学科学院生物工程研究所; 北京 100071

收稿日期 修回日期 网络版发布日期 接受日期

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2.7 kb, 包括小鼠b-酪蛋白基因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3~7外显子、第3~6内含子、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。正筛选标记neo放置在b-酪蛋白基因第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细胞使其密度达到 2×10^7 个/ml后, 将45 μg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的选择培养基中培养, 7 d后挑取192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, 野生型出现9.8 kb, 而中靶的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细胞株中获得1株发生正确同源重组的中靶ES细胞。为构建基因打靶小鼠模型奠定了基础。

关键词 [基因打靶](#) [基因敲入](#) [b-酪蛋白基因](#) [组织型纤溶酶原激活剂](#)

分类号

Institute of Biotechnology; Academy of Military Medical Sciences; Beijing 100071; China

Abstract

Key words [gene targeting](#) [gene knock-in](#) [b-casein gene](#) [tissue-type plasminogen activator](#)

DOI:

通讯作者

扩展功能

本文信息

- ▶ [Supporting info](#)
- ▶ [PDF\(338KB\)](#)
- ▶ [\[HTML全文\]\(0KB\)](#)
- ▶ [参考文献](#)

服务与反馈

- ▶ [把本文推荐给朋友](#)
- ▶ [加入我的书架](#)
- ▶ [加入引用管理器](#)
- ▶ [复制索引](#)
- ▶ [Email Alert](#)
- ▶ [文章反馈](#)
- ▶ [浏览反馈信息](#)

相关信息

- ▶ [本刊中 包含“基因打靶”的相关文章](#)
- ▶ [本文作者相关文章](#)

- [林福玉](#)
- [杨晓](#)
- [邓继先](#)
- [陈红星](#)
- [黄培堂](#)