

Contact mouse : mouse@macrogen.com
Payment Inquiry: payment@macrogen.com
Technical Support Macrogen Korea: support@macrogen.com
Macrogen-Europe: support-europe@macrogen.com

Update 161205



Genetically
Engineered
Mouse

GEMouse

Transgenic mouse Production Guide

Identification of the Founders

Identification of the Founders

미세주입된 수정란을 대리모에 이식한 후 19일째가 되면 분만하게 되며, 태어난 생쥐가 2주정도 자란 후에 꼬리를 잘라 genomic DNA를 추출하여 유전자의 삽입 여부를 확인한다. 꼬리에서 genomic DNA를 추출 시, 일반적으로 protease를 사용하는데, protease는 이후 사용 될 thermostable polymerase를 digestion하므로 특히 주의하며 organic extraction (e.g., phenol : chloroform extraction) 과정에서 contamination 되지 않도록 pipetting에 주의한다.

추출한 genomic DNA에서 유전자의 삽입 여부를 확인하기 위해 일반적으로 PCR analysis나 Southern blot을 하는데, 시간과 비용이 경제적이고 정확하여 PCR analysis가 일반적이다. Founder mouse 분석용으로 사용될 PCR analysis의 신뢰성을 위해서는 primer design이 specific 해야 한다. 그러기 위해 많은 다양한 software의 사용이 가능 하지만, specific software program이 없다면 primer design시 다음 사항을 반드시 명심해야 한다.

- ✓ primer 길이는 적어도 15bp 이상 되어야 하며 ~20bp 정도가 일반적이다.
- ✓ 각 primer의 G+C ratio는 50~60%가 적당하다.
- ✓ primer sequence내에서 연속적인 Gs와 Cs의 서열은 피한다.
- ✓ forward 와 reverse primer의 G+C ratio는 비슷해야 한다.
- ✓ PCR products는 500bp~1000bp가 적당하다.

specific design된 primer는 founder mouse 검사에 사용하기 전에 반드시 test를 해야 한다. 위의 사항들이 고려되어진다면, PCR analysis는 founder transgenic mouse의 검색 방법과 그 유전자가 자손으로 전이되는 germline transmission 여부를 검색하는 방법으로 아주 신뢰할 만하다.