

基因功能研究

为研究基因在体内的功能，通常的研究策略是：将基因导入到一个细胞或个体中，或者从细胞或个体中将基因失活，通过观察细胞生物学行为或个体表型遗传性状的变化，从而鉴定基因的功能。

由此可分为以下两大类研究策略：

- 基因功能缺失 Loss of function
- 基因功能获得 Gain of function

基因功能缺失 Loss of function

在小鼠中，基因敲除是最为经典和常用的基因功能缺失研究手段之一。基因敲除是指针对靶基因的部分序列，改变生物的遗传基因，令特定的基因功能丧失作用，从而使基因部分或全部功能被屏蔽，并可进一步对生物体造成影响，进而推测出该基因的生物学功能。基因敲除又可以分为全身性基因敲除和条件性基因敲除。

全身性基因敲除

- Conventional Knockout（简称KO），是指在小鼠所有组织细胞中，将靶基因的某些重要外显子或功能结构域、甚至所有外显子敲除掉，导致靶基因的表达缺失。
- 这类小鼠全身所有的组织和细胞中的靶基因序列都经过修改。纯合子小鼠中靶基因不表达基因产物。
- 此类基因敲除小鼠一般用于研究靶基因或蛋白功能对全身生理或病理的影响。

条件性基因敲除

- Conditional Knockout (简称CKO)，将某个基因的修饰限制于小鼠某些特定类型的细胞或发育的某一特定阶段，实现对小鼠基因组的时空特异性修饰。
- 条件性基因敲除小鼠是通过基因打靶，把两个loxP位点放到目的基因一个或几个重要的外显子的两边。该小鼠和表达Cre酶小鼠杂交之前，其目的基因表达完全正常。当和组织特异性表达Cre酶的小鼠进行杂交后，可以在特定的组织或细胞中敲除该基因，而该基因在其他组织或细胞表达正常。
- 条件性基因敲除小鼠一般用于研究胚胎致死性基因；靶基因或蛋白在特定组织或细胞中的功能；靶基因或蛋白在特定时期或阶段发挥的作用。

[应用案例：Drd2 KO 与 Drd2 CKO 小鼠模型在大脑免疫应答研究中的应用](#)

[更多基因敲除小鼠应用研究成果](#)

基因功能获得 Gain of function

将目的基因导入细胞或个体中，使其获得新的或更高水平的表达，通过细胞或个体生物性状的变化来研究基因的功能。

随机转基因

随机插入转基因小鼠是将一段外源基因随机整合到小鼠基因组中，获得过量表达靶基因的小鼠模型，用于研究靶基因过表达对生理病理的影响。

基因定点过表达

将外源基因DNA序列定点敲入到小鼠Gt(ROSA)26Sor或称Rosa26基因位点中，使外源基因可以在小鼠体内稳定表达，不仅如此，还可以实现组织特异性或药物诱导调控外源基因的表达。

- 可用于基因功能、蛋白功能的过表达研究

- 可用于KO表型的Rescue实验

基因敲入

Knock-in (简称KI) , 是在目的基因位置引进特定的突变或外源DNA序列。

- (1) 在靶基因中引入碱基突变, 可以模拟人类遗传疾病模型。
- (2) 将报告基因, 例如EGFP、RFP、mCherry、YFP、LacZ、Luciferase等等, 引入到小鼠内源基因中, 将内源基因的表达模式可视化。

[**应用案例1: pMMTV-PLAG1转基因小鼠模型模拟人多形性唾液腺瘤**](#)

[**应用案例2: Fgf9点突变小鼠模型研究FGF9基因在多发性骨性连接综合征中的作用机制**](#)