基因敲除

定制化的基因敲除小鼠模型有利于洞察关键遗传机制，加速您的研究。发现基因功能、了解疾病发病机制、推进药物研发进程。

利用定制化的基因敲除小鼠模型，洞察关键遗传机制，加速您的研究。

- 发现基因功能，探索细胞过程
- 深入了解疾病的发病机制与预防手段
- 简化药物发现中的药效评估

基因敲除小鼠模型包括：

- 常规基因敲除
- 条件性基因敲除
- KO first

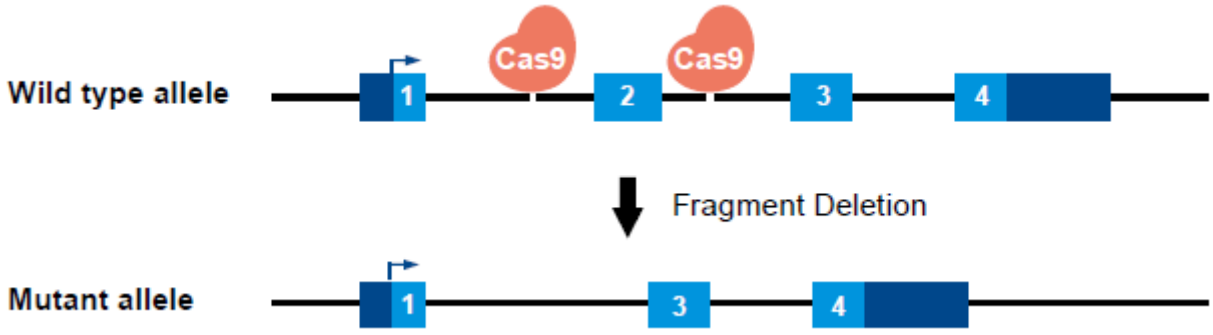
南模生物拥有逾6000种基因修饰小鼠模型，也许您感兴趣的基因就在其中，点击查看成品小鼠模型资源库列表。

您也可以联系我们的技术顾问，为您设计并定制您的基因敲除小鼠模型。

常规基因敲除

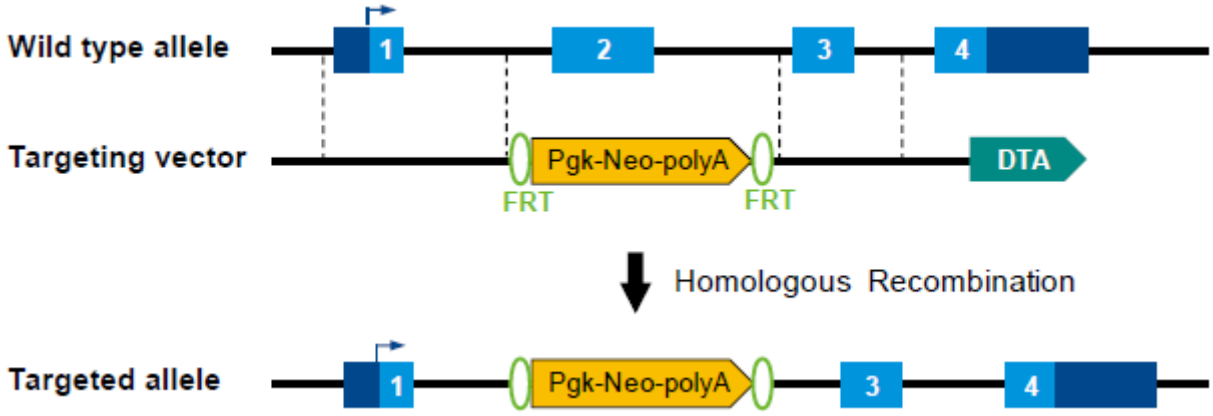
建立常规基因敲除（knockout，简称KO）小鼠模型，使您感兴趣的靶基因功能在小鼠所有细胞以及整个生命过程中永久缺失。

通过CRISPR基因编辑技术，构建一个常规基因敲除小鼠模型一般需要4-6个月。



根据基因序列设计合成sgRNA与Cas9 mRNA共同注射到小鼠受精卵，Cas9核酸酶、 sgRNA、基因组靶序列结合并切割双链DNA ，通过非同源性末端接合(NHEJ)修复途径造成靶基因的移码突变或片段敲除，从而实现基因敲除。NHEJ修复是随机的，可能在同一小鼠体内不同细胞造成的修复结果不同，F0小鼠需要繁殖一代，获得稳定遗传的敲除杂合子小鼠。

通过ES细胞打靶技术，构建一个常规基因敲除小鼠模型一般需要7-12个月。



构建以筛选基因新霉素（Neo）取代靶基因的一个或多个外显子的重组载体，转入ES细胞，获得正确发生同源重组的ES克隆。ES细胞进行囊胚注射，获得部分ES来源的嵌合鼠，嵌合鼠与野生型小鼠交配，最终获得来源于重组ES细胞的杂合子小鼠。杂合子小鼠一条染色体上的靶基因指定外显子被Neo基因所取代，杂合子交配获得靶基因失活的纯合子小鼠。

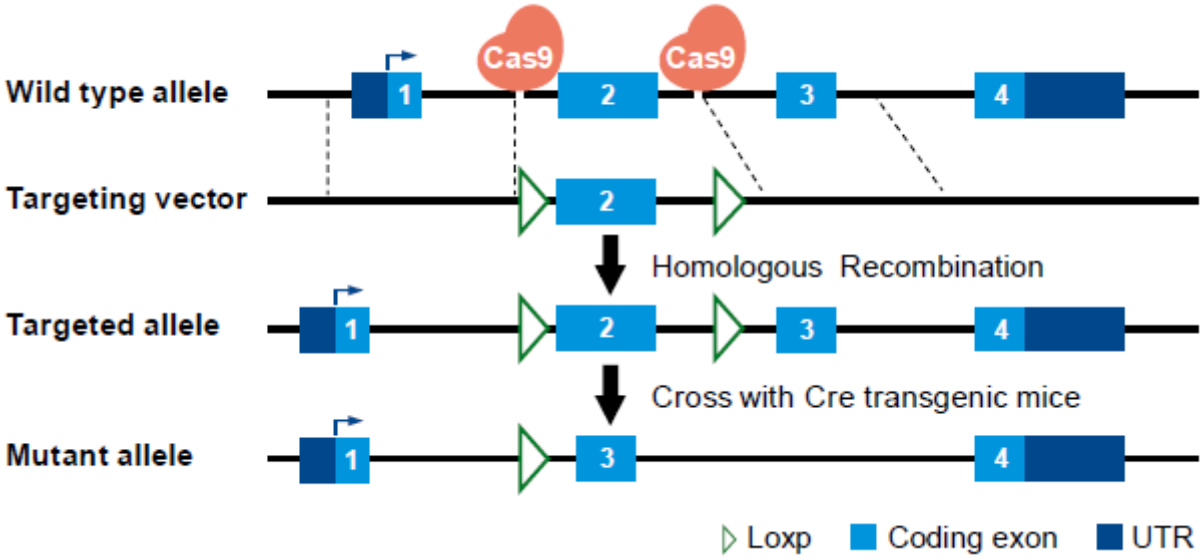
条件性基因敲除

利用条件性基因敲除（Conditional knockout，简称CKO），可以通过时间或组织特异性敲除您感兴趣的靶基因，实现更精准的基因敲除，进行更有针对性的研究。

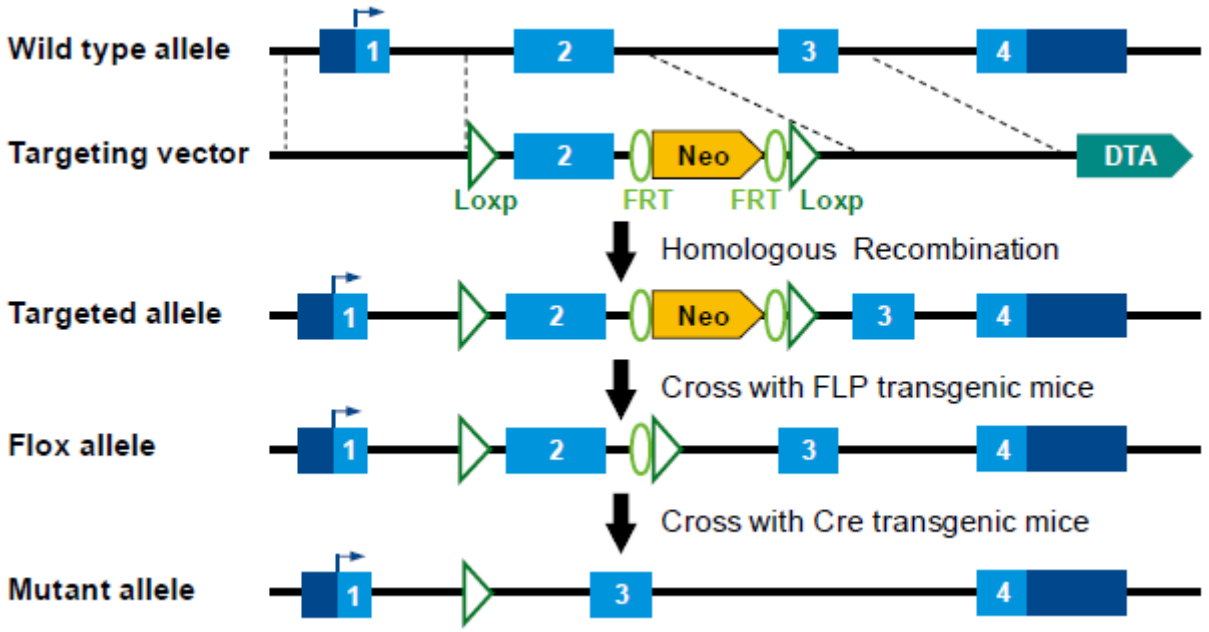
条件性基因敲除主要是通过染色体位点特异性重组酶系统Cre-LoxP、 FLP-Frt和Dre-Rox来实现的。其中最为常用的是Cre-LoxP系统，在待敲除的一段目的DNA序列的两端各放置一个LoxP序列，得到Flox (Flanked by loxP) 小鼠。将Flox小鼠与特异性表达Cre的工具鼠交配，即可获得具有组织或细胞特异性敲除目的基因的小鼠。

这样的Flox小鼠避免了全身敲除小鼠可能出现的胚胎或新生致死，并且与不同的Cre工具鼠组合，可以使目的基因的表达或缺失发生在实验动物发育的任一阶段或组织器官。此外，若与控制Cre表达的其他诱导系统相结合，还可以对某一基因同时实现时空两方面的调控，应用最为广泛的是Cre/ERT系统。

通过CRISPR基因编辑技术，构建一个条件性基因敲除小鼠模型一般需要6-9个月。



通过ES细胞打靶技术，构建一个条件性基因敲除小鼠模型一般需要9-12个月。

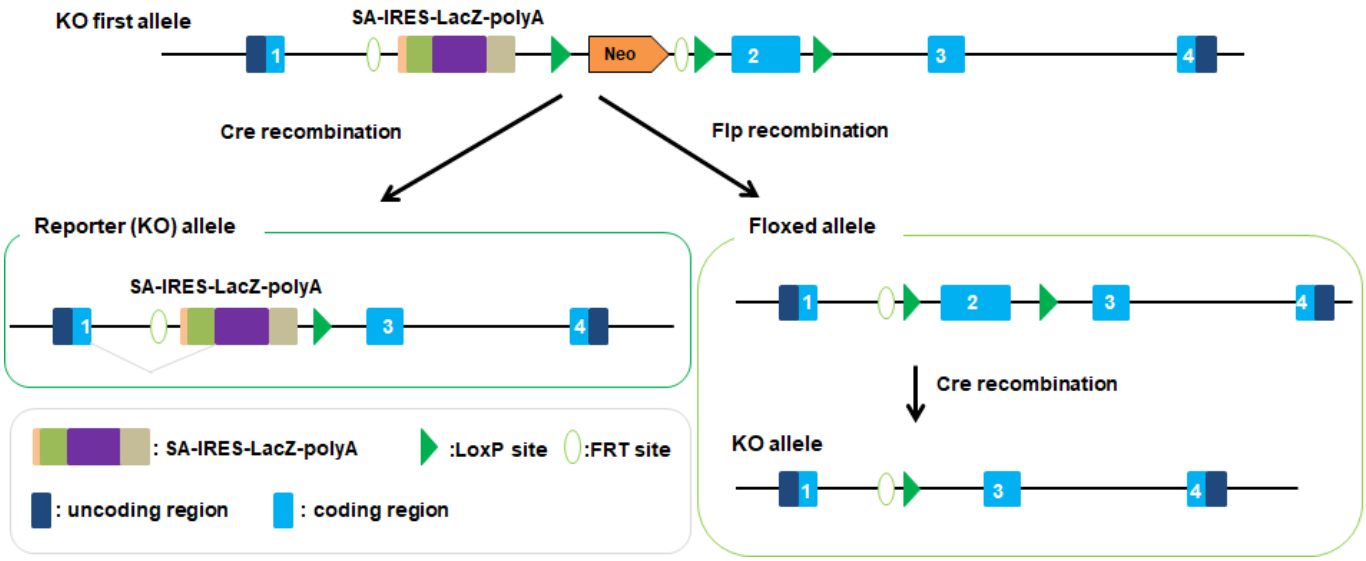


KO first

KO first (Conditional Ready)是一种多用途的模型，与条件敲除策略类似，在目的片段的两侧分别放置方向相同的LoxP位点，同时还在靶片段5'端内含子中放置一个两侧带有FRT位点的SA-IRES-reporter片段。这类小鼠模型主要有两方面用途：

1） 与Cre工具鼠交配可去除Neo基因及Flox区域，成为报告基因（reporter）和基因剔除小鼠，用靶基因的启动子表达reporter基因，通过检测reporter基因的表达即可跟踪靶基因的表达情况；

2） 与Flp工具鼠交配可去除SA-IRES-reporter片段，得到常规的Flox小鼠。而Flox小鼠与各种组织特异的Cre工具鼠交配即可得到各种条件型敲除模型。


KO first allele
SA-IRES-LacZ-polyA
Neo
1
2
3
4
Cre recombination
Flp recombination
Reporter (KO) allele
SA-IRES-LacZ-polyA
1
3
4
Floxed allele
1
2
3
4
Cre recombination
KO allele
1
3
4
: SA-IRES-LacZ-polyA
:LoxP site
:FRT site
: uncoding region
: coding region