

## 注入用 DNA 溶液調製の手引き

### Standard-sized DNA(〜10kb 程度)の場合

- DNA の形状

線状 DNA とし、ベクター配列部分を除いて下さい。

- 精製

一般に Tg 作製に用いられる方法で精製して下さい。市販の精製キット(QIAGEN QiaQuick や QiaEX II kits など)の使用も可能です。

- DNA 濃度

50ng/ $\mu$ l inTE に調整して下さい。当方で使用時に 1〜5ng/ $\mu$ l になるように PBS(-)(pH7.4) で希釈して使用します。

- DNA 量

30〜50  $\mu$ l。可能であればロットの異なるものを 2 本用意して下さい。

### BAC DNA の場合

- DNA の形状は環状でも線状でも構いません。

- 精製法や Modification に関しては下記の参考文献 2〜4 をご参照下さい。

<http://www.gensat.org/GensatProtocols.pdf> からプロトコールがダウンロードできます。

※ご不明な点はメール([mutant@cdb.riken.jp](mailto:mutant@cdb.riken.jp))または CDB Web 掲示板でお問い合わせ下さい。

### 送付方法

チューブに DNA 名(=申込書に記載した Transgene Name)と濃度、調製日を明記の上、濃度調整後の電気泳動写真を添付し、冷蔵にて下記に送付して下さい。

〒650-0047 神戸市中央区港島南町 2-2-3  
発生・再生科学総合研究センター (理研神戸)  
変異マウス開発チーム Tg 担当者宛

## 文献／参考書

1. Brinster RL, Chen HY, Trumbauer ME, Yagle MK, Palmiter RD.  
Factors affecting the efficiency of introducing foreign DNA into mice by microinjecting eggs.  
**Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 82 4438-4442, July (1985)
2. Yang XW, Model P, Heintz N.  
Homologous recombination based modification in *Escherichia coli* and germline transmission in transgenic mice of a bacterial artificial chromosome  
**Nature biotechnology** 15 859-865 (1997)
3. Gong S, Zheng C, Doughty ML, Losos K, Didkovsky N, Schambra UB, Nowak NJ, Joyner A, Leblanc G, Hatten ME, Heintz N.  
A gene expression atlas of the central nervous system based on bacterial artificial chromosomes  
**Nature**. 425 917-925. (2003)
4. Gong S, Yang XW, Li C, Heintz N.  
Highly Efficient Modification of Bacterial Artificial Chromosomes (BACs) Using Novel Shuttle Vectors Containing the R6Kgamma Origin of Replication  
**Genome Research** 12 1992-1998 (2002)
5. 発生工学実験マニュアル. トランスジェニックマウスの作り方  
勝木元也／編 講談社サイエンティフィク
6. **Manipulating the Mouse Embryo**. A Laboratory Manual. 3rd Edition.  
Nagy A, Gertsenstein M, Vintersten K and Behringer R.  
Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2003.