

商品名: T7 Endonuclease I

商品コード: DS715 50 rxn 本品は研究用です

キットの内容:

コンポーネント	容量	保存温度
①10 × T7 Endonuclease I	1 Tube	-20°C
②10 × Digestion Buffer	1 Tube	-20°C
③Digestion Control	1 Tube	-20°C

保存条件:

-20°Cで保管してください。

※③Digestion Control は稀に沈殿物を形成することがあります。その場合、遠心分離後、上清を使用してください。

使用期限:

12 ヶ月

製品説明:

T7 Endonuclease I は、ゲノム DNA の編集効率を検出するキット DS710: T7EI Genome Editing Detection Kit のミスマッチ DNA 切断酵素です。ゲノム編集技術によって編集された遺伝子の PCR 産物を再アニール後、切断酵素によってミスマッチを切断・電気泳動を行い、切断量を比較することでゲノム編集効率確認が可能です。

本製品以外に必要な試薬、器具、機器等:

- ・Nuclease free water (DR120 等)
- ・ヒートブロック
- ・試薬を秤量するピペッター、マイクロピペット等
- ・テストチューブ、遠沈管、マイクロプレート等
- ・PCR 機
- ・電気泳動関連試薬、装置（アガロースゲル、ローディング Dye、電気泳動装置、DNA 検出色素、検出装置）

切断試験:

1. 下記の分量でアニーリング溶液を作成します。

	Sample	Digestion Control
PCR Product	1-8 μ L	1 μ L
10 $\times$ Digestion Buffer	1 μ L	1 μ L
Water	0-7 μ L	7 μ L
Total	9 μ L	9 μ L

* コントロール(T7 +/-)は必要に応じて調製してください

2. 下記の条件でアニーリングを実施します。

Stage	Temp	Time
1	95°C	5 min
2	95-85°C	-2°C/sec
3	85-25°C	-0.1°C/sec
4	4°C	Hold

3. 1 μ L の 10 $\times$ T7 Endonuclease I を添加します。

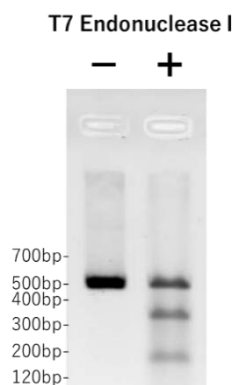
(Control には 1 μ L Nuclease free water を添加します)

4. 30°C で 15 min インキュベートし、オーバーリアクションを防ぐため、直ちに 4°C に冷却します

5. アガロースゲル電気泳動で全量泳動し、target の切断を確認します。

(直ちに電気泳動を行わない場合は 1 μ L の 100 μ M EDTA を添加してください)

Digestion Control の切断例:



3% Agarose Gel Electrophoresis