

商品名: T7 Endonuclease I

**商品コード**: DS715 本品は研究用です

サイズ: 50 反応分

### 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℃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:

本製品は、ゲノム DNA の編集効率を検出するキット T7EI Genome Editing Detection Kit(商品コード: DS710)のミスマッチ DNA 切断酵素(T7 Endonuclease I)です。ゲノム編集技術によって編集されたゲノム DNA の PCR 産物を再アニール後、T7 Endonuclease I 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 装置
- ・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製します。

|                       | Sample | Digestion Control |
|-----------------------|--------|-------------------|
| PCR Product           | 1-8 µL | 1 μL              |
| 10 × Digestion Buffer | 1 μL   | 1 μL              |
| Water up to           | 9 µL   | 9 μL              |

- \* サンプルのコントロール(T7 Endonuclease I +/-)は必要に応じて調製してください
- \* PCR Product 量はアガロースゲル電気泳動で確認しやすい量に適宜調整ください
- 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 µL の 10×T7 Endonuclease I を添加します。
- 4. 30℃で 15 min 反応します。
- 5. オーバーリアクションを防ぐため 4℃に冷却します。
- 6. 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 µL の 100 µM EDTA を添加して、凍結保管してください)

# Digestion Control の切断例:

T7 Endonuclease I



3% Agarose Gel Electrophoresis