

T7 Endonuclease I

使用前请仔细阅读说明书

目录号: LE101

保存: -20°C保存一年。

浓度: 10000 units/ml

产品说明

本产品由重组T7 Endonuclease I (T7EI) 基因的载体, 在大肠杆菌中经诱导表达、纯化而成。T7EI识别并切割不完全配对、含十字形结构、Holliday结构、异源双链的DNA以及随机切割单链DNA。该酶切割位在错配碱基5'端的第一、第二或第三个磷酸二酯键。

特点

高效率、高特异性。

适用范围

- 基因突变和 SNP 检测, 包括 TALEN、CRISPR/CAS9 形成的突变体检测。
- 识别并切割错配 DNA 和含 Holliday 结构的 DNA。
- 随机切割单链 DNA。

产品组成

Component	LE101-01	LE101-02
T7 Endonuclease I	250 units	5×250 units
10×T7 Endonuclease I Buffer	200 µl	1 ml
T7 Endonuclease I Control Template (40 ng/µl)	20 µl	20 µl
10×DNA Loading Buffer	1 ml	1 ml

活性定义

在50 µl反应体系中, 37°C, 1小时将1 µg超螺旋十字形结构的质粒酶切成90%以上线性DNA所需的酶量定义为1个活性单位 (U)。

质量控制

核酸外切酶活性: 在100 µl反应体系中, 10 U的酶与1 µg ³H标记的DNA (PCR纯化产物), 在37°C孵育2小时, 释放不超过5%的放射性物质。

核酸内切酶活性: 在50 µl反应体系中, 5 U的酶与1 µg pBR322质粒, 在37°C孵育2小时, 线性比例不超过20%。

10×T7 Endonuclease I Buffer

200 mM Tris-HCl pH 7.9, 500 mM NaCl, 100 mM MgCl₂, 10 mM DTT

反应体系 (以20 µl体系为例)

Component	Volume
特殊结构DNA*	≤ 250 ng
10×T7 Endonuclease I Buffer	2 µl
T7 Endonuclease I	1 µl
Nuclease-free Water	Variable
Total volume	20 µl

反应条件

37°C孵育 15-30 分钟; 加入 10×DNA Loading Buffer 至终浓度 1×, 或者 80°C加热 15 分钟终止反应。

* 特殊结构 DNA: 野生型 DNA 与编辑后 DNA 退火后形成的杂合 DNA, 如 T7 Endonuclease I Control Template。

注意事项

- T7EI具有底物结构选择性, 切割不同的特定底物时活性不同, 必须控制酶量和反应时间。高温会增加非特异性核酸酶活性 (超过42°C) 和降低酶活 (超过55°C)。
- 检测突变位点时, 应尽量避免突变位点处于 DNA 的中间位置。

本产品仅供研究, 不用于临床诊断。

版本号: V1-202008

服务投诉电话 +86-10-57815020

服务投诉邮箱 complaints@transgen.com.cn

