



GenePharma

吉玛基因

www.genepharma.com

T7E1突变检测试剂盒操作手册

Operation Manual of T7E1 Mutation Assay Kits

苏州吉玛基因股份有限公司 上海吉玛制药技术有限公司

地址: 苏州工业园区东平街199号
电话: 0512-86668828

邮箱: szsupport@genepharma.com

地址: 上海浦东新区张江高科技园区哈雷路1011号
电话: 021-51320195

邮箱: support@genepharma.com



B014-v001-20141215

产品简介

MuDetor®T7E1突变检测试剂盒是检测DNA突变,DNA多态性的简单快速试剂盒。试剂盒主要利用T7核酸内切酶I能准确识别并切割不完全配对DNA的性质,检测PCR产物内所有类型的碱基替换以及插入/缺失突变。突变检测试剂盒广泛应用于精确检测人、哺乳动物、细菌、真菌、病毒以及植物基因的突变,也可用于基因的多态分析。

应用

用于TILLING、ZFN、TALEN和CRISPR-Cas9实验活性检测、突变效率检测及阳性克隆筛选;单核苷酸多态性(SNP)检测,碱基替换、插入或缺失突变检测。

T7E1酶的性质

T7 核酸内切酶 I 识别并切割不完全配对 DNA、十字型结构 DNA, Holliday结构或交叉DNA, 异源双链DNA或者以更慢的速度切割或切割双链DNA。该酶切割错配碱基 5' 端的第一、第二或第三个磷酸二酯键。

运输及保存

MuDetor®T7E1突变检测试剂盒可以通过低温或干冰运输, -20 °C可保存1年。

试剂盒清单

T7E1	突变检测缓冲液	阳性对照DNA干粉	阴性对照DNA干粉
50 µl	1 ml	20 µg	20 µg

苏州吉玛基因股份有限公司 上海吉玛制药技术有限公司

地址: 苏州工业园区东平街199号

电话: 0512-86668828

邮箱: szsupport@genepharma.com

地址: 上海浦东新区张江高科技园区哈雷路1011号

电话: 021-51320195

邮箱: support@genepharma.com



B014-v001-20141215

操作步骤

1. 制备待检测DNA片段

一般采用PCR方法得到待检测DNA片段,如果待样品本身是纯合的,还需要PCR得到野生型DNA,PCR产物需胶回收。(突变位点离两侧最好在100bp以上,使切割后片段与未切割片段在胶图中分开)

阳性/阴性对照DNA干粉加100 μ l ddH₂O溶解,备用。

2. 制备杂链DNA片段

待检DNA或待检DNA(纯合)与野生型DNA等量混合,可设野生型DNA为阴性对照,按下列组分配置退火反应液:

DNA样品/对照DNA	1-3 μ g
突变检测缓冲液	3 μ l
ddH ₂ O	To 30 μ l

退火反应条件

98°C 10分钟,然后缓慢降温(降温速度<1°C/10秒)直到25°C,25°C 5分钟,制备好的样品可以4°C保存一周,-20°C长期保存。

3. T7E1处理

退火DNA样品	20 μ l
T7EN1	0.5 μ l

反应条件37°C 30分钟

4. 电泳分析

一般使用1.8%浓度的琼脂糖凝胶电泳分析处理产物,小片段使用0.5XTBE buffer电泳效果更好。

5. 注意事项

T7E1具有底物结构选择性,能慢速切割或切割双链DNA,检测突变时必须控制好酶量和反应时间。

苏州吉玛基因股份有限公司 上海吉玛制药技术有限公司

地址: 苏州工业园区东平街199号

电话: 0512-86668828

邮箱: szsupport@genepharma.com

地址: 上海浦东新区张江高科技园区哈雷路1011号

电话: 021-51320195

邮箱: support@genepharma.com



B014-v001-20141215