

Cas12a Protein 使用说明书

(产品货号: EM122)

描述: CRISPR-Cas12a 是继 CRISPR-Cas9 之后另一种用于基因编辑的 2 类 RNA 引导的核酸内切酶。Cas12a 核酸酶识别 5'-TTTV PAM 相反链上与 crRNA 间隔区互补的 DNA 靶序列, 识别后于 RuvC 域和 Nuc 域处产生交错的 DNA 双链断裂。与 Cas9 产生平末端相比, Cas12a 产生交错末端可能更有利于以精确方向整合 DNA 序列等应用。Cas12a 识别富含胸苷的 PAM 序列(TTN), 更具广泛的序列编辑范围。只需要 crRNA 与 Cas12a 蛋白的简单复合且 CRISPR-Cas12a 的 crRNA 较短, 更有利于化学合成。

产品组分与规格

名称	浓度	规格
Cas12a Protein	0.5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$	400 μL
10 \times Reaction Buffer	10 \times	400 μL

储存液

储存缓冲液: 10 mM Tris, pH8.0, 300 mM NaCl, 0.5 mM TCEP, 50% glycerol。

储存条件

短期存储可在 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存, 长期存储可分装在 -80 $^{\circ}\text{C}$ 保存, 切记反复冻融, 保质期 1 年。

运输条件

冰袋运输。

需准备其他试剂

- 1: Reporter: Cas12a 切割底物。可搭配我司的 Reporter 进行检测, 或自行设计合成 Reporter。
- 2: crRNA/gRNA: 与 Cas12a 结合, 形成功能复合物, 被目标序列特异性激活。

检测步骤

- 1: 准备模板: 可以使用核酸模板直接进行 CRISPR 检测或对靶标扩增后再进行 CRISPR 检测。
- 2: 准备设备: 设置设备反应温度为 40 $^{\circ}\text{C}$, 荧光通道类型设置为 FAM, 每 1min 读取一次荧光值, 时间为 60min。
- 3: 准备反应体系: 按下表配制 20 μl CRISPR 反应体系

成分名称	推荐用量(1T/ μL)
10 \times Reaction Buffer	2
Cas12a(0.5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	2
crRNA(1 μM)	4
Reporter(10 μM)	2
模板/扩增产物	5
H ₂ O	5

- 4: 开始反应: 快速震荡混匀并短暂离心, 上机反应(注: 混匀时间应在 3-5s, 3000rpm)。
- 5: 读取结果: 60min 反应结束后读取荧光值, 有明显切割曲线的为阳性, 无明显切割信号的为阴性。

注意事项

- 1: 本产品仅供科研产品使用, 使用前请仔细阅读本说明书。

- 2: 请严格按照基因扩增实验室的管理规范进行试验操作，注意防止扩增产物污染。
- 3: 试验结束后，检测过程中所产生的废弃物应按照相关规范进行处理。



欢迎扫码关注