

Cas12a Protein (10 μ M)使用说明书

产品描述

Cas12a Protein 克隆自毛螺菌科细菌 ND2006 (Lachnospiraceae bacterium ND2006)，是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'-TTVPAM 相反链上与 crRNA 间隔区互补的 DNA 靶序列，识别后与 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准方向整合 DNA 序列等应用。Cas12a 识别富含胸腺的 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

货号	名称	浓度	规格	
			1000pmol	5000pmol
EM124	Cas12a Protein (10 μ M)	10 μ M	100 μ L	500 μ L
	10 \times Reaction Buffer	10 \times	400 μ L	1mL \times 2

储存液

储存液: 20mM Tris-HCl, 500mM KCl, 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 30%甘油, pH8.0 @25 $^{\circ}$ C。

储存条件

-20 \pm 5 $^{\circ}$ C 密封储存; 有效期 12 个月。(长期储存请置于 -80 $^{\circ}$ C, 避免反复冻融。)

产品应用

CRISPR/Cas 基因编辑; 基于 CRISPR/Cas 系统的诊断和检测; 结合等温扩增技术的其他检测应用等。

其他试剂准备

- Reporter: Cas12a 切割底物。可搭配我司的 Reporter (如下表), 或自行设计合成进行检测。

名称	货号	备注
FAM/Biotin Reporter	WL101	ssDNA-试纸型
FAM/BHQ Reporter	WL102	ssDNA-荧光型

- crRNA: 与 Cas12a 结合, 形成功能复合物, 被目标序列特异性激活。

使用方法

- 目标序列 (DNA/RNA) 特异性扩增:

可采用本公司恒温核酸扩增试剂盒或传统的 PCR 法或其他恒温试剂盒。

- 按照下表配制反应体系:

组分名称	推荐用量/ μ L
10 \times Reaction Buffer	2.0
Cas12a (10 μ M)	0.67
crRNA (1 μ M)	4.0
Reporter (10 μ M)	2.0
substrate DNA	5.0
Nuclease-free water	补足至 20

- 分析方法:

- 琼脂糖凝胶电泳/侧向流试纸条分析: 在 40 $^{\circ}$ C 下孵育 30~60min, 然后在 85 $^{\circ}$ C 下进行 5~10 分钟以灭活 Cas12a Protein, 随后进行琼脂糖凝胶电泳/侧向流试纸条分析。
- 荧光扩增仪分析: 在 40 $^{\circ}$ C 下孵育 30~60min, 每 30s 读取一次荧光值。

注意事项

- 本产品仅供科研使用, 使用前请仔细阅读本说明书。
- 为防止 RNase 污染, 请保持实验区干净整洁, 操作时需穿戴干净的手套、口罩, 实验所用枪头、离心管等耗材均为 RNase-free。
- 避免反复冻融。首次溶解之后, 建议按照使用量分装储存。
- 请严格按照基因扩增实验室的管理规范进行实验操作, 注意防止扩增产物污染。
- 实验结束后, 检测过程中所产生的废弃物应按照相关规范进行处理。