



# CRISPR/Cas12a RNA检测试剂盒(二步法) (液体)(恒温-荧光型)

CRISPR-Cas12a RNA fluorescent detection kit  
(2-step) (liquid)

✉ [info@ezassay.com](mailto:info@ezassay.com)

🌐 [www.ezassay.com](http://www.ezassay.com)

深圳易致生物科技有限公司

目录编号: R-F-CAS12-2S

# 目录 CONTENTS

内容	页码
产品简介	1
试剂盒组成	1
需要但未提供的材料	1
储存	2
检测样品	2
检测步骤	2
注意事项	4

## 产品简介

### Brief introduction

Cas12a与crRNA形成功能复合物，在目标核酸序列上“滑行”，成功配对后，Cas12a被特异性激活，反式切割周围的报告分子（reporter）。本试剂盒将恒温扩增技术与Cas12a相结合，具有高灵敏度，高特异性，高信噪比等特点。已广泛用于分子诊断领域，可以实现对病原体的快速精准检测。

## 试剂盒组成

### Materials supplied

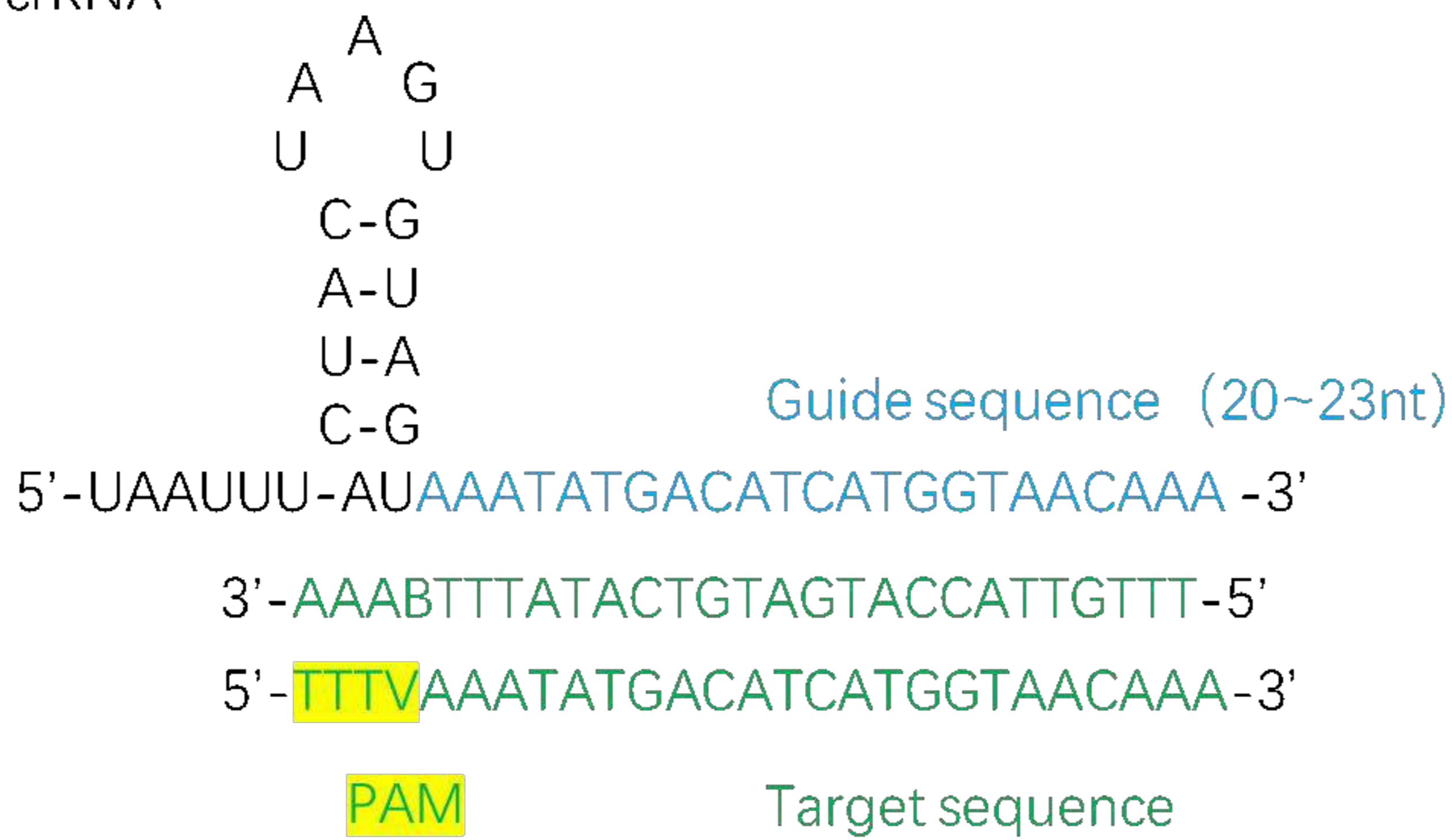
序号	Item	size
1	Reaction Buffer (2X)	1000 $\mu$ l
2	P-mix (10X)	200 $\mu$ l
3	E-mix (10X)	200 $\mu$ l
4	Positive Control (10X) (primer and RNA template included)	30 $\mu$ l
5	Cleavage Buffer (10X)	240 $\mu$ l
6	Cas12a Protein (10 $\mu$ M)	20 $\mu$ l
7	crRNA for Positive Control (20X)	20 $\mu$ l
8	Reporter (4 $\mu$ M)	80 $\mu$ l
9	Starter (10X)	200 $\mu$ l

## 需要但未提供的材料

### Other materials required

1. 荧光仪，读FAM信号（例如qPCR仪）
2. 移液器
3. Nuclease-free water
4. 目标序列特异性引物（恒温扩增用）（在线设计：<https://ezassay.com/primer>）
5. crRNA/gRNA：与LbaCas12a结合，形成功能复合物，被目标序列特异性激活。  
(LbaCas12a crRNA scaffold sequence结构序列: 5' - UAAUUUCUACUAAGUGUAGAU-3' )

## LbaCas12a crRNA



B for G/T/C  
V for G/A/C

## 储存

### Storage

-20°C保存，▲避免反复冻融。建议根据实际使用量分装保存。

## 检测样品

### Sample for detection

RNA 模板

本试剂盒最低检测下限为10~100copies/测试（依据引物筛选优化程度和检测手段）

## 检测步骤

### Assay procedure

- 在冰上融化后混匀试剂。
- 恒温扩增反应，以配制20 μl反应体系为例（注意：冰上操作）

序号	名称	体积
01	Reaction Buffer (2X)	10 $\mu$ l
02	P-mix (10X)	2 $\mu$ l
03	E-mix (10X)	2 $\mu$ l
04	Forward Primer (20 $\mu$ M) Reverse Primer (20 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ l 0.5 $\mu$ l
05	RNA template*	x $\mu$ l
06	Starter (10X) **	2 $\mu$ l
07	Nuclease-free H2O	To a total volume of 20 $\mu$ l

\*无模板对照组用Nuclease-free H2O替代RNA template;  
阳性对照组加入2  $\mu$ L Positive control (primer and RNA template included)。  
如模板浓度高推荐模板加样量为1 $\mu$ L, x  $\leq$  5 $\mu$ L

\*\*最后加入Starter混匀。

- 轻弹数次混匀，稍微离心（避免涡旋剧烈震荡），重复3次
- 39~ 41 $^{\circ}$ C 孵育20~40分钟（推荐39 $^{\circ}$ C，请注意金属浴贴合不紧，温度不准。水浴锅或者PCR仪温度较准确）
- 使用Cas12a检测特异性目标序列，提前打开荧光PCR仪并把反应温度设置为37 $^{\circ}$ C，关闭热盖功能或把热盖设置为45 $^{\circ}$ C。

以配制20  $\mu$ l反应体系为例，(如果荧光仪从顶部读荧光信号，建议配制大体积，例如40 $\mu$ l) (注意：冰上操作)：

序号	名称	体积
01	Cleavage Buffer (10X)	2 $\mu$ l
02	Reporter (4 $\mu$ M)	0.6 $\mu$ l
03	Cas12a Protein (1 $\mu$ M) *	1 $\mu$ l
04	crRNA (Cas12a) (1 $\mu$ M) **	1 $\mu$ l
05	扩增产物 ***	x $\mu$ l
06	Nuclease-free H2O	To a total volume of 20 $\mu$ l

\* Cas12a Protein (10 $\mu$ M) 用Tris Buffer或ddH<sub>2</sub>O稀释为Cas12a Protein (1 $\mu$ M)

\*\*阳性对照组把“crRNA for Positive Control (20X)”加入1 $\mu$ l, 其他反应加入目标序列的特异性crRNA

\*\*\*加入步骤2的恒温扩增产物, 如模板浓度高推荐模板加样量为1 $\mu$ L,  $x \leq 5\mu$ L

- 轻弹数次混匀, 稍微离心 (避免涡旋剧烈震荡), 重复3次
- 将反应管放置于荧光PCR仪 (FAM通道), 37 °C条件下反应30 ~ 60 min。

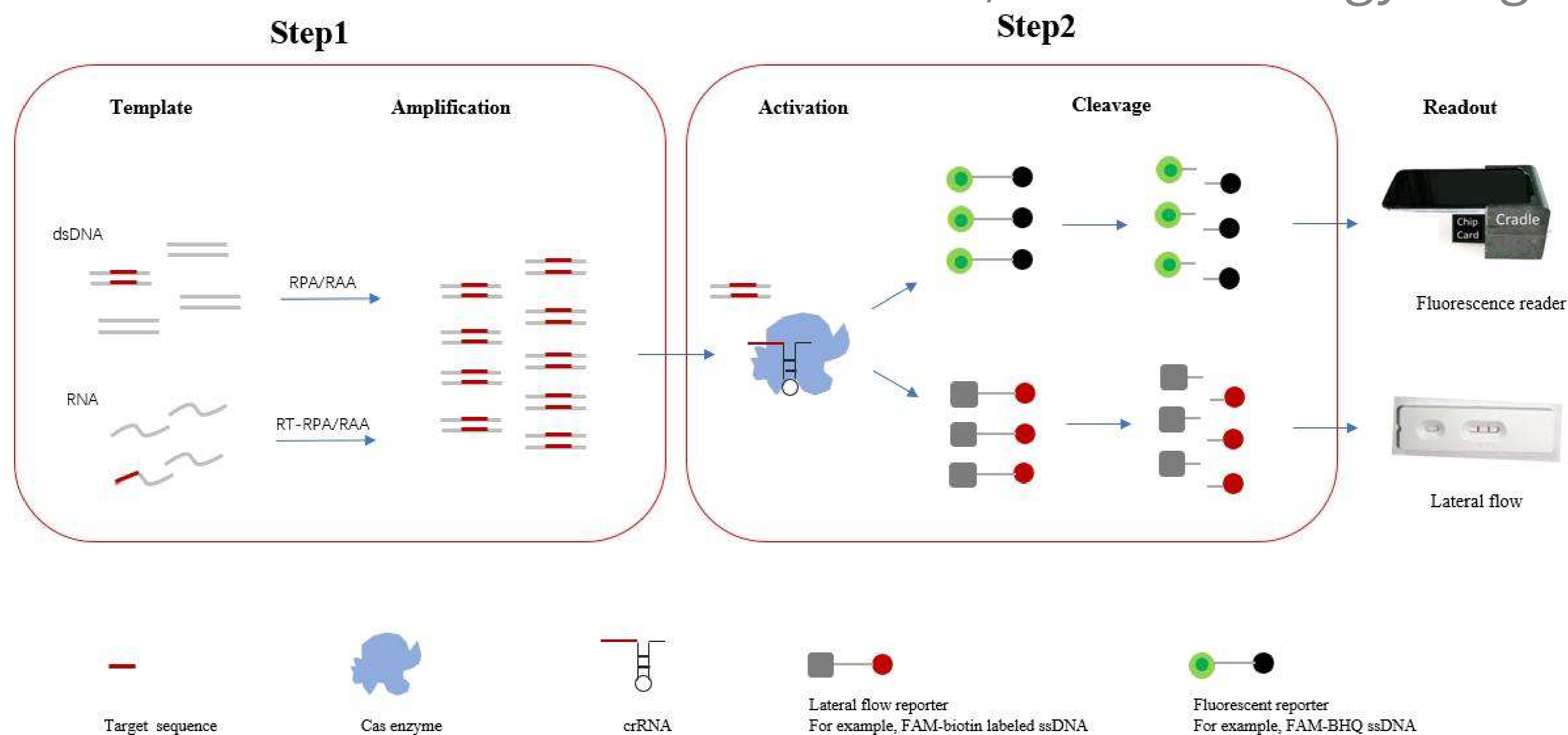
## 注意事项

### Notes

- 如果使用PCR仪器, 请提前关闭热盖功能把热盖设置为45°C。
- 如果使用ABI 荧光仪, 将“Passive reference” & “Quencher” 设置为“None”。
- 试剂盒灵敏度非常高, 请注意避免扩增产物 (amplicons) 对下次试验的污染。 (avoid carry-over contamination)
- 反应体系表格中的浓度为一般使用浓度, 不同的试验中最佳浓度可能不一样, 需要具体优化, 在此基础上增加或降低浓度。优化范围: 引物浓度 (每条终浓度300nM~800nM)、crRNA (20nM~1000nM)、reporter (20nM~1000nM)、Cas蛋白 (20nM~200nM)。

## 基于CRISPR/Cas技术的核酸检测技术示意图

### Nucleic acid detection based on CRISPR/Cas technology diagram



© Ezassay Biotechnology, Inc 04

核酸与蛋白产品专业提供商  
Professional supplier of point-of-care test products

**EZ** assay 深圳易致生物科技有限公司

www.ezassay.com

info@ezassay.com