



# CRISPR/Cas13a DNA检测试剂盒(一管法) (冻干)(恒温-荧光型)

CRISPR-Cas13a DNA detection kit (1-tube) (lyophilized)

✉ [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: D-F-CAS13-LYO-1S

# 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

Cas13a与crRNA形成功能复合物，在目标核酸序列上“滑行”，成功配对后，Cas13a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Cas13a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

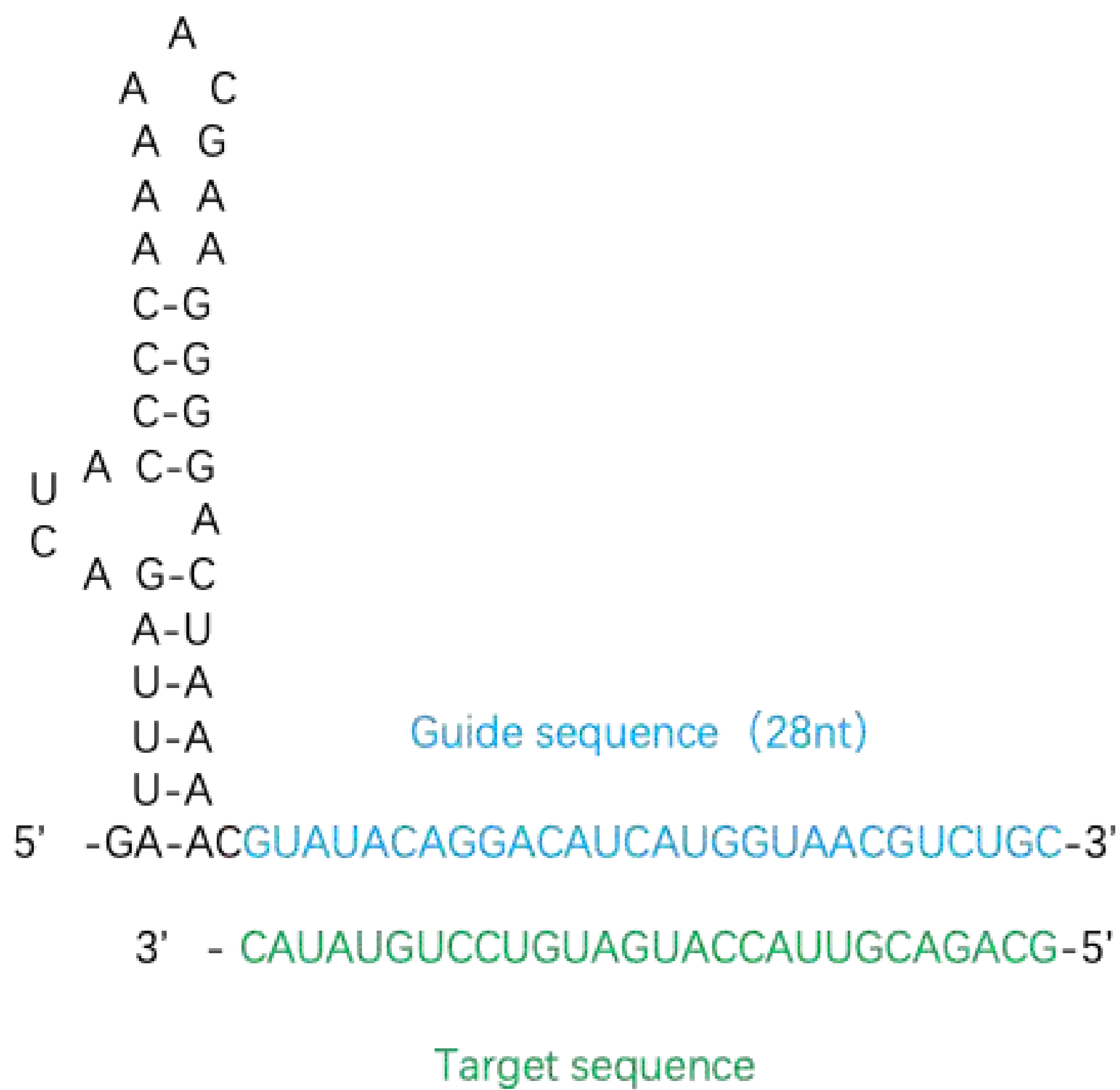
序号	Item	size
1	Detection Buffer (2X)	1000 µl
2	Reaction Tube	96孔
3	Positive Control (10X) (primer, crRNA and DNA template included)	30 µl
4	Starter (10X)	200 µl
5	Cas13a Protein (10µM)	20 µl
6	Cas13a Diluent Buffer	100 µl
7	NTP Mix (25mM each)	100 µl
8	T7 RNA Polymerase (40X)	50 µl

## 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>）  
注意：引物设计时需加上 T7 启动子：5' -TAATACGACTCACTATAG-3'
5. crRNA/gRNA：与LwaCas13a结合，形成功能复合物，被目标序列特异性激活。  
(LwaCas13a crRNA scaffold sequence结构序列:: 5' - GAUUUAGACUACCCCAAAAACGAAGGGGACUAAAAC-3' )

## LwaCas13a crRNA



## 储存

### Storage

-20°C保存

## 检测样品

### Sample for detection

DNA 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

- 冰上融化试剂并混匀。
- 提前打开荧光PCR仪并把反应温度设置为39°C，关闭热盖功能或把热盖设置为42°C。
- 以配制20 μL反应体系为例，在每孔Reaction Tubes中加入 (如果荧光仪从顶部读荧光信号，建议配制大体积，例如40μL) (注意：冰上操作)：

序号	名称	体积
01	Detection Buffer (2X)	10 $\mu$ l
02	NTP Mix (25mM each)	0.8 $\mu$ L
03	T7 RNA Polymerase (40X)	0.5 $\mu$ l
04	Forward Primer (20 $\mu$ M) Reverse Primer (20 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ l 0.5 $\mu$ l
05	crRNA (Cas13a) (2 $\mu$ M)	0.2 $\mu$ L
06	DNA template*	X $\mu$ L
07	Starter (10X) **	2 $\mu$ L
08	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

模板加样量为0.5~2  $\mu$ L

\*\*最后加入Starter启动液，混匀。

\*\*\*试剂盒组分已包含Reporter.

- 混匀上述体系，并短暂离心
- 使用Cas13a Diluent Buffer把Cas13a Protein (10 $\mu$ M) 稀释为2 $\mu$ M (稀释5倍)，在PCR管盖上加2  $\mu$ L 稀释后的Cas13a Protein
- 将反应管置于荧光PCR仪 (FAM通道)，39 $^{\circ}$ C条件下反应15 ~ 30 min。
- 取出反应管短暂离心，混匀，再短暂离心。
- 将反应管重新放置于荧光PCR仪 (FAM通道)，39  $^{\circ}$ C条件下反应15 ~ 30 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42°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，请注意扩增后不要开盖，避免扩增产物（amplicons）对下次试验的污染。（avoid carry-over contamination）