



Cas13a 反应试剂盒 (荧光型) 增强版v2

Cas13a master mix enhanced v2 (fluor)

✉ info@ezassay.com

🌐 www.ezassay.com

深圳易致生物科技有限公司

目录编号: CAS13-MIX-FM
CAS13-MIX-FM-5

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
典型结果示例	4
注意事项	4

产品简介

Brief introduction

在RNA聚合酶的作用下以DNA（DNA模板应含有T7启动子序列）为模板转录出RNA。Cas13a与crRNA形成功能复合物，与目标RNA配对后，Cas13a被特异性激活，反式切割周围的单链RNA。这一特点可被用于分子诊断领域，实现对病原体的检测。该试剂盒采用升级后的LwaCas13a蛋白，相较于野生型LwaCas13a蛋白活性提升50%，检测效果更佳！

试剂盒组成

Materials supplied

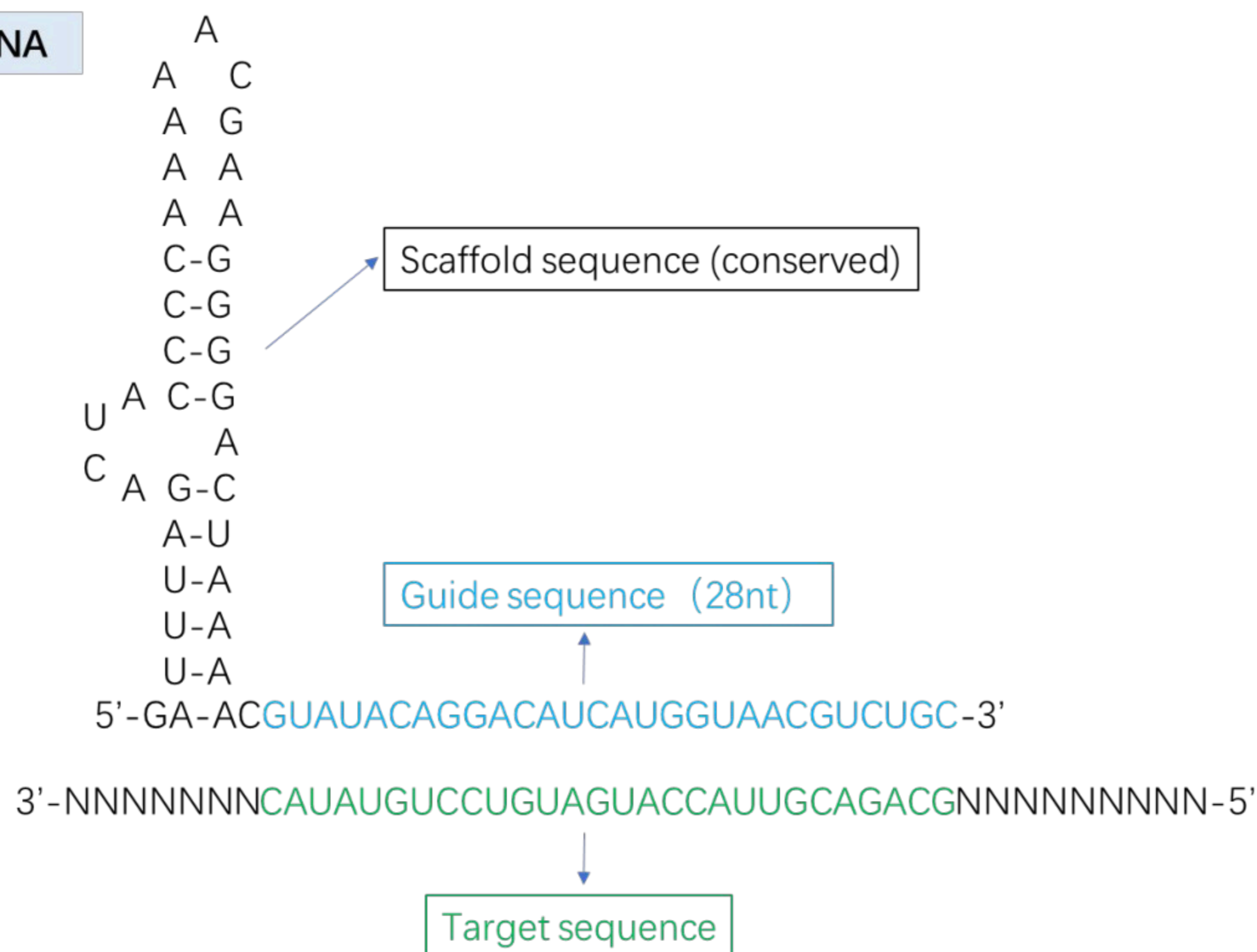
组分	CAS13-MIX-FM 96T	CAS13-MIX-FM-5 96T*5
Cleavage Buffer (10X)	240 µl	240 µl*5
Trans Mix (5X)	400 µl	400 µl*5
T7 RNA Polymerase (40X)	50 µl	50 µl*5
Cas13a Protein (10µM)	20 µl	20 µl*5
Cas13a Diluent Buffer	100 µl	100 µl*5
Positive Control (10X)	20 µl	20 µl*5
Reporter (4µM)	80 µl	80 µl*5
crRNA for Positive Control (20X)	10 µl	10 µl*5

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. 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

RNA 或带T7启动子序列 (5' -TAATACGACTCACTATAGGG-3') 的DNA

检测步骤

Assay procedure

- 在冰上融化后混匀试剂。
- 使用Cas13a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°C，关闭热盖功能或把热盖设置为45°C。

以配制20 μl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40μl) (注意：**冰上操作**):

序号	名称	体积
01	Cleavage Buffer (10X)	2 μl

02	Trans Mix (5X)	4 μ l
03	Reporter (4 μ M)	0.6 μ l
04	T7 RNA Polymerase (40X)	0.5 μ l
05	Cas13a Protein (2 μ M) *	1 μ l
06	crRNA (0.4 μ M)	1 μ l
07	扩增产物 **	x μ l
08	Nuclease-free H2O	To a total volume of 20 μ l

*使用Cas13a Diluent Buffer 把Cas13a protein (10 μ M) 稀释为Cas13a protein (2 μ M)

**加入扩增产物应含有T7启动子序列 (PCR或恒温扩增产物均可)

如模板浓度高推荐模板加样量为1 μ L, x \leq 5 μ L

- 配制阳性对照组20 μ l反应体系

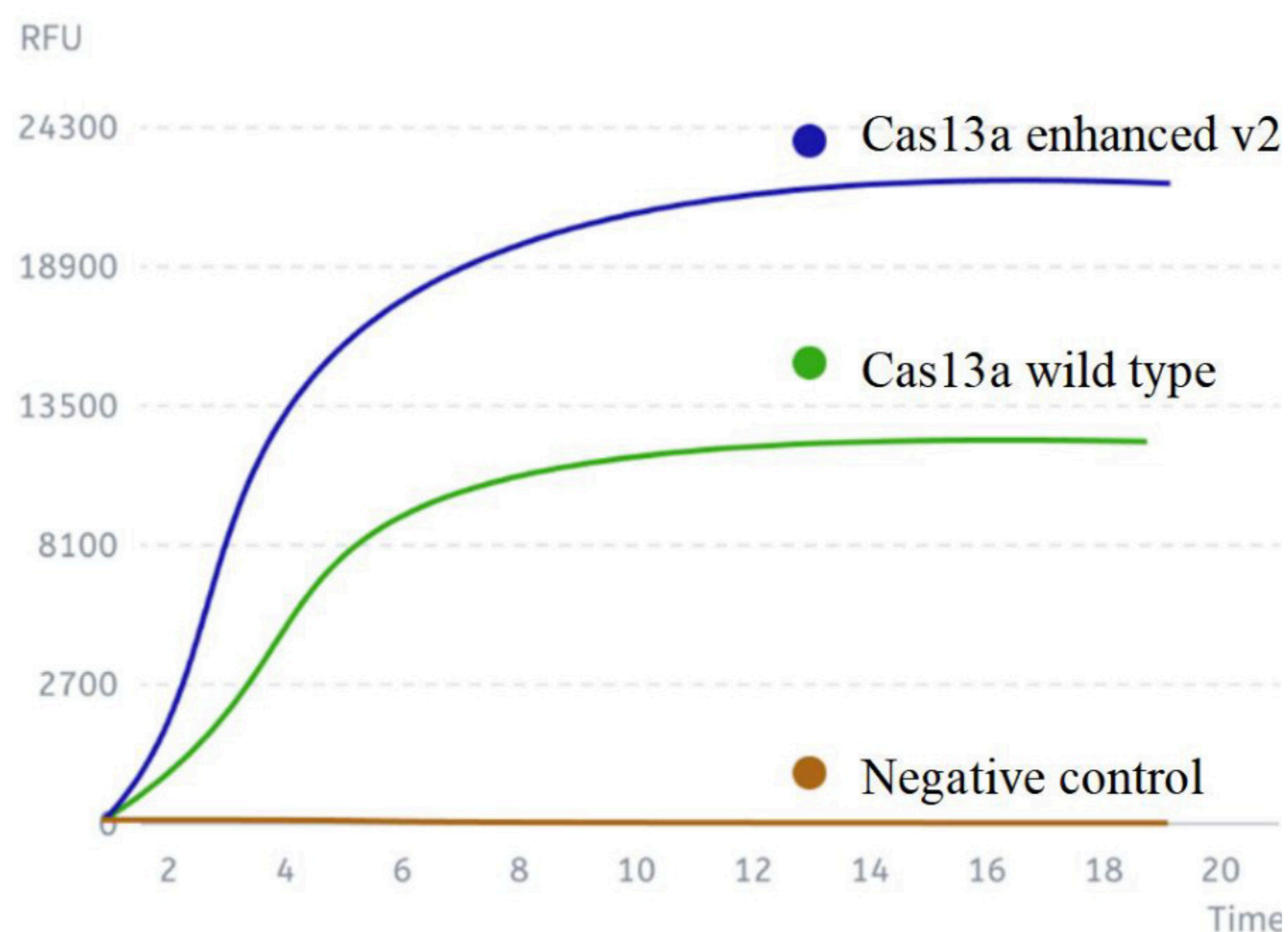
序号	名称	体积
01	Cleavage Buffer (10X)	2 μ l
02	Trans Mix (5X)	4 μ l
03	Reporter (4 μ M)	0.6 μ l
04	T7 RNA Polymerase (40X)	0.5 μ l
05	Cas13a Protein (2 μ M) *	1 μ l
06	Positive Control (10X)	2 μ l
07	crRNA for Positive Control (20X)	1 μ l
08	Nuclease-free H2O	8.9 μ l

3. 轻弹数次混匀，稍微离心（避免涡旋剧烈震荡），重复3次

4. 将反应管放置于荧光PCR仪（FAM通道），37 °C条件下反应10 ~ 30 min。

典型结果示例

Typical result



- 有扩增产物的情况下，Cas13a高效切割报告分子（reporter RNA），释放高强度荧光信号。相较于Cas13a wild type, Cas13a enhanced v2 的活性更高，信号值提高约50%。
- 阴性对照：不加扩增产物，Cas13a不切割报告分子（reporter RNA），荧光信号为0。

注意事项

Notes

- 请注意避免扩增产物（amplicons）对下次试验的污染。（avoid carry-over contamination）
- 如果使用ABI 荧光仪，将“Passive reference” & “Quencher” 设置为“None”。
- 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：crRNA（20nM~1000nM）、reporter（20nM~1000nM）、Cas蛋白（20nM~200nM）。