



Cas14a 反应试剂盒 (荧光型)

Cas14a master mix (fluor)

✉ info@ezassay.com

🌐 www.ezassay.com

深圳易致生物科技有限公司

目录编号: CAS14-MIX-FM
CAS14-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
操作步骤	3
注意事项	3

产品简介

Brief introduction

Cas14a是一种内切核酸酶，其在tracrRNA:crRNA（或sgRNA）的引导下，特异结合并切割靶标ssDNA，且无需PAM位点。与Cas12类似，Cas14a也可以结合靶标核酸并激活其ssDNA反式切割活性，从而被应用于靶标核酸的分子检测；与Cas12不同的是，Cas14a只能结合ssDNA靶标，因此经过扩增富集的靶标核酸需使用T7核酸外切酶进行处理，且其中一条扩增引物需要使用磷硫酰化修饰以确保T7核酸外切酶仅切割其中一条链，从而留下ssDNA靶标链以用于Cas14a介导的分子检测。

试剂盒组成

Materials supplied

组分	CAS14-MIX-FM 96T	CAS14-MIX-FM-5 96T*5
Cas14a Reaction Buffer (10X)	240 μ l	240 μ l*5
Cas14a Protein (10 μ M)	50 μ l	50 μ l*5
Cas14a Reporter (10 μ M)	50 μ l	50 μ l*5
Enhancers	50 μ l	50 μ l*5
Positive Control	50 μ l	50 μ l*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Cas14a结合，形成功能复合物，被目标序列特异性激活。

Cas14a sgRNA scaffold sequence结构序列: 5' -3' :

```
CUUCACUGAUAAAGUGGAGAACCGCUUCACCAAAGCUGUCCCUUAGGGGAUUAGAACUUGAG  
UGAAGGUGGGCUGCUUGCAUCAGCCUAAUGUCGAGAAGUGCUUUCUUCGGAAAGUAACCCUC  
GAAACAAAUUCAUUUUUCCUCUCCAAUUCUGCACAAGAAAGUUGCAGAACCCGAAUAGACGAA  
UGAAGGAAUGCAAC
```


Cas14a sgRNA (10 μ M)	0.5 μ L	-	0.5 μ L
Enhancers	0.5 μ L	0.5 μ L	0.5 μ L
Template*	X μ L	-	-
Positive Control**	-	5 μ L	-
DEPC Water	Up to 20 μ L		

*dsDNA靶标需带有PAM位点，而ssDNA靶标不依赖PAM位点；扩增引物中的一条需要采用磷硫酰化修饰；

**Positive Control包含sgRNA，Template。

- 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，25 $^{\circ}$ C反应30min，37 $^{\circ}$ C反应30 min。

注意事项

Notes

1. 请注意避免扩增产物（amplicons）对下次试验的污染。（avoid carry-over contamination）
2. 如果使用ABI 荧光仪，将“Passive reference” & “Quencher” 设置为“None”。
3. 反应体系表格中的浓度为一般使用浓度，不同的实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（250nM~1000nM）、reporter（250nM~1000nM）、Cas蛋白（250nM~200nM）。