



Cas14a (Cas12f1)蛋白说明书

Cas14a (Cas12f1) Protein Instructions

✉ info@ezassay.com

🌐 www.ezassay.com

深圳易致生物科技有限公司

目录编码: CAS-14-001
CAS-14-010
CAS-14-100

目录 CONTENTS

<u>内容</u>	<u>页码</u>
产品信息	1
产品简介	1
储存	1
试剂盒组成	1
Cas14a sgRNA	2
注意事项	2

产品信息

产品名称	Cas14a蛋白
表达系统	E.coli大肠杆菌
性质	重组蛋白
形式	液体
分子量	62 kDa

产品简介

Product 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。

储存

Storage

本产品于-20°C保存，有效期1年

试剂盒组成

Materials supplied

货号	Cas-14-001	Cas-14-010	Cas-14-100
Cas14a	10 μ M*10 μ l (100pmol)	10 μ M* 100 μ l (1,000pmol)	10 μ M *1000 μ l* (10,000pmol)
1X Diluent Buffer (for Cas14a)	0.5 ml * 1 支	1 ml * 1 支	10 ml * 1支*
10X Reaction Buffer (for Cas14a)	0.5 ml * 1 支	1 ml * 1 支	10 ml * 1支*

* 收到产品后，建议分装，避免反复冻融。

Cas14a sgRNA

Cas14a sgRNA由tracrRNA, crRNA和Spacer 构成。sgRNA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
 GAAACAAAUUCAUUUUUCCUCUCCAUAUCUGCACAAGAAAGU **UGCAGAACCCGAAUAGACGAA**
UGAAGGAAUGCAAC

推荐搭配CRISPR guide RNA转录试剂盒制备sgRNA。 (货号: SG-RNA-001)

设计咨询: info@ezassay.com



应用示例

Application example

1. 根据下表配置Cas14a切割反应体系: (建议冰上操作)

组分	用量	终浓度
10X Reaction Buffer (for Cas14a)	2 μ l	1X
Cas14a (10 μ M)*	0.05~0.5 μ l	25~250 nM
10 μ M sgRNA	0.05~0.5 μ L	25~250 nM

Cas14a sgRNA

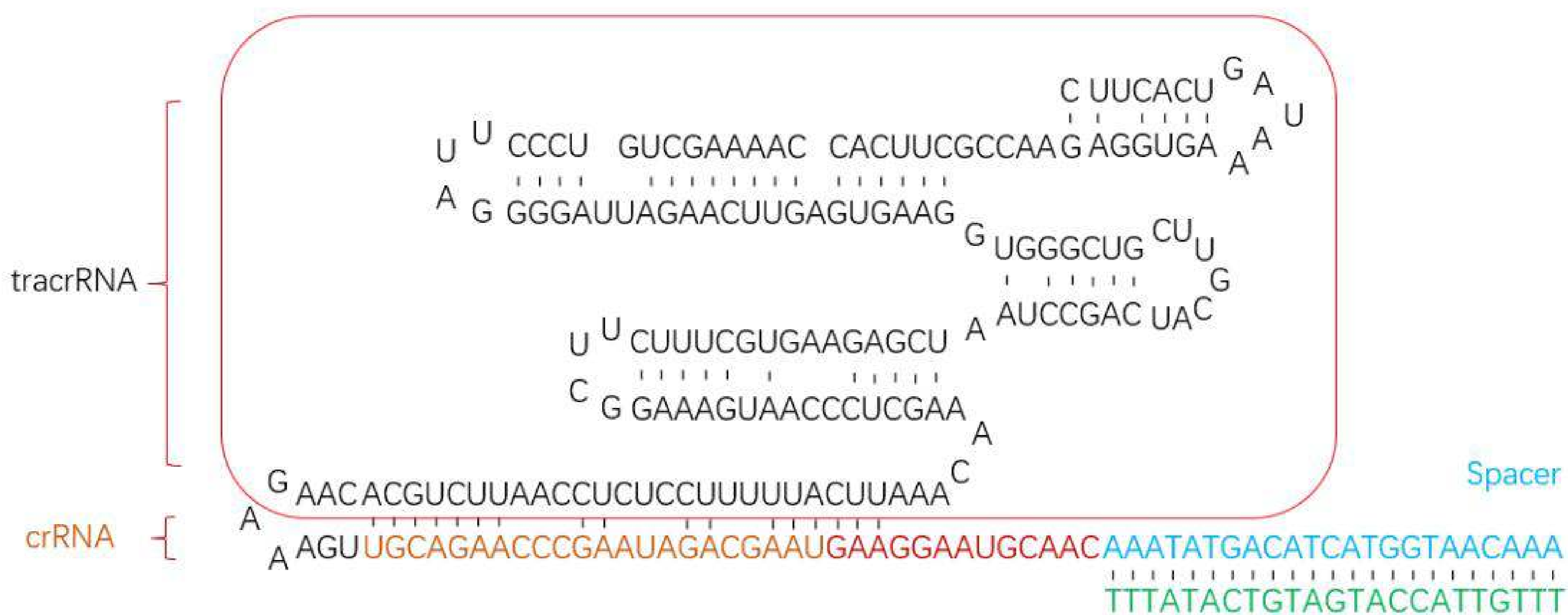
Cas14a sgRNA由tracrRNA, crRNA和Spacer 构成。sgRNA与Cas14a结合，形成功能复合物，被目标序列特异性激活。

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

CUUCACUGAUAAAGUGGAGAACCGCUUCACCAAAGCUGUCCCUUAGGGGAUUAGAACUUGAG
UGAAGGUGGGCUGCUUGCAUCAGCCUAAUGUCGAGAAGUGCUUUCUUCGGAAAGUAACCCUC
GAAACAAAUUCAUUUUUCCUCUCCAUAUCUGCACAAGAAAGU **UGCAGAACCCGAAUAGACGAA**
UGAAGGAAUGCAAC

推荐搭配CRISPR guide RNA转录试剂盒制备sgRNA。 (货号: SG-RNA-001)

设计咨询: info@ezassay.com



应用示例

Application example

1. 根据下表配置Cas14a切割反应体系: (建议冰上操作)

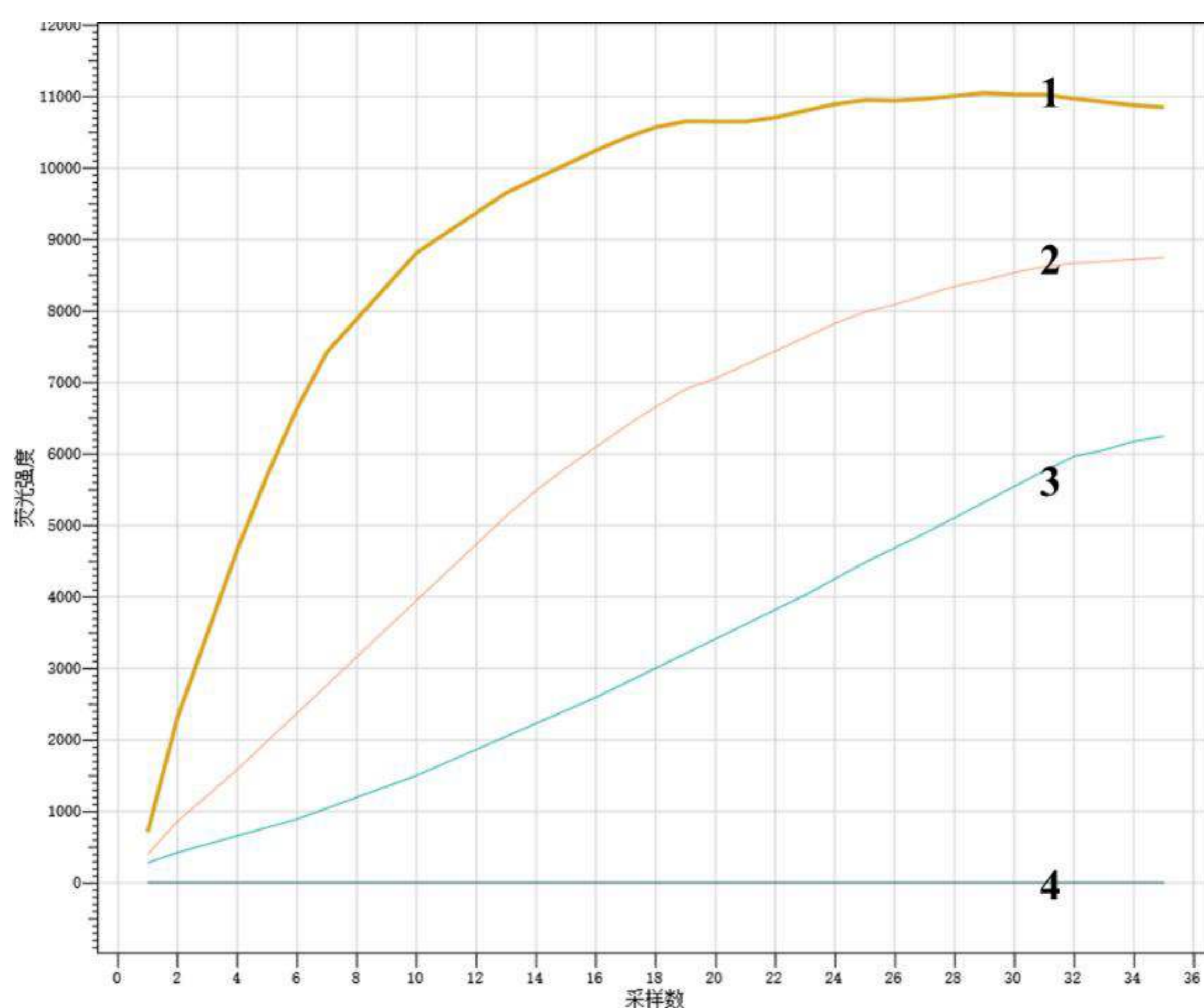
组分	用量	终浓度
10X Reaction Buffer (for Cas14a)	2 μ l	1X
Cas14a (10 μ M)*	0.05~0.5 μ l	25~250 nM
10 μ M sgRNA	0.05~0.5 μ L	25~250 nM

10 μ M Target DNA**	0.05~0.5 μ l	25~250 nM
10 μ M ssDNA Reporter (for Cas14a)	0.05~0.5 μ L	25~250 nM
Nuclease-free water	Up to 20 μ l	-

*可用 1X Diluent Buffer 稀释，稀释后需立即使用。

**Target DNA 可为 ssDNA 或带 PAM 序列的 dsDNA. (crRNA、Target DNA 及 ssDNA Reporter 可用 Nuclease-free Water 稀释。对于极低浓度的 Target DNA，建议用 0.1% Tween 20 稀释并使用低吸附的离心管、吸头等耗材。)

2. 设置Q-PCR 仪温度为37°C，每分钟采集一次荧光信号。



- 1: Cas14a 250nM
- 2: Cas14a 100nM
- 3: Cas14a 500nM
- 4: No template control

注意事项

Notes

1. Cas14a的顺式剪切(cis-cleavage): Cas14a在 sgRNA 的引导下，特异性地剪切 target DNA。dsDNA 靶标需带有 PAM 位点，而 ssDNA 靶标不依赖 PAM 位点。
2. Cas12f 的反式剪切(trans-cleavage): 当 target DNA 存在时，Cas14a/sgRNA 与 target DNA 形成复合物，Cas12f 被激发反式剪切活性，将反应体系中任意序列的单链 DNA 切割。
3. 当 Cas14a 结合靶标 ssDNA 时，需使用 T7 核酸外切酶对扩增得到的靶标 dsDNA 进行消化，得到靶标 ssDNA，用于 Cas14a 介导的分子检测。（注意：其中一条扩增引物需要采用磷硫酰化修饰以确保 T7 核酸外切酶仅切割另外一条链，从而留下 ssDNA 靶标链。）
4. 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。

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

 深圳易致生物科技有限公司

 www.ezassay.com

 info@ezassay.com