



# TtAgo蛋白说明书

## TtAgo Protein Instructions

✉ [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

目录编码: TT-AGO-50  
TT-AGO-500

# 目录 CONTENTS

内容	页码
产品信息	1
产品简介	1
储存	1
温度范围	2
试剂盒组成	2
TtAgo的特点	2
应用示例	3
TtAgo活性对比示例	4

## 产品信息

产品名称	TtAgo 蛋白，又称TtAgo核酸内切酶
表达系统	E.coli大肠杆菌
性质	重组蛋白
形式	液体

## 产品简介

### Product Introduction

Thermus thermophilus Argonaute (TtAgo) 蛋白来源于革兰氏阴性嗜热菌 *Thermus thermophilus*，是一种由 DNA 引导的核酸内切酶。TtAgo 可在 5' 磷酸化的单链 DNA (16-18nt) 引导下，对与向导 DNA 互补的靶核酸序列进行特异性切割。在  $Mg^{2+}$  或  $Mn^{2+}$  等二价金属离子存在条件下，TtAgo 的 RNase H 类活性位点被激活，从而催化靶核酸的切割反应。切割位点通常位于与向导 DNA 配对区域中，对应于向导 DNA 第 10 和第 11 个核苷酸之间的位置。

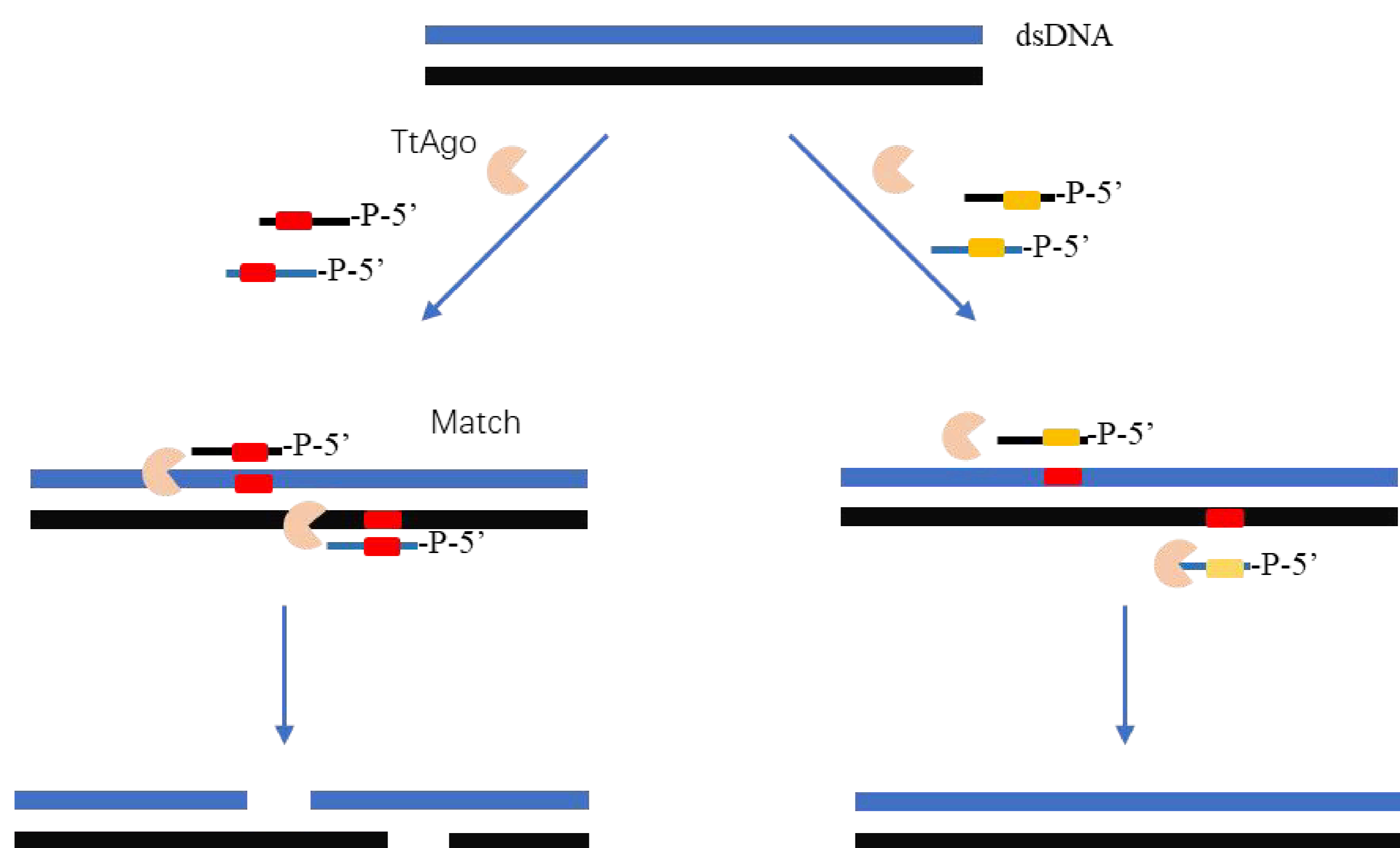


Figure 1. Schematic overview of the TtAgo-based ssDNA-directed DNA cleavage method.

## 储存

### Storage

-20°C保存。收到后，建议分装，避免反复冻融。

## 温度范围

### Temperature range

TtAgo 的活性温度范围为 55–85°C，最适反应温度为 65–85°C。低于 65°C 时，活性会显著下降。

## 试剂盒组成

### Materials supplied

货号	TT-AGO-50	TT-AGO-500
TtAgo Protein (1μM)	50μL	50μL*10
TtAgo Reaction Buffer (10x)	100μl	100μl * 10
MnCl <sub>2</sub> (40mM)	50μL	50μL * 10

## TtAgo的特点

### Key Features of TtAgo

#### 1. 无需 PAM 序列

与 CRISPR 系统不同，TtAgo 的靶序列识别不依赖 PAM (Protospacer Adjacent Motif) 序列。

#### 2. DNA 引导的序列特异性识别

TtAgo 在 5' 磷酸化单链 DNA (gDNA) 的引导下，可对与向导序列互补的靶核酸进行精准识别和切割。

#### 3. 多类型核酸底物切割能力

TtAgo 可切割双链 DNA (dsDNA)、单链 DNA (ssDNA) 以及单链 RNA (ssRNA)

#### 4. 底物活性差异

TtAgo 对 ssDNA 底物活性最高，其次为 dsDNA，对 ssRNA 的活性相对较低。在 gDNA 引导下，TtAgo 不会直接切割双链 DNA，而是在与 gDNA 互补的 DNA 链上产生特异性切口。此外，TtAgo 对双链 RNA (dsRNA) 无活性。

#### 5. gDNA 预组装可降低非特异性活性

在缺乏 gDNA 的情况下，TtAgo 可能通过“chopping”机制对 dsDNA 产生非特异性降解，这被认为是 TtAgo 从外源 DNA 生成自身 gDNA 的过程。为减少该非特异性活性，建议 gDNA 的摩尔量至少为 TtAgo 的 5 倍。在反应前，建议将 gDNA 与 TtAgo 在约 75°C 条件下孵育 10–30 分钟，形成稳定的核蛋白复合物后再加入底物进行反应。

#### 6. 金属离子要求

TtAgo 的催化活性依赖二价金属离子。除 Mg<sup>2+</sup> 外，Mn<sup>2+</sup> 亦可作为辅助金属离子，推荐使用浓度约 0.2 mM。较高浓度的 Mn<sup>2+</sup> 可能抑制 TtAgo 活性，并在高温条件下引起底物的非特异性降解，尤其是 RNA 底物。

## 应用示例

### Application Example

#### 1、目标序列特异性扩增

可采用RPA, LAMP或PCR得到扩增产物。

#### 2、根据下表配置反应体系：

组分	用量	终浓度
TtAgo Reaction Buffer (10x)	2 $\mu$ L	1X
MnCl <sub>2</sub> (40mM) <sup>***</sup>	0.1 $\mu$ L	0.2mM
gDNA (2 $\mu$ M) <sup>*</sup>	1 $\mu$ L	100nM
TtAgo (1 $\mu$ M)	1 $\mu$ L	50nM
扩增产物 <sup>**</sup>	X $\mu$ L	-
PCR-grade water	Up to 25 $\mu$ l	-

\*gDNA长度通常为16-18nt。设计时应使gDNA与靶标序列3'端完全匹配结合，并避免gDNA在5'端形成突出端。

\*\*阳性对照组：加8 $\mu$ L Positive Control，已包含gDNA和Reporter。

阴性对照组：用PCR-grade water代替扩增产物。

\*\*\*Mn<sup>2+</sup>添加量为0-1 $\mu$ L，对应终浓度为0-2mM。建议设置浓度梯度以筛选最佳反应条件，例如：0、0.1、0.2、0.5、1、2mM。

3、设置反应温度75 $^{\circ}$ C，孵育30-40分钟。

4、95 $^{\circ}$ C 加热 10 分钟以终止反应。所得产物可用于下游分析或相关应用。

## TtAgo活性对比示例

### TtAgo Activity Comparison Example

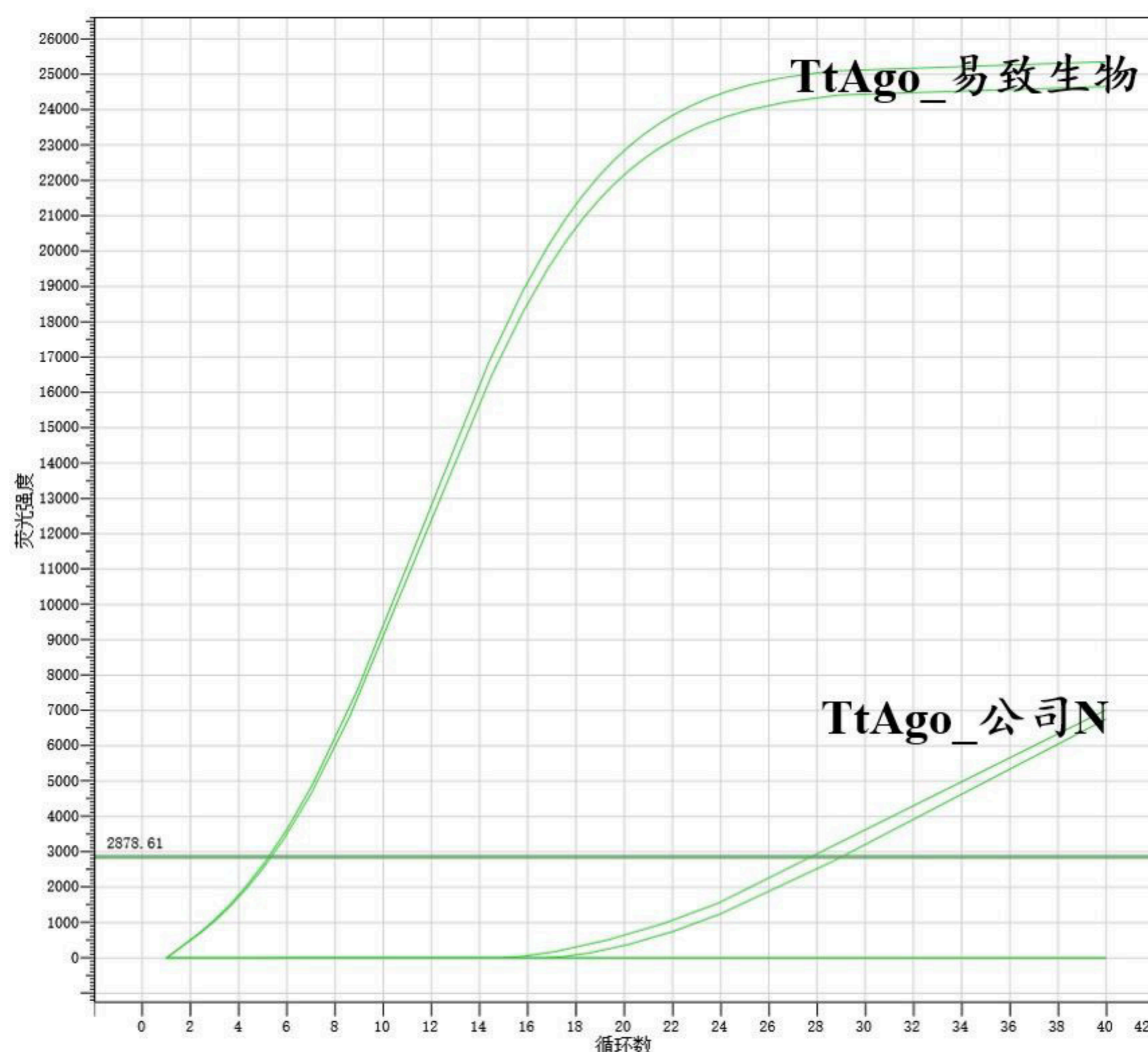


图2.TtAgo活性对比实验

分别采用易致生物TtAgo与公司N的TtAgo对reporter进行切割，每组设置2个重复。TtAgo反应体系中加入gDNA与reporter。reporter为ssDNA分子，标记为FAM-BHQ1，且与gDNA序列互补配对。荧光检测通道：FAM；反应条件：75°C，40分钟。