



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-14-000
CAS-14-001
CAS-14-010
CAS-14-100

目录 CONTENTS

内容	页码
产品信息	1
产品简介	1
储存	1
试剂盒组成	1
Cas14a sgRNA	2
检测步骤	3
注意事项	4

产品信息	
产品名称	Cas14a蛋白
表达系统	E.coli大肠杆菌
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Cas12a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Cas12a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

-20℃保存。收到产品后，建议分装保存，避免反复冻融。

试剂盒组成

Materials supplied

货号	CAS-14-000	CAS-14-001	CAS-14-010	CAS-14-100
Cas14a	10μM*10μL (100pmol)	10μM*20μL (200pmol)	10μM* 200μL (2,000pmol)	10μM *1000μl (10,000pmol)
1X Diluent Buffer* (for Cas14a)	1 ml * 1 支	1 ml * 1 支	1 ml * 2 支	10 ml * 1支
10X Reaction Buffer (for Cas14a)	1 ml * 1 支	1 ml * 1 支	1 ml * 4 支	10 ml * 2支
Positive Control	50μL*1支	50μL*1支	50μL*2支	50μL*2支

*Diluent buffer 即蛋白稀释液。

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
GAAACAAAUUCAUUUUUCCUCUCCAAUUCUGCACAAGAAAGU**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

Cas14a(Cas12f1) sgRNA:



检测步骤

Assay procedure

1. 根据下表配置Cas14a切割反应体系：（建议冰上操作）

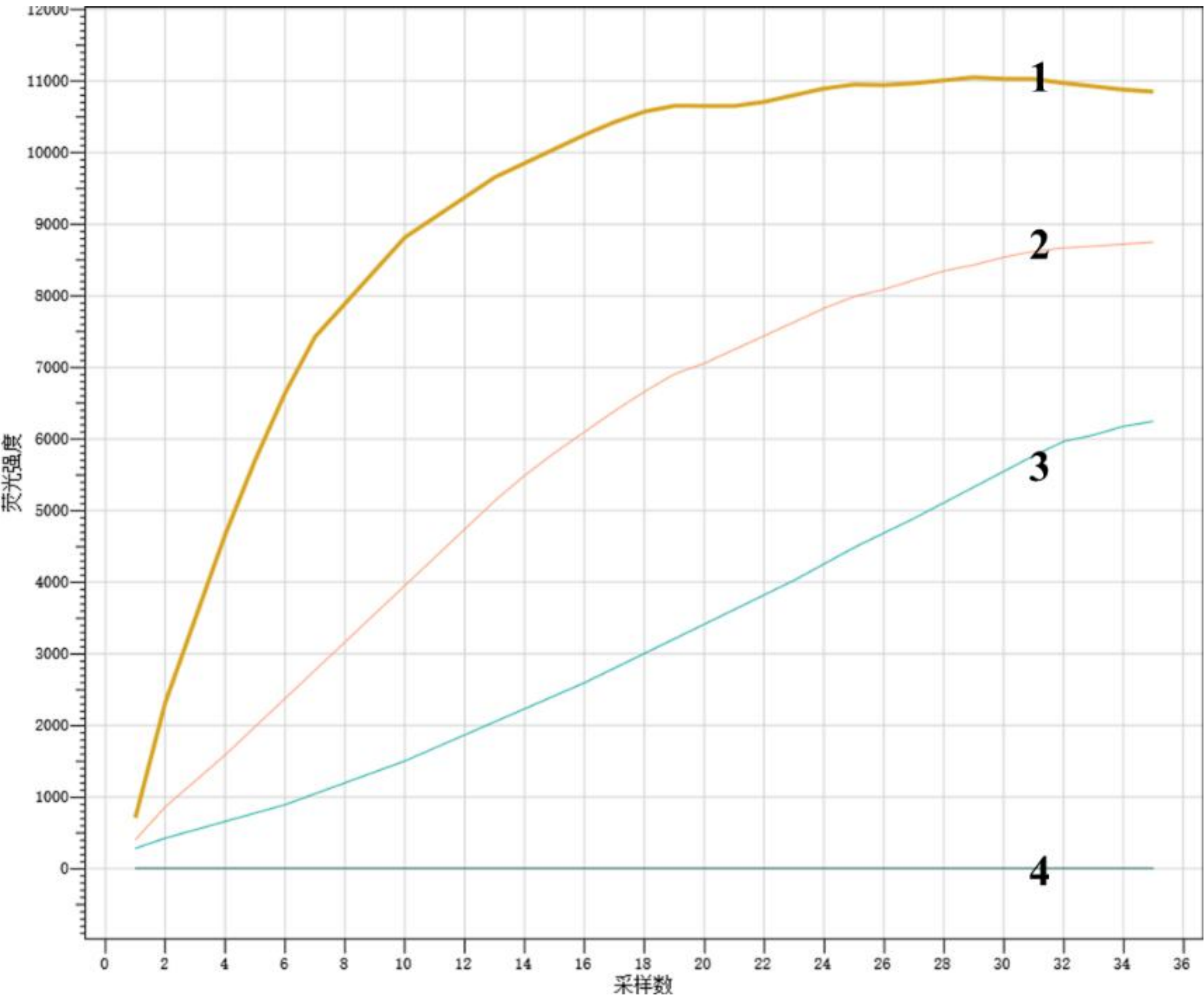
组分	用量	终浓度
10X Reaction Buffer（for Cas14a）	2 μl	1X
Cas14a (10μM)*	0.5~2 μl	250~1000 nM
10 μM sgRNA	0.5~2 μl	250~1000 nM
10 μM Target DNA**	X μl	-
10 μM ssDNA Reporter (for Cas14a)***	0.5~2 μl	250~1000 nM
Nuclease-free water	Up to 20 μl	-

*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， Positive Control包含sgRNA、 Reporter 和ssDNA， 20μL反应体系加入5μL。（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。）

***推荐 EZassay™ Reporter for Cas14a。（Cat.#: DNA-FAM-BHQ-L）它带有FAM荧光标签。

2. 设置Q-PCR 仪温度为37℃， 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. 如果使用Q-PCR仪，请关闭热盖功能或将热盖温度设置为42°C。
2. 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。
3. Cas14a的反式剪切(trans-cleavage): 当 target DNA 存在时，Cas14a/sgRNA 与 target DNA 形成复合物，Cas14a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。
4. 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。）
5. 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。