

产品简介

Cas12a 来源于大肠杆菌重组表达, 是一种由 41-44 个核苷酸的引导 RNA (gRNA) 引导的特异性位点 DNA 内切酶。Cas12a 蛋白作用时, 需要设计一个与靶位点互补的 gRNA 以及有与靶序列相对的 DNA 链上的 5' TTTV (PAM)。Cas12a 蛋白会在 PAM 约 18 个碱基 3' 处进行酶切, 并产生 5' 突出端。

产品组成

组分	E401
Cas 12a (0.5 µg/µl)	100 µl
10 × Cas Buffer	1 ml

储存条件

-20°C保存, 于-20 ~ 0°C运输。▲避免反复冻融。

质量控制

核酸外切酶残留检测: 20 µl 本品和 0.6 µg λDNA 在 74°C下孵育 1 小时, DNA 的电泳谱带不发生变化。

核酸内切酶残留检测: 20 µl 反应体系, 10 U 本品和 1 µg PUC19, 37°C温育 4 h, DNA 的电泳谱带无变化。

大肠杆菌残留 DNA 残留检测: 50 µl 体系中, 以 ddH₂O 为模板, 扩增 *E. coli* 16 s rDNA 基因。30 个循环后进行 1%琼脂糖凝胶电泳, 染色, 无扩增条带。

产品应用

核酸快速诊断检测

实验应用及流程

DNA 靶位点酶切

1. 在 RNase-free 离心管中配制如下混合液:

RNase Free ddH ₂ O	to 27 μ l
10 \times Cas Buffer	3 μ l
gRNA (300 nM)	3 μ l (30 nM final)
Cas 12a (0.5 μ g/ μ l)	0.03 μ l (30 nM final) ^a

a. 100 μ M 等于 15.1 mg/ml Cas 12a

2. 用移液器轻轻吹打混匀, 25°C 孵育 10 min;
3. 加入 3 μ l DNA (30 nM), 混匀后短暂离心, 37°C 孵育 10 min;
4. 向每个样品中加入 1 μ l 蛋白酶 K (ATG#E501);
5. 室温孵育 10 min 后, 做相关验证分析。