

产品简介

PfAgo, 货号: E402, 来源于大肠杆菌重组表达, 是一种可编程的 DNA 内切酶, 在一个短的 16-18 个核苷酸的 5'-磷酸化单链 DNA (gDNA) 引导下, 对底物上相应的特异性序列进行酶切, 在互补底物序列的磷酸二酯主链中引入一个断裂。PfAgo 优点是引导设计和目标序列选择不受 PAM 的限制, 对单链 DNA 和大多数双链 DNA 底物具有高度活性。该酶在 Mg^{2+} 或 Mn^{2+} 金属离子存在时, 获得类 RNase H 活性, 并在与 DNA 向导链第 10 和 11 个碱基互补的碱基处切割底物。

产品优点: 灵敏度高、特异性好、通量高

产品组成

组 分	E402
PfAgo (1 μ M)	100 μ l
10 \times Reaction buffer	50 μ l
MnCl ₂ (25 mM)	20 μ l

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: 10 μ l 本品和 0.6 μ g λ DNA 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: 10 μ l 反应体系, 10 U 本品和 1 μ g 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 μ l 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

靶标核酸分子检测

基因编辑
定向酶切

实验方案

1. 在 RNase-free 离心管中配制如下混合液:

10 × Reaction Buffer	4 μl
PfAgo	16 μl
MnCl ₂ (25 mM)	1.6 μl
gDNA	4 μM
ddH ₂ O	to 40 μl

用移液器轻轻吹打混匀

若后续实验为检验 RT-LAMP 扩增产物

第一步混合液	40 μl
LAMP 扩增反应后产物混合物	30 μl
荧光报告核酸	400 nM
ddH ₂ O	To 80 μl

用移液器轻轻吹打混匀, 95°C 30 min, 每分钟检测一次荧光信号

若后续实验为切割 ssDNA 和 dsDNA

第一步混合液	40 μl
DNA	4 μM
10 × Reaction Buffer	4 μl
ddH ₂ O	To 80 μl

用移液器轻轻吹打混匀, 95°C 30 min, 取 10 - 20 μl 进行 TBE-PAGE 检测

注意事项

gDNA 长度 16-22 bp ,gDNA 与靶标 3'端结合时, gDNA 避免 5'端的突出