



## LbuCas13a Nuclease 说明书

【产品名称】 LbuCas13a Nuclease

【分子量】 141.6KDa

【产品编号】 EDE0002

【形式】 液体

### 【产品简介】

LbuCas13a (又名 C2c2) 来源于 *Leptotrichia buccalis* 菌株。LbuCas13a 属于II类VI型 CRISPR 系统效应蛋白,是由 crRNA 介导的核酸内切酶,在识别并切割靶标 RNA 时,其“附属切割”活性被激活,可非特异切割体系中单链 RNA(ssRNA)。通过设计两端标记荧光基团或者其他标记物的 RNA 探针,可实现 CRISPR/Cas13a 对 RNA 模板的检测和信号放大。可通过荧光仪或试纸观察结果。

### 【产品组分】

组分	EDE0002-100	EDE0002-500	EDE0002-1000
LbuCas13a Nuclease	1 $\mu$ M*100 $\mu$ L (100 pmol)	1 $\mu$ M*500 $\mu$ L (500 pmol)	1 $\mu$ M*500 $\mu$ L*2 管 (1000 pmol)
LbuCas13a Cleavage Buffer (5 $\times$ )	500 $\mu$ L*1 管	500 $\mu$ L*4 管	1mL*4 管

### 【储存条件及有效期】

有效期 1 年,保存条件 -80 $^{\circ}$ C。为避免反复冻融,Cas 酶开封使用过后请置于 -20 $^{\circ}$ C; 建议根据使用次数进行分装使用,避免温度多次变化导致酶活性降低。

### 【产品特点】

采用一步法纯化制备,最大程度保留酶活性,经过测试酶活性显著高于同类产品。

### 【活性定义】

在总体积为 25  $\mu$ L 的反应体系中,37 $^{\circ}$ C 反应条件下,1 min 内剪切 1 pmol ssRNA 探针所需的 Cas13a 酶量定义为 1 transU。

例:若某批次 LbuCas13a 酶的反式切割活性为 9 transU/pmol,则表明 1 pmol 的该批次 LbuCas13a 酶可在 1 min 内,在上述指定的反应条件下,反式切割 9 pmol ssRNA 探针。

### 【质量保证】

样品纯度:~95% (SDS-PAGE 鉴定)。

### 【检测步骤】

#### 需要准备的其它试剂

1. Reporter: Cas13a 切割底物。即在剪切反应体系中加入 ssRNA 报告探针,该探针 5'端标记荧光报告基团(FAM),3'端标记荧光淬灭基团(BHQ1)。可搭配我司的 Reporter 进行检测,或自行设计合成 Reporter。

产品名称	编号
ssRNA reporter (RNA 探针)	EDN-TR01

2. crRNA/gRNA: 与 Cas13a 结合,形成功能复合物,被目标序列特异性激活。可选择我司的 crRNA 或自行设计合成 crRNA。

名称	规格	编号
crRNA 化学合成	2OD	EDN-RH01

3. RNase Inhibitor (可选): 抑制 RNase,防止 RNA 降解。(货号: EDHZ051)

4. 恒温扩增反应试剂盒。



**【测试反应体系】**

组分	体积/ $\mu\text{L}$	终浓度
1 $\mu\text{M}$ LbuCas13a	1.25	50 nM
5 $\times$ Cleavage Buffer	5	1 $\times$
25 U RNase Inhibitor	1	1 U
500 nM crRNA	2.5	50 nM
4 $\mu\text{M}$ ssRNA Reporter	2.5	400 nM
1 $\mu\text{M}$ RNA target	1.25	50 nM
H <sub>2</sub> O	-	-
Total	<b>25<math>\mu\text{L}</math></b>	<b>25<math>\mu\text{L}</math></b>

**【注意事项】**

- 为防止 RNase 污染, 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。
- Cas13a 酶对热敏感, 容易失活, 应全程冰上配置反应体系, 并在使用后立即将酶置于-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

**注:** 使用该产品发表文章时, 请标注我司名称 Guangzhou Editgene Co., Ltd, China

**【反应条件】**

实时荧光定量 PCR 仪或恒温扩增仪检测荧光信号, 37 $^{\circ}\text{C}$ 反应, 每 30 sec 采集一次荧光信号。

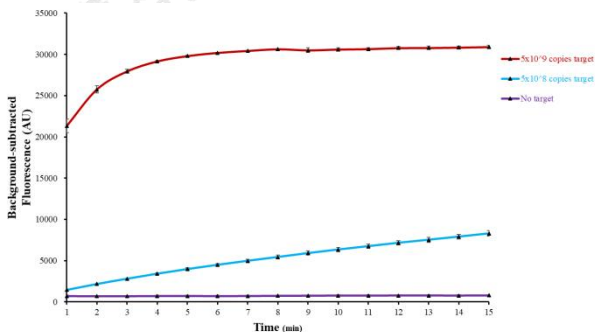
**【酶活性对比实验结果】**

Fig 1. Results of Cas13 collateral cleavage at different concentration.

横坐标为反应时间, 纵坐标为苏州克睿 MA-1610 恒温扩增仪检测结果。由图可见, 5 $\times 10^9$  拷贝靶标 RNA 可高效激活 LbuCas13a 酶, 10 分钟内可完全切割 RNA 报告探针, 并达到荧光峰值。

