

LbCas12a Nuclease 说明书

【产品名称】 LbCas12a Nuclease 【分子量】 146.8 KDa

【产品编号】 EDE0005 【形式】 液体

【产品简介】

LbCas12a (又名 Cpf1) 核酸酶来源于 *Lachnospiraceae bacterium* ND2006 菌株。LbCas12a 属于 2 类 V 型 CRISPR 效应蛋白, 是一种依赖 crRNA 介导的核酸内切酶, 在靶标双链 DNA 存在 PAM (TTTV) 序列的情况下, 由 crRNA 介导特异性识别并切割双链 DNA, 而 LbCas12a 特异性切割靶标单链 DNA 不依赖 PAM 序列。同时, LbCas12a-crRNA 复合物与互补单链 DNA 或者双链 DNA 结合后, 其非特异性 ssDNA 反式切割活性被激活, 通过设计两端标记荧光基团或其它小分子标记的单链 Reporter DNA, 可实现 Cas12a 对 DNA 模板的检测和信号放大。可通过荧光仪和试纸条观察结果。

【产品组分】

组分	EDE0005-100	EDE0005-1000	EDE0005-2000
LbCas12a Nuclease	1 μ M*100 μ L (100 pmol)	1 μ M*500 μ L*2 管 (1000 pmol)	1 μ M*500 μ L*4 管 (2000 pmol)
LbCas12a Cleavage Buffer (10 \times)	500 μ L*1 管	1mL*4 管	1mL*7 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, 经过酶活性测试显著高于同类产品。

【活性定义】

在总体积为 30 μ L 的反应体系中, 37 $^{\circ}$ C 反应条件下, 1 min 内剪切 1 pmol ssDNA 探针所需的 Cas12a 酶量定义为 1 transU。

例: 若某批次 LbCas12a 酶的反式切割活性为 30 transU/pmol, 则表明 1 pmol 的该批次 LbCas12a 酶可在 1 min 内, 在上述指定的反应条件下, 反式切割 30 pmol 的 ssDNA 探针。

【质量保证】

样品纯度: \sim 95% (SDS-PAGE 鉴定)。

【检测步骤】

需要准备的其它试剂

1. Reporter: Cas12a 切割底物。即在剪切反应体系中加入 ssDNA 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
ssDNA reporter (DNA 探针)	EDN-TD01

2. crRNA/sgRNA: 与 Cas12a 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. 恒温扩增反应试剂盒, RPA 扩增试剂盒。



**【注意事项】**

1. 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。
2. Cas12a 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°C保存。

组分	体积/ μL	终浓度
10×Cleavage Buffer	3	1×
1 μM LbCas12a Nuclease	1	33 nM
500 nM crRNA	2	33 nM
2 μM ssDNA Reporter	6	400 nM
100 nM DNA target	1	3.3 nM
DEPC H ₂ O		
Total	30 μL	30 μL

【测试反应体系】**【反应条件】**

使用实时荧光定量 PCR 仪或恒温扩增仪检测荧光信号，37°C反应，每 30 sec 采集一次荧光信号。

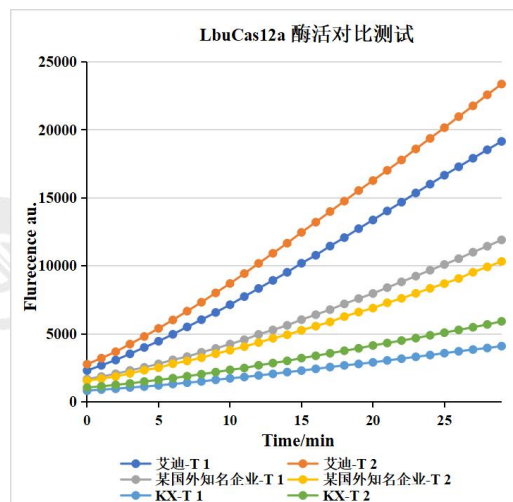
【实验结果】

Fig 1. Results of Cas12a collateral cleavage at different company product.

横坐标为反应时间，纵坐标为 Bio-rad CFX96 荧光 PCR 仪检测结果。由图可见，相同的条件下，可见本品切割效率显著高于同类产品。

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

