



LwaCas13a Nuclease 说明书

【产品名称】LwaCas13a Nuclease

【分子量】140.1KDa

【产品编号】EDE0001

【形式】液体

【产品简介】

LwaCas13a (又名 C2c2) 来源于 *Leptotrichia wadei* 菌株。LwaCas13a 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	EDE0001-100	EDE0001-500	EDE0001-1000
LwaCas13a Nuclease	1 μ M*100 μ L (100 pmol)	1 μ M*500 μ L (500 pmol)	1 μ M*500 μ L*2 管 (1000 pmol)
LwaCas13a Cleavage Buffer (5 \times)	500 μ L*1 管	500 μ 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 20 μ 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 LwaCas13a 酶的反式切割活性为 9 transU/pmol, 则表明 1 pmol 的该批次 LwaCas13a 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: \sim 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	20D	EDN-RH01

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

4. 恒温扩增试剂盒, RPA 扩增试剂盒。




【测试反应体系】

组分	体积/ μL	终浓度
1 μM LwaCas13a	1	50 nM
5 \times Cleavage Buffer	4	1X
500 nM crRNA	1	25 nM
2 μM ssRNA Reporter	1.25	125 nM
10 U RNase Inhibitor	1	0.5 U
1 μM RNA target	1	50 nM
H ₂ O		
Total	20 μL	20 μL

【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。

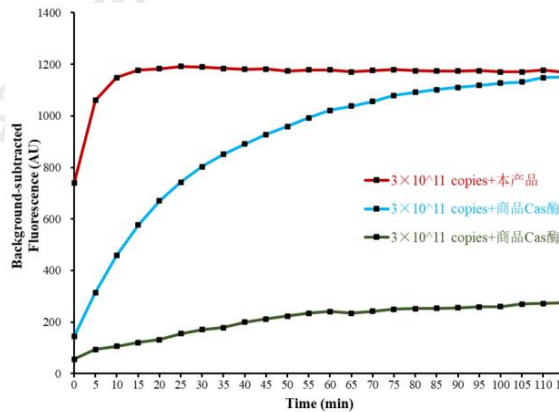
【酶活性对比实验结果】


Fig 1. Results of Cas13 collateral cleavage at different 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，本产品在 20 分钟内可完全切割 RNA 报告探针，并达到荧光峰值，而其他同类产品荧光值明显较低，反应速度较慢，可见本品切割效率显著高于同类产品。

【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. 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°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

