



RT-LAMP-CRISPR 荧光检测试剂盒 (一步法)

RT-LAMP-CRISPR Fluorescent Detection Kit (One-Step)

✉ info@ezassay.com

🌐 www.ezassay.com

深圳易致生物科技有限公司

目录编码: RT-LAM-CAS-01
RT-LAM-CAS-10

目录 CONTENTS

内容	页码
产品简介	1
试剂盒组成	1
需要但未提供的试剂	1
储存	2
操作步骤	2
注意事项	3
基于CRISPR/Cas技术的核酸检测技术示意图	3
如何选择合适的LAMP试剂盒	4

产品简介

Brief introduction

本试剂盒基于CRISPR/Cas12b技术，在sgRNA的引导下与目标序列结合，切换为激活状态，进而反式切割周围的单链DNA。在此基础上结合耐高温逆转录酶，Bst2.0 DNA聚合酶快速完成扩增，一步实现RNA病原体的检测，具有极高的灵敏度、特异性。

试剂盒组成

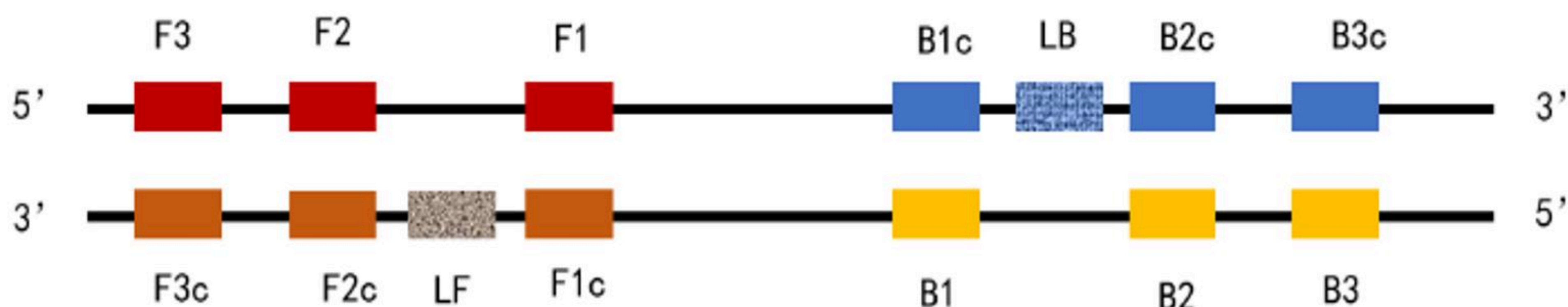
Materials supplied

序号	名称/Items	RT-LAM-CAS-01 96T	RT-LAM-CAS-10 96T*10
01	Reaction Buffer (2X)	700μL*2	700μL*20
02	RT-LAMP Enzyme Mix	200 μL	200μL*10
02	Cas12b Protein (10μM)	80 μL	80 μL*10
02	Reporter (20μM)	130 μL	130μL*10
02	Positive Control (5X)	50 μl	500 μl

需要但未提供的试剂

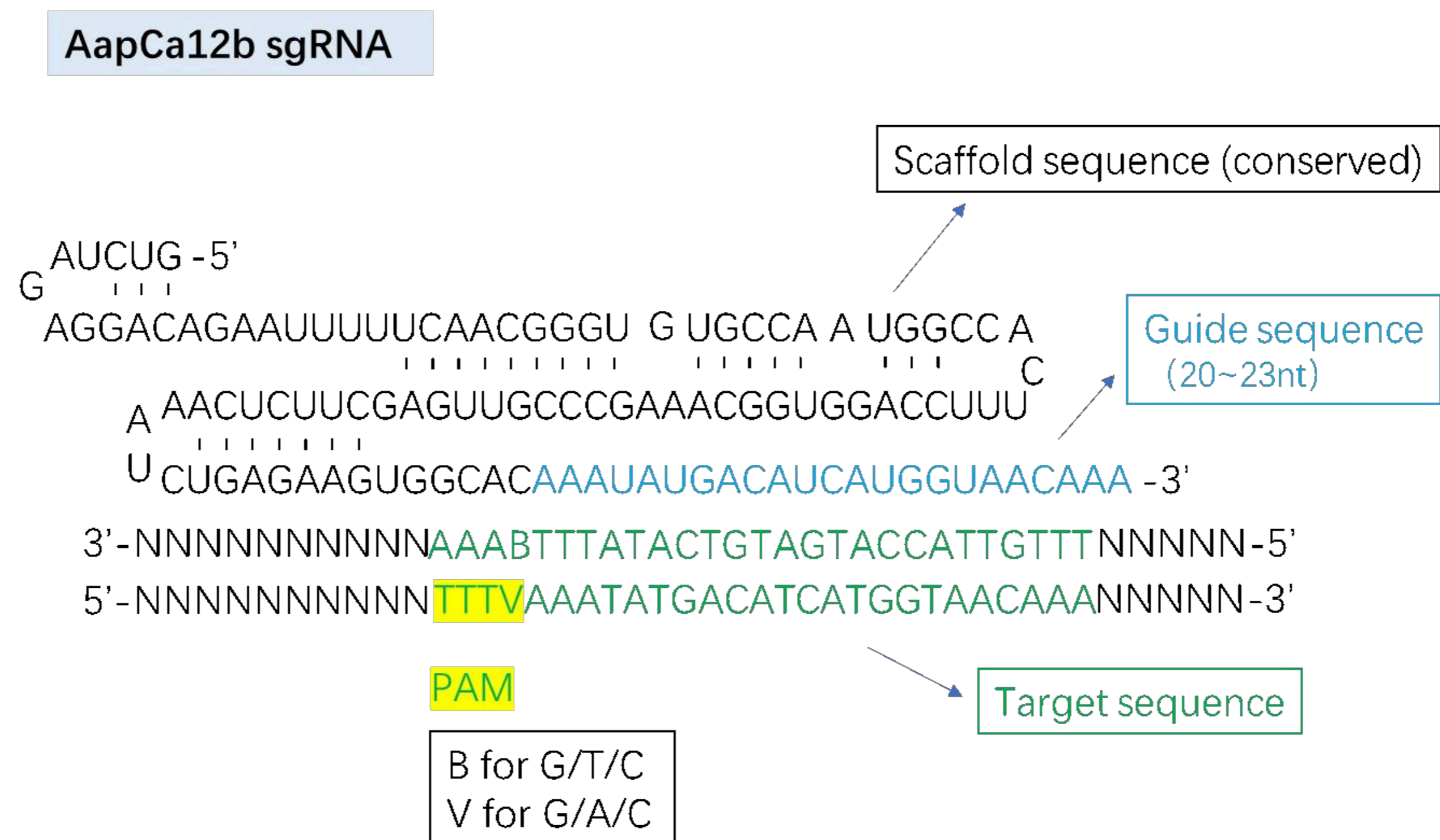
Other materials required

1. 荧光仪，读FAM信号（例如qPCR仪）
2. 移液器
3. Nuclease-free water
4. 目标序列特异性引物（在线设计：<http://primerexplorer.jp/e/>）设计咨询：info@ezassay.com



- F1c: F1 complementary
- FIP: Forward Inner Primer
- LF: Forward loop primer
- B1c: B1 complementary
- BIP: Backward Inner Primer
- BF: Backward loop primer

5. sgRNA: 与AapCas12b结合, 形成功能复合物, 被目标序列特异性激活。推荐搭配“CRISPR guide RNA转录试剂盒”制备sgRNA. (Cat.: SG-RNA-001)
 (AapCas12b crRNA scaffold sequence结构序列: 5' - GUCUAGAGGACAGAAUUUUUCAACGGGUGUGCCAAUGGCCACUUUCCAGGUGGCAAAGCCCG UUGAGCUUCUCAAUCUGAGAAGUGGCAC -3')



储存 Storage

-20°C保存。▲避免反复冻融。

操作步骤 Procedure

1. 在冰上融化后混匀试剂。
2. 提前打开荧光PCR仪并把反应温度设置为60°C, 关闭热盖功能或把热盖设置为70°C。
3. 以配制25 µl反应体系为例:

组分	用量	终浓度
Reaction Buffer (2X)	12.5 µl	1X
RT-LAMP Enzyme Mix	2µl	-
Cas12b Protein (10µM)	0.75 µl	300 nM
Primers (10X)*	2.5 µl	FIP/BIP各1.6 µM, LF/LB各0.4 µM, F3/B3各0.2 µM,
Reporter (20 µM)	1.25 µl	1 µM

sgRNA (25 μM)	1 μl	1 μM
RNA template**	1 μl	>10 copies or more
ddH2O	Up to 25 μl	-

*将FIP和BIP引物稀释为80μM，LF、LB、F3和B3引物稀释为20μM，则10X Primers需加入FIP、BIP、LF和LB各0.5μL，加入F3和B3各0.25μL；也可将引物稀释为其他浓度，根据表格中终浓度添加即可；

**无模板对照组用Nuclease-free H2O替代RNA template；阳性对照组加入5 μL Positive control，包含primers, sgRNA和RNA template.

4. 将反应管放置于荧光PCR仪（FAM通道），60 °C条件下反应30分钟。

注意事项

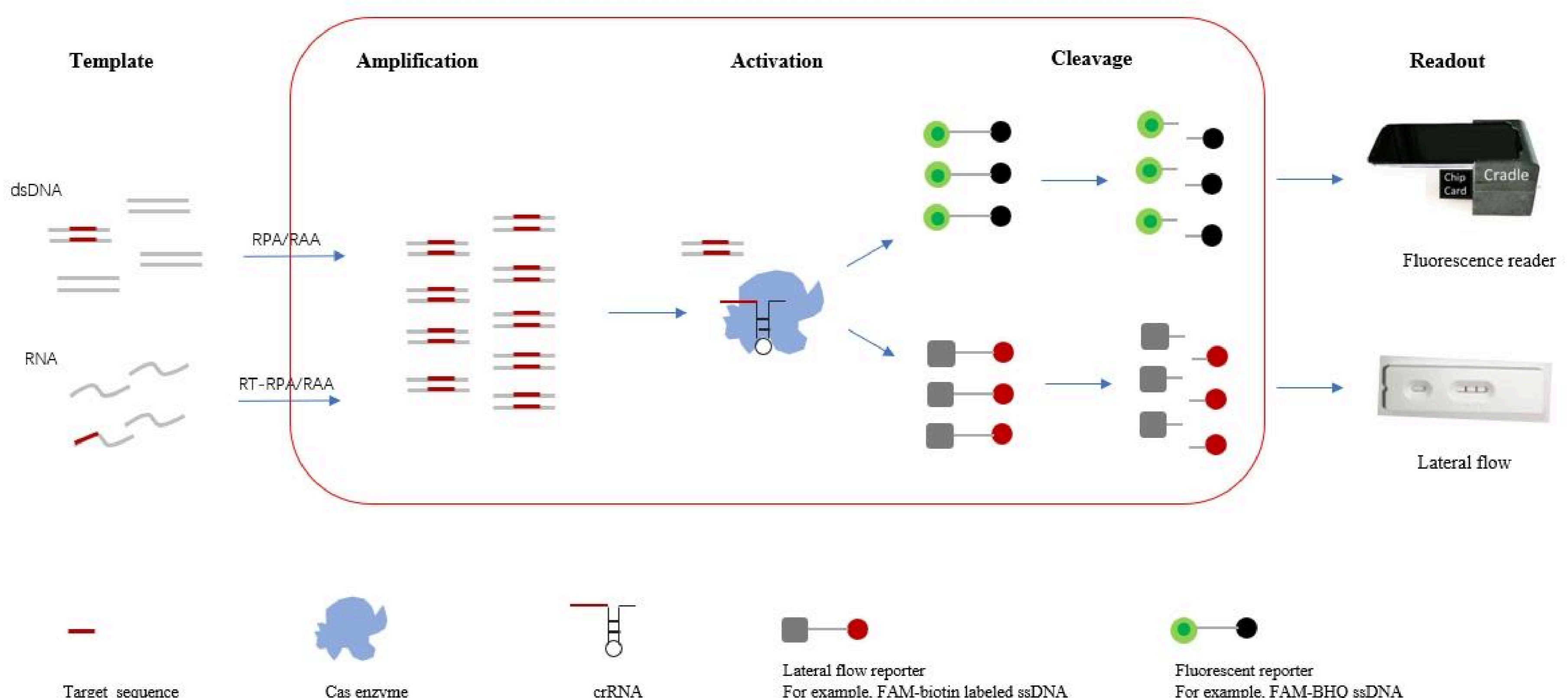
Notes

- 试剂配制与试剂反应在不同区域进行，以免发生污染。
- 建议每次实验增加无模板阴性对照。
- 为了保证重复良好的结果，建议模板DNA最后加入。
- PCR仪确保关闭热盖，可以提前关闭热盖后运行控制热盖温度，具体如何控制热盖温度请根据型号咨询厂家。一般PCR仪、qPCR仪打开电源后热盖会马上升温直到105°C，因此需要确保热盖温度降到合适的温度（70°C），否则过热的热盖温度传导到底部，会把酶部分失活或全部失活。
- 反应体系表格中的reporter, sgRNA浓度为一般使用浓度，不同的实验中最佳浓度可能不一样，需要具体优化，在此基础上增加或降低浓度。

基于CRISPR/Cas技术的核酸检测技术示意图

Nucleic acid detection based on CRISPR/Cas technology diagram

One pot in one step



如何选择合适的LAMP试剂盒

How to choose the LAMP products

产品名称	分类	待测模板	货号	简介	
LAMP恒温扩增试剂盒	基础型	DNA	LAM-LQ-1	类似基础PCR, 需跑胶或添加荧光染料(如Eve green)观察结果。	
		RNA	RT-LAM-LQ-1		
	目视法	DNA	LAM-LQ-RED-1	加入了颜色染料。根据颜色变化, 可以肉眼判断阴阳。	
		RNA	RT-LAM-LQ-RED-1		
	Eve Green 荧光染料	DNA	LAM-LQ-EGR-1	包含Eve Green 荧光染料, 可以用Q-PCR仪快速分析结果。	
		RNA	RT-LAM-LQ-EGR-1		
	LAMP+CRISPR	DNA	LAM-CAS-01	引入CRISPR/Cas12b技术, 实现一管法检测, 具有极高的灵敏度、特异性。信号特别强。适合荧光观察结果。(也适用试纸条)	
		RNA	RT-LAM-CAS-01		
	LAMP+RNaseH2	DNA	LAM-PB-1	引入RNaseH2 探针, 灵敏度高, 特异性强, 尤其适合SNP检测。可以荧光仪或试纸条观察结果。	
		RNA	RT-LAM-PB-1		
	Bst2.0 聚合酶	基础原料		BST2-1600	超强DNA 扩增, 适合DNA模板的扩增反应。
	耐高温RT逆转录酶 (for LAMP)			RT-TS-LM-2000	超强逆转录功能, 耐高温, 完美搭配LAMP。
RNaseH2/RNaseH II 内切酶 (耐高温)			RH2-250	耐高温70~75° C。	