

重组 *S. pyogenes* Cas9 核酸酶说明书

(Cas9 Nuclease)

【产品中文名称】重组 *S. pyogenes* Cas9 核酸酶

【产品英文名称】Cas9 Nuclease

【货号】GMP-CAS-EE110

【表达体系】大肠杆菌

【生产要求】洁净环境（C级或D级）

【产品级别】GMP

【产品质量要求】满足药品原辅料要求

【产品简介】 GMP 级别 Cas9 核酸酶来源于野生型酿脓链球菌 (*Streptococcus pyogenes*), 作为 RNA 介导的核酸酶【内切酶, 与 sgRNA 形成核糖核蛋白 (RNP), 靶向作用于序列特异性的双链 DNA 中 PAM 序列 (NGG) 前第三、四碱基之间, 并形成双链 DNA 断裂, 通过 DNA 不同修复途径 (NHEJ 和 HDR) 的修复, 实现细胞内基因的敲除与敲入, Cas9 也可以应用于分子诊断领域, 比如将 Cas9 具有 sgRNA 介导的靶向 DNA 序列特异性切割的功能与恒温扩增技术 NASBA、toehold 开关 RNA 传感器相结合, 可实现对病原体的高灵敏度、高特异性检测, 本产品是基于公司独特的创新型功能重组蛋白生产平台 SAMS, 经过野生型 spCas9 基因的密码子优化、核定位信号 (NLS) 与 6×His 标签等的设计、大肠杆菌表达体系与纯化工工艺的优化, 并按照 GMP 要求生产, 达到了 GMP 质量标准, 并满足细胞与基因治疗药物对本产品作为药用辅料的要求。

【预期用途】本产品主要作为药品原辅料, 参与细胞与基因治疗药物 (如造血干细胞, T 细胞等) 的基因修饰, 另外作为体外诊断试剂, 用于病毒核酸检测。

【产品信息】

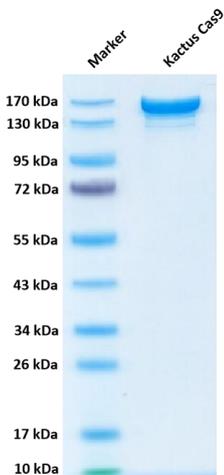
产品名称	重组 <i>S. pyogenes</i> Cas9 核酸酶 (Cas9 Nuclease)
产品分子量	163KDa
种 属	<i>S. pyogenes</i>
包装规格	3mg/支
产品性状	溶液澄清, 无悬浊物, 无沉淀或杂质
贮存条件	-20±5°C
储存缓冲液	30mM Tris, pH7.4, 300mM NaCl, 50%甘油, 0.1mM EDTA • Na ₂ • 2H ₂ O

【产品质量标准】

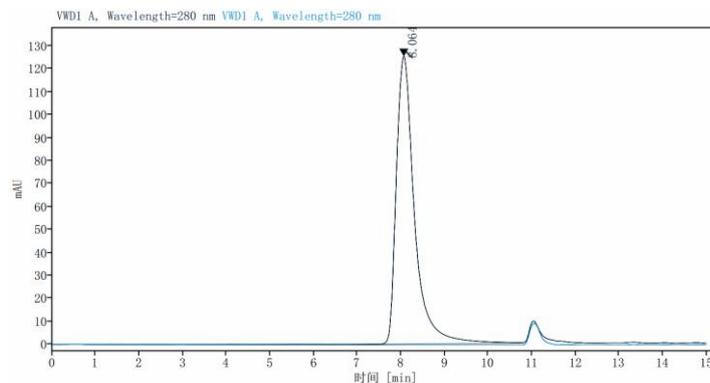
项目	检测方法	可接受标准
外观	目视检测	包装完整，标签信息印刷清晰，正确无误。标签黏贴平整、无褶皱或翘起。
		溶液澄清，无悬浊物，无沉淀或杂质，外观清洁、密封性能良好，无渗漏、无破损。
浓度	非干扰型蛋白浓度测定试剂盒检测	浓度 9.5-12.5mg/ml
纯度	Bis-Tris 检测	不低于 95%
	RP-HPLC 检测	不低于 95%
	SEC-HPLC 检测	不低于 95%
内毒素	显色法	不高于 10 EU/mg
活性检测	体外切割效率	>85%
DNA 酶残留	Qubit 检测荧光信号	不高于 LOD
RNA 酶残留	Qubit 检测荧光信号	不高于 LOD
宿主蛋白残留	ELISA 定量	不高于 100ng/ml
宿主 DNA 残留	qPCR 检测荧光信号	不高于 200ng/ml
支原体	qPCR 定量	未检出

【产品质控数据】

Tris-Bis PAGE

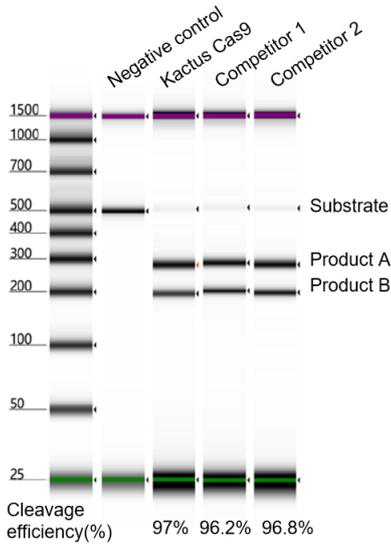


SEC-HPLC



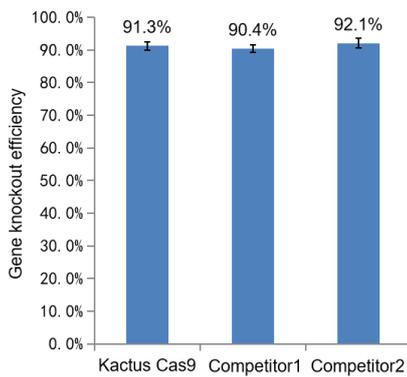
Tris-Bis PAGE 和 SEC-HPLC 检测 Kactus Cas9 的纯度高于 95%。

体外切割活性检测



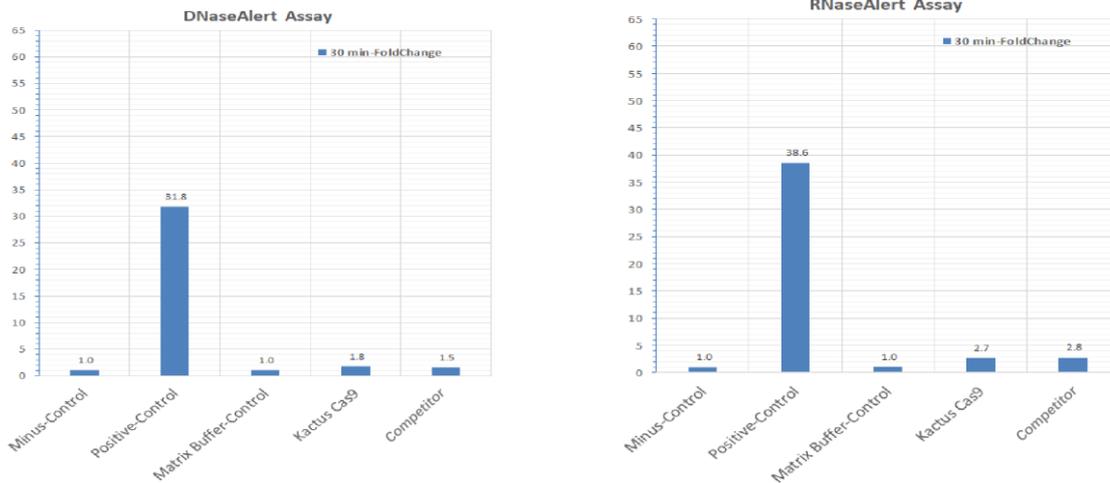
Cas9 通过体外切割实验，切割底物 DNA 标准品，如图结果显示 Kactus Cas9 和其他品牌的切割活性相当。

细胞水平活性检测



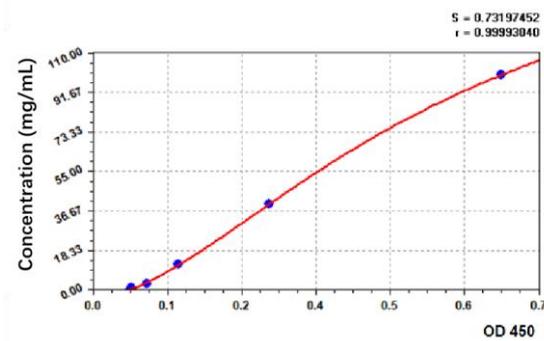
Cas9 以 RNP 形式电转 293T 细胞系，敲除目的基因。如图所示 Kactus Cas9 与其他品牌 Cas9 在细胞内的基因敲除效率相当。

DNase 和 RNase 残留检测



以阴性对照（Minus-Control）荧光信号值 3 倍作为 DNase 和 RNase 残留的阳性标准，Kactus Cas9 的检测结果为阴性。

宿主蛋白残留检测



ELISA 定量分析 Kactus Cas9 产品宿主蛋白残留量为 3.0 ng/mL，远低于检测标准 (<100 ng/mL)。

【产品保存注意事项】 尽可能避免反复冻融。

※建议在未开封的情况下，反复冻融次数至多 7 次，产品性能不会明显下降。

版本：2022.03.08