

# Recombinant Cas9 Protein GMP grade

Code No. T230

包装量: 0.6 mg

浓度: 3 mg/ml

## 制品说明

Cas9 核酸酶 (SpCas9) 来源于酿脓链球菌 (*Streptococcus pyogenes*), 与来源于同种细菌的特定基因座 (CRISPR: Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) 所转录的短 RNA (gRNA: 向导 RNA) 形成核糖核蛋白 (RNP: Ribonucleoprotein) 复合物, 这种 RNP 复合物可以序列特异性切断双链 DNA<sup>1)</sup>, 被广泛用于包括哺乳动物细胞在内的各种细胞的基因组编辑<sup>2, 3)</sup>。

Recombinant Cas9 Protein GMP grade 在野生型 SpCas9 的 C 端添加了大肠杆菌来源的核定位信号 (NLS)。本 Cas9 蛋白质溶液成分经过了优化, 将此 Cas9 蛋白质和 gRNA 制备的 RNP 复合物, 通过电穿孔、显微注射等方式导入至靶细胞进行敲除实验, 经验证该 Cas9 蛋白质溶液对哺乳动物细胞具有良好的耐受性。本制品生产符合 GMP 标准, 确保了高品质。

**保 存:** -70°C 及以下

## 分子 量

159.665 (根据氨基酸序列计算, 1380 个氨基酸)

## 起 源:

*E. coli* expressing recombinant wild-type *Streptococcus pyogenes* Cas9 nuclease with nuclear localization signal (NLS) of simian virus 40 at C-terminal.

## 纯 度:

HPLC 纯度 ≥90%

## 包装形态

0.2 ml 溶液中含有 0.6 mg 蛋白质, 保存在 1 ml 冻存管中。

## 用 途:

在向导 RNA (gRNA) 存在时, 切断双链 DNA。

## 使用注意

避免反复冻融。

※ 一经开封, 其制品品质将不在本公司 GMP 质量标准保证范围内; 在没有开封的情况下, 至多可以反复冻融 5 次, 制品性能不会明显下降。

## 品 质:

1. 本制品符合 GMP 标准, 并在该标准下进行制造和品质管理。
2. 本制品不含人源或动物源成分。

## 参考文献

- 1) Jinek M, Chylinsky K, Fonfara I, Hauer M, Doudna J A, and Charpentier E. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*. (2012) **337 (6096):** 816-821.
- 2) Liang X *et al*. Rapid and highly efficient mammalian cell engineering via Cas9 protein transfection. *J Biotechnol*. (2015) **208:** 44-53.
- 3) Sander J D and Joung J K. CRISPR-Cas9 systems for genomic editing, regulation and targeting. *Nat Biotechnol*. (2014) **32:** 347-355.

## 关联产品

[Cas9 蛋白质]

Guide-it™ Recombinant Cas9 (Electroporation-Ready)  
(Code No. 632641/632640)

[其他]

Guide-it™ Cas9 Monoclonal Antibody (Clone TG8C1)  
(Code No. 632628/632627)

Guide-it is a trademark of Takara Bio Inc.

### 注意

本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经 Takara Bio Inc. 书面许可授权或批准, 不得制造、许诺销售、销售、进口 Takara 产品, 或者使用 Takara 产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权, 请联系我们, 或访问我们网站 [www.takara-bio.com](http://www.takara-bio.com)。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术 (北京) 有限公司翻译制作, 最新版本文件请参考 Takara Bio Inc. 网站。为正确使用 Takara 产品, 您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

v202004Da

# Recombinant Cas9 Protein

## GMP grade

### 实验例（哺乳动物细胞的基因编辑）

参考资料：Guide-it Recombinant Cas9 (Electroporation-Ready) User Manual

[https://www.takarabio.com/assets/documents/User%20Manual/Guide-it%20Recombinant%20Cas9%20\(Electroporation-Ready\)%20User%20Manual\\_012317.pdf](https://www.takarabio.com/assets/documents/User%20Manual/Guide-it%20Recombinant%20Cas9%20(Electroporation-Ready)%20User%20Manual_012317.pdf)

靶细胞/基因 : 293T 细胞/CD81

RNP 导入方法 : 电穿孔 (使用仪器: Neon Transfer System [Thermo Fisher Scientific])

RNP 制备条件 : 使用单向导 RNA (sgRNA) 0.45  $\mu$ g、本制品 0.75  $\mu$ g/0.25  $\mu$ l、Resuspension Buffer R (或者 T) 混合配制 7.5  $\mu$ l 溶液、37°C 孵育 5 分钟后, 4°C 静置。

RNP 导入条件 : 收集细胞, PBS 洗涤后, 使用 Buffer R 将细胞重悬至  $2 \times 10^7$  cells/ml。将 7.5  $\mu$ l 细胞悬浊液和 7.5  $\mu$ l RNP 溶液相混合, 根据仪器操作手册将 RNPs 导入至靶细胞中。使用以下 3 种条件进行电穿孔实验 (N=3) (表 1)。

Table 1. Electroporation conditions

Condition	Pulse voltage ( V )	Pulse interval ( ms )	Pulse time
A	1,300	20.0	2
B	1,200	20.0	2
C	1,100	20.0	2

基因编辑效率评价方法:

在上述条件下进行电穿孔导入后, 将细胞培养 7 天, 然后与 PE 标记的抗 CD81 抗体反应, 通过 FCM 检测 CD81 阴性细胞率 (%)。

结果:

比较 A-C 导入条件下的基因敲除效率, A 条件下脉冲电压设定在 1,300 V, 所获得的靶基因 CD81 敲除效率最高 (85.4%)。

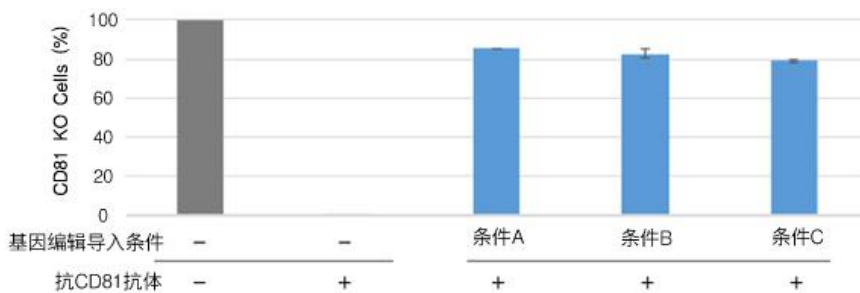


图 1. 敲除效率