

ASAH2B Knockout HEK293T RIPA Lysate

产品编号	产品名称	包装
L12483	ASAH2B Knockout HEK293T RIPA Lysate	100µg

产品简介:

- ASAH2B Knockout HEK293T RIPA Lysate (ASAH2B基因敲除HEK293T细胞RIPA裂解液)是通过同时表达Cas9、目的基因sgRNA和puromycin抗性基因并实现了目的基因CRISPR敲除的多克隆HEK293T细胞的RIPA裂解液。该细胞中目的基因的敲除已经通过T7EI法的验证。本产品可用于该目的基因敲除后其信号通路相关蛋白的研究,也可以用于该基因相应抗体的验证。
- 本RIPA裂解液源于可同时表达Cas9、目的基因sgRNA和puromycin抗性基因的慢病毒感染HEK293T细胞并经过puromycin筛选后获得的多克隆细胞。制备该细胞的相应慢病毒的基因序列的关键图谱信息请参考图1。



图1. 可同时表达sgRNA、Cas9和puromycin抗性的慢病毒其基因序列的关键图谱信息。

- 该细胞中目的基因的敲除已经通过T7EI法的验证。
- 由于本细胞是通过CRISPR/Cas9技术获得的多克隆细胞,基于CRISPR/Cas9技术的特点,理论上平均有2/3的细胞发生移码突变而导致了目的基因的敲除,平均有1/3的细胞并未发生移码突变。很多情况下有约2/3的细胞发生目的基因的敲除,已经足以进行很多的目的基因的生物学功能的研究了。如果希望获得100%基因敲除的细胞,可以自行使用本产品筛选单克隆细胞,或者委托碧云天进行单克隆细胞株的筛选服务。
- 本RIPA裂解液用于实验时,建议同时选购无任何靶向的对照细胞RIPA裂解液Control Knockout HEK293T RIPA Lysate (L00025)或靶向GFP的对照RIPA裂解液GFP Knockout HEK293T RIPA Lysate (L00027)。
- 碧云天同时提供基于CRISPR/Cas9技术的ASAH2B基因敲除的质粒(L12480 pLenti-ASAH2B-sgRNA)、慢病毒(L12481 ASAH2B Knockout Lentivirus)、HEK293T细胞(L12482 ASAH2B Knockout HEK293T Cells)、HEK293T敲除细胞的RIPA裂解液(L12483 ASAH2B Knockout HEK293T RIPA Lysate)、HEK293T敲除细胞的Trizol裂解液(L12484 ASAH2B Knockout HEK293T Trizol Lysate)等产品,具体请在碧云天网站查询或在本产品网页点击相应产品。
- 用于制备本产品的RIPA裂解液为碧云天生产的P0013B RIPA裂解液(强),其具体组分请查阅产品网页或说明书。
- ASAH2B基因的基本信息如下:

Species	Gene Symbol	Gene ID	GenBank Accession	Transcript
Human	ASAH2B	653308	-	NM_001079516

About the gene	
Official Symbol	ASAH2B
Previous Symbol	ASAH2C
Official Full Name	N-acylsphingosine amidohydrolase 2B
Synonyms	bA449016.3; ASAH2L; bA9816.3
Location	10q11.23
Gene Type	protein_coding
Uniprot ID	P0C7U1
Pathway/Library	Lung Cancer Growth Related Genes Library
Gene Summary	ASAH2B (N-Acylsphingosine Amidohydrolase 2B) is a Protein Coding gene. Diseases associated with ASAH2B include Dermatitis, Atopic, 2 and Alzheimer Disease. An important paralog of this gene is ASAH2. lnc-ASAH2B-2 as a lncRNA was highly expressed after everolimus exposure in both BT474 and MCF7 cells and to our knowledge this has never previously been reported. Loss of function of lnc-ASAH2B-2 reduced cell proliferation in both colony-formation and cell-viability assays, suggesting that lnc-ASAH2B-2 knock-down can suppress the development of breast cancer. The western blot assay showed that the siRNA-mediated silencing of lnc-ASAH2B-2 significantly reduced the phosphorylation of

	the mTOR substrates p70S6 and 4EBP-1. It was found that everolimus inhibited the mTOR pathway via inhibition of the phosphorylation of mTOR substrates, while lnc-ASAH2B-2 was up-regulated by everolimus. Interestingly, lnc-ASAH2B-2 can in turn up-regulate the phosphorylation of mTOR substrates, reducing the inhibition of the mTOR pathway by everolimus. lnc-ASAH2B-2 may participate in a negative feedback loop in response to everolimus exposure. lnc-ASAH2B-2 as a lncRNA that regulates cell growth via the mTOR pathway in breast cancer cells.
--	---

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
L12483	ASAH2B Knockout HEK293T RIPA Lysate	100µg
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存, 3个月有效; -80°C保存, 至少一年有效。

注意事项:

- 碧云天拥有sgRNA序列的知识产权, 如果需要sgRNA序列, 请在订购后发送邮件向info@beyotime.com索取。sgRNA序列信息与本产品, 未经碧云天书面许可不得用于任何商业用途, 也不得移交给订货人所在实验室外的任何个人或单位。使用者在发表研究论文或结果时, 应注明来源。
- 对于非目录产品的CRISPR基因敲除细胞RIPA裂解液的定制, 可联系碧云天技术服务service@beyotime.com。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 细胞RIPA裂解液样品的蛋白浓度测定:

推荐使用碧云天生产的BCA蛋白浓度测定试剂盒(P0009/P0010/P0010S/P0011/P0012/P0012S)测定蛋白浓度。由于本产品含有较高浓度的去垢剂, 不建议使用Bradford法测定本产品的蛋白浓度。RIPA裂解液的使用说明请参考:
<https://www.beyotime.com/product/P0013B.htm>。

2. 细胞RIPA裂解液的使用:

本RIPA裂解液测定浓度后加入SDS-PAGE蛋白上样缓冲液即可用于SDS-PAGE、Western检测、以及目的基因抗体的验证等。

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
L00025	Control Knockout HEK293T RIPA Lysate	100µg
L00027	GFP Knockout HEK293T RIPA Lysate	100µg
P0009	BCA蛋白浓度测定试剂盒(增强型)	5000次
P0010	BCA蛋白浓度测定试剂盒(增强型)	500次
P0010S	BCA蛋白浓度测定试剂盒(增强型)	200次
P0011	BCA蛋白浓度测定试剂盒	5000次
P0012	BCA蛋白浓度测定试剂盒	500次
P0012S	BCA蛋白浓度测定试剂盒	200次
P0012A	SDS-PAGE凝胶配制试剂盒	可制30-50块胶
P0012AC	SDS-PAGE凝胶快速配制试剂盒	可制30-50块胶
P0013B	RIPA裂解液(强)	100ml
P0014A/B	SDS-PAGE电泳液(Tris-Gly, Powder)	1/10L
P0014C/D	SDS-PAGE电泳液(Tris-Gly, 10X)	100/500ml
P0015	SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(5X)	2ml
P0015L	SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(5X)	15ml
P0015B	SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(2X)	5ml
P0015F	SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(6X)	2ml

Version 2020.12.08