

## RFWD3 Knockout HEK293T RIPA Lysate

产品编号	产品名称	包装
L10158	RFWD3 Knockout HEK293T RIPA Lysate	100μg

### 产品简介:

- RFWD3 Knockout HEK293T RIPA Lysate (RFWD3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T7E1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T7E1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的功能的研究了。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RFWD3基因敲除的质粒(L10155 pLenti-RFWD3-sgRNA)、慢病毒(L10156 RFWD3 Knockout Lentivirus)、HEK293T细胞(L10157 RFWD3 Knockout HEK293T Cells)、HEK293T敲除细胞的RIPA裂解液(L10158 RFWD3 Knockout HEK293T RIPA Lysate)、HEK293T敲除细胞的Trizol裂解液(L10159 RFWD3 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。
- RFWD3基因的基本信息如下:

Species	Gene Symbol	Gene ID	GenBank Accession	Transcript
Human	RFWD3	55159	BC059371	NM_018124

About the gene	
Official Symbol	RFWD3
Previous Symbol	-
Official Full Name	ring finger and WD repeat domain 3
Synonyms	FLJ10520; RNF201; FANCW
Location	16q23.1
Gene Type	protein-coding gene
Uniprot ID	Q6PCD5
Pathway/Library	Ubiquitin Ligases Genes Library
Gene Summary	E3 ubiquitin-protein ligase required for the repair of DNA interstrand cross-links (ICL) in response to DNA damage (PubMed:21504906, PubMed:21558276, PubMed:26474068, PubMed:28575657, PubMed:28575658). Plays a key role in RPA-mediated DNA damage signaling and repair (PubMed:21504906, PubMed:21558276, PubMed:26474068, PubMed:28575657, PubMed:28575658, PubMed:28691929). Acts by mediating ubiquitination of the RPA complex (RPA1, RPA2 and RPA3 subunits) and RAD51 at stalled replication forks, leading to remove them from DNA damage sites and promote homologous recombination (PubMed:26474068, PubMed:28575657, PubMed:28575658). Also mediates the ubiquitination of p53/TP53 in the late response to DNA damage, and acts as a positive

	regulator of p53/TP53 stability, thereby regulating the G1/S DNA damage checkpoint (PubMed:20173098). May act by catalyzing the formation of short polyubiquitin chains on p53/TP53 that are not targeted to the proteasome (PubMed:20173098). In response to ionizing radiation, interacts with MDM2 and enhances p53/TP53 ubiquitination, possibly by restricting MDM2 from extending polyubiquitin chains on ubiquitinated p53/TP53 (PubMed:20173098). RFWD3_HUMAN,Q6PCD5
--	--

#### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
L10158	RFWD3 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