



MagHub V5-tag IP 试剂盒

目录

1. 产品介绍	1
2. 使用方法	2
3. 注意事项	3
4. 参考信息	3
5. 订购信息	4
6. 相关产品	4

1. 产品介绍

1.1 V5 标签介绍

V5 肽段是重组融合蛋白表达与纯化体系中广泛应用的经典表位标签之一。该标签序列源自副粘病毒 SV5 的 P/V 蛋白第 95–108 位氨基酸区域，其核心序列为 GKIPNPLLGLDST，由 14 个氨基酸残基组成。由于 V5 标签分子短小、亲水性良好，在融合表达时对目的蛋白的空间构象、折叠及生物学功能干扰极小，具备优异的适配性。该标签可灵活融合于目的蛋白的 N 端或 C 端，借助特异性抗体可高效实现重组蛋白的示踪、表达鉴定、亚细胞定位分析及亲和纯化，是蛋白功能研究与重组蛋白制备中常用的高效工具标签。

1.2 MagHub V5-tag IP 试剂盒介绍

MagHub V5-tag IP 试剂盒专为免疫沉淀 (IP) 及免疫共沉淀 (Co-IP) 等蛋白互作研究而设计。该试剂盒以聚合物磁性微球为核心，配套完整的专用缓冲体系，可直接用于蛋白互作实验。**微球表面共价键合了高浓度的抗 V5 标签的抗原结合片段 (Fab 抗体)**，能够特异性从哺乳动物、植物、细菌、酵母、昆虫等多种来源的细胞裂解液中高效富集 V5 标签融合蛋白。该体系具有非特异性吸附低、结合载量高、无抗体重链干扰等优势，可显著提升目的蛋白的富集效率与检测信噪比，适用于蛋白质相互作用、表达鉴定、功能分析等下游研究。

表 1: MagHub V5-tag IP 试剂盒组成

试剂盒组分	规格/10 T	规格/50 T	保存温度
MagHub Anti-V5 Beads	0.2 ml	1 ml	2-8°C
MagHub Control Fab Beads	0.2 ml	1 ml	2-8°C
IP Lysis Buffer	20 ml	100 ml	2-8°C
IP Wash Buffer (10×)	8 ml	40 ml	2-8°C
Elution Buffer D	0.8 ml	4 ml	2-8°C
SDS Loading Buffer (2×)	0.5 ml	2.5 ml	2-8°C
说明书		1 份	

表 2: MagHub Anti-V5 Beads 产品性能

项目	性能
微球基质	高聚物磁性微球
配体	抗 V5 标签 Fab 抗体
粒径	1 μm
储存缓冲液	20 mM Tris (pH 8.0), 0.15 M NaCl, 0.01% Tween 20, 0.1% proclin 300

2. 使用方法

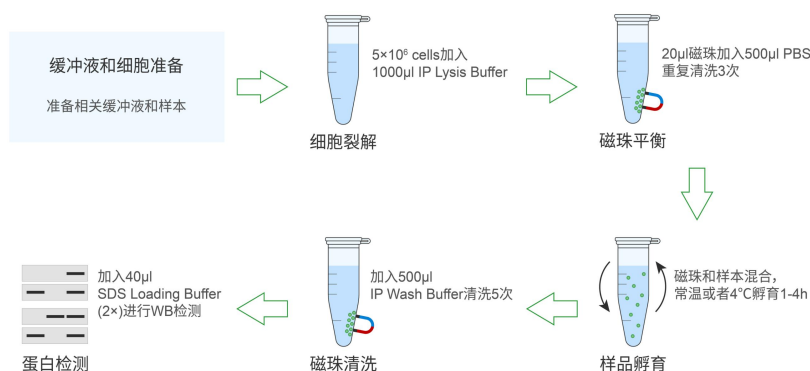


图 1. MagHub V5-tag IP 试剂盒的使用流程图

2.1 缓冲液配制

- 1) 1× IP Wash Buffer 配置: 将 IP Wash Buffer (10×) 用 ddH₂O 稀释 10 倍使用。如: 配置 10 ml 1×IP Wash Buffer, 具体操作为取 1 ml IP Wash Buffer, 加入 9 ml ddH₂O, 充分混匀, 标记为 1× IP Wash Buffer 即可使用。实验未用完的 1× IP Wash Buffer 可稳定保存在 2-8 °C 3 个月, 保存时间过久易长菌。
- 2) PBS 为自备试剂。

2.2 样品前处理

2.2.1 悬浮细胞样品裂解

- 1) 1000× g 室温离心 5 min, 弃上清, 收集细胞;
- 2) 用适量 PBS 将细胞团轻轻重悬, 将细胞悬液以 1000× g 离心 5 min, 弃上清, 收集细胞。重复三次;
- 3) 向细胞团块中加入预冷 IP Lysis Buffer, 每 1×10⁶-5×10⁶ cells 使用 1000 μl;
- 4) 将上述加了 IP Lysis Buffer 的样品上下颠倒混匀 5-10 次, 随后置于冰上裂解 5-10 min, 期间混匀 2-3 次;
- 5) 13,000× g 离心 10 min, 去除细胞碎片;
- 6) 将上清转移至新的离心管中, 标记为细胞裂解样品。

2.2.2 贴壁细胞样品裂解

- 1) 小心除去单层细胞的培养基;
- 2) 用适量预冷的 PBS 清洗细胞三次;
- 3) 根据表 3 中推荐体积将 IP Lysis Buffer 慢慢滴加至细胞孔板中, 滴加时尽量覆盖整个平皿, 随后置于冰上裂解 5-10 min, 期间混匀 2-3 次;
- 4) 将上述裂解好的样品转移至新的离心管中, 约 13,000× g 离心 10 min, 去除细胞碎片;
- 5) 将上清转移至新的离心管中, 标记为细胞裂解样品。

表 3. IP Lysis Buffer 推荐体积

培养皿大小/细胞数量	IP Lysis Buffer	备注
100×100 mm	500-1000 μl	贴壁细胞
60×60 mm	250-500 μl	
6 孔板	200-400 μl	
24 孔板	100-200 μl	
1×10 ⁶ -5×10 ⁶ cells	500-1000 μl	悬浮细胞

2.2.3 植物样本的裂解

- 1) 剪取植物叶片 1-2 克;
- 2) 转移到研钵中加入少量液氮, 用杵研磨成细粉;
- 3) 加入 1 ml IP Lysis Buffer, 再次研磨 10 min;
- 4) 13,000× g 离心 10 min, 去除植物碎片;
- 5) 将上清转移至新的离心管中, 标记为植物裂解样品。

2.3 磁珠漂洗

- 1) 将磁珠充分混匀后取 20 μl 磁珠置于离心管中, 向管中加入 500 μl PBS, 上下颠倒混匀 5-10 次;
- 2) 将离心管置于磁力架上, 待磁珠全部吸附后, 吸弃上清;
- 3) 向管中加入 500 μl PBS, 上下颠倒混匀 5-10 次, 将离心管置于磁力架上, 待磁珠全部吸附后, 吸弃上清;
- 4) 重复操作 3 次。

注: 本试剂盒中提供适量阴性对照 (MagHub Control Nb Beads), 免疫沉淀实验时建议设置阴性对照组, 使用方法与 MagHub Anti-Myc Beads 完全一致。若有更多需求, 可以订购本公司的 MagHub Control Fab Beads (货号: MP6601)。

2.4 样品孵育

- 1) 向上述漂洗好的磁珠中加入细胞裂解样品, 室温或 4 °C 下孵育 60 min (建议在旋转混匀仪上孵育, 使样品和磁珠充分接触);
- 2) 孵育结束后, 将离心管置于磁力架上, 待磁珠全部吸附后, 将上清转移至新的离心管中, 留样备检;
- 3) 向离心管中加入 500 μ l 1 $\times$ IP Wash Buffer, 轻轻颠倒混匀 5-10 次后将离心管置于磁力架上, 待磁珠完全吸附后弃去上清;
- 4) 重复操作 5 次。

注: 孵育温度和时间范围推荐为: 室温 1 h 或者 4 °C 4 h, 根据实际的结合效果适当调整孵育时间, 一般情况下不建议过夜孵育, 过夜孵育可能会引起过多的非特异性吸附。磁珠每次洗涤, 加入 IP Wash Buffer 后可以冰上静置 3 分钟。

2.5 蛋白洗脱

1) 洗脱液洗脱

该方法适用于 IP-MS 应用。每 20 μ l 原始磁珠体积加入 60 μ l Elution D 洗脱液, 常温洗脱 5-10 min, 期间轻轻混匀 3-5 次。孵育结束后将离心管置于磁力架上, 待磁珠完全吸附后, 吸取上清至新的离心管中, 进行 Western 或质谱检测。

注: Elution Buffer D 可以充分洗脱标签蛋白, 且能保证磁珠上的抗体几乎没有脱落, 但是磁珠上可能仍有少量目的蛋白残留。

2) SDS-PAGE 上样缓冲液洗脱

该方法适用于 IP-WB 应用。每 20 μ l 原始磁珠体积加入 40 μ l 的 SDS Loading Buffer (2 $\times$), 混匀后 100 °C 高温处理 10 min, 将离心管置于磁力架上分离 10 s, 取上清进行 SDS-PAGE 电泳或进行 Western 检测。

注: Western 检测的上样量建议控制在 20 μ l 以内, 剩余的样本可冻存于 -20 °C 保存。

3. 注意事项

- 1) 本产品保存在 2-8 °C, 不可冻结保存;
- 2) 本产品出现轻微团聚属正常现象, 可正常使用;
- 3) 本产品能耐受 ≤ 1 mM DTT, 不建议在样本中加入过高浓度的还原剂;
- 4) 本产品能耐受 ≤ 2 M 尿素, 高浓度的尿素会导致抗体配体脱落;
- 5) 在清洗和洗脱时避免吸取到磁珠, 清洗时吸取到磁珠会影响最终的载量, 洗脱时吸取到磁珠会影响目的蛋白的质量和电泳效果, 第一次洗脱后可以将洗脱液置于新的离心管中, 再次置于磁力架上进行吸附。

4. 参考信息

- 1) V5 tag IP 实验: 样品为 293 细胞内表达蛋白, 含有 His 和 V5 标签。
- 2) 取 1 ml 悬浮细胞 ($\approx 3 \times 10^6$ 个) 常温下 1 $\times$ PBS (pH=7.4) 清洗三次后快速进行裂解、离心。
- 3) 加入 20 μ l 已经清洗过的磁珠于离心后的上清中摇晃孵育 60 min。
- 4) 将含有磁珠的样品管转移到磁力架上, 分离磁珠和液体, 用移液器吸走上清, 留下磁珠。
- 5) 用 1 $\times$ IP Wash buffer 清洗 5 次后加入 SDS Loading Buffer 99 °C 高温处理 10 min 后进行 WB。
- 6) 检测抗体为 Anti His-HRP mAb, 阴性对照(-)为 MagHub Control Fab Beads 和样本孵育, 结果请见图 2。

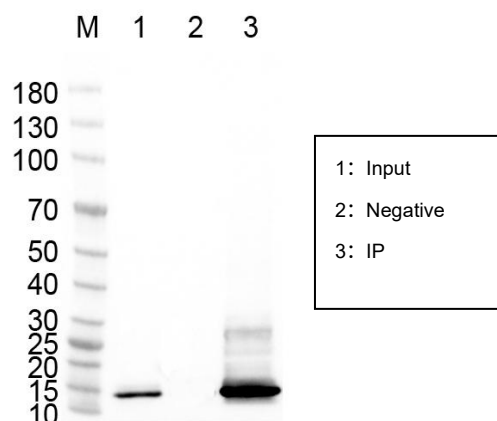


图 2. MagHub V5-tag IP 试剂盒进行 IP 后的 WB 图

图 2 表明 MagHub V5-tag IP 试剂盒能够很好的捕获样品中的 V5 标签融合蛋白, 同时没有非特异性的蛋白结合。



5. 订购信息

名称	货号	规格
MagHub V5-tag IP 试剂盒	BK0076-01	10 T
	BK0076-02	50 T

6. 相关产品

类型	名称	货号
Magnet-G 蛋白标签免疫沉淀/免疫共沉淀试剂盒	Magnet-G His 标签免疫沉淀/免疫共沉淀试剂盒	BK0049
	Magnet-G Myc 标签免疫沉淀/免疫共沉淀试剂盒	BK0050
	Magnet-G HA 标签免疫沉淀/免疫共沉淀试剂盒	BK0051
	Magnet-G GFP 标签免疫沉淀/免疫共沉淀试剂盒	BK0052
	Magnet-G RFP 标签免疫沉淀/免疫共沉淀试剂盒	BK0053
	Magnet-G Strep-tag II IP 试剂盒	BK0071
MagHub 蛋白标签 IP 试剂盒	Magnet-G MBP-tag IP 试剂盒	BK0075
	MagHub DDDDK-tag IP 试剂盒	BK0073
	MagHub HA-tag IP 试剂盒	BK0072
Magnet-G 标签抗体磁珠	MagHub Myc-tag IP 试剂盒	BK0074
	Magnet-G Anti-DYKDDDDK Beads	MP5101
	Magnet-G Anti-His Beads	MP5201
	Magnet-G Anti-Myc Beads	MP5301
	Magnet-G Anti-HA Beads	MP5401
	Magnet-G Anti-GFP Beads	MP5501
	Magnet-G Anti-RFP Beads	MP5601
	Magnet-G Control IgG Beads	MP5801
MagHub 标签抗体磁珠	Magnet-G Anti Strep-tag II Beads	MP6001
	Magnet-G Anti MBP Beads	MP6401
	MagHub Anti-HA Beads	MP6101
	MagHub Anti-DDDDK Beads	MP6201
	MagHub Anti-Myc Beads	MP6301
	MagHub Anti-V5 Beads	MP6501
	MagHub Control Fab Beads	MP6601
	MagHub Control Nb Beads	MP6701