



Magneti-G MBP-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 MBP 标签介绍

MBP（麦芽糖结合蛋白）标签由大肠杆菌 K12 的 malE 基因编码，含 396 个氨基酸，分子量约 40 kDa。该标签可显著提高融合蛋白在原核系统中的可溶性表达，便于免疫检测，可融合于目的蛋白的 N 端或 C 端。纯化时，MBP 融合蛋白可通过交联淀粉亲和层析一步纯化，采用 10 mM 麦芽糖在生理缓冲液中特异性洗脱，快速获得高纯度蛋白。

1.2 Magneti-G MBP IP 试剂盒介绍

Magneti-G MBP 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 MBP 标签的小鼠 IgG 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 MBP 标签融合蛋白。该体系具有非特异性吸附低、结合载量高、背景干净等优势，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: Magneti-G MBP-tag IP 试剂盒组成

试剂盒组分	规格/10 T	规格/50 T	保存温度
Magneti-G Anti-MBP Beads	0.2 ml	1 ml	2-8°C
Magneti-G Control IgG 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: Magneti-G Anti-MBP Beads 产品性能

项目	性能
微球基质	高聚物磁性微球
配体	抗 MBP 标签小鼠 IgG 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

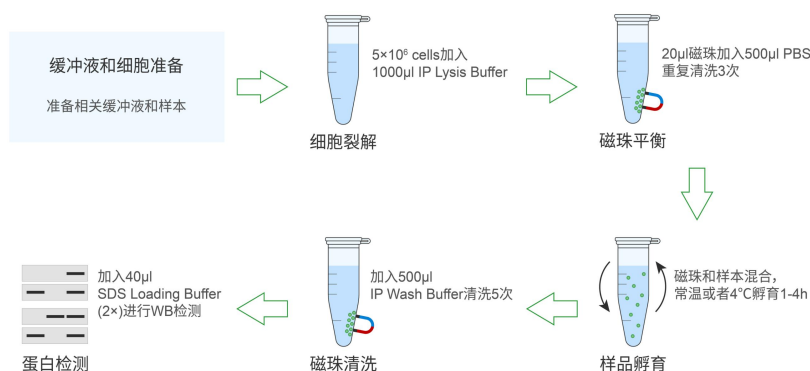


图 1. Magneti-G MBP-tag IP 试剂盒的使用流程图

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（Magnet-G Control IgG Beads），免疫沉淀实验时建议设置阴性对照组，使用方法与 Magnet-G Anti-MBP Beads 完全一致。若有更多需求，可以订购本公司的 Magnet-G Control IgG Beads(货号：MP5801)。

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) MBP tag IP 实验：样品为 293 细胞胞内表达蛋白，含有 MBP 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 MBP-HRP mAb，阴性对照(-)为 Magnet-G Control IgG Beads 和样本孵育，结果请见图 2。

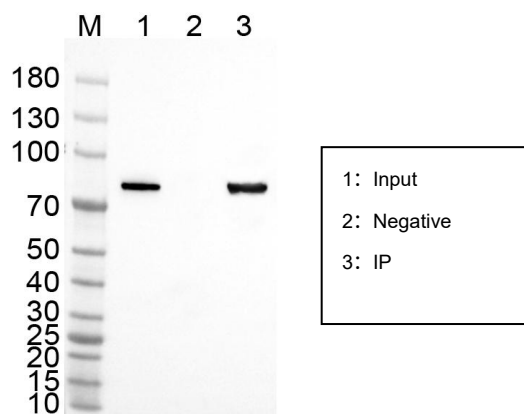


图 2. Magnet-G MBP-tag IP 试剂盒进行 IP 后的 WB 图

图 2 表明 Magnet-G MBP-tag IP 试剂盒能够很好的捕获样品中的 MBP 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
Magnet-G MBP-tag IP 试剂盒	BK0075-01	10 T
	BK0075-02	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	MagHub DDDDK-tag IP 试剂盒	BK0073
	MagHub HA-tag IP 试剂盒	BK0072
	MagHub Myc-tag IP 试剂盒	BK0074
	MagHub V5-tag IP 试剂盒	BK0076
Magnet-G 标签抗体磁珠	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
	Magnet-G Anti-Strep-tag II Beads	MP6001
MagHub 标签抗体磁珠	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