



MagHub Anti-V5 Beads

目录

- 1. 产品介绍 1
- 2. 使用方法 1
- 3. 注意事项 3
- 4. 参考信息 3
- 5. 订购信息 3
- 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 Anti-V5 Beads 介绍

MagHub Anti-V5 Beads 是专为免疫沉淀 (IP) 与免疫共沉淀 (Co-IP) 实验设计的高聚合物磁珠。微球表面通过共价偶联方式固定高亲和力抗 V5 标签兔源 Fab 抗体，可从哺乳动物、植物、细菌、酵母、昆虫等多物种细胞裂解液中，特异性富集 V5 标签融合蛋白。该磁珠采用无 Fc 标签的 Fab 抗体，能有效降低非特异性结合，显著提升目的蛋白富集效率与检测信噪比，适用于蛋白互作分析、表达验证、蛋白功能研究等多种下游分子生物学实验。

表 1: MagHub Anti-V5 Beads 产品性能

项目	性能
微球基质	高聚合物磁性微球
配体	抗 V5 标签兔源 Fab 抗体
粒径	1 μm
保存条件	2-8°C 可稳定保存 2 年
应用	适用于 IP 和 Co-IP 实验
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

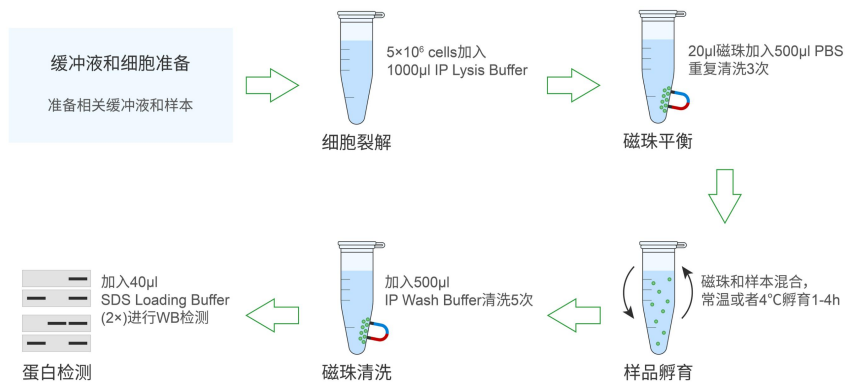


图 1. MagHub Anti-V5 Beads 使用流程图



2.1 缓冲液配置

表 2: 缓冲液配方推荐

缓冲液名称	缓冲液成分
1× PBS 缓冲液	137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10 mM Na ₂ HPO ₄ , 2 mM KH ₂ PO ₄ (pH 7.4)
IP 裂解液 (IP Lysis Buffer)	25 mM Tris (pH=8.0), 0.15 M NaCl, 1 mM EDTA, 0.5% NP-40, 选择性加入蛋白酶抑制剂
磁珠洗杂液 (IP Wash Buffer)	1× PBS (pH 7.4), 0.05% Tween-20
IP-MS 洗脱液 (Elution Buffer D)	20 mM Tris (pH 8.0), 6M 尿素, 0.5% SDS
2x SDS Loading Buffer	125 mM Tris (pH 6.8), 4% SDS, 20% 甘油, 0.1% 溴酚蓝, 100 mM DTT

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	
60×60 mm	250-500 μl	贴壁细胞
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。

2.2 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 Fab Beads), 免疫沉淀实验时建议设置阴性对照组, 使用方法与 MagHub Anti-V5 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)。

2.3 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℃ 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 μl 1×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℃ 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。



2.4 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 Buffer 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 2 \times SDS Loading Buffer，摇晃混匀后 100 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C 保存。

3. 注意事项

- 1) 本产品保存在 2-8 $^{\circ}$ 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 \leq 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 \leq 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 2 \times SDS Loading Buffer 99 $^{\circ}$ 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。

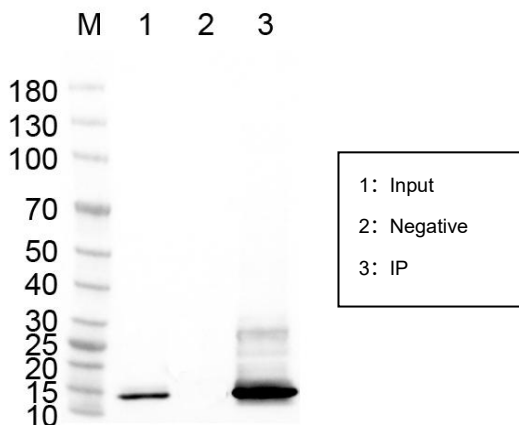


图 2. MagHub Anti-V5 Beads 进行 IP 实验后的 WB 图

图 2 表明 MagHub Anti-V5 Beads 能高效捕获样品中的 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 Anti-V5 Beads	MP6501-01	0.2 ml
	MP6501-02	1 ml
	MP6501-03	5 ml
	MP6501-04	25 ml
	MP6501-05	100 ml



6. 相关产品

类型	名称	货号
Magneti-G 蛋白标签免疫沉淀/免疫共沉淀试剂盒	Magneti-G His 标签免疫沉淀/免疫共沉淀试剂盒	BK0049
	Magneti-G Myc 标签免疫沉淀/免疫共沉淀试剂盒	BK0050
	Magneti-G HA 标签免疫沉淀/免疫共沉淀试剂盒	BK0051
	Magneti-G GFP 标签免疫沉淀/免疫共沉淀试剂盒	BK0052
	Magneti-G RFP 标签免疫沉淀/免疫共沉淀试剂盒	BK0053
	Magneti-G Strep-tag II IP 试剂盒	BK0071
MagHub 蛋白标签 IP 试剂盒	Magneti-G MBP-tag IP 试剂盒	BK0075
	MagHub DDDDK-tag IP 试剂盒	BK0073
	MagHub HA-tag IP 试剂盒	BK0072
	MagHub Myc-tag IP 试剂盒	BK0074
Magneti-G 标签抗体磁珠	MagHub V5-tag IP 试剂盒	BK0076
	Magneti-G Anti-DYKDDDDK Beads	MP5101
	Magneti-G Anti-His Beads	MP5201
	Magneti-G Anti-Myc Beads	MP5301
	Magneti-G Anti-HA Beads	MP5401
	Magneti-G Anti-GFP Beads	MP5501
	Magneti-G Anti-RFP Beads	MP5601
	Magneti-G Control IgG Beads	MP5801
Magneti-G Anti Strep-tag II Beads	MP6001	
MagHub 标签抗体磁珠	Magneti-G Anti MBP Beads	MP6401
	MagHub Anti-HA Beads	MP6101
	MagHub Anti-DDDDK Beads	MP6201
	MagHub Anti-Myc Beads	MP6301
	MagHub Control Fab Beads	MP6601
	MagHub Control Nb Beads	MP6701