

## Anti-MBP Magnetic-G Beads 免疫磁珠

| 产品编号          | 产品名称                           | 包装规格  |
|---------------|--------------------------------|-------|
| NBS0248-0.2ml | Anti-MBP Magnetic-G Beads 免疫磁珠 | 0.2ml |
| NBS0248-1ml   | Anti-MBP Magnetic-G Beads 免疫磁珠 | 1ml   |

### 产品简介:

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。

Anti-MBP Magnetic-G Beads 免疫磁珠是专为免疫沉淀 (IP) 与免疫共沉淀 (Co-IP) 实验设计的高聚物磁珠。微球表面通过共价偶联方式固定高亲和力抗 MBP 标签 IgG 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 MBP 标签融合蛋白。该磁珠采用小鼠 IgG 全长抗体, 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。

### 磁珠性质:

高聚物磁珠采用高分子聚合技术将超顺磁性材料和高分子材料完美地结合在一起, 具有更快的磁响应性同时保持微球良好的分散性、极低的非特异性吸附和更丰富的结合位点。磁珠具体性能见下表。

| 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 $\mu$ m                                                        |
| 储存缓冲液 | 20mM Tris (pH 8.0), 0.15M NaCl, 0.01% Tween 20, 0.1% proclin 300 |

### 保存条件:

2-8°C保存, 2 年有效。

**产品使用：****1. 缓冲液配置：**

| 缓冲液名称                        | 缓冲液成份                                                                                                          |
|------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1× PBS 缓冲液                   | 137mM NaCl, 2.7mM KCl, 10mM Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 2 mM KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , (pH 7.4) |
| IP 裂解液 (IP Lysis Buffer)     | 25mM Tris (pH=8.0), 0.15M NaCl, 1mM 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) | 20mM Tris (pH 8.0), 6M 尿素, 0.5% SDS                                                                            |
| 2×SDS Loading Buffer         | 125mM Tris (pH 6.8), 4% SDS, 20%甘油, 0.1%溴酚蓝, 100mM DTT                                                         |

**2. 样品前处理：****2.1 悬浮细胞样品裂解：**

- 1) 1000×g 室温离心 5min, 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 5min, 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  $1 \times 10^6$ - $5 \times 10^6$  cells 使用 1000μl。
- 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 5-10min, 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 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) 根据下表中推荐体积将 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 5-10min, 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 10min, 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：IP Lysis Buffer 推荐体积

| 细胞   | 培养皿大小/细胞数量 | IP Lysis Buffer |
|------|------------|-----------------|
| 贴壁细胞 | 100×100mm  | 500-1000μl      |
|      | 60×60mm    | 250-500μl       |
|      | 6 孔板       | 200-400μl       |

|      |                                         |            |
|------|-----------------------------------------|------------|
|      | 24 孔板                                   | 100-200μl  |
| 悬浮细胞 | $1 \times 10^6$ - $5 \times 10^6$ cells | 500-1000μl |

### 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 1ml IP Lysis Buffer，再次研磨 10min；
- 4)  $13,000 \times g$  离心 10min，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。

### 3. 磁珠漂洗：

- 1) 将磁珠充分混匀后取 20μl 磁珠置于离心管中，向管中加入 500μl PBS 缓冲液，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 500μl PBS 缓冲液，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：免疫沉淀实验时建议设置阴性对照组，使用方法与 Anti-MBP Magnetic-G Beads 免疫磁珠完全一致，若有需求可以订购本公司的 **Control IgG Magnetic-G Beads 免疫磁珠(货号：NBS0250)**。

### 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℃ 下孵育 60min（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 500μl 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 1h 或者 4℃ 4h，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。

### 5. 蛋白洗脱

#### 1) 洗脱液洗脱

该方法适用于 IP-MS 应用。每 20μl 原始磁珠体积加入 60μl Elution Buffer D 洗脱液，常温洗脱 10min，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 $\mu$ l 原始磁珠体积加入 40 $\mu$ l 的 2 $\times$ SDS Loading Buffer, 摇晃混匀后 100 $^{\circ}$ C 高温处理 10min, 将离心管置于磁力架上分离 10s, 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 $\mu$ l 以内, 剩余的样本可冻存于 -20 $^{\circ}$ C 保存。

### 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。
6. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 相关产品:

| 类型           | 产品编号                                        | 产品名称                                                      | 包装规格       |
|--------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|------------|
| 纳米二抗<br>免疫磁珠 | <a href="#">NBS0240-20<math>\mu</math>l</a> | <a href="#">HRP-Anti Mouse Fab Nanobody for IP</a>        | 20 $\mu$ l |
|              | <a href="#">NBS0241-20<math>\mu</math>l</a> | <a href="#">HRP-Anti Rabbit Fab Nanobody for IP</a>       | 20 $\mu$ l |
| 标签抗体<br>免疫磁珠 | <a href="#">NBS0242-0.2ml</a>               | <a href="#">Anti-DYKDDDDK(FLAG) Magnetic-G Beads 免疫磁珠</a> | 0.2ml      |
|              | <a href="#">NBS0243-0.2ml</a>               | <a href="#">Anti-HA Magnetic-G Beads 免疫磁珠</a>             | 0.2ml      |
|              | <a href="#">NBS0244-0.2ml</a>               | <a href="#">Anti-His Magnetic-G Beads 免疫磁珠</a>            | 0.2ml      |
|              | <a href="#">NBS0245-0.2ml</a>               | <a href="#">Anti-Myc Magnetic-G Beads 免疫磁珠</a>            | 0.2ml      |
|              | <a href="#">NBS0246-0.2ml</a>               | <a href="#">Anti-GFP Magnetic-G Beads 免疫磁珠</a>            | 0.2ml      |
|              | <a href="#">NBS0247-0.2ml</a>               | <a href="#">Anti-RFP Magnetic-G Beads 免疫磁珠</a>            | 0.2ml      |
|              | <a href="#">NBS0248-0.2ml</a>               | <a href="#">Anti-MBP Magnetic-G Beads 免疫磁珠</a>            | 0.2ml      |
|              | <a href="#">NBS0249-0.2ml</a>               | <a href="#">Anti-Strep-tag II Magnetic-G Beads 免疫磁珠</a>   | 0.2ml      |
|              | <a href="#">NBS0250-0.1ml</a>               | <a href="#">Control IgG Magnetic-G Beads 免疫磁珠</a>         | 0.1ml      |
|              | <a href="#">NBS0150-1ml</a>                 | <a href="#">rProtein A/G MagPoly Beads 免疫磁珠</a>           | 1ml        |