

Endotoxin Removal Kit 内毒素去除试剂盒

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Endotoxin Removal Kit 内毒素去除试剂盒	60404ES03	1 Kit

产品描述

细菌内毒素可引起机体免疫功能受损，严重者可引发脓毒性休克，急性呼吸窘迫综合症，弥散性血管内凝血，全身炎症反应综合症或致命性多器官功能衰竭等。因此对于用于疾病治疗的基因药物、蛋白药物、单抗克隆药物、治疗性疫苗、小分子化学药物等生物制品必须通过一定的方法去除内毒素。

本试剂盒使用一类高效内毒素去除树脂，它以生物安全性极高的内毒素特异吸附物质为配体，经此亲和和树脂纯化，样品最终的内毒素水平可 $<0.1\text{EU/ml}$ 。而且经过亲和纯化后没有对人体有毒害物质残余，适合抗体、疫苗等生物制品的内毒素去除。

产品性质

亲和树脂的主要特征：

规格	1.5 mL 预装柱
结合能力	高达 1800000 EU/mL 树脂
配基	高效内毒素特异吸附配基
PH 范围	pH 5-10
基质	4%交联的琼脂糖凝胶
孔径	80-100 μM
pH 稳定范围	5-10
离子范围	0.1-0.5 M NaCl
保存温度	2°C-8°C (勿冷冻)
使用寿命	18 个月
适合纯化对象	蛋白，多肽，抗体，多糖等
平衡缓冲液	PBS, pH8.0
耐受试剂	20% DMSO, 20% 乙醇, 20% 甘油; 0.05% 吐温-20, 10 mM DTT; 1 M 尿素; 300 mM 咪唑等

产品组分

组分编号	组分名称	规格
60404-A	亲和树脂预装柱	1.5 mL
60404-B	再生缓冲液	100 mL
60404-C	平衡缓冲液	100 mL
60404-D	流速控制器	1 个
60404-E	无热原接收管	2 包 (3 支/包)
60404-F	无热原枪头 (1 mL)	6 包 (4 支/包)
60404-G	保护液 (20%乙醇)	50 mL

运输和保存方法

冰袋运输。4°C保存，有效期2年。

注意事项

- 1) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 2) 本产品仅用于科研用途。

使用方法

需另外准备的设备与试剂

1) 铁架台；2) 3 M 的 NaCl、0.1 M 的 NaOH 和 0.1 M 的 HCl，用于调节样品 pH 值和离子强度。

1. 样品处理：样品在上样前建议离心或用 0.22 μM 或 0.45 μM 滤膜过滤，减少杂质，提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

实验中存在的若干因素都可能会影响内毒素去除效率，如：缓冲液的 pH 值，内毒素浓度，内毒素与树脂的接触时间，离子强度，温度以及样品的特性等。其中样品 pH 值和离子强度对于内毒素的去除效率影响尤其重要，纯化前可用处理过的氯化钠，0.1 M 的 NaOH 或 0.1 M 的 HCl 来调节离子强度或 pH 值。

【注】：① 虽然结合内毒素的 pH 范围在 5-10，但是 7-8 的 pH 范围是纯化的最佳范围。

② 合适的离子浓度可降低非特异性吸附，保持 0.15-0.5M NaCl 的条件可以得到一个较好的去除效果。

2. 活化树脂：将预装柱置于铁架台，垂直固定，去除顶部盖子，打开流速控制器，使保护液在重力作用下流干，加入 5 mL 再生缓冲液（预冷），调节流速控制器，保持流速在 0.25 mL/min（或 1 滴/6 s），待再生缓冲液流干后再加入 5 mL 再生缓冲液（预冷），再重复操作 2 次，确保体系保持无热原存在。即使是第一次使用也必须进行这一步操作。该步操作大约需要 60 min 完成。

3. 平衡树脂：活化完毕后加入 6 mL 的平衡缓冲液（预冷），沿柱管内壁均匀加入其中，保证清洗柱管的内壁，调节流速控制器，保持流速在 0.5 mL/min，流干平衡缓冲液，再按此操作重复 2 次。这步操作大约需要 40 min 完成。

4. 内毒素去除：取 1.5 mL 样品加到平衡后的层析柱中，调节流速在 0.25 mL/min（或 1 滴/6 s），不接收流出液。当样品流完，继续添加样品，样品可以加满柱管，同时收集流出液，即为除热原的样品。为了降低样品的损失，样品流完后，再添加 1.5 mL 平衡液，并与之前的流出液合并。检测样品浓度及内毒素水平。

5. 再次使用：如果流出样品内毒素水平未能达到预期值，需要将预装柱按照步骤 2、3 重新再生、平衡，然后上样纯化。

6. 保存条件：如果预装柱用完后需要保存，先用 5 mL 平衡缓冲液（预冷）平衡柱子，待平衡液流完，加入 6 mL 的保护液并于 4°C 保存。

附表 问题与解答

问题	可能原因	解决方法
去除效率低	样品与树脂接触时间太短	降低样品流速，或通过低温孵育来提高结合效率
	样品的 pH 值没有在内毒素结合范围内	用 0.1 M 的 NaOH 或 0.1 M 的 HCl 调节 pH 值至 7-8
	去除或检测系统受到外来因素污染	使用无热原的实验仪器，保证体系不受污染
样品损失高	内毒素与目的蛋白结合太牢固	① 优化样品的 pH 值，使它们解离； ② 增加样品与树脂的接触时间
	样品通过非特异性作用结合在树脂上	增加样品和平衡缓冲液中 NaCl 的含量
样品被污染	目的蛋白与内毒素结合牢固，一起结合在树脂上	① 优化样品的 pH 值，使它们解离； ② 增加样品与树脂的接触时间
	树脂用于处理过其他的样品	尽量避免使用同一个预装柱处理不同样品。如果无法避免，可以在处理一个样品之后，用 10-20 mL 2 M NaCl 淋洗树脂，然后再处理另外一种样品
再生缓冲液出现浑浊	当再生缓冲液达到室温时将会出现浑浊	使用之前在冰上冷却再生缓冲液或者在 4°C 条件下进行再生