



# Endotoxin Removal Beads 重力柱

## 目录

|                   |   |
|-------------------|---|
| 1. 产品介绍.....      | 1 |
| 2. 内毒素去除流程.....   | 1 |
| 3. 问题及解决方案.....   | 2 |
| 4. 订购信息及相关产品..... | 2 |

## 1. 产品介绍

Endotoxin Removal Beads 是一种用于去除生物源蛋白类产品（包括多肽、抗体、多糖等）中内毒素的产品。它是将修饰过的多粘菌素 B 连接至 4%琼脂糖微球上，进行特异性内毒素去除，样品回收率高。具体性能见表 1。

**Endotoxin Removal Beads 重力柱**以 Endotoxin Removal Beads 为装填材料，提供 1 ml 和 5 ml 两种规格产品，方便客户使用，操作简单，纯化效率高。

表 1. Endotoxin Removal Beads 产品性能

| 项目      | 性能                                                                     |
|---------|------------------------------------------------------------------------|
| 基质      | 4%琼脂糖微球                                                                |
| 配体      | 修饰过的多粘菌素 B                                                             |
| 载量      | >2,000,000 EU/ml 基质                                                    |
| 微球粒径    | 45-165 $\mu\text{m}$                                                   |
| 最大压力    | 0.1 MPa, 1 bar                                                         |
| pH 稳定范围 | 5-10                                                                   |
| 可耐受试剂   | 20% DMSO, 20%乙醇, 20%甘油, 1 M 尿素, 300 mM 咪唑, 0.05% Tween-20, 10 mM DTT 等 |
| 储存缓冲液   | 含 20%乙醇的 1×PBS                                                         |
| 储存温度    | 2-8 $^{\circ}\text{C}$                                                 |

## 2. 内毒素去除流程

### 2.1 缓冲液的准备

所有用水和缓冲液及耗材均需无热源产品，防止在使用过程中引入内毒素。自己准备的缓冲液在使用前最好用无热源 0.22  $\mu\text{m}$  或者 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤。

平衡液：20 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 150 mM NaCl, pH7.4

再生液：平衡液中添加 1%的 Triton X-114

注：平衡液和再生液可根据样品性质进行改变，建议 pH7-8, NaCl 约 0.15 M-0.5 M。

再生液建议置于 2-8 $^{\circ}\text{C}$  保存和使用，温度升高可能会变浑浊，重新放入 2-8 $^{\circ}\text{C}$  即可。

### 2.2 样品准备

样品在上样前建议离心或用 0.22  $\mu\text{m}$  或 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤，减少杂质，提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

样品 pH 最好控制在 7-8 之间，因为内毒素结合至柱子上的最佳 pH 为 6-9。样品最好控制适当的离子强度，减少非特异性吸附，如 0.15-0.5 M 的 NaCl。

### 2.3 内毒素去除

**Endotoxin Removal Beads 重力柱**使用以 1 ml 的规格为例，各溶液用量均按照柱体积计算（例如：2 个柱体积，1 ml 规格对应为 2 ml 溶液，5 ml 规格对应为 10 ml 溶液）。

1) 将 Endotoxin Removal Beads 重力柱固定在铁架台上，先后打开上盖、下盖，依靠重力流干保护液。用 3 个柱体积的再生液清洗，控制流速在 0.25 ml/min，或每分钟小于 10 滴，温度控制在 2-8 $^{\circ}\text{C}$ 。重复至少两次，确保柱子中无内毒素。

2) 用 3 倍柱体积的平衡液平衡柱管内壁及介质，流干，流速约 0.5 ml/min，温度控制在 2-8 $^{\circ}\text{C}$ ，重复至少两次。直至流出液 OD280 检测无吸收值。





- 3) 将样品连续加入平衡好的 Endotoxin Removal Beads 重力柱中，调节流速为 0.25ml/min，或每分钟小于 10 滴，液体流出约 1 个柱体积后，开始分段收集，每一个柱体积收集一管，待所有样品均加入柱管，且全部进入介质后，加入 1 个柱体积平衡液继续收集最后一个柱体积样品。收集完成后，检测收集的样品中内毒素含量及样品回收率，将合格的样品合并。
- 4) 如果样品中内毒素含量仍高于目标值，继续重复步骤 1-3。
- 5) 纯化完成后按照步骤 1-2 对介质进行再生和平衡，然后将重力柱保存在等体积的无内毒素 20%乙醇中，置于 2-8℃保存，防止填料被细菌污染。

### 3. 问题及解决方案

| 问题       | 原因分析            | 推荐解决方案                                                      |
|----------|-----------------|-------------------------------------------------------------|
| 内毒素去除效率低 | 样品pH值不在内毒素结合范围内 | 用0.1 M NaOH或0.1 M HCl调节样品pH7-8。                             |
|          | 样品与介质接触时间短      | 降低流速，增加样品接触时间。                                              |
|          | 去除或检测系统被内毒素污染   | 所有试验用品均需无热源产品。                                              |
|          | 内毒素与目的蛋白结合较强    | 优化样品pH，使样品与内毒素分离。增加接触时间                                     |
| 样品被污染    | 介质纯化过其他样品       | 不要用使用过的介质去除不同样品的内毒素。                                        |
| 样品回收率低   | 样品非特异性吸附在介质上    | 增加样品和平衡液中的NaCl浓度。可以在样品流穿后，调整平衡液的氯化钠浓度至0.5-1 M，对结合的目的蛋白进行洗脱。 |
|          | 目的蛋白与内毒素结合一起被去除 | 优化样品pH，使样品与内毒素分离。                                           |

### 4. 订购信息及相关产品

| 名称                          | 货号        | 规格   |
|-----------------------------|-----------|------|
| Endotoxin Removal Beads 重力柱 | SA031GC01 | 1 ml |
|                             | SA031GC05 | 5 ml |

