



Endotoxin Removal Kit

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, 进行特异性去除内毒素, 可将样品中内毒素降低至 0.1 EU/ml, 样品回收率高。具体性能见表 1。

表 1. Endotoxin Removal Beads 产品性能

性能	指标
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 介质
粒径范围	45-165 μ m
最大流速	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
储存缓冲液	20, 10 mM DTT 等
储存温度	20% 乙醇
	2 - 8 $^{\circ}$ C

试剂盒组分

名称	规格	数量
Endotoxin Removal Column	1.5 ml	1 支
Equilibrium Buffer	125 ml	1 瓶
Regeneration Buffer	125 ml	1 瓶

2. 内毒素去除流程

2.1 缓冲液的准备

所有用水及耗材均需无热原产品, 防止在使用过程中引入内毒素。

提供平衡液和再生液。再生液在室温下是略带浑浊的液体, 轻轻摇晃, 如果发现有固体状物质存在, 可以把再生液放置于 2-8 $^{\circ}$ C 冰箱, 或者置于冰上, 间歇摇晃, 直至呈均一、透明溶液。

注: 结合液和洗脱液可根据样品性质进行改变, 建议 pH7-8, NaCl 浓度为 0.15 M-0.5 M。

2.2 样品准备

样品在上样前建议离心或用 0.22 μ m 或 0.45 μ 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 pH7-8, 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

1) 将含有 **Endotoxin Removal Beads** 的预装柱置于铁架台上, 依次取下上盖和打开流速控制器 (注意: 如果顺序反了, 填料中会进入气泡)。将流速器开到最大, 靠重力将保护液流干。

2) 用无热原枪头加入 5 ml 冷的再生液, 控制流速在 0.25 ml/min, 或每分钟小于 10 滴。流干后再重复两次, 确保柱子中无内毒素。再生时建议控制温度 2-8 $^{\circ}$ C。

3) 再生液流干后, 用无热原枪头吸取 6ml 的平衡液, 沿柱管内壁均匀加入, 保证清洗柱管的内壁, 调节流速为 0.5 ml/min, 流干平衡液, 再重复两次。平衡时建议控制温度 2-8 $^{\circ}$ C。

4) 用无热原枪头吸取 1.5 ml 样品加到平衡好的 **Endotoxin Removal Beads** 中, 调节流速在 0.25 ml/min, 或每分钟小于 10 滴, 最初 1.5 ml 空体积不接收。当样品流完, 继续添加样品, 并开始使用无热原容器收集流出液, 即为除热原的样品。为了降低样品的损失, 建议样品





流完后, 再添加 1.5 ml 平衡液, 并与之前的流出液合并。

5) 检测样品中内毒素含量及样品回收率。

6) 如果样品中内毒素含量仍高于目标值, 继续重复上述操作。

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pH7-8。
	样品与填料接触时间短	减少流速, 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	填料纯化过其他样品	不要用使用过的填料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填料上	增加样品和平衡液中的NaCl浓度。
	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	SA031005	5 ml
	SA031025	25 ml
	SA031100	100 ml
	SA031500	500 ml
	SA03101L	1 L
Endotoxin Removal Kit	SA031K03	3 Assays

