

天
净
沙
系
列

CAT#:60607-25
常温运输和保存

TIANDZ

液相内毒素清除剂

Solution Endotoxin Erasol

使用手册 V1.4

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

<p>产品及特点</p>	<p>去除液体生物样品（包括质粒 DNA 样品）中污染的内毒素(endotoxin)具有重要的临床意义，因为内毒素对原代细胞、传代细胞和整体动物均具有显著的毒性作用。由于内毒素(化学本质为脂多糖，即 lipopolysaccharides)是包括 <i>E.coli</i> 在内的革兰氏阴性细菌细胞壁的主要组成成分，并且带电性跟 DNA 类似，所以从 <i>E.coli</i> 细胞中提取的质粒 DNA 和重组蛋白质药物中常常含有大量的内毒素污染，并且很难用常规方法（包括硅胶膜吸附，离子交换吸附、凝胶排阻过滤、氯化铯超速离心）去除。本产品就是专门用于高效去除生物样品中的内毒素污染。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 简单快速，一次处理只需要 20 分钟左右，不需要复杂仪器设备。 2. 高效，一次处理可以去除 90%以上的内毒素，经过三次重复抽提可将内毒素的水平降低到 0.2 EU (endotoxin unit, 约 0.1 ng LPS)/mL 以下。 3. 适用范围广，可用于 DNA、RNA、蛋白质或其他生物样品。 4. 不影响 DNA 和绝大部分蛋白质的活性,处理过的质粒 DNA 可用于转染实验。 5. 既可小规模使用(在 1.5 mL 离心管内)，也可放量使用。 											
<p>规格及成分</p>		<table border="1"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>塑料袋包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>液相内毒素清除剂</td> <td>60607</td> <td>25 mL</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>60607sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>	成份	编号	塑料袋包装	液相内毒素清除剂	60607	25 mL	使用手册	60607sc	1 份	
成份	编号	塑料袋包装										
液相内毒素清除剂	60607	25 mL										
使用手册	60607sc	1 份										
<p>运输及保存</p>	<p>常温运输和保存，有效期两年。</p>											
<p>自备试剂</p>	<p>无内毒素的水或 TE 缓冲、3M 醋酸钠、乙醇</p>											
<p>使用方法</p>	<p>如果使用前本产品有分层，请冰浴后振荡混匀。</p> <p>一：用于体积小于 500 uL 的 DNA/RNA 样品</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 在一干净的离心管中加入 500 uL 的样品。如果不足 500 uL,可以用水或 TE 补足。 2. 加入 50 uL 的 3 M 醋酸钠 (pH 5.2)，混匀后冰浴 5 分钟。 3. 加入 50 uL 预冷的本产品，充分混匀后冰浴 10 分钟。 4. 65℃水浴直到溶液变浊或出现分层为止（一般需要 1-5 分钟）。 5. 室温 12000-15000×g 离心 2 分钟(不能低温离心)，离心后上层为无色透明，下层为淡蓝色。 											

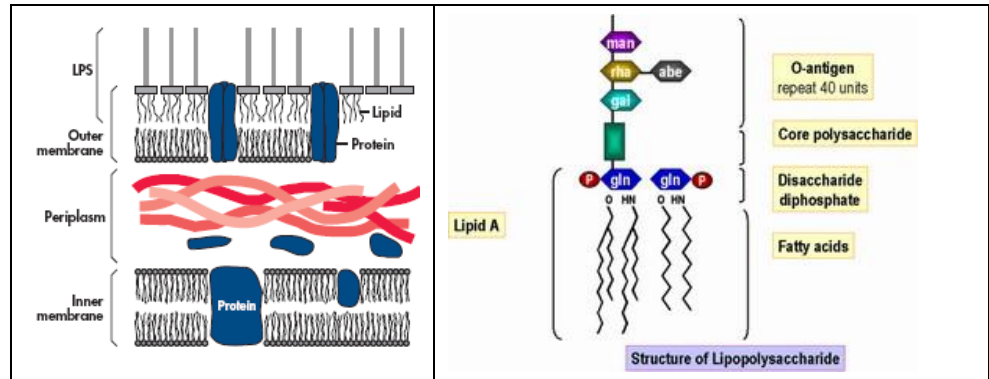
	<p>6. 将上清转移到新的离心管中。</p> <p>7. 如果需要, 可以重复步骤 3~6。</p> <p>8. 加 1 倍体积的异丙醇或两倍体积的乙醇, 混匀, 12000-15000×g 离心 30 分钟。</p> <p>9. 弃上清后用 70%酒精洗 2 次。</p> <p>10. 空气干燥沉淀后加入 100 uL 无内毒素的水或 TE 缓冲液溶解沉淀。</p> <p>11. 测定 DNA 和内毒素的含量, 与未纯化的样品比较。</p> <p>二: 用于体积大于 500 uL 的 DNA/RNA 样品</p> <p>整个操作同上, 只是在 15 或 50 mL 塑料离心管中进行, 离心速度不能超过离心管的承受力。</p> <p>三: 整合到碱变性法质粒 DNA 制备过程中</p> <p>整个操作同上, 只是:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 样品必须是加溶液 III 离心后得到的上清液或最后得到的质粒溶液。 2. 如果处理的是加溶液 III 离心后得到的上清液, 可以略去第 2 步操作。 3. 处理后的溶液需要用试剂盒提供的或自备的上柱液调整盐离子浓度, 然后上柱, 以后的操作按试剂盒提供的操作手册进行。 4. 洗脱 DNA 所用水或溶液必须无内毒素污染。 <p>四: 对蛋白质和其它生物样品</p> <p>整个操作同上, 只是:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 略去第 2 步操作, 加 3 M 醋酸钠 (pH 5.2) 的目的是为沉淀核酸。 2. 第 4 步改为 37℃保温以免蛋白质变性, 溶液呈混浊状或分相一般需要 20-30 分钟。 3. 略去第 8 步和以后操作。
<p>常见问题</p>	<p>Q:为何用常规的方法很难去除生物样品中的内毒素?</p> <p>A:因为内毒素带电性跟 DNA 和部分蛋白质相同, 所以基于带电性的分离方法(如硅胶膜吸附, 离子交换吸附)不能将它们分开;同时内毒素又是双性分子 (类似于细胞膜的磷脂分子), 能够形成大小不等的聚合物, 跟质粒 DNA 和蛋白质大小接近, 所以基于分子量大小的分离方法(如凝胶排阻过滤和氯化铯超速离心)也不能将其有效分离。</p>

关联产品

固相Endotoxin Erasol (CAT#:60608)

背景资料

内毒素的分子结构



外毒素 vs. 内毒素

区别要点	外毒素 (Exotoxin)	内毒素 (Endotoxin)
存在部位	由活的细菌释放至细菌体外,为细菌的代谢产物	为细菌细胞外壁结构成份,细胞破裂后释出
细菌种类	以革兰氏阳性菌多见	革兰氏阴性菌多见
化学特性	蛋白质 (分子量 27~900 KDa), 易被分解破坏, 热不稳定 (60℃以上能迅速破坏)	磷脂-多糖-蛋白质复合物 (毒性主要为类脂A), 不易被分解破坏, 耐热 (60℃耐受数小时)
毒性作用	强,微量对实验动物有致死作用 (以 ug 计量)。各种外毒素有选择作用,引起特殊病变,不引起宿主发热反应。抑制蛋白质合成,有细胞毒性、神经毒性、紊乱水电盐代谢等	稍弱,对实验动物致死作用的量比外毒素为大。各种细菌内素的毒性作用大致相同。引起发热、弥漫性血管内凝血、粒细胞减少血症、施瓦兹曼现象等
抗原性	强,可刺激机体产生高效价的抗毒素。经甲醛处理可脱毒成为类毒素,仍有较强的抗原性,可用于人工自动免疫	弱,刺激机体对多糖成份产生抗体,不形成抗毒素,不能经甲醛处理成为类毒素而使毒性消失
其他	几乎无发热性,对肿瘤细胞无影响	很强的发热性,破坏肿瘤细胞
例子	白喉毒素,肉毒毒素,破伤风毒素,厌氧菌毒素,溶血性链球菌毒素等	大肠杆菌,霍乱绿脓菌,沙门氏菌,赤痢菌等。