

天
净
沙
系
列

CAT#:160692-1.5
常温运输, 4℃保存

TIANDZ

内毒素清除试剂盒

Endotoxin Removal Kit

使用手册 V1.0

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

产品及特点	细菌内毒素(脂多糖, LPS)是革兰氏阴性细菌细胞壁的主要成分。人们在研究革兰氏阴性菌血症和内毒素血症的过程中，发现细菌内毒素在其中起着关键的作用，内毒素使机体免疫功能严重受损，进一步的发展可能引发脓毒性休克，弥散性血管内凝血，急性呼吸窘迫综合症，全身炎症反应综合症或致命性多器官功能衰竭。因此，内毒素的清除对于人类疾病治疗的注射型药品、生物制品等都是必须的，尤其对于基因药物、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的下游纯化处理来说就显得非常重要。				
	本试剂盒使用的是一类高效内毒素清除树脂，它以修饰过的多粘菌素 B（PMB）为配体，进行特异性的内毒素清除。经此专用亲和介质纯化，样品最终的内毒素水平可低于 0.1 EU/mL。本产品的主要特点如下：				
	1. 高稳定性，高去除效率。				
	2. 高结合力：> 2, 000, 000 EU/ mL。				
	3. pH 范围为 5-10 时,亲和介质对内毒素的清除率在 92%以上;pH 值在 7-8 时，清除效率最高。				
	4. 无需恒流泵即可调节流速。				
	5. 重复使用 5 次不会改变柱子效果。				
	6. 使用方便，试剂盒中提供无热原缓冲液，无热原收集管及无热原枪头等。				
	7. 适合纯化对象为蛋白，多肽，抗体，多糖等。				
	8. 可耐受试剂：20% DMSO, 20% 乙醇, 20% 甘油;1 M 尿素, 300 mM 咪唑; 0.05% 吐温-20, 10 mM DTT 等。				
规格及成分		成份	编号	纸盒包装	
		专用亲和介质	160692A	1.5 mL 预装柱	
		再生缓冲液	160692B	125 mL	
		平衡缓冲液	160692C	125 mL	
		流速控制器	160692D	1 个	
		无热原接收管	160692E	1 包（3 支/包）	
		无热原枪头（1 mL）	160692F	2 包（6 支/包）	
		使用手册	1 份		
运输及保存	常温运输，4℃保存，有效期一年。				
自备试剂	0.1 M 的氢氧化钠和 0.1 M 盐酸（用于调节样品 pH，均可从本公司另购）				

使用方法	1. 样品处理：样品的 pH 值和离子强度在内毒素去除的过程中起着重要作用。虽然结合内毒素的 pH 范围在 6-9,但是 7-8 的 pH 范围是纯化的最佳范围。合适的离子浓度可以降低非特异性吸附，0.15-0.5 M NaCl 的条件可以得到一个很好的去除效率和低的样品损失。所以，纯化之前可以使用处理过的氯化钠，0.1 M 的氢氧化钠或 0.1 M 盐酸来调节离子强度或 pH 值。 2. 活化亲和介质：将预装柱置于铁架台，垂直固定，去除预装柱顶部的盖子，打开流速控制器，使保护液在重力作用下流干，加入 5 mL 的（预冷）再生缓冲液，调节流速控制器，保持流速在 0.25 mL/min（或者 10 滴/min），待再生缓冲液流干，再加入 5 mL 再生缓冲液，再重复操作两次，确保体系保持无热原（即内毒素）存在。即使是第一次使用也必须进行这一步操作。这步操作大约需要 60 分钟完成。 3. 平衡亲和介质：活化完毕后，加入 6 mL 的（预冷）平衡缓冲液，调节流速控制器，保持流速在 0.5 mL/min，流干平衡缓冲液，再按此操作重复两次。这步操作大约需要 40 分钟完成。 4. 内毒素清除：将流速控制器关闭，使用无热原枪头将样品加入，打开控制器，控制流速不高于 0.25 mL/min，流出液体积达到 1.5 mL 后，使用无热原接收管接受样品，样品流干后，再加入 1.5 mL-3.0 mL 的（预冷）平衡缓冲液淋洗，收集淋洗液。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，需要将预装柱重新再生，按照步骤 1 重新再生，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 10 mL 平衡缓冲液平衡柱子，待平衡液流干，加入 1.5 mL 的再生缓冲液（含 0.02%的叠氮化钠）。															
答客问	<table><tr><th>问题</th><th>可能原因</th><th>解决方法</th></tr><tr><td rowspan="4">去除效率低</td><td>样品的 pH 值没有在 7-8 之间</td><td>调节 pH 值至 7-8</td></tr><tr><td>样品和专用亲和介质的接触时间太短</td><td>降低样品的流速，或者通过低温孵育来解决</td></tr><tr><td>去除或检测系统受到外来因素污染</td><td>使用无热原的实验仪器，保证体系不受污染</td></tr><tr><td>内毒素与目的蛋白结合太牢固</td><td>1. 优化样品的 pH 值，使它们解离 2. 增加样品与专用亲和介质的接触时间</td></tr><tr><td>样品损失高</td><td>样品通过非特异性作用结合在专用亲和介质上</td><td>增加样品和平衡缓冲液中 NaCl 的含量</td></tr></table>	问题	可能原因	解决方法	去除效率低	样品的 pH 值没有在 7-8 之间	调节 pH 值至 7-8	样品和专用亲和介质的接触时间太短	降低样品的流速，或者通过低温孵育来解决	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	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. 增加样品与专用亲和介质的接触时间	样品损失高	样品通过非特异性作用结合在专用亲和介质上	增加样品和平衡缓冲液中 NaCl 的含量
问题	可能原因	解决方法														
去除效率低	样品的 pH 值没有在 7-8 之间	调节 pH 值至 7-8														
	样品和专用亲和介质的接触时间太短	降低样品的流速，或者通过低温孵育来解决														
	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														
	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. 增加样品与专用亲和介质的接触时间														
样品损失高	样品通过非特异性作用结合在专用亲和介质上	增加样品和平衡缓冲液中 NaCl 的含量														

		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. 增加样品与专用亲和介质的接触时间
	样品被污染	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 2M NaCl 淋洗树脂，然后再处理另外一种样品
关联产品	内毒素清除专用亲和介质 (CAT#:130419)、固相内毒素清除剂 (CAT#:60608)		