

ToxinEraser™ 内毒素去除试剂盒

1. 产品描述

细菌内毒素（脂多糖）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，脂多糖在其中起着关键的作用，内毒素可使机体免疫功能严重受损，进一步地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，内毒素的去除对于下游纯化处理来说是非常必须又非常困难的工作。

金斯瑞ToxinEraser™是一类高效内毒素去除的树脂，它是以修饰过的多粘菌素B（PMB）为配体，进行特异性地去除内毒素。经ToxinEraser™内毒素去除树脂的纯化，样品最终的内毒素水平可低于0.1 EU/ml，亲和树脂的主要特性见表1：

表1. ToxinEraser™内毒素去除树脂的主要特性

规格	1.5 ml预装柱
结合能力	高达2,000,000 EU/ml树脂.
配基	修饰的多粘菌素B（PMB）
pH 范围	pH5-10
基质	4%交联的琼脂糖凝胶
颗粒大小	90 μm
保存温度	2°C-8°C
使用寿命	18个月
平衡缓冲液	磷酸盐缓冲液，pH8.0
适合纯化对象	蛋白、多肽、抗体和多糖等
离子条件	0.1-0.5 M NaCl
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和10 mM DTT等

2. 主要特性

- 高稳定性，高去除效率
- 高结合力：> 2,000,000 EU / ml (CV)
- 无需恒流泵即可调节流速
- 重复使用5次不会改变柱子效果
- 使用方便，试剂盒中提供无热源缓冲液，无热源收集管，无热源枪头等

3. 成分

试剂盒内容 (产品编号 L00338)	3 - 5 次检测使用
ToxinEraser™ 内毒素去除树脂 (产品编号 L00402)	1.5 ml 预装柱
再生缓冲液 (产品编号 M01053)	125 ml
平衡缓冲液 (产品编号 M01054)	125 ml
流速控制器	1 个
无热源接收管	1 包 (3 个/包)
无热源枪头 (1 ml)	2 包 (6 个/包)
说明书	1 份

金斯瑞可以提供再生缓冲液和平衡缓冲液

再生缓冲液 产品编号: M01053 规格: 125 ml

平衡缓冲液 产品编号: M01054 规格: 125 ml

4. 需另外准备的设备及试剂

1. 铁架台
2. 0.1 M NaOH和0.1M HCl, 用于调节样品PH值
3. 氯化钠和乙醇

5. 操作步骤

5.1 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:

- A. 结合内毒素的pH范围为6-9, pH范围7-8进行纯化最佳。
- B. 合适的离子浓度可以降低非特异性吸附, 0.15-0.5M 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, 纯化之前可以使用无内毒素的3M氯化钠、0.1 M NaOH或0.1M HCl来调节离子强度或PH值。

5.2 内毒素去除

A. 活化树脂

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, 但是勿使柱床干燥, 沿柱壁缓缓加入5 ml冷的再生缓冲液(受热会变浑浊), 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, 重复操作两次以上, 确保体系无热原(即内毒素)存在, 即使是第一次使用也必须进行这一步操作。此过程中需用再生缓冲液冲洗柱壁, 此过程大约需要60 min。

B. 平衡树脂

活化完毕, 沿柱壁缓缓加入6 ml的平衡缓冲液, 调节流速控制器, 保持流速在0.5 ml/min, 流干平衡缓冲液。在此过程中需用平衡缓冲液冲洗柱壁, 重复该平衡步骤两次以上。此过程大约需要40 min。

C. 内毒素去除

将流速控制器关闭, 使用无热源枪头将样品沿柱壁加入, 打开控制器, 控制流速为0.25 ml/min或10滴/min, 流出液体积达到1.5 ml后, 开始使用无热源接收管收集流出液, 样品流干后, 再加入1.5 ml-3.0 ml的平衡缓冲液淋洗, 收集淋洗液, 并合并。检测样品浓度及内毒素水平。

D. 再次使用

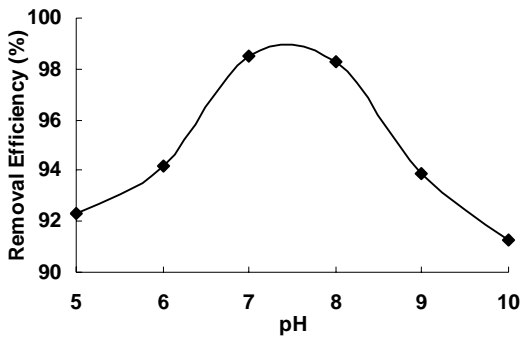
如果流出样品内毒素水平未能达到预期值，需要将预装柱重新再生，按照步骤1重新再生，然后再次上样纯化。

E. 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20%的乙醇），2°C-8°C保存。

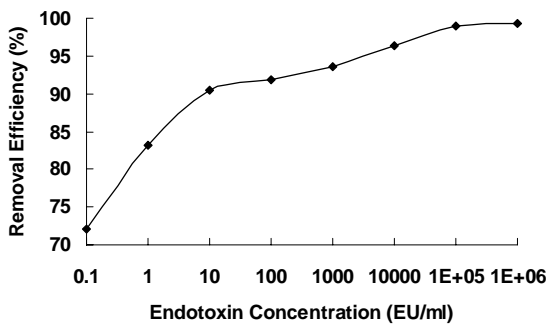
影响内毒素去除效率的因素

虽然多粘菌素 B (PMB) 和内毒素特异性结合的机理还存在很多争议，但是，有一点是大家普遍接受的事实，那就是它们之间是通过静电作用、离子作用、亲水作用和分子之间的相互作用等多种因素共同作用的结果。因此，在实验中存在若干因素可能会影响内毒素的去除效率，例如：缓冲液的PH值、内毒素的浓度、内毒素与亲和树脂的接触时间、离子强度、温度以及样品的特性等等。下面是对影响亲和树脂内毒素去除效率因素的一些研究：



PH 值对内毒素去除的影响

图1. 在pH为5-10时，亲和树脂对内毒素的去除率均在92%以上；而当pH超过此范围时，内毒素去除效果明显降低。而pH在7-8的范围内效率最高。



内毒素浓度对去除效率的影响

图2. 样品内毒素的浓度直接影响内毒素的去除效率。

可能出现的问题及解决方法

问题	可能原因	解决方法
去除效率低	样品的pH值不在7-8之间	调节pH至7-8
	样品和亲和树脂的接触时间太短	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	使用无热源的实验仪器, 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, 使它们解离 2. 增加接触样品与亲和树脂的时间
样品损失高	样品通过非特异性作用结合在亲和树脂上	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, 一起被去除	1. 优化样品的pH, 使它们解离 2. 增加接触样品与亲和树脂的时间
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
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℃条件下进行再生

订购信息

ToxinEraser™内毒素去除试剂盒

产品编号: L00338

再生缓冲液

产品编号: M01053

平衡缓冲液

产品编号: M01054

仅用于研究

南京金斯瑞生物科技有限公司

江苏省南京市江宁科学园雍熙路28号, 邮编211100

客服热线: 025-58897288-5810

订购邮箱: product@genscript.com.cn

公司主页: <http://www.genscript.com.cn>