

Version: 02

Update: 09/30/2022

**产品名称: ToxinEraser™内毒素去除试剂盒**
**货号: L00338**
**目录**

I.	产品描述 .....	1
II.	主要特性 .....	2
III.	试剂盒组分 .....	2
IV.	需另外准备的设备和试剂 .....	2
V.	操作步骤 .....	2
VI.	可能出现的问题及解决方法 .....	4
VII.	订购信息 .....	4

**I. 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™ endotoxin removal Resin 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，最终去除效率可能因样品类型/来源而异。内毒素去除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
平衡缓冲液	磷酸盐缓冲液，pH8.0
再生缓冲液	磷酸盐缓冲液，pH8.0； Triton-114
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

## II. 主要特性

1. 高稳定性，高去除效率
2. 高结合力: > 2,000,000 EU / ml settled resin
3. 无需恒流泵即可调节流速
4. 重复使用5次不会改变柱子效果
5. 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

## III. 试剂盒组分

试剂盒内容(Cat. No.:L00338)	包装
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

## IV. 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. 3M氯化钠, 用于调节样品离子强度
4. 乙醇

## V. 操作步骤

### 注意:

- A. ToxinEraser™ 内毒素去除树脂必须在每次使用前再生，包括第一次使用。
- B. 使用无热原的溶液和材料以防止将额外的内毒素引入样品中。
- C. 使用前将所有溶液和树脂平衡至室温，再生缓冲液除外。

### 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。

### 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

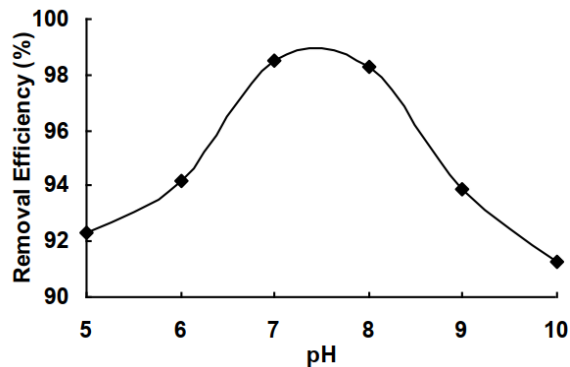
如果流出样品内毒素水平未能达到预期值，需要将预装柱重新再生，按照步骤1重新再生，然后再次上样纯化。

## 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，再将平衡液流干。将乙醇加入到再生缓冲液中至其终浓度为20%，制成混合液。向柱子中加入至少1.5 ml的混合液，于2°C-8°C保存。

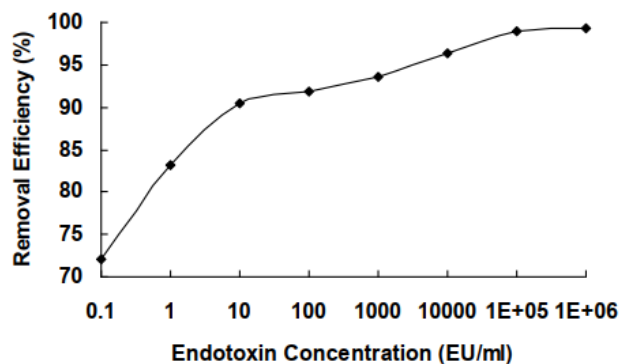
## 影响内毒素去除效率的因素

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。下面是我们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。

## VI. 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
再生缓冲液变浑浊	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°C条件下进行再生

## VII. 订购信息

ToxinEraser™ Endotoxin Removal Resin	产品编号: L00402
再生缓冲液	产品编号: M01053
平衡缓冲液	产品编号: M01054
ToxinSensor™ Endotoxin-free Pipette Tips (1 ml, Blue)	产品编号: M01063

**For research and manufacturing use. Direct human use, including taking orally and injection are forbidden.**

生产商: 南京金斯瑞生物科技有限公司 江苏省南京市江宁区科学园雍熙路 28 号  
 Manufacturer: Nanjing GenScript Biotech Co., Ltd. No. 28 Yongxi Road, Jiangning District, Nanjing, Jiangsu, China