

## 内毒素去除层析介质 Endotoxin Removal Beads

货号：	BDTL0020-10
类别：	纯化试剂
规格：	10ml
详情：	1. 产品介绍

内毒素去除层析介质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，特异性去除内毒素，可将样品中内毒素降低至0.1EU/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	>2,000,000EU/ml 介质
粒径 (μm)	45-165
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；1M尿素,300mM咪唑；0.05% Tween 20, 10mM DTT等
储存缓冲液	20% 乙醇
储存温度	2-8℃

## 2. 内毒素去除流程

## 2.1 Buffer的准备

所有用水和及耗材均需无热源产品，防止在使用过程中引入内毒素。

- 平衡液: 20mM 磷酸盐, 0.15M NaCl, pH7.4
- 再生液: 1% Triton X-114

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

## 2.2 样品准备

1. 样品在上样前建议离心或用0.22μm或0.45μm滤膜过滤，减少杂质，提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。
2. 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。
3. 样品最好控制适当的离子强度，减少非特异性吸附，如0.15-0.5M的NaCl。

## 2.4 样品纯化

1. 将Endotoxin Removal Beads充分混匀，用无热源枪头吸取适量浆液（以1ml为例）加入至层析柱中，打开下出

- 口去掉保护液。用3ml的再生液清洗，控制流速在0.25ml/min，或每分钟小于10滴。重复至少两次，确保柱子中无内毒素。
- 用3ml的平衡液平衡柱管内壁及层析介质，流干，流速约0.5ml/min，重复至少两次。
  - 将样品加到平衡好的Endotoxin Removal Beads中，调节流速在0.25ml/min，或每分钟小于10滴，当流出液流出约1ml时，开始收集流出液，流干后加入1ml平衡液继续收集。检测样品中内毒素含量及样品回收率。
  - 如果样品中内毒素含量仍高于目标值，继续重复1-3。

### 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0.1MNaOH或0.1M HCl调节pH7-8
	样品与层析介质接触时间短	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	层析介质纯化过其他样品	不要用使用过的层析介质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层析介质上	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；