

内毒素去除层析介质

Endotoxin Removal Beads

货号	规格
BDTL0020-10	10ml
BDTL0020-100	100ml
BDTL0020-500	500ml

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: 平衡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 0.22 μ m 或 0.45 μ m 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。

2.3 内毒素去除

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，温度控制在 2-8℃。重复至少两次，确保柱子中无内毒素。
2. 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，温度控制在 2-8℃，重复至少两次。
3. 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。
4. 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；