

For Research Use Only. Not For Use In Diagnostic Procedures

Version 2.0

# 去内毒素专用亲和介质

## Endotoxin Removal Resin

Do not eat

Store at +4 to +8° C



Cat.No. MEX2805      Size : 1.0 mL / 5.0 mL / 10.0 mL

Technical literature is available at: [www.mesgenbio.com](http://www.mesgenbio.com)E-mail MesGen Technical Services if you have questions on use of this system: [tech@mesgenbio.com](mailto:tech@mesgenbio.com)

### 工作原理

内毒素（即脂多糖）是革兰氏阴性细菌细胞壁的主要组成部分，广泛存在我们的试剂耗材和样品之中，是生物医学试验和医药制品中的一大污染源，是蛋白、核酸、多糖等生物大分子纯化过程中最令人头疼的杂质之一。尤其是在利用革兰氏阴性菌生产的相关制品中，内毒素的含量可达到几百万单位每毫克样品，包括大肠杆菌重组表达蛋白。内毒素对哺乳动物的免疫系统具有极强的刺激性，极微量的内毒素即可引起动物机体发热甚至死亡，对动物细胞有很强的毒性，严重影响着各种体内外试验和药物的安全性。内毒素结构成分复杂，含有多糖、蛋白、脂质等成分，热稳定性和化学稳定性极强，常规方法很难除去。为了保证生物医学试验的成功率、可靠性，生物医药制品的安全性、有效性，彻底地去除样品和溶液中的内毒素一直是纯化工艺上的重点内容。

本产品Endotoxin Removal Resin,是将Polymyxin B 通过共价偶联的方式固定在琼脂糖凝胶上，利用Polymyxin B能够特异性亲和内毒素的特性，除去溶液和生物制品中的内毒素。Polymyxin B (PMB) 是从多粘芽孢杆菌中分离出来的一种强阳离子环抗生素，是目前发现的唯一一种能特异性亲和吸附内毒素(脂多糖)的抗生素。它对大部分的革兰氏阴性菌有效，主要是通过结合细菌膜上的脂多糖成分来发挥作用。由于它能够特异性高效亲和细菌细胞膜上的脂多糖，Endotoxin Removal Resin用于除去溶液和生物制品中的内毒素，已经逐渐成为了纯化过程中去除内毒素的主流方法。

本产品具有很好的化学、物理稳定性和良好的生物相容性，配基稳定、可以重复使用。去除内毒素亲和介质除了采用常规的柱层析方法去除内毒素外，还可采用静态吸附的方法进行内毒素去除。静态吸附的方法可直接将亲和介质加入到样品中，不必装柱，使用方便，去除效率高，容易放大。

### 产品特性指标

外观	凝胶微球悬浮液，保存于20%乙醇溶液
颜色	白色或米白色
粒径	90µm, 分布45-165µm
基质	4%交联琼脂糖
配基成分	Polymyxin B
配基密度	3.5 mg /ml wet gel
靶分子	内毒素（脂多糖）
吸附载量	5000-10000 EU/ml wet gel
pH稳定范围	3-10(长时间), 2-13(短时间)
可耐受试剂	30%异丙醇, 6 M盐酸胍, 20% DMSO, 20%乙醇, 20% 甘油; 1 M 尿素, 300 mM 咪唑; 0.05% Tween 20, 10 mM DTT 等
最高耐压	0.1 MPa, 1 bar
最高流速	1000 cm/h
推荐流速	<150 cm/h

### 产品应用

#### 1 柱层析去除内毒素

去除内毒素亲和介质广泛用于蛋白质等溶液中内毒素的去除。层析操作通常包括装柱、清洗、平衡、进料、淋洗、再生等步骤。

**装柱:** 根据料液处理量计算介质用量，并选择合适尺寸的柱子进行装填。

**清洗:** 用 5 CV (柱体积) 0.1 M NaOH (或 20 mM PB +1% (w/v) 脱氧胆酸钠, pH 7.0) 清洗层析介质，然后用注射用水洗 5 CV。

**平衡:** 用 5-10 CV 的平衡缓冲液 (20 mM PB + 0-0.5 M NaCl, pH 7-8, 具体条件与蛋白质性质有关，如有必要可进行条件优化) 平衡层析柱，至流出液电导和 pH 不变 (与平衡液一致)。

**进料:** 样品缓冲液应尽可能与平衡液一致。为了避免堵塞层析柱，样品应经离心或微滤 (0.45 µm) 处理。进料量根据介质的载量和料液中内毒素的含量计算，收集透过液。为了保证较高的内毒素去

除率，可适当降低流速，增加料液和介质的接触时间（10 min 以上），或将透过液循环重复上样。

**淋洗：**上样完毕后继续用平衡缓冲液淋洗至基线。收集淋洗液，并与透过液合并。

**再生：**用 5 CV 0.1 M NaOH（或 20 mM PB +1% (w/v)脱氧胆酸钠，pH 7.0）清洗，除去介质上的内毒素，然后用注射用水洗 5 CV，再用平衡缓冲液平衡后即可重复使用。

## 2 静态吸附去除内毒素

**介质预处理（清洗+平衡）：**将去除内毒素亲和介质放置在滤器（或 G3 砂芯）中，先用 5 倍介质体积的 0.1 M NaOH（或 20 mM PB +1% (w/v)脱氧胆酸钠，pH 7.0）浸泡 5 min，然后抽干，重复上述操作（浸泡、抽干）3 次；用 10 倍介质体积的注射用水洗浸泡、抽干，重复上述操作（浸泡、抽干）3 次；用 5 倍介质体积的平衡缓冲液（20 mM PB + 0-0.5 M NaCl, pH 7-8，具体条件与蛋白质性质有关，如有必要可进行条件优化）浸泡、抽干，重复上述操作（浸泡、抽干）3 次；

**吸附去除内毒素：**根据样品溶液中内毒素的含量加入一定量预处理的去内毒素亲和介质于三角瓶中，4°C、120-150 rpm 振荡 1-24 h。

**介质后处理（清洗、平衡）：**操作方法同“介质预处理”。

注：上述各步操作中用到的玻璃仪器、滤器等均要洗净后 210°C 下干烤 3 h 灭菌。

## 注意事项

1. 使用本公司产品前请仔细阅读本产品说明书及相关文献报道。
2. 本产品系 Endotoxin Removal Resin 系 PMB 亲和介质，吸附的物质是内毒素即脂多糖。若您的纯化产物不是内毒素，而是想去除样品中的内毒素，请务必一定要收集好流穿液，即您纯化好的样品。
3. 本产品所涉及到的参数均是在本公司模式蛋白的质控中获得。请您在使用本产品前充分了解自己样品的特性。我们不能保证您的样品和操作方案一定可达到本说明中所陈述的纯化效果。请务必坚持一个蛋白一个纯化工艺的原则。
4. 由于内毒素本身结构含有脂链、蛋白、多糖，是十分复杂的生物大分子，它能够在缓冲液中通过疏水作用等方式与您的目的分子结合在一起。因此在样品纯化过程中，去除内毒素的同时有可能照成您样品的损失，损失率与您目的分子和内毒素的结合强度相关，您目的分子和内毒素的结合强度与样品缓冲液的盐离子浓度、pH 等相关。
5. 为了获得更高的样品回收率和内毒素去除率，建议您将待处理的样品保存在 pH 7-8、盐离子浓度 50mM-500mM 缓冲液中，所含内毒素总量不大于介质最高载量的 1/10，并根据自己的样品特

性摸索最适合的纯化工艺。

## 储存条件

4-8°C，严禁冻结。有效期 24 个月

**产品仅供科学研究 禁止用于临床诊断**

***For Research Use Only. Not For Use In Diagnostic Procedures.***