

Protein Endotoxin Removal Kit

产品编号	产品名称	包装
C0268S	Protein Endotoxin Removal Kit	200次
C0268M	Protein Endotoxin Removal Kit	1000次

产品简介:

- 碧云天生产的Protein Endotoxin Removal Kit, 即蛋白内毒素去除试剂盒, 也称蛋白样品内毒素去除试剂盒或蛋白内毒素清除试剂盒, 是一种能在15分钟内高效去除蛋白溶液样品中超过99%的内毒素的试剂盒。初始内毒素浓度为100EU/ml的蛋白样品, 经本试剂盒处理后, 内毒素含量可以低于0.1EU/ml, 达到被认为是无内毒素污染的水平。因此本试剂盒在涉及细胞或动物等实验的样品去内毒素处理时有广泛应用[1,2]。
- 本试剂盒专门对于蛋白样品的内毒素去除进行了优化, 也可用于核酸或小分子溶液样品的内毒素去除, 但核酸样品的内毒素去除效果比蛋白的要略差一些。针对核酸的内毒素去除, 推荐使用碧云天生产的DNA/RNA Endotoxin Removal Kit (D0035)或DNA/RNA Endotoxin Quick Removal Kit (D0036)。
- 内毒素(Endotoxin), 又名脂多糖(Lipopolysaccharides), 是革兰氏阴性细菌细胞壁中的主要成分, 具有强烈的免疫活性和细胞毒性, 极易对涉及动物实验或细胞实验等产生严重干扰。重组蛋白的表达纯化过程中, 细菌裂解时会释放大量内毒素, 其与蛋白的结合能力比较强, 无法通过常规的蛋白纯化流程进行清除。因此, 内毒素是重组蛋白生产过程中的常见污染物。传统的内毒素清除方法, 如离子交换色谱法、超滤法、吸附法、疏水层析法等, 通常存在内毒素清除效率低、成本高、处理时间长、操作复杂、蛋白量损失大、影响蛋白生物学活性等缺点, 极大限制了无内毒素重组蛋白的生产[1,2]。
- 碧云天生产的Protein Endotoxin Removal Kit可高效去除内毒素, 能在15分钟内对内毒素浓度为100EU/ml-10,000,000EU/ml的蛋白样品完成内毒素清除处理, 清除率均大于99%。本试剂盒用于清除蛋白溶液中内毒素的实验流程和效果请参考图1。

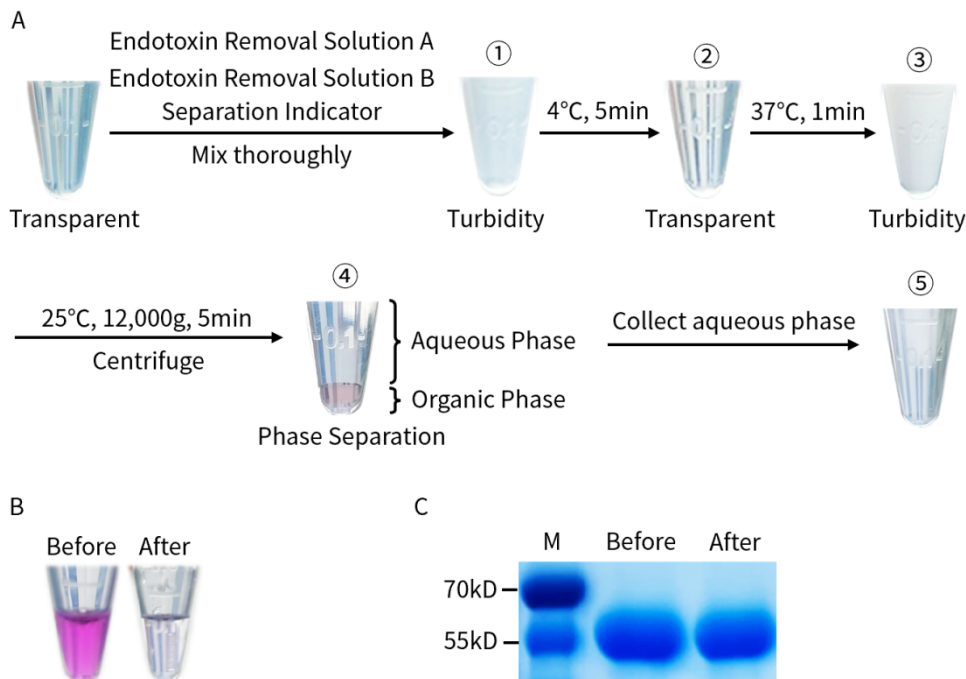


图1. 碧云天生产的Protein Endotoxin Removal Kit (C0268)用于清除BSA溶液中内毒素的实验流程图和效果图。图A为使用碧云天生产的Protein Endotoxin Removal Kit用于清除BSA溶液中内毒素的实验流程图。称取15mg的BSA于1.5ml无内毒素离心管(FTUB306)中, 使用500 μ l无内毒素的1X PBS (C0221B)进行溶解, 配制成终浓度为30mg/ml的BSA溶液, 此时溶液澄清透明, 且内毒素含量较高; 随后向BSA溶液中依次加入100 μ l的Endotoxin Removal Solution A、120 μ l Endotoxin Removal Solution B和1 μ l的Separation Indicator, 涡旋振荡混匀, 此时溶液变浑浊; 4°C孵育5分钟后溶液变澄清透明; 随后37°C孵育1分钟, 溶液呈现乳白色浑浊; 25°C或室温, 12,000-14,000g, 离心5分钟, 溶液呈现明显的无色水相与浅红色有机相分层; 小心将上层水相转移至新的无内毒素的1.5ml离心管中, 即完成对BSA溶液样品的内毒素清除处理。图B为内毒素清除处理前后的BSA溶液中内毒素含量显色反应效果图。使用碧云天生产的内毒素检测试剂盒(鲎试剂显色法) (C0276)对内毒素清除处理前后的BSA溶液样品进行内

毒素显色反应及含量检测，结果显示，内毒素清除处理前的BSA样品内毒素显色反应为紫色，指示其内毒素含量较高，经测定内毒素含量约为100EU/ml；经一次内毒素清除处理的BSA溶液样品内毒素显色反应为无色，指示其内毒素含量极低，经测定内毒素含量约为0.1EU/ml。此结果表明，本试剂盒可有效清除BSA样品中的内毒素。图C为内毒素清除处理前后的BSA溶液中蛋白含量电泳图。取10 μ l内毒素清除处理前后的BSA样品，加入2 μ l SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(6X) (P0015F)，进行12%聚丙烯酰胺凝胶电泳和考马斯亮蓝染色(P0017F)，拍照观察结果。实验结果显示，使用本试剂盒对BSA样品进行内毒素清除处理前后蛋白含量损失很少。实际使用效果会因实验条件、实验材料等的不同而存在差异，图中效果仅供参考。

➤ 碧云天生产的Protein Endotoxin Removal Kit用于不同内毒素含量的蛋白溶液进行内毒素清除处理的效率请参考图2。

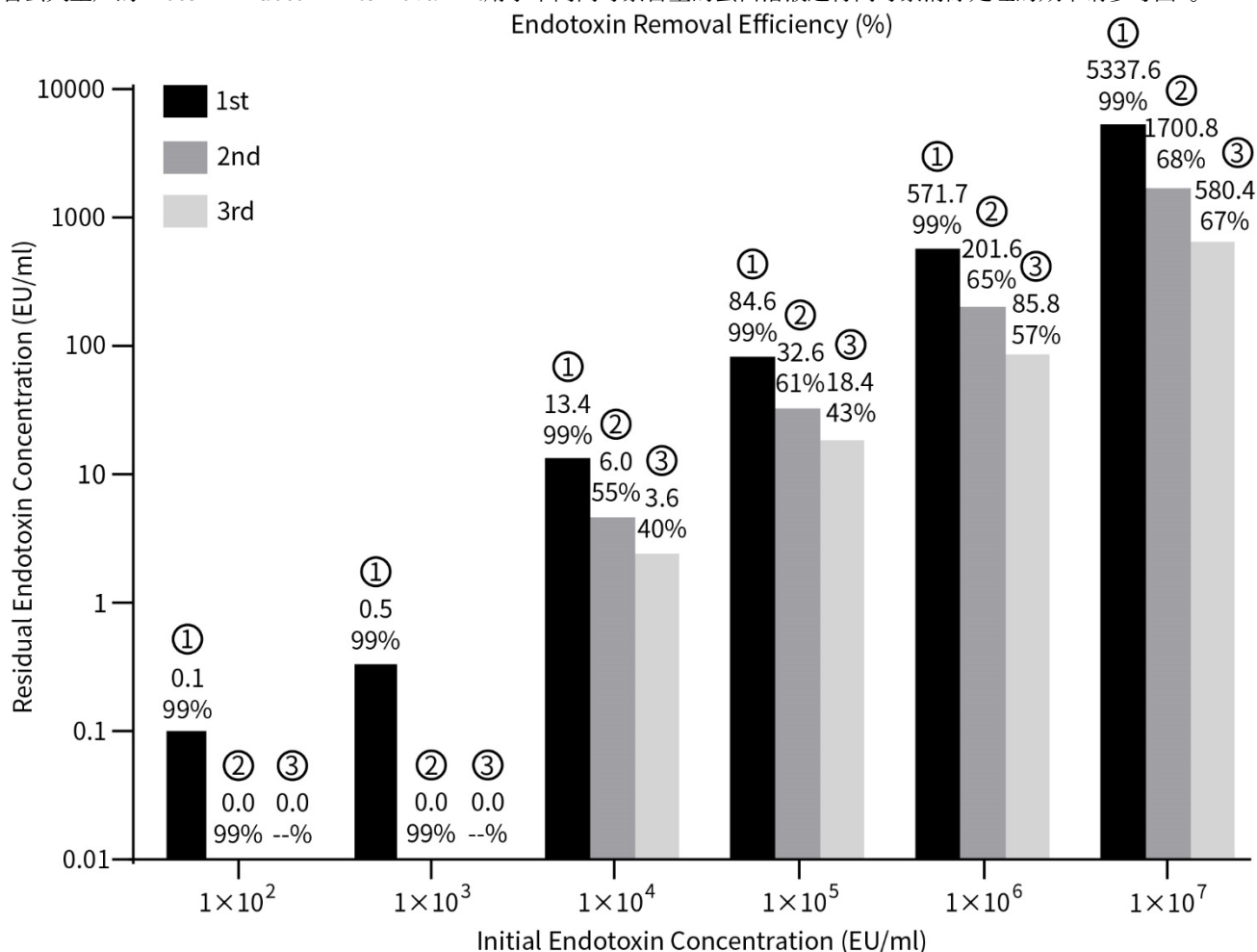


图2. 碧云天生产的Protein Endotoxin Removal Kit用于不同内毒素含量的BSA溶液进行内毒素清除处理的效率图。使用本试剂盒对500 μ l内毒素含量为 1×10^2 、 1×10^3 、 1×10^4 、 1×10^5 、 1×10^6 、 1×10^7 EU/ml的30mg/ml的BSA溶液样品，分别进行1-3次内毒素清除处理。结果显示，第1次内毒素清除处理的效率均 $\geq 99\%$ ，可有效将样品内毒素含量降低1000-2000倍；经1-3次内毒素清除处理后，可有效将样品内毒素含量降低1000-20000倍。以上实验结果均说明本试剂盒可实现高效清除蛋白样品中内毒素的目的。图中①、②、③分别表示不同初始内毒素浓度的样品分别进行的第一、第二和第三次内毒素清除处理；①、②、③下边的第一行数字为该次内毒素清除操作后样品中残留的内毒素含量，第二行数字为每次内毒素的清除百分率。实际使用效果会因实验条件、实验材料等的不同而存在差异，图中效果仅供参考。

- **本试剂盒内毒素清除效率高、操作简单快捷。**用户仅需将本试剂盒提供的Endotoxin Removal Solution按照一定比例加入到待处理的蛋白样品中，并通过特定温度孵育和离心操作，最快10-15分钟左右即可完成一轮内毒素清除处理；Endotoxin Removal Solution为即用型试剂，无需配制、稀释等步骤，可直接使用；在实测的内毒素含量为100EU-10,000,000EU范围内，内毒素清除率均 $>99\%$ ，可有效将样品内毒素含量降低1000-2000倍；经1-3轮内毒素清除处理后，可实现将样品内毒素含量降低1000-20000倍。
- **本试剂盒不影响蛋白质生物学活性，且样品损失量极低。**本试剂盒提供的Endotoxin Removal Solution可高效清除蛋白样品中的内毒素，并极大地保留了蛋白质的生物学活性；且蛋白样品损耗量非常小，通常每次处理仅损失约1-5%的蛋白量；处理完毕后，蛋白样品中Endotoxin Removal Solution残留量极低，对大多数生物学实验无明显影响。
- **本试剂盒可处理样品体积范围宽。**本试剂盒适用于几十微升到几十毫升的蛋白样品内毒素清除处理。
- **本试剂盒组分齐全。**本试剂盒提供内毒素清除试剂Endotoxin Removal Solution A和B，水相和有机相分层颜色指示剂Separation Indicator，用户可根据实验要求自行选择使用。
- 一个小包装的本试剂盒共可以清除约100ml蛋白样品中的内毒素（按照每次处理500 μ l样品，共可处理200个蛋白样品）；一个中包装的本试剂盒共可以清除约500ml蛋白样品中的内毒素（按照每次处理500 μ l样品，共可处理1000个蛋白样品）。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
C0268S-1	Endotoxin Removal Solution A	20ml
C0268S-2	Endotoxin Removal Solution B	24ml
C0268S-3	Separation Indicator	250 μ l
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
C0268M-1	Endotoxin Removal Solution A	100ml
C0268M-2	Endotoxin Removal Solution B	120ml
C0268M-3	Separation Indicator	1.2ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存, 两年有效。4°C保存, 3个月内有效。

注意事项:

- 本试剂盒不适用于处理含有高浓度甘油($\geq 10\%$)的蛋白样品。甘油会影响内毒素清除过程中水相与有机相分层的效果。
- 待处理的蛋白样品的浓度, 通常不宜超过30mg/ml, 具体可适用的最高蛋白浓度因蛋白性质不同而略有差异。浓度过高时, 可以尝试将蛋白样品适当稀释后再使用本试剂盒进行内毒素清除处理。
- 实验所用的器皿须为无内毒素的。如果是常规的玻璃器皿, 须经预处理以去除可能存在的外源性内毒素, 常用的方法是在250°C干烤至少60分钟, 也可以采用其他确保不干扰细菌内毒素检查的适宜方法。如果使用塑料器皿, 应选用注明无内毒素并且对实验无干扰的器械。推荐选购碧云天的BeyoGold™系列耗材, 通常可以认为是无内毒素污染的。
- 实验所用试剂及溶液均需为无内毒素, 以免造成外源内毒素的污染。
- 实验操作过程应防止微生物的污染。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

蛋白样品清除内毒素处理的过程均需有无或极低内毒素条件下进行, 推荐使用碧云天BeyoGold™系列无菌吸头(FTIP610-FTIP638), 锥形离心管(FTUB515/FTUB550), 1.5ml离心管(FTUB306)或PCR管(FTUB322)等实验耗材及碧云天生产的无内毒素PBS (C0221B)、超纯水(ST876)等进行蛋白样品清除内毒素处理。

1. 蛋白样品清除内毒素处理:

以下操作过程以处理500 μ l蛋白样品为例, 也可按照实际待处理样品体积等比例缩小或扩大各试剂的用量。冻存的试剂解冻后需充分溶解并混匀后使用。

- 取500 μ l待处理的蛋白样品于1.5ml的无内毒素离心管中。
- 加入100 μ l Endotoxin Removal Solution A, 涡旋振荡混匀, 此时溶液变浑浊。
- 加入120 μ l Endotoxin Removal Solution B, 混匀, 此时溶液仍浑浊。
- 可选步骤: 加入1 μ l Separation Indicator, 混匀。
注: Separation Indicator为水相和有机相分层的颜色指示剂。若向样品中加入此试剂, 在后续高速离心实现两相分离后, 下层内毒素所在的有机相会呈现浅红色, 而上层蛋白水相的颜色不受影响, 这样水相和有机相呈现明显的颜色差异, 以便准确分辨两相。
- 4°C或冰上孵育5分钟, 此时溶液变透明。
- 37°C孵育1分钟, 此时溶液呈现明显乳白色浑浊状态。
- 25°C或室温, 12,000-14,000g, 离心5分钟, 以形成两相分离, 经内毒素清除处理后的蛋白位于上层水相, 内毒素以有机相位于离心管底部。

注1: 此步骤不能进行低温或4°C离心, 否则会显著影响内毒素的清除效果。

注2: 此步骤离心后, 必须呈现明显的两相分层, 才能达到高效去除内毒素的目的。若无明显分层, 需考虑操作过程中的温度、时间、离心力的控制是否严谨, 如有偏差, 请严格按照使用说明重复步骤e-g并观察分层效果; 样品浓度、PH值、初始内毒素浓度也会在一定程度上影响分层效果, 建议也可重复步骤b-g, 重新进行一轮内毒素清除处理并观察分层效果。

注3: 如果待处理样品蛋白浓度过高($> 30\text{mg/ml}$), 离心后可能会出现许多油性液滴悬浮于溶液中, 无法形成下层有机相分离的效果, 建议使用无内毒素的蛋白储存液对样品适当稀释后再进行内毒素清除处理。

注4: 如果在步骤d向样品中加入了1 μ l的水相和有机相分层颜色指示剂Separation Indicator, 则下层有机相会呈现浅红色, 上层水相颜色没有变化。

- 尽快小心吸出上层水相至新的无内毒素1.5ml离心管中, 弃除有机相, 以免长时间放置后水相与有机相进一步交融, 影响内毒素清除效果。
- 推荐使用碧云天生产的内毒素检测试剂盒(鲎试剂显色法) (C0276)对进行内毒素清除处理后的样品进行内毒素含量的检测。

j. 可选步骤：步骤b-h的每重复操作一次，可以更有效地去除内毒素，若待处理样品中内毒素含量非常高，可重复步骤b-h 1-2次，以充分清除样品中残留的内毒素。

2. 样品中可能残留极少量Endotoxin Removal Solution的处理：

蛋白样品经内毒素清除处理后，可能会残留极少量的Endotoxin Removal Solution，通常不会影响绝大多数蛋白的生物活性，对后续实验操作也不会产生干扰；如需彻底去除样品中残留的Endotoxin Removal Solution，推荐通过凝胶过滤色谱(Gel filtration chromatography, GFC)或透析的方法充分清除经内毒素清除处理后的蛋白样品中残留的Endotoxin Removal Solution。

参考文献：

1. Aida Y, Pabst MJ. J Immunol Methods. 1990. 132(2):191-195.
2. Petsch D, Anspach FB. J Biotechnol. 2000. 76(2-3):97-119.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D0035S	DNA/RNA Endotoxin Removal Kit	100次
D0035M	DNA/RNA Endotoxin Removal Kit	500次
D0036S	DNA/RNA Endotoxin Quick Removal Kit	100次
D0036M	DNA/RNA Endotoxin Quick Removal Kit	500次
C0221B	PBS (pH7.4, Low Endotoxin, Cell Culture Grade)	500ml
C0268S	Protein Endotoxin Removal Kit	200次
C0268M	Protein Endotoxin Removal Kit	1000次
C0269S	Protein Endotoxin Quick Removal Kit	200次
C0269M	Protein Endotoxin Quick Removal Kit	1000次
C0276S	内毒素检测试剂盒(鲎试剂显色法)	160次
ST876-100ml	BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)	100ml
ST876-500ml	BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)	500ml
FTIP610-10bxs	BeyoGold™ 无菌盒装吸头(0.1-10μl, 无色)	96个/盒, 10盒/箱
FTIP610	BeyoGold™ 无菌盒装吸头(0.1-10μl, 无色)	96个/盒, 50盒/箱
FTIP616-10bxs	BeyoGold™ 无菌盒装低吸头(0.1-10μl, 无色)	96个/盒, 10盒/箱
FTIP616	BeyoGold™ 无菌盒装低吸头(0.1-10μl, 无色)	96个/盒, 50盒/箱
FTIP620-10bxs	BeyoGold™ 无菌盒装吸头(1-200μl, 黄色)	96个/盒, 10盒/箱
FTIP620	BeyoGold™ 无菌盒装吸头(1-200μl, 黄色)	96个/盒, 50盒/箱
FTIP628-10bxs	BeyoGold™ 无菌盒装吸头(100-1000μl, 蓝色加长, 10.1cm)	96个/盒, 10盒/箱
FTIP628	BeyoGold™ 无菌盒装吸头(100-1000μl, 蓝色加长, 10.1cm)	96个/盒, 50盒/箱
FTIP631-10bxs	BeyoGold™ 无菌滤芯盒装吸头(0.5-10μl, 无色加长, 4.5cm)	96个/盒, 10盒/箱
FTIP631-50bxs	BeyoGold™ 无菌滤芯盒装吸头(0.5-10μl, 无色加长, 4.5cm)	96个/盒, 50盒/箱
FTIP635-10bxs	BeyoGold™ 无菌滤芯盒装吸头(1-200μl, 黄色加长, 5.6cm)	96个/盒, 10盒/箱
FTIP635-50bxs	BeyoGold™ 无菌滤芯盒装吸头(1-200μl, 黄色加长, 5.6cm)	96个/盒, 50盒/箱
FTIP638-10bxs	BeyoGold™ 无菌滤芯盒装吸头(100-1000μl, 蓝色加长, 10.2cm)	96个/盒, 10盒/箱
FTIP638-50bxs	BeyoGold™ 无菌滤芯盒装吸头(100-1000μl, 蓝色加长, 10.2cm)	96个/盒, 50盒/箱
FTUB306	BeyoGold™ 1.5毫升离心管(无色, Nuclease free)	500个/盒, 10盒/箱
FTUB322	BeyoGold™ PCR管(0.2ml, 凸盖, 透明)	1000个/包
FTUB323	BeyoGold™ PCR管(0.2ml, 凸盖, 透明)	1000个/包, 10包/箱
FTUB328	BeyoGold™ PCR八联排管(0.2ml, 凸盖, 透明)	125排/盒
FTUB329	BeyoGold™ PCR八联排管(0.2ml, 凸盖, 透明)	125排/盒, 10盒/箱
FTUB515	BeyoGold™ 15毫升锥形离心管	25个/包, 20包/箱
FTUB550	BeyoGold™ 50毫升锥形离心管	25个/包, 20包/箱

Version 2024.01.18