



ENDOCLING®内毒素去除试剂盒

目录

1. 产品介绍.....	1
2. 产品特点.....	2
3. 使用方法.....	2
4. 注意事项.....	2
5. 参考信息.....	2
6. 常见问题与解答.....	3
7. 试剂盒组成.....	3
8. 订购信息.....	4
9. 相关产品.....	4

1. 产品介绍

1.1 内毒素介绍

内毒素脂多糖分子 (LPS) 是革兰氏阴性细菌细胞壁的主要成分, 由菌体特异性多糖、非特异性核心多糖和脂质 A 三部分构成。内毒素对哺乳动物有很显著的致热性, 少量的内毒素静脉注射就可以引起发烧, 大剂量时可以引起感染性休克、败血症、多器官功能性衰竭等。生物制药中抗体药作为一类靶向药物由于用量较大, 对内毒素限度的要求更高, 由于抗体药生产和纯化工艺都十分复杂, 有诸多环节可能将内毒素带入其中, 因此简单且快速的去除内毒素可以为产品的研发、生产提供有利保障。

1.2 试剂盒组分

ENDOCLING® 是一款高效内毒素去除试剂盒, 它以内毒素结合蛋白作为配体通过化学键固定在聚合物磁性微球上, 由于其带有磁性, 进行特异性的内毒素清除后很容易进行分离和去除, 经 ENDOCLING® 内毒素去除试剂盒纯化的样品最终内毒素低于 2EU/ml。

表1: ENDOCLING®内毒素去除磁珠的主要特性

项目	性能
基质	聚合物磁性微球
配体	内毒素结合蛋白
结合能力	1ml去除20000-25000EU的内毒素
磁珠浓度	10mg/ml
适用样品	抗原、多肽、抗体、细胞因子、质粒、AAV和慢病毒等
储存温度	2-8°C
储存缓冲液	0.01M PBS(pH=7.4)

1.3 保存与运输

运输: 冰袋运输, 不可冻结。

保存: 2-8 °C冷藏保存, 不可冻结。



2. 产品特点

- 1) ENDOCLING® 内毒素去除试剂盒更适用于内毒素含量不超过 4000EU/ml 的样品, 随着内毒素含量的增加去除效果会下降, 不建议使用本产品去除内毒素含量超过 10000EU/ml 的样品, 在含有 2500EU/ml、250EU/ml、25EU/ml、2.5EU/ml 脂多糖 (Escherichia coli O55:B5) 的样品中, 可以一次性将内毒素去除至 2EU/ml 以下;
- 2) ENDOCLING® 内毒素去除试剂盒操作步骤简单, 只需要将 ENDOCLING® 内毒素去除磁珠清洗后加入样品中摇晃孵育 60min, 通过磁力架富集磁珠就可以去除样品中的内毒素;
- 3) ENDOCLING® 内毒素去除试剂盒不会影响样品性状如质粒的超螺旋、抗体的纯度, 且能够在温和的条件下特异性吸附内毒素, 产品回收率≥95%;
- 4) 产品使用方便, ENDOCLING® 内毒素去除试剂盒中提供无热源清洗缓冲液、移液枪头、磁力架(可选)等。

3. 使用方法

3.1 计算磁珠使用量

磁珠使用量需要考虑两个因素: 首先需要根据磁珠载量判断使用量, 1ml 内毒素去除磁珠可去除 20000-25000EU 内毒素, 根据样品中内毒素的含量计算出使用磁珠的体积, 比如 1ml 的样本中含有 2000EU 的内毒素, 而 1ml 磁珠可去除 20000EU 内毒素, 计算得出加入 100 μ l 磁珠即可达到去除内毒素的目的; 其次需要根据样本体积来决定最终的磁珠使用量, 为了保证磁珠和样品中的内毒素充分接触, **磁珠的使用体积不能低于样本体积的 10%**, 比如 20ml 样本中含有 20000EU 内毒素, 根据载量判定 1ml 磁珠已经够用, 但由于样本体积为 20ml, 需要加入 2ml 的磁珠进行内毒素去除。

3.2 清洗磁珠

磁珠使用前上下颠倒混匀, 用无热源枪头吸取对应体积的内毒素去除磁珠于无热源的离心管中(请在无菌环境下如超净台或者生物安全柜中取用)并放置在磁力架上。待磁珠全部吸附至管壁后去除保护液, 加入 3 倍体积的 ENDOCLING® Wash Buffer 重悬磁珠, 轻轻颠倒混匀 3-5 次, 再将悬液置于磁力架上, 同样待磁珠完全吸附在离心管壁后吸弃上清, 重复 3-5 次。

3.3 内毒素去除

加入少量体积的样本重悬内毒素去除磁珠, 再将重悬后的磁珠全部加入样品中, 4°C 或者常温摇晃孵育 60min, 最后将样品和内毒素去除磁珠的混合物放置于磁力架上, 待磁珠完全吸附在离心管壁后吸出样品进行后续检测。

4. 注意事项

- 1) 本产品保存在 2-8°C 冰箱中, 不要冻结保存;
- 2) 本产品出现轻微团聚属正常现象, 可正常使用;
- 3) 样品保护液中不能含有去污剂, 去污剂不但会影响内毒素的检测也会影响和磁珠的结合;
- 4) 样品保护液 pH 需调整至 4.5-8.5, NaCl 浓度不超过 0.3M;
- 5) 吸取磁珠时尽量在无菌环境中取用, 未使用的磁珠保存时盖紧管盖, 可用封口膜封口保存。

5. 参考信息

质粒内毒素的去除, 需求: 10mg 质粒, 内毒素 < 2EU/mg, 超螺旋 ≥ 90%。

- 1) 采用柱提法进行质粒抽提, 最终抽提 12mg 质粒, 浓度 1.1mg/ml, 体积 10.9ml, 采用鲎试剂测得内毒素 100-200EU/mg;
- 2) 加入 1ml 已经清洗过的磁珠于质粒中常温摇晃孵育 60min;
- 3) 将含有磁珠的样品管转移到磁力架上, 分离磁珠和液体, 吸出上清进行内毒素检测;
- 4) 结果: 内毒素含量 1-2EU/mg, 浓度 1.09mg/ml, 体积 10.8ml, 总量 11.3mg, 回收率为 98%, 电泳图见图 1。

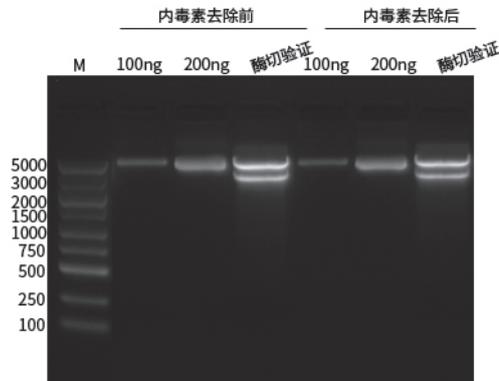


图1.质粒内毒素去除前后DNA凝胶电泳对比图

图 1 表明使用 ENDOCLING® 内毒素去除试剂盒去除内毒素质粒的性状没有发生改变,超螺旋≥90%。

6. 常见问题与解答

6.1 为什么使用 ENDOCLING® 内毒素去除试剂盒没有将样品中内毒素去除或者去除效果不明显?

- 1) 样品中内毒素的含量过高, 通常商业化的质粒小抽试剂盒抽提质粒的内毒素很高, 需要加入较多的内毒素去除磁珠才能进行内毒素的去除;
- 2) 内毒素的测定一般是使用鲎试剂, 而鲎试剂除了能够检测革兰氏阴性细菌分泌的细菌内毒素还有真菌分泌的β-葡聚糖,β-葡聚糖能够激活 G 因子导致鲎试剂凝固, 而 ENDOCLING® 内毒素去除试剂盒不能有效去除样品中的β-葡聚糖, 只能特异性吸附革兰氏阴性细菌分泌的细菌内毒素;
- 3) 样品体积过大,磁珠投入量过少同样会导致内毒素去除不彻底,这种情况我们建议可以二次去除,即再投入一定量的磁珠进行二次去除;
- 4) 内毒素带有强烈的负电荷, 这种性质导致内毒素和某些样本的结合非常牢固, 如果用 ENDOCLING® 内毒素去除试剂盒去除内毒素后效果不明显或者样品损失大极有可能是这种原因, 此时可以适当的调整样品缓冲液的 pH 和电导(盐浓度), 会对内毒素的去除有一定的帮助。

6.2 内毒素含量非常高,是否有内毒素去除整体解决方案?

通常原核表达的样本内毒素含量非常高, 目前常用的方法是使用离子柱或者 PMB 亲和填料将大量的内毒素去除, 一般可以将内毒素去除至 2000-5000EU/ml 左右, 但这些方法的弊端是很难再将样品中的内毒素去除的更低; 而 ENDOCLING® 内毒素去除试剂盒最大的特点是将 2000EU/ml 以内的内毒素去除至 2EU/ml 以下, 所以我们推荐客户可以先尝试离子柱或者 PMB 亲和填料去除大量的内毒素, 再用 ENDOCLING® 内毒素去除试剂盒进行内毒素残留的去除。

7. 试剂盒组成

试剂盒成分	规格 /0.1ml	规格 /1ml	规格 /10ml
ENDOCLING® 内毒素去除磁珠	0.1ml	1ml	10ml
ENDOCLING® Wash Buffer	1.5ml	15ml	150ml
200μl 无热源枪头	5 个	10 个	96 个 / 盒
1000μl 无热源枪头	5 个	10 个	96 个 / 盒
说明书		1 份	



8. 订购信息

名称	货号	规格
	BK0059-t	0.1ml
ENDOCLING® 内毒素去除试剂盒	BK0059-01	1ml
	BK0059-02	10ml

9. 相关产品

名称	货号	规格
	MP5701-t	0.1ml
ENDOCLING®内毒素去除磁珠	MP5701-01	1ml
	MP5701-02	10ml
	BR0071-01	1.5ml
ENDOCLING®Wash Buffer	BR0071-02	15ml
	BR0071-03	150ml
	BR0072-01	5 个
200µl 无热源枪头	BR0072-02	10 个
	BR0072-03	96 个 / 盒
	BR0073-01	5 个
1000µl 无热源枪头	BR0073-02	10 个
	BR0073-03	96 个 / 盒