



Endotoxin Removal Beads 重力柱

目录

1. 产品介绍.....	1
2. 内毒素去除流程.....	1
3. 问题及解决方案.....	2
4. 订购信息及相关产品.....	2

1. 产品介绍

Endotoxin Removal Beads 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，进行特异性内毒素去除，样品回收率高。具体性能见表 1。

Endotoxin Removal Beads 重力柱以 Endotoxin Removal Beads 为装填材料，提供 1 ml 和 5 ml 两种规格产品，方便客户使用，操作简单，纯化效率高。

表 1. Endotoxin Removal Beads 产品性能

项目	性能
基质	4%琼脂糖微球
配体	修饰过的多粘菌素 B
载量	>2,000,000 EU/ml 基质
微球粒径	45-165 μm
最大压力	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, 1 M 尿素, 300 mM 咪唑, 0.05% Tween-20, 10 mM DTT 等
储存缓冲液	含 20%乙醇的 1×PBS
储存温度	2-8℃

2. 内毒素去除流程

2.1 缓冲液的准备

所有用水和缓冲液及耗材均需无热源产品，防止在使用过程中引入内毒素。自己准备的缓冲液在使用前最好用无热原 0.22 μm 或者 0.45 μm 滤膜过滤。

平衡液：20 mM NaH₂PO₄, 150 mM NaCl, pH7.4

再生液：平衡液中添加 1%的 Triton X-114

注：平衡液和再生液可根据样品性质进行改变，建议 pH7-8, NaCl 约 0.15 M-0.5 M。

再生液建议置于 2-8℃保存和使用，温度升高可能会变浑浊，重新放入 2-8℃即可。

2.2 样品准备

样品在上样前建议离心或用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤，减少杂质，提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

样品 pH 最好控制在 7-8 之间，因为内毒素结合至柱子上的最佳 pH 为 6-9。样品最好控制适当的离子强度，减少非特异性吸附，如 0.15-0.5 M 的 NaCl。

2.3 内毒素去除

Endotoxin Removal Beads 重力柱使用以 1 ml 的规格为例，各溶液用量均按照柱体积计算（例如：2 个柱体积，1 ml 规格对应为 2 ml 溶液，5 ml 规格对应为 10 ml 溶液）。

1) 将 Endotoxin Removal Beads 重力柱固定在铁架台上，先后打开上盖、下盖，依靠重力流干保护液。用 3 个柱体积的再生液清洗，控制流速在 0.25 ml/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 3 倍柱体积的平衡液平衡柱管内壁及介质，流干，流速约 0.5 ml/min，温度控制在 2-8℃，重复至少两次。直至流出液 OD280 检测无吸收值。



- 3) 将样品连续加入平衡好的 Endotoxin Removal Beads 重力柱中，调节流速为 0.25ml/min，或每分钟小于 10 滴，液体流出约 1 个柱体积后，开始分段收集，每一个柱体积收集一管，待所有样品均加入柱管，且全部进入介质后，加入 1 个柱体积平衡液继续收集最后一个柱体积样品。收集完成后，检测收集的样品中内毒素含量及样品回收率，将合格的样品合并。
- 4) 如果样品中内毒素含量仍高于目标值，继续重复步骤 1-3。
- 5) 纯化完成后按照步骤 1-2 对介质进行再生和平衡，然后将重力柱保存在等体积的无内毒素 20%乙醇中，置于 2-8℃保存，防止填料被细菌污染。

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0.1 M NaOH或0.1 M HCl调节样品pH7-8。
	样品与介质接触时间短	降低流速，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	介质纯化过其他样品	不要用使用过的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介质上	增加样品和平衡液中的NaCl浓度。可以在样品流穿后，调整平衡液的氯化钠浓度至0.5-1 M，对结合的目的蛋白进行洗脱。
	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。

4. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
Endotoxin Removal Beads 重力柱	SA031GC01	1 ml
	SA031GC05	5 ml