

PurKine™ 内毒素清除试剂盒（多粘菌素 B）

Cat #: KTP2140

Size: 1 mL/1 mL×5

	内毒素清除试剂盒（多粘菌素 B），4%琼脂糖偶联		
REF	货号：KTP2140	LOT	批号：见产品标签
	载量：2,000,000 EU/mL		微球粒径：45-165 μm
	最大压力：0.1 MPa, 1 bar		
	保质期：4°C保存 12 个月		注意：所有用水及耗材均需无内毒素

原理

内毒素是位于革兰氏阴性菌外膜的脂多糖（LPS）复合物。一个大肠杆菌含有 200 万个分子的 LPS(2-20 fg/cell)。实验过程中，容易有大量的内毒素污染耗材、缓冲液、样品等下游产品。在体外，内毒素在细胞培养和基于细胞的研究中会引起各种各样的问题。在体内，内毒素可引起宿主机体的各种副作用，包括炎症反应、器官衰竭或感染性休克。多粘菌素 B 因其捕获内毒素和防止毒性作用而出名，PurKine™ 内毒素去除试剂盒通过固定多粘菌素 B 的琼脂糖可以快速有效地将蛋白质或药物溶液中的内毒素清除至<0.1 EU/mL。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	1 mL	1 mL×5	
PurKine™ Endotoxin Removal Packed Column	1 mL	1 mL×5	4°C保存
Regeneration Buffer (10×)	15 mL	75 mL	4°C保存
Equilibration Buffer (10×)	30 mL	100 mL+50 mL	4°C保存

自备耗材

- 0.22 μm 或 0.45 μm 过滤器
- 可调节式移液枪及枪头
- 无热源或无内毒素的去离子水
- 各种制备试剂和缓冲溶液的玻璃器皿

样本制备

样品需经过离心或 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤，以防止堵塞重力柱。样本 pH 最好控制在 pH 7-8，因为内毒素结合至柱子的最佳 pH 为 6-9。样本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。

试剂准备

所有用水，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。

Equilibration Buffer: 临用前用无热源水将 Equilibration Buffer (10×) 稀释 10 倍得到 Equilibration Buffer，4℃保存。

Regeneration Buffer: 临用前用无热源水将 Regeneration Buffer (10×) 稀释 10 倍得到 Regeneration Buffer，4℃保存。

注意: Equilibration Buffer 可依据样本性质进行改变，建议 pH 7-8，NaCl 约 150-500 mM。

实验步骤

注意: 第一次使用前和每次使用后，请将填料再生处理。实验前，将所有溶液和树脂平衡至室温。

- 1. 固定重力柱。去掉顶部和底部塞子，此过程中注意避免填料中产生气泡让储存缓冲液流走。将流速控制器开到最大，靠重力作用将保护液流干。
- 2. 向柱中加入 5 倍柱体积的预冷的 Regeneration Buffer（不要加热，否则会变浑浊），控制流速在 0.25 mL/min，或每分钟小于 10 滴，Regeneration Buffer 流干后再重复两次，确保整个系统中无内毒素。。
- 3. 再生液流干后，加入 5 倍柱体积的 Equilibration Buffer，沿柱管内壁均匀加入，保证清洗柱管的内壁，调节流速为 0.5 mL/min，流干 Equilibration Buffer，再重复两次。
- 4. 平衡结束后，关闭流速控制器。将样品加入重力柱中（推荐样品体积大于 4 mL），控制流速在 0.25 mL/min，或每分钟小于 10 滴，最初 1.5 mL 空体积不接收，使用无热源容器收集流出液。为降低样品的损失，建议样品流完后，加入 2 倍柱体积的 Equilibration Buffer，再重复一次，与之前的流出液分别检测内毒素含量及样品回收率。
- 5. 如果样品中的内毒素含量仍高于目标值，继续重复上述操作。

重力柱的保存

使用 5 倍柱体积的 Equilibration Buffer 清洗重力柱。清洗结束后，加入 1 倍柱体积的 Regeneration Buffer，2-8℃保存，避免冷冻。

常见问题

问题	原因	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	调节样品 pH 在 7-8 的范围内
	样品与填料接触时间短	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	所有实验用品均需无热源产品
	内毒素与目的蛋白结合较强	增加样品在重力柱上操作次数
样品被污染	填料纯化过其他样品	不要用使用过的填料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填料上	增加样品中 NaCl 的浓度至 500 mM
	目的蛋白与内毒素结合，一起被去除	

相关产品

Catalog No.	Product Name
BMR2140	PurKine™ 内毒素清除树脂
KTP2001	PurKine™ 组氨酸标签蛋白纯化试剂盒（Ni-NTA 树脂）
KTP2010	PurKine™ 谷胱甘肽 S 转移酶标签蛋白纯化试剂盒（谷胱甘肽）



KTP2020	PurKine™ 麦芽糖结合蛋白标签蛋白纯化试剂盒（糊精）
KTP2030	PurKine™ 生物素标签蛋白纯化试剂盒（链霉亲和素）
KTP2070	PurKine™ 抗体纯化试剂盒（蛋白 A/G）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。