



中科森辉微球技术(苏州)有限公司

苏州工业园区金鸡湖大道 99 号纳米城 NW-02 幢 #713

电话: 0512-8686 7755 邮编: 215123

www.senhuimicrosphere.com

去内毒素亲和介质产品说明书

中科森辉微球技术（苏州）有限公司





去内毒素亲和介质产品说明书

1. 产品简介

热原(Pyrogen)泛指能引起哺乳类动物发烧反应的物质,种类很多,其中最主要的是内毒素(Endotoxin)。内毒素是一种脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS),是革兰氏阴性菌的细胞壁外壁层上特有的结构,细菌死亡或分解后被释放出来。生物制品中内毒素的去除一直是一项十分重要的工作。亲和层析具有高度的选择性,是去除内毒素的一种最为理想的方法。

去除内毒素亲和介质以自制的琼脂糖凝胶为基质,以内毒素的底物类似物为配基,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。

2. 产品特性

去内毒素 PMB QZT 4FF 亲和介质的理化性质和产品特性如表 1 所示。

表 1 PMB QZT 4FF 亲和介质的理化性质和产品特性

参数	指标
基质	4% 交联琼脂糖凝胶
配基	内毒素底物类似物
形状	球形
介质平均粒径	90 μm , 分布 45-165 μm
配基密度	3.5 mg /ml wet gel
吸附载量	5000-10000 EU/ml wet gel
最高流速*	1000 cm/h
推荐流速*	<150 cm/h
最高耐压*	0.10 MPa (1bar)
pH 稳定性	3-10 (长时间); 2-13 (短时间)
化学稳定性	30% 异丙醇、6M 盐酸胍、8M 脲
物理稳定性	溶液的 pH 或离子强度影响介质的体积变化率 <2%
保存	4-8 $^{\circ}\text{C}$ (20% 乙醇)

*: 层析柱 20 cm \times 1.0 cm I.D, 填料高度 10cm, 常温, 溶液为 H₂O 的条件下测定。

3. 应用

3.1 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5CV, 再用平衡缓冲液平衡后即可重复使用。

3.2 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。

具体的应用实例如下(静态吸附实验):

蛋白溶液: 血红蛋白、人血清白蛋白、溶菌酶三种蛋白质溶液, 浓度均约为 0.5 mg/ml。

内毒素浓度: 417.7 EU/ml。

吸附条件: 1.4 ml 介质, 20 ml 蛋白溶液, 4 °C、120 rpm 振荡 1 h。

表 2 蛋白溶液中内毒素去除结果

蛋白	缓冲体系	蛋白回收率 (%)	内毒素去除率 (%)
血红蛋白	20 mM PB+0.5 M NaCl, pH 8.0	87.2	99.8
人血清白蛋白	20 mM PB+0.15 M NaCl, pH 7.0	73.4	97.9
溶菌酶	20 mM PB+0.15 M NaCl, pH 7.0	97.3	99.7

* 更多信息可参考文献“亲和介质及溶液条件对蛋白质溶液中内毒素去除的影响”, 生物工程学报, 2010, 26(11): 1584-1595

4. 特色服务

- (1) 提供介质筛选及工艺开发的咨询。
- (2) 接受客户委托定制各种分离介质、开发分离工艺。
- (3) 按客户要求提供各种规格的预装柱。
- (4) 为客户提供专业的售前和售后服务。



中科森辉微球技术(苏州)有限公司

苏州工业园区金鸡湖大道 99 号纳米城 NW-02 幢 #713

电话: 0512-8686 7755 邮编: 215123

www.senhuimicrosphere.com

有关当地办事处的联系信息，请联系销售公司

销售/服务公司：[中科森辉微球技术\(苏州\)有限公司](http://www.senhuimicrosphere.com)

售后服务电话：**0512-86867755 / 010-82544957** 传真：**0512-86867758 / 010-82544957**

Email: techsupport@senhuimicrosphere.com

网址: www.senhuims.com

地址: 苏州工业园区金鸡湖大道 99 号纳米城 NW-02 幢 713 室