



内毒素清除试剂（红色）

Endotoxin Removal Reagent

产品信息：

产品组成	SH7005-01
内毒素清除试剂（红色）	10ml

储存条件：4℃一年有效，-20℃长期储存。

产品简介：

内毒素来源于革兰氏阴性细菌细胞壁中的脂多糖（Lipopolysaccharide, LPS），由菌体裂解后释出来的物质，又称之为“热原”。其化学成分有磷脂多糖-蛋白质复合物，毒性成分主要为类脂质 A，可引起生物体发热、内毒素休克等。

内毒素清除试剂（红色）（Endotoxin Removal Reagent, ERR）主要用于清除 DNA、蛋白质或其他液体样品中的内毒素。本试剂为红色溶液，便于分相观察。该试剂依赖于试剂的胶束特性来去除溶液中的内毒素。当温度高于 20℃ 时溶液离心后胶束聚集成一个单独的相，脂多糖被固定。同时与水相分类，DNA 保留在水相中。经过 3 次以上重复抽提后可将活性为 5000~50000EU/ml 的内毒素水平降低到 5~0.5 EU/ml 以下，即降低 1000~10000 倍。

操作步骤：

注意：为节省时间，使用前将内毒素清除剂（红色）在冰水浴上预冷。

1A. 已纯化质粒 DNA 中内毒素的清除

例：吸取 500μl DNA 溶液于 1.5ml 的离心管中，加入 50μl（1/10 体积）的 3M NaAc pH5.2 或者 25μl（1/20 体积）的 5M NaCl 溶液。如果 DNA 溶液中盐含量比较高，可以忽略此步骤（该步中加入盐是为了最大程度地提高最后一步乙醇沉淀 DNA 的效率，同时去除 NaAc 或者 NaCl 溶液中可能存在的内毒素）。

- 加入 100μl（1/5 体积）预冷的内毒素清除剂 ERR，振荡混匀，放置于冰水浴中 10 分钟，溶液应为浅红色且清澈。
- 将离心管置于 50℃ 水浴或金属浴 10 至 30 分钟，溶液变浑浊。
- 12,000rpm 室温离心 5min，溶液分为两相，上层基本是无色透明的（略有非常浅的红色），下层是深红色的。
- 小心地将含有 DNA 的上相液体转移到另一个干净的 1.5ml 的离心管中，弃油状相，可重复抽提三次，即重复步骤 2-5 三次。
- 加入 2.5 体积无水乙醇，-20℃ 沉淀 30min 或过夜；12,000rpm 离心 10min，弃上清；加入 70% 乙醇洗涤沉淀，1,200rpm 离心 5min 弃上清；空气干燥沉淀，加入 100~200μl 无内毒素的高纯水或 TE 溶解沉淀。
- 用内毒素检测试剂测定样品中内毒素活性，可与初始样品比较。

1B. 质粒 DNA 提取过程中内毒素的清除

以碱裂解法提取质粒为例，在加完中和液（P3 溶液）并离心去除碎片之后，准确吸取含质粒 DNA 的上清于一个新 1.5ml 的离心管中。

- 加入 1/5 体积预冷的内毒素清除剂 ERR，盖上管盖，振荡混匀，放置于冰水浴中 10 分钟，溶液应为浅红色且清澈。
- 将离心管置于 50℃ 水浴或金属浴 10 至 30 分钟，溶液变浑浊。
- 12,000rpm 室温离心 5min，溶液分为两相，上层基本是无色透明的（略有非常浅的红色），下层是深红色的。
- 小心地将含有 DNA 的上相液体转移到吸附柱中，弃油状相。

注：如果要重复抽提，将含有 DNA 的上相液体转移到另一个干净的 1.5ml 的离心管中，弃油状相，可重复抽提三次，即重复步骤 2-5 三次，最后一次将含有 DNA 的上相液体转移到吸附柱中。

- 后续步骤按照质粒提取说明书操作即可。
- 用内毒素检测试剂测定样品中内毒素活性。

注意：

- 清除程序可导致少量的 DNA 丢失，质粒 DNA 浓度最好大于 1μg/μl。
- 最后溶解的溶液、TE 或水应该是无内毒素的
- 所有耗材均应不含内毒素，玻璃器皿可高温烘烤，非挥发性水溶液可高压 120℃ 高温处理。

20240111