

内毒素清除剂说明书

货号: AC11436

规格: 20ml/ 100ml

保存: 4℃半年有效, -20℃长期储存。

产品简介:

本公司生产的内毒素清除剂主要用于清除 DNA、蛋白质或其他液体样品中的内毒素。在特定的 pH 值、盐浓度和温度条件下, 内毒素清除剂能与 DNA、重组蛋白以及液体样品中的内毒素特异性结合, 经过室温高速离心后, DNA 或蛋白质等保留在水相, 而内毒素则被浓缩到极小体积的下层相而被清除。经过 3 次以上重复抽提后可将活性为 5000~50000 EU/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:

提取前请将内毒素清除剂放在冰上冰浴 5min, 期间翻转瓶子数次使试剂均匀预冷。

1、a)已纯化的质粒 DNA 内毒素清除: 吸取 500 μ l DNA 溶液于微型离心管, 加入 1/10 体积 3M NaAc pH5.2 或 1/20 体积 5M NaCl 溶液, 冰浴 5min。

b)在提取质粒 DNA 过程中清除内毒素: 以碱裂解法提取质粒为例, 在加入裂解液和中和液并离心去除碎片之后, 吸取含质粒 DNA 的上清于新离心管中, 冰浴 5min。

2、加入 1/5 体积预冷的内毒素清除剂, 振荡混匀, 溶液变浑浊。

3、冰浴 5min, 溶液应变清亮。

4、37℃水浴 5min, 不时振荡, 溶液又变浑浊。

5、12000rpm 室温离心 5min, 溶液应分为两相, 上层水相含 DNA, 下层油状相含内毒素。

6、将含 DNA 的上层水相转移到新管, 弃油状相, 重复抽提三次, 即重复步骤 2-6 三次。

7、加入 2.5 体积无水乙醇, -20℃沉淀 30min 或过夜; 12000rpm 离心 10min, 弃上清; 加入 70%乙醇洗涤沉淀, 12000rpm 离心 5min 弃上清; 空气干燥沉淀, 加入 100~200 μ l 无内毒素的高纯水或 TE 溶解沉淀。

8、用内毒素检测试剂测定样品中内毒素活性, 并与初始样品比较。

注意事项:

1、DNA 浓度>1mg/ml 时清除内毒素效率降低。由于 DNA 和蛋白质本身的性质, 清除程序可导致 10-20% 的 DNA 丢失, 所幸的是与清除内毒素的艰难相比 DNA 更容易提取制备。

2、所有溶液应用无内毒素的高纯水配制, 所有器械材料均应不含内毒素, 玻璃器皿可高温烘烤, 非挥发性水溶液可高压 120℃高温处理。