

脂多糖（LPS）提取试剂盒

产品货号：26127

产品规格：50T/100T

产品简介：

脂多糖(LPS)提取试剂盒采用特制的分离介质和优化的提取步骤,简单快速的从细菌培养物中提取细菌脂多糖(LPS)。提取液简单处理细菌细胞壁(外膜)后,使细胞壁(外膜)破裂,释放出LPS至介质中。

试剂盒具有高回收率,提取产量高,省时,蛋白质、核酸和多糖污染低,确保提取的LPS具有较高的纯度和生物活性。本试剂盒对S型、R型脂多糖均可有效提取。

提取的LPS经处理后可以满足各种下游实验的需求,例如细胞处理、动物处理、活性检测、ELISA、细胞因子测定等下游应用。

本提取试剂盒适用于多种革兰氏阴性细菌的LPS提取,包括大肠杆菌、沙门氏菌、志贺氏菌、克雷伯氏菌、铜绿假单胞菌、流感嗜血杆菌、幽门螺杆菌、弯曲杆菌、百日咳鲍特菌等。无论是从培养的细菌细胞中提取LPS,还是从环境样本中提取LPS,都能提供可靠的提取效果。

脂多糖(LPS)是革兰氏阴性菌细胞壁外膜的主要成分,结构很复杂、热稳定性极高(在250°C下干热灭菌2h才完全灭活)。受LPS发现的历史原因,如今LPS的概念几乎等同于内毒素(endotoxin)。LPS由多糖链和脂质A组成,不同细菌间的多糖链是高度变化的,决定细菌的血清型;而脂质A主要影响LPS的毒性作用。LPS可以引起免疫刺激的级联反应和机体的毒性病理生理活动,包括释放内毒素引起感染性休克从而导致末梢血管虚脱。临床常通过检测LPS的存在来诊断脑膜炎。

由于LPS与机体免疫机能的密切关系,生命科学研究常常提取LPS进行相关的研究,如阐明LPS的结构,代谢,免疫学,生理学,毒性,生物合成途径;诱导生长促进因子如白介素的合成与分泌;诱导疾病研究的动物模型如炎症反应,急性肺损伤。

应用场景：

- 微生物学实验：
研究革兰氏阴性细菌的感染机制。
分析不同细菌LPS的结构和功能差异。
- 免疫学实验：
研究LPS与宿主免疫系统的相互作用。
分析LPS诱导的免疫反应,如细胞因子释放。
- 生物医学研究实验：
探索LPS在脓毒症和炎症性肠病等疾病发展中的作用。
研究LPS与细胞信号传导和炎症反应的关系。
- 药物开发实验：
筛选和评估抗LPS或抗炎药物。
研究药物对LPS诱导的细胞反应的影响。
- 环境科学实验：
检测水体或土壤样本中的LPS,评估环境污染状况。
研究环境中革兰氏阴性细菌的分布和生态影响。
- 食品安全实验(研发过程用)：
研发检测食品样本中的LPS的方法,评估食品的安全性和卫生状况。
研究食品加工过程中LPS的去除方法。
- 临床诊断实验室(研发过程用)：
研究开发基于LPS检测的诊断方法,如脓毒症的早期诊断试剂研发。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzybio@126.com

产品特点:

1. 适用性广, 能从所有革兰氏阴性菌中提取LPS。
2. 操作简单方便。
3. 提取LPS下游应用广, 包括直接用于免疫刺激。

自备材料:

1. 仪器准备: 离心机、振荡器、涡旋混匀器、超声破碎仪、移液器、冰箱、冰盒。
2. 试剂准备: 生理盐水。
3. 耗材准备: 离心管、吸头、一次性手套。

产品组成:

试剂名称	50T	100T	保存条件
组份A: 试剂A	50ml	100ml	2-8°C
组份B: 提取液B	25ml	50ml	2-8°C
组份C: 提取液C	25ml	50ml	2-8°C

注: 试剂拆封后请尽快使用完。

使用方法:

一、使用注意事项:

1. 离心机转速有相对离心力(RCF, $\times g$)和每分钟转速(RPM)两种表示方式, 有些离心机设置有RPM和 $\times g$ 显示切换, 但部分离心机没有自动切换功能。需要用下面的公式进行换算:
 $g=r \times 1.118 \times 10^{-5} \times rpm^2$ (r为有效离心半径, 即从离心机轴心到离心收集管底部中心位置的长度, 单位为厘米) 例如: 转速为3000rpm, 有效离心半径为10cm, 则相对离心力(RCF, $\times g$)为 $=10 \times 1.118 \times 10^{-5} \times 3000^2 = 1006.2$ ($\times g$)。
2. 可以用试剂盒或者苯酚硫酸法进行脂多糖定量, 或者用鲎试剂进行检测。
3. 以下操作步骤中各步的温度均须确保按说明书要求, 这是有效提取得到高质量LPS的关键环节。

二、脂多糖(LPS)提取:

1. 室温8000 $\times g$ 离心10分钟收获细菌细胞。

【注】:

●需培养至对数生长期后期的样本。

2. 用2-8°C生理盐水洗涤菌体一次。离心收集菌体沉淀。

3. 在沉淀中加入500 μ l 2-8°C的试剂A重悬细菌, 8000 $\times g$ 离心10分钟, 弃上清, 留沉淀。

【注】

●每次处理50mg-200mg湿重菌体均可。

4. 在沉淀中加入500 μ l 2-8°C的试剂A重悬沉淀, 8000 $\times g$ 离心5分钟, 弃上清, 留沉淀。

5. 在沉淀中加入500 μ l提取液B, 充分重悬沉淀。

【注】

●涡旋至完全重悬, 无块状菌体。

6. 在150-300W超声40秒间隔10秒, 超声5-10分钟。

【注】

●没有超声条件可以不超声。

●如果超声时出现黑色沉淀, 说明超声功率过大, 需要降低功率。

●避免产生泡沫。

7. 在66-68°C水浴或气浴/金属浴孵育5分钟。

8. 在提取液B中加入66-68°C预热的500 μ l提取液C, 剧烈涡旋20秒充分混匀。

9. 在66-68°C条件下振荡30分钟。

【注】

●全程保持温度66-68°C一致, 避免温度明显波动。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

- 没有振荡条件可以66-68°C静置，中间隔10分钟用移液器轻轻吹打混匀。
 - 常规菌株（如大肠杆菌、沙门氏菌、某些弧菌等）均可以用此温度。特殊难提取菌株（如铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌）建议将温度调整到用70-75°C，以提高LPS回收率。有荚膜菌株需要超声处理。
 - 常规菌株不要使用68°C以上的高温，避免O-抗原链的断裂。若你的实验核心是利用LPS的生物活性（如诱导细胞因子分泌、检测内毒素毒性）：此步使用66-68°C。若你的实验核心是获取更多LPS总量（如后续纯化后做结构鉴定、定量分析），对活性没有要求，可以使用70-75°C。
10. 将提取液离心管取出，立即放入冰水浴中快速冷却至约4°C。
11. 在4°C，12,000×g离心30-60分钟。
- 【注】
- 此时溶液会分层，上层为透明水相。
12. 小心吸取最上层上清至另一干净离心管，即得脂多糖样品。
- 【注】
- 避免触碰中层沉淀，此步骤需轻柔，减少杂质带入。
 - 样品中含有高盐。如果有需要可以透析或超滤脱盐后再用于下游实验。
 - 透析或超滤脱盐后冻干称重，根据需要溶解到合适浓度用于下游实验。

注意事项：

1. 正式实验前请选取几个样本做预实验，以优化实验条件，取得最佳实验效果。螺旋盖微量试剂管装的试剂在开盖前请短暂离心，将盖和管内壁上的液体离心至管底，
2. 避免开盖时试剂损失。
3. 禁止与其他品牌的试剂混用，否则会影响使用效果。
4. 样品或试剂被细菌或真菌污染或试剂交叉污染可能会导致错误的结果。
5. 最好使用一次性吸头、管、瓶或玻璃器皿，可重复使用的玻璃器皿必须在使用前清洗并彻底清除残留清洁剂。
6. 实验后完成后所有样品及接触过的器皿应按照规定程序处理。

有效期：12个月有效。

常见问题分析：

1. 提取的LPS如何处理，如何检测？

提取得到的LPS样品可以用3.5KD的透析/超滤脱盐管处理后冻干称重，根据需要溶解到合适浓度用于下游实验。

内毒素活性检测用鲎试验（LAL）法。

简单定性检测可以用SDS-PAGE电泳银染法。注意SDS上样缓冲液不要煮沸，避免破坏结构。

有合适抗体的话可以做 WB 或 ELISA。

有条件可以做细胞刺激实验、动物发热实验。
2. 提取的LPS纯度低，含有蛋白污染？

试剂盒已含有去除蛋白质的试剂，如果对蛋白质杂质要求极高的应用，可以再次纯化。

在最后一步得到的上层中加入等体积的试剂C混匀，重复第7-11步。也可以将最后一步得到的上层清液用蛋白酶处理，在透析后进行酶消化：加入DNase I和RNase A(终浓度各约20-50μg/mL)。再加入蛋白酶K（终浓度50-100μg/mL），继续在37°C下孵育2-4小时或过夜。

还要注意各步骤的温度和离心力需要达到。
3. 提取的LPS量少，回收率偏低？

可以将最后一步吸取上层上清后的中下层液体再次抽提，在中下层液体中加入等体积的试剂B充分混匀，重复第8-11步。将第一次和第二次收集的上层上清合并。

也有可能原因是菌体收集时机不当，未到对数生长期后期（OD600<1.0），菌体总量不足。解决方案是调整培养时间，待菌液OD600达到1.0-1.2时离心收集，确保菌体沉淀量≥0.5g（50mL菌液）。

还要注意各步骤的温度和离心力需要达到。
4. LPS 活性较低？



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

如果LPS活性受损（鲎试剂试验检测值低），可能是第7-9步温度偏高，导致LPS的O-抗原链断裂。需要严格控制水浴温度在68°C，振荡处理，避免局部温度过高。温度不能超过75°C。

冻干过程中温度过低（<-50°C），LPS结构会破坏。调整冷冻干燥机参数，预冻温度设为-40C，保持2小时后再抽真空，避免快速冷冻导致结构破坏。

也有可能储存不当，LPS不能反复冻融。冻干后立即分装为100μg/管，-20°C密封保存，每次使用时取1管，避免反复冻融。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com