

看不見的熱原刺客：內毒素檢測，你選對方法了嗎？

如果你做過蛋白純化、細胞培養，或者碰過注射用藥的品質控管，大概率聽過一句話 ——「內毒素不達標，整批報廢。」這個看不見摸不著的小東西，到底什麼來頭？又該怎麼測才放心？今天一文講清楚。

內毒素是啥，為啥非測不可？

內毒素（Endotoxin）是革蘭氏陰性菌外膜上的脂多糖（LPS），當細菌死亡、裂解或分裂時釋放出來。它的「毒性擔當」是 **脂質 A**，哪怕濃度低到 0.001 EU/mL，也能通過 TLR4 路徑觸發哺乳動物強烈的發炎反應 --- 發熱、敗血症休克，都不是嚇唬人。

更麻煩的是它極難搞：

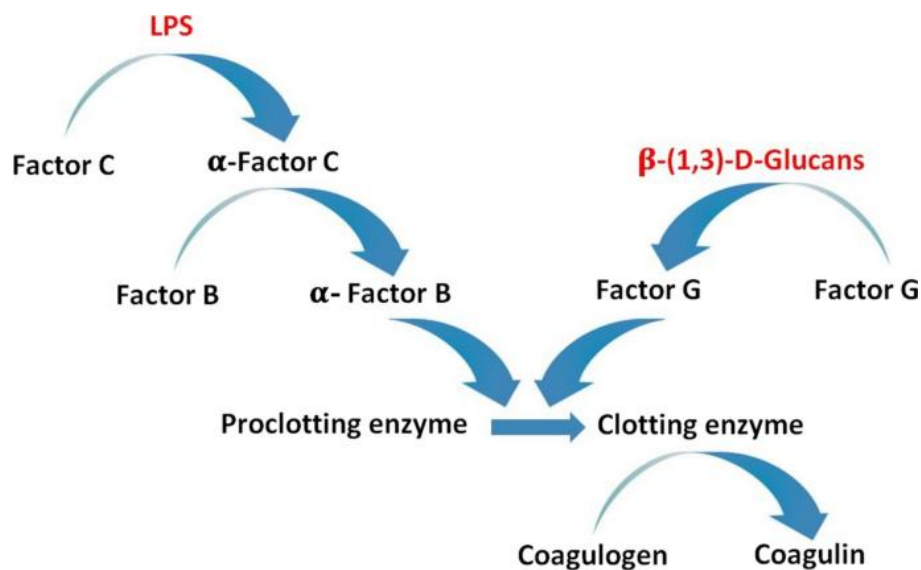
- **耐熱**：普通高壓滅菌滅不掉，乾熱去熱原得 250°C 以上
- **可過膜**：0.2 μm 濾器擋得住細菌，擋不住 LPS
- **粘得牢**：玻璃器皿、純化管柱、管路都能藏

所以 USP<85>、EP、ChP 都把內毒素檢測列為注射劑、生物製品、醫療器械的必檢項目：

WFI 注射用水限 0.25 EU/mL，腦脊液接觸類限 0.06 EU/mL，心血管/淋巴接觸類限 0.5 EU/mL

主流檢測方法，怎麼選？

目前業界主流就兩條路，都繞不開「蟹」——



LAL 蟹試劑家族（金標準）

蟹血變形細胞遇內毒素會啟動 C 因子 → B 因子 → 凝固酶級聯，最終要麼成膠、要麼顯色，據此衍生出三種玩法：

方法	特點	適合
凝膠法	目視判讀±，無需儀器	WFI、原料、器械沖洗液快速篩選
終點顯色法	405 nm 單點讀數，操作快	常規 QC 批次放行
動態顯色法	連續讀 405 nm，範圍寬、精度高	多步純化追蹤、工藝開發

rFC 重組 C 因子（無動物源，animal free 新秀）

用基因重組的 Factor C 替代蟹血，內毒素啟動後裂解 螢光受質（Ex 380 / Em 440）。最大的優點有兩個：

- 不受 β-葡聚糖干擾 —— 酵母/真菌來源樣品不再偽陽性
- 無動物源，符合歐盟 EP 2.6.32 趨勢，基因治療、AAV/慢病毒專案尤其友善

R&D Systems 內毒素檢測解決方案

Bio-Techne 旗下 R&D Systems 齊全了上面四條線，從入門到法規級全覆蓋：

Gel Clot 凝膠法試劑組

四個靈敏度（0.03 / 0.06 / 0.125 / 0.25 EU/mL）任選，肉眼看凝塊就行，連 ELISA reader 都不用。16 反應/組，是 WFI 監控、原料過篩、預算有限實驗室的入門首選。

End-Point 終點顯色法

0.01–0.1 和 0.1–1 EU/mL 兩種範圍，37°C 作用 + 405 nm 一讀數，方案簡單、驗證路徑直接，FDA/EMA 都認，適合剛從凝膠法升級、或做常規批次放行的 QC 實驗室。

Kinetic 動態顯色法

0.001–10 EU/mL 一口氣覆蓋，120 min 連續 kinetic 讀取。單抗、重組蛋白、疫苗下游多步純化追蹤，內毒素濃度跳得再大也能偵測的到，是工藝開發團隊的「精準款」。

rFC 重組 C 因子

0.005–5 / 0.01–10 EU/mL 兩檔，96 反應/組，內含黑盤 ELISA reader plate。希望替代釐源產品的可放心使用，再也無需擔心 β-葡聚糖假陽性。

相關產品也齊全：無熱原水、無熱原 Tris (pH 7)、 β -葡聚糖阻斷劑、無熱原試管/稀釋管，一條龍。

		Catalog #
R&D Systems Endotoxin End-Point Quantitation Kit, 32 RXN (Assay range: 0.01-0.1 EU/mL and 0.1-1 EU/mL)	Kit	ECT032
R&D Systems Endotoxin End-Point Quantitation Kit, 64 RXN (Assay range: 0.01-0.1 EU/mL and 0.1-1 EU/mL)	Kit	ECT064
R&D Systems Endotoxin Kinetic Quantitation Kit, 32 RXN (Assay range: 0.001-10 EU/mL)	Kit	EKC032
R&D Systems Endotoxin Kinetic Quantitation Kit, 64 RXN (Assay range: 0.001-10 EU/mL)	Kit	EKC064
R&D Systems Endotoxin rFC Quantitation Kit, 96 RXN (Assay range: 0.005-5 EU/mL)	Kit	EFC005
R&D Systems Endotoxin rFC Quantitation Kit, 96 RXN (Assay range: 0.01-10 EU/mL)	Kit	EFC010
R&D Systems Gel Clot Kit, 16 RXN, 0.03 EU/mL	Kit	GCT003
R&D Systems Gel Clot Kit, 16 RXN, 0.06 EU/mL	Kit	GCT006
R&D Systems Gel Clot Kit, 16 RXN, 0.125 EU/mL	Kit	GCT125
R&D Systems Gel Clot Kit, 16 RXN, 0.25 EU/mL	Kit	GCT025
Endotoxin-Free Dilution Tubes, 25 tubes (empty glass tubes)	Accessory	EDFD25
Endotoxin-Free Water, 5 x 100mL	Accessory	EDW500
Endotoxin-Free Test tubes, 25 tubes (empty glass tubes)	Accessory	EDFT25
Pyrogen-Free TRIS Buffer, 50mM, pH7, 5 x 10mL/vials	Accessory	PFT50
Beta Glucan Blocker, 5 x 10mL/vial	Accessory	BGB50

References:

1. Endotoxemia - Methods of Detection and Clinical Correlates



台灣區代理 瑞柏生物科技股份有限公司

0 8 0 0 - 0 8 6 - 5 5 5

北區 02-2811-8200 竹區 03-666-0116

中區 04-2315-2922 南區 07-5500-680

