



HiSelect Smac SP 40

目录

| | |
|-------------------|---|
| 1. 产品介绍..... | 1 |
| 2. 纯化流程..... | 1 |
| 3. 填料清洗与保存..... | 2 |
| 4. 问题及解决方案..... | 2 |
| 5. 订购信息及相关产品..... | 2 |

1. 产品介绍

离子交换树脂广泛用于生物制药和生物工程下游蛋白质、核酸及多肽的分离纯化。**Smac SP 40** 是一种强阳离子交换剂，可用于多种生物分子的高通量中间纯化步骤。该色谱介质具有高结合力和小珠粒尺寸，是工业纯化中可靠的理想选择。

HiSelect Smac SP 40 是一种中压预装柱，填充 4.7 ml 的 **Smac SP 40** 介质。柱管由生物相容性聚丙烯制成，不与生物分子相互作用。柱管两头都有堵头，防止保护液的泄露。柱体标签上的箭头表示推荐的流向。预装柱具有标准接口，可以适配商品化的各类中压色谱系统，如 ÄKTA 等，方便客户操作。

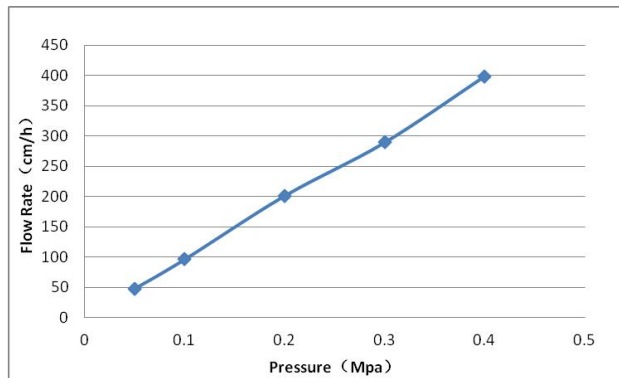


图 1. 介质压力流速曲线 (装柱直径 50mm, 柱高 150mm)

Smac SP 40 是一种强阳离子交换树脂，离子交换基团-O-CH₂CH₂CH₂SO₃⁻，具体性能见表 1。

表 1. HiSelect Smac SP 产品性能

| 项目 | 性能 |
|-------------|---------------------------------------|
| 规格 | 4.7 ml |
| 基质 | 高刚性琼脂糖微球 |
| 离子交换类型 | 强阳离子 |
| 离子载量 | 0.13-0.17 mmol H ⁺ /ml 介质 |
| 粒径 | 30-60 μm |
| 载量 | > 70 mg lysozyme/ml 介质 |
| 建议流速 | < 200 cm/h |
| pH 稳定范围 | 4-13 |
| 柱尺寸 (内径×高度) | 0.77×10 cm |
| 储存缓冲液 | 20%乙醇, 0.2 M 醋酸钠 |
| 储存温度 | 2-8 °C |
| 化学稳定性 | 1 M NaOH, 8 M 尿素、6 M 盐酸胍、70%乙醇、30%异丙醇 |

2. 纯化流程

2.1 缓冲液的准备

所用水和缓冲液在使用之前建议用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。

所使用的平衡液和洗脱液，根据不同离子交换填料自行选择。基本原则是低盐上样，高盐洗脱。



2.2 样品准备

样品在上样前建议离心或用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤，减少杂质，提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

2.3 样品纯化

HiSelect Smac SP 40 是一种离子交换介质的预装柱产品，可以用各种常规的中低压色谱系统，以 AKTA 仪器使用为例介绍使用方法。

- 1) 将泵管道中注满去离子水。去掉上塞子，将层析柱连接至色谱系统中。再打开下口，将预装柱接到色谱系统中，并旋紧。
- 2) 用 3-5 倍柱体积的去离子水冲洗出存储缓冲液。
- 3) 使用至少 5 倍柱床体积的平衡液平衡色谱柱。
- 4) 利用泵或样品环上样。

注：样品的粘度增加使得即使上样体积很少，也会导致层析柱很大的反压。上样量不要超过柱子的结合能力。大量的样品体积也可能造成很大的反压，使得进样器更难使用。

- 5) 用洗杂液冲洗柱子，直到紫外吸收达到一个稳定的基线（一般至少 10-15 个柱体积），洗杂流速与平衡时一致即可。
- 6) 用洗脱液采用一步法或线性梯度洗脱。一步洗脱中，通常 5 倍柱体积洗脱液就足够了。梯度洗脱可以用 20 倍柱体积或更多，来分离不同结合强度的蛋白质。

2.4 SDS-PAGE 检测

将使用纯化产品得到的样品（包括流出组分、洗杂组分和洗脱组分）以及原始样品使用 SDS-PAGE 检测纯化效果。

3. 填料清洗与保存

3.1 常规清洗

离子交换填料每次使用后可以用 1 M NaCl 甚至更高离子强度溶液或高 pH 溶液清洗，然后用至少 5 倍柱体积的平衡液进行平衡，至离子强度或 pH 值稳定。

3.2 CIP (Cleaning In Place) 清洗

离子交换填料可以重复使用而无需再生，但随着非特异性结合的蛋白的增多和蛋白的聚集，往往造成流速和结合容量都下降，这时可按照下面方法对填料进行清洗。

去除一些沉淀或变性物质，建议使用下面的方法

用 2 倍柱体积的 1 M NaOH 溶液进行清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS, pH 7.4 清洗。

去除一些疏水性吸附造成的非特异性吸附物质

用 3-4 倍柱体积的 70%乙醇或 3-4 倍柱体积的 1% Triton™ X-100 清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS, pH 7.4 清洗。

去除一些离子键结合物质

用 3-4 倍柱体积的 2 M NaCl 清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS, pH 7.4 清洗。

3.3 填料保存

使用过的预装柱，先用纯水冲洗 5 倍柱体积，再用保护液冲洗 2 倍柱体积以上，然后将预装柱置于 2-8℃ 保存，建议每间隔 1-2 个月用新配置的保护液冲洗 2 倍柱体积以上置换旧保护液。

4. 问题及解决方案

| 问题 | 原因分析 | 推荐解决方案 |
|--------|----------|--|
| 柱子反压过高 | 填料被堵塞 | 按照第3部分进行填料清洗。 裂解液中含有微小的固体颗粒，建议上柱前使用滤膜 (0.22 或 0.45 μm) 过滤，或者离心去除。 |
| 洗脱样品较杂 | 填料重复多次使用 | 按照第3部分进行填料清洗或更换新填料 |
| | 洗杂不充分 | 增加洗杂液体积，确保填料充分平衡/洗杂 |
| | 样品带电性能相似 | 优化洗脱条件 |

5. 订购信息及相关产品

| 产品名称 | 货号 | 规格 |
|---------------------|----------|----------|
| HiSelect Smac SP 40 | SI028C47 | 1×4.7 ml |
| HiPur Smac SP 40 | SI028C20 | 1×20 ml |