



# 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

离子交换介质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。

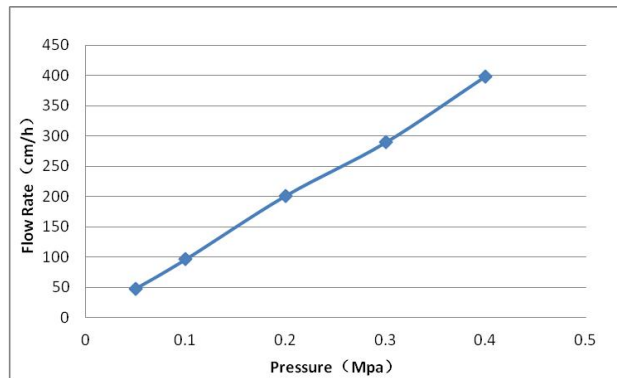


图 1. 介质压力流速曲线 (装柱直径 50mm, 柱高 150mm)

**Smac SP 40** 是一种强阳离子交换介质，离子交换基团-O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub><sup>-</sup>，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 <sup>+</sup> /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  $\mu\text{m}$  或 0.45  $\mu\text{m}$  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ÅKTA 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载量都下降, 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, pH7.4 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, pH7.4 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, pH7.4 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°C 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 $\mu\text{m}$ ) 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

