



SmartCore 700

目录

1. 产品介绍.....	1
2. 纯化流程.....	1
3. 填料清洗.....	2
4. 问题及解决方案.....	2

1. 产品介绍

SmartCore 700 设计用于病毒和其他大生物分子的中度纯化和精细纯化。**SmartCore 700** 为核壳结构微球，壳层为中性亲水层，对蛋白无非特异性吸附；壳层孔径小于核心孔径，可阻止分子量大于 690 kDa 的蛋白进入核心层；核心层为阴离子交换加疏水作用的功能层，可以快速捕获分子量小于 690 kDa 的蛋白分子。复合模式可确保在较宽范围的 pH 值和盐浓度中与大多数杂质有较高的结合力，用 NaOH 进行在位清洗可将结合的杂质去除。与普通凝胶过滤相比，**SmartCore 700** 的进样量大 100 倍以上，流速更高，生产效率显著提高，适用于大规模生产。具体性能见表 1。

表 1. SmartCore 700 产品性能

项目	性能
基质	聚合物微球
配体	辛胺
动态载量	15-20 mg BSA/mL (5%流穿点)
离子交换容量	0.15-0.30 mmol/ml
平均粒径	90 μm
最大耐压	1.5 MPa
pH 稳定范围	1-14
清洗再生条件	1 M NaOH+30% 异丙醇
储存缓冲液	20% 乙醇
储存温度	4 - 30°C
化学稳定性	所有常用的水性缓冲液、1 M 氢氧化钠、6 M 盐酸胍、30%异丙醇、70%乙醇

2. 纯化流程

2.1 缓冲液的准备

SmartCore 700 可以兼容大多数常用的凝胶过滤和离子交换色谱缓冲液，如磷酸盐或 Tris 缓冲液。建议使用 pH 值 7 到 9，以确保宿主细胞蛋白与配体的良好结合。

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。

2.2 样品准备

上柱之前要确保样品溶液有合适的离子强度和 pH 值，样品可以用平衡缓冲液稀释或透析。

在某些情况下，DNA 和 RNA 会影响 **SmartCore 700** 的性能。在使用 **SmartCore 700** 纯化前，可以用离子交换或者超极核酸酶降低 DNA/RNA 水平。

2.3 介质装填

SmartCore 700 被广泛应用于工业纯化，因此，涉及到各种中低压色谱层析柱的装填，下面介绍装填层析柱的方法。

层析柱的装填（使用储液器装填）

装柱前根据层析柱直径计算柱子底面积，根据所需装柱高度计算所需介质体积，公式如下：

$$V = 1.15\pi r^2 h$$

V: 所需介质体积 ml

1.15: 压缩系数

r: 柱管半径 cm

h: 装填高度 cm

注意：所取悬液体积应为介质体积的两倍，因为介质体积只占悬液总体积的一半，另一半为保护液。



- 1) 用去离子水冲洗层析柱底筛板与接头，确保柱底筛板上无气泡，关闭柱底出口，并在柱底部留出 1-2cm 的去离子水。
- 2) 将树脂悬浮起来，小心的将浆液连续地倒入层析柱中。用玻璃棒沿着柱壁倒入浆液可减少气泡的产生。
- 3) 如果使用储液器，应立即在层析柱和储液器中加满水，将进样分配器放置于浆液表面，连接至泵上，避免在分配器或进样管中产生气泡。
- 4) 打开层析柱底部出口，开启泵，使其在设定的流速下进行。最初应让缓冲液缓慢流过层析柱，然后缓慢增加至最终流速，这样可避免液压对所形成柱床的冲击，也可以避免柱床形成的不均匀。如果达不到推荐的压力或流速，可以用你所使用泵的最大流速，这样也可以得到一个很好的装填效果。（注意：在随后的色谱程序中，不要超过最大装柱流速的 75%）当柱床高度稳定后，在最后的装柱流速下至少再上 3 倍柱床体积的去离子水。标上柱床高度。
- 5) 关闭泵，关闭层析柱出口。
- 6) 如果使用储液器，去除储液器，将分配器置于层析柱中。
- 7) 将分配器推向柱子至标记的柱床高度处。允许装柱液进入分配器，锁紧分配器接头。
- 8) 将装填好的层析柱连接至泵或色谱系统中，开始平衡。如果需要可以重新调整分配器。

2.4 样品纯化

填料装填好后，可以用各种常规的中低压色谱系统。

- 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，打开下出口，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储存缓冲液。
- 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。

3. 填料清洗

每次纯化结束之后都应进行 CIP (Cleaning In Place) 清洗，以确保结果的一致性。常规 CIP 可以防止杂质在填料上聚集，有助于保持填料的载量、流速等性能。

SmartCore 700 的 CIP 可以使用有机溶剂和 NaOH，具体操作:

- 3 倍柱体积的平衡液;
- 至少 2 倍柱体积的 1 M NaOH+30%异丙醇，接触时间为 30-60 min;
- 5 倍柱体积的平衡液冲洗。

上述步骤介质洗脱结束后，先用平衡液冲洗 3 倍柱体积，然后用纯水冲洗 5 倍柱体积，再用 20%乙醇冲洗 2 个柱体积，然后将介质置于 2-8℃ 保存。

4. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
SmartCore 700	SEC0220	25 ml
	SEC0221	100 ml
	SEC0222	500 ml
	SEC0223	1 L
	SEC0224	10 L
PreCap SmartCore 700	SEC022C11	1x1 ml
	SEC022C51	5x1 ml
	SEC022C15	1x5 ml
	SEC022C55	5x5 ml