



Smartarose 4FF and Smartarose 6FF

目录

1. 产品介绍	1
2. 装柱说明	1
3. 纯化流程	2
4. 清洗及保存	2
5. 订购信息及相关产品	3

1. 产品介绍

Smartarose 4FF 和 **Smartarose 6FF** 分别以高度交联的 4%和 6%琼脂糖微球为基质，拥有良好的物理和层析性能。**Smartarose 4FF** 和 **Smartarose 6FF** 能适应各种生产操作，且批次间重复性好，因此广泛应用于工业生产。本介质能处理大体积样品，操作简便，并且耐受生物制药生产过程中的温度、pH 和化学试剂等常规工作条件。填料可以进行在位清洗，减少生产损失。如果需要，还可以对填料进行灭菌处理。

表 1. 产品性能

项目	性能	
名称	Smartarose 4FF	Smartarose 6FF
基质	高度交联的 4%琼脂糖微球	高度交联的 6%琼脂糖微球
排阻极限 (球蛋白)	$\sim 3 \times 10^7$	$\sim 4 \times 10^6$
排阻极限 (葡聚糖)	$\sim 6 \times 10^6$	$\sim 2 \times 10^6$
粒径	45-165 μm	45-165 μm
线性流速	150-250 cm/h^*	200-400 cm/h^*
pH 稳定性	2-12	2-12
试剂耐受(40 $^{\circ}\text{C}$, 7 天)	2 M NaOH, 70% 乙醇, 30% 异丙醇 30% 乙腈, 1% SDS, 2% asepto, 6 M 盐酸胍, 8 M 尿素	
高压灭菌	121 $^{\circ}\text{C}$, 20min	
储存条件	20% 乙醇, 4 -30 $^{\circ}\text{C}$	

* 检测方法: 0.1MPa, SXX 50/500mm 柱, 柱高 15 cm

2. 装柱说明

2.1 介质准备

Smartarose 4FF 和 **Smartarose 6FF** 保存于20%乙醇。装柱前建议将20%乙醇抽滤去除，置换成去离子水。将75%介质和25%去离子水混匀，真空负压脱气。不要使用粘性试剂装柱。装柱完成后，可以用粘性缓冲液低流速平衡层析柱。

2.2 介质装填

Smartarose 4FF 和 **Smartarose 6FF**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填装，下面介绍填装层析柱的方法。
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 1-2 cm的去离子水。
- 2)将填料悬浮起来，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 2 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。

2.3 柱效测试

为了检验层析柱的质量, 应进行柱效测试, 以确定理论塔板数和峰不对称系数。

洗脱液: 去离子水

样品: 2% (v/v) 丙酮水溶液或者 1 M NaCl 溶液

如图 1 所示计算理论塔板数, 用如下公式: $N/m = 5.54 (V_R/V_h)^2 \times 1000/L$

计算峰不对称系数 (AS) 公式如下: $AS = b/a$ (如图 1 所示)

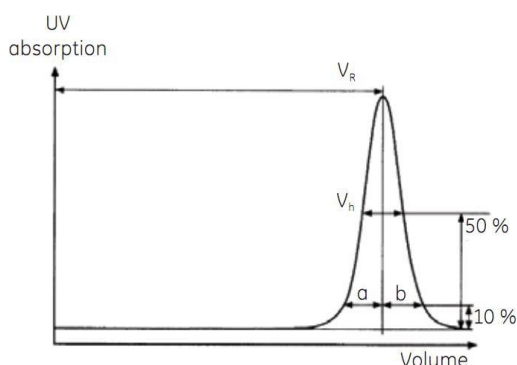


图 1. 柱效检测方法实例

3. 纯化流程

3.1 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。

平衡液为蛋白纯化后, 用于保护蛋白的溶液, 根据客户需求自行选择。

3.2 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, 防止堵塞柱子。

3.3 样品纯化

1) 平衡

上样之前, 用平衡液至少平衡两个柱体积, 或直到基线稳定。含去垢剂的溶液可能需要平衡更长时间。

2) 上样

推荐上样体积为柱体积的 2-5%。可以通过上样管或样品环来上样。纯化流速最高不能超过装柱流速的 70%。

3) 再生

再生通常用水冲洗 2 倍柱体积, 然后用缓冲液冲洗 2-3 倍柱体积, 如果不立刻使用, 则用 20% 乙醇平衡后, 4 -30°C 保存。对不同的样品, 建议大约 5 次循环后, 采用完整的在位清洗(CIP)。

4. 清洗及保存

4.1 CIP (Cleaning In Place) 清洗

CIP 是去除以前生产过程中产生的结合过紧密、沉淀或变性的物质。在某些情况下, 介质再生后, 脂质或变性蛋白质等物质仍可能残留在柱上。需要根据原料中已知污染物种类来设计特定的 CIP 程序。

当出现下列情况, 需要对介质进行在位清洗:

- 柱压增高;
- 填料颜色变化明显;
- 分辨率降低;
- 上接头与凝胶表面之间出现空隙;
- 如果反压增高, 在介质清洗前检查阀门、管线等中止情况。





1) 去除非特异性结合蛋白和脂蛋白

用 0.5 M NaOH 清洗一个柱体积，去离子水或缓冲液平衡至中性。

2) 去除一些沉淀或变性物质，建议使用下面的方法

用 4 倍柱体积的 1.0-2.0 M NaOH 溶液，流速 40 cm/h 对介质进行清洗，然后立即用 2-3 倍柱体积的水清洗。

3) 去除一些强结合的疏水蛋白

用 4-10 倍柱体积的 70%乙醇或 30%异丙醇清洗（使用有机溶剂要梯度清洗，避免起泡）或者用含去垢剂的酸或中性溶液。比如，用 1 M 醋酸溶液含 0.5%非离子型去垢剂，清洗流速 40 cm/h。随后用 70%乙醇冲洗 5 个柱体积洗去残留去垢剂。

4.2 除菌

除菌可以减少微生物对凝胶的污染。

用 1.0-2.0 M NaOH 清洗凝胶 30-60 min。再用 3-5 倍柱体积的无菌缓冲液重新平衡。

4.3 保存

CIP 之后的介质如果不使用可以用 20%乙醇，4 -30℃ 保存。

5. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
Smartarose 4FF	SEC0100	25 ml
	SEC0101	100 ml
	SEC0102	500 ml
	SEC0103	1 L
	SEC0104	10 L
Smartarose 6FF	SEC0110	25 ml
	SEC0111	100 ml
	SEC0112	500 ml
	SEC0113	1 L
	SEC0114	10 L

