



# HiSelect Smac MMA

## 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 |
| 5. 订购信息及相关产品..... | 2 |

## 1. 产品介绍

**Smac MMA** 是一种多模式强阴离子交换介质，具有离子性的相互作用，氢键疏水相互作用。主要应用于单抗的中度纯化和精细纯化（用于去除 Protein A 纯化后样品中的 Protein A、二聚体、多聚物、宿主细胞蛋白、核酸），也可以应用于其它生物分子的精细纯化（去除二聚体、多聚物、宿主细胞蛋白、核酸等）。

**HiSelect Smac MMA** 是一种中压预装柱，填充 4.7 ml 的 **Smac MMA** 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。

表 1. HiSelect Smac MMA 产品信息

| 项目         | 内容                                    |
|------------|---------------------------------------|
| 规格         | 20 ml                                 |
| 基质         | 高刚性琼脂糖微球                              |
| 离子交换类型     | 多模式强阴离子交换剂                            |
| 离子载量       | 0.11-0.16 mmol Cl <sup>-</sup> /ml 介质 |
| 平均粒径       | ~75 µm                                |
| 最大压力       | 0.3 MPa, 3 bar                        |
| 柱尺寸（内径×高度） | 0.77×10 cm                            |
| 化学稳定性      | 可耐受抗体纯化过程中的常用试剂                       |
| 工作 pH      | 3-12                                  |
| 在线清洗       | 0.1 M NaOH                            |
| 线性流速       | 300 cm/h                              |
| 储存缓冲液      | 20%乙醇或 2%苯甲醇                          |
| 储存温度       | 2-8 °C                                |

\*注：目标抗体的动态结合载量，需要使用实际样品进行前端分析来确定。动态结合载量是一个样品保留时间的函数，因此需要在样品的不同保留时间范围内来定义。

## 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，根据不同样品条件自行选择。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。

**HiSelect Smac MMA** 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 ÄKTA 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

离子交换介质每次使用后可以 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。

### CIP (Cleaning In Place) 清洗

离子交换介质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介质进行清洗。

#### 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。

## 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部分进行介质清洗。                                       |
|        |          | 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 | 介质重复多次使用 | 按照第3部分进行介质清洗或更换新介质                                  |
|        | 洗杂不充分    | 增加洗杂液体积, 确保介质充分平衡/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 MMA | SI031C47 | 1×4.7 ml |
| HiPur Smac MMA    | SI031C20 | 1×20 ml  |

