



HiPur 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)。

HiPur 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. HiPur 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 ⁻ /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)	1.6×10 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。

2.3 样品纯化

HiPur 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载量都下降, 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

