



HiSelect Smac L

目录

1. 产品介绍.....	1
2. 纯化流程.....	1
3. 残留配体去除.....	2
4. 填料清洗.....	2
5. 问题及解决方案.....	2
6. 订购信息及相关产品.....	2

1. 产品介绍

Smac L 是用于分离和纯化单克隆抗体的通用性亲和层析介质，以高刚性琼脂糖凝胶为基质，可以在相对较高的流速下进行单克隆抗体和多克隆抗体的纯化，具体性能见表 1。Protein L 经过基因重组具有了更高的结合能力，由大肠杆菌表达，保留了与抗体κ链结合的特性，同时不会影响抗体的抗原结合位点。Protein L 与人、小鼠的 kappa 轻链有较好的结合力，也可能与其他物种的某些 kappa 亚型有特异性结合。Protein L 与兔免疫球蛋白结合力很弱，不结合牛、山羊或绵羊来源的免疫球蛋白。

HiSelect Smac L 是一种中压预装柱，填充 4.7 ml 的 **Smac L** 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 L 产品性能

指标	性能
基质	高刚性琼脂糖微球
配体	耐碱蛋白 L
载量	≥70 mg Mouse IgG/ml 介质
平均粒径	55-65 μm
最大压力	0.3 MPa, 3 bar
pH 稳定范围	2.5-10
保存	20%乙醇, 2-8℃
柱尺寸 (内径×高度)	0.77×10 cm

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。

平衡/洗杂液: 0.15 M NaCl, 20 mM Na₂HPO₄, pH 7.0

洗脱液: 0.1 M 柠檬酸-柠檬酸钠, pH 2.5

中和液: 1 M Tris-HCl, pH 8.5

2.2 样品准备

上柱前要确保样品溶液有合适的离子强度和 pH 值，可以用平衡/洗杂液对血清样品、腹水或细胞培养液稀释，或者样品用平衡/洗杂液透析。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

HiSelect Smac L 是一种分离和纯化单克隆抗体、多克隆抗体的预装柱，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（一般至少 10-15 个柱体积）。

6) 使用 5-10 倍柱体积的洗脱液洗脱，收集洗脱液，即目的蛋白组分。洗脱组分需要立即调成中性，一般建议使用洗脱组分体积 1/10 的中和液进行中和。

注: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。





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. 残留配体去除

HiSelect Smac L 配体的脱落很低，但是很多产品需要完全去除，可采用阳离子交换、阴离子交换或凝胶过滤等方法去除，具体参照阳离子交换介质、阴离子交换介质和凝胶过滤介质的使用。

4. 填料清洗

HiSelect Smac L 可以重复使用而无需再生，但随着一些变性物质的沉淀和蛋白的聚集，往往造成流速和结合载量都下降，压力升高，或者在后续纯化中脱落，严重影响柱子的性能，这时需要对填料进行清洗，以保证填料的载量、流速和一般性能。

具体操作：

- 3 倍柱体积的平衡液；
- 至少 2 倍柱体积的 0.1M NaOH，接触时间为 15 minutes；
- 5 倍柱体积的平衡液冲洗。

5. 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	筛板被堵塞	清洗或更换筛板
	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 μm）过滤，或者离心去除。
样品纯化过程中曲线不稳	样品或 buffer 中有气泡	去除样品或柱子中的气泡
		样品和缓冲液进行脱气
洗脱组分中没有目的蛋白	样品中抗体浓度太低	使用其抗原做配体的介质
	抗体被降解	适当的提高洗脱pH
回收率逐渐减低	上样量太多	减少上样量
	柱子太脏，载量降低	按照第3部分进行填料CIP清洗

6. 订购信息及相关产品

产品名称	货号	规格
Smac L	SA100005	5 ml
	SA100025	25 ml
	SA100100	100 ml
	SA100500	500 ml
	SA10001L	1 L
	SA10010L	10 L
PreCap Smac L	SA100C11	1×1 ml
	SA100C51	5×1 ml
	SA100C15	1×5 ml
	SA100C55	5×5 ml
HiSelect Smac L	SA100C47	4.7ml
HiPur Smac L	SA100C20	20ml

