HiSelect Smac SP 40

目录

1. 产品介绍.....1
2. 纯化流程.....1
3. 填料清洗与保存.....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

离子交换介质广泛用于生物制药和生物工程下游蛋白质、核酸及多肽的分离纯化。**Smac SP 40** 是一种强阳离子交换剂，可用于多种生物分子的高通量中间纯化步骤。该色谱介质具有高结合力和小珠粒尺寸，是工业纯化中可靠的理想选择。

HiSelect Smac SP 40 是一种中压预装柱，填装 4.7 ml 的 **Smac SP 40** 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，方便客户操作。

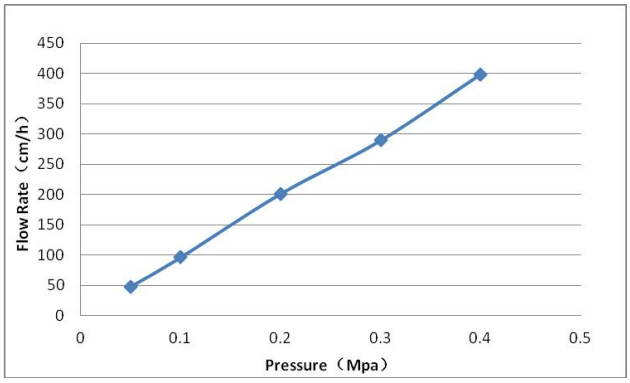

图 1.介质压力流速曲线（装柱直径 50mm，柱高 150mm）

Smac SP 40 是一种强阳离子交换介质，离子交换基团-O-$CH_2CH_2CH_2SO_3^-$，具体性能见表 1。

表 1. HiSelect Smac SP 产品性能

项目	性能
规格	4.7 ml
基质	高刚性琼脂糖微球
离子交换类型	强阳离子
离子载量	0.13-0.17 mmol H^+/ml 介质
粒径	40 μm
载量	> 70 mg lysozyme/ml 介质
建议流速	< 220 cm/h
最大压力	0.3 MPa，3 bar
pH 稳定范围	4-13
柱尺寸（内径×高度）	0.77×10 cm
储存缓冲液	20%乙醇，0.2 M 醋酸钠
储存温度	2-8℃
化学稳定性	1 M NaOH, 8 M 尿素、6 M 盐酸胍、70%乙醇、30%异丙醇

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，根据不同离子交换填料自行选择。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

HiSelect Smac SP 40 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，下面详细介绍使用方法。

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. 填料清洗与保存

3.1 常规清洗

离子交换填料每次使用后可以用 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。

3.2 CIP（Cleaning In Place）清洗

离子交换填料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填料进行清洗。

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，pH7.4 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，pH7.4 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，pH7.4 清洗。

3.3 填料保存

使用过的预装柱，先用纯水冲洗 5 倍柱体积，再用保护液冲洗 2 倍柱体积以上，然后将预装柱置于 2-8℃保存，建议每间隔 1-2 个月用新配置的保护液冲洗 2 倍柱体积以上置换旧保护液。

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。
洗脱样品较杂	填料重复多次使用	按照第3部分进行填料清洗或更换新填料
	洗杂不充分	增加洗杂液体积，确保填料充分平衡/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 SP 40	SI028C47	1×4.7 ml
HiPur Smac SP 40	SI028C20	1×20 ml