



HiPur Smac SupA-ME

目录

1. 产品介绍	1
2. 纯化流程	1
3. 填料储存	2
4. 问题及解决方案	2
5. 订购信息及相关产品	3

1. 产品介绍

Smac SupA-ME 是用于分离和纯化单克隆抗体的亲和层析介质，具体性能见表 1。Protein A 是一种分离自金黄色葡萄球菌的细胞壁蛋白，主要通过 Fc 结构域结合哺乳动物 IgG。而 **Smac SupA-ME** 的配体蛋白是在天然蛋白 A 的基础上进行生物工程突变得到的，可以在较为温和的 pH 条件下洗脱含 Fc 的分子，洗脱体积小，且蛋白回收率和 HCP 清除率高。同时该配体经特殊设计增强了碱稳定性。该配体制备过程中无动物源成分引入。耐碱性、高载量、温和洗脱以及高刚性琼脂糖凝胶基质，使得该填料特别适合工业化抗体或临床应用抗体的大规模纯化。

HiPur Smac SupA-ME 是一种中压预装柱，灌装 20 ml 的 **Smac SupA-ME** 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 SupA-ME 产品性能

项目	性能
规格	20 ml
介质	高刚性琼脂糖微球
平均粒径	~ 60 μm
配体	重组 Protein A
结合载量*	50-65 mg hlgG/ml 介质
pH 稳定范围	3-12 (工作), 2-13 (CIP)
在线清洗	0.1 M NaOH
推荐最大流速	300 cm/h
保存	20%乙醇 (2%苯甲醇可选用)
储存温度	2-8 $^{\circ}\text{C}$
化学稳定性	可耐受抗体纯化过程中的常用试剂

*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。

平衡/洗杂液：20 mM Na_2HPO_4 , 0.15 M NaCl, pH7.0

洗脱液：0.1 M NaAc, pH3.0-5.0

中和液：1 M Tris-HCl, pH8.5

2.2 样品准备

上柱之前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

条件必须通过筛选过程来确定目标抗体的能力，并选择最佳工艺性能、经济性和设施匹配的适当条件。

- 1) 层析填料平衡**：使用平衡缓冲液充分平衡层析填料，通常平衡 3-5 倍柱体积。
- 2) 上样**：流速根据装填层析柱的规格和柱高上样，根据样品中目标物质的含量和 **HiPur Smac SupA-ME** 的结合载量确定上样体积，进行上样。该过程保留时间建议大于 6 min。
- 3) 洗杂**：上样完成后采用平衡液将紫外吸收降到合适的数值，必要时可以增加高盐清洗，将非特异性吸附的杂质尽可能多的洗下来，洗杂





液的 pH 需要在 7.0-9.0 之间选择。

4) **洗脱**: 洗杂结束后开始进行洗脱, 因为每个样品都具有特异性, 化学和物理性质也有所不同, 所以洗涤和洗脱条件需要根据实际情况进行优化。洗脱缓冲液可以选用柠檬酸、醋酸、甘氨酸, 建议浓度 0.01-0.1 M, 可以根据实际进行选择。洗脱 pH 可以根据样品进行优化。如果目的样品在酸性条件下不稳定, 洗脱液可以用中和液进行中和。

5) **在位清洗**: 随着层析介质使用次数的增加, 污染物在层析柱上的积累也在不断增加, 定期的在位清洗能有效防止污染物的累积, 保持层析介质稳定的工作状态。客户可根据使用过程中介质的污染程度确定在位清洗的频率, 可以采用 0.1 M NaOH 进行在位清洗, 与填料接触时间一般 15 min。在位清洗结束后应用平衡液洗至 pH 与平衡液一致, 然后保护液冲洗 3-5 倍柱体积。

下表是单克隆抗体纯化的建议流程:

步骤	缓冲液	柱体积
平衡	20 mM Na ₂ HPO ₄ , 0.15 M NaCl, pH7.0	3-5
上样	/	/
洗杂 1	20 mM Na ₂ HPO ₄ , 0.15 M NaCl, pH7.0	3
洗杂 2	20 mM Na ₂ HPO ₄ , 1.0 M NaCl, pH8.0	3
洗杂 3	20 mM Na ₂ HPO ₄ , pH7.0	3
洗脱	0.1 M NaAc, pH4.5	3
再生	0.1 M HAc	3
CIP	0.1 M NaOH	3
平衡	20 mM Na ₂ HPO ₄ , 0.15 M NaCl, pH7.0	3

3. 填料储存

HiPur Smac SupA-ME 以 20%乙醇或 2%苯甲醇作为保护液, 常规保护液为 20%乙醇, 2%苯甲醇作为选用保护液。

HiPur Smac SupA-ME 储存条件应在保护液中 2-8℃密封保存。

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	筛板被堵塞	清洗或更换筛板
	填料被堵塞	对介质进行CIP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 μm或0.45 μm) 过滤, 或者离心去除。
样品纯化过程中曲线不稳	样品或缓冲液中有气泡	去除样品或柱子中的气泡 样品和缓冲液进行脱气
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	对介质进行CIP清洗

5. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
HiPur Smac SupA-ME	SA137C20	20ml
HiSelect Smac SupA-ME	SA137C47	4.7ml

