



HiSelect Smac PlasmidSelect

目录

1. 产品介绍.....	1
2. 纯化流程.....	1
3. 填料再生.....	2

1. 产品介绍

Smac PlasmidSelect 是一种亲疏芳香族层析介质，可以选择性的将共价闭环状超螺旋质粒 DNA 和开环的结构分开。**Smac PlasmidSelect** 以高刚性琼脂糖微球为基质，通过化学方法偶联了巯基吡啶配体，该基质的亲水性确保了低水平的非特异性结合。

HiSelect Smac PlasmidSelect 是一种中压预装柱，填充 4.7 ml 的 **Smac PlasmidSelect** 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 AKTA 等，方便客户操作。

表 1. HiSelect Smac PlasmidSelect 产品性能

性能	指标
规格	4.7 ml
基质	高刚性琼脂糖微球
配体	2-巯基吡啶
载量	> 2 mg 超螺旋质粒 DNA/ml 介质
平均粒径	~ 40 μm
最大耐压	0.3 MPa, 3 bar
建议流速	< 220 cm/h
pH 稳定范围	3-13 (工作), 2-14 (CIP)
储存缓冲液	20%乙醇
储存温度	4-30 $^{\circ}\text{C}$
化学稳定性	常见水相溶液，包括 0.1 M 氢氧化钠、1 M 乙酸、30%异丙醇、70%乙醇

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。

平衡液：100 mM Tris, 2.3 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 10 mM EDTA, pH 7.5

洗杂液：100 mM Tris, 2.0 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 10 mM EDTA, pH 7.5

洗脱液：100 mM Tris, 0.3 M NaCl, 1.7 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 10 mM EDTA, pH 7.5

样品稀释液：200 mM Tris, 4.6 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 20 mM EDTA, pH 7.5

2.2 样品准备

上柱之前要确保样品溶液有合适的离子强度和 pH 值，可以用平衡液对样品进行透析，或者用样品稀释液，将样品与溶液按 1: 1 稀释。

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，提高纯化效率和防止堵塞柱子。

2.3 样品纯化

HiSelect Smac PlasmidSelect，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 倍柱体积）。

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。

介质洗脱结束后，用平衡液冲洗 5-10 倍柱体积，然后用纯水冲洗 5-10 倍柱体积，再用 20%乙醇冲洗 2 倍柱体积，置于 2-8 $^{\circ}\text{C}$ 保存。





2.4 琼脂糖电泳检测

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）以及原始样品使用琼脂糖电泳检测纯化效果。

3. 填料再生

HiSelect Smac PlasmidSelect 纯化产品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。

- 用 5 倍柱体积的去离子水平衡填料；
- 用 5 倍柱体积的 0.5 M NaOH 清洗填料；
- 将填料在 0.5 M NaOH 中孵育至少 15 min；
- 用 5 倍柱体积的去离子水平衡填料；
- 最后再用 5 倍柱体积的 20% 的乙醇平衡，然后保存在等体积的 20% 的乙醇中，置于 2-8℃ 保存，防止填料被细菌污染。

4. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
HiSelect Smac PlasmidSelect	SA104C47	4.7ml
HiPur Smac PlasmidSelect	SA104C20	20ml

