HiSelect Smac SP 40 Plus

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

Smac SP 40 Plus 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。

Smac SP 40 Plus 离子交换介质具有以下优势：

流速和床高的操作窗口大，可以进行灵活的工艺设计。

高通量纯化易于优化和扩大规模。

更高的生产效率可提高流程经济性。

介质满足工业对供应安全性，稳定性能和法规支持的需求。

HiSelect Smac SP 40 Plus 是一种中压预装柱，填装 4.7 ml 的 **Smac SP 40 Plus** 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。

Smac SP 40 Plus 是一种强阳离子交换介质，离子交换基团-O-$CH_2CH_2CH_2SO_3^-$。

表 1. HiSelect Smac SP 40 Plus 产品性能

项目	性能
规格	4.7 ml
柱尺寸（内径×高度）	0.77×10 cm
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
平均粒径	35-45 μm
载量	>100 mg lysozyme/ml 介质
建议流速	< 220 cm/h
pH 稳定范围	4-13
储存缓冲液	20%乙醇，0.2M 醋酸钠
储存温度	4 - 30℃
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 Plus 是一种离子介质的预装柱产品，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，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）用洗脱液采用一步法或线性梯度洗脱。一步洗脱中，通常 5-10 倍柱体积洗脱液就足够了。梯度洗脱可以选用 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

1）未使用的填料储存在带盖容器中，将盖子拧紧置于 4-30℃保存。
2）使用过的填料，先用纯水冲洗 5 倍柱体积，再用 20%乙醇冲洗 2 倍柱体积以上，然后将填料置于 4-30℃保存，建议每间隔 1-2 个月用 20%乙醇冲洗 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

名称	货号	规格
Smac SP 40 Plus	SI044005	5 ml
	SI044025	25 ml
	SI044100	100 ml
	SI044500	500 ml
	SI04401L	1 L
	SI04410L	10 L
HiPur Smac SP 40 Plus	SI044C20	1×20 ml
HiSelect Smac SP 40 Plus	SI044C47	1×4.7 ml