



Smartarose and Smartarose CL

目录

1. 产品介绍.....	1
2. 装柱说明.....	1
3. 纯化流程.....	2
4. 清洗及保存.....	3
5. 订购信息及相关产品.....	3

1. 产品介绍

Smartarose 是一种球形琼脂糖凝胶过滤基质, Smartarose 4B 和 Smartarose 6B 的琼脂糖含量分别为 4% 和 6%。Smartarose CL 凝胶是 Smartarose 4B 和 Smartarose 6B 的衍生物, 化学和物理性能更优异, 流速更快。Smartarose CL 凝胶耐有机溶剂, 因此适合在有机溶剂中分离物质。Smartarose 和 Smartarose CL 分离范围较广, 适合对分子量不同的样品进行表征或分离。

表 1. 产品性能

项目	性能			
	4B	6B	CL-4B	CL-6B
Smartarose				
琼脂糖	4%	6%	4%	6%
最佳分离范围	70×10 ³ -20×10 ⁶	10×10 ³ -4×10 ⁶	70×10 ³ -20×10 ⁶	10×10 ³ -4×10 ⁶
粒径	45-165 μm			
推荐线性流速* (cm/h)	11 cm/h	14 cm/h	26 cm/h	30 cm/h
pH 稳定性**	4-9	4-9	3-13	3-13
试剂耐受	耐受凝胶层析常用溶液, 如 8 M 尿素、6 M 盐酸胍。		耐受凝胶层析常用溶液, 如 8 M 尿素、6 M 盐酸胍。也耐受乙醇、DMF、THE、丙酮、DMS、氯仿、二氯甲烷、二氯乙烷、吡啶、磷酸三乙酯和乙腈等有机溶剂。	
物理性能	pH 或离子强度变化引起的体积变化可以忽略不计			
灭菌	化学方法		水蒸气高压灭菌, 120℃, 20 min	

$$\text{线性流速} = \frac{\text{体积流速}(\text{cm}^3/\text{h})}{\text{柱横截面积}(\text{cm}^2)}$$

** pH 范围是我们根据实验和经验估算的。请注意: pH 长期稳定性是指凝胶在长时间内其层析性能不会改变的 pH 范围。pH 短期稳定性是指凝胶再生和清洗时稳定的 pH 范围。

2. 装柱说明

2.1 介质准备

介质保存于 20% 乙醇。装柱前建议将 20% 乙醇抽滤去除, 置换成去离子水。

将 75% 介质和 25% 去离子水混匀, 真空负压脱气。不要使用粘性试剂装柱。装柱完成后, 可以用粘性缓冲液低流速平衡层析柱。

2.2 介质装填

装柱方法有两步, 第二步应在恒压下进行, 柱压见表 2。凝胶层析的分辨率随柱床高度的增加而增加。因此, 柱床高度最好在 60 cm 以上。

表 2. 推荐装柱流速和压力

介质	步骤 1	步骤 2
	流速(cm/h)	压力(MPa, bar, Psi)
Smartarose 4B	15	0.018, 0.18, 2.6
Smartarose 6B	30	0.025, 0.25, 3.6
Smartarose CL-4B	30	0.025, 0.25, 3.6
Smartarose CL-6B	30	0.045, 0.45, 6.4

层析柱的装填 (使用储液器装填)

装柱前根据层析柱直径计算柱子底面积, 根据所需装柱高度计算所需介质体积, 公式如下:

$$V = 1.15\pi r^2 h$$

V: 所需介质体积 ml





1.15: 压缩系数 (不同介质压缩系数不同)

r: 柱管半径 cm

h: 装填高度 cm

- 1) 用去离子水冲洗层析柱底筛板与接头, 确保柱底筛板上无气泡, 关闭柱底出口, 并在柱底部留出1-2 cm的去离子水。
- 2) 将填料悬浮起来, 小心的将浆液连续地倒入层析柱中。用玻璃棒沿着柱壁倒入浆液可减少气泡的产生。
- 3) 如果使用储液器, 应立即在层析柱和储液器中加满水, 将进样分配器放置于浆液表面, 连接至泵上, 避免在分配器或进样管中产生气泡。
- 4) 打开层析柱底部出口, 开启泵, 使其在设定的流速下进行。最初应让缓冲液缓慢流过层析柱, 然后缓慢增加至最终流速, 这样可避免液压对所形成柱床的冲击, 也可以避免柱床形成的不均匀。如果达不到推荐的压力或流速, 可以用你所使用泵的最大流速, 这样也可以得到一个很好的装填效果。(注意: 在随后的色谱程序中, 不要超过最大装柱流速的75%) 当柱床高度稳定后, 在最后的装柱流速下至少再上 2 倍柱床体积的去离子水。标上柱床高度。
- 5) 关闭泵, 关闭层析柱出口。
- 6) 如果使用储液器, 去除储液器, 将分配器置于层析柱中。
- 7) 将分配器推向柱子至标记的柱床高度处。允许装柱液进入分配器, 锁紧分配器接头。
- 8) 将装填好的层析柱连接至泵或色谱系统中, 开始平衡。如果需要可以重新调整分配器。

2.3 柱效测试

为了检验层析柱的质量, 应进行柱效测试, 以确定理论塔板数和峰不对称系数。

洗脱液: 去离子水

样品: 2% (v/v) 丙酮水溶液或者 1 M NaCl 溶液

如图 1 所示计算理论塔板数, 用如下公式: $N/m = 5.54 (V_R/V_h)^2 \times 1000/L$

计算峰不对称系数 (AS) 公式如下: $AS = b/a$ (如图 1 所示)

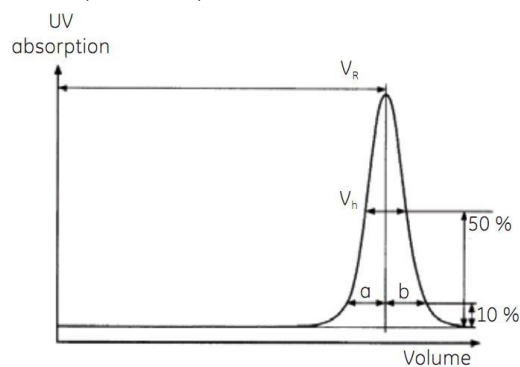


图 1. 柱效检测方法实例

3. 纯化流程

3.1 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。

平衡液为蛋白纯化后, 用于保护蛋白的溶液, 根据客户需求自行选择。

3.2 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, 防止堵塞柱子。

3.3 样品纯化

1) 平衡

上样之前, 用平衡液至少平衡两个柱体积, 或直到基线稳定。含去垢剂的溶液可能需要平衡更长时间。

2) 上样

推荐上样体积为柱体积的 2-5%。可以通过上样管或样品环来上样。纯化流速最高不能超过装柱流速的 70%。

3) 再生

再生通常用水冲洗 2 倍柱体积, 然后用缓冲液冲洗 2-3 倍柱体积, 如果不立刻使用, 则用 20%乙醇平衡后, 4 -30°C 保存。对不同的样品, 建议大约 5 次循环后, 采用完整的在位清洗(CIP)。





4. 清洗及保存

4.1 CIP (Cleaning In Place) 清洗

CIP 是去除以前生产过程中产生的结合过紧密、沉淀或变性的物质。在某些情况下, 介质再生后, 脂质或变性蛋白质等物质仍可能残留在柱上。需要根据原料中已知污染物种类来设计特定的 CIP 程序。

当出现下列情况, 需要对介质进行在位清洗:

- 柱压增高;
- 填料颜色变化明显;
- 分辨率降低;
- 上接头与凝胶表面之间出现空隙;
- 如果反压增高, 在介质清洗前检查阀门、管线等中止情况。

1) 去除非特异性结合蛋白和脂蛋白

用 0.5 M NaOH 清洗一个柱体积, 去离子水或缓冲液平衡至中性, 流速 40 cm/h。

2) 去除一些沉淀或变性物质, 建议使用下面的方法

用 4 倍柱体积的 1.0-2.0 M NaOH 溶液, 流速 40 cm/h 对介质进行清洗, 然后立即用 2-3 倍柱体积的水清洗。

3) 去除一些强结合的疏水蛋白

用 4-10 倍柱体积的 70%乙醇或 30%异丙醇清洗 (使用有机溶剂要梯度清洗, 避免起泡) 或者用含去垢剂的酸或中性溶液。比如, 用 1 M 醋酸溶液含 0.5%非离子型去垢剂, 清洗流速 40 cm/h。随后用 70%乙醇冲洗 5 个柱体积洗去残留去垢剂。

4.2 保存

CIP之后的介质如果不使用可以用20%乙醇, 4 -30°C保存。

5. 订购信息及相关产品

产品名称	货号	规格
Smartarose 4B	SEC0060	25 ml
	SEC0061	100 ml
	SEC0062	500 ml
	SEC0063	1 L
	SEC0064	10 L
Smartarose 6B	SEC0070	25 ml
	SEC0071	100 ml
	SEC0072	500 ml
	SEC0073	1 L
	SEC0074	10 L
Smartarose CL-4B	SEC0080	25 ml
	SEC0081	100 ml
	SEC0082	500 ml
	SEC0083	1 L
	SEC0084	10 L
Smartarose CL-6B	SEC0090	25 ml
	SEC0091	100 ml
	SEC0092	500 ml
	SEC0093	1 L
	SEC0094	10 L

