



# 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.....	3
5. 订购信息及相关产品.....	3

## 1. 产品介绍

**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。

SP 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。

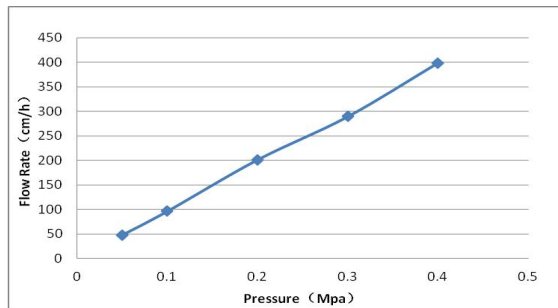


图 1 介质压力流速曲线 (装柱直径 50 mm, 柱高 150 mm)

**Smac SP 40** 是一种强阳离子交换介质，离子交换基团-O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub><sup>-</sup>，具体性能见表 1。

表 1. Smac SP 40 产品性能

项目	性能
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 <sup>+</sup> /ml 介质
粒径	30-60 μm
载量	> 70 mg lysozyme/ml 介质
建议流速	< 200 cm/h
pH 稳定范围	4-13
储存缓冲液	20%乙醇, 0.2 M 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 介质装填

**Smac SP 40** 被广泛应用于工业纯化, 因此, 涉及到各种中低压色谱层析柱的填装, 下面介绍填装层析柱的方法。

#### 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

r: 柱管半径 cm

h: 装填高度 cm

**注意:** 所取悬液体积应为介质体积的两倍, 因为介质体积只占悬液总体积的一半, 另一半为保护液。

- 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) 将介质悬浮起来, 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 3 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。

### 2.4 样品纯化

填料装填好后, 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。

### 2.5 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

### 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容量都下降, 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, pH 7.4 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, pH 7.4 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, pH 7.4 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	SI028025	25 ml
	SI028100	100 ml
	SI028500	500 ml
	SI02801L	1 L
	SI02810L	10 L
lexCap Smac SP 40	SI028C11	1X1 ml
	SI028C51	5X1 ml
	SI028C15	1X5 ml
	SI028C55	5X5 ml

