



HiSelect Smac Butyl 40

目录

1. 产品介绍.....	1
2. 纯化流程.....	1
3. 填料清洗.....	2
4. 订购信息及相关产品.....	2

1. 产品介绍

Smac Butyl 40 属于脂肪族疏水作用介质，配基通过不带电和化学性质十分稳定的醚键连接到琼脂糖微球上，具体性能见表 1。该色谱填料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。

HiSelect Smac Butyl 40 是一种中压预装柱，填充 4.7 ml 的 **Smac Butyl 40** 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. HiSelect Smac Butyl 40 产品性能

性能	指标
基质	高交联琼脂糖微球
配体密度	丁基
动态结合载量	23-35 mg BSA/ml 介质
平均粒径	35-45 μm
建议流速	$\leq 220\text{cm/h}$
pH 稳定范围	3-13
储存缓冲液	20%乙醇
储存温度	2-8 $^{\circ}\text{C}$
化学稳定性	所有常用的水性缓冲液、1 M 氢氧化钠、6 M 盐酸胍、30%异丙醇、70%乙醇
柱尺寸 (内径 \times 高度)	0.77 \times 10 cm

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: 0.05 M 磷酸盐, 1.7 M 硫酸铵, pH7.0

洗脱液: 0.05 M 磷酸盐, pH7.0

注: 疏水层析介质缓冲液可根据不同介质及纯化物质不同做适当改变, 原则上高盐上样低盐洗脱。

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。

样品中盐浓度跟平衡液相同, 通常为 0.5-2.0 M 硫酸铵。

2.3 样品纯化

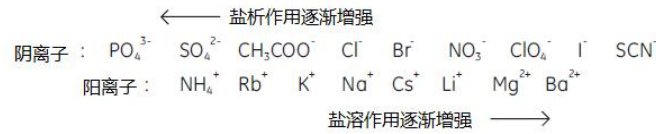
HiSelect Smac Butyl 40 可以用各种常规的中低压色谱系统, 以 ÄKTA 仪器使用为例介绍使用方法。

- 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。再打开下口, 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 倍柱体积洗脱液就足够了。梯度洗脱可以用一个小的梯度, 例如 20 倍柱体积或更多, 来分离不同结合强度的蛋白质。

上述步骤介质洗脱结束后, 先用平衡液冲洗 3 倍柱体积, 然后用纯水冲洗 5 倍柱体积, 再用 20%乙醇冲洗 2 个柱体积, 然后将介质置于 2-8 $^{\circ}\text{C}$ 保存。



注：疏水作用随着温度的降低而降低。可采用非极性有机溶剂如 40-50%乙二醇、30%异丙醇或 1%去污剂（Triton™ X-100）洗脱。不同离子有盐溶与盐析作用强弱不同，如下图



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

疏水层析介质每次使用后可以用分别用 2-3 倍柱体积的 30%异丙醇、3 倍去离子水清洗，然后用至少 3 倍柱体积的 Buffer 进行平衡。

CIP (Cleaning-In-Place) 清洗

疏水层析介质可以重复使用，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介质进行 CIP 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 1M NaOH 溶液进行清洗(至少浸泡 4 小时)，用 3-4 倍柱体积的去离子水清洗，然后用至少 3 倍柱体积的平衡液进行平衡。

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 的 0.1M 醋酸盐清洗（至少 1-2 小时），用 3-4 倍柱体积的去离子水清洗，然后用至少 3 倍柱体积的平衡液进行平衡。

4. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
HiSelect Smac Butyl 40	SH014C47	1×4.7 ml
HiPur Smac Butyl 40	SH014C20	1×20 ml

