



# HiPur Smac Phenyl 40

## 目录

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

## 1. 产品介绍

**Smac Phenyl 40** 是芳香族疏水层析介质，苯基通过不带电、化学性质稳定的醚键连接至高度交联的 6%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。

**HiPur Smac Phenyl 40** 是一种中压预装柱，填充 20 ml 的 **Smac Phenyl 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. HiPur Smac Phenyl 40 产品性能

性能	指标
基质	高交联琼脂糖微球
配体密度	苯基
动态结合载量	25-35mg BSA/ml 介质
平均粒径	35-45 μm
建议流速	≤220cm/h
pH 稳定范围	3-13
储存缓冲液	20% 乙醇
储存温度	2-8 °C
化学稳定性	常用水性缓冲液、1 M 氢氧化钠
柱尺寸 (内径×高度)	1.6 ×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

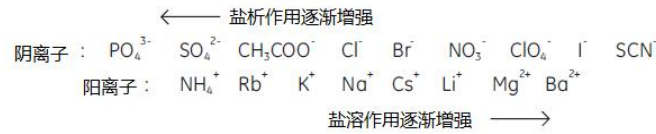
**HiPur Smac Phenyl 40** 可以用各种常规的中低压色谱系统，以 ÄKTA 仪器使用为例介绍使用方法。

- 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°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



### 2.4 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

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 Phenyl 40	SH013C47	1×4.7 ml
HiPur Smac Phenyl 40	SH013C20	1×20 ml

