Octyl Focurose 4FF

为确保产品的性能和无忧的操作，使用前请仔细阅读本手册，有任何疑问请咨询本公司售后技术支持或当地的销售人员（联系方式见附录）。

1.产品介绍

Octyl Focurose 4FF 偶联的疏水性配基在高离子强度条件下（高离子强度会增加配基和疏水性基团的相互作用）可以与蛋白质或抗体表面的一些疏水性基团进行相互作用，从而达到分离纯化的目的。Octyl Focurose 4FF 主要用于初始样品的捕获和中度纯化以及样品的精细纯化。

特点：
a.快速、简单（一步纯化）。
b.与反相层析相比，疏水作用层析介质上的配基浓度低，洗脱条件温和，有助于保持分子的生物活性。
c.应用广，可以单独进行初期捕获、中度纯化、精细纯化，又可以和离子交换介质组合使用。

表1：性能参数

基质	高度交联 4%琼脂糖
粒径范围	45-165μm
平均粒径	90±5μm
配基浓度)	≈5umol/ml（介质）
pH 稳定性	2-14（短期） 3-13（长期）
化学稳定性	所有常用缓冲溶液，1M 乙酸、1M 氢氧化钠、8M 尿素、6M 盐酸胍、30%异丙醇、70%乙醇
流速	≧250cm/h
贮存溶液	20% 乙醇
贮存温度	4-30℃（4-8℃更佳）

表2：影响疏水层析的因素

影响因素	作用机理	处理建议
配基结构	不同的配基与蛋白的结合能力强弱不同	建议预实验筛选合适的介质
配基浓度	配基浓度越高结合能力越强	建议预实验选择最优配基浓度
样品性质	蛋白质的疏水性强弱取决于其表面疏水基团的分布	/
盐的浓度	盐浓度越高，配基和蛋白质结合的越牢固，但过高的盐浓度会导致蛋白沉淀	检测不同盐浓度下蛋白的溶解性和稳定性
盐的种类	不同类型的盐会产生不同的结合效果	优先选择 $(NH_4)_2SO_4$ 和 NaCl
温度	温度越高，蛋白疏水性越强	必须要维持同样的温度，建议维持室温
pH	过高的或过低的 pH 会影响蛋白质的溶解性和稳定性，并且 pH 会影响结合效果	在保证蛋白的溶解性和稳定的前提下，建议 pH 范围在 5.0-8.5

2.溶液制备

平衡液：0.05M PB、1.70M $(NH_4)_2SO_4$，pH 7.0。
洗脱液：0.05M PB，pH 7.0。

3.样品制备

3.1样品所在溶液要和平衡液保持一致，可以用平衡液进行稀释、透析/超滤/G25进行缓冲液置换。
3.2样品过滤（平均粒径<45μm，用0.22μm过滤；45μm<平均粒径<165μm，用0.45μm过滤；平均粒径>165μm，用0.8μm过滤）。

4.纯化流程（以 XK16/10 为例）

4.1 采用液滴对液滴（避免引入气泡）的方式将柱子连接到层析系统上。
4.2 用平衡液以5ml/min的流速冲洗5CV（CV指柱床体积，下同）。
4.3 用洗脱液以5ml/min的流速冲洗5CV。
4.4 用平衡液以5ml/min的流速冲洗10CV。
4.5 将样品以5ml/min的流速上样。
4.6 用平衡液以5ml/min的流速冲洗10CV。
4.7 用洗脱液以5ml/min洗脱5CV或20CV(根据前期筛选实验数据，采用阶梯式洗脱5CV/线性梯度洗脱20CV)。
4.8 用纯化水以5ml/min的流速冲洗5CV。

5.放大

5.1 保持柱床高度不变
5.2 保持线性流速不变
备注：若实际情况和实验室数据有偏差，可以维持停留时间不变。

6.维护

6.1 平衡
柱子装填完成后，用平衡液以 60cm/h 的流速冲洗 5CV 或冲洗至电导和 pH 值恒定。
6.2 再生
每次分离纯化后，用纯化水以 60cm/h 的流速冲洗 5CV。
6.3 在位清洗
在位清洗用于清洗再生没有清洗干净的物质，例如脂类、沉淀物、变性蛋白。
a.沉淀物
用 1.0M NaOH 以 30cm/h 的流速反向冲洗 5CV。
b.脂类、强疏水蛋白。
用 1.0M NaOH，30%异丙醇以 30cm/h 的流速反向冲洗 5CV
6.4 消毒
用 1.0M NaOH 以 30cm/h 的流速反向冲洗 5CV。
6.5 灭菌
将介质置换到 0.5M NaCl ，pH 7.0 的溶液中进行高压灭菌。

6.6 保存

介质在 20%乙醇中 4-30℃保存。

7. 常见问题

表3：常见问题及解决方案

问题	可能原因	解决方案
纯化时目标物不与介质结合或结合量较低	1. 上样量过载	降低上样量
	2. 上样流速过快	降低上样流速
	3. 杂质蛋白或脂类在介质中聚集	及时有效地清洗介质或更换新的介质
	4. 平衡液中盐浓度较低或目标物疏水性较弱	加大平衡液中盐浓度或更换盐的种类或更换结合能力更强的疏水介质
洗脱时没有收集到目标物或只收集到少量目标物	1. 目标物没有与介质结合或结合量较少	先确认目标物是否与介质结合
	2. 洗脱时间不够	降低流速，延长洗脱液的保留时间
	3. 洗脱体积过小	加大洗脱体积
	4. 目标物和介质结合强度太高	降低平衡液中盐浓度或更换盐的种类或或更换结合能力较弱的疏水介质在洗脱液中加入添加剂（少量去污剂或者低浓度有机试剂）
目标物纯度较低	1. 样品没有经过前处理	样品上柱前必须要经过离心或过滤
	2. 样品粘度过高	用平衡液适当的稀释样品，降低粘度。
	3. 洗杂不彻底	加大洗杂体积直至基线平稳并与平衡液一致
	4. 杂质蛋白或脂类在介质中聚集沉淀	及时有效地清洗介质
	5. 洗脱条件不佳，洗脱流速太快、梯度太陡。	优化洗脱条件
	6. 柱料装填效果不佳	重新装填或购买
	7. 分离柱顶部有较大储样体积	重新装柱或降低储样体积
	8. 介质选择性不合适	筛选合适的疏水介质
	9. 介质中有微生物生长	介质使用完后，请及时正确保存介质
介质载量下降	1. 上样流速过快	降低上样流速
	2. 杂质蛋白或脂类在介质中聚集，导致载量下降。	及时清洗介质
	3. 使用次数过多，配基被氧化或脱落	及时清洗介质或更换新介质
色谱峰上升过陡	介质装填过紧	重新装柱
色谱峰上升过缓或拖尾	介质装填太松	重新装柱
柱床有裂缝或干涸	出现泄露或大体积气泡引入	检查管路是否有泄露或气泡，重新装柱
液流较慢	1. 蛋白或脂类聚集	及时清洗介质或滤膜
	2. 目标物沉淀在介质中	调整平衡液和洗脱液组分，以维持目标物的稳定性
	3. 分离柱中微生物生长	所用试剂必须经过过滤和脱气、样品上柱前必须离心或过滤

8. 订购信息

表4：订购信息表

产品	规格	货号
Octyl Focurose 4FF	25ml	HS030303025M
Octyl Focurose 4FF	100ml	HS030303100M
Octyl Focurose 4FF	500ml	HS030303500M
Octyl Focurose 4FF	1L	HS030303001L
Octyl Focurose 4FF	5L	HS030303005L
Octyl Focurose 4FF	20L	HS030303020L

备注：大规格包装产品或其它产品购买，请咨询本公司当地销售或售前技术支持。

9. 联系方式

武汉汇研生物科技有限公司
地址：武汉市东湖新技术开发区高新二路 388 号武汉光谷国际生物医药企业加速器 3.2 期 11 号厂房栋 20 层
电话：027-8777 2229
网址：www.Huiyan-Bio.com
邮箱：Huiyanbio@126.com