Focurose 6FF

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

Focurose 6FF 适用于生物大分子物质的组分分离和中度纯化（去除小分子杂质），例如：病毒颗粒、大分子蛋白、超螺旋 DNA、多糖及大分子复合物。

特点：

a.高（理化）稳定性、高流速（组分分离）、高回收率（可高达 95%）。
b.温和的洗脱条件可以完整的保留生物大分子生物学活性和功能。
c.易于放大。
d.易于维护。

表1：性能参数

介质	高度交联 6%的琼脂糖
粒径范围	45-165μm
平均粒径	90±5μm
分离范围(球蛋白)	10-4000kDa
pH 稳定性	2-12（长期）2-14（短期）
化学稳定性	2M 氢氧化钠、70%乙醇、30%异丙醇、30%乙腈、1%SDS、6M 盐酸胍、8M 尿素
流速	300-700cm/h
最大压力	0.3MPa
高温高压	水中 121℃×20min
贮存溶液	20%乙醇
贮存温度	4-30℃

2.溶液制备

洗脱液：根据客户需求进行配制。
备注：建议在目标溶液中加入一定浓度的盐（至少0.025 M）用来抑制样本和介质的离子作用。

3.样品制备

3.1浓缩样品上样前过滤（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（以装填 XK 16/70 的柱子为例 ）

4.1 清洗

取 140g 的沉降介质，加入 3 倍体积的纯化水重悬后用 G3 砂芯漏斗抽干，重复此步骤两次。

4.2 匀浆

将清洗完的抽干的介质用相同体积(≈140ml)的纯化水进行重悬，用玻璃棒缓慢搅拌均匀。

4.3 准备柱子

a.将柱管、下柱头、适配器以及装柱器用纯化水冲洗干净；

b.安装下柱头后拧紧密封圈；

c.注入 3-5cm 高的纯化水；

d.拧下下堵头，待排出所有气泡后再拧上下堵头；

e.安装装柱器，将层析柱垂直固定在层析系统附近。

4.4 脱气

将匀浆后的介质用真空泵或超声清洗装置进行脱气。

4.5 装柱

a. 将脱气后的介质用玻璃棒或其它搅拌装置温和搅拌均匀后，快速、连续加入（用玻璃棒引流，避免引入气泡）到层析柱中。

b. 快速用纯化水将装柱器上端填满，并装上装柱器盖。

c. 用管路连接层析系统和装柱器后，拧下下堵头，以 3ml/min(90cm/h)的流速压柱 120min 后暂停层析系统。

d. 拧上下堵头，快速取下装柱器，用纯化水填满柱管。

e. 将适配器连接层析系统，待管路中气泡排尽后，将适配器稍微倾斜后插入柱管至介质界面上端 0.5-1cm，拧紧密封圈。

f. 拧下下堵头，以 6ml/min(180cm/h)的流速压柱 30min 后停止层析系统。

g. 标记介质界面刻度，将适配器压至介质界面以下 0.3cm。

4.6 柱效检测

a. 连接层析柱出口至层析系统，用纯化水以 1ml/min(30cm/h)的流速平衡 2CV(柱体积)；

b. 用定量环或上样泵注入 1%CV 的 2%丙酮；

c. 以 1ml/min(30cm/h)的流速运行 1.5CV；

d. 计算 HETP 和 As，HETP≤3h（h 为平均粒径）且 0.7≤As≤1.3 方为合格，否则重装。

4.7 使用

若柱效检测合格可立即使用，以 1ml/min(30cm/min)的流速用平衡液（平衡液中加入 0.15M 氯化钠，抑制可能存在的非特异性吸附）平衡 2CV 后进行进样（建议上样体积≤2.5%CV）分离；若柱效检测合格后，以 1ml/min(30cm/min)的流速用保存液平衡 2CV 后保存。

5.清洗（以装填 XK 16/70 的柱子为例 ）

5.1 用纯化水以1ml/min（30cm/h）冲洗2个CV。

5.2 用1.0M NaOH以1ml/min（30cm/h）的流速冲洗2个CV。

5.3 用纯化水以1ml/min（30cm/h）的流速冲洗2个CV。

5.4 用1.0M 乙酸以1ml/min（30cm/h）的流速冲洗2个CV。。

5.5 用纯化水以1ml/min（30cm/h）的流速冲洗2个CV。

5.6 用70%乙醇以1ml/min（30cm/h）的流速冲洗2个CV。

5.7 用纯化水以1ml/min（30cm/h）的流速冲洗2个CV。

5.8 用20%乙醇以1ml/min（30cm/h）的流速冲洗2个CV。

6. 消毒

6.1 用纯化水以1ml/min（30cm/h）冲洗2个CV。
6.2 用1.0M NaOH以1ml/min（30cm/h）的流速反向冲洗2个CV。
6.3 用纯化水以1ml/min（30cm/h）的流速冲洗2个CV。
6.4 用20%乙醇以1ml/min（30cm/h）的流速冲洗2个CV。

7. 常见问题

表2：常见问题及解决方案

问题	可能原因	解决方法
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
分离度差	1.选择的介质不合适	确定选择的介质是否合适
	2.柱效差	测定柱效
	3.上样量过大	优化最佳的上样量
	4.流速过快	优化最佳的流速
	5.分离柱中微生物生长	更换介质
液流较慢	1.蛋白或脂类聚集	及时清洗介质或滤膜
	2.蛋白沉淀在介质中	调整平衡液和洗脱液组分，以维持目标物的稳定性和介质的结合效率
	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3：订购信息表

产品	规格	货号
Focurose 6FF	25ml	HN060307025M
Focurose 6FF	100ml	HN060307100M
Focurose 6FF	500ml	HN060307500M
Focurose 6FF	1L	HN060307001L
Focurose 6FF	10L	HN060307010L
Focurose 6FF	20L	HN060307020L

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