

## Focurose 30 PG

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 30 PG 是一种凝胶过滤层析介质（也叫体积排阻色谱），适用于实验室和工业生产规模的生物分子精细纯化和缓冲液置换。

特点：

- a. 高耐压，流速快。
- b. 粒径小，分辨率高。
- c. 兼容性好，能耐受更苛刻的清洗条件。

表1：性能参数

| 基质     | 高度交联的琼脂糖和葡聚糖                                     |
|--------|--------------------------------------------------|
| 粒径范围   | 25-45 $\mu$ m                                    |
| 平均粒径   | 35 $\pm$ 5 $\mu$ m                               |
| 分离范围   | $\leq$ 10kDa（球蛋白）                                |
| pH 稳定性 | 3-12（长期） 1-14（短期）                                |
| 耐压     | 0.3MPa                                           |
| 推荐流速   | 30-50cm/h                                        |
| 最大使用流速 | 90cm/h                                           |
| 化学稳定性  | 所有常用溶液：8M 尿素、6M 盐酸胍、70%乙醇、1M 氢氧化钠                |
| 高压灭菌   | 121 $^{\circ}$ C $\times$ 30min(0.5M 氯化钠，pH 7.0) |
| 贮存条件   | 0.2M 醋酸钠，20%乙醇                                   |
| 贮存温度   | 4-30 $^{\circ}$ C                                |

### 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 $<$ 45 $\mu$ m，用0.22 $\mu$ m过滤；45 $\mu$ m $<$ 平均粒径 $<$ 165 $\mu$ m，用0.45 $\mu$ m过滤；平均粒径 $>$ 165 $\mu$ m，用 0.8 $\mu$ m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（ $\approx$ 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

做一流的蛋白•选一流的填料

- 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 7ml/min(210cm/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  $A_s$ ， $HETP \leq 3h$  ( $h$  为平均粒径) 且  $0.7 \leq A_s \leq 1.3$  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  $\leq 2.5\%CV$ ）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 0.5M 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 0.5M 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 30% 异丙醇以 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 0.2M 醋酸钠、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 0.5M 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 0.2M 醋酸钠、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                  | 解决方案                                        |
|-------------|-----------------------|---------------------------------------------|
| 目标峰与杂质峰分辨率差 | 1. 上样体积过大             | 降低上样量至0.5%CV                                |
|             | 2. 样品太粘稠              | 适当的稀释样品                                     |
|             | 3. 流速太快               | 降低流速                                        |
|             | 4. 柱子太短               | 选择更长或更细的柱子                                  |
|             | 5. 死体积过大              | 最小化管路和接头的死体积                                |
|             | 6. 柱子装填不佳             | 重新装柱或使用预装柱                                  |
|             | 7. 样品没有过滤             | 用0.22um或0.45um过滤样品                          |
|             | 8. 介质太脏               | 清洁柱子并重新平衡                                   |
|             | 9. 柱子没有垂直安装           | 重新装柱                                        |
|             | 10. 使用温度不均一           | 推荐维持恒定温度                                    |
| 没有预期的洗脱峰    | 1. 上样量和之前不一致          | 维持同样的上样量                                    |
|             | 2. 蛋白和介质之间有离子作用       | 维持缓冲液中离子强度在0.05-0.15NaCl                    |
|             | 3. 蛋白和介质之间有疏水作用       | 降低离子强度可以最小化疏水作用，也可以通过调高pH、加入去污剂或有机试剂来降低疏水作用 |
|             | 4. 样品在储存的过程中发生改变      | 制备新鲜的样品                                     |
|             | 5. 蛋白和脂类在层析柱中沉淀       | 清洗柱子或更换新的柱子                                 |
|             | 6. 介质中有微生物生长          | 柱子使用过程中不会长菌，存放时必须用20%乙醇保存                   |
| 洗脱峰提前       | 1. 装填的柱子中有间隙          | 重新装柱                                        |
|             | 2. 蛋白形成二聚体或多聚体        | 注意维持样品在实验条件下的稳定性                            |
| 洗脱峰延迟       | 1. 蛋白和介质之间有离子作用或疏水作用。 | 维持缓冲液中离子强度在0.05-0.15NaCl                    |
|             | 2. 介质、滤膜、柱床顶部很脏       | 清洁柱子并重新平衡                                   |
|             | 3. 介质中有微生物生长          | 柱子使用过程中不会长菌，存放时必须用20%乙醇保存                   |
| 色谱峰上升缓慢     | 介质装填过紧                | 重新装柱                                        |
| 色谱峰拖尾       | 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. 蛋白沉淀在介质中           | 调整洗脱液组分，以维持目标物的稳定性                          |
|             | 3. 介质中微生物生长           | 柱子使用过程中不会长菌，存放时必须用20%乙醇保存                   |
|             | 4. 柱床被压缩              | 重新装柱                                        |
| 柱床中出现气泡     | 1. 使用过程中出现温差或管路中有残留   | 重新装柱                                        |
| 压力升高        | 1. 样品混浊               | 制备新鲜的样品                                     |
|             | 2. 管路、筛板堵塞            | 清洗管路、筛板、介质，重新装柱                             |

## 8. 订购信息

表3: 订购信息表

| 产品             | 规格    | 货号           |
|----------------|-------|--------------|
| Focurose 30 PG | 25ml  | HN120208025M |
| Focurose 30 PG | 100ml | HN120208100M |
| Focurose 30 PG | 500ml | HN120208500M |
| Focurose 30 PG | 1L    | HN120208001L |
| Focurose 30 PG | 5L    | HN120208005L |
| Focurose 30 PG | 20L   | HN120208020L |

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流芳园南路 18 号新特工业园

电话：027-8777 2229

网址：[www.Huiyan-Bio.com](http://www.Huiyan-Bio.com)

邮箱：[Huiyanbio@126.com](mailto:Huiyanbio@126.com)

