Focurose 200 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 200 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	25-45μm
平均粒径	35±5μm
分离范围	10-600kDa（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℃×30min(0.5M 氯化钠，pH 7.0)
贮存条件	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 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 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
色谱峰上升缓慢或拖尾	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. 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 200 PG	25ml	HN120210025M
Focurose 200 PG	100ml	HN120210100M
Focurose 200 PG	500ml	HN120210500M
Focurose 200 PG	1L	HN120210001L
Focurose 200 PG	5L	HN120210005L
Focurose 200 PG	20L	HN120210020L

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
邮箱：Huiyanbio@126.com