CM Focurose HP

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技术支持或当地的销售人员。

CM Focurose HP 是弱阳离子交换介质，适用于蛋白、多肽、核酸等所有带电的生物分子的分离纯化。小颗粒设计，多应用样品的精细纯化。

1 产品介绍

特点：
a. 容易放大。
b. 高分辨率。
c. 高化学耐受性。
d. 便于维护。

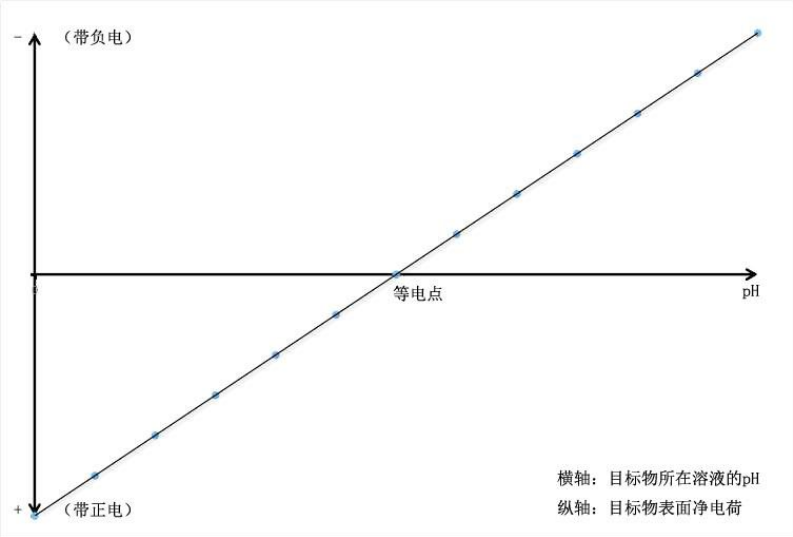
表1：CM Focurose HP 性能参数

基质	6%高度交联的琼脂糖
粒径范围	25-45μm
平均粒径	35±5μm
介质类型	弱阳离子交换
带电基团	$-O-CH_2COO^-$
离子载量	0.09-0.13mmol H^+/ml 介质
操作压力	≤0.3MPa
流速	≥150cm/h
pH 稳定性	6-10（工作）/4-13（长期）/ 2-14（短期）
化学稳定性	常用缓冲液、1.0M 氢氧化钠、8M 尿素、6M 盐酸胍、70%乙醇
避免使用	氧化剂、阳离子型去污剂、阳离子型缓冲液
贮存溶液	20%乙醇
贮存温度	4-30℃

2 选择指导

2.1 离子交换介质的选择

图1：离子交换介质的选择



说明：
a. 当目标物所在溶液的pH<目标物的等电点时，选择阳离子交换介质。
b. 当目标物所在溶液的pH>目标物的等电点时，选择阴离子交换介质。
c. 所使用溶液的pH应该在离子交换介质的使用pH范围以内。

2.2 缓冲溶液的选择

表2：阴离子交换缓冲液

pH 范围	缓冲盐	浓度（mM）	平衡离子	pKa(25℃)
4.3-5.3	N-Methylpiperazine	20	Cl^-	4.75
4.8-5.8	Piperazine	20	Cl^-或 $HCOO^-$	5.33
5.5-6.5	L-Histidine	20	Cl^-	6.04
6.0-7.0	bis-Tris	20	Cl^-	6.48
6.2-7.2	bis-Tris propane	20	Cl^-	6.65
7.3-8.3	Triethanolamine	20	Cl^-或 CH_3COO^-	7.76
7.6-8.6	Tris	20	Cl^-	8.07
8.0-9.0	N-Methyl-diethanolamine	20	SO_4^{2-}	8.52
8.0-9.0	N-Methyl-diethanolamine	50	Cl^-或 CH_3COO^-	8.52
8.4-9.4	Diethanolamine	50	Cl^-	8.88
8.4-9.4	Propane 1,3-Diamino	20	Cl^-	8.88
8.6-9.6	bis-Tris propane	20	Cl^-	9.10
9.0-10.0	Ethanolamine	20	Cl^-	9.50
9.2-10.2	Piperazine	20	Cl^-	9.73
10.0-11.0	Propane 1,3-Diamino	20	Cl^-	10.55
10.6-11.6	Piperidine	20	Cl^-	11.12

表3：阳离子交换缓冲液

pH 范围	缓冲盐	浓度（mM）	平衡离子	pKa(25℃)
1.4-2.4	Maleic acid	20	Na^+	1.92
2.6-3.6	Methyl malonic acid	20	Na^+或 Li^+	3.07
2.6-3.6	Citric acid	20	Na^+	3.13
3.3-4.3	Lactic acid	50	Na^+	3.86
3.3-4.3	Formic acid	50	Na^+或 Li^+	3.75
3.7-4.7	Succinic acid	50	Na^+	4.21
4.3-5.3	Acetic acid	50	Na^+或 Li^+	4.75
5.1-6.1	Succinic acid	50	Na^+	5.64
5.2-6.2	Methyl malonic acid	50	Na^+或 Li^+	5.76
5.6-6.6	MES	50	Na^+或 Li^+	6.27
6.7-7.7	Phosphate	50	Na^+	7.20
7.0-8.0	HEPES	50	Na^+或 Li^+	7.56
7.8-8.8	BICINE	50	Na^+	8.33

说明：

a. 按照表2和表3选择缓冲溶液的种类和浓度。

b. 错误的缓冲液（种类和浓度）会干扰分离效果(如分离度、载量、pH波动等)。

c. 所使用缓冲液的pH应该在离子交换介质的使用pH范围内。

d. 使用分析纯或者更高纯度的缓冲液。

e. 在溶液配制后，须经过滤（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）和脱气处理（超声或负压）。

3 样品的制备

3.1 样品所在溶液要和平衡液保持一致，可以用平衡液稀释或透析/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3ml/min的流速冲洗5CV（CV指柱床体积，下同）。

4.3 用洗脱液以3ml/min的流速冲洗5CV。

4.4 用平衡液以3ml/min的流速冲洗10CV。

4.5 将样品以3ml/min的流速上样。

4.6 用平衡液以3ml/min的流速冲洗10CV。

4.7 用洗脱液以3ml/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 用再生液以3ml/min的流速冲洗5CV。

备注：再生液=平衡液+1M NaCl，其它组分不变。

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，用再生液以 60cm/h 的流速冲洗 5CV 或冲洗至电导和 pH 值恒定。
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.强离子结合蛋白
用 2.0M NaCl 以 60cm/h 的流速反向冲洗 5CV。
b.沉淀物、疏水结合蛋白、脂蛋白
用 1.0M NaOH 以 30cm/h 的流速反向冲洗 5CV。
c.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 订购信息

表4：订购信息表

产品	规格	货号
CM Focurose HP	25ml	HL060203025M
CM Focurose HP	100ml	HL060203100M
CM Focurose HP	500ml	HL060203500M
CM Focurose HP	1L	HL060203001L
CM Focurose HP	5L	HL060203005L
CM Focurose HP	20L	HL060203020L

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。

8 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