

Focurose 4B

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 4B 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、巨大分子蛋白、重组乙型肝炎表面抗原、多糖及大分子复合物。

特点：

- 高（理化）稳定性、高回收率（可高达 95%）。
- 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。
- 易于维护。

表1：性能参数

介质	4%的琼脂糖
粒径范围	45-165 μ m
平均粒径	90 \pm 5 μ m
分离范围(球蛋白)	60-20000kDa
pH 稳定性	4-9（长期） 4-9（短期）
化学稳定性	0.5M 氢氧化钠、6M 盐酸胍、8M 尿素
最大流速	\geq 10cm/h
最大压力	0.015MPa
贮存溶液	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 样品过滤（平均粒径 $<$ 45 μ m，用0.22 μ m过滤；45 μ m $<$ 平均粒径 $<$ 165 μ m，用0.45 μ m过滤；平均粒径 $>$ 165 μ m，用0.8 μ 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（ $\approx 140\text{ml}$ ）的纯化水进行重悬，用玻璃棒缓慢搅拌均匀。

4.3 准备柱子

- 将柱管、下柱头、适配器以及装柱器用纯化水冲洗干净；
- 安装下柱头后拧紧密封圈；
- 注入 3-5cm 高的纯化水；
- 拧下下堵头，待排出所有气泡后再拧上下堵头；
- 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

- 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。
- 快速用纯化水将装柱器上端填满，并装上装柱器盖。
- 用管路连接层析系统和装柱器后，拧下下堵头，以 $3\text{ml}/\text{min}$ ($90\text{cm}/\text{h}$) 的流速压柱 120min 后暂停层析系统。
- 拧上下堵头，快速取下装柱器，用纯化水填满柱管。
- 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。
- 拧下下堵头，以 $3\text{ml}/\text{min}$ ($90\text{cm}/\text{h}$) 的流速压柱 10min 后停止层析系统。
- 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

- 连接层析柱出口至层析系统，用纯化水以 $1\text{ml}/\text{min}$ ($30\text{cm}/\text{h}$) 的流速平衡 2CV (柱体积)；
- 用定量环或上样泵注入 1%CV 的 2%丙酮；
- 以 $1\text{ml}/\text{min}$ ($30\text{cm}/\text{h}$) 的流速运行 1.5CV；
- 计算 HETP 和 A_s ， $\text{HETP} \leq 3h$ (h 为平均粒径) 且 $0.7 \leq A_s \leq 1.5$ 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 $0.15\text{ml}/\text{min}$ ($30\text{cm}/\text{min}$) 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 $\leq 2.5\% \text{CV}$ ）分离；若柱效检测合格后，以 $0.15\text{ml}/\text{min}$ ($30\text{cm}/\text{min}$) 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）

- 用纯化水以 $0.15\text{ml}/\text{min}$ ($30\text{cm}/\text{h}$) 冲洗 2 个 CV。
- 用 1.0M NaOH 以 $0.15\text{ml}/\text{min}$ ($30\text{cm}/\text{h}$) 的流速冲洗 2 个 CV。
- 用纯化水以 $0.15\text{ml}/\text{min}$ ($30\text{cm}/\text{h}$) 的流速冲洗 2 个 CV。
- 用 1.0M 乙酸以 $0.15\text{ml}/\text{min}$ ($30\text{cm}/\text{h}$) 的流速冲洗 2 个 CV。。
- 用纯化水以 $0.15\text{ml}/\text{min}$ ($30\text{cm}/\text{h}$) 的流速冲洗 2 个 CV。
- 用 70% 乙醇以 $0.15\text{ml}/\text{min}$ ($30\text{cm}/\text{h}$) 的流速冲洗 2 个 CV。
- 用纯化水以 $0.15\text{ml}/\text{min}$ ($30\text{cm}/\text{h}$) 的流速冲洗 2 个 CV。
- 用 20% 乙醇以 $0.15\text{ml}/\text{min}$ ($30\text{cm}/\text{h}$) 的流速冲洗 2 个 CV。

6. 消毒

- 6.1 用纯化水以0.15ml/min (30cm/h) 冲洗2个CV。
 6.2 用1.0M NaOH以0.15ml/min (30cm/h) 的流速反向冲洗2个CV。
 6.3 用纯化水以0.15ml/min (30cm/h) 的流速冲洗2个CV。
 6.4 用20%乙醇以0.15ml/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
回收率低	1. 开始收集时间过晚或停止收集时间过早	正确及时的收集目标物
	2. 样本与介质发生疏水作用	提高上样流速或降低洗脱流速
	3. 样本浓度过低	洗脱后样本被稀释, 检测误差增大
	4. 脱盐后目标物质溶解度降低或在等电点附近聚集	适当提高洗脱液中盐浓度或调整合适的pH范围
	5. 样品没有经过前处理	样品上柱前必须要经过离心或过滤
	6. 介质装填效果不佳	重新装填
	7. 分离柱顶部有较大储样体积, 造成目标物洗脱时间延迟	重新装填或购买
	8. 长期使用后蛋白或脂类在介质中聚集沉淀, 造成目标物洗脱时间延迟或残留	及时有效地清洗介质
	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
脱盐效果差	1. 停止收集时间过晚	正确及时的收集目标物
	2. 上样体积略大	适当的降低上样体积或上样浓度
	3. 样品没有经过前处理	样品上柱前必须要经过离心或过滤
	4. 介质装填效果不佳	重新装填
	5. 分离柱顶部有较大储样体积, 造成目标物洗脱时间延迟	重新装填或购买
	6. 长期使用后蛋白或脂类在介质中聚集沉淀, 造成目标物洗脱时间延迟	及时有效地清洗介质
	7. 介质中有微生物生长	介质使用完后, 请及时正确保存介质
色谱峰上升过陡	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 4B	25ml	HN030301025M
Focurose 4B	100ml	HN030301100M
Focurose 4B	500ml	HN030301500M
Focurose 4B	1L	HN030301001L
Focurose 4B	5L	HN030301005L
Focurose 4B	20L	HN030301020L

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

