

Epoxy Focurose 4FF

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

Epoxy Focurose 4FF 是经过 Epoxy 活化的快流速纯化介质，适用于偶联等含有羟基、氨基和巯基的生化小分子。在生物医药纯化工艺中经过反复的验证，得到了广泛的应用。

特点：

- 应用广泛，可适用于偶联含羟基、氨基或巯基的生物分子。
- 偶联简单、灵活、快速、有效，能高效的维持生物分子的生物学活性及稳定性。
- 流速快、产率高、易于放大。

表1：介质性能参数

基质	高度交联 4%的琼脂糖
粒径范围	45-165 μ m
平均粒径	90 \pm 5 μ m
配基浓度	\geq 10 μ mol/ml (介质)
pH 稳定性*	2-14 (长期) 2-14 (短期)
流速	\geq 250cm/h
操作压力	\leq 0.3MPa
贮存溶液	20%乙醇
贮存温度	4-8 $^{\circ}$ C

*：稳定性取决于偶联的配基

2. 溶液制备

- A液：0.1M Na₂CO₃、0.5M NaCl, pH 10.5。
B液：1.0M 乙醇胺, pH 8.0。
C液：0.1M Tris-HCl、0.5M NaCl, pH 8.5。
D液：0.1M 乙酸钠、0.5M NaCl, pH 4.0。
E液：20%乙醇。
F液：0.02M Na₂HPO₄、0.5M NaCl, pH 7.0-7.4。
G液：0.1M Glycine-HCl, pH 2.7。
H液：1.0M Tris-HCl, pH 9.0。

3. 样品制备

- 3.1按200 μ mol/ml的浓度将待偶联样品溶解在A液中，也可以采用透析/超滤/G25将待偶联样品置换到A液中。
3.2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. 偶联流程

- 4.1 取所需量的介质匀浆液至相应规格的砂芯漏斗中抽干。
- 4.2 加入2倍介质体积的纯化水，搅拌均匀后抽干；重复2次。
- 4.3 将介质转移到相应规格的反应器中。
- 4.4 将待偶联样品加入到反应器中，室温条件下温和搅拌约16h。
- 4.5 将介质转移到砂芯漏斗中抽干，保存收集容器中偶联后的溶液。
- 4.6 将介质用5倍B液重悬，室温条件温和搅拌4-16h，抽干。用2倍体积的纯净水清洗，再次抽干。清洗步骤重复两次
- 4.7 加入2倍介质体积的C液，搅拌均匀后抽干；重复2次。
- 4.8 将介质转移到相应规格的反应器中，加入2倍介质体积的C液，室温条件下温和搅拌约2h。
- 4.9 将介质转移到砂芯漏斗中抽干。
- 4.10 加入2倍介质体积的D液，搅拌均匀后抽干。
- 4.11 重复“4.9-4.10”2次。
- 4.12 加入2倍介质体积的E液，搅拌均匀后抽干；重复2次。
- 4.13 将介质转移到相应规格的容器中，加入等体积的E液后保存备用。

5. 偶联效率测定

- 5.1 测定偶联前后溶液中样品含量（ A_{280} 或其它含量测定方法），计算偶联效率。

6. 纯化流程（以 XK16/10 为例）

- 6.1 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。
- 6.2 用纯化水以5ml/min的流速冲洗5个CV。
- 6.3 用F液以5ml/min的流速冲洗10个CV。
- 6.4 将样品以5ml/min的流速上样。
- 6.5 用F液以5ml/min的流速冲洗至紫外吸收值平稳（10-15个CV）。
- 6.6 用G液以5ml/min的流速洗脱10CV。
- 6.7 用纯化水以5ml/min的流速冲洗5个CV。
- 6.8 用E液以5ml/min的流速冲洗5个CV。

7. 清洗（取决于待偶联样品的稳定性）

- 7.1 用6M 盐酸胍冲洗10CV，立即用纯化水冲洗10CV。
- 7.2 用70%乙醇冲洗10CV，立即用纯化水冲洗10CV。
- 7.3 用F液冲洗10CV。

8. 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
偶联效率较低	1. B液盐浓度或pH不对	检测B液配制是否正确
	2. 偶联时间不够	延长偶联时间

	3. 预活化填料不合适	尝试其它种类的预活化填料
纯化时目标物不与介质结合或结合量较低	1. 上样量过载	降低上样量
	2. 上样流速过快	降低上样流速
	3. 蛋白或脂类在介质中聚集	及时有效地清洗介质
	4. 样品在储存或上样过程中失活	正确储存待纯化样品以维持样品的活性
	5. 配基和目标物结合比例比较低	尝试加大偶联时配基浓度
	6. 配基在偶联或清洗过程中降解	检测配基在偶联或清洗中的稳定性
洗脱时没有收集到目标物或只收集到少量目标物	1. 目标物没有与介质结合或结合量较少	降低上样流速并检查介质的结合能力
	2. 洗脱条件不合适	更改相应洗脱条件或增强洗脱液的洗脱能力
	3. 目标物在洗脱液条件下出现聚集沉淀	检测目标物在洗脱液条件（盐浓度和pH等）下的稳定性
目标物纯度较低	1. 样品没有经过前处理	样品上柱前必须要经过离心或过滤
	2. 样品粘度过高	用平衡液适当的稀释样品，降低粘度。
	3. 洗杂不彻底	加大洗杂体积直至基线平稳并与平衡液一致
	4. 杂质蛋白或脂类在介质中聚集沉淀	及时有效地清洗介质
	5. 洗脱条件不佳，洗脱流速太快、梯度太陡。	优化洗脱条件
	6. 目标物出现降解	检测目标物的稳定性
	7. 柱料装填效果不佳	重新装填或购买
	8. 杂质出现非特异性吸附	适当选择添加剂降低非特异性吸附
	9. 分离柱顶部有较大储样体积	重新装柱或降低储样体积
	10. 介质中有微生物生长	介质使用完后，请及时正确保存介质
介质载量下降	1. 上样流速过快	降低上样流速
	2. 蛋白或脂类在介质中聚集，导致载量下降。	及时清洗介质
	3. 使用次数过多，配基出现脱落	重新偶联新的介质
	4. 样品在储存或上样过程中失活，不能较好的与配基结合	正确储存待纯化样品以维持样品的活性
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
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

9. 订购信息

表3: 订购信息表

产品	规格	货号
Epoxy Focurose 4FF	25ml	HQ030303025M
Epoxy Focurose 4FF	100ml	HQ030303100M
Epoxy Focurose 4FF	500ml	HQ030303500M
Epoxy Focurose 4FF	1L	HQ030303001L
Epoxy Focurose 4FF	5L	HQ030303005L
Epoxy Focurose 4FF	20L	HQ030303020L

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。

10. 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

