

Entsalzung und Pufferaustausch von Biomolekülen mittels Gelfiltration/Größenausschlusschromatographie

ROTI®Dex-Säulen für die Chromatographie mittels Zentrifugation

ROTI®Dex bietet eine Gelfiltrations-Matrix aus mit Epichlorhydrin-vernetztem Dextran. Diese ermöglicht eine Form der Gruppentrennung mittels Größenausschlusschromatographie zur Entfernung von Salzen und anderen niedermolekularen Faktoren aus Protein- oder Nukleinsäurelösungen.



Die vorgepackten ROTI®Dex-Zentrifugationssäulen dienen zur Aufreinigung und Entsalzung kleiner Probevolumina (optimal 50 µl) in weniger als 5 Minuten.

Das Säulenbett besteht entweder aus ROTI®Dex-25 Medium (Best.-Nr.: 21A5) oder aus ROTI®Dex-50 Medium (Best.-Nr.: 21A6). Es handelt sich um ein kugelförmiges, poröses Gelfiltrationsmedium, das aus mit Epichlorhydrin-vernetztem Dextran besteht. Das Medium wurde in deionisiertem Wasser gequollen.

Weitere Infos zu ROTI®Dex finden Sie in unserer Technischen Infobroschüre.

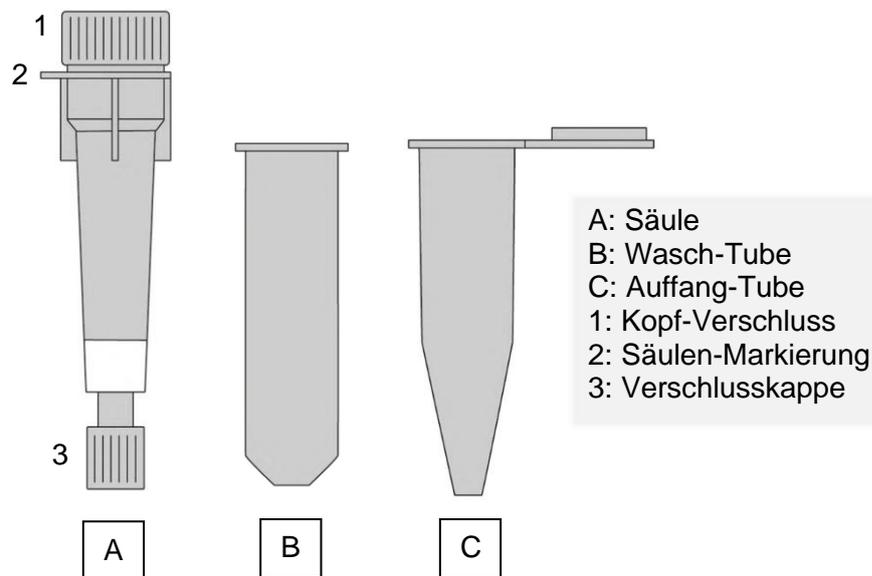
Technische Daten der ROTI®Dex-Spin-Säulen:

Best.-Nr.	Matrix	Partikelgröße (nass)	Gelbettvolumen	Probevolumen	MWCO	Packungsgröße
21C4.1	ROTI®Dex 25 Medium	85 - 260 µm	0,5 ml	2 - 100 µl (50 µl optimal)	Proteine >5 kDa Oligonukleotide >10 bp Nanopartikel >2 nm	25 Stk.
21C5.1	ROTI®Dex 50 Medium	100 - 300 µm	0,5 ml	2 - 100 µl (50 µl optimal)	Proteine >25 kDa Oligonukleotide >20 bp Nanopartikel >4 nm	25 Stk.

Im Folgenden finden Sie unser empfohlenes Protokoll und weitere wichtige Hinweise zur Anwendung der vorgepackten ROTI®Dex Zentrifugationssäulen.

Dieses Protokoll ist nur ein Leitfaden und sollte entsprechend Ihren spezifischen Bedürfnissen angepasst werden.

Achtung! Die Verwendung dieses Produkts ist ausschließlich für geschultes Personal vorgesehen. Die Gebrauchstauglichkeit muss vom Endbenutzer bestimmt werden. Lesen Sie die Anweisungen des Zentrifugenherstellers und tariieren Sie die Proben vor der Verwendung der Zentrifuge richtig aus.



1. Probevorbereitung

- Bei der Größenausschlusschromatographie ist es wichtig, die Konzentration Ihrer Probe weitestgehend hoch zu halten. Demnach ist zu empfehlen, die Probe zuvor durch Zentrifugation herunter zu konzentrieren. Wie hoch Sie die Konzentration halten können, hängt allerdings von Ihren Biomolekülen ab. Beispielsweise sollte eine Proteinkonzentrationen bis zu 70 mg/ml die Trennung bei Verwendung normaler wässriger Puffer nicht beeinflussen.
- Die Probe sollte komplett gelöst sein.

2. Säulenvorbereitung

- Bringen Sie die Säule inkl. Zubehör auf Ihre Arbeitstemperatur.
- Beim Arbeiten mit mehreren Proben empfehlen wir Ihre Säuleneinheiten entsprechend zu beschriften. Beschriften Sie dafür jeweils die Wasch(B)- und Auffang(C)-Tubes an der Außenwand. Bitte nicht die Säulen beschriften.
- Entnehmen Sie die Säule(A) aus dem Wasch-Tube.
- Wichtig bei der Größenausschlusschromatographie ist, dass das komplette Gelbettvolumen genutzt wird. Durch den Transport oder die Lagerung der Säulen, kommt es häufig dazu, dass sich das Gelbett in der Säule verteilt. Wir empfehlen daher, die Säule vorsichtig zu vortexen, bis sich das Gelbett komplett am Boden gesammelt hat. Befindet sich das Gelbett auch im Bereich des Kopf-Verschlusses, so vortexen Sie die Säule auch auf dem Kopf.
- Prüfen Sie, ob das Gelbett luftblasenfrei ist, ansonsten vortexen Sie erneut.
- Entfernen Sie den Kopf-Verschluss(1) und knicken Sie die untere Verschlusskappe(3) ab.
- Setzen Sie die Säule wieder zurück in das Wasch-Tube.

3. Lagerpuffer entfernen und Säule equilibrieren

- a) Setzen Sie die Säuleneinheit in Ihre Zentrifuge. Richten Sie die Säulen-Markierung(2) so aus, dass Sie nach außen zeigt.
- b) Tarieren Sie die Gefäße aus und zentrifugieren Sie bei 1000 x g für 2 Minuten.
- c) Nehmen Sie die Säuleneinheit aus der Zentrifuge und werfen Sie das Wasch-Tube inklusive dem enthaltenen Lagerpuffer.

Optional:

- d) Extra-Waschschritt für eine höhere Entsalzungseffizienz: Geben Sie 400 µl deionisiertes Wasser in die Säule und wiederholen Sie Schritt 3 a) bis c).

oder:

- e) Mit Wunsch-Puffer equilibrieren: Sofern Sie nicht möchten, dass Ihre Probe in Wasser eluiert wird, können Sie die Säule an dieser Stelle mit Ihrem gewünschten Probepuffer equilibrieren. Geben Sie 400 µl Ihres Puffers in die Säule und wiederholen Sie Schritt 3 a) bis c). Wiederholen Sie diesen Vorgang.

Hinweis: Einige Proteine und Nanopartikel können ausfallen, wenn sie in Wasser mit niedriger Ionenstärke eluiert werden.

4. Auftragen und Eluieren der Probe

- a) Bis zu 100 µl Probenvolumen sind möglich. Empfohlen wird ein Probenvolumen von 50 µl.
- b) Tragen Sie Ihre Probe vorsichtig auf das Gelbett auf. Achten Sie dabei darauf, dass Sie die Probe möglichst mittig auftragen, ohne das Gelbett zu berühren.
- c) Setzen Sie Ihre Säule in eines der Auffang-Tubes und platzieren Sie die Säuleneinheit in Ihre Zentrifuge. Achten Sie erneut darauf, dass die Säulen-Markierung und auch der Deckel des Auffang-Tubes nach außen zeigen.
- d) Tarieren Sie die Gefäße aus und zentrifugieren Sie bei 1000 x g für 2 Minuten.
- e) Entnehmen Sie die Säuleneinheit aus der Zentrifuge und werfen Sie die Säule. Ihre aufgereinigte Probe befindet sich im Auffang-Tube.

Größenausschluss-Chromatographiesäulen von Carl Roth

ROTI®Dex-25 Medium Spin	25 Stk.	21C4.1
ROTI®Dex-50 Medium Spin	25 Stk.	21C5.1

Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe • Postfach 100121 • 76231 Karlsruhe
Telefon: +49 (0) 721/ 5606-0 • Fax: +49 (0) 721/ 5606-149 • info@carlroth.de • www.carlroth.de

LH 10/2023

