

Gebrauchsanweisung



ROTI®Spin MINI

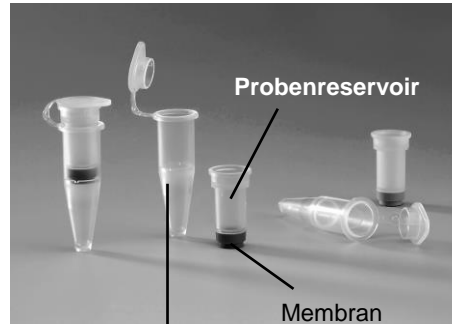
CL12.1, CL13.1, CL14.1, CL15.1

- Einfache und zuverlässige Konzentrierung und Entsalzung von 50 bis 500 µl Probenmaterial in nur 5 bis 15 Minuten
- Schnelle Probenaufbereitung
- Typische Wiedergewinnungsrate von > 90 % (bei richtigem MWCO)
- Ausgestattet mit einer speziell entwickelten, schwach-proteinbindenden Membran
- Mit farbkodiertem MWCO zur einfachen Identifizierung
- Hergestellt aus niedrig-bindendem Polypropylen
- Ultraschall-geschweißte Dichtungen verhindern ein Lecken der Membran und den Verlust der Probe
- Passend für alle Standardzentrifugenrotoren für 1,5 ml Reaktionsgefäße

I. Funktion

Ultrafiltration durch Zentrifugieren. Die Zentrifugalkraft treibt die Probe in Richtung Membran und drückt alle Moleküle, die klein genug sind, durch die Poren. Biomoleküle, die größer als der Nenn-MWCO der Membran sind, werden im Probereservoir zurückgehalten. Lösungen und Moleküle mit niedrigerem Molekulargewicht werden am Boden des Reaktionsgefäßes gesammelt.

Hinweis: Der MWCO stellt keine scharfe Trenngrenze dar, sondern wird definiert durch das Zurückhalten von 90 % eines kugelförmigen Moleküls (im Optimalfall). Mehrere Faktoren, z.B. die ionischen Bedingungen, Wechselwirkungen zwischen den Molekülen und die Tertiärstruktur, können die Retention der Biomoleküle beeinflussen. Es wird empfohlen, die Retention Ihrer biomolekularen Lösung im Voraus zu testen.



Reaktionsgefäß / Filtratsammelgefäß

II. Applikationen (Beispiele)

- Konzentration, Reinigung und Entsalzung von Peptiden, Proteinen, Oligonukleotiden, DNA, und RNA.
- Reinigen von Labelling- und PCR-Reaktionen, z.B. von nicht-inkorporierten Nukleotiden.
- Aufreinigung von Proteinen, Oligonukleotiden und RNA aus Acrylamidgelen.
- Probenvorbereitung für die HPLC-Analyse.

III. Physikalische Parameter

Filtermedium: Modifiziertes Polyethersulfon auf Polyethylensubstrat mit niedriger Proteinbindung
Reaktionsgefäß: Polypropylen
Effektive Filtrationsfläche: 0,28 cm²
Arbeitstemperaturbereich: 0 - 40 °C
pH-Bereich: 1 - 14
Verträgt sich mit einer Reihe von Lösungsmitteln (nicht verträglich mit Ethylacetat)

IV. Abmessungen

Gesamtlänge (mit Kappe): 4,5 cm

V. Kapazität

Max. Probevolumen: 500 µl
Konzentratendvolumen: 15 - 20 µl
Filtratsammelgefäßvolumen: 500 µl
Restmenge (Membran/Träger): <5 µl

VI. Zentrifuge

Passend für Rotoren für 1,5 ml Reaktionsgefäße
Maximale Zentrifugalkraft: 14 000 x g

VII. Wahl des richtigen MWCO

Für eine geeignete und erfolgreiche Anwendung stehen Zentrifugationseinheiten mit 4 farbkodierten MWCO-Membranen zur Verfügung. Folgende Faustregel gilt, um den geeigneten MWCO zu ermitteln:

Zentrifugieren von Proteinen/Peptiden:

MWCO ≤ 1/3 der Molekülgröße der Probe

Zentrifugieren von Nukleinsäuren:

MWCO ≤ 1/2 der Molekülgröße der Probe

MWCO	Größe der Biomoleküle	Molekulargewicht der Biomoleküle
3 kD		10 – 20 kD
10 kD		30 – 90 kD
30 kD		90 – 180 kD
100 kD	30 – 90 nm	> 300 kD

Hinweis für die Ultrafiltration von DNA-Proben:

Gelöste DNA verhält sich nicht wie eher globuläre Proteinmoleküle während der Ultrafiltration. Wir empfehlen, folgende MWCOs zu wählen:

Molekülgröße (Basenpaare)	MWCO
< 50 bp	3 kD
50 – 200 bp	10 kD
200 bp – 1 kb	30 kD
> 1 kb	100 kD

VIII. Reinheit

VIII.1 Sanitisierung

Die Zentrifugationseinheiten werden in unsterilem Zustand geliefert; vor dem Gebrauch kann 70%-iges Ethanol zur Sanitisierung durch das Gefäß gefiltert werden.

1. Füllen Sie den Probebehälter mit 70%-igem Ethanol. Setzen sie die Kappe auf und zentrifugieren Sie bei 14 000 x g, bis die gesamte Flüssigkeit durch die Membran getreten ist.
2. Entsorgen Sie das Filtrat. Entfernen Sie das Restethanol, indem Sie das Gefäß mit sterilem Wasser auffüllen und erneut zentrifugieren.

Benutzen Sie das Gefäß innerhalb von 20 Minuten, um ein Austrocknen der Membran zu verhindern.

VIII.2 Vorspülen (optional)

Infolge des Herstellungsprozesses enthält die Membran Spuren von Glycerin und Natriumazid. Ist zu erwarten, dass diese Reagenzien Auswirkungen auf spätere Analysen der Probe haben, so können sie entfernt werden, indem 500 µl vollentsalztes Wasser bzw. Puffer zweimal durch die Membran gefiltert wird. Zusätzlich können zuvor 500 µl einer 50 mM NaOH-Lösung durch die Membran zentrifugiert werden. Spülen und zentrifugieren Sie dann zweimal mit 500 µl vollentsalztem Wasser bei 14 000 x g für 5 Minuten.

Hinweis: Achten Sie bitte darauf, dass die Membran bis zum Probeauftrag nicht austrocknet!

IX. Durchführung

Die MINI-Filtrationseinheit weist eine sehr schnelle Durchflussgeschwindigkeit auf. In der Regel reichen 4 bis 20 Minuten für eine Probenkonzentration aus.

1. Achten Sie darauf, dass das Probereservoir fest im Sammelgefäß sitzt.
2. Pipettieren Sie 50 - 500 µl Probe in das Probereservoir. Setzen Sie die Kappe auf.
3. Setzen Sie die Filtrationseinheit in einen Festwinkelrotor für 1,5 ml Röhrchen. Variieren Sie den Rotor mit einer gleich befüllten Zentrifugationseinheit aus.
4. Zentrifugieren Sie mit bis zu 14 000 x g für die erforderliche Zeit (ca. 4 - 20 min.), um die erwünschte Konzentration zu erzielen. Zur DNA-Retention sollten 5000 x g nicht überschritten werden.
5. Zentrifuge anhalten und Probereservoir entnehmen. Die konzentrierte Probe wird mit einer Mikropipette aus dem Probereservoir gewonnen.

Hinweis: Es kann den Anschein haben, als wäre die Probe im Probenreservoir „trocken zentrifugiert“. Die Probe kann jedoch durch das Aufpipettieren von ca. 20 µl Wasser bzw. Puffer auf die Membrane leicht zurückgewonnen werden.

Hinweise für besondere Anwendungen:

Das Vorbereiten von Proteinproben für die Elektrophorese ist mit den ROTI®Spin Gefäßen sehr einfach. Pipettieren Sie direkt in das Sammelgefäß zu Ihrer konzentrierten Probe ROTI®Load Auftragpuffer hinzu und erhitzen Sie die Proben wie gewohnt vor Gelauftrag.

Für die Entsalzung bzw. den Pufferaustausch wird die Probe 10-fach konzentriert. Danach wieder 10-fach verdünnen und die Konzentrierung wiederholen.

Wiederholen Sie den Vorgang 3-5 mal, um 95 - 99 % der Salze bzw. Puffer zu entfernen.

X. Trouble Shooting

Problem	
Mögliche Ursache	Empfohlene Lösung
Erforderliche Zentrifugationsdauer zu lang	
Drehzahl zu niedrig	Drehzahl erhöhen, Zentrifuge neu kalibrieren
Bildung einer Gelschicht	Rotoren prüfen, Festwinkelrotor verwenden
Max. mögliche Konzentration erreicht	Lösung zwischen mehreren Gefäßen aufteilen
Verlust der Probenaktivität bei nachfolgenden Assays	
Störung durch Glycerin, bzw. Natriumazid	Filtratgefäße vor Gebrauch vorspülen (siehe VIII.2)
Unverträglichkeit zwischen Biomolekülen und Lösungsmittel	pH einstellen, Puffer wechseln
Proteininteraktionen, Gelschichtbildung	Endkonzentrationsvolumen erhöhen
Biomolekülverlust / Ausbeute zu niedrig	
Biomoleküle werden durch die Membran nicht zurückgehalten	Niedrigeren MWCO wählen
Untereinheiten der Biomoleküle passieren die Membran	Niedrigeren MWCO wählen
Proteine haften an Kunststoff	Mit Glycerin vorbehandeln (siehe XI)
Zentrifugalkraft zu hoch	Drehzahl auf 5000 x g oder weniger reduzieren
Anwesenheit von unerwünschten Molekülen in der Probe	
Falscher MWCO	Höheren MWCO wählen

XI. Vorbehandlung

Das zur Herstellung von ROTI®Spin MINI Zentrifugationseinheiten verwendete Material wurde speziell entwickelt, um die Haftung der Proteine zu reduzieren. Eine gewisse Menge hochabsorbierender Proteine kann allerdings trotzdem an den Kunststoff absorbieren und die Ausbeute reduzieren. In solchen Fällen empfehlen wir folgende Vorbehandlung des Gefäßes:

1. Probebehälter mit 500 µl einer 10 %igen Glycerinlösung füllen.
2. Über Nacht bei Zimmertemperatur inkubieren.
3. Das Glycerin entfernen und mit vollentsalztem Wasser ausspülen, ohne zu zentrifugieren.
4. Mit 500 µl vollentsalztem Wasser füllen. 5 Minuten lang bei 14 000 x g zentrifugieren.
5. Schritt 4 wiederholen.

Hinweis: Stellen Sie bitte sicher, dass die Membran bis zum Probeauftrag nicht austrocknet!

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

ip 07/2021

Die Firma ist eine Kommanditgesellschaft mit Sitz in Karlsruhe, Reg. Gericht Mannheim HRA 100055. Persönlich haftende Gesellschafterin ist die Roth Chemie GmbH mit Sitz in Karlsruhe, Reg. Gericht Mannheim HRB 100428.
Geschäftsführer: André Houdelet

ROTI®Spin MINI-3	25 Stück	CL12.1
ROTI®Spin MINI-10	25 Stück	CL13.1
ROTI®Spin MINI-30	25 Stück	CL14.1
ROTI®Spin MINI-100	25 Stück	CL15.1