

ROTI®Dex

Entsalzung und Pufferaustausch von Biomolekülen mittels Gelfiltration/Größenausschlusschromatographie

Allgemeine Informationen

Die Gelfiltration, oder auch Größenausschlusschromatographie (*size exclusion chromatography*, SEC) genannt, ermöglicht es Biomoleküle aufgrund von Größenunterschieden voneinander zu trennen. Es handelt sich um eine schnelle und effiziente Methode, Proteine, Enzyme, Polysaccharide, Nukleinsäuren und andere Bio-Makromoleküle in nur wenigen Minuten aus einer Lösung zu isolieren.



Das Prinzip dahinter ist die säulenchromatographische Auftrennung der Biomoleküle mittels kleiner Partikel, welche mit tunnelartigen Strukturen verschiedener Größe durchzogen sind (Abb. 1). Der Vernetzungsgrad der Partikel bestimmt dabei den Durchmesser der einzelnen „Tunnel“. Biomoleküle, welche größer sind als diese Tunnel, wandern im Laufe der Chromatographie an den Partikeln vorbei, wobei kleinere Moleküle durch die kleinen Tunnel geschleust werden und somit den längeren Weg auf sich nehmen. Dies hat zur Folge, dass kleinere Moleküle die Matrix deutlich langsamer passieren als größere Moleküle.



Abb. 1 Veranschaulichung eines Partikels einer Gelfiltrationsmatrix

Bei ROTI®Dex handelt es sich um ein Gelfiltrationsmedium aus Epichlorhydrin-vernetztem Dextran. Im Gegensatz zu anderen Chromatographiemodi kommen hierbei keinerlei Wechselwirkungen zwischen dem Analyten und der Matrix zum Tragen. Dies bietet die ideale Grundlage für die Analyse und Aufreinigung intakter Proteine. Außerdem besitzt Dextran eine hohe chemische Stabilität, wodurch diese Methode kompatibel mit vielen organischen und anderen Lösungsmitteln ist. Die Pufferzusammensetzung hat keinen direkten Einfluss auf die Molekültrennung und somit ist diese Technik auch für anspruchsvolle Biomoleküle geeignet, welche eine bestimmte Pufferumgebung benötigen. Die Aufreinigung kann in Gegenwart von essenziellen Ionen, Cofaktoren, Detergenzien, Harnstoff oder Guanidinhydrochlorid stattfinden und ist weitestgehend temperaturunabhängig.

Technische Info

ROTI®Dex für die Entsalzung und den Pufferaustausch

ROTI®Dex ermöglicht eine Form der Gruppentrennung mittels Größenausschlusschromatographie, zur Entfernung von Salzen und anderen niedermolekularen Faktoren aus Protein- oder Nukleinsäurelösungen. Das ROTI®Dex-Sortiment kann für folgende **Anwendungen** eingesetzt werden:

- Pufferaustausch, um Biomoleküle vor nachfolgenden Anwendungen in einen besser geeigneten Puffer zu überführen
- Entfernung von Salzen wie EDTA oder Tris, welche störend für anschließende Experimente sind
- Entfernung nicht umgesetzter radioaktiver Marker wie Adenosintriphosphat (ATP) aus Nukleinsäure-Markierungsreaktionen
- Entfernung nicht-inkorporierter Nukleotide bei der DNA-Sequenzierung
- Entfernung von freien niedermolekularen Markern
- Entfernung von Phenolrot aus Kulturflüssigkeiten vor der Anionenaustauschchromatographie oder Nukleinsäurepräparaten
- Beendigung von Reaktionen zwischen Makromolekülen und niedermolekularen Reaktanten
- Entfernung von Produkten, Kofaktoren oder Inhibitoren aus Enzymlösungen

Die Entsalzung/der Pufferaustausch mittels ROTI®Dex bietet mehrere Vorteile gegenüber der Dialyse. Die Dialyse ist im Allgemeinen eine langsame Technik, die große Puffermengen erfordert und das Risiko birgt, dass Material und Zielproteinaktivität während der Handhabung verloren gehen. Im Folgenden finden Sie alle **Vorteile auf einen Blick**:

- Probenaufbereitung in nur wenigen Minuten
- Entsalzen, Entfernen von Verunreinigungen und Pufferaustausch in einem einzigen Schritt
- Keine Wechselwirkung zwischen Analyt und Medium
- Hohe Selektivität, hohe Auflösung und hohe Ausbeute (> 95%)
- Auch für geringe Probevolumina geeignet
- Hohe chemische Stabilität und damit kompatibel mit vielen organischen und anderen Lösungsmitteln

Das ROTI®Dex-Sortiment bietet sowohl verschiedene **Gelfiltrationsmedien** in Pulverform zum eigenständigen Packen von Säulen, als auch bereits **vorgepackte Fertig-Säulen**. Diese Fertig-Säulen gibt es in folgenden Varianten:

- ROTI®Dex Spin zur schnellen Trennung von Biomolekülen aus kleinen Probevolumina mittels Zentrifugation
- ROTI®Dex Grav zur Trennung von Biomolekülen aus Probevolumina bis zu 10 ml mittels Schwerkraft
- ROTI®Dex FPLC zur Trennung von Biomolekülen mittels Spritz-, Pump- oder FPLC-Systemen



Technische Info

Um eine effiziente Trennung Ihrer Biomoleküle zu erreichen, ist es wichtig, sich für das richtige Gelfiltrationsmedium und auch die passenden Säulen zu entscheiden. Abhängig sollten Sie Ihre Auswahl von folgenden Faktoren machen: Probevolumen, Molekulargewicht oder Größe Ihres Biomoleküls, Art der Anwendung (Spin, Grav, FPLC).

In Tabelle 1 finden Sie eine Übersicht aller ROTI®Dex Fertig-Säulen mit den entsprechenden Gelfiltrationsmedien. ROTI®Dex 25 Medium (Best.-Nr. 21A5) und ROTI®Dex 50 Medium (Best.-Nr. 21A6) sind auch als Trockenpulver erhältlich, sofern Sie Ihre Säulen selbst packen möchten.



Anwendung	Best.-Nr.	Matrix	Partikel-Größe (nass)	Gelbettvolumen	Probevolumen	MWCO	VE
Spin	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.
Grav	21AX.1	ROTI®Dex 25 Medium	85 - 260 µm	1,78 ml	0,15 - 0,3 ml	Proteine >5 kDa, Oligonukleotide >10 bp, Nanopartikel >2 nm	50 Stk.
	21AY.1			2,75 ml	0,5 ml		50 Stk.
	21C0.1			4,31 ml	1 ml		50 Stk.
	21C1.1			10,37 ml	2,5 ml		25 Stk.
	21C2.1			17,2 ml	5 ml		10 Stk.
	21C3.1			34,21 ml	10 ml		10 Stk.
FPLC	21C6.1	ROTI®Dex 25 Superfine	40 - 110 µm	1 ml	0,05 - 0,3 ml	Proteine >5 kDa, Oligonukleotide >10 bp, Nanopartikel >2 nm	5 Stk.
	21C6.2			1 ml	0,05 - 0,3 ml		100 Stk.
	21C7.1			5 ml	0,1 - 1,5 ml		5 Stk.
	21C7.2			5 ml	0,1 - 1,5 ml		25 Stk.
	21C7.3			5 ml	0,1 - 1,5 ml		100 Stk. (4x25)

L.H. 10/2023

