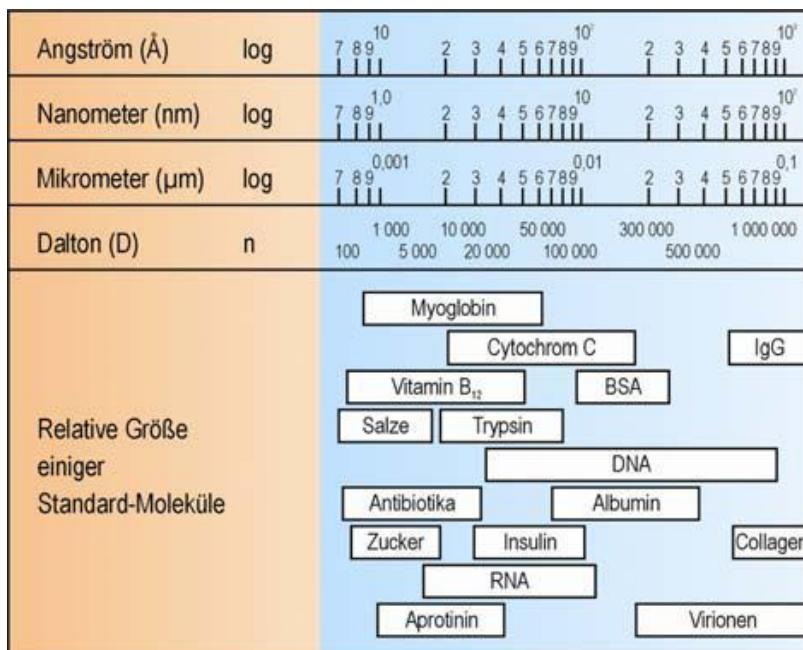
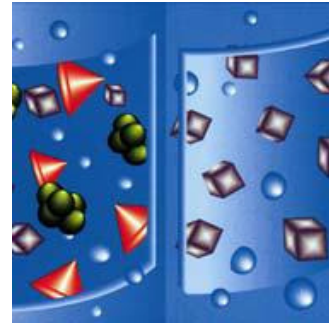


# Dialyse - Anwendungshinweise

- Entsalzen
- Aufkonzentrieren von Plasma oder Serum Puffer- oder pH-Wechsel der Probe
- Präparieren von Proteinen für die Elektrophorese Aufkonzentrieren von Antikörpern
- Entfernen von Kontaminationen
- Reinigung von Zellkulturextrakten
- Entfernen von Oligosacchariden aus Proteinlösungen



## AUSWAHL DER DIALYSIERMEMBRAN

Chemikalienbeständigkeit:

Regenerierte Cellulose: 2 < pH < 12, auch geeignet bei Verwendung von verdünnten Säuren, Laugen oder Lösungsmitteln

Celluloseester: 5 < pH < 9, nur bei neutralen Pufferbedingungen

Flachbreite:

Faustregel:  $\sqrt{\text{Vol (in } \mu\text{l}) / 20}$  ergibt die passende Schlauchbreite in mm. Die Gesamtlänge eines Dialyserschlauchs sollte 10 bis 15 cm nicht überschreiten.

### Bioron

Contact Germany Phone: +49-(0)-621- 5720 915

Contact Singapore Phone +65 6896 6942

**E-Mail: [info@bioron.net](mailto:info@bioron.net)**

**WEB: [www.bioron.net](http://www.bioron.net)**

## MWCO:

Der MWCO (Molecular Weight Cut Off) gibt die Trenngrenze an, die Größe der Moleküle, die noch effizient die Membran passieren. Der MWCO wird immer in Dalton (D oder Da) angegeben und bezeichnet ebenfalls die typische Porengröße der Membran. Hierbei muss man allerdings beachten, dass diese Poren nicht aus „gestanzten, regelmäßigen Löchern“ bestehen, sondern sich durch das Pressen des fädigen Cellulosematerials automatisch ergeben und aus unregelmäßigen Spalten und Öffnungen bestehen. Die Passage der Moleküle durch die Membran wird beeinflusst durch die Molekülkonformation (globuläre Moleküle werden effizienter zurückgehalten als fibrilläre), die Ladung, die Stärke des aufgebauten Diffusionsgradienten, die Hydratisierung etc., wodurch auch Moleküle mit kleinerem MWCO die Membran möglicherweise nicht effizient passieren, während Moleküle mit MW oberhalb des MWCO möglicherweise aus dem Schlauch treten können. Eine Dialyse wird u.a. deshalb niemals eine scharfe Trennung der Moleküle darstellen, sondern eine Anreicherung der großen Moleküle im Inneren der Membran, begleitet von einer (in Abhängigkeit von der Dialysezeit) mehr oder weniger effizienten Entfernung der unerwünschten Moleküle.

Für eine effiziente Separation sollten die zu trennende Moleküle ein Größenverhältnis von ca. 25:1 haben. Man siedelt den MWCO dann etwa „in der Mitte“ an, d.h. etwa 4-5fach über den Molekülen, die entfernt werden sollen und etwa 4- 5fach unter den Molekülen, die in der Membran verbleiben sollen.

Beispiel:

Ein Protein von 15.000 Da soll von SDS (MW: 288,4) befreit werden. Als MWCO werden 2000 oder 3.500 D gewählt.

Faustregel:

Geeigneter MWCO = max.. die Hälfte des Molekulargewichts der in der Membran verbleibenden Makromoleküle, möglichst etwa 1/5.

## AUSWAHL DER KLAMMER

Die Verschlussklammern sollten ca. 4 bis 10 mm breiter als die Flachbreite des Schlauchs sein. Achtung: Membranen aus Celluloseester sind empfindlich und sollten weder geknickt noch geknotet werden.

## VORBEHANDLUNG DER MEMBRANEN

Feucht verpackte Membranen: Schlauch ca. 30min in destilliertes Wasser einlegen, um Natriumazid zu entfernen. Dann mit destilliertem Wasser abspülen.

Trocken verpackte Membranen: Schlauch bei +60 °C ca. 3 bis 4 Stunden in eine Lösung aus 2 % Natriumbicarbonat und 1 mM EDTA einlegen, um Schwermetalle und Sulfide zu entfernen. Dann mit destilliertem Wasser ab- und ausspülen.

Alternativ: 2 x 10 min in 2 % Natriumbicarbonat und 1 mM EDTA kochen, dazwischen und danach mit destilliertem Wasser aus- und abspülen.

---

### **Bioron**

Contact Germany Phone: +49-(0)-621- 5720 915

Contact Singapore Phone +65 6896 6942

**E-Mail: [info@bioron.net](mailto:info@bioron.net)**

**WEB: [www.bioron.net](http://www.bioron.net)**

## ABLAUF EINER DIALYSE

1. Behälter mit Lösung füllen: Die Dialyselösung besteht aus den gleichen Komponenten wie die Probe, ausschließlich der zurückgehaltenen Moleküle. Das Volumen der Lösung sollte ca. das 100-fache des Probevolumens betragen.
2. Magnetrührstäbchen in die Lösung legen.
3. Abschneiden des Dialysierschlauchs.  
Die Länge ergibt sich aus:
  - Dialysierlänge (mm) = [Vol (in µl) x 3,2] / [Schlauchbreite (in mm )]
  - Plus 10 % der Dialysierlänge
  - Plus 4 cm für die Verschlussklammern
4. Ein Ende des vorbereiteten Schlauchs so mit einer Verschlussklammer verschließen, dass mindestens 1 cm des Schlauchs über die Klammer hinausragt.
5. Schlauch umdrehen, anderes Ende öffnen, Probe hineinfüllen und die Luft vorsichtig herausdrücken. Auch dieses Ende mit einer Klammer so verschließen, dass ca. 1 cm Schlauchlänge übersteht.
6. Dialysierschlauch in den bereitgestellten Behälter legen, bedecken und Rührer auf kleiner Stufe einschalten.
7. Die Dialyselösung sollte während des gesamten Dialysiervorgangs mindestens 3 mal gewechselt werden. Empfohlene Wechsel nach 2-4 Stunden, 6-8 Stunden und 10-14 Stunden. Nach dem letzten Wechsel sollte die Dialyse noch min. 2 Stunden fortgesetzt werden.
8. Nach der Dialyse den Schlauch außen abtrocknen, eine Klammer entfernen, den Schlauch öffnen und die Probe mit einer Pipette entnehmen.

---

### **Bioron**

Contact Germany Phone: +49-(0)-621- 5720 915

Contact Singapore Phone +65 6896 6942

**E-Mail: [info@bioron.net](mailto:info@bioron.net)**

**WEB: [www.bioron.net](http://www.bioron.net)**