

## Dialyse

Dialyseschlauch je nach Bedarf mit unterschiedlichem MWCO. Empfehlung: Ausschluß 10.000 Da

### **Vorbereitung der Dialysemembran:**

- Entfernen von kleinen Mengen chemischer Verunreinigungen und Glycerin.
- Dialyseschlauch in einem Becherglas mit 1 l NaHCO<sub>3</sub>-Puffer (1 l 100 mM NaHCO<sub>3</sub>-Puffer: 8,4 g NaHCO<sub>3</sub> in ca. 800 ml ddH<sub>2</sub>O lösen, 10 mM EDTA-Stammlösung hinzugeben, pH 7,0, auf 1000 ml auffüllen) legen. Auf einem heizbaren Magnetrührer bei 60-70° C für 2 h inubieren. Lösung abgießen und den Vorgang wiederholen.
- Dialyseschlauch unter 3maligem Wechsel je 1 h in 1-2 l ddH<sub>2</sub>O unter Rühren bei RT waschen.

**1 l NaHCO<sub>3</sub>-Puffer:** 1 l 100 mM NaHCO<sub>3</sub>-Puffer: 8,4 g NaHCO<sub>3</sub> in ca. 800 ml ddH<sub>2</sub>O lösen, 10 mM EDTA-Stammlösung hinzugeben, pH 7,0, auf 1000 ml auffüllen)

- Das Ende des Dialyseschlauches mit einer Verschlussklammer verschließen.
- Probe mit einer Pasteupipette einfüllen
- Das obere Ende mit einer Verschlussklammer verschließen.
- Den gefüllten Dialyseschlauch in ein Becherglas mit dem 50fachen bis 100fachen Volumen an Dialysepuffer bringen auf einen Magnetrührer stellen.
- Dialyse über Nacht bei 4°C
- Den Schlauch herausnehmen, öffnen und den Inhalt in ein Gefäß ausgießen. Den Rest möglichst vollständig herauspressen.

### **Zu beachten:**

Der Schlauch darf nicht zu stramm befüllt sein, damit noch Ausdehnungsmöglichkeit vorhanden ist.

Sollen bestimmte niedermolekulare Komponenten in der Proteinlösung vollständig entfernt werden, empfiehlt sich ein ein- oder mehrfacher Pufferwechsel.

Proben mit Volumina zwischen 100 µl und 500 µl: In den Deckel eines Reaktionsgefäßes (Eppendorf) ein großes Loch schneiden (z.B. mit einer heißen Nadel). Zwischen Deckel und Gefäß ein Stück gequollene Dialysemembran legen und das Gefäß verschließen. Das Gefäß in den Ständer einsetzen und diese umgedreht auf die Dialysierflüssigkeit legen. Luftblasen unter dem Deckel mit einer Pasteurpipette entfernen. Schwimmen lassen.

Oder: Dialyserahmen verwenden.

**Verluste durch unspezifische Bindung von Proteinen an Schlauch möglich. Unvermeidbar. Nachweis durch Kochen des Schlauchs in Lämmli-Probenpuffer möglich.**