



IAC-Säulen-Handling:

Frage	Antwort
Was ist vor der Benutzung zu beachten?	Die Säulen sollten vor Gebrauch an Raumtemperatur gebracht werden, damit die Bindungsfunktion des Antikörpers optimal ist.
Welche Methanolgehalte tolerieren die Antikörper?	Zu hohe Methanolgehalte sind in den applizierten Proben zu vermeiden, die Spezifikationen im Bezug der Lösungsmittelkonzentrationen: AflaCLEAN /AflaCLEAN Select 11,2% Afla-OtaCLEAN 11,2% OtaCLEAN 16 % Diese sollten nicht überschritten werden, da eine partielle Denaturierung der Antikörper die Bindungseffizienz negativ beeinflusst.
Welche maximalen Volumina dürfen auf die Säulen geladen werden?	Die Probenvolumina bei den 3 mL-Säulen von maximal 50 mL bzw 14 mL für die PBS/Tween –Protokolle sollten nicht überschritten werden, da die Bindungseigenschaften bei größeren Probenvolumina durch Matrixbestandteile stärker beansprucht wird. Für die SMART-Säulen werden Probenvolumina von 10 mL (AflaCLEAN SMART, OtaCLEAN SMART) bis 20 mL (AflaCLEAN M1 SMART) empfohlen.
Welche Matrixmengen sind applizierbar	AflaCLEAN /AflaCLEAN Select 0.4 Gramm (Tween) - 1.4 Gramm AflaCLEAN SMART 0.08 Gramm (Tween) – 0.28 Gramm Afla-OtaCLEAN 0.4 Gramm (Tween) – 1.4 Gramm OtaCLEAN 0.4 Gramm (Tween) – 2 Gramm (feste Matrices) – 8 mL (Flüssige Matrices) OtaCLEAN SMART 0.08 Gramm (Tween) – 0.4 Gramm (feste Matrices) – 1.428 mL (flüssige Matrices) AflaCLEAN M1 Select (50 mL Milch; 5 Gramm Milchpulver)) AflaCLEAN M1 SMART (10 mL Milch, 1 Gramm Milchpulver) ZeaCLEAN SMART (0.5 Gramm Matrix) DONeX (4 Gramm Matrix)
Wie starte ich den Säulenaufreinigungsprozess?	Die Deckel der Säulen und die Luerkappe am Säulenausgang sollten geöffnet werden, um Proben zu laden, ein Entfernen des Lagerpuffers vor Probenaufgabe ist nicht notwendig, die Probe kann direkt auf den restlichen Lagerpuffer in der Säule appliziert werden.
Die Säule läuft nicht, wie kann ich den Prozess starten?	Im Falle, dass die Säule nicht selbstständig läuft, kann ein Klopfen mögliche Luftblasen aus den Fritten entfernen, mittels eines Spritzenadapters oder eines Vakuum-Manifolds kann eine sich im Säulenauslass befindliche Luftblase aus der Säule durch leichten Druck entfernt werden, die Säule sollte dann selbstständig zu laufen anfangen.



Frage	Antwort
	Bei Bearbeitung in einem Vakuum-Manifold ist ein Entfernen der Luftblasen hilfreich, aber nicht zwingend notwendig, da das Vakuum diese aus der Säule zieht.
Wie kann ich Matrixinterferenzen im Eluat vermeiden?	<p>Nach Laden der Probe auf die Säule sollte sichergestellt sein, dass die Probe die Säule passiert hat, bevor die Waschlösung (deionisiertes Wasser) appliziert wird.</p> <p>Eine Vermischung von Probe und Waschlösung stellt nur eine Beeinträchtigung der Reinheit des Eluates dar, hat aber keine Auswirkungen auf die Toxinkonzentration.</p>
Welche Schritte sind zu durchlaufen bei der Eluierung der Säule?	<p>Um die Analyten von der Säule zu eluieren, sollten folgende Schritte beachtet werden.</p> <ol style="list-style-type: none">1. Trocknen des Säulenbettes, um Wasserreste zu entfernen und einer Verfälschung des Elutionsvolumens entgegenzuwirken.2. Das Elutionsmittel (1 mL Methanol) sollte auf das Säulenbett gegeben werden, dieser sollte in das Säulenbett einfließen, um den Antikörper vollständig zu denaturieren.3. Das Elutionsmittel sollte 5 Minuten in das Säulenbett einwirken, bevor dieser aufgefangen wird.4. Es wird mit einem weiteren mL Methanol nacheluiert, hierbei wird keine 5minütige Wartezeit benötigt.5. Eluatreste werden mittels eines Spritzenfilters aus der Säule gedrückt und ebenfalls aufgefangen.6. Die Eluat-Fractionen werden zusammengeführt und stellen das Gesamt-Eluat dar, welches flüssigkeitschromatographisch analysiert werden kann.

Stand: Mai 2023