

User Guide

Amicon® Ultra-4 10K Centrifugal Filter Devices for volumes up to 4 mL

UFC801008D
UFC801024D
UFC801096D

CE **IVD** For in vitro diagnostic use



Languages available

English	2	Lietuviškai	57
Français	7	Magyar	62
Italiano	12	Čeština	67
Deutsch	17	Polski	72
Español	22	日本語	77
Português	27	中文	82
Ελληνικά	32	한국어	87
Nederlands	37	Norsk	92
Dansk	42	Slovenčina	97
Svenska	47	Türkçe	102
Latviski	52		

Introduction

Amicon® Ultra-4 10K centrifugal filter devices provide fast ultrafiltration, with the capability for high concentration factors and easy concentrate recovery from dilute and complex sample matrices. The vertical design and available membrane surface area provide fast sample processing, high sample recovery (typically greater than 90% of dilute starting solution), and the capability for 80-fold concentration. Typical processing time is 10 to 20 minutes. Solute polarization and subsequent fouling of the membrane are minimized by the vertical design, and a physical deadstop in the filter device prevents spinning to dryness and potential sample loss. The concentrate is collected from the filter device sample reservoir using a pipettor, while the ultrafiltrate is collected in the provided centrifuge tube. The device can be spun in a swinging-bucket (for optimal performance) or fixed-angle rotor. Amicon® Ultra-4 10K devices are supplied non-sterile and are for single use only.

Intended Use

Amicon® Ultra-4 centrifugal filter devices are disposable, single-use ultrafiltration filter devices for in vitro diagnostic use for processing biological solutions in the 1-4 mL volume range. They are intended for concentrating biological samples such as serum, urine, cerebrospinal fluid and other body fluids prior to in vitro diagnostic analysis. Device intended to be single-use and used by a laboratory professional.

Applications

- Concentration of biological samples containing antigens, antibodies, enzymes, nucleic acids (DNA/RNA samples, either single- or double-stranded), microorganisms, column eluates, and purified samples
- Purification of macromolecular components found in tissue culture extracts and cell lysates, removal of primer, linkers, or molecular labels from a reaction mix, and protein removal prior to HPLC
- Desalting, buffer exchange, or diafiltration

Materials Supplied

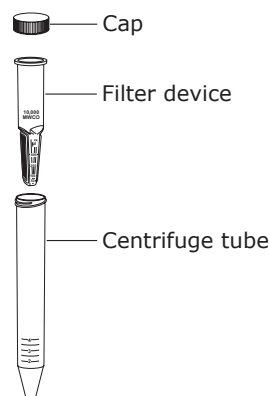
The Amicon® Ultra-4 10K device is supplied with a cap, a filter device, and a centrifuge tube.

Required Equipment

- Centrifuge with swinging-bucket (preferred) or fixed-angle rotor with wells/carriers that can accommodate 17 mm × 124 mm 15 mL conical-bottomed tubes

CAUTION: To avoid damage to the device during centrifugation, check clearance before spinning.

- Pipettor with 200 microliter (μL) tip for concentrate recovery



Suitability

Preliminary recovery and retention studies are suggested to ensure suitability for intended use. See the "How to Quantify Recoveries" section.

Storage and Stability

Refer to product label for storage conditions and shelf life.

Rinsing Before Use

The ultrafiltration membranes in Amicon® Ultra-4 10K devices contain trace amounts of glycerine. If this material interferes with analysis, rinse the device with buffer or Milli-Q® water before use. If interference continues, rinse with 0.1 N NaOH followed by a second spin of buffer or Milli-Q® water.

CAUTION: Do not allow the membrane in Amicon® Ultra filter devices to dry out once wet. If you are not using the device immediately after rinsing, leave fluid on the membrane until the device is used.

How to Use Amicon® Ultra-4 Centrifugal Filter Devices

1. Add up to 4 mL of sample (3.5 mL if using a 23° fixed-angle rotor) to the Amicon® Ultra filter device.
2. Place capped filter device into centrifuge rotor (swinging-bucket preferred); counterbalance with a similar device. Check Centrifuge clearance before use.
3. **When using a swinging-bucket rotor**, spin the device at $4,000 \times g$ maximum for approximately 10–20 minutes.
4. **When using a fixed-angle rotor**, orient the device with the membrane panel facing up and spin at $7,500 \times g$ maximum for approximately 10–20 minutes.

NOTE: Refer to Figure 1 and Table 1 for typical spin times.

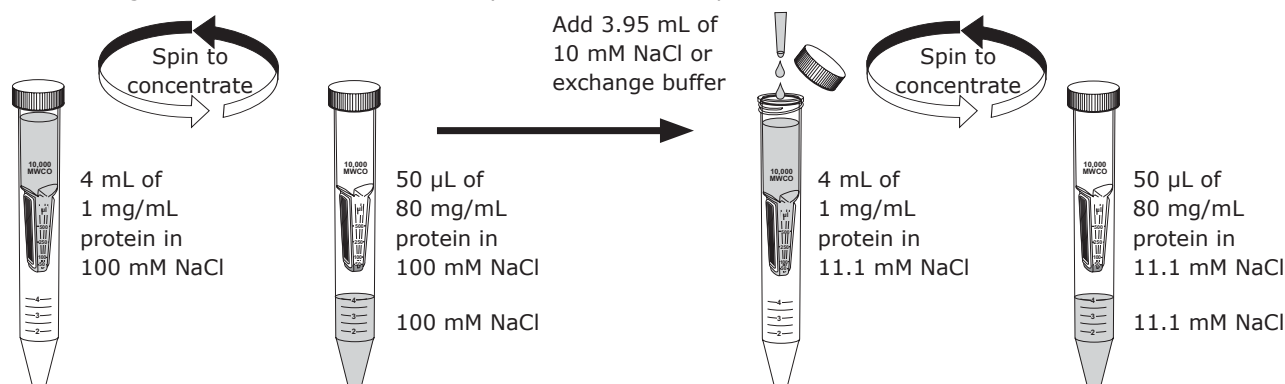
5. To recover the concentrated solute, insert a pipettor into the bottom of the filter device and withdraw the sample using a side-to-side sweeping motion to ensure total recovery. The ultrafiltrate can be stored in the centrifuge tube.

NOTE: For optimal recovery, remove concentrated sample immediately after centrifugation.

NOTE: Filter may not function correctly if allowed to dry out after wetting.

Desalting or Diafiltration

Desalting, buffer exchange, or diafiltration are important methods for removing salts or solvents in solutions containing biomolecules. The removal of salts or the exchange of buffers can be accomplished in the Amicon® Ultra-4 device by concentrating the sample, then reconstituting the concentrate to the original sample volume with any desired solvent. The process of “washing out” can be repeated until the concentration of the contaminating microsolutes has been sufficiently reduced. See example below.

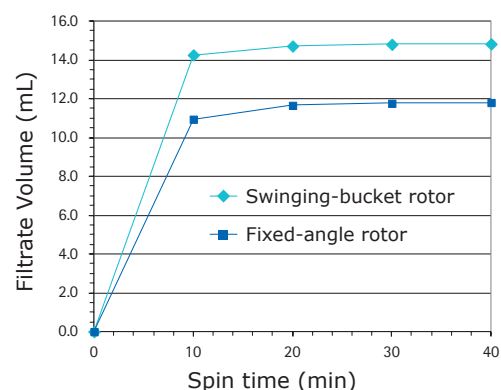


Performance

Flow Rate

Factors affecting flow rate include sample concentration, starting volume, chemical nature of solute, relative centrifugal force, centrifuge rotor angle, membrane type, and temperature. Figure 1 and Table 1 can be used to estimate the time required to achieve a given volume of filtrate or concentrate. A typical spin time for a 4 mL sample is approximately 10 to 20 minutes. While most of the sample is filtered in the first 10 to 15 minutes of centrifugation, the lowest concentrate volume (30–75 μL) is reached after spinning for 15 to 20 minutes.

Figure 1. Typical Filtrate Volume vs. Spin Time



Spin Conditions: Swinging-bucket rotor, $4,000 \times g$, or fixed-angle rotor, $7,500 \times g$, room temperature, 4 mL starting volume. Protein marker used: Cytochrome c, $n=6$.

Table 1. Typical Concentrate Volume vs. Spin Time

Spin time (min)	Concentrate volume (μL)	
	Swinging-bucket rotor $4,000 \times g$	35° Fixed-angle rotor $7,500 \times g$
10	176	97
15	76	54
20	58	35

Spin Conditions: Room temperature, 4 mL starting volume.
Protein marker used: Cytochrome c, $n=6$ (mean value of 3 device lots).
Shaded volumes were used for the calculation of protein recovery in Table 3.

Protein Retention and Concentrate Recovery

The membranes used in Amicon® Ultra devices are characterized by a molecular weight cutoff (MWCO); that is, their ability to retain molecules above a specified molecular weight. Solutes with molecular weights close to the MWCO may be only partially retained. Membrane retention depends on the solute's molecular size and shape. For most applications, molecular weight is a convenient parameter to use in assessing retention characteristics. For best results, use a membrane with a MWCO at least two times smaller than the molecular weight of the protein solute that one intends to concentrate. Refer to Table 2.

Table 2. Typical Retention of Protein Markers

Marker/Concentration	Molecular Weight	Device MWCO	% Retention Swinging-bucket	% Retention Fixed-angle	Spin Time (min)
α -Chymotrypsinogen (1 mg/mL)	25,000	10K	> 95	> 95	15
Cytochrome c (0.25 mg/mL)	12,400		> 95	> 95	15
Vitamin B-12 (0.2 mg/mL)	1,350		< 15	< 15	15

Spin Conditions: Swinging-bucket rotor, $4,000 \times g$, or 35° fixed-angle rotor, $7,500 \times g$, 4 mL starting volume, room temperature, $n=6$ (mean value of 3 device lots).

Factors that determine sample recovery include the nature of the protein solute relative to the device MWCO chosen, starting concentration, and concentration factor. Table 3 provides typical recoveries for the Amicon® Ultra-4 10K device.

Table 3. Typical Concentrate Recovery

Marker/Concentration	Device MWCO	Spin Time (min)	Concentrate Volume (μL)		Concentration Factor (x)		Concentrate Recovery (%)	
			Swinging-bucket	Fixed-angle	Swinging-bucket	Fixed-angle	Swinging-bucket	Fixed-angle
Cytochrome c (0.25 mg/mL)	10K	15	76	54	52.3	76.6	97.3	98.5

Spin Conditions: Swinging-bucket rotor, $4,000 \times g$, or 35° fixed-angle rotor, $7,500 \times g$, 4 mL starting volume, room temperature, $n=6$ (mean value of 3 device lots). The shaded volumes were taken from Table 1.

Maximizing Sample Recovery

Low sample recovery in the concentrate may be due to adsorptive losses, over-concentration, or passage of sample through the membrane.

- Adsorptive losses depend upon solute concentration, its hydrophobic nature, temperature and time of contact with filter device surfaces, sample composition, and pH. To minimize losses, remove concentrated samples immediately after centrifugal spin.
- If the starting sample concentration is high, monitor the centrifugation process in order to avoid over-concentration of the sample. Over-concentration can lead to precipitation and potential sample loss.
- If the sample appears to be passing through the membrane, choose a lower MWCO Amicon® Ultra-4 device.

How to Quantify Recoveries

Calculate total recovery, percent concentrate recovery, and percent filtrate recovery using the method below. The procedure provides a close approximation of recoveries for solutions having concentrations up to roughly 20 mg/mL.

NOTE: Appropriate assay techniques include absorption spectrophotometry, radioimmunoassay, refractive index, and conductivity.

Direct Weighing Procedure

The density of most dilute proteins is nearly equal to the density of water (i.e., 1 g/mL). Using this property, the concentrate and filtrate volumes can be quantified by weighing them and converting the units from grams to milliliters. This technique is valid only for solutions with concentrations of approximately 20 mg/mL or less.

- Before use, separately weigh the empty filter device, the centrifuge tube, and an empty tube for concentrate collection.
- Fill filter device with solution and reweigh.
- Assemble device and centrifuge per instructions.
- Collect the concentrate with a pipettor and dispense it into the preweighed concentrate collection tube.
- Remove the device from the centrifuge tube and weigh the centrifuge tube and concentrate collection tube.
- Subtract weight of empty device/tubes to calculate weights of starting material, filtrate, and concentrate.
- Assay the starting material, filtrate, and concentrate to determine solute concentration.
- Calculate recoveries using the weight/volume data and the measured concentrations as follows:

$$\% \text{ concentrate recovery} = 100 \times \frac{W_c \times C_c}{W_o \times C_o}$$

$$\% \text{ filtrate recovery} = 100 \times \frac{W_f \times C_f}{W_o \times C_o}$$

$$\% \text{ total recovery} = \% \text{ concentrate recovery} + \% \text{ filtrate recovery}$$

W_c = total weight of concentrate before assay
 W_o = weight of original starting material
 W_f = weight of filtrate

C_c = concentrate concentration
 C_o = original starting material concentration
 C_f = filtrate concentration

Specifications

Maximum initial sample volume

Swinging-bucket and fixed-angle rotors (45° and 35°) 4.0 mL

Fixed-angle rotor (23°) 3.5 mL

Typical final concentrate volume 50–100 µL

Maximum relative centrifugal force

Swinging-bucket rotor 4,000 × g

Fixed-angle rotor 7,500 × g

Active membrane area 3 cm²

Dimensions

Filter device in tube (capped)

Length: 124 mm (4.9 in.) Diameter: 17.3 mm (0.7 in.)

Filter device

Length: 73.4 mm (2.9 in.) Diameter: 17.2 mm (0.7 in.)

Materials of construction

Filter device Copolymer styrene/butadiene

Membrane Ultracel® low binding regenerated cellulose

Filtrate tube Polypropylene

Filtrate cap and liner Polyethylene

Filter MWCO 10K

Chemical Compatibility

Amicon® Ultra centrifugal devices are intended for use with biological fluids and aqueous solutions. Before use, check the sample for chemical compatibility with the device. Go to SigmaAldrich.com/FilterChemicalCompatibility for more information.

Symbol Definitions

Symbol	Definition	Symbol	Definition
	In vitro diagnostic medical device		Date of manufacture
	Catalogue number		Manufacturer
	Do not reuse		Non-sterile product
	Use-by date		CE conformity marking
	Batch code		Temperature limit
	Instructions for use available online		Do not use if package is damaged
	Download product documentation online		United Kingdom mark of conformity

Product Ordering

Purchase products online at SigmaAldrich.com.

Description	Qty/Pk	Catalogue Number
Amicon® Ultra-4	8	UFC801008D
	24	UFC801024D
	96	UFC801096D

Notice

We provide information and advice to our customers on application technologies and regulatory matters to the best of our knowledge and ability, but without obligation or liability. Existing laws and regulations are to be observed in all cases by our customers. This also applies in respect to any rights of third parties. Our information and advice do not relieve our customers of their own responsibility for checking the suitability of our products for the envisaged purpose.

Collection and Disposal

All samples must be clearly labelled. Suitable instruments must be used for obtaining and preparing samples.

NOTE: Follow precautions for disposal of items contaminated with potentially infectious or hazardous biological material according to all applicable international, federal, state, and local regulations.

Technical Assistance

Visit the tech service page on our web site at SigmaAldrich.com/techservice.

Any serious incident of this device should be reported to manufacturer and competent authority of country where user is established.

Standard Warranty

The applicable warranty for the products listed in this publication may be found at SigmaAldrich.com/terms.

Revision History

2021-OCT	- IFU PR05779 Date of Issue OCT 2021 - Replaced PR05139. - IFU, Packaging Damage and Temperature Limit symbols added. - Chemical Compatibility and Ordering Information linked to website. - Disposal and Complaints information added. - UK Responsible Person and UKCA symbol information added
----------	---

Introduction

Les filtres à centrifuger Amicon® Ultra-4 10K assurent une ultrafiltration rapide, avec des facteurs de concentration élevés et une récupération aisée du concentrat à partir de matrices complexes et diluées. La conception verticale et la surface de membrane disponible offrent un traitement rapide de l'échantillon, une récupération élevée de l'échantillon (typiquement supérieure à 90 % de la solution de départ diluée) et la capacité d'atteindre des facteurs de concentration de 80 fois. Le temps de traitement se situe généralement entre 10 et 20 minutes. La polarisation du soluté et le colmatage de la membrane qui en résulte sont réduits au minimum par la conception verticale du dispositif et par une zone d'arrêt de concentration dans le filtre qui évite de centrifuger jusqu'à l'assèchement et une potentielle perte d'échantillon. Le concentrat est recueilli dans le réservoir à échantillon du dispositif en utilisant une pipette, tandis que l'ultrafiltrat est recueilli dans le tube à centrifuger fourni. Le dispositif peut être traité dans une centrifugeuse à rotor à godets mobiles (pour une performance optimale) ou à angle fixe. Les dispositifs Amicon® Ultra-4 10K sont fournis non stériles et sont exclusivement conçus pour un usage unique.

Utilisation prévue

Les filtres à centrifuger Amicon® Ultra-4 sont des filtres d'ultrafiltration jetables à usage unique de diagnostic in vitro destinés au traitement des solutions biologiques d'un volume de 1 à 4 ml. Ils servent à concentrer les échantillons biologiques tels que le sérum, l'urine, le liquide céphalo-rachidien et autres fluides corporels avant une analyse de diagnostic in vitro. Dispositif prévu pour un usage unique à destination des professionnels de laboratoire.

Applications

- Concentration d'échantillons biologiques contenant des antigènes, des anticorps, des enzymes, des acides nucléiques (ADN/ARN, simple ou double brin), des micro-organismes, des éluats de colonne et des échantillons purifiés
- Purification de composés macromoléculaires présents dans les extraits de culture tissulaire ou les lysats cellulaires; élimination d'amorces, de linkers ou de marqueurs moléculaires d'un mélange réactionnel et élimination de protéines avant HPLC
- Dessalage, échange de tampon ou diafiltration

Matériel fourni

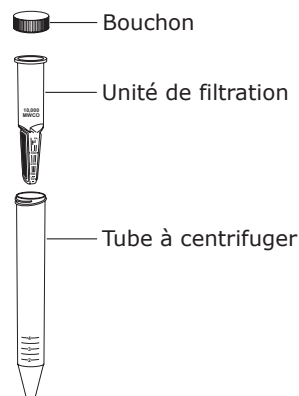
Le dispositif Amicon® Ultra-4 10K comprend un bouchon, une unité de filtration et un tube à centrifuger.

Équipement requis

- Centrifugeuse à rotor à godets mobiles (de préférence) ou à angle fixe munie de portoirs pouvant recevoir des tubes à fond conique de 15 ml (17 mm × 124 mm)

MISE EN GARDE: Pour éviter d'endommager le dispositif pendant la centrifugation, vérifier que tout est bien dégagé avant de lancer une centrifugation.

- Pipette avec embout de 200 microlitres (µl) pour la récupération du concentrat



Adéquation

Il est suggéré de réaliser des études préliminaires de récupération et de rétention afin de s'assurer de l'adéquation avec l'utilisation envisagée. Voir la section "Méthode pour quantifier les récupérations".

Stockage et stabilité

Se référer à l'étiquette du produit pour connaître les conditions de stockage et la date de péremption.

Rinçage avant utilisation

Les membranes d'ultrafiltration contenues dans les dispositifs Amicon® Ultra-15 10K contiennent des traces de glycérine. Si ce produit interfère avec l'analyse, rincer le dispositif avec du tampon ou de l'eau Milli-Q® avant utilisation. Si l'interférence persiste, rincer avec du NaOH 0,1 N, suivi d'une seconde centrifugation avec du tampon ou de l'eau Milli-Q®.

MISE EN GARDE: Ne pas laisser la membrane des dispositifs Amicon® Ultra s'assécher complètement une fois qu'elle a été mouillée. Si le dispositif n'est pas utilisé immédiatement après le rinçage, laisser du fluide au contact de la membrane jusqu'à ce que le dispositif soit utilisé.

Comment utiliser les filtres à centrifuger Amicon® Ultra-4

1. Ajouter jusqu'à 4 ml d'échantillon (3,5 ml avec un rotor à angle fixe de 23°) dans l'unité de filtration Amicon® Ultra.
2. Placer le dispositif de filtration bouché dans le rotor à centrifuger (à godets mobiles de préférence); équilibrer avec un dispositif similaire. Vérifier que tout est bien dégagé dans la centrifugeuse avant utilisation.
3. **Avec un rotor à godets mobiles**, centrifuger à $4\,000 \times g$ maximum pendant environ 10-20 minutes.
4. **Avec un rotor à angle fixe**, orienter le dispositif de façon à ce que la membrane soit tournée vers le haut et centrifuger à $7\,500 \times g$ maximum pendant environ 10-20 minutes.

REMARQUE: Se reporter à la Figure 1 et au Tableau 1 pour connaître les temps de centrifugation typiques.

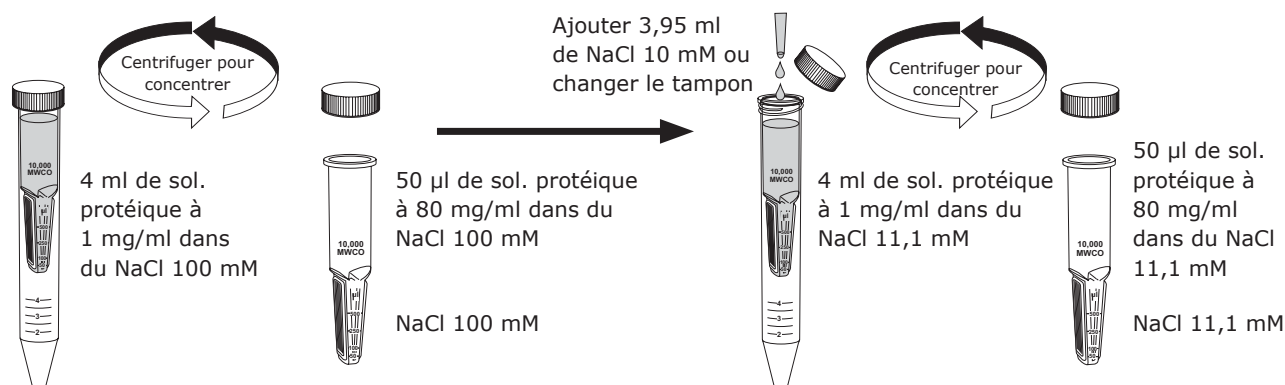
5. Pour récupérer le soluté concentré, insérer une pipette dans le fond du dispositif de filtration et prélever l'échantillon en faisant un mouvement de balayage d'un côté à l'autre pour une récupération totale. L'ultrafiltrat peut être stocké dans le tube à centrifuger.

REMARQUE: Pour une récupération maximale, retirer l'échantillon concentré immédiatement après la centrifugation.

REMARQUE: Le filtre peut ne pas fonctionner correctement s'il a complètement séché après avoir été mouillé.

Dessalage ou diafiltration

Le dessalage, l'échange de tampon ou la diafiltration constituent des méthodes importantes pour éliminer sels et solvants des solutions contenant des biomolécules. L'élimination de sels ou l'échange de tampons peuvent être réalisés dans une unité Amicon® Ultra-4 en concentrant l'échantillon, puis en reconstituant le concentrat avec le solvant de son choix pour retrouver le volume d'origine de l'échantillon. Le processus d'élimination par lavage peut être répété jusqu'à ce que la concentration du microsoluté contaminant ait été suffisamment réduite. Voir l'exemple ci-dessous.

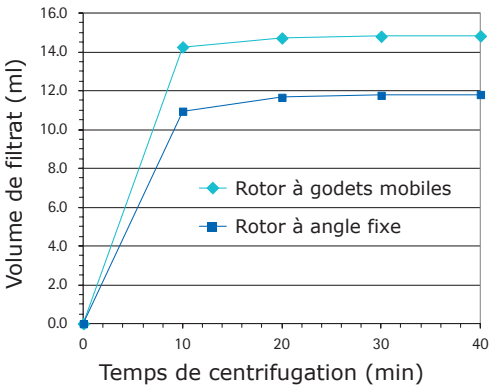


Performances

Débit

Les facteurs susceptibles d'affecter le débit sont la concentration de l'échantillon, le volume de départ, la nature chimique du soluté, la force centrifuge relative, l'angle du rotor de la centrifugeuse, le type de membrane et la température. La Figure 1 et le Tableau 1 peuvent être utilisés pour estimer le temps requis pour atteindre un volume de filtrat ou de concentrat donné. Le temps de centrifugation typique pour un échantillon de 4 ml est d'environ 10 à 20 minutes. Bien que la majeure partie de l'échantillon soit filtrée dans les 10 à 15 premières minutes de la centrifugation, le volume de concentrat le plus faible (30-75 µl) est atteint après une centrifugation de 15 à 20 minutes.

Figure 1. Volume typique du filtrat en fonction du temps de centrifugation



Conditions de centrifugation: Rotor à godets mobiles et 4 000 × g ou rotor à angle fixe et 7 500 × g, température ambiante, volume de départ 4 ml.
Marqueur protéique utilisé: Cytochrome c, n=6.

Tableau 1. Volume typique du concentrat en fonction du temps de centrifugation

Temps de centrifugation (min)	Volume de concentrat (µl)	
	Godets mobiles, 4 000 × g	Angle fixe de 35°, 7 500 × g
10	176	97
15	76	54
20	58	35

Conditions de centrifugation: Température ambiante, volume de départ de 4 ml.
Marqueur protéique utilisé: Cytochrome c, n=6 (valeur moyenne sur 3 lots de dispositif).
Les volumes des cases grisées ont été utilisés pour le calcul de la récupération des protéines du Tableau 3.

Rétention des protéines et récupération du concentrat

Les membranes utilisées dans les dispositifs Amicon® Ultra sont caractérisées par un seuil de coupure (MWCO), qui reflète leur capacité à retenir les molécules dont le poids moléculaire est supérieur à un seuil spécifié. Les solutés dont le poids moléculaire est proche du MWCO pourront n'être que partiellement retenus. La rétention de la membrane dépend de la taille moléculaire et de la forme du soluté. Pour la plupart des applications, le poids moléculaire est un paramètre pratique à utiliser pour déterminer les caractéristiques de rétention. Pour de meilleurs résultats, utiliser une membrane dont le MWCO est au moins deux fois inférieur au poids moléculaire du soluté protéique que l'on souhaite concentrer. Se référer au Tableau 2.

Tableau 2. Rétention typique de marqueurs protéiques

Marqueur/Concentration	Poids moléculaire	MWCO du dispositif	% de rétention - godets mobiles	% de rétention - angle fixe	Temps de centrifugation (min)
α-Chymotrypsinogène (1 mg/ml)	25 000	10K	> 95	> 95	15
Cytochrome c (0,25 mg/ml)	12 400		> 95	> 95	15
Vitamine B-12 (0,2 mg/ml)	1 350		< 15	< 15	15

Conditions de centrifugation: Rotor à godets mobiles et 4 000 × g ou rotor à angle fixe à 35° et 7 500 × g, volume de départ 4 ml, température ambiante, n=6 (valeur moyenne sur 3 lots de dispositif).

Les facteurs qui déterminent la récupération de l'échantillon incluent la nature du soluté protéique par rapport au MWCO du dispositif choisi, la concentration initiale et le facteur de concentration. Le Tableau 3 indique les pourcentages de récupération typiques pour les dispositifs Amicon® Ultra-4 10K.

Tableau 3. Récupération typique du concentrat

Marqueur/Concentration	MWCO du dispositif	Temps de centrifugation (min)	Volume de concentrat (µl)		Facteur de concentration (x)		Récupération du concentrat (%)	
			Rotor à godets mobiles	Rotor à angle fixe	Rotor à godets mobiles	Rotor à angle fixe	Rotor à godets mobiles	Rotor à angle fixe
Cytochrome c (0,25 mg/ml)	10K	15	76	54	52,3	76,6	97,3	98,5

Conditions de centrifugation : Rotor à godets mobiles et 4 000 × g ou rotor à angle fixe à 35° et 7 500 × g, volume de départ 4 ml, température ambiante, n=6 (valeur moyenne sur 3 lots de dispositif). Les volumes des cases grisées proviennent du Tableau 1.

Maximiser la récupération de l'échantillon

Une faible récupération de l'échantillon dans le concentrat peut être due à des pertes par adsorption, à une sur-concentration ou au passage de l'échantillon à travers la membrane.

- Les pertes par adsorption dépendent de la concentration du soluté, de sa nature hydrophobe, de la température et du temps de contact avec les surfaces du dispositif de filtration, de la composition de l'échantillon et du pH. Afin de réduire au minimum les pertes, il convient de retirer l'échantillon concentré immédiatement après la centrifugation.
- Si la concentration de l'échantillon de départ est élevée, surveiller le processus de centrifugation afin d'éviter une sur-concentration de l'échantillon. Une sur-concentration peut entraîner une précipitation et une perte d'échantillon potentielle.
- Si l'échantillon semble passer à travers la membrane, choisir un dispositif Amicon® Ultra-4 de MWCO plus faible.

Comment quantifier les récupérations

Calculer la récupération totale, le pourcentage de récupération du concentrat et le pourcentage de récupération du filtrat à l'aide de la méthode ci-dessous. Cette méthode fournit une bonne approximation des récupérations pour les solutions d'une concentration jusqu'à environ 20 mg/ml.

REMARQUE : Les techniques d'analyse appropriées sont la spectrophotométrie d'absorption, le radio-immunoessai, la mesure de l'indice de réfraction et la conductivité.

Méthode par pesée directe

La densité de la plupart des protéines diluées est pratiquement égale à la densité de l'eau (c'est-à-dire 1 g/ml). En utilisant cette propriété, les volumes de concentrat et de filtrat peuvent être quantifiés en les pesant et en convertissant les unités de grammes en millilitres. Cette technique n'est valable que pour les solutions d'une concentration inférieure ou égale à environ 20 mg/ml.

- Avant utilisation, peser séparément l'unité de filtration vide, le tube à centrifuger et un tube vide destiné au recueil du concentrat.
- Remplir l'unité de filtration de solution et peser à nouveau.
- Assembler le dispositif et centrifuger selon les instructions.
- Recueillir le concentrat à l'aide d'une pipette et le verser dans le tube de recueil du concentrat prépesé.
- Retirer l'unité de filtration du tube à centrifuger et peser le tube à centrifuger et le tube de recueil du concentrat.
- Retrancher le poids de l'unité/des tubes vides pour calculer les poids de l'échantillon de départ, du filtrat et du concentrat.
- Tester l'échantillon de départ, le filtrat et le concentrat afin de déterminer la concentration du soluté.
- Calculer les récupérations en utilisant les résultats du poids/volume et les concentrations mesurées de la manière suivante:

$$\% \text{ de récupération du concentrat} = 100 \times \frac{P_c \times C_c}{P_o \times C_o}$$

$$\% \text{ de récupération du filtrat} = 100 \times \frac{P_f \times C_f}{P_o \times C_o}$$

$$\% \text{ de récupération totale} = \% \text{ de récupération du concentrat} + \% \text{ de récupération du filtrat}$$

P_c = poids total du concentrat avant essai

P_o = poids de l'échantillon de départ à l'origine

P_f = poids du filtrat

C_c = concentration du concentrat

C_o = concentration de l'échantillon de départ à l'origine

C_f = concentration du filtrat

Spécifications

Volume d'échantillon initial maximum

Rotors à godets mobiles et à angle fixe (45° et 35°) 4,0 ml

Rotor à angle fixe (23°) 3,5 ml

Volume typique du concentrat final 50-100 µl

Force centrifuge relative maximum

Rotor à godets mobiles 4 000 × g

Rotor à angle fixe 7 500 × g

Surface de filtration efficace 3 cm²

Dimensions

Unité de filtration dans le tube (bouché)

Longueur: 124 mm

Diamètre: 17,3 mm

Unité de filtration

Longueur: 73,4 mm

Diamètre: 17,2 mm

Matériaux constitutifs

Unité de filtration Copolymère styrène/butadiène

Membrane Cellulose régénérée à faible adsorption Ultracel®

Tube à filtrat Polypropylène

Liner et bouchon à filtrat Polyéthylène

Filtre MWCO 10K

Compatibilité chimique

Les filtres à centrifuger Amicon® Ultra sont prévus pour être utilisés avec des fluides biologiques et des solutions aqueuses. Avant utilisation, vérifier la compatibilité chimique de l'échantillon avec le dispositif. Rendez-vous sur SigmaAldrich.com/FilterChemicalCompatibility pour en savoir plus.

Définition des symboles

Symbole	Définition	Symbole	Définition
	Dispositif médical de diagnostic in vitro		Date de fabrication
	Référence		Fabricant
	Ne pas réutiliser		Produit non stérile
	Date limite d'utilisation		Marquage de conformité CE
	Numéro de lot		Limites de température
	Instructions d'utilisation disponibles en ligne		Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé
	Télécharger la documentation produit en ligne		Marque de conformité pour le Royaume-Uni

Commande de produits

Acheter les produits en ligne sur SigmaAldrich.com.

Description	Qté/pqt	Référence
Amicon® Ultra-4	8	UFC801008D
	24	UFC801024D
	96	UFC801096D

Avis

Nous fournissons à nos clients des informations et des conseils relatifs aux technologies et aux questions réglementaires en lien avec leurs applications au mieux de nos connaissances et compétences, mais sans obligation ni responsabilité. Les lois et réglementations existantes doivent dans tous les cas être respectées par nos clients. Cela s'applique également au respect des droits des tiers. Nos informations et nos conseils ne dispensent pas nos clients de leur propre responsabilité de vérifier l'adéquation de nos produits avec l'utilisation envisagée.

Collecte et mise au rebut

Tous les échantillons doivent être clairement étiquetés. Des instruments adaptés doivent être utilisés pour le prélèvement et la préparation des échantillons.

REMARQUE: Prendre des précautions lors de la mise au rebut d'articles contaminés par des substances biologiques potentiellement infectieuses ou dangereuses, conformément à l'ensemble des réglementations internationales, nationales, régionales et locales.

Assistance technique

Consulter la page Internet de notre Service technique à l'adresse SigmaAldrich.com/techservice.

Tout incident grave survenu avec le dispositif doit faire l'objet d'une notification au fabricant et à l'autorité compétente du pays dans lequel l'utilisateur est établi.

Garantie

La garantie applicable aux produits figurant dans cette publication est disponible sur SigmaAldrich.com/terms.

Historique des révisions

OCT-2021	• Instructions d'utilisation PR05779 publiées en OCT 2021 - remplacement de PR05139. • Ajout des symboles correspondant aux instructions d'utilisation, à l'endommagement de l'emballage et aux limites de température. • Ajout de liens vers le site Internet pour la compatibilité chimique et les informations pour commander. • Ajout d'informations sur la mise au rebut et les plaintes. • Ajout de la personne responsable pour le Royaume-Uni et d'informations sur le symbole UKCA.
----------	--

Introduzione

I dispositivi centrifughi Amicon® Ultra-4 10K consentono di ultrafiltrare rapidamente i campioni, garantendo elevati fattori di concentrazione e un semplice recupero del concentrato anche da matrici diluite e complesse. Il design verticale e l'area della superficie attiva della membrana garantiscono velocità nel trattamento dei campioni, elevati recuperi (di solito superiori al 90% della soluzione iniziale) e la possibilità di concentrare i campioni fino di 80 volte. Il tempo di processamento varia solitamente tra 10 e 20 minuti. La polarizzazione del soluto ed il conseguente sporcamento della membrana sono minimizzati dal design verticale; un dispositivo fisico d'arresto della filtrazione evita di centrifugare fino a secco, con il rischio di perdere il campione. Il concentrato viene prelevato con una pipetta dal serbatoio portacampione dell'unità filtrante, mentre l'ultrafiltrato si raccoglie nella provetta da centrifuga fornita con il dispositivo. Questi ultrafiltri possono essere utilizzati sia in un rotore basculante (prestazioni ottimali), sia ad angolo fisso. Le unità Amicon® Ultra-4 10K sono dispositivi monouso e NON sono fornite sterili.

Uso previsto

I dispositivi centrifughi Amicon® Ultra-4 sono ultrafiltri monouso per applicazioni diagnostiche in vitro, destinati al trattamento di volumi tra 1 e 4 mL di soluzioni biologiche. Essi possono essere utilizzati per concentrare campioni biologici come siero, urine, liquido cefalorachidiano e altri fluidi corporei prima dell'analisi diagnostica in vitro. Si tratta di unità monouso, destinate all'impiego da parte di personale di laboratorio.

Applicazioni

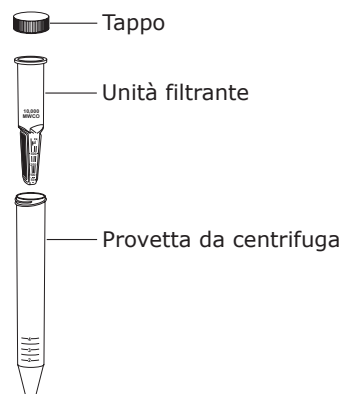
- Concentrazione di campioni biologici contenenti antigeni, anticorpi, enzimi, acidi nucleici (campioni di DNA/ RNA a singolo o doppio filamento), microrganismi, eluati di colonne e campioni purificati
- Purificazione di macromolecole da estratti di colture tissutali e da lisati cellulari, rimozione di primer, linker e marcatori da miscele di reazione ed eliminazione di proteine prima delle analisi HPLC
- Desalazione, scambio di tampone o diafiltrazione

Materiale incluso

I dispositivi Amicon® Ultra-4 10K comprendono un tappo, un'unità filtrante ed una provetta da centrifuga.

Attrezzatura richiesta

- Centrifuga con rotore basculante (preferibile) o ad angolo fisso con alloggiamenti/cestelli in grado di ospitare provette a fondo conico da 17 mm x 124 mm con capacità di 15 mL
- ATTENZIONE:** per evitare di danneggiare i dispositivi durante la centrifugazione, prima di cominciare a centrifugare verificare che lo spazio libero sia adeguato.
- Pipetta con puntali da 200 microlitri (µL) per il recupero del concentrato



Idoneità

Per accertare la compatibilità del sistema con le proprie applicazioni, si consiglia di effettuare studi preliminari sul recupero e la ritenzione. Consultare il paragrafo "Come quantificare i recuperi".

Conservazione e stabilità

Per informazioni sulle condizioni di conservazione e la scadenza del prodotto, consultare l'etichetta.

Risciacquo preliminare

Le membrane da ultrafiltrazione dei dispositivi Amicon® Ultra-4 10K contengono tracce di glicerina. Se essa interferisce con le analisi, prima dell'uso risciacquare le unità con tampone o con acqua Milli-Q®. Se ciò non fosse sufficiente, effettuare un risciacquo con NaOH 0,1 N seguito da una seconda centrifugazione con tampone o con acqua Milli-Q®.

ATTENZIONE: una volta bagnata, non lasciare che la membrana dell'unità Amicon® Ultra vada a secco. Se il dispositivo non verrà utilizzato immediatamente dopo il risciacquo, lasciare il fluido sulla membrana fino al momento dell'impiego.

Come utilizzare i dispositivi centrifughi Amicon® Ultra-4

1. Aggiungere fino a 4 mL di campione (3,5 mL se si utilizza un rotore ad angolo fisso da 23°) al dispositivo Amicon® Ultra.
2. Introdurre nel rotore della centrifuga (preferibilmente basculante) un dispositivo tappato; bilanciarlo con una unità di pari peso. Prima di centrifugare, controllare che lo spazio libero sia sufficiente perché i dispositivi non si danneggino durante la centrifugazione.
3. **Se si utilizza un rotore basculante**, centrifugare al massimo a $4.000 \times g$ per 10-20 minuti circa.
4. Invece, **con un rotore ad angolo fisso**, orientare l'unità filtrante in modo che la membrana sia rivolta verso l'alto e centrifugare ad una velocità massima di $7.500 \times g$ per circa 10-20 minuti.

N.B. Per i tempi di centrifugazione tipici, fare riferimento alla Figura 1 ed alla Tabella 1.

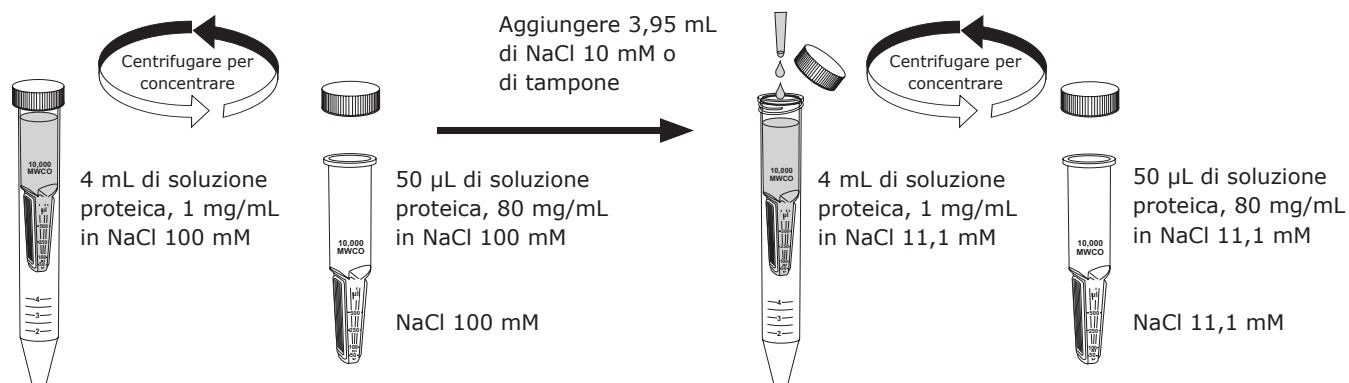
5. Per recuperare il concentrato, introdurre una pipetta sul fondo dell'unità filtrante e prelevare il campione con un ampio movimento da una parte all'altra del dispositivo, per assicurare un recupero completo. L'ultrafiltrato può essere conservato nella provetta da centrifuga.

N.B. Per massimizzare il recupero, rimuovere il concentrato immediatamente dopo la centrifugazione.

N.B. Se, dopo il risciacquo preliminare, il filtro viene lasciato asciugare potrebbe non funzionare in modo appropriato.

Desalazione o diafiltrazione

Desalazione, scambio di tampone o diafiltrazione sono procedimenti di grande importanza per la rimozione di sali o di solventi da soluzioni che contengono biomolecole. Nei dispositivi Amicon® Ultra-4, la rimozione dei sali o lo scambio dei tamponi possono essere effettuati concentrando il campione e poi ricostituendo il concentrato fino al volume originale con il solvente desiderato. Il processo di "lavaggio" può essere ripetuto finché la concentrazione del microsoluti contaminante non sia stata sufficientemente ridotta. Vedere il seguente esempio.

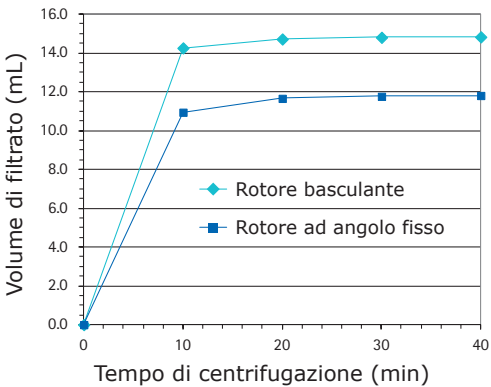


Prestazioni

Portata

I fattori che concorrono a determinare la portata sono la concentrazione del campione, il volume di partenza, la natura chimica del soluto, la forza centrifuga relativa, l'angolo del rotore, il tipo di membrana e la temperatura. La Figura 1 e la Tabella 1 possono essere utilizzate per stimare il tempo necessario per raggiungere un determinato volume di filtrato o di concentrato. Per un campione di 4 mL, la centrifugazione viene solitamente protratta tra 10 e 20 minuti circa. Benché la maggior parte del campione venga filtrata nei primi 10–15 minuti di centrifugazione, il volume minimo di concentrato (30–75 µL) può essere raggiunto solo dopo aver centrifugato per 15–20 minuti.

Figura 1. Volume di filtrato tipico vs. tempo di centrifugazione



Condizioni di centrifugazione: rotore basculante a 4.000 x g, oppure rotore ad angolo fisso a 7.500 x g, temperatura ambiente, volume iniziale 4 mL.
Marcatore proteico utilizzato: citocromo c, n=6.

Tabella 1 Volume tipico di concentrato vs. tempo di centrifugazione

Tempo di centrifugazione (min)	Volume del concentrato (µL)	
	Rotore basculante a 4.000 x g	Rotore ad angolo fisso (35°) a 7.500 x g
10	176	97
15	76	54
20	58	35

Condizioni di centrifugazione: temperatura ambiente, volume iniziale 4 mL.
Marcatore proteico utilizzato: citocromo c, n=6 (valore medio su 3 lotti di unità).
I volumi nelle caselle più scure sono stati utilizzati per calcolare i recuperi proteici riportati in Tabella 3.

Ritenzione di proteine e recupero nel concentrato

Le membrane dei dispositivi Amicon® Ultra sono classificate in base al taglio molecolare (MWCO) che si riferisce alla capacità della membrana di trattenere le molecole aventi peso molecolare maggiore del valore specificato. I soluti con peso molecolare vicino al MWCO potrebbero essere trattenuti solo parzialmente. Benché la ritenzione da parte di una membrana dipenda dalle dimensioni e dalla forma delle molecole del soluto, il peso molecolare è un parametro comodo per stimare la capacità di ritenzione nella maggior parte delle applicazioni. Per risultati ottimali, consigliamo di utilizzare una membrana con MWCO almeno due volte più piccolo rispetto al peso molecolare della proteina da concentrare. Fare riferimento alla Tabella 2.

Tabella 2. Ritenzione tipica dei marcatori proteici

Marcatore/Concentrazione	Peso molecolare	MWCO del dispositivo	Ritenzione % Rotore basculante	Ritenzione % Angolo fisso	Tempo di centr. (min)
α-Chimotripsinogeno (1 mg/mL)	25.000	10K	> 95	> 95	15
Citocromo c (0,25 mg/mL)	12.400		> 95	> 95	15
Vitamina B-12 (0,2 mg/mL)	1.350		< 15	< 15	15

Condizioni di centrifugazione: rotore basculante a 4.000 x g oppure rotore ad angolo fisso di 35° a 7.500 x g, volume iniziale 4 mL, temperatura ambiente, n=6 (valore medio su 3 lotti di unità).

I fattori da cui dipende il recupero del campione sono la natura della proteina disciolta relativamente al MWCO del dispositivo prescelto, la concentrazione iniziale ed il fattore di concentrazione. In Tabella 3 sono riportati i recuperi tipici per i dispositivi Amicon® Ultra-4 10K#.

Tabella 3. Recupero nel concentrato tipico

Marcatore/Concentrazione	MWCO del dispositivo	Tempo di centr. (min)	Volume di concentrato (µL)		Fattore di concentrazione (x)		Recupero nel concentrato (%)	
			Rotore basculante	Angolo fisso	Rotore basculante	Angolo fisso	Rotore basculante	Angolo fisso
Citocromo c (0,25 mg/mL)	10K	15	76	54	52,3	76,6	97,3	98,5

Condizioni di centrifugazione: rotore basculante a 4.000 x g, oppure rotore ad angolo fisso di 35° a 7.500 x g, volume iniziale 4 mL, temperatura ambiente, n=6 (valore medio su 3 lotti di unità). I volumi delle caselle più scure sono stati ricavati dalla Tabella 1.

Come massimizzare il recupero dei campioni

Scarsi recuperi di campione nel concentrato possono essere dovuti all'adsorbimento aspecifico, a eccessiva concentrazione, oppure al passaggio del campione attraverso la membrana.

- Le perdite dovute all'adsorbimento aspecifico dipendono dalla concentrazione e dalla idrofobicità del soluto, dalla temperatura, dal tempo di contatto con le superfici dell'unità filtrante, dalla composizione del campione e dal pH. Per minimizzare tali perdite, rimuovere dalle unità filtranti i campioni concentrati immediatamente dopo averli centrifugati.
- Se il campione iniziale è molto concentrato, monitorare la centrifugazione per evitare di concentrarlo troppo con il conseguente rischio di precipitazione e di perdita di campione.
- In caso di evidenza del passaggio del campione attraverso la membrana, scegliere un dispositivo Amicon® Ultra-4 con MWCO inferiore.

Come quantificare i recuperi

Per calcolare recupero totale, recupero percentuale nel concentrato e recupero percentuale nel filtrato, utilizzare il metodo che segue. Questa procedura consente di determinare con buona approssimazione i recuperi per le soluzioni con concentrazioni fino a circa 20 mg/mL.

N.B. Tecniche analitiche appropriate sono la spettrofotometria d'assorbimento, i saggi radioimmunologici, l'indice di rifrazione e la conducibilità.

Metodo della pesata diretta

La densità della maggior parte delle soluzioni proteiche diluite è quasi uguale a quella dell'acqua (cioè, 1 g/mL). Sulla base di questa proprietà, è possibile quantificare i volumi del concentrato e del filtrato pesandoli e trasformando le unità di misura da grammi in millilitri. Questa tecnica è valida solo per le soluzioni con concentrazione inferiore o uguale approssimativamente a 20 mg/mL.

- Prima dell'uso, pesare separatamente l'unità filtrante vuota, la provetta da centrifuga e una provetta vuota in cui verrà raccolto il concentrato.
- Riempire l'unità filtrante con la soluzione e ripesarla.
- Assemblare il dispositivo e centrifugare come da istruzioni.
- Prelevare il concentrato con una pipetta e trasferirlo nella provetta di raccolta precedentemente pesata.
- Rimuovere l'unità filtrante dalla provetta da centrifuga; pesare la provetta da centrifuga e quella contenente il concentrato.
- Per calcolare i pesi della soluzione iniziale, del filtrato e del concentrato, sottrarre il peso dell'unità filtrante/delle provette.
- Sottoporre ad opportuna analisi materiale iniziale, filtrato e concentrato per determinare la concentrazione del soluto.
- Calcolare i recuperi sulla base dei dati di peso/volume e delle concentrazioni misurate, come segue:

$$\text{recupero \% nel concentrato} = 100 \times \frac{P_c \times C_c}{P_o \times C_o}$$

P_c = peso totale del concentrato prima dell'analisi
 P_o = peso del materiale di partenza
 P_f = peso del filtrato

$$\text{recupero \% nel filtrato} = 100 \times \frac{P_f \times C_f}{P_o \times C_o}$$

C_c = concentrazione nel concentrato
 C_o = concentrazione nel materiale di partenza
 C_f = concentrazione nel filtrato

recupero % totale = recupero % nel concentrato + recupero % nel filtrato

Specifiche

Volume massimo di campione iniziale

Rotore basculante e ad angolo fisso (45° e 35°)	4,0 mL
Rotore ad angolo fisso (23°)	3,5 mL

Volume finale tipico di concentrato

50–100 µL

Forza centrifuga relativa massima

Rotore basculante	4.000 × g
Rotore ad angolo fisso	7.500 × g

Superficie attiva della membrana

3 cm²

Dimensioni

Unità filtrante nella provetta (tappata)

Lunghezza: 124 mm Diametro: 17,3 mm

Unità filtrante

Lunghezza: 73,4 mm Diametro: 17,2 mm

Materiali di fabbricazione

Unità filtrante	Copolimero stirene/butadiene
Membrana	Ultracel®, cellulosa rigenerata a ridotto adsorbimento
Provetta del filtrato	Polipropilene
Tappo ed inserto della provetta del filtrato	Polietilene
Filtro	MWCO 10K

Compatibilità chimica

I dispositivi centrifughi Amicon® Ultra sono stati progettati per l'impiego con fluidi biologici e soluzioni acquose. Prima di utilizzarli, verificare che i campioni da trattare siano chimicamente compatibili. Per maggiori informazioni, consultare la pagina SigmaAldrich.com/FilterChemicalCompatibility.

Significato dei simboli

Simbolo	Definizione	Simbolo	Definizione
	Dispositivo medico-diagnostico "in vitro"		Data di fabbricazione
	Numero di catalogo		Produttore
	Non riutilizzare		Prodotto non sterile
	Usare entro il		Marchio di conformità CE
	N° di lotto		Temperatura limite
	Istruzioni per l'impiego disponibili online		Non utilizzare se la confezione è danneggiata
	Scaricare online la documentazione sul prodotto		Marchio di conformità del Regno Unito

Informazioni per gli ordini

Acquistare i prodotti online su SigmaAldrich.com.

Descrizione	Qtà/conf	N° catalogo
	8	UFC801008D
Amicon® Ultra-4	24	UFC801024D
	96	UFC801096D

Avvertenza

Ai nostri Clienti forniamo informazioni e consigli su tecnologie applicative e questioni legislative al meglio delle nostre conoscenze e capacità, senza che ciò comporti alcun obbligo o responsabilità da parte nostra. In ogni caso i Clienti sono tenuti all'osservanza delle leggi e delle norme in vigore, anche in relazione a eventuali diritti di terzi. Le informazioni e gli avvisi forniti non sollevano i Clienti dalla responsabilità di verificare l'idoneità dei nostri prodotti per lo scopo perseguito.

Raccolta dei campioni e smaltimento dei rifiuti

Tutti i campioni devono essere etichettati con chiarezza. Per ottenere e preparare i campioni, è necessario utilizzare gli strumenti appropriati.

N.B. Per lo smaltimento degli articoli che potrebbero essere contaminati da materiali infetti o da agenti biologici pericolosi, attenersi alle precauzioni previste dalle pertinenti normative internazionali, statali regionali e locali.

Assistenza tecnica

Visita la pagina del Servizio Tecnico nel nostro sito internet all'indirizzo SigmaAldrich.com/techservice.

Qualunque incidente grave dovesse verificarsi utilizzando questi dispositivi dovrà essere denunciato da parte dell'utilizzatore al produttore e alle autorità competenti del paese in cui opera.

Condizioni generali di garanzia

Le condizioni di garanzia applicabili ai prodotti citati nella presente pubblicazione possono essere consultate alla pagina SigmaAldrich.com/terms.

Cronologia delle revisioni

2021-OCT	• IFU PR05779 Data di pubblicazione OTT 2021 in sostituzione di PR05139. • Aggiunti simboli IFU, Confezione danneggiata e Temperatura limite. • Aggiunti link per la consultazione online della compatibilità chimica e delle informazioni per gli ordini. • Aggiunte informazioni sullo smaltimento e i reclami. • Aggiunto nome della persona responsabile in UK e simbolo UKCA.
----------	--

Einleitung

Amicon® Ultra-4 10K Zentrifugen-Filtereinheiten ermöglichen eine schnelle Ultrafiltration mit hohem Konzentrationsfaktor sowie eine einfache Konzentratrückgewinnung aus verdünnten und komplexen Proben. Die vertikale Ausrichtung der Membran und die große Membranoberfläche ermöglichen eine schnelle Verarbeitung der Proben, hohe Rückgewinnungsraten (typischerweise über 90 % der verdünnten Ausgangslösung) sowie eine bis zu 80-fache Konzentration. Die typische Verarbeitungszeit beträgt zwischen 10 und 20 Minuten. Die Polarisierung von gelösten Stoffen und das nachfolgende Verblocken der Membran werden durch das vertikale Design weitgehend vermieden. Ein eingebautes Totvolumen in der Filtereinheit verhindert ein Trockenlaufen und damit einen potenziellen Probenverlust. Das Konzentrat wird mit einer Pipette aus dem Probenbehälter der Filtereinheit entnommen, während das Ultrafiltrat im mitgelieferten Zentrifugenröhrchen gesammelt wird. Die Filtereinheit kann in Zentrifugen mit Ausschwingrotor (für optimale Leistung) oder Festwinkelrotor eingesetzt werden. Amicon® Ultra-4 10K-Einheiten werden nicht steril geliefert und sind nur zur einmaligen Verwendung vorgesehen.

Verwendungszweck

Amicon® Ultra-4 Zentrifugen-Filtereinheiten sind Einweg-Ultrafiltrationseinheiten für die In-vitro-Diagnostik zur Verarbeitung biologischer Lösungen im Volumenbereich von 1-4 ml. Sie sind für die Aufkonzentrierung von biologischen Proben wie Serum, Urin, Zerebrospinalflüssigkeit und anderen Körperflüssigkeiten vor der in-vitro-diagnostischen Analyse bestimmt. Das Gerät ist für den einmaligen Gebrauch bestimmt und wird von Laborfachleuten verwendet.

Anwendungen

- Konzentrierung von biologischen Proben, die Antigene, Antikörper, Enzyme, Nukleinsäuren (einzeln- oder doppelsträngige DNA/RNA) und Mikroorganismen enthalten, sowie von Säuleneluat und aufgereinigten Proben
- Aufreinigung makromolekularer Bestandteile aus Gewebekulturextrakten und Zelllysaten, Entfernung von Primern, Linkern oder Molekülmarkern aus Reaktionsgemischen und Protein Entfernung vor der HPLC
- Entsalzung, Pufferaustausch oder Diafiltration

Lieferumfang

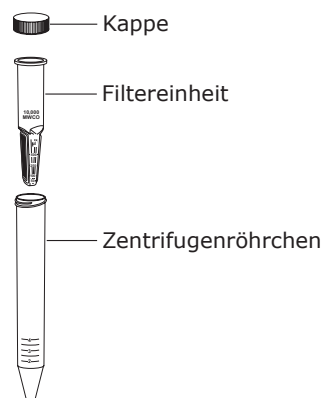
Amicon® Ultra-4 10K-Einheiten werden mit einer Verschlusskappe, einer Filtereinheit und einem Zentrifugenröhrchen geliefert.

Erforderliche Geräte

- Zentrifuge mit Ausschwingrotor (bevorzugt) oder Festwinkelrotor mit Wells/Trägern, die für 17 mm x 124 mm 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit konisch zulaufendem Boden ausgelegt sind.

ACHTUNG: Überprüfen Sie vor dem Zentrifugieren, dass ausreichend Freiraum für das Ausschwingen vorhanden ist, um eine Beschädigung der Einheit beim Zentrifugieren zu vermeiden.

- Pipette mit 200-µl-Spitze zur Konzentratrückgewinnung



Eignung

Um die Eignung für den vorgesehenen Zweck zu gewährleisten, sollen vor dem Einsatz Rückgewinnungs- und Retentionsstudien durchgeführt werden. Siehe Abschnitt „Quantitative Bestimmung von Rückgewinnungsraten“.

Lagerung und Haltbarkeit

Die Lagerungsbedingungen und die Haltbarkeit sind auf dem Produktetikett aufgeführt.

Spülen vor dem Einsatz

Die Ultrafiltrationsmembranen in Amicon® Ultra-4 10K-Einheiten enthalten Spuren von Glycerin. Falls diese Substanz die Analyse beeinträchtigt, spülen Sie die Einheit vor dem Gebrauch mit Puffer oder Milli-Q® Wasser. Sollte die Beeinträchtigung fortbestehen, spülen Sie mit 0,1 N NaOH, gefolgt von einer zweiten Spülung mit Puffer oder Milli-Q® Wasser.

ACHTUNG: Die Membran in den Amicon® Ultra-Filtereinheiten darf nicht austrocknen, nachdem sie einmal angefeuchtet wurde. Wenn Sie die Einheit nicht sofort nach dem Spülen verwenden, lassen Sie Flüssigkeit auf der Membran stehen, bis die Einheit eingesetzt wird.

Gebrauchsanleitung für Amicon® Ultra-4 Zentrifugen-Filtereinheiten

1. Geben Sie bis zu 4 ml Probe (3,5 ml bei Verwendung eines 23° Festwinkelrotors) in die Amicon® Ultra Filtereinheit.
2. Verschließen Sie die Filtereinheit mit der Kappe und setzen Sie diese in die Zentrifuge (vorzugsweise mit Ausschwingrotor) ein. Schaffen Sie mit einer vergleichbaren Einheit ein Gegengewicht. Vor der Verwendung prüfen, ob ausreichend Freiraum für das Ausschwingen vorhanden ist.
3. **Bei Verwendung eines Ausschwingrotors** zentrifugieren Sie die Einheit bei maximal $4000 \times g$ für ungefähr 10–20 Minuten.
4. **Bei Verwendung eines Festwinkelrotors** richten Sie die Einheit mit der Membran nach oben aus und zentrifugieren bei maximal $7.500 \times g$ für 10–20 Minuten.

HINWEIS: Typische Zentrifugationszeiten sind in Abbildung 1 und Tabelle 1 angegeben.

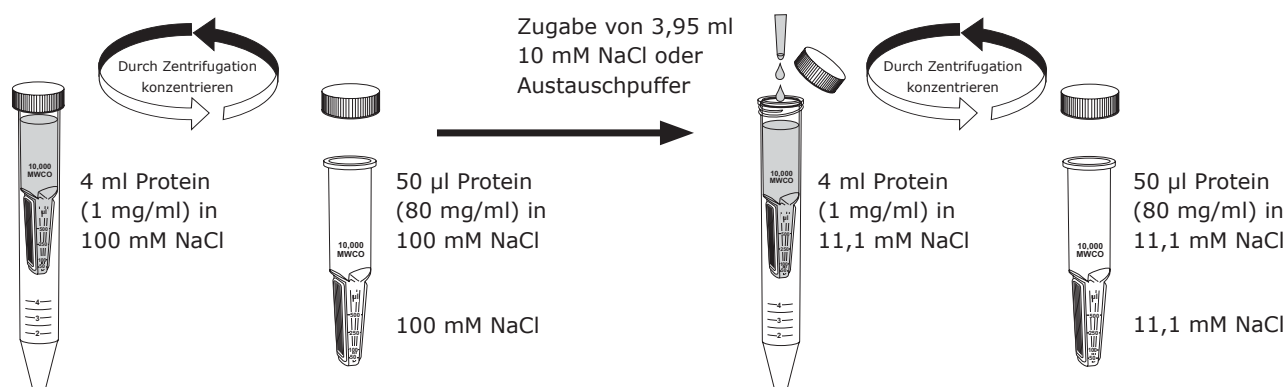
5. Zur Entnahme der Konzentratlösung führen Sie eine Pipette bis zum Boden in die Filtereinheit ein und bewegen sie bei der Entnahme nach beiden Seiten, um eine vollständige Rückgewinnung sicherzustellen. Das Ultrafiltrat kann im Zentrifugenröhrchen aufbewahrt werden.

HINWEIS: Um eine optimale Rückgewinnung zu gewährleisten, entnehmen Sie das Probenkonzentrat unmittelbar nach der Zentrifugation.

HINWEIS: Der Filter funktioniert möglicherweise nicht richtig, wenn er nach dem Befeuchten austrocknet.

Entsalzen oder Diafiltration

Entsalzen, Pufferaustausch oder Diafiltration sind wichtige Methoden zur Entfernung von Salzen oder Lösungsmitteln aus Lösungen, die Biomoleküle enthalten. Die Entfernung von Salzen oder der Austausch von Puffern kann in Amicon® Ultra-4-Einheiten durchgeführt werden, indem die Probe konzentriert und danach das Konzentrat mit einem geeigneten Lösungsmittel auf das Ausgangsvolumen der Probe rekonstituiert wird. Dieses „Auswaschen“ kann so oft wiederholt werden, bis eine ausreichende Verringerung der Konzentration der kontaminierenden Stoffe erreicht ist. Siehe nachstehendes Beispiel.

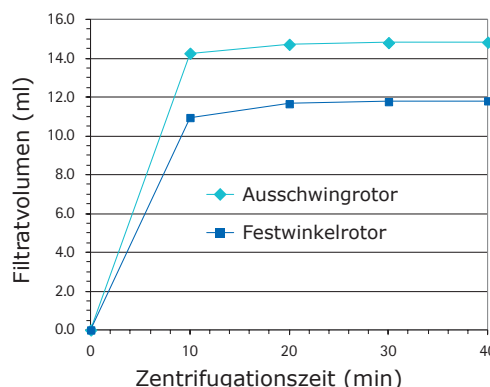


Leistung

Fließrate

Die Fließrate wird von folgenden Faktoren beeinflusst: Probenkonzentration, Ausgangsvolumen, chemische Eigenschaften des gelösten Stoffes, relative Zentrifugalkraft, Rotorwinkel, Membrantyp und Temperatur. Anhand der Daten in Abbildung 1 und Tabelle 1 kann die Zeit abgeschätzt werden, die zur Erzielung eines bestimmten Filtrat- oder Konzentrattvolumens erforderlich ist. Für eine 4-ml-Probe beträgt die typische Zentrifugationszeit etwa 10 bis 20 Minuten. Während der Großteil der Probe innerhalb der ersten 10 bis 15 Minuten der Zentrifugation filtriert wird, wird das kleinste Konzentrattvolumen (30-75 µl) nach einer Zentrifugationszeit von 15 bis 20 Minuten erzielt.

Abbildung 1. Typisches Filtratvolumen bei verschiedenen Zentrifugationszeiten



Zentrifugationsbedingungen: Ausschwingrotor, 4000 × g, oder Festwinkelrotor, 7500 × g, Raumtemperatur, 4 ml Ausgangsvolumen. Verwendeter Proteinmarker: Cytochrom c, n=6.

Tabelle 1. Typisches Konzentrattvolumen bei verschiedenen Zentrifugationszeiten

Zentrifugationszeit (min)	Konzentrattvolumen (µl)	
	Ausschwingrotor 4000 × g	35° Festwinkelrotor 7500 × g
10	176	97
15	76	54
20	58	35

Zentrifugationsbedingungen: Raumtemperatur, 4 ml Ausgangsvolumen.

Verwendeter Proteinmarker: Cytochrom c, n=6 (Mittelwert aus 3 Gerätechargen).

Die grau unterlegten Werte wurden zur Berechnung der Proteinrückgewinnung in Tabelle 3 eingesetzt.

Proteinrückhaltung und Konzentratrückgewinnung

Die Membranen in Amicon® Ultra Einheiten haben eine Molekulargewichtsgrenze (MWCO), d. h. sie halten Moleküle oberhalb eines bestimmten Molekulargewichts zurück. Gelöste Stoffe mit einem Molekulargewicht nahe der MWCO werden möglicherweise nur teilweise zurückgehalten. Die Rückhaltung auf der Membran hängt von der Molekülgröße und -form des gelösten Stoffes ab. Für die meisten Anwendungen ist das Molekulargewicht ein praktischer Parameter zur Beurteilung der Rückhalteeigenschaften. Verwenden Sie eine Membran mit einer MWCO, die mindestens bei der Hälfte des Molekulargewichts der zu konzentrierenden Proteinlösung liegt, um die besten Ergebnisse zu erzielen. Siehe Tabelle 2.

Tabelle 2. Typische Rückhaltung von Proteinmarkern

Marker/Konzentration	Molekulargewicht	MWCO der Einheit	% Rückhaltung Ausschwingrotor	% Rückhaltung Festwinkelrotor	Zentrifugationszeit (min)
α-Chymotrypsinogen (1 mg/ml)	25.000	10 K	> 95	> 95	15
Cytochrom C (0,25 mg/ml)	12.400		> 95	> 95	15
Vitamin B12 (0,2 mg/ml)	1350		< 15	< 15	15

Zentrifugationsbedingungen: Ausschwingrotor, 4000 × g, oder 35°-Festwinkelrotor, 7500 × g, 4 ml Ausgangsvolumen, Raumtemperatur, n=6 (Mittelwert aus 3 Gerätechargen).

Die Probenrückgewinnung wird von folgenden Faktoren beeinflusst: Eigenschaften des gelösten Proteins relativ zur MWCO der verwendeten Einheit, Ausgangskonzentration und Konzentrationsfaktor. Die typischen Rückgewinnungsraten für Amicon® Ultra-4 10K-Einheiten sind in Tabelle 3 angegeben.

Tabelle 3. Typische Konzentratrückgewinnung

Marker/ Konzentration	MWCO der Einheit	Zentrifugationszeit (min)	Konzentrattvolumen (µl)		Konzentrationsfaktor (x)		Konzentratrückgewinnung (%)	
			Ausschwing- rotor	Festwinkel- rotor	Ausschwing- rotor	Festwinkel- rotor	Ausschwing- rotor	Festwinkel- rotor
Cytochrom C (0,25 mg/ml)	10 K	15	76	54	52,3	76,6	97,3	98,5

Zentrifugationsbedingungen: Ausschwingrotor, 4000 × g, oder 35°-Festwinkelrotor, 7500 × g, 4 ml Ausgangsvolumen, Raumtemperatur, n=6 (Mittelwert aus 3 Gerätechargen). Die grau unterlegten Werte wurden aus Tabelle 1 entnommen.

Maximierung der Probenrückgewinnung

Eine geringe Probenrückgewinnungsrate aus einem Konzentrat kann auf Adsorptionsverluste, zu hohe Konzentration oder die Passage des Probenmaterials durch die Membran zurückzuführen sein.

- Adsorptionsverluste sind abhängig von der Konzentration und den hydrophoben Eigenschaften des gelösten Stoffes, der Temperatur und Kontaktzeit mit den Oberflächen der Filtereinheit, der Probenzusammensetzung und dem pH-Wert. Um Adsorptionsverluste minimal zu halten, entnehmen Sie das Probenkonzentrat unmittelbar nach der Zentrifugation.
- Wenn die Ausgangsprobenkonzentration hoch ist, überwachen Sie den Zentrifugationsprozess, um eine übermäßige Konzentration der Probe zu vermeiden. Eine übermäßige Konzentration kann zu Präzipitation und potenziellem Probenverlust führen.
- Wenn die Probe nicht durch die Membran zurückgehalten wird, verwenden Sie eine Amicon® Ultra-4-Einheit mit einer niedrigeren MWCO.

Quantitative Bestimmung der Rückgewinnung

Berechnen Sie anhand der nachstehenden Methode die Gesamtrückgewinnung, die prozentuale Konzentratrückgewinnung und die prozentuale Filtratrückgewinnung. Dadurch erhalten Sie eine gute Abschätzung der Rückgewinnung für Lösungen mit einer Konzentration von bis zu etwa 20 mg/ml.

HINWEIS: Geeignete Assay-Techniken sind Absorptionsspektrophotometrie, Radioimmunassay, Brechungsindex und Leitfähigkeit.

Direktes Wägeverfahren

Die Dichte der meisten verdünnten Proteinlösungen entspricht etwa der Dichte von Wasser (d. h. 1 g/ml). Davon ausgehend kann man das Konzentratvolumen und das Filtratvolumen durch Wiegen und Umrechnen des Gewichts von Gramm in Milliliter quantitativ bestimmen. Diese Technik kann nur für Lösungen mit einer Konzentration von etwa 20 mg/ml oder weniger angewendet werden.

- Wiegen Sie vor der Anwendung die leere Filtereinheit, das Zentrifugenröhrchen und ein leeres Probenröhrchen für die Konzentratsammlung.
- Füllen Sie die Filtereinheit mit Lösung auf und wiegen Sie diese erneut.
- Setzen Sie die Einheit zusammen und zentrifugieren Sie diese entsprechend der Anleitung.
- Entnehmen Sie das Konzentrat mit einer Pipette und geben Sie es in ein bereits gewogenes Konzentratsammelröhrchen.
- Nehmen Sie die Einheit vom Zentrifugenröhrchen ab und wiegen Sie das Zentrifugenröhrchen und das Konzentratsammelröhrchen.
- Subtrahieren Sie das Gewicht der leeren Einheit/Röhrchen, um das Gewicht des Ausgangsmaterials, des Filtrats und des Konzentrats zu berechnen.
- Testen Sie das Ausgangsmaterial, Filtrat und Konzentrat, um die Konzentration des gelösten Stoffes zu bestimmen.
- Berechnen Sie die prozentuale Rückgewinnung aus den Gewichts-/Volumendaten und den gemessenen Konzentrationen wie folgt:

$$\% \text{ Konzentratrückgewinnung} = 100 \times \frac{W_c \times C_c}{W_o \times C_o}$$

$$\% \text{ Filtratrückgewinnung} = 100 \times \frac{W_f \times C_f}{W_o \times C_o}$$

$$\% \text{ Gesamtrückgewinnung} = \% \text{ Konzentratrückgewinnung} + \% \text{ Filtratrückgewinnung}$$

W_c = Gesamtgewicht des Konzentrats vor dem Assay
 W_o = Gewicht des ursprünglichen Ausgangsmaterials
 W_f = Gewicht des Filtrats

C_c = Konzentratkonzentration
 C_o = Konzentration des ursprünglichen Ausgangsmaterials
 C_f = Filtratkonzentration

Spezifikationen

Maximales Ausgangsprobenvolumen

Ausschwing- und Festwinkelrotoren (45° und 35°) 4,0 ml

Festwinkelrotor (23°) 3,5 ml

Typisches Endkonzentratvolumen 50-100 µl

Maximale relative Zentrifugalkraft

Ausschwingrotor 4000 × g

Festwinkelrotor 7500 × g

Effektive Membranfläche 3 cm²

Abmessungen

Filtereinheit im Röhrchen (mit Kappe)

Länge: 124 mm

Durchmesser: 17,3 mm

Filtereinheit

Länge: 73,4 mm

Durchmesser: 17,2 mm

Konstruktionsmaterialien

Filtereinheit Copolymerstyren/butadien

Membran Geringbindende Ultracel® Membran aus regenerierter Zellulose

Filtratröhrchen Polypropylen

Filtratkappe und Liner Polyethylen

Filter MWCO 10K

Chemische Kompatibilität

Amicon® Ultra Zentrifugen-Filtereinheiten sind zur Verwendung mit biologischen Flüssigkeiten und wässrigen Lösungen vorgesehen. Prüfen Sie vor Gebrauch die chemische Kompatibilität der jeweiligen Probe mit der Einheit. Weitere Informationen erhalten Sie auf SigmaAldrich.com/FilterChemicalCompatibility.

Symboldefinitionen

Symbol	Definition	Symbol	Definition
	In-vitro-Diagnostikum		Herstellungsdatum
	Bestellnummer		Hersteller
	Nicht wiederverwenden		Nicht steriles Produkt
	Verfallsdatum		CE-Zeichen
	Chargencode		Temperaturgrenze
	Anwendungshinweise sind online verfügbar		Nicht bei beschädigter Verpackung verwenden
	Produktdokumentation online herunterladen		Konformitätszeichen für das Vereinigte Königreich

Produktbestellung

Produkte online auf SigmaAldrich.com kaufen.

Beschreibung	St./Pkg.	Bestellnummer
Amicon® Ultra-4	8	UFC801008D
	24	UFC801024D
	96	UFC801096D

Hinweis

Wir informieren und beraten unsere Kunden in Bezug auf Anwendungstechnologien und regulatorische Angelegenheiten nach bestem Wissen und Gewissen, jedoch unverbindlich und ohne Haftungsübernahme. Bestehende Gesetze und Vorschriften sind von unseren Kunden in jedem Fall zu beachten. Dies gilt auch im Hinblick auf etwaige Rechte Dritter. Unsere Auskünfte und Beratung entbinden unsere Kunden nicht von der eigenverantwortlichen Prüfung unserer Produkte auf ihre Eignung für den beabsichtigten Zweck.

Sammlung und Entsorgung

Alle Proben sind eindeutig zu kennzeichnen. Für die Probenentnahme und bei der Vorbereitung sind geeignete Geräte zu verwenden.

HINWEIS: Befolgen Sie die Vorsichtsmaßnahmen für die Entsorgung von Gegenständen, die mit potenziell infektiösem oder gefährlichem biologischem Material kontaminiert sind, gemäß allen geltenden internationalen, Bundes-, Länder- und lokalen Vorschriften.

Technische Unterstützung

Unser technischer Kundendienst ist über folgende Webseite erreichbar SigmaAldrich.com/techservice

Es ist wichtig, jedes schwerwiegende Ereignis mit diesem Gerät dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Landes zu melden, in dem der Benutzer ansässig ist.

Allgemeine Gewährleistung

Die anwendbare Gewährleistung für die Produkte in diesem Dokument finden Sie online unter SigmaAldrich.com/terms.

Revisionshistorie

2021-OKT	- IFU PR05779 Erstellungsdatum OKT 2021 - Ersetzt PR05139. - IFU-, Verpackungsbeschädigungs- und Temperaturgrenzsymbole hinzugefügt. - Chemische Kompatibilität und Bestellinformationen mit der Website verlinkt. - Informationen zur Entsorgung und für Reklamationen hinzugefügt. - Informationen zur Verantwortlichen Person im Vereinigten Königreich und UKCA-Symbol hinzugefügt
----------	--

Introducción

Los filtros para centrífuga Amicon® Ultra-4 10K proporcionan ultrafiltración rápida con capacidad para elevados factores de concentración y fácil recuperación del concentrado a partir de matrices de muestras diluidas y complejas. El diseño vertical y el área de superficie disponible de la membrana proporcionan un rápido procesamiento de la muestra, una gran recuperación (normalmente superior al 90% de la disolución de partida diluida) y una gran capacidad de concentración de 80 veces. El tiempo de procesamiento habitual es de 10 a 20 minutos. El diseño vertical reduce al mínimo la polarización del soluto y el plegamiento posterior de la membrana; por otro lado, un bloqueo automático físico del filtro impide la centrifugación hasta sequedad y la posible pérdida de muestra. El concentrado se recoge del depósito para la muestra del filtro utilizando una pipeta, mientras que el ultrafiltrado se recoge en el tubo de centrífuga suministrado. El dispositivo puede centrifugarse en un rotor oscilante (para rendimiento óptimo) o en un rotor de ángulo fijo. Los filtros Amicon® Ultra-4 10K se suministran estériles y son para un solo uso.

Indicaciones de uso

Los filtros para centrífuga Amicon® Ultra-4 son unidades de ultrafiltración desechables, de un solo uso, para diagnóstico in vitro destinadas al procesamiento de disoluciones biológicas en el intervalo de volumen de 1-4ml. Están previstos para la concentración de muestras biológicas como el suero, la orina, el líquido cefalorraquídeo y otros líquidos orgánicos antes de los análisis de diagnóstico in vitro. Dispositivo indicado para un solo uso y utilizado por un profesional de laboratorio.

Aplicaciones

- Concentración de muestras biológicas que contengan antígenos, anticuerpos, enzimas, ácidos nucleicos (muestras de ADN o ARN monocatenarios o bicatenarios), microorganismos, eluidos de la columna y muestras purificadas
- Purificación de componentes macromoleculares encontrados en extractos de cultivos tisulares y lisados celulares, eliminación de cebadores, conectores o etiquetas moleculares de una mezcla de reacción, y retirada de proteínas antes de la HPLC.
- Desalinización, cambio de tampones o diafiltración

Materiales suministrados

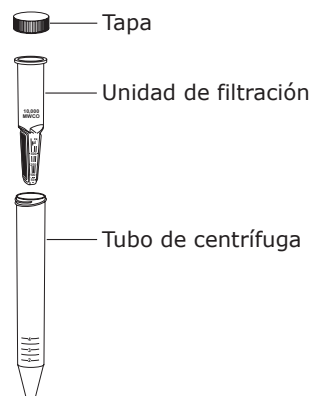
La unidad Amicon® Ultra-4 10K se suministra con un tapón, un filtro y un tubo de centrífuga.

Equipo necesario

- Centrífuga con rotor oscilante (preferida) o rotor de ángulo fijo con pocillos/portamuestras donde quepan tubos de fondo cónico de 15 ml de 17 mm x 124 mm

PRECAUCIÓN: para evitar que se rompa la unidad durante la centrifugación, debe comprobarse ausencia de bloqueo antes de empezar a centrifugar.

- Pipeta con puntas de 200 microlitros (µl) para recuperación del concentrado



Idoneidad

Se sugiere realizar estudios preliminares de recuperación y de retención con el fin de asegurar la idoneidad para el uso previsto. Véase el apartado "Cómo cuantificar las recuperaciones".

Almacenamiento y estabilidad

En la etiqueta del producto encontrará las condiciones de almacenamiento y la vida útil.

Enjuagar antes de usar

Las membranas de ultrafiltración de las unidades Amicon® Ultra-4 10K contienen restos de glicerina. Si este material interfiere en el análisis, enjuague el filtro con tampón o agua Milli-Q® antes de usarlo. Si sigue habiendo interferencia, enjuague con NaOH 0,1N seguido de un segundo centrifugado de tampón o agua Milli-Q®.

PRECAUCIÓN: no permita que la membrana de los filtros Amicon® Ultra se seque después de haberse humedecido. Si no va a utilizar la unidad inmediatamente después de enjuagarla, deje líquido en la membrana hasta que se utilice la unidad.

Cómo utilizar los filtros para centrifuga Amicon® Ultra-4

1. Coloque hasta 4 ml de muestra (3,5 ml si se está utilizando un rotor de ángulo fijo a 23°) en la unidad de filtración Amicon® Ultra
2. Coloque el filtro tapado en el rotor de la centrifuga (preferiblemente oscilante); equilibre con un dispositivo similar. Compruebe la holgura de la centrifuga antes de utilizarla.
3. **Si utiliza un rotor oscilante**, centrifugue la unidad a un máximo de $4\,000 \times g$ durante unos 10-20 minutos.
4. **Si utiliza un rotor de ángulo fijo**, oriente la unidad con el panel donde está la membrana mirando hacia arriba y centrifugue a un máximo de $7\,500 \times g$ durante unos 10-20 minutos.

NOTA: en la Figura 1 y la Tabla 1 encontrará los tiempos de centrifugación habituales.

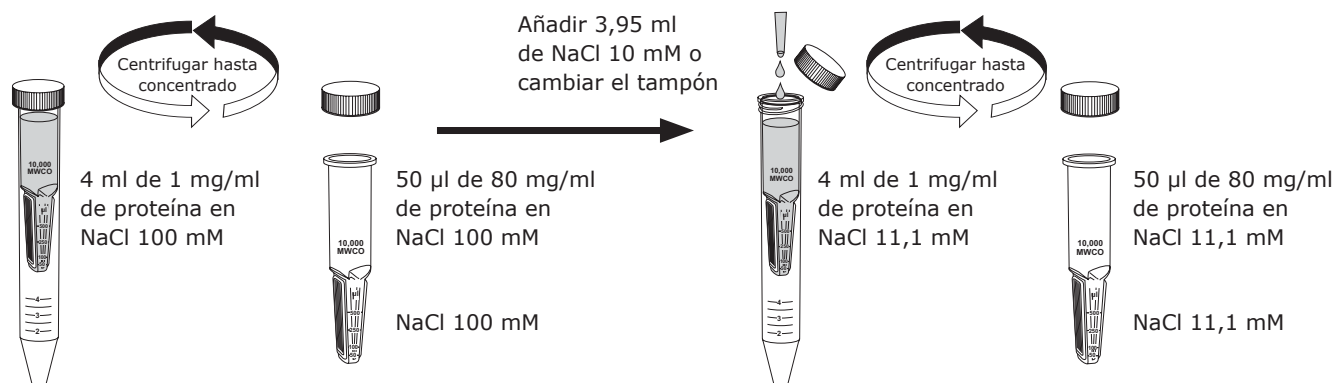
5. Para recuperar el soluto concentrado, introduzca una pipeta en el fondo de la unidad y retire la muestra utilizando un movimiento de barrido de un lado al otro para asegurar la recuperación total. El ultrafiltrado puede conservarse en el tubo de centrifuga.

NOTA: para una recuperación óptima, retire la muestra concentrada inmediatamente después de la centrifugación.

NOTA: Es posible que el filtro no funcione correctamente si se deja secar después de humedecerlo.

Desalación o diafiltración

La desalación, el cambio de tampón o la diafiltración son métodos importantes para retirar las sales o los disolventes de las disoluciones que contienen biomoléculas. En el filtro Amicon® Ultra-4 pueden eliminarse las sales o cambiar los tampones concentrando la muestra y reconstituyendo luego el concentrado hasta el volumen de muestra original con cualquier disolvente deseado. El proceso de "lavado" puede repetirse hasta que se haya reducido de manera suficiente la concentración del microsoluta contaminante. Vea el siguiente ejemplo.

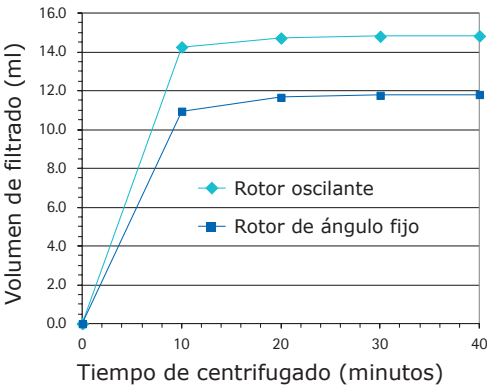


Rendimiento

Caudal

Los factores que afectan al caudal son la concentración de la muestra, el volumen de partida, la naturaleza química del soluto, la fuerza centrífuga relativa, el ángulo del rotor de la centrifuga, el tipo de membrana y la temperatura. Pueden utilizarse la figura 1 y la tabla 1 para calcular el tiempo necesario para conseguir un volumen dado de filtrado o de concentrado. Un tiempo de centrifugación típico para una muestra de 4 ml es de aproximadamente 10 a 20 minutos. La mayor parte de la muestra se filtra en los 10 a 15 primeros minutos de la centrifugación, pero el menor volumen de concentrado (30-75 µl) se alcanza después de centrifugar durante 15 a 20 minutos.

Figura 1. Volumen de filtración típico frente al tiempo de centrifugado



Condiciones de centrifugado: rotor oscilante, 4 000 × g, o rotor de ángulo fijo, 7 500 × g, temperatura ambiente, volumen de partida de 4 ml.
Marcador proteico utilizado: Citocromo c, n=6.

Tabla 1. Volumen de concentrado típico frente al tiempo de centrifugado

Tiempo de centrifugado (minutos)	Volumen del concentrado (µl)	
	Rotor oscilante 4 000 × g	Rotor de ángulo fijo a 35° 7 500 × g
10	176	97
15	76	54
20	58	35

Condiciones de centrifugado: temperatura ambiente, volumen de partida de 4 ml.
Marcador proteico utilizado: citocromo c, n = 6 (valor medio de 3 lotes de unidades).
Los volúmenes sombreados se utilizaron para calcular la recuperación de proteínas de la tabla 3.

Retención proteica y recuperación del concentrado

Las membranas utilizadas en las unidades Amicon® Ultra se caracterizan por un peso molecular de corte (MWCO); es decir, por su capacidad de retención de moléculas por encima de un peso molecular específico. Los solutos con pesos moleculares próximos al MWCO pueden ser retenidos sólo parcialmente. La retención de la membrana depende del tamaño molecular y la forma del soluto. Para la mayoría de las aplicaciones, el peso molecular es un parámetro adecuado para evaluar las características de retención. Para obtener los mejores resultados, utilice una membrana con un MWCO como mínimo dos veces inferior al peso molecular de la proteína que se pretende concentrar. Consulte la Tabla 2.

Tabla 2. Retención típica de los marcadores proteicos

Marcador/concentración	Peso molecular	MWCO del dispositivo	% Retención rotor oscilante	% Retención ángulo fijo	Tiempo de centrifugado (minutos)
α-Quimotripsinógeno (1 mg/ml)	25 000	10K	>95	>95	15
Citocromo c (0,25 mg/ml)	12 400		>95	>95	15
Vitamina B-12 (0,2 mg/ml)	1 350		< 15	< 15	15

Condiciones de centrifugado: rotor oscilante, 4 000 × g, o rotor de ángulo fijo a 35°, 7 500 × g, volumen de partida de 4 ml, temperatura ambiente, n = 6 (valor medio de 3 lotes de unidades).

Los factores que determinan la recuperación de la muestra son la naturaleza del soluto proteico en relación con el MWCO del filtro elegido, la concentración de partida y el factor de concentración. En la Tabla 3 se indican las recuperaciones típicas para los filtros Amicon® Ultra-4 10K.

Tabla 3. Recuperación de concentrado típica

Marcador/Concentración	MWCO de la unidad	Tiempo de centrifugado (minutos)	Volumen del concentrado (µl)		Factor de concentración (x)		Recuperación del concentrado (%)	
			Cubeta oscilante	Ángulo fijo	Cubeta oscilante	Ángulo fijo	Cubeta oscilante	Ángulo fijo
Citocromo c (0,25 mg/ml)	10K	15	76	54	52,3	76,6	97,3	98,5

Condiciones de centrifugado: rotor oscilante, 4 000 × g, o rotor de ángulo fijo a 35°, 7 500 × g, volumen de partida de 4 ml, temperatura ambiente, n = 6 (valor medio de 3 lotes de unidades). Los volúmenes sombreados se tomaron de la tabla 1.

Maximización de la recuperación de la muestra

Una baja recuperación de muestra en el concentrado puede deberse a pérdidas por adsorción, exceso de concentración o paso de la muestra a través de la membrana.

- Las pérdidas por adsorción dependen de la concentración del soluto, su naturaleza hidrófoba, la temperatura y el tiempo de contacto con las superficies de la unidad de filtración, la composición de la muestra y el pH. Para reducir las pérdidas al mínimo, retire las muestras concentradas inmediatamente después de la centrifugación.
- Si la concentración de la muestra de partida es elevada, controle el proceso de centrifugación para evitar su concentración excesiva. Esta última puede provocar precipitación y posibles pérdidas de muestra.
- Si parece que la muestra va a atravesar la membrana, elija un filtro Amicon® Ultra-4 de menor MWCO.

Cómo cuantificar las recuperaciones

Calcule la recuperación total, el porcentaje de recuperación de concentrado y el porcentaje de recuperación de filtrado utilizando el método que se indica a continuación. El procedimiento proporciona una estrecha aproximación de las recuperaciones para las disoluciones que contienen concentraciones máximas de aproximadamente 20 mg/ml.

NOTA: las técnicas de ensayo apropiadas son la espectrofotometría de absorción, el radioinmunoanálisis, el índice de refracción y la conductividad.

Procedimiento de pesada directo

La densidad de la mayoría de las proteínas diluidas es casi igual a la densidad del agua (es decir, 1 g/ml). Aprovechando esta propiedad, pueden cuantificarse los volúmenes de concentrado y de filtrado pesándolos y convirtiendo las unidades de gramos a mililitros. Esta técnica es válida sólo para disoluciones con concentraciones de aproximadamente 20 mg/ml o inferiores.

- Antes de usarlos, pese por separado la unidad de filtración vacía, el tubo de centrifuga y un tubo para recogida del concentrado vacío.
- Llene el filtro con disolución y vuelva a pesarlo.
- Monte la unidad y centrifugue según las instrucciones.
- Recoja el concentrado con una pipeta y dispénselo en el tubo para recogida del concentrado previamente pesado.
- Retire el filtro del tubo de centrifuga y pese el tubo de centrifuga y el tubo de recogida del concentrado.
- Reste el peso del filtro vacío o de los tubos vacíos para calcular los pesos del material de partida, el filtrado y el concentrado.
- Analice el material de partida, el filtrado y el concentrado para determinar la concentración de soluto.
- Calcule las recuperaciones utilizando los datos de peso/volumen y las concentraciones medidas, de la siguiente forma:

$$\% \text{ de recuperación del concentrado} = 100 \times \frac{W_c \times C_c}{W_o \times C_o}$$

$$\% \text{ de recuperación del filtrado} = 100 \times \frac{W_f \times C_f}{W_o \times C_o}$$

$$\% \text{ de recuperación total} = \% \text{ de recuperación del concentrado} + \% \text{ de recuperación del filtrado}$$

W_c = peso total del concentrado antes del análisis

W_o = peso del material de partida original

W_f = peso del filtrado

C_c = concentración del concentrado

C_o = concentración del material de partida original

C_f = concentración del filtrado

Especificaciones

Volumen máximo de la muestra inicial

Rotores oscilantes y de ángulo fijo (45° y 35°)	4,0 ml
Rotor de ángulo fijo (23°)	3,5 ml

Volumen concentrado final habitual

50-100 µl

Fuerza centrífuga relativa máxima

Rotor oscilante	4 000 × g
Rotor de ángulo fijo	7 500 × g

Área de membrana activa

3 cm²

Dimensiones

Unidad de filtración en el tubo (tapada)	
Longitud: 124 mm	Diámetro: 17,3 mm
Filtro	
Longitud: 73,4 mm	Diámetro: 17,2 mm

Materiales de fabricación

Filtro	Copolímero estireno-butadieno
Membrana	Celulosa regenerada de baja adsorción Ultracel®
Tubo de filtrado	Polipropileno
Tapón y revestimiento	Polietileno
Filtro	MWCO 10K

Compatibilidad química

Los filtros Amicon® Ultra para centrífuga están pensados para su uso con líquidos orgánicos y disoluciones acuosas. Antes de utilizarlos, verifique que la muestra es compatible desde el punto de vista químico con el dispositivo. Vaya a SigmaAldrich.com/FilterChemicalCompatibility si desea más información.

Definiciones de los símbolos

Símbolo	Definición	Símbolo	Definición
	Producto sanitario para diagnóstico in vitro		Fecha de fabricación
	Número de referencia		Fabricante
	No reutilizar		Producto no estéril
	Utilizar antes de		Marca de conformidad con la CE
	Código de lote		Temperatura límite
	Disponibilidad virtual de las instrucciones de uso		No usar si el material de acondicionamiento está dañado
	Descargue la documentación virtual del producto		Marca de conformidad del Reino Unido

Pedido de los productos

Compre productos en línea en SigmaAldrich.com.

Descripción	Cant./Env.	Nº de referencia
	8	UFC801008D
Amicon® Ultra-4:	24	UFC801024D
	96	UFC801096D

Aviso

Ofrecemos información y soporte a nuestros clientes sobre las tecnologías de las aplicaciones y temas normativos según nuestro conocimiento y experiencia, pero sin obligación ni responsabilidad alguna. Nuestros clientes deben respetar en todos los casos las normativas y leyes vigentes. Esto también se aplica con respecto a los derechos de terceros. Nuestra información y asesoramiento no exime a nuestros clientes de su responsabilidad de comprobar la idoneidad de nuestros productos para el propósito contemplado.

Recogida y eliminación

Todas las muestras deben estar claramente etiquetadas. Deben utilizarse instrumentos adecuados para obtener y preparar las muestras.

NOTA: siga las precauciones para la eliminación de los artículos contaminados con material biológico potencialmente infeccioso o peligroso de acuerdo con todas las normativas internacionales, federales, estatales y locales vigentes.

Asistencia técnica

Visite la página de servicio técnico en nuestra página web en SigmaAldrich.com/techservice.

Cualquier incidente grave de este dispositivo debe notificarse al fabricante y a la autoridad competente del país donde esté establecido el usuario.

Garantía estándar

La garantía aplicable a los productos indicados en esta publicación puede encontrarse en SigmaAldrich.com/terms.

Histórico de revisiones

Oct 2021	- IFU PR05779 Fecha de emisión OCT 2021 - Sustitución PR05139. - Se han añadido los símbolos de IFU, daños del material de acondicionamiento y límite de temperatura. - Vinculación de la compatibilidad química y la información para pedidos al sitio web. - Agregación de la información sobre la eliminación y las reclamaciones. - Se ha añadido información sobre la persona responsable del Reino Unido y el símbolo UKCA
----------	--

Introdução

Os dispositivos de filtração centrífuga Amicon® Ultra-4 10K permitem a ultrafiltração rápida, com capacidade para fatores de concentração elevados e fácil recuperação do concentrado a partir de matrizes de amostras diluídas e complexas. O design vertical e a área de superfície de membrana disponível permitem um processamento rápido das amostras, uma elevada recuperação de amostras (tipicamente superior a 90% da solução inicial diluída) e a capacidade para uma concentração de 80 vezes. O tempo de processamento típico é de 10 a 20 minutos. A polarização dos solutos e a subsequente obstrução da membrana são minimizadas pelo design vertical e a existência de um batente físico no dispositivo de filtração que impede a centrifugação até à secura e a potencial perda da amostra. O concentrado é recolhido com uma pipeta do reservatório de amostra do dispositivo de filtração, enquanto o filtrado obtido por ultracentrifugação é recolhido no tubo de centrifugação fornecido. O dispositivo pode ser submetido a rotação num rotor basculante (para um desempenho ideal) ou num rotor de ângulo fixo. Os dispositivos Amicon® Ultra-4 10K são fornecidos não estéreis e destinam-se a uma única utilização.

Utilização pretendida

Os dispositivos de filtração centrífuga Amicon® Ultra-4 são dispositivos de ultrafiltração, de utilização única (descartáveis), para utilização no diagnóstico *in vitro* para processamento de soluções biológicas no intervalo de 1 ml–4 ml de volume. Podem ser utilizados para concentrar amostras biológicas, tais como soro, urina, líquido cefalorraquidiano e outros fluidos corporais antes da análise de diagnóstico *in vitro*. O dispositivo destina-se a uma única utilização e a ser utilizado por profissionais de laboratório.

Aplicações

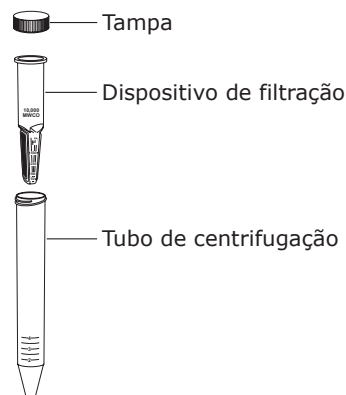
- Concentração de amostras biológicas que contenham antígenos, anticorpos, enzimas, ácidos nucleicos (amostras de ADN/ARN, de cadeia simples ou dupla), microrganismos, produtos de eluição de coluna e amostras purificadas
- Purificação de componentes macromoleculares que se encontram em extratos de cultura de tecidos e lisados de células, remoção de "primers" (iniciadores), compostos de ligação ou marcadores moleculares de uma mistura de reação, e remoção de proteínas antes de HPLC
- Dessalinização, permuta de tampões ou diafiltração

Materiais fornecidos

O dispositivo Amicon® Ultra-4 10K é fornecido com uma tampa, um dispositivo de filtração e um tubo de centrifugação.

Equipamento necessário

- Centrífuga com rotor basculante (preferível) ou de ângulo fixo com poços/transportadores com, capacidade para tubos de fundo cónico de 15 ml, 17 mm x 124 mm
- CUIDADO:** Para evitar danificar o dispositivo durante a centrifugação, verificar o espaço livre antes de a iniciar.
- Pipeta com ponta de 200 microlitros (µl) para recuperação do concentrado



Adequação

Sugere-se a realização de estudos preliminares de recuperação e retenção para garantir a adequação para o fim a que se destina. Consulte a secção "Como quantificar recuperações".

Armazenamento e estabilidade

Consulte as condições de armazenamento e o prazo de validade no rótulo do produto.

Enxaguar antes de usar

As membranas de ultrafiltração dos dispositivos Amicon® Ultra-15 10K contêm vestígios de glicerina. Se esta substância interferir com a análise, enxague o dispositivo com tampão ou água Milli-Q® antes de utilizar. Se a interferência persistir, enxague com NaOH 0,1 N seguido por uma segunda centrifugação com tampão ou água Milli-Q®.

CUIDADO: Não permita que a membrana dos dispositivos de filtração Amicon® Ultra seque depois de molhada. Caso não utilize o dispositivo imediatamente após o enxaguamento, deixe líquido na membrana até o dispositivo ser utilizado.

Como utilizar os dispositivos de filtração centrífuga Amicon® Ultra-4

1. Adicione até 4 ml de amostra (3,5 ml, caso esteja a utilizar um rotor de ângulo fixo de 23°) ao dispositivo de filtração Amicon® Ultra.
2. Coloque o dispositivo de filtração tapado no rotor da centrífugadora (é preferível um rotor basculante) e contrabalance com um dispositivo semelhante. Antes da utilização, verifique o espaço livre à volta da centrífuga.
3. **Quando utilizar um rotor basculante**, centrifugue o dispositivo a $4000 \times g$ no máximo durante aproximadamente 10–20 minutos.
4. **Quando utilizar um rotor de ângulo fixo**, oriente o dispositivo com o painel de membrana virado para cima e centrifugue o dispositivo a $7500 \times g$ no máximo durante aproximadamente 10–20 minutos.

NOTA: Consulte os tempos de centrifugação típicos na figura 1 e na tabela 1.

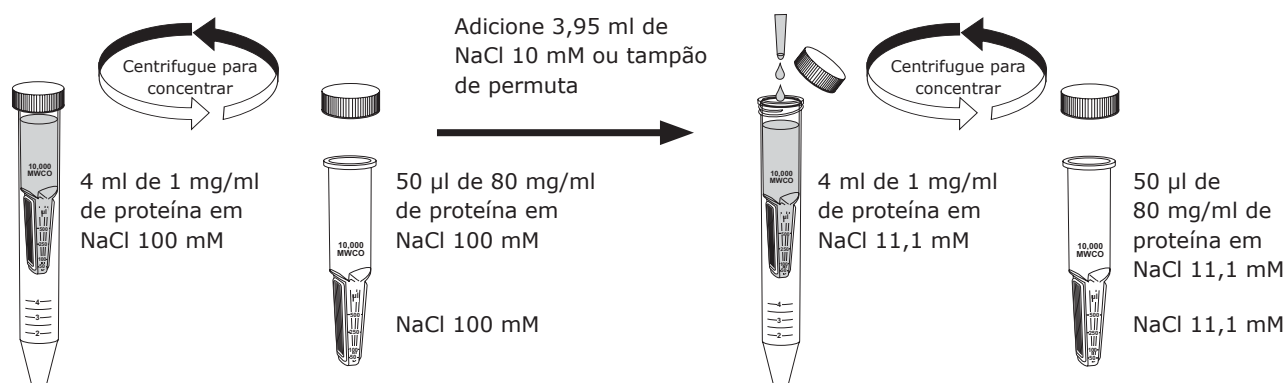
5. Para recuperar o soluto concentrado, insira uma pipeta no fundo do dispositivo de filtração e retire a amostra com um movimento de varrimento lateral para garantir a recuperação total. O filtrado obtido por ultrafiltração pode ser guardado no tubo de centrifugação.

NOTA: Para uma recuperação ideal, remova a amostra concentrada imediatamente após a centrifugação.

NOTA: O filtro pode não funcionar corretamente se, após o humedecimento, for deixado secar.

Dessalinização ou diafiltração

A dessalinização, a permuta de tampões ou a diafiltração são métodos importantes para a remoção de sais ou solventes em soluções que contêm biomoléculas. A remoção de sais ou a permuta de tampões pode ser conseguida no dispositivo Amicon® Ultra-4 através da concentração da amostra, seguida pela reconstituição do concentrado até ao volume de amostra original com qualquer solvente desejado. O processo de "lavagem" pode ser repetido até a concentração do microssoluto contaminante ter sido suficientemente reduzida. Ver exemplo seguinte.

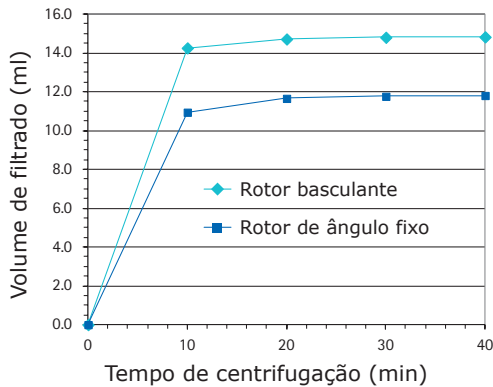


Desempenho

Débito

Os fatores que influenciam o débito incluem a concentração da amostra, o volume inicial, a natureza química do soluto, a força centrífuga relativa, o ângulo do rotor da centrífugadora, o tipo de membrana e a temperatura. A figura 1 e a tabela 1 podem ser usadas para estimar o tempo necessário para se obter um determinado volume de filtrado ou concentrado. O tempo de centrifugação típico para uma amostra de 4 ml é de aproximadamente 10 a 20 minutos. Embora a maior parte da amostra seja filtrada nos primeiros 10 a 15 minutos de centrifugação, o volume de concentração mais baixo (30 µl-75 µl) é alcançado após centrifugação durante 15 a 20 minutos.

Figura 1. Volume de filtrado típico vs. tempo de centrifugação



Condições de centrifugação: Rotor basculante, 4000 × g ou rotor de ângulo fixo, 7500 × g, temperatura ambiente, volume inicial de 4 ml. Marcador proteico utilizado: Citocromo c, n = 6.

Tabela 1. Volume de concentrado típico vs. tempo de centrifugação

Tempo de centrifugação (min)	Volume de concentrado (µl)	
	Rotor basculante 4000 × g	Rotor de ângulo fixo de 35° 7500 × g
10	176	97
15	76	54
20	58	35

Condições de centrifugação: Temperatura ambiente, volume inicial de 4 ml. Marcador proteico utilizado: Citocromo c, n = 6 (valor médio de 3 lotes de dispositivo). Os volumes a sombreado foram usados para o cálculo de recuperação de proteínas na tabela 3.

Retenção de proteínas e recuperação do concentrado

As membranas utilizadas nos dispositivos Amicon® Ultra caracterizam-se por um *cut-off* de peso molecular (MWCO), ou seja, a sua capacidade para reter moléculas acima de um peso molecular especificado. Solutos com peso molecular próximo do MWCO podem ser apenas parcialmente retidos. A retenção na membrana depende do tamanho molecular e da forma do soluto. Para a maioria das aplicações, o peso molecular é um parâmetro conveniente para utilizar na avaliação das características de retenção. Para obter melhores resultados, utilize uma membrana com um MWCO pelo menos duas vezes inferior ao peso molecular do soluto proteico que se pretende concentrar. Consulte a tabela 2.

Tabela 2. Retenção típica dos marcadores proteicos

Marcador/Concentração	Peso molecular	Dispositivo MWCO	% retenção com rotor basculante	% retenção com rotor de ângulo fixo	Tempo de centrifugação (min)
α-quimotripsinogénio (1 mg/ml)	25.000	10K	> 95	> 95	15
Citocromo c (0,25 mg/ml)	12.400		> 95	> 95	15
Vitamina B-12 (0,2 mg/ml)	1.350		< 15	< 15	15

Condições de centrifugação: Rotor basculante, 4000 × g ou rotor de ângulo fixo a 35° (7500 × g), volume inicial de 4 ml, temperatura ambiente, n = 6 (valor médio de 3 lotes de dispositivo).

Os fatores que determinam a recuperação da amostra incluem a natureza do soluto proteico em relação ao MWCO do dispositivo escolhido, a concentração inicial e o fator de concentração. A tabela 3 mostra as recuperações típicas para o dispositivo Amicon® Ultra-4 10K.

Tabela 3. Recuperação de concentrado típica

Marcador/Concentração	Dispositivo MWCO	Tempo de centrifugação (min)	Volume de concentrado (µl)		Fator de concentração (x)		Recuperação de concentrado (%)	
			Basculante	Ângulo fixo	Basculante	Ângulo fixo	Basculante	Ângulo fixo
Citocromo c (0,25 mg/ml)	10K	15	76	54	52,3	76,6	97,3	98,5

Condições de centrifugação: Rotor basculante, 4000 × g ou rotor de ângulo fixo a 35° (7500 × g), volume inicial de 4 ml, temperatura ambiente, n = 6 (valor médio de 3 lotes de dispositivo). Os volumes sombreados foram retirados da tabela 1.

Maximizar a recuperação da amostra

A baixa recuperação da amostra no concentrado pode dever-se a perdas por adsorção, sobreconcentração ou passagem de amostra através da membrana.

- As perdas por adsorção dependem da concentração do soluto, da sua natureza hidrofóbica, da temperatura e do tempo de contacto com as superfícies do dispositivo de filtração, da composição das amostras e do pH. Para minimizar as perdas, remova as amostras concentradas imediatamente após a centrifugação.
- Se a concentração inicial da amostra for alta, monitorize o processo de centrifugação de modo a evitar a sobreconcentração da amostra. A sobreconcentração pode levar à precipitação e à potencial perda da amostra.
- Se a amostra parecer estar a atravessar a membrana, escolha um dispositivo Amicon® Ultra-4 com MWCO mais baixo.

Como quantificar recuperações

Calcule a recuperação total, a percentagem de recuperação de concentrado e a percentagem de recuperação de filtrado utilizando o método seguinte. O procedimento fornece um valor muito aproximado das recuperações para soluções que tenham concentrações de até, grosso modo, 20 mg/ml.

NOTA: As técnicas de ensaio adequadas incluem espectrofotometria de absorção, radioimunoensaio, índice refratário e condutividade.

Procedimento de pesagem direta

A densidade da maior parte das proteínas diluídas é quase igual à densidade da água (ou seja, 1 g/ml). Usando esta propriedade, os volumes de concentrado e filtrado podem ser quantificados por pesagem e conversão das unidades de gramas para mililitros. Esta técnica é válida apenas para soluções com concentrações de aproximadamente 20 mg/ml ou menos.

- Antes da utilização, pese em separado o dispositivo de filtração vazio, o tubo de centrifugação e um tubo vazio para recolha de concentrado.
- Encha o dispositivo de filtração com solução e volte a pesá-lo.
- Monte o dispositivo e centrifugue de acordo com as instruções.
- Recolha o concentrado com uma pipeta e distribua-o para o tubo de recolha de concentrado previamente pesado.
- Retire o dispositivo do tubo de centrifugação e pese o tubo de centrifugação e o tubo de recolha de concentrado.
- Subtraia os pesos do dispositivo/tubos vazios para calcular os pesos do material inicial, do filtrado e do concentrado.
- Analise o material inicial, o filtrado e o concentrado para determinar a concentração do soluto.
- Calcule as recuperações a partir dos dados do peso/volume e as concentrações medidas da seguinte forma:

$$\% \text{ de recuperação de concentrado} = 100 \times \frac{W_c \times C_c}{W_o \times C_o}$$

W_c = peso total do concentrado antes do ensaio
 W_o = peso do material inicial original
 W_f = peso do filtrado

$$\% \text{ de recuperação de filtrado} = 100 \times \frac{W_f \times C_f}{W_o \times C_o}$$

C_c = concentração do concentrado
 C_o = concentração do material inicial original
 C_f = concentração do filtrado

$$\% \text{ de recuperação total} = \% \text{ de recuperação de concentrado} + \% \text{ de recuperação de filtrado}$$

Especificações

Volume inicial máximo de amostra

Rotores basculantes e de ângulo fixo (45° e 35°)	4,0 ml
Rotor de ângulo fixo (23°)	3,5 ml

Volume típico final de concentrado 50 µl–100 µl

Força centrífuga relativa máxima

Rotor basculante	4000 × g
Rotor de ângulo fixo	7500 × g

Área de membrana ativa 3 cm²

Dimensões

Dispositivo de filtração no tubo (tapado)	
Comprimento: 124 mm	Diâmetro: 17,3 mm
Dispositivo de filtração	
Comprimento: 73,4 mm	Diâmetro: 17,2 mm

Materiais de construção

Dispositivo de filtração	Copolímero de estireno/butadieno
Membrana	Celulose regenerada de baixo nível de ligação Ultracel®
Tubo de filtrado	Polipropileno
Tampa e revestimento do filtrado	Polietileno
Filtro	MWCO 10K

Compatibilidade química

Os dispositivos de centrifugação Amicon® Ultra destinam-se a ser utilizados com fluidos biológicos e soluções aquosas. Antes de utilizar, verifique a compatibilidade química entre a amostra e o dispositivo. Aceda a SigmaAldrich.com/FilterChemicalCompatibility para obter mais informações.

Definições dos símbolos

Símbolo	Definição	Símbolo	Definição
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>		Data de fabrico
	Número de referência		Fabricante
	Não reutilizar		Produto não estéril
	Prazo de validade		Marcação de conformidade CE
	Código de lote		Limites de temperatura
	Instruções de utilização disponíveis on-line		Não usar após o prazo de validade
	Transferir a documentação do produto on-line		Marcação de conformidade no Reino Unido

Encomenda do produto

Compre produtos on-line em SigmaAldrich.com.

Descrição	Qtd/emb	Número de catálogo
	8	UFC801008D
Amicon® Ultra-4	24	UFC801024D
	96	UFC801096D

Aviso

Fornecemos informações e damos aconselhamento aos nossos clientes sobre tecnologias de aplicação e assuntos regulamentares tanto quanto é do nosso melhor conhecimento e capacidades, mas sem obrigação ou responsabilidade civil. Os nossos clientes devem sempre cumprir as leis e os regulamentos em vigor. Isto também se aplica aos direitos de terceiros. As informações de aconselhamento por nós fornecidas não isentam os nossos clientes da sua própria responsabilidade em verificar a adequação dos nossos produtos ao fim pretendido.

Recolha e eliminação

Todas as amostras têm de estar claramente identificadas. Para a obtenção e preparação das amostras, tem de se usar instrumentos adequados.

NOTA: Siga as precauções de eliminação de itens contaminados com materiais potencialmente infecciosos ou com risco biológico de acordo com todos os regulamentos internacionais, comunitários, nacionais e locais em vigor.

Assistência técnica

Visite a página de assistência técnica no nosso website em SigmaAldrich.com/techservice.

Qualquer incidente grave com este dispositivo deve ser notificado ao fabricante e à autoridade competente do país onde o utilizador se encontra estabelecido.

Garantia normal

A garantia aplicável aos produtos indicados nesta publicação pode ser encontrada em SigmaAldrich.com/terms.

Histórico de revisões

2021-OUT	- Instruções de utilização PR05779 Data de publicação OUT 2021 — substituiu o PR05139. - Adição dos símbolos de Instruções de utilização, embalagem danificada e limites de temperatura. - Criação das ligações de Compatibilidade química e Informação sobre encomendas ao website. - Adição de informação sobre Eliminação e Reclamações. - Adição de informação sobre o Responsável no Reino Unido e símbolo UKCA
----------	--

Εισαγωγή

Οι συσκευές φυγοκεντρικών φίλτρων Amicon® Ultra-4 10K παρέχουν ταχεία υπερδιήθηση, με την ικανότητα για υψηλούς συντελεστές συμπύκνωσης και εύκολη ανάκτηση συμπυκνώματος από αραιές και σύνθετες μήτρες δειγμάτων. Ο κατακόρυφος σχεδιασμός και το διαθέσιμο εμβαδόν επιφάνειας μεμβράνης παρέχουν ταχεία επεξεργασία δείγματος, υψηλή ανάκτηση δείγματος (τυπικά πάνω από 90% αραιού διαλύματος έναρξης) και ικανότητα 80πλάσιας συμπύκνωσης. Ο τυπικός χρόνος επεξεργασίας είναι 10 έως 20 λεπτά. Η πόλωση διαλυτής ουσίας και η επακόλουθη ρύπανση της μεμβράνης ελαχιστοποιούνται από τον κατακόρυφο σχεδιασμό, και ένα φυσικό σταθερό στοπ στη συσκευή φίλτρου αποτρέπει την περιδίνηση έως την ξήρανση και δυνητική απώλεια δείγματος. Το συμπύκνωμα συλλέγεται από τη δεξαμενή δείγματος της συσκευής φίλτρου χρησιμοποιώντας πιπέτορα, ενώ το υπερδιήθημα συλλέγεται στο παρεχόμενο φυγοκεντρικό σωληνάριο. Η περιδίνηση της συσκευής μπορεί να γίνει σε στροφές είτε περιστρεφόμενου κάδου (για βέλτιστη απόδοση) είτε σταθερής γωνίας. Οι συσκευές Amicon® Ultra-4 10K παρέχονται μη αποστειρωμένες και προορίζονται για μία χρήση μόνο.

Προοριζόμενη χρήση

Οι συσκευές φυγοκεντρικών φίλτρων Amicon® Ultra-4 είναι αναλώσιμες, μιας χρήσης συσκευές φίλτρου υπερδιήθησης για *in vitro* διαγνωστική χρήση για την επεξεργασία βιολογικών διαλυμάτων στο εύρος όγκου 1-4 mL. Προορίζονται για χρήση για τη συμπύκνωση βιολογικών δειγμάτων, όπως ορού, ούρων, εγκεφαλονωτιαίου υγρού και άλλων σωματικών υγρών πριν από την *in vitro* διαγνωστική ανάλυση. Η συσκευή προορίζεται για μία χρήση μόνο και πρέπει να χρησιμοποιείται από επαγγελματίες εργαστηρίου.

Εφαρμογές

- Συμπύκνωση βιολογικών δειγμάτων που περιέχουν αντιγόνα, αντισώματα, ένζυμα, νουκλεϊνικά οξέα (δείγματα DNA/RNA, είτε μονής είτε διπλής έλικας), μικροοργανισμούς, εκλούσματα στήλης και κεκαθαρωμένα δείγματα
- Κάθαρση μακρομοριακών μερών που ανευρίσκονται σε εκχυλίσματα ιστοκαλλιέργειας και κυτταρικά λύματα, αφαίρεση εκκρινή, συνδετών ή μοριακών σημάτων από ένα μείγμα αντίδρασης και πρωτεϊνική αφαίρεση πριν από το HPLC
- Αφαλάτωση, ανταλλαγή ρυθμιστικού διαλύματος ή διαδιήθηση

Παρεχόμενα υλικά

Η συσκευή Amicon® Ultra-4 10K παρέχεται με ένα καπάκι, μια συσκευή φίλτρου και ένα σωληνάριο φυγοκέντρωσης.

Απαιτούμενος εξοπλισμός

- Φυγόκεντρος με στροφές είτε περιστρεφόμενου κάδου (κατά προτίμηση) είτε σταθερής γωνίας με υποδοχές/φορείς που μπορούν να δεχτούν σωληνάρια 17 mm × 124 mm 15 mL κωνικού πυθμένα
- ΠΡΟΣΟΧΗ:** Για την αποφυγή της βλάβης στη συσκευή κατά τη φυγοκέντρωση, ελέγξτε την καθαριότητα πριν από την περιδίνηση.
- Πιπέτορας με ρύγχος 200 μικρολίτρων (μL) για ανάκτηση συμπυκνώματος

Καταλληλότητα

Συνιστώνται προκαταρκτικές μελέτες ανάκτησης και συγκράτησης για τη διασφάλιση της καταλληλότητας για την προοριζόμενη χρήση. Βλ. την ενότητα "Τρόπος ποσοτικοποιήσεων ανακτήσεων".

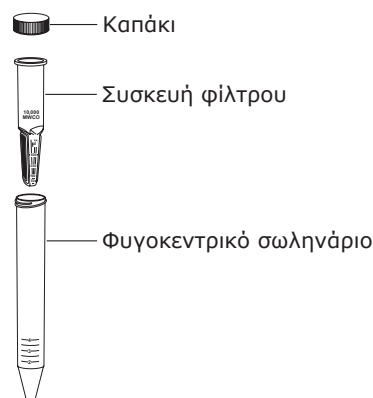
Αποθήκευση και σταθερότητα

Ανατρέξτε στην ετικέτα του προϊόντος για τις συνθήκες αποθήκευσης και τη διάρκεια ζωής σε αποθήκευση.

Έκπλυση πριν από τη χρήση

Οι μεμβράνες υπερδιήθησης στις συσκευές Amicon® Ultra-4 10K περιέχουν ιχνοποσότητες γλυκερίνης. Εάν αυτό το υλικό επηρεάζει την ανάλυση, εκπλύνετε τη συσκευή με ρυθμιστικό διάλυμα ή ύδωρ Milli-Q® πριν από τη χρήση. Εάν η παρεμβολή συνεχίζεται, εκπλύνετε με 0,1 N NaOH ακολουθούμενο από δεύτερη περιδίνηση ρυθμιστικού διαλύματος ή ύδατος Milli-Q®.

ΠΡΟΣΟΧΗ: Μην αφήνετε τη μεμβράνη στις συσκευές φίλτρου Amicon® Ultra να ξηρανθεί μετά από την ύγρανση αυτής. Εάν δεν χρησιμοποιήσετε τη συσκευή αμέσως μετά την έκπλυση, αφήστε το υγρό στη μεμβράνη έως ότου χρησιμοποιηθεί η συσκευή.

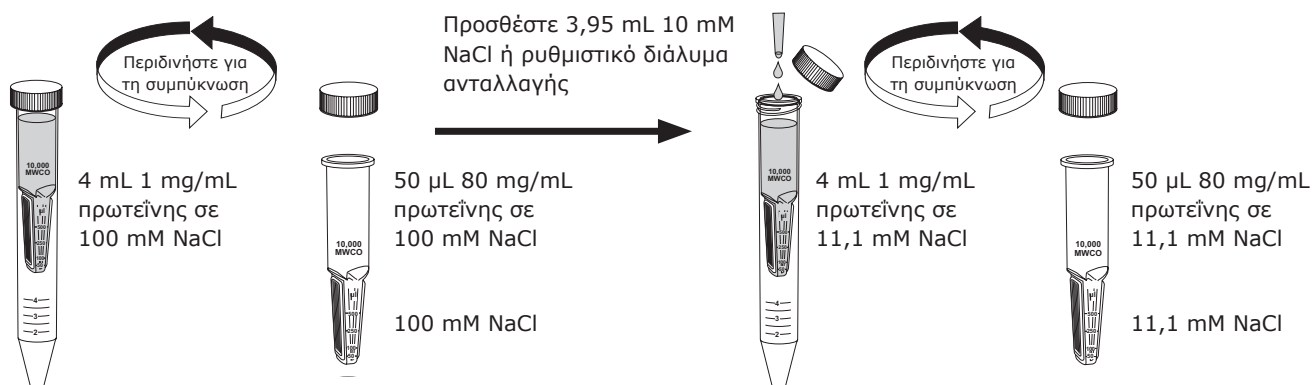


Τρόπος χρήσης των συσκευών φυγοκεντρικού φίλτρου Amicon® Ultra-4

1. Προσθέστε έως και 4 mL δείγματος (3,5 mL εάν χρησιμοποιείτε στροφέα σταθερής γωνίας 23°) στη συσκευή φίλτρου Amicon® Ultra.
2. Τοποθετήστε μια παρωματισμένη συσκευή φίλτρου στον στροφέα φυγοκέντρου (κατά προτίμηση περιστρεφόμενου κάδου). Εξισορροπήστε με όμοια συσκευή. Πριν από τη χρήση, ελέγξτε την καθαρότητα της φυγοκέντρου.
3. **Όταν χρησιμοποιείτε έναν στροφέα περιστρεφόμενου κάδου**, περιδινήστε τη συσκευή σε $4.000 \times g$ το πολύ για περίπου 10-20 λεπτά.
4. **Όταν χρησιμοποιείτε έναν στροφέα σταθερής γωνίας**, προσανατολίστε τη συσκευή με το πλαίσιο της μεμβράνης να βλέπει προς τα πάνω και περιδινήστε σε $7.500 \times g$ το πολύ για περίπου 10-20 λεπτά.
ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Ανατρέξτε στην Εικόνα 1 και τον Πίνακα 1 για τυπικούς χρόνους περιδίνησης.
5. Για την ανάκτηση της συμπυκνωμένης διαλυτής ουσίας, εισάγετε έναν πιπέτορα στο κάτω μέρος της συσκευής φίλτρου και αποσύρετε το δείγμα χρησιμοποιώντας μια κίνηση σάρωσης από πλευρά σε πλευρά για τη διασφάλιση της ολικής ανάκτησης. Το υπερδιήθημα μπορεί να φυλάσσεται στο φυγοκεντρικό σωληνάριο.
ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Για βέλτιστη ανάκτηση, αφαιρέστε το συμπυκνωμένο δείγμα αμέσως μετά τη φυγοκέντρωση.
ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Το φίλτρο μπορεί να μη λειτουργεί σωστά εάν αφεθεί να ξηρανθεί μετά την ύγρανση.

Αφαλάτωση ή διαδιήθηση

Αφαλάτωση, ανταλλαγή ρυθμιστικών διαλυμάτων ή διαδιήθηση είναι σημαντικές μέθοδοι για αφαίρεση αλάτων ή διαλυτών σε διαλύματα που περιέχουν βιομοριακές ουσίες. Η αφαίρεση αλάτων ή η ανταλλαγή ρυθμιστικών διαλυμάτων μπορούν να επιτευχθούν στη συσκευή Amicon® Ultra-4 με συμπύκνωση του δείγματος, και κατόπιν ανασύσταση του συμπυκνώματος στον αρχικό όγκο δείγματος με οποιονδήποτε επιθυμητό διαλύτη. Η διαδικασία "έκπλυσης" μπορεί να επαναληφθεί έως ότου μειωθεί επαρκώς η συγκέντρωση των μολυσματικών διαλυμένων μικρομοριακών ουσιών. Δείτε το παράδειγμα παρακάτω.

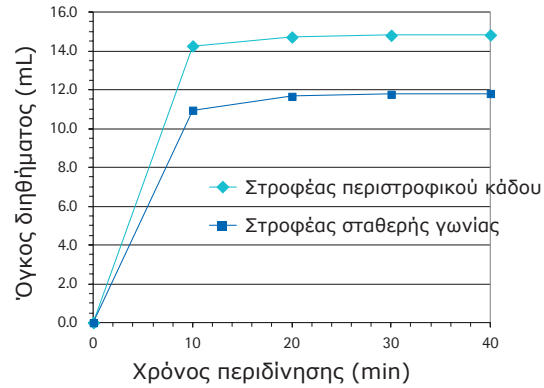


Απόδοση

Ρυθμός ροής

Οι παράγοντες που επηρεάζουν τον ρυθμό ροής περιλαμβάνουν συγκέντρωση δείγματος, όγκο έναρξης, χημική φύση διαλυτής ουσίας, σχετική φυγοκεντρική δύναμη, γωνία στροφέας φυγοκέντρου, τύπο μεμβράνης και θερμοκρασία. Η Εικόνα 1 και ο Πίνακας 1 μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον υπολογισμό του απαιτούμενου χρόνου για την επίτευξη δεδομένου όγκου διηθήματος ή συμπυκνώματος. Ένας τυπικός χρόνος περιδίνησης για δείγμα 4 mL είναι περίπου 10 έως 20 λεπτά. Ενώ το μεγαλύτερο μέρος του δείγματος διηθείται στα πρώτα 10 έως 15 λεπτά φυγοκέντρωσης, ο χαμηλότερος όγκος συμπυκνώματος (30-75 μL) επιτυγχάνεται μετά την περιδίνηση για 15 έως 20 λεπτά.

Εικόνα 1. Τυπικός όγκος διηθήματος έναντι χρόνου περιδίνησης



Συνθήκες περιδίνησης: Στροφέας περιστρεφόμενου κάδου, $4.000 \times g$ ή στροφέας σταθερής γωνίας, $7.500 \times g$, θερμοκρασία δωματίου, όγκος έναρξης 4 mL.
Χρησιμοποιούμενος πρωτεϊνικός δείκτης: Κυτόχρωμα c, $n=6$.

Πίνακας 1. Τυπικός όγκος συμπυκνώματος έναντι χρόνου περιδίνησης

Χρόνος περιδίνησης (min)	Όγκος συμπυκνώματος (μL)	
	Στροφέας περιστρεφόμενου κάδου $4.000 \times g$	Στροφέας σταθερής γωνίας 35° $7.500 \times g$
10	176	97
15	76	54
20	58	35

Συνθήκες περιδίνησης: Θερμοκρασία δωματίου, όγκος έναρξης 4 mL.

Χρησιμοποιούμενος πρωτεϊνικός δείκτης: Κυτόχρωμα c, $n=6$ (μέση τιμή 3 παρτίδων συσκευών).

Οι σκιασμένοι όγκοι χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό της πρωτεϊνικής ανάκτησης στον Πίνακα 3.

Πρωτεϊνική συγκράτηση και ανάκτηση συμπυκνώματος

Οι χρησιμοποιούμενες μεμβράνες στις συσκευές Amicon® Ultra χαρακτηρίζονται από μια τιμή αποκοπής μοριακού βάρους (MWCO), δηλαδή την ικανότητά τους να συγκρατούν μόρια πάνω από ένα καθορισμένο μοριακό βάρος. Οι διαλυτές ουσίες με μοριακά βάρη πλησίον της MWCO μπορεί να συγκρατούνται μόνο μερικώς. Η συγκράτηση της μεμβράνης εξαρτάται από το μέγεθος και το σχήμα των μορίων της διαλυτής ουσίας. Για τις περισσότερες εφαρμογές, το μοριακό βάρος είναι μια βολική παράμετρος για χρήση στην εκτίμηση των χαρακτηριστικών συγκράτησης. Για καλύτερα αποτελέσματα, χρησιμοποιήστε μία μεμβράνη με μία MWCO τουλάχιστον δύο φορές μικρότερη από το μοριακό βάρος της πρωτεϊνικής διαλυτής ουσίας που σκοπεύετε να συμπυκνώσετε. Ανατρέξτε στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2. Τυπική συγκράτηση πρωτεϊνικών δεικτών

Δείκτης/Συμπύκνωση	Μοριακό βάρος	MWCO συσκευής	% Συγκράτηση Περιστρεφόμενου κάδου	% Συγκράτηση Σταθερής γωνίας	Χρόνος περιδίνησης (min)
α-Χυμοθρυψινογόνο (1 mg/mL)	25.000	10K	> 95	> 95	15
Κυτόχρωμα c (0,25 mg/mL)	12.400		> 95	> 95	15
Βιταμίνη B-12 (0,2 mg/mL)	1.350		< 15	< 15	15

Συνθήκες περιδίνησης: Στροφέας περιστρεφόμενου κάδου, $4.000 \times g$ ή στροφέας σταθερής γωνίας 35° , $7.500 \times g$, όγκος έναρξης 4 mL, θερμοκρασία δωματίου, $n=6$ (μέση τιμή 3 παρτίδων συσκευών).

Οι παράγοντες που προσδιορίζουν την ανάκτηση δείγματος περιλαμβάνουν τη φύση της πρωτεϊνικής διαλυτής ουσίας που σχετίζεται με την MWCO της συσκευής που επιλέχτηκε, τη συγκέντρωση έναρξης και τον συντελεστή συμπύκνωσης. Ο Πίνακας 3 παρέχει τυπικές ανακτήσεις για τη συσκευή Amicon® Ultra-4 10K.

Πίνακας 3. Τυπική ανάκτηση συμπυκνώματος

Δείκτης/Συμπύκνωση	MWCO συσκευής	Χρόνος περιδίνησης (min)	Όγκος συμπυκνώματος (μL)		Συντελεστής συμπύκνωσης (x)		Ανάκτηση συμπυκνώματος (%)	
			Περιστρεφόμενου κάδου	Σταθερής γωνίας	Περιστρεφόμενου κάδου	Σταθερής γωνίας	Περιστρεφόμενου κάδου	Σταθερής γωνίας
Κυτόχρωμα c (0,25 mg/mL)	10K	15	76	54	52,3	76,6	97,3	98,5

Συνθήκες περιδίνησης: Στροφέας περιστρεφόμενου κάδου, $4.000 \times g$ ή στροφέας σταθερής γωνίας 35° , $7.500 \times g$, όγκος έναρξης 4 mL, θερμοκρασία δωματίου, $n=6$ (μέση τιμή 3 παρτίδων συσκευών). Οι σκιασμένοι όγκοι ελήφθησαν από τον Πίνακα 1.

Μεγιστοποίηση της ανάκτησης δείγματος

Χαμηλή ανάκτηση δείγματος στο συμπύκνωμα μπορεί να οφείλεται σε προσροφητικές απώλειες, υπερσυμπύκνωση ή δίοδο δείγματος μέσω της μεμβράνης.

- Οι προσροφητικές απώλειες εξαρτώνται από τη συγκέντρωση της διαλυτής ουσίας, την υδρόφοβη φύση αυτής, τη θερμοκρασία και τον χρόνο επαφής με τις επιφάνειες της συσκευής φίλτρου, τη σύνθεση του δείγματος και το pH. Για την ελαχιστοποίηση των απωλειών, αφαιρέστε τα συμπυκνωμένα δείγματα αμέσως μετά τη φυγοκεντρική περιδίνηση.
- Εάν η συμπύκνωση δείγματος έναρξης είναι υψηλή, παρακολουθήστε τη διαδικασία φυγοκέντρωσης για την αποφυγή της υπερσυμπύκνωσης του δείγματος. Η υπερσυμπύκνωση μπορεί να οδηγήσει σε καθίζηση και δυνητική απώλεια δείγματος.
- Εάν το δείγμα φαίνεται να περνάει μέσω της μεμβράνης, επιλέξτε μια συσκευή Amicon® Ultra-4 χαμηλότερης MWCO.

Τρόπος ποσοτικοποίησης ανακτήσεων

Υπολογίστε την ολική ανάκτηση, το ποσοστό της ανάκτησης συμπυκνώματος και το ποσοστό ανάκτησης διηθήματος με χρήση της παρακάτω μεθόδου. Αυτή η διαδικασία παρέχει στενή προσέγγιση των ανακτήσεων για διαλύματα που έχουν συγκεντρώσεις έως περίπου 20 mg/mL.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Οι κατάλληλες τεχνικές προσδιορισμού περιλαμβάνουν φασματοφωτομετρία απορρόφησης, ραδιοανοσοπροσδιορισμό, δείκτη διάθλασης και αγωγιμότητα.

Άμεση διαδικασία ζυγίσματος

Η πυκνότητα των περισσότερων αραιών πρωτεϊνών είναι σχεδόν ίση με την πυκνότητα του νερού (δηλ. 1 g/mL).

Χρησιμοποιώντας αυτή την ιδιότητα, οι όγκοι συμπυκνώματος και διηθήματος μπορούν να ποσοτικοποιηθούν με ζύγιση αυτών και μετατροπή των μονάδων από γραμμάρια σε χιλιοστόλιτρα. Αυτή η τεχνική είναι έγκυρη μόνο για διαλύματα με συγκεντρώσεις περίπου 20 mg/mL ή λιγότερο.

- Πριν από τη χρήση, ζυγίστε ξεχωριστά την άδεια συσκευή φίλτρου, το φυγοκεντρικό σωληνάριο και ένα άδειο σωληνάριο για τη συλλογή συμπυκνώματος.
- Γεμίστε τη συσκευή φίλτρου με διάλυμα και επαναζυγίστε.
- Συναρμολογήστε τη συσκευή και φυγοκεντρήστε σύμφωνα με τις οδηγίες.
- Συλλέξτε το συμπύκνωμα με έναν πιπέτορα και διανέμετέ το στο προζυγισμένο σωληνάριο συλλογής συμπυκνώματος.
- Αφαιρέστε τη συσκευή από το φυγοκεντρικό σωληνάριο και ζυγίστε το φυγοκεντρικό σωληνάριο και το σωληνάριο συλλογής συμπυκνώματος.
- Αφαιρέστε το βάρος της άδειας συσκευής/σωληναρίων για τον υπολογισμό των βαρών του υλικού έναρξης, του διηθήματος και του συμπυκνώματος.
- Κάντε προσδιορισμό του υλικού έναρξης, του διηθήματος και του συμπυκνώματος για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης διαλυτής ουσίας.
- Υπολογίστε τις ανακτήσεις χρησιμοποιώντας τα δεδομένα βάρους/όγκου και τις μετρηθείσες συγκεντρώσεις ως εξής:

$$\% \text{ ανάκτηση συμπυκνώματος} = 100 \times \frac{W_c \times C_c}{W_o \times C_o}$$

W_c = ολικό βάρος συμπυκνώματος πριν από τον προσδιορισμό
 W_o = βάρος αρχικού υλικού έναρξης
 W_f = βάρος διηθήματος

$$\% \text{ ανάκτηση διηθήματος} = 100 \times \frac{W_f \times C_f}{W_o \times C_o}$$

C_c = συγκέντρωση συμπυκνώματος
 C_o = συγκέντρωση αρχικού υλικού έναρξης
 C_f = συγκέντρωση διηθήματος

% ολική ανάκτηση = % ανάκτηση συμπυκνώματος + % ανάκτηση διηθήματος

Προδιαγραφές

Μέγιστος αρχικός όγκος δείγματος

Στροφέας περιστροφικού κάδου και στροφείς σταθερής γωνίας (45° και 35°)	4,0 mL
Στροφέας σταθερής γωνίας (23°)	3,5 mL

Τυπικός τελικός όγκος συμπυκνώματος 50-100 µL

Μέγιστη σχετική φυγοκεντρική δύναμη

Στροφέας περιστροφικού κάδου	4.000 × g
Στροφέας σταθερής γωνίας	7.500 × g

Ενεργό εμβαδόν μεμβράνης

3 cm²

Διαστάσεις

Συσκευή φίλτρου σε σωληνάριο (πωματισμένο)	
Μήκος: 124 mm	Διάμετρος: 17,3 mm
Συσκευή φίλτρου	
Μήκος: 73,4 mm	Διάμετρος: 17,2 mm

Υλικά κατασκευής

Συσκευή φίλτρου	Συμπολυμερές στυρενίου/βουταδιενίου
Μεμβράνη	Ultracel® χαμηλής δέσμευσης αναγεννημένη κυτταρίνη
Σωληνάριο διηθήματος	Πολυπροπυλένιο
Καπάκι και επένδυση διηθήματος	Πολυαιθυλένιο
Φίλτρο	MWCO 10K

Χημική συμβατότητα

Οι φυγοκεντρικές πλάκες Amicon® Ultra προορίζονται για χρήση με βιολογικά υγρά και υδατικά διαλύματα. Πριν από τη χρήση, ελέγξτε το δείγμα για χημική συμβατότητα με τη συσκευή. Μεταβείτε στη διεύθυνση [SigmaAldrich.com/FilterChemicalCompatibility](https://www.sigmaaldrich.com/FilterChemicalCompatibility) για περισσότερες πληροφορίες.

Ορισμοί συμβόλων

Σύμβολο	Ορισμός	Σύμβολο	Ορισμός
	In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή		Ημερομηνία κατασκευής
	Αριθμός καταλόγου		Κατασκευαστής
	Να μην επαναχρησιμοποιείται		Μη αποστειρωμένο προϊόν
	Ημερομηνία λήξης		Σήμα συμμόρφωσης CE
	Κωδικός παρτίδας		Όριο θερμοκρασίας
	Οι οδηγίες χρήσης είναι διαθέσιμες διαδικτυακά (online).		Να μη χρησιμοποιείται εάν η συσκευασία έχει υποστεί ζημιά.
	Μπορείτε να κάνετε μεταφόρτωση των εγγράφων του προϊόντος διαδικτυακά.		Ηνωμένο Βασίλειο Σήμα συμμόρφωσης

Παραγγελία προϊόντος

Μπορείτε να αγοράσετε αυτά τα προϊόντα διαδικτυακά στον ιστότοπο [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com).

Περιγραφή	Ποσότη./Συσκευασία	Αριθμός καταλόγου
	8	UFC801008D
Amicon® Ultra-4	24	UFC801024D
	96	UFC801096D

Σημείωση

Παρέχουμε πληροφορίες και συμβουλές στους πελάτες μας για τεχνολογικές εφαρμογές και κανονιστικά θέματα στο καλύτερο των γνώσεων και των δυνατοτήτων μας, αλλά χωρίς υποχρέωση ή ευθύνη. Οι ισχύοντες νόμοι και οι κανονισμοί θα πρέπει να τηρούνται σε όλες τις περιπτώσεις από τους πελάτες μας. Αυτό ισχύει επίσης όσον αφορά οποιαδήποτε δικαιώματα των τρίτων. Οι πληροφορίες και οι συμβουλές μας δεν απαλλάσσουν τους πελάτες μας της ευθύνης τους για τον έλεγχο της καταλληλότητας των προϊόντων μας για τον προβλεπόμενο σκοπό.

Συλλογή και διάθεση

Όλα τα δείγματα πρέπει να φέρουν σαφή σήμανση. Για τη λήψη και την προετοιμασία των δειγμάτων πρέπει να χρησιμοποιούνται κατάλληλα όργανα.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Ακολουθήστε τις προφυλάξεις για τη διάθεση των ειδών που έχουν μολυνθεί με δυνητικά μολυσματικό ή επικίνδυνο βιολογικό υλικό σύμφωνα με όλους τους ισχύοντες διεθνείς, κρατικούς και τοπικούς κανονισμούς.

Τεχνική υποστήριξη

Μπορείτε να επισκεφτείτε τη σελίδα τεχνικής υποστήριξης στον δικτυακό μας τόπο στο [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Κάθε σοβαρό συμβάν που σχετίζεται με αυτό το προϊόν θα πρέπει να αναφέρεται στον κατασκευαστή και στις αρμόδιες αρχές του κράτους όπου βρίσκεται η έδρα του χρήστη.

Τυπική εγγύηση

Η ισχύουσα εγγύηση για τα προϊόντα που αναγράφονται σε αυτή τη δημοσίευση ανευρίσκεται στη διεύθυνση [SigmaAldrich.com/terms](https://www.sigmaaldrich.com/terms).

Ιστορικό αναθεωρήσεων

2021-ΟΚΤ	- IFU PR05779 Ημερ. έκδ. ΟΚΤ. 2021 - Αντικατέστησε PR05139. - Προστέθηκαν σύμβολα Οδηγιών χρήσης (IFU), Ζημιάς συσκευασίας και Ορίου θερμοκρασίας. - Πληροφορίες περί Χημικής συμβατότητας και Παραγγελίας συνδέθηκαν με τον ιστότοπο. - Προστέθηκαν πληροφορίες περί Διάθεσης και Παραπόνων. - Προστέθηκαν πληροφορίες Υπεύθυνου προσώπου στο Η.Β. και Συμβόλου UKCA.
----------	--

Inleiding

Amicon® Ultra-4 10K-centrifugefilterhulpmiddelen bieden snelle ultrafiltratie, met de mogelijkheid voor hoge concentratiefactoren en eenvoudige concentraatrecovery uit verdunde en complexe monstermatrices. Het verticale ontwerp en het beschikbare membraanoppervlak bieden snelle monsterverwerking, hoge monsterrecovery (doorgaans meer dan 90% uit de verdunde startoplossing) en de mogelijkheid voor een 80-voudige concentratie. De typische verwerkingstijd bedraagt 10 tot 20 minuten. Polariseratie van de opgeloste stof en de daarop volgende vervuiling van het membraan worden geminimaliseerd door het verticale ontwerp, en een fysieke deadstop in de filterunit voorkomt droogdraaien en mogelijk verlies van het monster. Het concentraat wordt uit het monsterreservoir van de filterunit gehaald met behulp van een pipet, terwijl het ultrafiltraat wordt verzameld in de bijgeleverde centrifugebuis. De filters kunnen worden gecentrifugeerd in een centrifuge met bucket (voor optimale prestatie) of een rotor met vaste hoek. Amicon® Ultra-4 10K-hulpmiddelen worden niet-steriel geleverd en zijn uitsluitend bedoeld voor eenmalig gebruik.

Beoogd gebruik

Amicon® Ultra-4-centrifugefilterhulpmiddelen voor eenmalig gebruik zijn bestemd voor in-vitrodiagnostisch gebruik voor het verwerken van biologische oplossingen met een volume van 1-4 ml. Ze zijn bestemd voor het concentreren van biologische monsters zoals serum, urine, cerebrospinale vloeistof en andere lichaamsvloeistoffen, voorafgaand aan in-vitrodiagnostische analyse. Hulpmiddel voor eenmalig gebruik door laboratoriumanalist.

Toepassingen

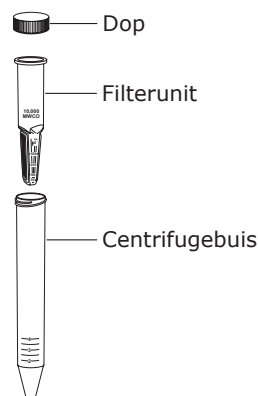
- Concentreren van biologische monsters die antigenen, antilichamen, enzymen, nucleïnezuren (DNA/RNA-monsters, enkel- of dubbelstrengs), micro-organismen, kolom-eluat en gezuiverde monsters bevatten
- Zuiveren van macromoleculaire componenten in weefselkweekextracten en cellysaten, verwijderen van primer, linkers of moleculaire labels van een reactiemix en eiwitverwijdering voorafgaand aan HPLC
- Ontzouten, bufferuitwisseling of diafiltratie

Geleverde materialen

Het Amicon® Ultra-4 10K-hulpmiddel wordt geleverd met dop, filter en centrifugebuis.

Benodigde apparatuur

- Centrifuge met bucket (voorkeur) of rotor met vaste hoek met houders voor 15ml-buizen van 17 mm x 124 mm met kegelvormige onderzijde
- LET OP:** Om schade aan de unit tijdens het centrifugeren te voorkomen, controleert u de vrije ruimte voorafgaand aan het centrifugeren.
- Pipet met punt van 200 microliter (µl) voor concentraatrecovery



Geschiktheid

Er worden voorbereidende recovery- en retentiestudies aanbevolen om geschiktheid voor beoogd gebruik te garanderen. Raadpleeg het hoofdstuk "Kwantificeren van recovery's".

Opslag en Stabiliteit

Raadpleeg het productetiket voor opslagomstandigheden en houdbaarheid.

Spoelen voor gebruik

De ultrafiltratiemembranen in Amicon® Ultra-4 10K-hulpmiddelen bevatten sporen van glycerine. Als dit materiaal de analyse stoort, moet het hulpmiddel voorafgaand aan het gebruik met buffer- of Milli-Q®-water worden gespoeld. Als de interferentie aanhoudt, spoelt u met 0,1 N NaOH gevolgd door een tweede centrifugestap met buffer- of Milli-Q®-water.

LET OP: Laat het membraan in Amicon® Ultra-filterhulpmiddelen niet uitdrogen als het nat is. Als u het hulpmiddel niet onmiddellijk na voorspoelen gebruikt, laat u vloeistof op het membraan totdat het hulpmiddel wordt gebruikt.

Aanwijzingen voor gebruik van Amicon® Ultra-4-centrifugefilterhulpmiddelen

1. Voeg maximaal 4 ml monster toe (3,5 ml bij gebruik van een rotor met vaste hoek van 23°) aan het Amicon®-ultrafiltratiehulpmiddel.
2. Plaats de afgedekte unit in de centrifugerotor (bij voorkeur bucket); bied tegengewicht met een gelijksoortig item. Controleer de vrije ruimte in de centrifuge voor gebruik.
3. **Wanneer u een bucketrotor gebruikt**, centrifugeer dan met maximaal 4000 x g gedurende ongeveer 10–20 minuten.
4. **Wanneer u een rotor met vaste hoek gebruikt**, plaats het hulpmiddel dan met het membraanpaneel omhoog en centrifugeer met maximaal 7500 g gedurende ongeveer 10-20 minuten.

LET OP: Raadpleeg Afbeelding 1 en Tabel 1 voor gebruikelijke centrifugeertijden.

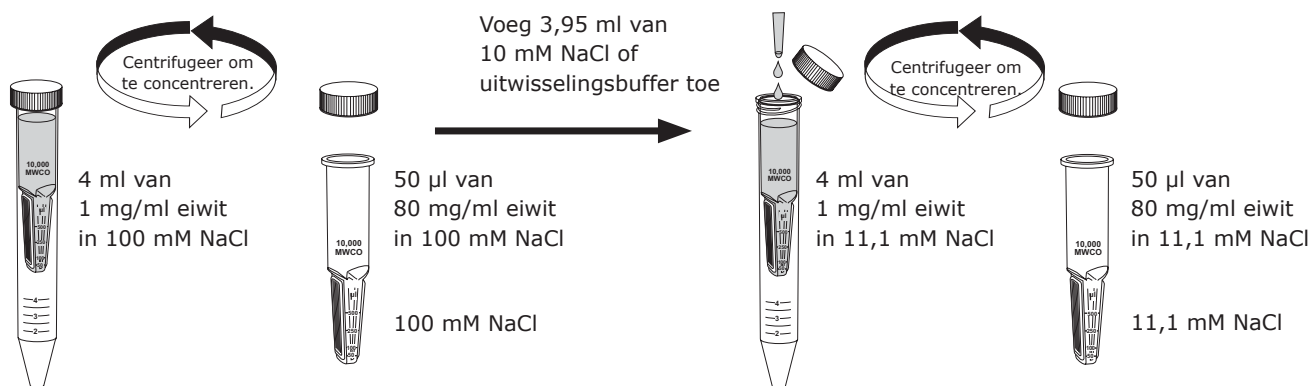
5. Steek voor recovery van de geconcentreerde opgeloste stof een pipet tot op de bodem van de filterunit en trek het monster op met een zijdelingse veegbeweging om te zorgen voor volledige recovery. Het ultrafiltraat kan worden bewaard in de centrifugebuis.

LET OP: Haal het monster er voor optimale recovery onmiddellijk na het centrifugeren uit.

LET OP: Het filter werkt mogelijk niet goed als het na het natmaken uitdroogt.

Ontzouten of diafiltratie

Ontzouten, bufferuitwisseling of diafiltratie zijn belangrijke methoden voor het verwijderen van zouten of oplosmiddelen in oplossingen die biomoleculen bevatten. De verwijdering van zouten of de uitwisseling van buffers kan worden uitgevoerd met het Amicon® Ultra-4-hulpmiddel door het monster te concentreren en vervolgens het concentraat met het gewenste oplosmiddel te reconstitueren tot het oorspronkelijke monstervolume. Het proces van "uitwassen" kan worden herhaald tot de concentratie van de vervuilende opgeloste microstof voldoende is verminderd. Zie onderstaand voorbeeld.

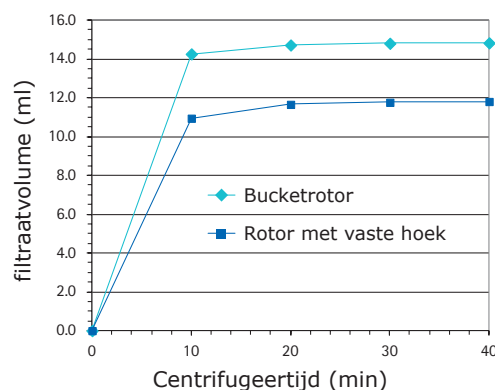


Prestatie

Stromingssnelheid

Factoren die de stromingssnelheid beïnvloeden zijn onder andere monsterconcentratie, startvolume, chemische aard van de opgeloste stof, relatieve centrifugeerkracht, hoek van de centrifugerotor, membraantype en temperatuur. Afbeelding 1 en Tabel 1 kunnen worden gebruikt om de benodigde tijd in te schatten voor het bereiken van een bepaald volume van filtraat of concentraat. Een typische centrifugeertijd voor een monster van 4 ml is ongeveer 10 tot 20 minuten. Terwijl het grootste gedeelte van het monster in de eerste 10 tot 15 minuten centrifugeren wordt gefilterd, wordt het kleinste concentraatvolume (30-75 µl) bereikt na 15 tot 20 minuten centrifugeren.

Afbeelding 1. Typisch filtraatvolume vs. centrifugeertijd



Centrifugeervoorwaarden: Bucketrotor, 4000 × g of rotor met vaste hoek, 7500 × g, kamertemperatuur, startvolume 4 ml. Gebruikte eiwitmarker: Cytochroom c, n=6.

Tabel 1. Typisch concentraatvolume vs. centrifugeertijd

Centrifugeertijd (min)	Concentraatvolume (µl)	
	Bucketrotor 4000 × g	35° rotor met vaste hoek 7500 × g
10	176	97
15	76	54
20	58	35

Centrifugeervoorwaarden: Kamertemperatuur, startvolume 4 ml.

Gebruikte eiwitmarker: cytochroom c, n=6 (gemiddelde waarde van 3 hulpmiddelpartijen).

De gearceerde volumes zijn gebruikt voor de berekening van eiwitrecoverie in Tabel 3.

Eiwitretentie en concentraatrecovery

De membranen die gebruikt worden in Amicon® Ultra-hulpmiddelen, hebben een bepaalde cut-offwaarde voor het molecuulgewicht (MWCO), dat wil zeggen een bepaald vermogen om moleculen boven een specifiek molecuulgewicht vast te houden. Opgeloste stoffen met molecuulgewicht dichtbij de MWCO worden mogelijk slechts gedeeltelijk vastgehouden. Membraanretentie is afhankelijk van de molecuulgrootte en -vorm van de opgeloste stof. Voor de meeste toepassingen is het molecuulgewicht een handige parameter bij de bepaling van retentiekenmerken. Gebruik voor de beste resultaten een membraan met een MWCO van ten minste twee maal kleiner dan het molecuulgewicht van het opgeloste eiwit dat u wilt concentreren. Raadpleeg Tabel 2.

Tabel 2. Typische retentie van eiwitmarkers

Marker/concentratie	Molecuulgewicht	MWCO van unit	% retentie bucket	% retentie vaste hoek	Centrifugeertijd (min)
α-chymotrypsinogeen (1 mg/ml)	25.000	10K	> 95	> 95	15
Cytochroom c (0,25 mg/ml)	12.400		> 95	> 95	15
Vitamine B12 (0,2 mg/ml)	1350		< 15	< 15	15

Centrifugeervoorwaarden: Bucketrotor, 4000 × g, of 35° rotor met vaste hoek, 7500 × g, 4 ml startvolume, kamertemperatuur, n=6 (gemiddelde waarde van 3 hulpmiddelpartijen).

Factoren die de monsterrecovery bepalen zijn onder andere de aard van het opgeloste eiwit in verhouding tot de gekozen MWCO-unit, startconcentratie en concentratiefactor. In Tabel 3 worden typische recovery's vermeld voor het Amicon® Ultra-4 10K-hulpmiddel.

Tabel 3. Typische concentraatrecovery

Marker/concentratie	MWCO van unit	Centrifugeertijd (min)	Concentraatvolume (µl)		Concentratiefactor (x)		Concentraatrecovery (%)	
			Bucket	Met vaste hoek	Bucket	Met vaste hoek	Bucket	Met vaste hoek
Cytochroom c (0,25 mg/ml)	10K	15	76	54	52,3	76,6	97,3	98,5

Centrifugeervoorwaarden: Bucketrotor, 4000 × g, of 35° rotor met vaste hoek, 7500 × g, 4 ml startvolume, kamertemperatuur, n=6 (gemiddelde waarde van 3 hulpmiddelpartijen). De gearceerde volumes zijn afkomstig uit Tabel 1.

Maximaliseren van monsterrecovery

Lage monsterrecovery in het concentraat kan te wijten zijn aan adsorptief verlies, overconcentratie of passeren van het monster door het membraan.

- Adsorptief verlies hangt af van de concentratie van de opgeloste stof, de hydrofobe aard, temperatuur en de contactduur met het filterunitoppervlak, monstersamenstelling en pH. Om het verlies tot een minimum te beperken verwijdert u de geconcentreerde monsters onmiddellijk na het centrifugeren.
- Als de aanvangsconcentratie van het monster te hoog is, controleert u het centrifugeerproces om overconcentratie van het monster te vermijden. Overconcentratie kan leiden tot precipitatie en mogelijk monsterverlies.
- Als het monster door het membraan lijkt te gaan, kies dan een Amicon® Ultra-4-hulpmiddel met een lagere MWCO.

Kwantificeren van recovery's

Bereken de totale recovery, het percentage van de concentraatrecovery en het percentage filtraatrecovery met behulp van onderstaande methode. De procedure biedt een goede benadering van de recovery's voor oplossingen met een concentratie tot ongeveer 20 mg/ml.

LET OP: Geschikte testtechnieken zijn onder meer absorptiespectrofotometrie, radio-immuunassay, brekingsindex en geleidbaarheid.

Directe weegprocedure

De dichtheid van de meeste verdunde eiwitten is bijna gelijk aan de dichtheid van water (1 g/ml). Met deze eigenschap kunnen de concentraat- en filtraatvolumes worden gekwantificeerd door ze te wegen en de eenheden van gram naar milliliter te converteren. Deze techniek geldt alleen voor oplossingen met concentraties van ongeveer 20 mg/ml of minder.

- Weeg voor gebruik eerst afzonderlijk de lege filterunit, de centrifugebuis en een lege buis voor concentraatverzameling.
- Vul de filterunit met oplossing en weeg opnieuw.
- Zet de filterunit in elkaar en centrifugeer volgens instructies.
- Verzamel het concentraat met een pipet en doe het in de vooraf gewogen concentraatverzamelbuis.
- Verwijder de filterunit uit de centrifugebuis en weeg de centrifugebuis en de concentraatverzamelbuis.
- Trek het gewicht van de lege unit/de buizen af om het gewicht van het startmateriaal, het filtraat en het concentraat te bepalen.
- Analyseer startmateriaal, filtraat en concentraat om de concentratie van de opgeloste stof te bepalen.
- Bereken de recovery met behulp van gewicht/volumegegevens en de gemeten concentraties als volgt:

$$\% \text{ concentraatrecovery} = 100 \times \frac{W_c \times C_c}{W_o \times C_o}$$

$$\% \text{ filtraatrecovery} = 100 \times \frac{W_f \times C_f}{W_o \times C_o}$$

$$\% \text{ totale recovery} = \% \text{ concentraatrecovery} + \% \text{ filtraatrecovery}$$

W_c = totaalgewicht van concentraat voorafgaand aan analyse
 W_o = gewicht van oorspronkelijk startmateriaal
 W_f = gewicht van filtraat

C_c = concentratie van concentraat
 C_o = oorspronkelijke concentratie van het startmateriaal
 C_f = concentratie van het filtraat

Specificaties

Maximaal oorspronkelijk monstervolume

Bucketrotor en rotor met vaste hoek (45° en 35°)	4,0 ml
Rotor met vaste hoek (23°)	3,5 ml

Typisch uiteindelijk concentraatvolume 50-100 µl

Maximale relatieve centrifugale kracht

Bucketrotor	4000 × g
Rotor met vaste hoek	7500 × g

Actief membraanoppervlak 3 cm²

Afmetingen

Filterunit in buis (afgedekt)	
Lengte: 124 mm	Diameter: 17,3 mm
Filterunit	
Lengte: 73,4 mm	Diameter: 17,2 mm

Constructiematerialen

Filterunit	Copolymeer styreen/butadieen
Membraan	Ultracel® laag-bindende geregenereerde cellulose
Filtraatbuis	Polypropyleen
Filtraatdop en voering	Polyethyleen
Filter	MWCO 10K

Chemische compatibiliteit

Amicon® Ultra centrifugal®-hulpmiddelen zijn bedoeld voor gebruik met biologische vloeistoffen en waterige oplossingen. Controleer voor gebruik het monster op chemische compatibiliteit met het hulpmiddel. Ga naar SigmaAldrich.com/FilterChemicalCompatibility voor meer informatie.

Betekenis symbolen

Symbol	Definitie	Symbol	Definitie
	In-vitrodiagnostisch medisch hulpmiddel		Fabricagedatum
	Catalogusnummer		Fabrikant
	Niet voor hergebruik		Niet-steriel product
	Uiterste gebruiksdatum		CE-conformiteitsmarkering
	Batchcode		Temperatuurlimiet
	Instructies voor gebruik online beschikbaar		Niet gebruiken indien de verpakking beschadigd is
	Download de productinformatie online		Conformiteitsmerk Verenigd Koninkrijk

Bestellen product

Koop producten online via SigmaAldrich.com.

Beschrijving	Hoef./pk	Catalogusnummer
	8	UFC801008D
Amicon® Ultra-4	24	UFC801024D
	96	UFC801096D

Kennisgeving

Wij bieden naar ons beste weten en vermogen informatie en advies aan onze klanten over applicatietechnologieën en bepalingen, echter zonder enige verplichting of aansprakelijkheid. Bestaande wet- en regelgeving dient in alle gevallen door onze klanten te worden nageleefd. Dit is tevens van toepassing wat betreft eventuele rechten van derde partijen. Onze informatie en adviezen ontheffen klanten niet van hun eigen verantwoordelijkheid om de geschiktheid van onze producten voor het beoogde doel te controleren.

Inzameling en afvoer

Alle monsters moeten duidelijk worden geëtiketteerd. Voor het verkrijgen en prepareren van monsters dienen daarvoor geschikte instrumenten worden gebruikt.

LET OP: Volg de aanwijzingen voor het afvoeren van items die verontreinigd zijn met mogelijk infectieuze of gevaarlijke biologisch materiaal volgens alle toepasselijke internationale, federale, provinciale en plaatselijke regelgeving.

Technische assistentie

Bezoek de techservicepagina op onze website op SigmaAldrich.com/techservice.

Elk ernstig incident met dit hulpmiddel dient gemeld te worden aan de fabrikant en de bevoegde instantie van het land waar de gebruiker is gevestigd.

Standaardgarantie

De toepasselijke garantie voor de producten die in deze publicatie worden genoemd vindt u op SigmaAldrich.com/terms.

Herzieningshistorie

OKT 2021	- IFU PR05779 Datum uitgifte OKT 2021 - Vervangt PR05139. - IFU-, verpakkingsschade- en temperatuurlimietsymbolen toegevoegd. - Chemische compatibiliteit en bestelinformatie gekoppeld aan website. - Informatie over afvoer en klachten toegevoegd. - Verantwoordelijk persoon VK en UKCA-symboolinformatie toegevoegd
----------	--

Introduktion

Amicon® Ultra-4 10K centrifugalfilteranordninger giver hurtig ultrafiltrering med mulighed for høje koncentrationsfaktorer og nem konzentratgenfindning fra fortyndede og komplekse prøvematrixer. Det vertikale design og det tilgængelige membranoverfladeareal giver hurtig prøvebehandling, høj prøvegenfindning (typisk over 90% af den fortyndede startopløsning) samt mulighed for 80 ganges koncentration. Den typiske behandlingstid er 10 til 20 minutter. Polarisering af opløst stof og efterfølgende tilsmudsning af membranen minimeres af det vertikale design, og et fysisk fast stop i filteret forhindrer centrifugering til tørhed og potentielt prøvetab. Koncentratet opsamles fra filteranordningens prøvereservoir ved brug af en pipette, mens ultrafiltratet opsamles i det leverede centrifugerør. Anordningen kan centrifugeres i en udsvingsrotor (giver optimal ydelse) eller en vinkelrotor. Amicon® Ultra-4 10K anordninger leveres ikke-sterile og er kun beregnede til engangsbrug.

Tilsigtet brug

Amicon® Ultra-4 centrifugalfilteranordninger er ultrafiltreringsanordninger til engangsbrug, som er beregnede til in vitro-diagnose til behandling af biologiske oplysninger i volumenintervallet 1-4 mL. De er beregnede til at koncentrere biologiske prøver såsom serum, urin, cerebrospinalvæske og andre legemsvæsker inden in vitro-analyse. Udstyr til engangsbrug, som er beregnet til at blive anvendt af faguddannet laboratoriepersonale.

Anvendelser

- Koncentrering af biologiske prøver, som indeholder antigener, antistoffer, enzymer, nukleinsyrer (DNA/RNA-prøver, enten enkelt- eller dobbeltstrengede), mikroorganismer, søjleeluatere og oprensede prøver
- Rensning af makromolekylære komponenter fundet i vævskulturekstrakter og cellelysater, fjernelse af primer, linkere eller molekylmærkninger fra en reaktionsblanding samt proteinfjernelse inden HPLC
- Afsaltning, bufferudveksling eller diafiltrering

Medfølgende materialer

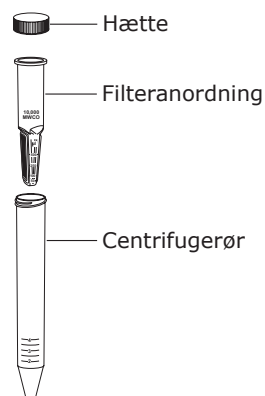
Amicon® Ultra-4 10K anordningen leveres med en hætte, en filteranordning og et centrifugerør.

Påkrævet udstyr

- Centrifuge med udsvingsrotor (foretrukket) eller vinkelrotor med brønde/holdere med kapacitet til 15 mL-rør på 17 mm × 124 mm med konisk bund

FORSIGTIG: Kontrollér frirum inden centrifugering for at undgå beskadigelse af anordningen under centrifugering.

- Pipette med spids på 200 mikroliter (µL) til konzentratgenfindning.



Egnethed

Det foreslås at udføre præliminære genfindings- og retentionsundersøgelser for at sikre egnetheden til den tilsigtede anvendelse. Se afsnittet "Kvantitetsbestemmelse af genfindinger".

Opbevaring og stabilitet

Se produktmærkningen for oplysninger om opbevaringsbetingelser og holdbarhed.

Skylning inden brug

Ultrafiltreringsmembranerne i Amicon® Ultra-4 10K anordningerne indeholder spor af glycerin. Hvis dette materiale forårsager interferens i forbindelse med analysen, skal anordningen skylles med buffer eller Milli-Q® vand før brug. Hvis interferensen varer ved, skal anordningen skylles med 0,1 N NaOH efterfulgt af endnu en centrifugering med buffer eller Milli-Q® vand.

FORSIGTIG: Membranen i Amicon® Ultra-filteranordningerne må ikke tørre ud, efter de er blevet vædet. Hvis anordningen ikke anvendes umiddelbart efter skylning, skal der blive væske tilbage på membranen, indtil anordningen skal anvendes.

Sådan anvendes Amicon® Ultra-4 centrifugalfilteranordninger

1. Tilsæt op til 4 mL prøve (3,5 mL ved brug af en vinkelrotor på 23°) til Amicon® Ultra-filteranordningen.
2. Sæt hættten på filteranordningen og anbring den i centrifugerotoren (udsvingsrotor foretrækkes). Dan modvægt med en tilsvarende anordning. Kontrollér frirummet i centrifugen før brug.
3. **Ved anvendelse af en udsvingsrotor** centrifugeres anordningen ved maksimalt $4.000 \times g$ i ca. 10-20 minutter.
4. **Ved anvendelse af en vinkelrotor** vendes anordningen med membranpanelet opad og centrifugeres ved maksimalt $7.500 \times g$ i ca. 10-20 minutter.

BEMÆRK: Se figur 1 og tabel 1 vedrørende typiske centrifugeringstider.

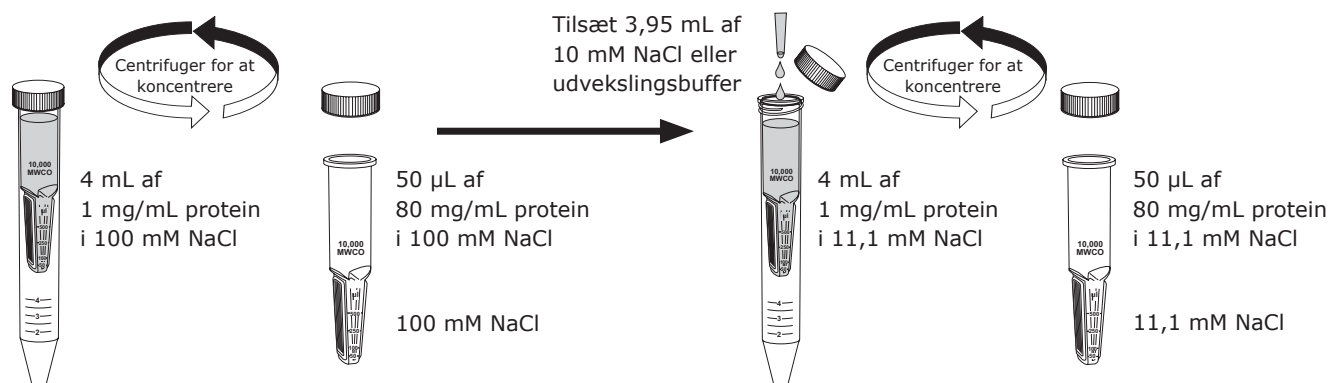
5. For at genfinde koncentreret opløst stof skal man indsætte en pipette i bunden af filteranordningen og udtrække prøven ved brug af en fejende bevægelse fra side til side for at sikre fuldstændig genfindning. Ultrafiltratet kan opbevares i centrifugerøret.

BEMÆRK: For at opnå optimal genfindning skal koncentreret prøve fjernes umiddelbart efter centrifugering.

BEMÆRK: Filteret fungerer muligvis ikke efter hensigten, hvis det tørrer ud, efter det er blevet vædet.

Afsaltning eller diafiltrering

Afsaltning, bufferudveksling eller diafiltrering er vigtige metoder til fjernelse af salte eller opløsningsmidler i opløsninger, der indeholder biomolekyler. Fjernelse af salte eller udveksling af buffere kan udføres i Amicon® Ultra-4 anordningen ved at koncentrere prøven og derefter rekonstituere koncentratet til den oprindelige prøvolumen med det ønskede opløsningsmiddel. "Udvaskningsprocessen" kan gentages, indtil koncentrationen af de kontaminerende mikropartikler er tilstrækkeligt reduceret. Se eksemplet nedenfor.

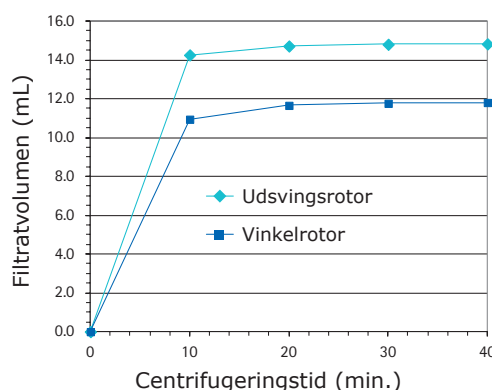


Ydelse

Flowhastighed

Faktorer, som påvirker flowhastigheden, omfatter prøvekoncentration, startvolumen, det opløste stofs kemiske egenskaber, den relative centrifugalkraft, centrifugerotorens vinkel, membrantype og temperatur. Figur 1 og tabel 1 kan benyttes til at anslå den tid, som er påkrævet for at opnå en given mængde filtrat eller koncentrat. Typisk centrifugeringstid for en prøve på 4 mL er 10 til 20 minutter. Mens det meste af prøven filtreres i løbet af de første 10 til 15 minutter af centrifugeringen, opnås den laveste koncentratvolumen (30-75 µL) efter centrifugering i 15 til 20 minutter.

Figur 1. Typisk filtratvolumen vs. centrifugeringstid



Centrifugeringsbetingelser: Udsvingsrotor, 4.000 × g, eller vinkelrotor, 7.500 × g, rumtemperatur, 4 mL startvolumen. Anvendt proteinmarkør: Cytochrom c, n=6.

Tabel 1. Typisk koncentratvolumen vs. centrifugeringstid

Centrifugeringstid (min.)	Koncentratvolumen (µL)	
	Udsvingsrotor 4.000 × g	35° vinkelrotor 7.500 × g
10	176	97
15	76	54
20	58	35

Centrifugeringsbetingelser: Rumtemperatur, 4 mL startvolumen. Anvendt proteinmarkør: Cytochrom c, n=6 (middelværdi for 3 apparatpartier). Gråtonede volumener blev anvendt til beregningen af proteingenfindning i tabel 3.

Proteinretention og koncentratgenfindning

De membraner, der anvendes i Amicon® Ultra-anordninger er kendetegnede ved en afskæringsværdi for molekylvægten (MWCO) – hvilket vil sige deres evne til at tilbageholde molekyler over en bestemt molekylvægt. Opløste stoffer med en molekylvægt tæt på MWCO tilbageholdes muligvis kun delvist. Membranretentionen afhænger af det opløste stofs molekylstørrelse og -form. Molekylvægt er ved de fleste anvendelser en egnet parameter til brug ved vurdering af retentionskarakteristika. For at opnå de bedste resultater skal der bruges en membran med en MWCO, der er mindst to gange mindre end molekylvægten for det opløste proteinstof, som skal koncentreres. Se tabel 2.

Tabel 2. Typisk retention af proteinmarkører

Markør/Koncentration	Molekylvægt	Anordningens MWCO	% retention, udsvingsrotor	% retention, vinkelrotor	Centrifugeringstid (min.)
α-Chymotrypsinogen (1 mg/mL)	25.000	10K	> 95	> 95	15
Cytochrom c (0,25 mg/mL)	12.400		> 95	> 95	15
Vitamin B-12 (0,2 mg/mL)	1.350		< 15	< 15	15

Centrifugeringsbetingelser: Udsvingsrotor, 4.000 × g, eller 35° vinkelrotor, 7.500 × g, 4 mL startvolumen, rumtemperatur, n=6 (middelværdi for 3 apparatpartier).

Faktorer, som er afgørende for prøvegenfindning, omfatter det opløste proteinstofs egenskaber i forhold til den valgte anordnings MWCO, startkoncentration samt koncentrationsfaktor. Tabel 3 viser typiske genfindinger for Amicon® Ultra-4 10K anordningen.

Tabel 3. Typisk koncentratgenfindning

Markør/ Koncentration	Anordningens MWCO	Centrifugeringstid (min.)	Koncentratvolumen (µL)		Koncentrationsfaktor (x)		Koncentratgenfindning (%)	
			Udsvings- rotor	Vinkel- rotor	Udsving- srotor	Vinkel- rotor	Udsvings- rotor	Vinkel- rotor
Cytochrom c (0,25 mg/mL)	10K	15	76	54	52,3	76,6	97,3	98,5

Centrifugeringsbetingelser: Udsvingsrotor, 4.000 × g, eller 35° vinkelrotor, 7.500 × g, 4 mL startvolumen, rumtemperatur, n=6 (middelværdi for 3 apparatpartier). De gråtonede volumener blev taget fra tabel 1.

Maksimering af prøvegenfindning

Lav prøvegenfinding i konzentratet kan skyldes adsorptionstab, overkoncentrering eller passage af prøve gennem membranen.

- Adsorptionstab afhænger af det opløste stofs koncentration, dets hydrofobe egenskaber, temperatur og kontakttid med filteranordningens overflader, prøvesammensætning og pH. For at minimere tab skal koncentrerende prøver fjernes umiddelbart efter centrifugering.
- Hvis prøvens startkoncentration er høj, skal centrifugeringsprocessen overvåges for at undgå overkoncentrering af prøven. Overkoncentrering kan medføre bundfældning og potentielt prøvetab.
- Hvis de lader til, at prøven passerer igennem membranen, skal der vælges en Amicon® Ultra-4 anordning med en lavere MWCO.

Kvantitetsbestemmelse af genfindinger

Beregn samlet genfinding, procentvis konzentratgenfinding og procentvis filtratgenfinding ved brug af nedenstående metode. Proceduren giver desuden en nær tilnærmelsesværdi for genfindinger for opløsninger med koncentrationer på op til ca. 20 mg/mL.

BEMÆRK: Egnede analyseringsteknikker omfatter absorptionsspektrofotometri, radioimmunanalyse, brydningsindeks og konduktivitet.

Direkte vejningsprocedure

Massefylden for de fleste fortyndede proteiner er næsten lig med massefylden for vand (dvs. 1 g/mL). Ved at benytte denne egenskab kan konzentrat- og filtratvolumener kvantitetsbestemmes ved at veje dem og konvertere enhederne fra gram til milliliter. Denne teknik er udelukkende gyldig for opløsninger med koncentrationer på ca. 20 mg/mL eller derunder.

- Inden brug vejes den tomme filteranordning, centrifugerøret og et tomt rør til konzentratopsamling separat.
- Fyld filteranordningen med opløsning og vej igen.
- Saml anordningen, og centrifuger i henhold til anvisningerne.
- Opsaml konzentratet med en pipette, og dispenser det til et forhåndsvejet konzentratopsamlingsrør.
- Fjern anordningen fra centrifugerøret, og vej centrifugerøret og konzentratopsamlingsrøret.
- Fratræk vægten af de(n) tomme anordning/rør for at beregne vægten af startmateriale, filtrat og konzentrat.
- Analysér startmaterialet, filtratet og konzentratet for at bestemme koncentrationen af opløst stof.
- Beregn genfindinger ved brug af vægt-/volumendata og de målte koncentrationer som følger:

$$\% \text{ konzentratgenfinding} = 100 \times \frac{W_c \times C_c}{W_o \times C_o}$$

$$\% \text{ filtratgenfinding} = 100 \times \frac{W_f \times C_f}{W_o \times C_o}$$

$$\% \text{ samlet genfinding} = \% \text{ konzentratgenfinding} + \% \text{ filtratgenfinding}$$

W_c = samlet vægt af konzentratet før analysen
 W_o = vægten på det oprindelige startmateriale
 W_f = filtratets vægt

C_c = konzentratkoncentration
 C_o = koncentrationen af det oprindelige startmateriale
 C_f = filtratkoncentration

Specifikationer

Maksimal indledende prøvevolumen

Udsvingsrotor og vinkelrotor (45° og 35°)	4,0 mL
Vinkelrotor (23°)	3,5 mL

Typisk endelig konzentratvolumen 50-100 µL

Maksimal relativ centrifugalkraft

Udsvingsrotor	4.000 × g
Vinkelrotor	7.500 × g

Aktivt membranareal 3 cm²

Dimensioner

Filteranordning i rør (med hætte påsat)	
Længde: 124 mm	Diameter: 17,3 mm
Filteranordning	
Længde: 73,4 mm	Diameter: 17,2 mm

Fremstillingsmaterialer

Filteranordning	Styren/butadien-copolymer
Membran	Ultracel® regenereret cellulose med lav binding
Filtratrør	Polypropylen
Filtrathætte og -indsats	Polyethylen
Filter	MWCO 10K

Kemisk kompatibilitet

Amicon® Ultra-centrifugeringsanordninger er beregnede til at blive anvendt med biologiske væsker og vandige opløsninger. Inden brug skal det kontrolleres, at prøven er kemisk kompatibel med anordningen. Gå til SigmaAldrich.com/FilterChemicalCompatibility for nærmere.

Symbolforklaring

Symbol	Definition	Symbol	Definition
	In vitro-diagnostisk medicinsk udstyr		Fremstillingsdato
	Katalognummer		Producent
	Må ikke genbruges		Ikke-sterilt produkt
	Anvendes inden		CE-overensstemmelsesmærkning
	Batchkode		Tilladt temperatur
	Brugsanvisninger er tilgængelige på internettet		Må ikke anvendes, hvis emballagen er beskadiget
	Download produktdokumentation på internettet		Overensstemmelsesmærkning for Storbritannien

Produktbestilling

Produkter kan bestilles på internettet på SigmaAldrich.com.

Beskrivelse	Antal/pakke	Katalognummer
	8	UFC801008D
Amicon® Ultra-4	24	UFC801024D
	96	UFC801096D

Bemærkning

Vi informerer og rådgiver vores kunder om applikationsteknologi og juridiske forhold efter bedste viden og evne, men uden forpligtelse eller ansvar. Vores kunder skal under alle omstændigheder overholde de gældende love og bestemmelser. Dette gælder også med henblik på eventuelle tredjeparter. Oplysninger og rådgivning fra os fratager ikke kunderne deres ansvar for at kontrollere, at vores produkter egner sig til det tilsigtede formål.

Prøveudtagning og bortskaffelse

Alle prøver skal forsynes med tydelige etiketter. Der skal anvendes egnede instrumenter til udtagning og klargøring af prøverne.

BEMÆRK: Følg forholdsreglerne for bortskaffelse af genstande, der er forurenet med potentielt smittefarlige eller farlige biologiske materialer i henhold til alle gældende internationale, nationale og lokale bestemmelser.

Teknisk assistance

Tag et kig på siden med teknisk service på vores websted på adressen SigmaAldrich.com/techservice.

Alle alvorlige hændelser med tilknytning til denne anordning skal indberettes til producenten og den kompetente myndighed i det land, hvor brugeren er registreret.

Standardgaranti

Den gældende garanti for de produkter, der er anført i dette dokument, kan findes på adressen SigmaAldrich.com/terms.

Revisionshistorik

2021-OKT	• Brugsanvisning PR05779 udgivelsesdato OKT 2021 - Erstattede PR05139. • Symboler for brugsanvisning, beskadiget emballage og tilladt temperatur tilføjet. • Oplysninger om kemisk kompatibilitet og bestilling tilknyttet til hjemmesiden. • Oplysninger om bortskaffelse og klager tilføjet. • Oplysninger om den ansvarlige i Storbritannien og UKCA-symbolet tilføjet.
----------	--

Introduktion

Amicon® Ultra-4 10K-centrifugfilterenheter ger snabb ultrafiltrering med kapacitet för höga koncentrationsfaktorer och enkelt koncentratutbyte från spädda och komplexa provmatriser. Den lodräta utformningen och tillgänglig membranyta ger snabb provbehandling, högt provutbyte (vanligtvis högre än 90% av den spädda startlösningen) och kapacitet för 80-faldig koncentration. Typisk bearbetningstid är 10 till 20 minuter. Polarisering av lösta ämnen och efterföljande blockering av membranet minimeras genom den lodräta utformningen och ett fysiskt stopp i filterenheten förhindrar för lång centrifugeringstid, uttorkning och möjlig provförlust. Koncentratet samlas in från filterenhetens provkärn med användning av en pipett medan ultrafiltratet samlas in i det medföljande centrifugröret. Enheten kan centrifugeras i en "swinging bucket"-rotor (för optimal prestanda) eller i en rotor med fast vinkel. Amicon® Ultra-4 10K-enheterna levereras icke-sterila och är endast avsedda för engångsbruk.

Avsedd användning

Amicon® Ultra-4-centrifugfilterenheter är ultrafiltreringsfilterenheter avsedda för engångsbruk och för in vitro-diagnostisk användning för bearbetning av biologiska lösningar med en volym på 1 till 4 ml. De är avsedda för in vitro-diagnostik för att koncentrera biologiska prover såsom serum, urin, cerebrospinalvätska och andra kroppsvätskor före in vitro-diagnostisk analys. Enheten är avsedd för engångsbruk och för användning av laboratoriepersonal.

Användningsområden

- Koncentrering av biologiska prover innehållande antigener, antikroppar, enzymer, nukleinsyror (DNA-/RNA-prover, antingen med enkel eller dubbel sträng), mikroorganismer, kolonneluat och renade prover.
- Rening av makromolekylära komponenter i vävnadsodlingsextrakt och celllysats, avlägsnande av primer, länkande enheter eller molekyllmarkörer från en reaktionsblandning och avlägsnande av protein före högupplösande vätskekromatografi.
- Avsaltning, buffertutbyte eller diafiltrering.

Tillhandahållet materiel

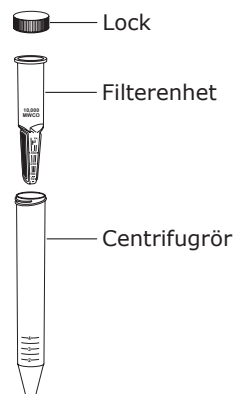
Amicon® Ultra-4 10K-enheten levereras med ett lock, en filterenhet och ett centrifugrör.

Nödvändig utrustning

- Centrifug med "swinging bucket"-rotor (helst) eller en rotor med fast vinkel med brunnar/hållare som rymmer 17 mm × 124 mm 15 ml rör med konisk botten.

FÖRSIKTIGHET: Kontrollera för lämplig frigång innan du centrifugerar för att undvika skada på enheten under centrifugering.

- Pipett med spets på 200 mikroliter (µl) för insamling av koncentrat



Lämplighet

Preliminära utbytes- och retentionsstudier rekommenderas för att säkerställa lämpligheten för den avsedda användningen. Se avsnittet "Hur utbytet kvantifieras".

Förvaring och stabilitet

Se produktmärkningen för förvaringsförhållanden och hållbarhet.

Försköljning

Ultrafiltreringsmembranen i Amicon® Ultra-4 10K-enheterna innehåller spårmängder av glycerin. Skölj enheten med buffert eller Milli-Q®-vatten före användning om detta material interfererar med analysen. Skölj med 0,1 N NaOH om interferensen fortsätter och centrifugera sedan en andra gång med buffert eller Milli-Q®-vatten.

FÖRSIKTIGHET: Låt inte membranet i Amicon®-ultrafilterenheterna torka ut efter att det har våtats. Om du inte tänker använda enheten direkt efter sköljningen, lämna vätska på membranet tills enheten ska användas.

Hur Amicon® Ultra-4-centrifugfilterenheter ska användas

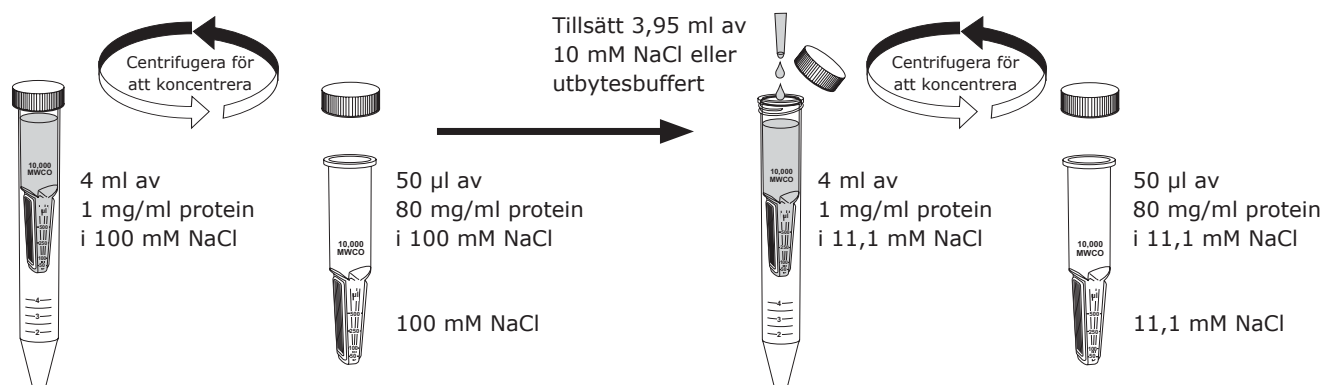
1. Tillsätt upp till 4 ml prov (3,5 ml om du använder en rotor med fast vinkel på 23°) till Amicon®-ultrafilterenheten.
 2. Placera filterenheten med lock i centrifugrotorn (helst "swinging bucket") och använd en liknande enhet som motvikt. Kontrollera centrifugen för lämplig frigång innan den används.
 3. Centrifugera enheten vid maximalt $4\,000 \times g$ i cirka 10–20 minuter **vid användning av en "swinging bucket"-rotor.**
 4. Placera enheten med membransidan riktad uppåt och centrifugera vid maximalt $7\,500 \times g$ i cirka 10–20 minuter **vid användning av en rotor med fast vinkel.**
- OBS:** Se figur 1 och tabell 1 för typiska centrifugeringstider.
5. För in en pipett i botten av filterenheten för att samla in det koncentrerade lösta ämnet och avlägsna provet genom en svepande rörelse från sida till sida för att säkerställa ett fullständigt utbyte. Ultrafiltratet kan förvaras i centrifugröret.

OBS: Avlägsna det koncentrerade provet omedelbart efter centrifugering för optimalt utbyte.

OBS: Filtret kanske inte fungerar som det ska om det torkar ut före vätningen.

Avsaltning eller diafiltrering

Avsaltning, buffertutbyte eller diafiltrering är viktiga metoder för att avlägsna salter eller lösningsmedel i lösningar innehållande biomolekyler. Avlägsnande av salter eller buffertutbyte kan utföras i Amicon® Ultra-4-enheten genom att koncentrera provet och sedan rekonstituera koncentratet till den ursprungliga provvolymen med önskat lösningsmedel. Denna "tvättprocess" kan upprepas tills koncentrationen av det kontaminerande lågmolekylära ämnet har minskats tillräckligt. Se exemplet nedan.

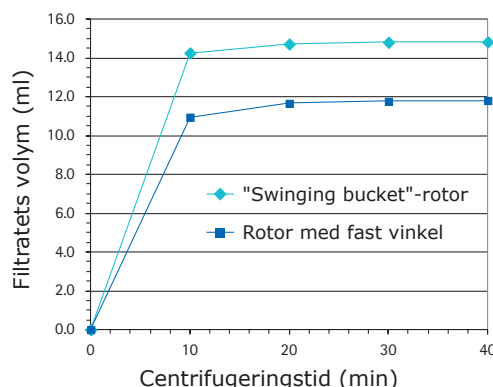


Prestanda

Flödes hastighet

Faktorer som påverkar flödes hastigheten omfattar provkoncentration, startvolym, det lösta ämnets kemiska egenskaper, relativ centrifugalkraft, centrifugrotorns vinkel, membran typ och temperatur. Figur 1 och tabell 1 kan användas för att uppskatta den tid som krävs för att uppnå en given filtrat- eller konzentratvolym. En typisk centrifugeringstid för ett prov på 4 ml är cirka 10 till 20 minuter. Medan den största delen av provet filtreras under de första 10 till 15 minuterna av centrifugeringen, så uppnås den lägsta konzentratvolymen (30–75 µl) efter centrifugering i 15 till 20 minuter.

Figur 1. Typisk filtratvolym jämfört med centrifugeringstid



Centrifugeringsförhållanden: "Swinging bucket"-rotor, 4 000 × g, eller rotor med fast vinkel, 7 500 × g, rumtemperatur, 4 ml startvolym. Använda proteinmarkörer: Cytokrom c, n=6.

Tabell 1. Typisk konzentratvolym jämfört med centrifugeringstid

Centrifugeringstid (min)	Konzentratets volym (µl)	
	"Swinging bucket"-rotor 4 000 × g	Rotor med fast vinkel på 35° 7 500 × g
10	176	97
15	76	54
20	58	35

Centrifugeringsförhållanden: Rumtemperatur, 4 ml startvolym. Använda proteinmarkörer: Cytokrom c, n=6 (medelvärde för 3 enhetssatser). Skuggade volymer användes för beräkning av proteinutbyte i tabell 3.

Proteinretention och konzentratutbyte

Membranen som används i Amicon®-ultraenheterna karakteriseras av gränsvärdet för molekylvikt (MWCO), d.v.s. deras förmåga att hålla kvar molekyler över en specifik molekylvikt. Lösta ämnen med molekylvikter nära MWCO kan kanske endast delvis hållas kvar. Membranretentionen beror på det lösta ämnets molekylstorlek och -form. För de flesta tillämpningar är molekylvikt en lämplig parameter för att bedöma retentionsegenskaper. För bästa resultat rekommenderas att man använder ett membran med ett MWCO som är minst två gånger lägre än molekylvikten för det lösta proteinämnet som man avser att koncentrera. Se tabell 2.

Tabell 2. Typisk retention av proteinmarkörer

Markör/koncentration	Molekylvikt	Enhetens MWCO	% retention, "swinging bucket"	% retention, fast vinkel	Centrifugeringstid (min)
α-kymotrypsinogen (1 mg/ml)	25 000	10K	> 95	> 95	15
Cytokrom c (0,25 mg/ml)	12 400		> 95	> 95	15
Vitamin B12 (0,2 mg/ml)	1 350		< 15	< 15	15

Centrifugeringsförhållanden: "Swinging bucket"-rotor, 4 000 × g, eller rotor med fast vinkel på 35°, 7 500 × g, 4 ml startvolym, rumtemperatur, n=6 (medelvärde för 3 enhetssatser)

Faktorer som bestämmer provutbyte omfattar det lösta proteinämnets egenskaper relativt valt MWCO för enheten, startkoncentration och koncentrationsfaktor. Tabell 3 anger typiska utbyten för Amicon® Ultra-4 10K-enheter.

Tabell 3. Typiskt utbyte i konzentratet

Markör/koncentration	Enhetens MWCO	Centrifugeringstid (min)	Konzentratets volym (µl)		Koncentrationsfaktor (x)		Konzentratutbyte (%)	
			"Swinging bucket"	Fast vinkel	"Swinging bucket"	Fast vinkel	"Swinging bucket"	Fast vinkel
Cytokrom c (0,25 mg/ml)	10K	15	76	54	52,3	76,6	97,3	98,5

Centrifugeringsförhållanden: "Swinging bucket"-rotor, 4 000 × g, eller rotor med fast vinkel på 35°, 7 500 × g, 4 ml startvolym, rumtemperatur, n=6 (medelvärde för 3 enhetssatser) Skuggade volymer togs från tabell 1.

Maximera provutbyte

Lågt provutbyte i koncentratet kan bero på adsorptionsförluster, överkoncentrering eller transport av prov genom membranet.

- Adsorptionsförluster beror på det lösta ämnets koncentration, det lösta ämnets hydrofoba egenskaper, temperatur och tid för kontakt med filterenhetens ytor, provsammansättning och pH. Avlägsna de koncentrerade proverna omedelbart efter centrifugering för att minimera förluster.
- Om koncentrationen av ursprungsprovet är hög ska man övervaka centrifugeringen för att undvika överkoncentrering av provet. Överkoncentrering kan leda till fällning och eventuellt provförlust.
- Om provet verkar passera genom membranet ska man välja en Amicon® Ultra-4-enhet med lägre MWCO.

Hur utbytet kvantifieras

Beräkna totalt utbyte, procent utbyte i koncentratet och procent utbyte i filtratet genom att använda metoden nedan. Metoden ger en god uppskattning av utbytet i lösningar som har koncentrationer på upp till ungefär 20 mg/ml.

OBS: Lämpliga analysmetoder är bl.a. absorptionsspektrofotometri, radioimmunanalys, refraktivt index och konduktivitet.

Direkt vägningsmetod

Densiteten för de flesta spädda proteinlösningar är nära identisk med densiteten för vatten (d.v.s. 1 g/ml). Genom att använda denna egenskap kan koncentrat- och filtratvolymerna kvantifieras genom vägning och genom att byta ut gram mot milliliter. Denna metod gäller bara lösningar med koncentrationer på ungefär 20 mg/ml eller mindre.

- Väg den tomma filterenheten, centrifugröret och ett tomt provrör för insamling av koncentrat separat före användning.
- Fyll filterenheten med lösning och väg på nytt.
- Montera enheten och centrifugera enligt anvisningar.
- Samla in koncentratet med en pipett och dispensera det i det tidigare vägda koncentratinsamlingsröret.
- Avlägsna enheten från centrifugröret och väg centrifugröret och koncentratinsamlingsröret.
- Subtrahera vikten av den tomma enheten/röret för att beräkna vikten av ursprungsmaterialet, filtratet och koncentratet.
- Analysera ursprungsmaterialet, filtratet och koncentratet för att bestämma det lösta ämnets koncentration.
- Beräkna utbytena genom att använda uppgifterna om vikt/volym och de uppmätta koncentrationerna enligt följande:

$$\% \text{ utbyte i koncentratet} = 100 \times \frac{W_c \times C_c}{W_o \times C_o}$$

$$\% \text{ utbyte i filtratet} = 100 \times \frac{W_f \times C_f}{W_o \times C_o}$$

$$\% \text{ totalt utbyte} = \% \text{ utbyte i koncentratet} + \% \text{ utbyte i filtratet}$$

W_c = koncentratets totala vikt före filtreringen

W_o = ursprungsmaterialets vikt

W_f = filtratets vikt

C_c = koncentratets koncentration

C_o = ursprungsmaterialets koncentration

C_f = filtratets koncentration

Specifikationer

Maximal initial provvolym

"Swinging bucket"-rotorer och rotorer med fast vinkel (45° och 35°)	4,0 ml
Rotor med fast vinkel (23°)	3,5 ml

Typisk slutlig koncentratvolym	50–100 µl
---------------------------------------	-----------

Maximal relativ centrifugalkraft

"Swinging bucket"-rotor	4 000 × g
Rotor med fast vinkel	7 500 × g

Aktiv membranyta	3 cm ²
-------------------------	-------------------

Dimensioner

Filterenhet i rör (med lock)	
Längd: 124 mm	Diameter: 17,3 mm
Filterenhet	
Längd: 73,4 mm	Diameter: 17,2 mm

Konstruktionsmaterial

Filterenhet	Sampolymer, styren/butadien
Membran	Ultracel® lågbindande regenererad cellulosa
Filtratrör	Polypropen
Filtratlock och insats	Polyetylen
Filter	MWCO 10K

Kemisk kompatibilitet

Amicon®-ultracentrifugenheter är avsedda att användas för biologiska vätskor och vattenlösningar. Kontrollera om provet är kemiskt kompatibelt med enheten före användning. Mer information finns på [SigmaAldrich.com/FilterChemicalCompatibility](https://www.sigmaaldrich.com/FilterChemicalCompatibility).

Symbolförklaringar

Symbol	Definition	Symbol	Definition
	Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik		Tillverkningsdatum
	Katalognummer		Tillverkare
	Får ej återanvändas		Icke-steril produkt
	Utgångsdatum		CE-märkning
	Satskod		Temperaturgräns
	Bruksanvisningen finns att tillgå online		Använd ej om förpackningen är skadad
	Ladda ner produktdokumentationen online		Märkning om överensstämmelse i Storbritannien

Produktbeställning

Köp produkterna online på [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com).

Beskrivning	Antal/förp.	Katalognummer
	8	UFC801008D
Amicon® Ultra-4	24	UFC801024D
	96	UFC801096D

Meddelande

Vi tillhandahåller information och råd till våra kunder om applikationsteknologier och regulatoriska frågor efter bästa förmåga, men utan ansvar och skyldigheter. Befintliga lagar och förordningar ska i samtliga fall iakttas av våra kunder. Detta gäller även med avseende på eventuella rättigheter för tredje part. Information och råd från oss befriar inte våra kunder från deras eget ansvar att kontrollera våra produkters lämplighet för det avsedda ändamålet.

Insamling och avfallshantering

Alla prover måste föras med tydlig märkning. Lämpliga instrument ska användas för provtagning och provberedning.

OBS: Följ försiktighetsåtgärderna för kassering av föremål som kontaminerats med potentiellt smittförande och farliga biologiska ämnen enligt alla tillämpliga internationella, federala, statliga och lokala förordningar.

Teknisk hjälp

Gå in på vår tekniska servicesida på [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Eventuella allvarliga tillbud med denna enhet ska rapporteras till tillverkaren och behörig tillsynsmyndighet i det land där användaren är etablerad.

Standardgaranti

Den giltiga garantin för produkterna i denna publikation finns på [SigmaAldrich.com/terms](https://www.sigmaaldrich.com/terms).

Revisionshistorik

2021-OKT	- IFU PR05779 utfärdad datum OKT 2021 - ersatte PR05139. - Tillägg av symboler för bruksanvisning, förpackningsskada och temperaturgräns. - Information om kemisk kompatibilitet och beställningar länkad till webbplatsen. - Tillägg av information om avfallshantering och klagomål - Tillägg av information om ansvarig person i Storbritannien och UKCA-symbol
----------	--

Ievads

Amicon® Ultra-4 10K centrifūgas filtra ierīces nodrošina ātru ultrafiltrēšanu ar iespēju panākt augstus koncentrācijas faktorus un vieglu koncentrāta uztvērumu no atšķaidītām un sarežģītām paraugu matricām. Vertikālā konstrukcija un membrānas virsmas laukums nodrošina ātru parauga apstrādi, augstu parauga uztvērumu (parasti augstāku par 90% sākuma atšķaidītā šķiduma) un 80 kārtīgu koncentrāciju. Standarta apstrādes laiks ir 10–20 minūtes. Vertikālā konstrukcija samazina izšķīdušās vielas polarizācijas risku un sekojošo membrānas sabojāšanos, bet fizikālais atdūris filtra ierīcē novērš koncentrēšanos līdz sausumam un parauga zaudēšanu. Koncentrātu savāc no filtra ierīces parauga rezervuāra ar pipetoru, bet ultrafiltrātu savāc komplektā iekļautajā centrifūgas mēģenē. Ierīci var centrifugēt piekares (efektīvai veikspējai) vai leņķa centrifūgas rotoros. Amicon® Ultra-4 10K ierīces tiek piegādātas nesterilas un ir paredzētas tikai vienreizējai lietošanai.

Paredzētais lietojums

Amicon® Ultra-4 centrifūgas filtra ierīces ir vienreizlietojamas ultrafiltrēšanas filtra ierīces *in vitro* diagnostikas nolūkiem 1–4 mL tilpuma diapazonā bioloģisko šķidrumu apstrādei. Tās paredzēts izmantot, lai pirms *in vitro* diagnostiskās analīzes veikšanas koncentrētu bioloģiskos paraugus, piemēram, serumu, urīnu, cerebrospinalo šķidrumu un citus ķermeņa šķidrumus. Ierīce ir paredzēta vienreizējai lietošanai, un tā jāizmanto laboratorijas profesionāļiem.

Izmantojums

- Bioloģisko paraugu, kas iekļauj antigēnus, antivielas, enzīmus, nukleīnskābes (DNS/RNS paraugus gan vienkārši, gan divkārši savītus), mikroorganismus, kolonnas eluātus un attīrītus paraugus, koncentrēšana.
- Audu kultūras ekstraktors un šūnu lizātos esošo makromolekulāro komponentu attīrīšana, praimera, saistītāja vai molekulāro identifikatoru aizvākšana no reakcijas maisījuma un proteīnu aizvākšana pirms HPLC.
- Atsāļošana, bufera šķiduma maiņa vai diafiltrācija

Komplektā iekļautie piederumi

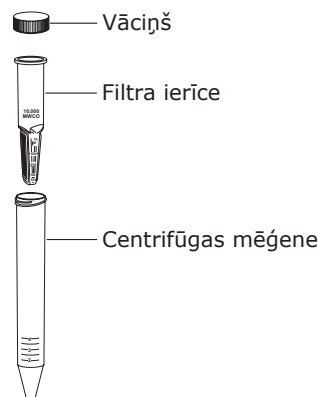
Amicon® Ultra-4 10K ierīce tiek piegādāta kopā ar vāciņu, filtra ierīci un centrifūgas mēģeni.

Nepieciešamais aprīkojums

- Centrifūga ar piekares (ieteicams) vai leņķa rotoru ar bedrītēm/līdzdām, kas ir piemērotas 17 mm x 124 mm 15 mL koniskās apakšas mēģenēm

UZMANĪBU: Lai centrifugēšanas laikā ierīci nesabojātu, pirms centrifugēšanas pārbaudiet, vai ir ievērota centrifugēšanai nepieciešamā atstarpe.

- Pipetors ar 200 mikrolitriem (µL) koncentrāta uztvērūmam



Piemērotība

Lai nodrošinātu piemērotību paredzētajai izmantošanai, ieteicams veikt sākotnējās uztveršanas un aiztures pētījumus. Skatīt "Uztvertā daudzuma kvantifikācijas norādes" sadaļu.

Uzglabāšana un stabilitāte

Uzglabāšanas apstākļus un glabāšanas laiku skatiet izstrādājuma marķējumā.

Skalošana pirms lietošanas

Amicon® Ultra-4 10K ierīču ultrafiltrēšanas membrānās ir neliels daudzuma glicerīna. Ja šis materiāls traucē veikt analīzi, pirms lietošanas izskalojiet ierīci ar bufera šķidrumu vai Milli-Q® ūdeni. Ja traucējumi nepazūd, izskalojiet ar 0,1 N NaOH un veiciet otru centrifugēšanu ar bufera šķidrumu vai Milli-Q® ūdeni.

UZMANĪBU: Pēc Amicon® Ultra filtra ierīču sasalpināšanas neļaujiet tām izžūt. Ja ierīci nav paredzēts lietot uzreiz pēc skalošanas, atstājiet uz membrānas nedaudz šķidruma.

Amicon® Ultra-4 centrifūgas filtra ierīču izmantošana

1. Ielejiet Amicon® Ultra filtra ierīcē līdz 4 mL parauga (3,5 mL, ja tiek izmantots 23° leņķa rotors).
2. Aiztaisiet vāciņu un ievietojiet filtra ierīci centrifūgas rotorā (ieteicams izmantot piekares rotoru). Līdzsvarojiet ar līdzīgām ierīcēm. Pirms izmantošanas pārbaudiet, vai ir ievērota centrifugēšanai nepieciešamā atstarpe.
3. **Ja lietojat piekares rotoru**, centrifugējiet pie ne vairāk kā $4000 \times g$ apmēram 10–20 minūtes.
4. **Ja lietojat leņķa rotoru**, novietojiet ierīci ar membrānas paneli augšup un centrifugējiet pie ne vairāk kā $7500 \times g$ apmēram 10–20 minūtes.

PIEZĪME: Standarta centrifugēšanas laiku skatiet 1. attēlā, kā arī 1. tabulā.

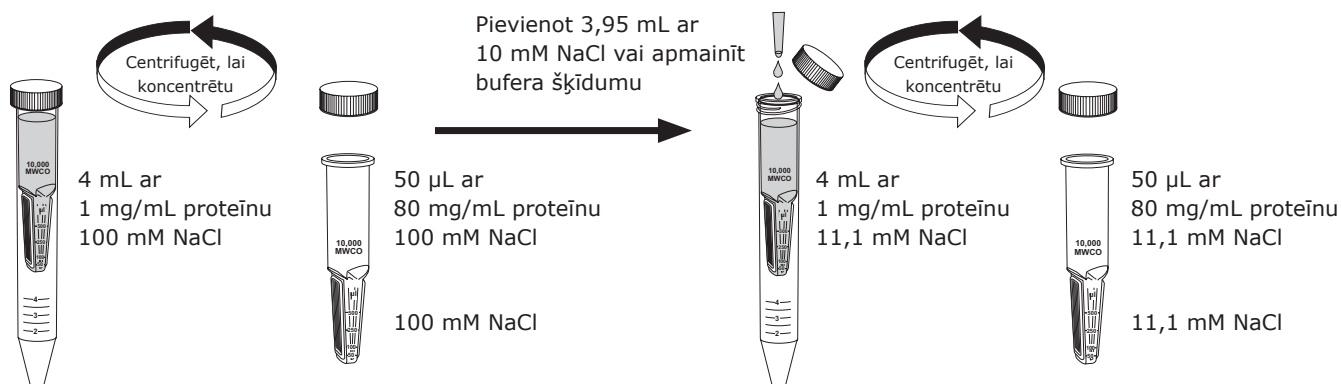
5. Lai pilnībā uztvertu visu koncentrēto izšķīdušo vielu, ievietojiet pipetoru līdz filtra ierīces pamatnei un, viegli šūpojot ierīci no sānu uz sānu, izņemiet paraugu. Ultrafiltrātu drīkst glabāt centrifūgas mēģenē.

PIEZĪME: Vislabākajam uztvērumam izņemiet koncentrēto paraugu uzreiz pēc centrifugēšanas.

PIEZĪME: Filtrs var nedarboties pareizi, ja tam pēc saslapināšanas ļauj izžūt.

Atsāļošana vai diafiltrācija

Atsāļošana, bufera šķīduma maiņa vai diafiltrācija ir svarīgas metodes, kā šķīdumos ar biomolekulām likvidēt sāļus vai šķīdinātājus. Sāļu aizvākšanu vai bufera šķīdumu maiņu Amicon® Ultra-4 ierīcē var panākt, koncentrējot paraugu, tad atšķaidot paraugu līdz sākotnējam parauga tilpumam, izmantojot jebkuru nepieciešamo šķīdinātāju. "Skalošanas" procedūru drīkst turpināt tikmēr, kamēr nevēlamās mikrovielas koncentrācija ir pietiekami samazināta. Skatīt turpmāk aprakstīto piemēru.

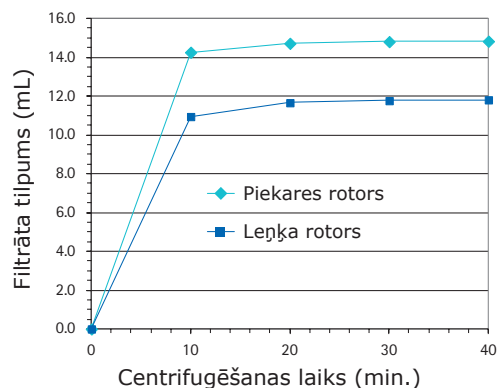


Darbība

Plūsmas ātrums

Faktori, kas ietekmē plūsmas ātrumu, iekļauj parauga koncentrāciju, sākuma tilpumu, izšķīdušās vielas ķīmiskās īpatnības, relatīvo centrālās spēku, centrifūgas rotora leņķi, membrānas tipu un temperatūru. 1. attēlu un 1. tabulu var izmantot, lai noteiktu laiku, kas nepieciešams filtrāta vai koncentrāta vajadzīgā tilpuma sasniegšanai. Standarta centrifugēšanas laiks 4 mL paraugam ir apmēram 10 līdz 20 minūtes. Lai gan vairums paraugu filtrējas centrifugēšanas pirmajās 10 līdz 15 minūtēs, zemāks koncentrāta tilpums (30–75 µL) tiek sasniegts pēc 15 līdz 20 minūšu centrifugēšanas.

1. attēls. Standarta filtrāta tilpums pret centrifugēšanas laiku



Centrifugēšanas nosacījumi: Piekares rotors, 4000 × g, vai leņķa rotors, 7500 × g, istabas temperatūra, 4 mL sākuma tilpums. Izmantotais proteīna marķieris: Citohroms c, n = 6.

1. tabula. Standarta koncentrāta tilpums pret centrifugēšanas laiku

Centrifugēšanas laiks (min.)	Koncentrāta tilpums (µL)	
	Piekares rotors 4000 × g	35° leņķa rotors 7500 × g
10	176	97
15	76	54
20	58	35

Centrifugēšanas nosacījumi: Istabas temperatūra, sākuma tilpums 4 mL. Izmantotais proteīna marķieris: citohroms c, n = 6 (3 ierīču partijas vidējā vērtība). Proteīnu uztvēruma aprēķināšanai 3. tabulā tika izmantoti ieēnotie apjomi.

Proteīna aizturēšana un koncentrāta uztvērums

Amicon® Ultra ierīcēs izmantotās membrānas raksturo molekulmasas robeža (MWCO); tas ir, to spēja aizturēt molekulas, kas pārsniedz noteiktu molekulmasu. Izšķīdušās vielas, kuru molekulmasa ir tuvu MWCO, var tikt aizturētas tikai daļēji. Membrānas aizture ir atkarīga no izšķīdušās vielas molekulu lieluma un formas. Lielākajā daļā gadījumu molekulmasa ir ērts parametrs aiztures īpatnību novērtēšanai. Lai iegūtu vislabākos rezultātus, izmantojiet membrānu ar MWCO, kas ir vismaz divas reizes mazāka par koncentrējamā proteīna šķīduma vielas molekulmasu. Skatīt 2. tabulu.

2. tabula. Proteīna marķieru standarta aizture

Marķieris/koncentrācija	Molekulmasa	Ierīces MWCO	% aizture, piekare	% aizture, leņķis	Centrifugēšanas laiks (min.)
α-himotripsinogēns (1 mg/mL)	25 000	10K	> 95	> 95	15
Citohroms c, (0,25 mg/mL)	12 400		> 95	> 95	15
Vitamīns B-12 (0,2 mg/mL)	1350		< 15	< 15	15

Centrifugēšanas nosacījumi: piekares rotors, 4000 × g, vai 35° leņķa rotors, 7500 × g, sākuma tilpums 4 mL, istabas temperatūra, n = 6 (3 ierīču partijas vidējā vērtība).

Faktori, kas nosaka parauga uztvērums, iekļauj proteīna izšķīdušās vielas īpatnības attiecībā pret ierīces MWCO, sākuma koncentrāciju un koncentrācijas faktoru. 3. tabulā parādīts Amicon® Ultra-4 10K ierīces standarta uztvērums.

3. tabula. Standarta koncentrāta uztvērums

Marķieris/koncentrācija	Ierīces MWCO	Centrifugēšanas laiks (min.)	Koncentrāta tilpums (µL)		Koncentrācijas faktors (x)		Koncentrāta uztvērums (%)	
			Piekare	Leņķis	Piekare	Leņķis	Piekare	Leņķis
Citohroms c, (0,25 mg/mL)	10K	15	76	54	52,3	76,6	97,3	98,5

Centrifugēšanas nosacījumi: piekares rotors, 4000 × g, vai 35° leņķa rotors, 7500 × g, sākuma tilpums 4 mL, istabas temperatūra, n = 6 (3 ierīču partijas vidējā vērtība). Izmantoti 1. tabulā norādītie ieēnotie apjomi.

Maksimāla parauga uztvēruma nodrošināšana

Zemu parauga uztvērumu var izraisīt adsorbcijas zudumi, pārmērīga koncentrācija vai parauga izklūšana caur membrānu.

- Adsorbcijas zudumi ir atkarīgi no izšķīdušās vielas koncentrācijas, tās hidrofofajām īpatnībām, temperatūras un kontakta ar filtra ierīces virsmām laika, parauga sastāva un pH. Lai mazinātu zudumus, koncentrēto paraugus ieteicams izņemt uzreiz pēc centrifugēšanas.
- Ja sākuma parauga koncentrācija ir augsta, lai novērstu parauga pārmērīgu koncentrāciju, uzraugiet centrifugēšanu. Pārmērīga koncentrācija var izraisīt izgulsnēšanos un parauga zaudēšanu.
- Ja šķiet, ka paraugs izklūst caur membrānu, izvēlieties Amicon® Ultra-4 ierīci ar mazāku MWCO.

Uztvertā daudzuma kvantifikācijas norādes

Turpmāk aprakstītā metode ļauj aprēķināt kopējo uztvērumu, koncentrāta uztvēruma procentuālo attiecību un filtrāta uztvēruma procentuālo attiecību. Procedūra ļauj noteikt aptuvenu uztvertā daudzuma vērtību šķīdumiem ar koncentrāciju līdz apmēram 20 mg/mL.

PIEZĪME. Piemērotas analīzes metodes ietver absorbcijas spektrofotometriju, radioimūnanalīzi, refrakcijas koeficientu un vadītspēju.

Tiešā svēršana

Vairumam atšķaidīto proteīnu blīvums ir gandrīz tāds pats kā ūdenim (proti, 1 g/mL). Ievērojot šo īpašību, lai kvantificētu koncentrāta un filtrāta tilpumus, tie ir jānosver, bet mērvienības no gramiem jānomaina uz mililitriem. Šī metode ir derīga tikai šķīdumiem, kuru koncentrācija ir apmēram 20 mg/mL vai mazāka.

- Pirms lietošanas nosveriet tukšo filtra ierīci, centrifūgas mēģeni un tukšo koncentrāta mēģeni.
- Uzpildiet ierīci ar šķīdumu un nosveriet.
- Samontējiet ierīci un centrifūgu saskaņā ar instrukcijām.
- Savāciet koncentrātu ar pipetori un iepildiet iepriekš nosvērtā koncentrāta mēģenē.
- Izņemiet ierīci no centrifūgas mēģenes un nosveriet centrifūgas mēģeni un koncentrāta mēģeni.
- Lai aprēķinātu sākuma vielas, filtrāta un koncentrāta svaru, atņemiet tukšās ierīces/mēģenes svaru.
- Lai noteiktu izšķīdušās vielas koncentrāciju, analizējiet sākuma materiālu, filtrātu un koncentrātu.
- Aprēķiniet uztverto daudzumu, izmantojot svara/tilpuma datus un koncentrāciju mērījumu, saskaņā ar turpmāk minēto formulu:

$$\% \text{ koncentrāta uztvērums} = 100 \times \frac{W_c \times C_c}{W_o \times C_o}$$

$$\% \text{ filtrāta uztvērums} = 100 \times \frac{W_f \times C_f}{W_o \times C_o}$$

$$\% \text{ kopējais uztvērums} = \% \text{ koncentrāta uztvērums} + \% \text{ filtrāta uztvērums}$$

W_c = kopējais koncentrāta svars pirms analīzes

W_o = sākotnējā sākuma materiāla svars

W_f = filtrāta svars

C_c = koncentrāta koncentrācija

C_o = sākotnējā sākuma materiāla koncentrācija

C_f = filtrāta koncentrācija

Specifikācijas

Maksimālais sākuma parauga tilpums

Piekare un leņķa rotor (45° un 35°)	4,0 mL
Leņķa rotors (23°)	3,5 mL

Standarta gala koncentrāta tilpums

	50-100 µL
--	-----------

Maksimālais relatīvais centrbēdzes spēks

Piekares rotors	4000 × g
Leņķa rotors	7500 × g

Aktīvais membrānas laukums

	3 cm ²
--	-------------------

Izmēri

Filtra ierīce mēģenē (ar vāciņu)	
Garums: 124 mm	Diametrs: 17,3 mm
Filtra ierīce	
Garums: 73,4 mm	Diametrs: 17,2 mm

Materiālu sastāvs

Filtra ierīce	Kopolimēra stirēns/butadiēns
Membrāna	Ultracel® reģenerēta celuloze ar zemu saistīšanās spēju
Filtrāta mēģene	Polipropilēns
Filtrāta vāciņš un ieliktnis	Polietilēns
Filtrs	MWCO 10K

Ķīmiskā saderība

Amicon® Ultra centrifūgas ierīces paredzētas izmantošanai ar bioloģiskiem šķīdumiem un ūdens šķīdumiem. Pirms lietošanas pārbaudiet, vai paraugs ir ķīmiski saderīgs ar ierīci. Lai uzzinātu vairāk informācijas, apmeklējiet vietni SigmaAldrich.com/FilterChemicalCompatibility.

Simbolu definīcijas

Simbols	Definīcija	Simbols	Definīcija
	In vitro diagnostikas medicīniskā ierīce		Ražošanas datums
	Kataloga numurs		Ražotājs
	Nelietot atkārtoti		Nesterils izstrādājums
	Derīguma termiņš		CE atbilstības marķējums
	Sērijas kods		Temperatūras robeža
	Lietošanas norādījumi ir pieejami tiešsaistē		Neizmantojiet, ja iepakojums ir bojāts
	Tiešsaistē lejupielādējiet izstrādājuma dokumentāciju		Apvienotās Karalistes atbilstības zīme

Izstrādājuma pasūtīšana

Iegādājieties izstrādājumus tiešsaistē, vietnē SigmaAldrich.com.

Apraksts	Gab./iepak.	Kataloga numurs
	8	UFC801008D
Amicon® Ultra-4	24	UFC801024D
	96	UFC801096D

Paziņojums

Mēs sniedzam informāciju un padomus mūsu klientiem par lietojumprogrammu tehnoloģijām un normatīvajiem jautājumiem, cik vien labi zinām un spējam, bet bez pienākumiem vai atbildības. Mūsu klienti visos gadījumos ievēro spēkā esošos normatīvos aktus. Tas attiecas arī uz trešo pušu tiesībām. Mūsu informācija un ieteikumi neatbrīvo mūsu klientus no atbildības par to, lai tiktu pārbaudīta mūsu produktu piemērotība paredzētajam mērķim.

Savākšana un utilizācija

Visiem paraugiem jābūt ar skaidri redzamu marķējumu. Lai iegūtu un sagatavotu paraugus, jāizmanto piemēroti instrumenti.

PIEZĪME. Ievērojiet tādu objektu, kas piesārņoti ar potenciāli infekciozu vai bīstamu bioloģisku materiālu, utilizācijas piesardzības pasākumus un veiciet to atbilstoši visiem spēkā esošajiem starptautiskajiem, pavalsts, reģiona un vietējiem noteikumiem.

Tehniskais atbalsts

Apmeklējiet tehnoloģiju pakalpojuma lapu mūsu tīmekļa vietnē SigmaAldrich.com/techservice.

Par jebkādiem nopietniem negadījumiem ar šo ierīci jāziņo ražotājam un kompetentajai iestādei valstī, kurā atrodas lietotājs.

Standarta garantija

Šajā publikācijā norādīto izstrādājumu garantiju varat skatīt tīmekļa vietnē SigmaAldrich.com/terms.

Pārskatīšanas vēsture

- | | |
|---------------------|---|
| 2021. gada oktobris | <ul style="list-style-type: none">IFU PR05779 Izdošanas datums: 2021. gada oktobris - Aizvieto PR05139.Pievienoti IFU, iepakojuma bojājumu un temperatūras ierobežojumu simboli.Ķīmiskā saderība un pasūtīšanas informācija saistītas ar tīmekļa vietni.Pievienota informācija par utilizēšanu un sūdzībām.Pievienota atbildīgā persona Apvienotajā Karalistē un informācija par UKCA simbolu |
|---------------------|---|

Įvadas

„Amicon® Ultra-4“ 10K išcentrinių filtrų prietaisai užtikrina greitą ultrafiltravimą, leidžia naudoti didelius koncentracijos faktorius ir lengvai regeneruoti koncentratą iš praskiestų ir sudėtingų mėginių matricų. Vertikalus dizainas ir membranos paviršiaus plotas suteikia galimybę greitai apdoroti mėginį, pasiekti didelę mėginio regeneraciją (paprastai didesnę nei 90 % skiedinio pradinio tirpalo) ir koncentruoti net 80 kartų. Įprastas apdorojimo laikas yra 10–20 minučių. Tirpinio poliarizaciją ir membranos užsikimšimą sumažina vertikalus įrenginio dizainas. Visiškas fizinis sustabdymas filtro prietaise užkerta kelią sukimui iki išdžiūvimo ir mėginio praradimo. Koncentratas iš filtro prietaiso paimamas mėginio rezervuaro pipete, o ultrafiltratas surenkamas tiekiamame centrifugos mėgintuvėlyje. Prietaisą galima sukti atverčiamojo krepšelio (optimalus veikimas) arba fiksuotojo kampo rotoriuje. „Amicon® Ultra-4“ 10K prietaisai tiekiami nesterilūs ir yra skirti naudoti tik vieną kartą.

Paskirtis

„Amicon® Ultra-4“ centrifugų filtrų prietaisai yra vienkartiniai ultrafiltravimo filtrų prietaisai, skirti naudoti *in vitro* diagnostikos tikslais, apdoroti biologinius tirpalus 1–4 ml tūrio diapazone. Jie skirti koncentruoti biologiniams mėginiams, tokiems kaip serumas, šlapimas, smegenų skystis ir kiti kūno skysčiai, prieš atliekant diagnostinę analizę *in vitro*. Prietaisas yra vienkartinis ir skirtas naudoti laboratorijos specialistui.

Naudojimas

- Biologinių mėginių, kuriuose yra antigenų, antikūnų, fermentų, nukleino rūgščių (DNR / RNR mėginiai, vienos arba dvigubos grandinės), mikroorganizmų, kolonėlės eliatų ir išgrynintų mėginių, koncentravimas.
- Makromolekulinių komponentų, aptinkamų audinių kultūros ekstraktuose ir ląstelių lizatuose, išgryninimas, praimerių, jungiamųjų medžiagų ar molekulių žymenų pašalinimas iš reakcijos mišinio ir baltymų pašalinimas prieš HPLC.
- Gėlinimas, buferinio tirpalo pakeitimas arba diafiltracija

Tiekiamos medžiagos

„Amicon® Ultra-4“ 10K prietaisas tiekiamas su dangteliu, filtravimo prietaisu ir centrifugos mėgintuvėliu.

Reikalinga įranga

- Centrifuga su atverčiamojo krepšelio (pageidaujama) arba fiksuotojo kampo rotoriumi su šulinėliais / laikikliais, kur gali tilpti 17 mm x 124 mm 15 ml mėgintuvėliai, kurių dugnas kūginis

PERSPĖJIMAS. Kad išvengtumėte prietaiso gedimo centrifuguojant, prieš sukdami patikrinkite tarpą.

- Pipetė su 200 mikrolitrų (μl) antgaliu koncentratui regeneruoti

Tinkamumas

Siūloma atlikti pirminius regeneracijos ir sulaikymo tyrimus, kad būtų užtikrintas tinkamumas paskirčiai. Žr. skyrių „Kaip regeneraciją išreikšti skaičiais“.

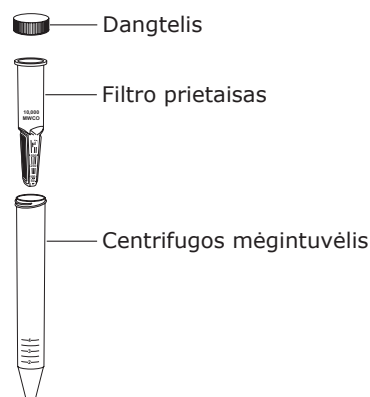
Laikymas ir stabilumas

Laikymo sąlygas ir tinkamumo laiką žiūrėkite gaminio etiketėje.

Prieš naudodami išplaukite

„Amicon® Ultra-4“ 10K ultrafiltravimo membranos prietaisuose yra nedidelis kiekis glicerino. Jei ši medžiaga trukdo analizei, prieš naudodami nuplaukite prietaisą buferiniu tirpalu arba „Milli-Q®“ vandeniu. Jei trukdžiai tęsiasi, nuplaukite 0,1 N NaOH, paskui – antrą kartą buferiniu tirpalu arba „Milli-Q®“ vandeniu.

PERSPĖJIMAS. Neleiskite „Amicon® Ultra“ filtro prietaisų membranai išdžiūti. Jeigu prietaiso nenaudojate iš karto po plovimo, membranoje palikite skysčio, iki prietaisas vėl bus naudojamas.



Kaip naudotis „Amicon® Ultra-4“ centrifugos filtrų prietaisais

1. Į „Amicon® Ultra“ filtro prietaisą įpilkite iki 4 ml mėginio (3,5 ml, jei naudojate 23° fiksotojo kampo rotorius).
2. Uždengta filtro prietaisą įdėkite į centrifugos rotorius (pageidaujama – į atverčiamąjį krepšelį); sureguliuokite pusiausvyrą panašiu prietaisu. Prieš naudodami patikrinkite centrifugos tarpą.
3. **Kai naudojamas atverčiamojo krepšelio rotorius**, sukite prietaisą daugiausia 4 000 × g apytiksliai 10–20 minučių.
4. **Kai naudojamas fiksotojo kampo rotorius**, prietaisą paverskite membranos skydeliu į viršų ir sukite daugiausia 7 500 × g apytiksliai 10–20 minučių.

PASTABA. Įprastą sukimo laiką žr. 1 paveikslėlyje, taip pat 1 lentelėje.

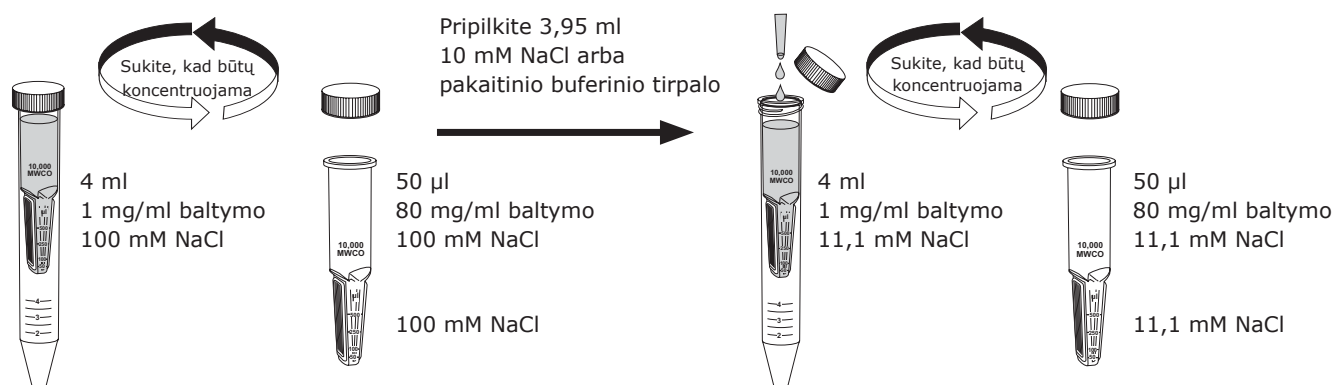
5. Norėdami regeneruoti koncentrato tirpinį, pipetę įkiškite į filtravimo prietaiso dugną ir pritraukite mėginio įsiūbavimo judesiu, kad būtų užtikrinta visiška regeneracija. Ultrafiltratą galima laikyti centrifugos mėgintuvėlyje.

PASTABA. Optimaliai regeneracijai koncentruotą mėginį išimkite iškart po centrifugavimo.

PASTABA. Filtras gali tinkamai neveikti, jei po sudrėkinimo jam leidžiama išdžiūti.

Gėlinimas arba diafiltracija

Gėlinimas, buferinio tirpalo pakeitimas ar diafiltracija yra svarbūs druskų ar tirpiklių šalinimo iš tirpalų, kuriuose yra biomolekulių, metodai. Druskų pašalinimas arba buferių keitimas gali būti atliktas naudojant „Amicon® Ultra-4“ prietaisą, koncentruojant mėginį, tada atkuriant koncentratą iki pradinio mėginio tūrio bet kuriuo norimu tirpikliu. Išplovimo procesą galima kartoti, kol bus pakankamai sumažinta užterštų mikrotirpių medžiagų koncentracija. Žr. pavyzdį toliau.

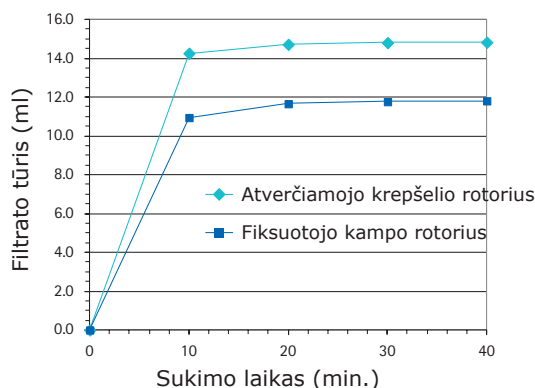


Veikimas

Tėkmės greitis

Tėkmės greičiui turi įtakos mėginio koncentracija, pradinis tūris, tirpinio cheminis pobūdis, santykinė centrifugavimo jėga, centrifugos rotoriaus kampas, membranos tipas ir temperatūra. Laiką, per kurį bus pasiektas reikiamas filtrato ar koncentrato tūris, galima nustatyti pagal 1 paveikslėlį ir 1 lentelę. Įprastas 4 ml mėginio sukimo laikas yra apytiksliai 10–20 minučių. Didžioji dalis mėginio išfiltruojama per pirmąsias 10–15 minučių, o mažiausias koncentrato tūris (30–75 µl) pasiekiamas sukant 15–20 minučių.

1 pav. Tipiškas filtrato tūris ir sukimosi laikas



Sukimo sąlygos. Atverčiamojo krepšelio rotorius, 4 000 × g, arba fiksuotojo kampo rotorius, 7 500 × g, kambario temperatūra, 4 ml pradinis tūris.

Naudojamas baltymų žymuo. Citochromas c, n=6.

1 lentelė. Tipiškas koncentrato tūris ir sukimosi laikas

Sukimo laikas (min.)	Koncentrato tūris (µl)	
	Atverčiamojo krepšelio rotorius 4 000 × g	35° fiksuotojo kampo rotorius 7 500 × g
10	176	97
15	76	54
20	58	35

Sukimo sąlygos. Kambario temperatūra, 4 ml pradinis tūris.

Naudojamas baltymų žymuo. Citochromas c, n=6 (vidutinė 3 prietaisų partijos vertė).

Baltymų regeneracijos skaičiavimams pagal 3 lentelę buvo naudojami uždengti tūriai.

Baltymų sulaikymas ir koncentrato regeneracija

„Amicon® Ultra“ prietaisų naudojamos membranos pasižymi molekulinės masės riba (MWCO), t. y. gebėjimu išlaikyti molekules viršijus nurodytą molekulinę masę. Tirpiniai, kurių molekulinis svoris artimas MWCO, gali būti sulaikomi tik iš dalies. Membranos sulaikymas priklauso nuo tirpinio molekulinės masės dydžio ir formos. Dauguma atvejų molekulinis svoris yra tinkamas parametras sulaikymo charakteristikoms įvertinti. Kad būtų užtikrinti geriausi rezultatai, naudokite membranas su tokiu MWCO, kuris bent du kartus mažesnis nei baltymo tirpinio, kuris bus koncentruojamas, molekulinis svoris. Žr. 2 lentelę.

2 lentelė. Įprastas baltymų žymenų sulaikymas

Žymuo / koncentracija	Molekulinis svoris	Prietaiso MWCO	% sulaikymas, atverčiamasis krepšelis	% sulaikymas, fiksuotasis kampas	Sukimo laikas (min.)
α-chimotripsinogenas (1 mg/ml)	25 000	10K	> 95	> 95	15
Citochromas c (0,25 mg/ml)	12 400		> 95	> 95	15
Vitaminas B12 (0,2 mg/ml)	1 350		< 15	< 15	15

Sukimo sąlygos. Atverčiamojo krepšelio rotorius, 4 000 × g arba 35° fiksuotojo kampo rotorius, 7 500 × g, 4 ml pradinis tūris, kambario temperatūra, n=6 (vidutinė 3 prietaisų partijos vertė).

Mėginio regeneracija priklauso nuo baltymo tirpinio pobūdžio, palyginti su pasirinkto prietaiso MWCO, pradinės koncentracijos ir koncentravimo koeficiento. 3 lentelėje pateikiamos tipinės „Amicon® Ultra-4“ 10K prietaiso regeneracijos.

3 lentelė. Įprasta koncentrato regeneracija

Žymuo/ koncentracija	Prietaiso MWCO	Sukimo laikas (min.)	Koncentrato tūris (µl)		Koncentravimo koeficientas (x)		Koncentrato regeneracija (%)	
			Atverčiamasis krepšelis	Fiksuotas kampas	Atverčiamasis krepšelis	Fiksuotas kampas	Atverčiamasis krepšelis	Fiksuotas kampas
Citochromas c (0,25 mg/ml)	10K	15	76	54	52,3	76,6	97,3	98,5

Sukimo sąlygos. Atverčiamojo krepšelio rotorius, 4 000 × g arba 35° fiksuotojo kampo rotorius, 7 500 × g, 4 ml pradinis tūris, kambario temperatūra, n=6 (vidutinė 3 prietaisų partijos vertė). Bendri tūriai buvo paimti iš 1 lentelės.

Mėginio regeneracijos maksimizavimas

Mažą mėginio regeneraciją koncentrate gali lemti absorbcijos nuostoliai, per didelį koncentravimą arba mėginio perėjimas per membraną.

- Absorbcijos nuostoliai priklauso nuo tirpinio koncentracijos, jo hidrofobinės prigimties, temperatūros, kontakto su filtro prietaiso paviršiumi laiko, mėginio sudėties ir pH. Kad sumažėtų nuostoliai, po centrifugos sukimo nedelsdami išimkite koncentruotus mėginius.
- Jeigu pradinė mėginio koncentracija didelė, stebėkite centrifugavimo procesą, kad išvengtumėte per didelio mėginio koncentravimo. Per didelį koncentravimą gali lemti precipitaciją ir mėginio nuostolius.
- Jei atrodo, kad mėginys praeina per membraną, pasirinkite žemesnę MWCO „Amicon® Ultra-4“ prietaisą.

Kaip regeneraciją išreikšti skaičiais

Apskaičiuokite bendrą regeneraciją, koncentrato regeneraciją procentais ir filtrato regeneraciją procentais toliau nurodytu metodu. Procedūra parodo apytikslį tirpalų, kurių koncentracija – iki apytiksliai 20 mg/ml, regeneracijų skaičių.

PASTABA. Tinkami tyrimo metodai apima absorbcijos spektrofotometriją, radioimuninį tyrimą, lūžio rodiklį ir laidumą.

Tiesioginė svėrimo procedūra

Daugumos atskiestų baltymų tankis yra beveik lygus vandens tankiui (t. y. 1 g/ml). Naudojantis šia savybe koncentrato ir filtrato tūrius galima išreikšti kiekybiškai pasveriant ir matavimo vienetų paverčiant iš gramų į mililitrus. Šis metodas galioja tik tiems tirpalams, kurių koncentracija apytiksliai 20 mg/ml arba mažesnė.

- Prieš naudodami atskirai pasverkite tuščią filtro prietaisą, centrifugos mėgintuvėlį ir tuščią mėgintuvėlį, skirtą koncentratui paimti.
- Filtro prietaisą pripildykite tirpalo ir vėl pasverkite.
- Surinkite prietaisą ir centrifuguokite pagal instrukcijas.
- Pipete surinkite koncentratą ir išpilkite į pasvertą koncentrato surinkimo mėgintuvėlį.
- Prietaisą išimkite iš centrifugos mėgintuvėlio ir pasverkite centrifugos mėgintuvėlį bei koncentrato surinkimo mėgintuvėlį.
- Atimkite tuščio prietaiso / mėgintuvėlių svorį ir apskaičiuokite pradinės medžiagos, filtrato ir koncentrato svorį.
- Ištyrinkite pradinę medžiagą, filtratą ir koncentratą ir nustatykite tirpinio koncentraciją.
- Apskaičiuokite regeneraciją pagal svorio / tūrio duomenis ir nustatytą koncentraciją:

$$\text{Koncentrato regeneracija \%} = 100 \times \frac{W_c \times C_c}{W_o \times C_o}$$

W_c = bendra koncentrato masė prieš tyrimą
 W_o = pirminis pradinės medžiagos svoris
 W_f = filtrato svoris

$$\text{Filtrato regeneracija \%} = 100 \times \frac{W_f \times C_f}{W_o \times C_o}$$

C_c = koncentrato koncentracija
 C_o = pirminė pradinės medžiagos koncentracija
 C_f = filtrato koncentracija

Bendra regeneracija % = koncentrato regeneracija % + filtrato regeneracija %

Specifikacijos

Didžiausias pradinis mėginio tūris

Atverčiamasis krepšelis ir fiksuotojo kampo rotorai (45° ir 35°)	4,0 ml
Fiksuotojo kampo rotorius (23°)	3,5 ml

Įprastas galutinis koncentrato tūris 50–100 µl

Didžiausia santykinė centrifugos jėga

Atverčiamąjo krepšelio rotorius	4 000 × g
Fiksuotojo kampo rotorius	7 500 × g

Aktyvus membranos plotas 3 cm²

Matmenys

Filtro prietaisas mėgintuvėlyje (uždengtas)

Ilgis: 124 mm Skersmuo: 17,3 mm

Filtro prietaisas

Ilgis: 73,4 mm Skersmuo: 17,2 mm

Konstrukcijos medžiagos

Filtro prietaisas Kopolimeras stirenas / butadienas

Membrana „Ultracel®“ mažai besijungianti regeneruota celiuliozė

Filtrato mėgintuvėlis Polipropilenas

Filtrato dangtelis ir tarpiklis polietilenas

Filtratas MWCO 10K

Cheminis suderinamumas

„Amicon® Ultra“ centrifugos prietaisai skirti naudoti su biologiniais skysčiais ir vandeniniais tirpalais. Prieš naudodami patikrinkite mėginio cheminį suderinamumą su prietaisu. Daugiau informacijos rasite adresu SigmaAldrich.com/FilterChemicalCompatibility.

Simbolių apibrėžimai

Simbolis	Apibūdinimas	Simbolis	Apibūdinimas
	In vitro diagnostikos medicinos prietaisas		Pagaminimo data
	Katalogo numeris		Gamintojas
	Nenaudoti pakartotinai		Nesterilus gaminy
	Tinka naudoti iki nurodytos datos		CE atitikties ženklas
	Partijos kodas		Temperatūriniai apribojimai
	Naudojimo instrukcijas rasite internete		Nenaudokite, jei pakuotė pažeista
	Atsisiųskite gaminio dokumentaciją internete		Jungtinės Karalystės atitikties ženklas

Gaminio užsakymas

Išsilykite gaminius internetu adresu SigmaAldrich.com.

Aprašas	Kiekis pakuotėje	Katalogo numeris
„Amicon® Ultra-4“	8	UFC801008D
	24	UFC801024D
	96	UFC801096D

Pastaba

Mes tiekiamo informaciją ir patarimus savo klientams taikomųjų technologijų ir teisiniais klausimais remdamiesi savo geriausiomis žiniomis ir gebėjimais, tačiau neprisiimame įsipareigojimų ir atsakomybės. Visais atvejais mūsų klientai turi laikytis galiojančių įstatymų ir taisyklių. Tai taip pat taikoma trečiųjų šalių teisėms. Mūsų informacija ir patarimai neatleidžia mūsų klientų nuo atsakomybės tikrinti mūsų produktų tinkamumą numatytiems tikslui.

Rinkimas ir šalinimas

Visi mėginiai turi būti aiškiai pažymėti. Mėginiams imti ir paruošti turi būti naudojamos tinkamos priemonės.

PASTABA. Laikykites atsargumo priemonių šalinami daiktus, užterštus potencialiai užkrečiama arba pavojinga biologine medžiaga, vadovaukitės visais galiojančiais tarptautiniais, federaliniais, valstijų ir vietos reglamentais.

Techninė pagalba

Apsilankykite mūsų interneto svetainės techninės priežiūros puslapyje adresu SigmaAldrich.com/techservice.

Apie rimtus incidentus, susijusius su šiuo prietaisu, reikia pranešti gamintojui ir šalies, kurioje įsisteigęs naudotojas, kompetentingajai institucijai.

Standartinė garantija

Šiame leidinyje išvardytų gaminių garantiją galima rasti adresu SigmaAldrich.com/terms.

Keitimų istorija

2021 M. SPALIS	- Naudojimo instrukcija PR05779 Išleidimo data 2021 M. SPALIS – pakeitė PR05139. - Pridėta naudojimo instrukcija, pakuotės pažeidimo ir temperatūros apribojimo simboliai. - Cheminio suderinamumo ir užsakymo informacija, susijusi su svetaine. - Pridėta informacija apie šalinimą ir skundus. - Pridėta Jungtinės Karalystės atsakingo asmens ir UKCA simbolio informacija
----------------	--

Bevezetés

Az Amicon® Ultra-4 10K centrifugális szűrőeszközök gyors ultrafiltrálást biztosítanak, magas koncentrációs tényezőkkel, valamint híg és összetett mintamatrixokból való könnyű koncentrátum-visszanyeréssel. A függőleges elrendezés és a rendelkezésre álló membránfelület területe gyors mintafeldolgozást, magas mintavisszanyerést (általában a híg kiindulási oldat 90%-nál nagyobbát) és a 80-szoros koncentrálas képességét biztosítja. A tipikus feldolgozási idő 10-20 perc. Az oldott anyag polarizációja és a membrán ezt követő dugulása minimális mértékű a függőleges elrendezésnek köszönhetően, és a fizikai végponttitrálás (deadstop) megakadályozza a szárazra centrifugálást és a mintavesztést. A koncentrátumot a szűrőeszköz mintatartályából pipettor segítségével kell eltávolítani, míg az ultrafiltrátum a biztosított centrifugacsőben gyűlik össze. Az eszköz lengőkosaras (az optimális működéshez) vagy rögzített szögű rotorban is centrifugálható. Az Amicon® Ultra-4 10K eszközöket nem sterilen szállítják, és csak egyszeri használatra alkalmasak.

Javasolt felhasználás

Az Amicon® Ultra-4 centrifugális szűrőeszközök eldobható, egyszer használatos ultrafiltráló eszközök biológiai oldatok in vitro diagnosztikai feldolgozására az 1-4 ml térfogattartományban. Biológiai minták, például szérum, vizelet, agy-gerincvelői folyadék és más testfolyadékok koncentrálására szolgálnak az in vitro diagnosztikai elemzés előtt. Egyszer használatos eszköz, amelyet laboratóriumi szakemberek általi használatra terveztek.

Alkalmazások

- Antigéneket, antitesteket, enzimeket, nukleinsavakat (DNS/RNS minták, egy- vagy kettős szálú), mikroorganizmusokat, oszlopeluátumokat és tisztított mintákat tartalmazó biológiai minták koncentrálása
- A szövetkultúrából nyert kivonatokban és sejtlizátumokban található makromolekuláris összetevők tisztítása, a primer, a linkerek vagy a molekuláris jelzők eltávolítása a reakcióelegyből, protein eltávolítása HPLC előtt
- Sómentesítés, puffercsera vagy diafiltráció

Szállított anyagok

Az Amicon® Ultra-4 10K készülékhez egy kupak, egy szűrőeszköz és egy centrifugacső tartozik.

Szükséges felszerelés

- Lengőkosaras (ajánlott) vagy rögzített szögű rotorral ellátott centrifuga cellákkal/hordozókkal, melyek 17 mm × 124 mm méretű, 15 ml térfogatú, kúpos aljú csövek elhelyezését biztosítják

VIGYÁZAT: A készülék centrifugálás közben bekövetkező sérülésének elkerülése érdekében a centrifugálás előtt ellenőrizze a hézagot.

- Pipettázó 200 mikroliteres (μl) pipettával a koncentrátum visszanyeréséhez

Alkalmasság

Előzetes visszanyerési és visszatartási vizsgálatok végzése javasolt annak biztosításához, hogy az eszköz megfelelő a kívánt alkalmazáshoz. Lásd a „Visszanyerések mennyiségi meghatározása” c. fejezetet.

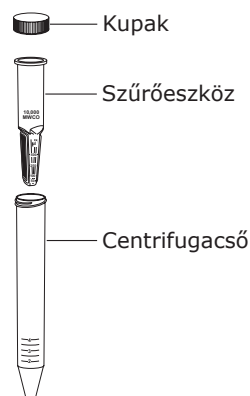
Tárolás és stabilitás

A tárolási körülményeket és a felhasználhatósági időt lásd a termék címkéjén.

Öblítés használat előtt

Az Amicon® Ultra-4 10K készülékekben lévő ultrafiltráló membránok nyomokban glicerint tartalmaznak. Ha ez az anyag zavarja az elemzést, használat előtt öblítse le az eszközt pufferrel vagy Milli-Q® vízzel. Ha az interferencia továbbra is fennáll, öblítse le 0,1 N NaOH-val, majd egy második adag pufferrel vagy Milli-Q® vízzel.

VIGYÁZAT: Ne hagyja, hogy az Amicon® Ultra szűrőeszközökben lévő membrán kiszáradjon, ha már nedves. Ha az öblítést követően nem használja fel azonnal az eszközt, hagyjon folyadékot a membránon az eszköz használatáig.



Az Amicon® Ultra-4 centrifugális szűrőeszközök használata

1. Öntsön legfeljebb 4 ml mintát (3,5 ml-t, ha 23°-os rögzített szögű rotort használ) az Amicon® Ultra szűrőeszközbe.
2. Tegye a kupakkal lezárt szűrőeszközt a centrifuga rotorjába (lengőkosaras ajánlott) és egyensúlyozza ki egy hasonló eszköz segítségével. Használat előtt ellenőrizze a centrifuga mozgásterét.
3. **Amikor lengőkosaras rotort használ,** centrifugálja az eszközt 4000 x g maximumon körülbelül 10–20 percig.
4. **Amikor rögzített szögű rotort használ,** az eszköz membránpanelja felfelé nézzen, és centrifugálja 7500 x g maximumon körülbelül 10–20 percig.
5. A koncentrált oldat eltávolításához helyezzen pipettát a szűrőeszköz aljára, majd a hegyét oldalirányban oda-vissza mozgatva szívja fel a mintát, így a teljes mennyiség eltávolítható. Az ultrafiltrátum a centrifugacsőben tárolható.

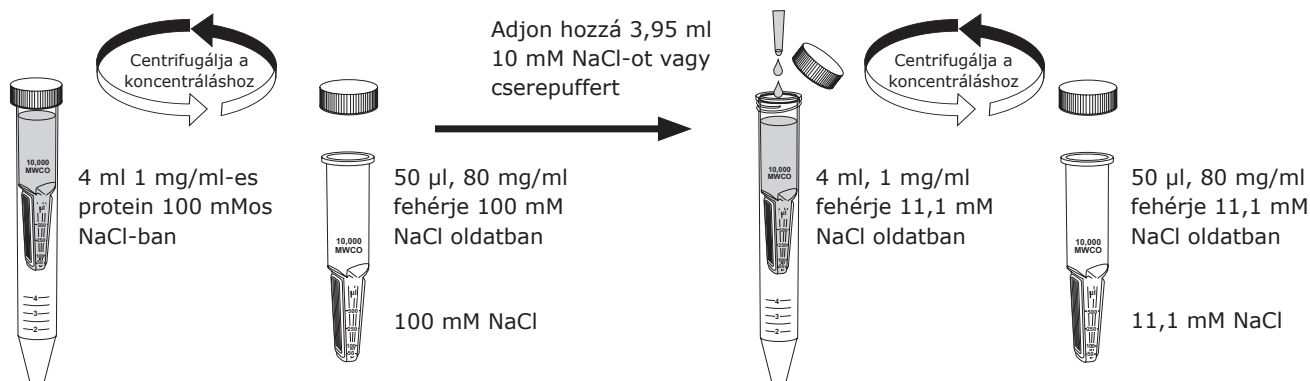
MEGJEGYZÉS: A szokásos centrifugázási időket lásd az 1. ábrán és az 1. táblázatban.

MEGJEGYZÉS: Az optimális visszanyerés érdekében a centrifugálás után azonnal távolítsa el a koncentrált mintát.

MEGJEGYZÉS: Előfordulhat, hogy a szűrő nem működik megfelelően, ha nedvesítés után hagyja kiszáradni.

Sómentesítés vagy diafiltráció

A sómentesítés, a puffercsere vagy a diafiltráció fontos módszerek, melyek segítségével eltávolíthatók a sók vagy az oldószerek a biomolekulákat tartalmazó oldatokból. A Amicon® Ultra-4 készülékben a sómentesítés vagy puffercsere elvégezhető a minta koncentráálásával, majd a koncentrátumnak az eredeti mintatérfogatra történő visszaállításával, tetszőleges oldószerezrel. A kimosási folyamat addig ismételhető, amíg a kis mennyiségben jelen lévő szennyező anyag koncentrációja a kívánt szintre csökken. Lásd az alábbi példát.

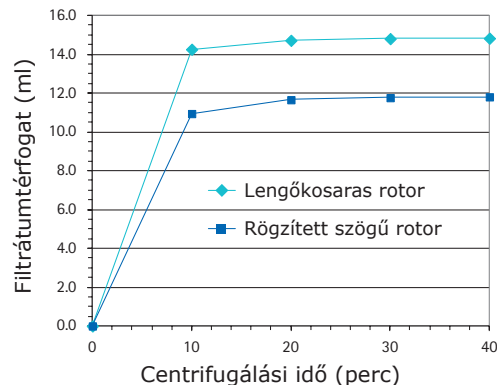


Teljesítmény

Áramlási sebesség

Az áramlási sebességet befolyásoló tényezők közé tartozik a minta koncentrációja, a kezdeti térfogat, az oldott anyag kémiai természete, a relatív centrifugális erő, a centrifugarotor szöge, a membrán típusa és a hőmérséklet. Használja az 1. ábrát és az 1. táblázatot az adott szűrlet- vagy koncentrátum-térfogat eléréséhez szükséges idő megbecsüléséhez. Egy 4 ml-es minta szokásos centrifugálási ideje megközelítőleg 10-20 perc. Míg a minta legnagyobb részének szűrése a centrifugálás első 10-15 percében lezajlik, a legalacsonyabb koncentrátum-térfogat (30–75 µl) 15-20 perc centrifugálás után érhető el.

1. ábra Tipikus filtrátumtérfogat a centrifugálási idő függvényében



Centrifugálási körülmények: Lengőkosaras rotor (4000 x g) vagy rögzített szögű rotor (7500 x g), szobahőmérséklet, 4 ml kiindulási térfogat.
Alkalmazott proteinmarker: Citokróm c, n=6.

1. táblázat Szokásos koncentrátumtérfogat a centrifugálási idő függvényében

Centrifugálási idő (perc)	Koncentrátum térfogata (µl)	
	Lengőkosaras rotor 4000 x g	35°-os rögzített szögű rotor 7500 x g
10	176	97
15	76	54
20	58	35

Centrifugálási körülmények: Szobahőmérséklet, 4 ml kezdőtérfogat.

Alkalmazott proteinmarker: Citokróm c, n=6 (3 eszköz gyártási tétel átlagértéke).

A satírozott térfogatokat használtuk az 3. táblázatban mutatott protein visszanyerési értékek kiszámításához.

Protein visszatartás és koncentrátum-visszanyerés

Az Amicon® Ultra készülékekben használt membránok jellemzője a molekulatömeg-határ (MWCO), vagyis a meghatározott molekulatömeg feletti molekulák visszatartására való képességük. Az MWCO-hoz közeli molekulatömegű oldott anyagokat csak részben tarthatja vissza a membrán. A visszatartás az oldott anyag molekuláinak méretétől és alakjától függ. Az alkalmazások többségének esetében a molekulatömeg megfelelő paraméter a visszatartási jellemzők értékeléséhez. A legjobb eredmény érdekében használjon olyan membránt, melynek MWCO értéke legalább kétszer kisebb, mint a koncentrálni kívánt oldott protein molekulatömege. Lásd a 2. táblázatot.

2. táblázat Proteinmarkerek tipikus visszatartása

Marker/Koncentráció	Molekulatömeg	Eszköz MWCO értéke	%-os visszatartás, lengőkosár	%-os visszatartás, rögzített szög	Centrifugálási idő (perc)
α-kimotripszinogén (1 mg/ml)	25 000	10K	> 95	> 95	15
Citokróm c (0,25 mg/ml)	12 400		> 95	> 95	15
B-12 vitamin (0,2 mg/ml)	1350		< 15	< 15	15

Centrifugálási körülmények: Lengőkosaras rotor (4000 x g) vagy 35°-os rögzített szögű rotor (7500 x g, 4 ml-es kezdeti térfogat), szobahőmérséklet, n=6 (3 eszköz gyártási tétel átlagértéke).

A mintavisszanyerést meghatározó tényezők közé tartozik az oldott protein tulajdonságai a választott eszköz MWCO értékéhez viszonyítva, a kezdeti koncentráció és a koncentrálni kívánt tényező. A 3. táblázat az Amicon® Ultra-4 10K eszközre vonatkozó tipikus visszanyerési értékeket tartalmazza.

3. táblázat Tipikus koncentrátum-visszanyerés

Marker/ Koncentráció	Eszköz MWCO értéke	Centrifugálási idő (perc)	Koncentrátum térfogata (µl)		Koncentrálni tényező (x)		Koncentrátumvisszanyerés (%)	
			Lengőkosaras	Rögzített szögű	Lengőkosaras	Rögzített szögű	Lengőkosaras	Rögzített szögű
Citokróm c (0,25 mg/ml)	10K	15	76	54	52,3	76,6	97,3	98,5

Centrifugálási körülmények: Lengőkosaras rotor (4000 x g) vagy 35°-os rögzített szögű rotor (7500 x g, 4 ml-es kezdeti térfogat), szobahőmérséklet, n=6 (3 eszköz gyártási tétel átlagértéke). Az árnyékolt térfogatok az 1. táblázatból származnak.

A mintavisszanyerés maximalizálása

Az alacsony hatékonyságú mintavisszanyerés lehetséges okai az adszorpció okozta veszteség, a túlkoncentráció, illetve hogy a minta átjut a membránon.

- Az adszorpció okozta veszteség az oldott anyag koncentrációjától, hidrofóbicitásától, a szűrőeszköz hőmérsékletétől és a szűrőeszköz felületével való érintkezés idejétől, a minta összetételétől és a pH-tól függ. A veszteség csökkentéséhez a centrifugálás befejezése után azonnal távolítsa el a koncentrált mintákat.
- Ha a kezdeti minta koncentrációja nagy, a minta túlkoncentrálásának elkerülése érdekében kövesse figyelemmel a centrifugálási folyamatot. A túlkoncentráció csapadékképződéshez és mintaveszteséghez vezethet.
- Ha úgy tűnik, hogy a minta áthalad a membránon, válasszon egy alacsonyabb MWCO-értékű Amicon® Ultra-4 eszközt.

A visszanyerések meghatározása

Az alábbi módszer segítségével számítható ki a teljes visszanyerés, a koncentrátum százalékos visszanyerése és a filtrátum százalékos visszanyerése. Ez az eljárás nagyon jó becslést ad az akár kb. 20 mg/ml koncentrációjú oldatok esetében elért visszanyerésre.

MEGJEGYZÉS: A megfelelő vizsgálati technikák közé tartozik az abszorpciós spektrofotometria, a radioimmunvizsgálat, a törésmutató és a vezetőképesség.

Közvetlen tömegmérési eljárás

A legtöbb híg fehérjeoldat sűrűsége majdnem megegyezik a víz sűrűségével (tehát 1 g/ml). Ezt a tulajdonságot felhasználva a mennyiségi meghatározásához mérje meg a koncentrátum és a filtrátum tömegét, majd váltsa át az egységet grammról milliliterre. Ez az eljárás csak a megközelítőleg 20 mg/ml vagy annál alacsonyabb koncentrációjú oldatokra érvényes.

- Használat előtt külön mérje meg az üres szűrőeszközt, a centrifugacső és a koncentrátum gyűjtéséhez használni kívánt üres cső tömegét.
- Töltse meg oldattal a szűrőeszközt, és mérje meg újra.
- Szerelje össze az eszközt, és centrifugálja az utasítások szerint.
- Szívja fel a koncentrátumot egy pipetta segítségével, és adja hozzá az előre lemerített koncentrátum gyűjtő csőbe.
- Vegye ki az eszközt a centrifugacsőből, majd mérje meg a centrifugacsövet és a koncentrátum gyűjtő csövet.
- Vonja ki az üres eszköz/csővek tömegét a kezdeti anyag, filtrátum és koncentrátum tömegének kiszámításához.
- Mérje meg az oldott anyag koncentrációját a kiindulási anyagban, a filtrátumban és a koncentrátumban.
- Számítsa ki a visszanyeréseket a következő képlet segítségével a tömeg/térfogat adatok és a mért koncentrációértékek behelyettesítésével:

$$\text{koncentrátum-visszanyerési \%} = 100 \times \frac{W_c \times C_c}{W_o \times C_o}$$

$$\text{filtrátum-visszanyerési \%} = 100 \times \frac{W_f \times C_f}{W_o \times C_o}$$

$$\text{összes visszanyerési \%} = \text{koncentrátum-visszanyerési \%} + \text{filtrátum-visszanyerési \%}$$

W_c = a koncentrátum teljes tömege a vizsgálat előtt
 W_o = az eredeti kiindulási anyag tömege
 W_f = a filtrátum tömege

C_c = a koncentrátum koncentrációja
 W_o = az eredeti kiindulási anyag koncentrációja
 C_f = a filtrátum koncentrációja

Specifikációk

Maximális kiindulási mintatérfogat

Lengőkosaras és rögzített szögű rotor (45° és 35°)	4,0 ml
Rögzített szögű rotor (23°)	3,5 ml

Tipikus végső koncentrátum térfogat 50–100 µl

Maximális relatív centrifugális erő

Lengőkosaras rotor	4000 × g
Rögzített szögű rotor	7500 × g

Aktív membránfelület 3 cm²

Méret

Szűrőeszköz a csőben (kupakkal zárt)	
Hosszúság: 124 mm	Átmérő: 17,3 mm
Szűrőeszköz	
Hosszúság: 73,4 mm	Átmérő: 17,2 mm

Felhasznált anyagok

Szűrőeszköz	Sztirol/butadién kopolimer
Membrán	Ultracel® alacsony kötődésű regenerált cellulóz
Filtrátumcső	Polipropilén
Filtrátumkupak és bélés	Polietilén
Szűrő	MWCO 10K

Kémiai kompatibilitás

Az Amicon® Ultra centrifugális szűrőeszközök biológiai folyadékokkal és vizes oldatokkal való használatra szolgálnak. Használat előtt ellenőrizze a minta és az eszköz kémiai kompatibilitását. Az elérhetőségekért látogasson el a SigmaAldrich.com/FilterChemicalCompatibility oldalra.

Jelölésmeghatározó

Szimbólum	Definíció	Szimbólum	Definíció
	In vitro diagnosztikai orvosi eszköz		Gyártási időpont
	Katalógusszám		Gyártó
	Ne használja újra		Nem steril termék
	Felhasználható		CE megfelelési jel
	Tételkód		Hőmérséklet határérték
	A használati utasítások elérhetők online		Ne használja, ha a csomagolás sérült
	A termék dokumentációja letölthető online		Egyesült Királyság – megfelelési jelölés

Termék rendelése

A termékek online, a SigmaAldrich.com oldalon vásárolhatók meg.

Leírás	db/csomag	Katalógusszám
Amicon® Ultra-4	8	UFC801008D
	24	UFC801024D
	96	UFC801096D

Figyelmeztetés

Vevőinknek alkalmazási technológiákról és jogszabályi ügyekről legjobb tudásunk és képességünk szerint, de elkötelezettség és felelősségvállalás nélkül adunk információt és tanácsot. A meglevő törvényeket és jogszabályokat vevőinknek minden esetben figyelembe kell venniük. Ez érvényes a harmadik fél bármilyen jogaira is. Információnk és tanácsaink nem mentik fel vevőinket a felelősség alól, hogy ellenőrizték termékeink alkalmasságát az adott célra.

Gyűjtés és hulladékkezelés

Minden mintát egyértelműen jelölni kell. A minták kinyeréséhez és előkészítéséhez megfelelő eszközöket kell használni.

MEGJEGYZÉS: Kövesse a potenciálisan fertőző vagy veszélyes biológiai anyaggal szennyezett tárgyak ártalmatlanítására vonatkozó óvintézkedéseket a vonatkozó nemzetközi, szövetségi, állami és helyi előírásoknak megfelelően.

Műszaki támogatás

Látogassa meg a műszaki szerviz oldalunkat a honlapunkon SigmaAldrich.com/techservice.

A készülékkel kapcsolatos bármilyen súlyos eseményt jelenteni kell a gyártónak és a felhasználó tartózkodási helye szerinti ország illetékes hatóságának.

Általános garancia

A jelen közleményben felsorolt termékekre vonatkozó garanciáról a SigmaAldrich.com/terms oldalon tájékozódhat.

Felülvizsgálati előzmények

2021-OKT	- IFU PR05779 Kiadás dátuma: 2021 OKT - A PR05139 helyébe lépett. - Kiegészítve IFU, csomagolássérülési és hőmérsékleti határértékre vonatkozó szimbólumokkal. - Kémiai kompatibilitás és rendelési információk a weboldalon. - Kiegészítve hulladékkezelésre és panaszokra vonatkozó információkkal. - Kiegészítve az illetékes (Egyesült Királyság) elérhetőségével és az UKCA szimbólumokkal
----------	---

Úvod

Centrifugační filtrační prostředky Amicon® Ultra-4 10K umožňují rychlou ultrafiltraci s možností vysokých koncentračních faktorů a snadného získání koncentráту z naředěných a komplexních matricí vzorků. Díky svému vertikálnímu provedení a dostupné ploše povrchu membrány je zpracování vzorků rychlé, má vysokou výtěžnost vzorku (obvykle vyšší než 90 % oproti naředěnému výchozímu roztoku) a umožňuje 80násobné zakoncentrování. Obvyklá doba zpracování je 10 až 20 minut. Vertikální provedení minimalizuje polarizaci rozpuštěné látky (solutu) a následné zanesení membrány a díky fyzické zarážce ve filtračním prostředku nedojde k odstředění až do suchého stavu a potenciálním ztrátám vzorku. Koncentrát se z rezervoáru vzorku ve filtračním prostředku odebírá pipetorem a ultrafiltrát se sbírá v dodané centrifugační zkumavce. Prostředek je možné odstředít ve výkyvném rotoru (pro optimální funkčnost) nebo v rotoru s fixním úhlem. Prostředky Amicon® Ultra-4 10K jsou dodávány nesterilní a jsou určeny pouze k jednorázovému použití.

Určené použití

Centrifugační filtrační prostředky Amicon® Ultra-4 jsou jednorázové, ultrafiltrační filtrační prostředky určené pro diagnostické použití *in vitro* pro zpracování biologických roztoků o objemu v rozmezí 1–4 ml. Jsou určeny pro zakoncentrování biologických vzorků, jako je sérum, moč, mozkomíšní mok a jiné tělesné tekutiny, před diagnostickou analýzou *in vitro*. Prostředek je určen k jednorázovému použití a profesionálnímu použití v laboratoři.

Použití

- Zakoncentrování biologických vzorků obsahujících antigeny, protilátky, enzymy, nukleové kyseliny (vzorky DNA/RNA, buď jedno- nebo dvouřetězcové), mikroorganismy a zakoncentrování kolonových eluátů či purifikovaných vzorků.
- Purifikace makromolekulárních složek extraktů tkáňových kultur a buněčných lyzátů, odstraňování primeru, linkerů nebo molekulárního značení z reakční směsi; odstraňování proteinů před HPLC.
- Odsolování, výměna pufru nebo diafiltrace.

Dodávané materiály

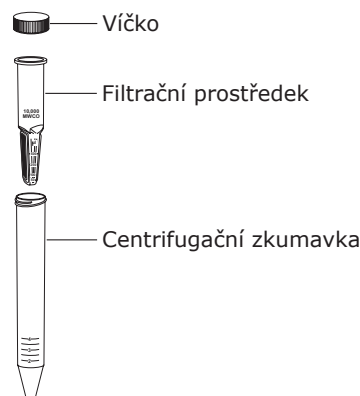
Prostředek Amicon® Ultra-4 10K je dodáván s víčkem, filtračním prostředkem a centrifugační zkumavkou.

Potřebné vybavení

- Centrifuga s výkyvným rotorem (doporučeno) nebo s rotorem s fixním úhlem s jamkami/adaptéry pro 15ml zkumavky o rozměrech 17 mm × 124 mm s kónickým dnem.

UPOZORNĚNÍ: Před odstředěním zkontrolujte, zda je kolem centrifugy dostatečný volný prostor, aby nedošlo k poškození zařízení.

- Pipetor se špičkou o objemu 200 mikrolitrů (μl) pro získání koncentráту.



Vhodnost pro daný účel

Pro ověření vhodnosti pro daný účel se doporučuje předem zjistit výtěžnost a zkontrolovat retenci. Viz oddíl „Stanovení výtěžnosti“.

Uchovávání a stabilita

Podmínky uchovávání a doba použitelnosti viz štítek produktu.

Propláchnutí před použitím

Ultrafiltrační membrána v prostředcích Amicon® Ultra-4 10K obsahuje stopová množství glycerinu. Pokud tento materiál s analýzou interferuje, před použitím prostředek propláchněte pufrem nebo Milli-Q® vodou. Bude-li i nadále docházet k interferenci, propláchněte jej 0,1N NaOH a poté znovu odstředte pufr nebo Milli-Q® vodu.

UPOZORNĚNÍ: Po navlhčení nenechte membrány filtračních prostředků Amicon® Ultra vyschnout. Pokud nebudete prostředek ihned po propláchnutí používat, tekutinu ponechte na membráně až do doby, kdy bude prostředek použit.

Jak centrifugační filtrační prostředky Amicon® Ultra-4 používat

1. Do filtračního prostředku Amicon® Ultra přidejte až 4 ml vzorku (3,5 ml, pokud používáte rotor s fixním úhlem 23°).
2. Filtrační prostředek s nasazeným víčkem vložte do rotoru centrifugy (doporučuje se výkyvný rotor) a podobným prostředkem jej vyvažte. Před použitím zkontrolujte okolí centrifugy.
3. **Jestliže používáte výkyvný rotor**, prostředek odstředte při maximálně $4\,000 \times g$ po dobu přibližně 10–20 minut.
4. **Jestliže používáte rotor s fixním úhlem**, prostředek nastavte tak, aby membránový panel směřoval vzhůru, a odstředte jej při maximálně $7\,500 \times g$ po dobu přibližně 10–20 minut.

POZNÁMKA: Obvyklé doby odstředování jsou uvedeny na obrázku 1 a v tabulce 1.

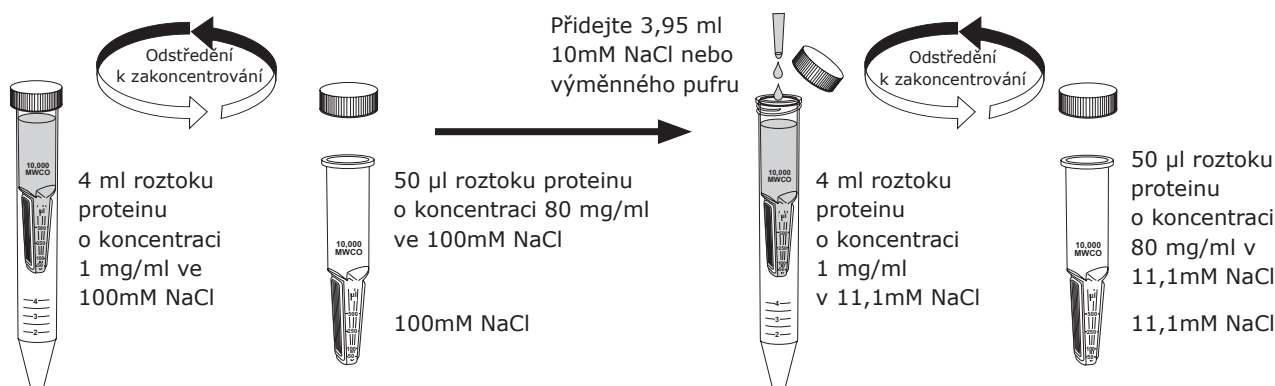
5. Pro odebrání zakonzentrovaného solutu umístěte pipetor na dno filtračního prostředku a vzorek odsajte. Pro získání celého objemu pipetorem pohybujte ze strany na stranu. Ultrafiltrát je možno uchovávat v centrifugační zkumavce.

POZNÁMKA: Pro zajištění optimální výtěžnosti zakonzentrovaný vzorek odeberte ihned po odstředění.

POZNÁMKA: Pokud filtr necháte po navlhčení vyschnout, nemusí fungovat správně.

Odsolování nebo diafiltrace

K významným metodám pro odstraňování solí nebo rozpouštědel z roztoků obsahujících biomolekuly patří odsolování, výměna pufru či diafiltrace. V prostředku Amicon® Ultra-4 je možné odstranění solí či výměnu pufru provést tak, že se vzorek zakonzentruje a koncentrát je posléze rekonstituován v původním objemu vzorku jakéhokoli požadovaného rozpouštědla. Tento „vymývací“ proces je možno opakovat tak dlouho, dokud koncentrace kontaminující mikrosložky nepoklesne pod přijatelnou mez. Viz příklad uvedený níže.

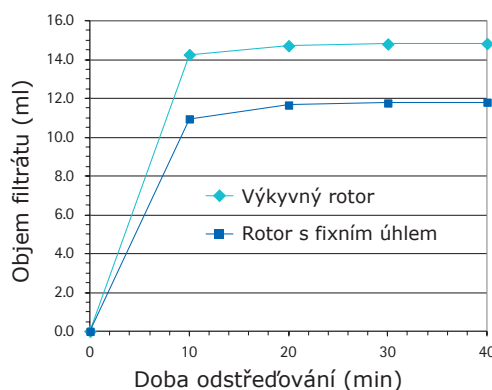


Funkčnost

Průtoková rychlost

Mezi faktory určující průtokovou rychlost patří koncentrace vzorku, počáteční objem, chemická povaha rozpuštěné látky, relativní odstředivá síla, úhel náklonu rotoru centrifugy, typ membrány a teplota. K odhadu doby potřebné k získání daného objemu filtrátu nebo koncentrátu lze použít obrázek 1 a tabulku 1. Doba odstředování vzorku o objemu 4 ml obvykle činí zhruba 10 až 20 minut. Většina vzorku se přefiltruje během prvních 10 až 15 minut odstředování, nejvyššího objemu koncentrátu (30–75 μ l) se však dosáhne po odstředování po dobu 15–20 minut.

Obrázek 1. Typický objem filtrátu vs. doba odstředování



Podmínky odstředování: Výkyvný rotor 4 000 $\times$ g nebo rotor s fixním úhlem 7 500 $\times$ g, pokojová teplota, počáteční objem 4 ml. Použitý proteinový marker: Cytochrom c, n = 6.

Tabulka 1. Typický objem koncentrátu vs. doba odstředování

Doba odstředování (min)	Objem koncentrátu (μ l)	
	Výkyvný rotor 4 000 $\times$ g	Rotor s fixním úhlem 35° 7 500 $\times$ g
10	176	97
15	76	54
20	58	35

Podmínky odstředování: Pokojová teplota, počáteční objem 4 ml.

Použitý proteinový marker: Cytochrom c, n = 6 (střední hodnota 3 šarží prostředku).

Pro výpočet výtěžnosti proteinu byly použity hodnoty ve stínovaných okénkách v tabulce 3.

Retence proteinu a výtěžnost koncentrátu

Pro membrány používané v prostředcích Amicon® Ultra je charakteristická mezní (cutoff) hodnota molekulové hmotnosti (MWCO); to znamená jejich schopnost zadržovat molekuly o molekulové hmotnosti vyšší, než je specifikovaná mez. Pokud se molekulová hmotnost rozpuštěné látky (solutu) blíží hodnotě MWCO, může být zadržena pouze částečně. Retence v membráně závisí na velikosti a tvaru molekuly solutu. Pro většinu aplikací je molekulová hmotnost vhodným parametrem pro posouzení retenčních charakteristik. K dosažení optimálních výsledků je vhodné použít membránu o hodnotě MWCO alespoň dvakrát nižší, než je molekulová hmotnost zakonzentrovávaného proteinového solutu. Viz tabulka 2.

Tabulka 2. Typické hodnoty retence proteinových markerů

Marker/koncentrace	Molekulová hmotnost	MWCO prostředku	Retence (%), výkyvný rotor	Retence (%), rotor s fixním úhlem	Doba odstředování (min)
α -Chymotrypsinogen (1 mg/ml)	25 000	10K	> 95	> 95	15
Cytochrom c (0,25 mg/ml)	12 400		> 95	> 95	15
Vitamin B-12 (0,2 mg/ml)	1 350		< 15	< 15	15

Podmínky odstředování: Výkyvný rotor 4 000 $\times$ g nebo rotor s fixním úhlem 35° 7 500 $\times$ g, počáteční objem 4 ml, pokojová teplota, n = 6 (střední hodnota 3 šarží prostředku).

K faktorům, které určují výtěžnost vzorku, patří povaha proteinového solutu vůči hodnotě MWCO použitého prostředku, výchozí koncentrace a koncentrační faktor. Tabulka 3 obsahuje typické výtěžnosti prostředku Amicon® Ultra-4 10K.

Tabulka 3. Typické hodnoty výtěžnosti koncentrátu

Marker/koncentrace	MWCO prostředku	Doba odstředování (min)	Objem koncentrátu (μ l)		Koncentrační faktor (x)		Výtěžnost koncentrátu (%)	
			Výkyvný rotor	Rotor s fixním úhlem	Výkyvný rotor	Rotor s fixním úhlem	Výkyvný rotor	Rotor s fixním úhlem
Cytochrom c (0,25 mg/ml)	10K	15	76	54	52,3	76,6	97,3	98,5

Podmínky odstředování: Výkyvný rotor 4 000 $\times$ g nebo rotor s fixním úhlem 35° 7 500 $\times$ g, počáteční objem 4 ml, pokojová teplota, n = 6 (střední hodnota 3 šarží prostředku). Stínované objemy byly převzaty z tabulky 1.

Maximalizace výtěžnosti vzorků

Příčinou nízké výtěžnosti látky v koncentrátu mohou být ztráty adsorpcí, přílišné zakoncentrování nebo průchod látky membránou.

- Ztráty adsorpcí závisí na koncentraci solutu, jeho hydrofobní povaze, teplotě a době styku s povrchem filtračního prostředku, na složení vzorku a na hodnotě pH. Pro minimalizaci ztrát zakoncentrovaný vzorek odeberte ihned po odstředění.
- Pokud je výchozí koncentrace ve vzorku vysoká, sledujte proces odstředování, aby nedošlo k nadměrnému zakoncentrování vzorku. Nadměrné zakoncentrování může vést k precipitaci a případným ztrátám látky.
- Pokud se zdá, že vzorek prochází membránou, zvolte prostředek Amicon® Ultra-4 s nižší MWCO.

Stanovení výtěžnosti

Níže uvedeným postupem lze vypočítat celkovou výtěžnost, procentuální výtěžnost koncentrátu a procentuální výtěžnost filtrátu. Postup poskytuje blízkou aproximaci výtěžnosti v případě roztoků o koncentracích zhruba do 20 mg/ml.

POZNÁMKA: Mezi vhodné metody analýzy patří absorpční spektrofotometrie, radioimunoanalýza, stanovení refrakčního indexu a konduktivity.

Metoda přímého vážení

Hustota nejzředěnějších roztoků proteinů je prakticky rovna hustotě vody (tj. 1 g/ml). Na základě této skutečnosti lze objem koncentrátu a filtrátu zjistit vážením a převedením jednotek z gramů na mililitry. Tento postup je možné používat pouze u roztoků, jejichž koncentrace nepřesahuje zhruba 20 mg/ml.

- Před použitím zvažte jednotlivě prázdný filtrační prostředek, centrifugační zkumavku a prázdnou zkumavku na získaný koncentrát.
- Naplňte filtrační prostředek roztokem a znovu zvažte.
- Prostředek sestavte a odstředte podle návodu.
- Pipetorem koncentrát odeberte a přeneste jej do předem zvážené zkumavky na koncentrát.
- Prostředek vyjměte z centrifugační zkumavky a centrifugační zkumavku a zkumavku s koncentrátem zvažte.
- Odečtením hmotnosti prázdného prostředku/zkumavek vypočítejte hmotnost výchozího materiálu, filtrátu a koncentrátu.
- Stanovte koncentrace solutu ve výchozím materiálu, filtrátu a koncentrátu.
- Za použití údajů o hmotnosti/objemu a stanovených koncentracích vypočítejte výtěžnosti podle následujících vzorců:

$$\% \text{ výtěžnosti koncentrátu} = 100 \times \frac{W_c \times C_c}{W_o \times C_o}$$

$$\% \text{ výtěžnosti filtrátu} = 100 \times \frac{W_f \times C_f}{W_o \times C_o}$$

W_c = celková hmotnost koncentrátu před analýzou
 W_o = hmotnost původního výchozího materiálu
 W_f = hmotnost filtrátu

C_c = koncentrace koncentrátu
 C_o = koncentrace původního výchozího materiálu
 C_f = koncentrace filtrátu

celková výtěžnost (%) = výtěžnost koncentrátu (%) + výtěžnost filtrátu (%)

Specifikace

Maximální počáteční objem vzorku

Výkyvný rotor a rotor s fixním úhlem (45° a 35°) 4,0 ml

Rotor s fixním úhlem (23°) 3,5 ml

Typický objem konečného koncentrátu 50–100 µl

Maximální relativní odstředivá síla

Výkyvný rotor 4 000 × g

Rotor s fixním úhlem 7 500 × g

Aktivní plocha membrány 3 cm²

Rozměry

Filtrační prostředek ve zkumavce (uzavřený)

Délka: 124 mm Průměr: 17,3 mm

Filtrační prostředek

Délka: 73,4 mm Průměr: 17,2 mm

Konstrukční materiály

Filtrační prostředek Kopolymer styren/butadien

Membrána Regenerovaná celulóza Ultracel® s nízkou vazebnou kapacitou

Zkumavka na filtrát Polypropylen

Víčko na filtrát a výstelka Polyethylen

Filtr MWCO 10K

Chemická kompatibilita

Centrifugační prostředky Amicon® Ultra jsou určeny pro použití s biologickými tekutinami a vodnými roztoky. Před použitím prostředku zkontrolujte, zda je s ním vzorek chemicky kompatibilní. Více informací naleznete na SigmaAldrich.com/FilterChemicalCompatibility.

Definice značek

Značka	Definice	Značka	Definice
	Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i>		Datum výroby
	Katalogové číslo		Výrobce
	Nepoužívat opětovně		Nesterilní výrobek
	Použit do data		Označení shody CE
	Kód dávky		Omezení teploty
	Návod k použití k dispozici online		Nepoužívat, jestliže je balení poškozeno
	Stáhnout dokumentaci k produktům online		Označení shody Spojeného království

Objednání výrobku

Výrobky je možné zakoupit online na adrese SigmaAldrich.com.

Popis	ks/bal.	Katalogové číslo
Amicon® Ultra-4	8	UFC801008D
	24	UFC801024D
	96	UFC801096D

Poznámka

Naším zákazníkům poskytujeme informace a rady týkající se aplikačních technologií a právních předpisů na základě našich nejlepších vědomostí a schopností, nepřebíráme ale žádné závazky nebo odpovědnost. Naši zákazníci musí ve všech případech brát v úvahu platné zákony a předpisy a dodržovat je. Uvedené platí i pro případná práva třetích stran. Naše informace a rady nezabývají naše zákazníky jejich vlastní odpovědností za kontrolu vhodnosti našich produktů k předpokládanému účelu.

Sběr a likvidace

Všechny vzorky musí být jasně označeny. K odběru vzorků a jejich přípravě je nutné použít vhodné nástroje.

POZNÁMKA: Při likvidaci položek kontaminovaných potenciálně infekčním či nebezpečným biologickým materiálem dodržujte bezpečnostní opatření a postupujte dle všech platných mezinárodních, federálních, státních a lokálních nařízení.

Technická podpora

Informace najdete na naší stránce technické podpory SigmaAldrich.com/techservice.

Všechny závažné příhody související s tímto prostředkem musí být hlášeny výrobcí a příslušnému orgánu v zemi uživatele.

Standardní záruka

Informace o platné záruce na výrobky uvedené v tomto dokumentu lze najít na stránce SigmaAldrich.com/terms.

Historie revizí

Říjen 2021	• IFU PR05779 Datum vydání říjen 2021 – Nahradilo PR05139. • Přidány značky IFU, poškození obalu a omezení teploty. • K informacím o chemické kompatibilitě a objednávání přidán odkaz na webovou stránku. • Přidány informace o likvidaci a stížnostech. • Přidána zodpovědná osoba v UK a informace o značce UKCA.
------------	--

Wprowadzenie

Filtry wirówkowe Amicon® Ultra-4 10K zapewniają szybką ultrafiltrację z możliwością wysokich współczynników stężeń i łatwego odzyskiwania koncentratu z rozcieńczonych i złożonych matryc próbek. Pionowa konstrukcja i duża aktywna powierzchnia membrany zapewniają szybki przebieg filtrowania, wysoki odzysk (na ogół >90% roztworu początkowego substancji rozpuszczonej) i 80-krotne zatężanie. Typowy czas przetwarzania wynosi mniej więcej 10–20 minut. Pionowa konstrukcja ultrafiltra ogranicza polaryzację substancji rozpuszczonej oraz blokowanie membrany (fouling), a blokada w obrębie filtra zapobiega odwirowaniu roztworu do sucha i utracie próbki. Koncentrat pobiera się pipetą ze zbiorniczka na próbkę, natomiast ultrafiltrat gromadzi się w dostarczonej probówce reakcyjnej. Urządzenie można wirować w wirówkach z koszami wychylnymi (rotor wychylny) (dla uzyskania optymalnej wydajności) lub o stałym nachyleniu (rotor kątowy). Urządzenia Amicon® Ultra-4 10K są dostarczane w stanie niejałowym i są przeznaczone wyłącznie do jednorazowego użytku.

Przeznaczenie

Filtry wirówkowe Amicon® Ultra-4 są jednorazowymi urządzeniami ultrafiltracyjnymi do zastosowań w diagnostyce in vitro służącymi do przetwarzania roztworów biologicznych w zakresie objętości 1–4 ml. Przeznaczone są do zatężania próbek biologicznych, takich jak surowica, mocz, płyn mózgowo-rdzeniowy oraz inne płyny ustrojowe przed analizą metodami diagnostyki in vitro. Urządzenie przeznaczone do jednorazowego użytku i stosowania przez profesjonalne laboratorium.

Zastosowania

- Zatężanie próbek biologicznych zawierających antygeny, przeciwciała, enzymy, kwasy nukleinowe (DNA/RNA jedno- lub dwuniciowe), drobnoustroje, eluaty w chromatografii kolumnowej i oczyszczone próbki substancji.
- Oczyszczanie związków makrocząsteczkowych z wyciągów hodowli tkankowych i lizatów komórkowych, usuwanie primerów, linkerów lub znaczników molekularnych z mieszaniny reakcyjnej oraz odbiaćanie przed HPLC.
- Odsalanie, wymiana buforu lub diafiltracja

Dostarczane materiały

Urządzenia Amicon® Ultra-4 10K są dostarczane z korkiem, urządzeniem filtracyjnym i probówką wirówkową.

Wymagane wyposażenie

- Wirówka z koszem wychylnym (preferowana) lub o stałym nachyleniu ze studzienkami lub uchwytami na próbki o dnie stożkowym, wymiarach 17 × 124 mm i pojemności 15 ml.

PRZESTROGA: Przed wirowaniem należy sprawdzić swobodę ruchu koszy rotora, aby nie dopuścić do uszkodzenia urządzenia.

- Pipetor z końcówką 200 mikrolitrów (μl) do odzyskiwania koncentratu



Przydatność metody

Na podstawie wstępnych wyników badań odzysku i retencji potwierdzono przydatność metody do opisanych zastosowań. Patrz punkt „Metoda oznaczania odzysku”.

Przechowywanie i stabilność

Sprawdzić warunki przechowywania i okres trwałości na etykiecie produktu.

Płukanie przed użyciem

Membrany ultrafiltracyjne w urządzeniach Amicon® Ultra-4 10K zawierają śladowe ilości gliceryny. Jeśli ten materiał zakłóca analizę, przed użyciem należy przepłukać urządzenie buforem lub wodą Milli-Q®. Jeśli zakłócenia wystąpią ponownie, należy przemyć 0,1 N NaOH, a następnie ponownie odwirować bufor lub wodę Milli-Q®.

PRZESTROGA: Nie dopuścić do wyschnięcia membrany w urządzeniach filtracyjnych Amicon® Ultra po zamoczeniu. Jeżeli urządzenie nie jest używane niezwłocznie po płukaniu, na membranie należy pozostawić płyn do momentu użycia urządzenia.

Sposób korzystania z filtrów wirówkowych Amicon® Ultra-4

1. Dodać do 4 ml próbki (3,5 ml, jeśli używany jest rotor o stałym nachyleniu 23°) do urządzenia filtracyjnego Amicon® Ultra.
2. Włożyć do wirówki (preferowana wirówka z koszem wychylnym) gotowy ultrafiltr zamknięty korkiem i zrównoważyć podobnym urządzeniem. Sprawdzić swobodę ruchu wirówki przed użyciem.
3. **W przypadku stosowania rotora z koszem wychylnym** wirować urządzenie z maksymalną siłą wirowania 4000 × g przez mniej więcej 10–20 minut.
4. **W przypadku stosowania rotora z koszem o stałym wychyleniu filtr należy włożyć tak**, aby panel z membraną był skierowany ku górze i odwirować z maksymalną siłą wirowania 7500 × g przez mniej więcej 10–20 minut.

UWAGA: Patrz Rysunek 1 i Tabela 1, aby zapoznać się z typowymi czasami wirowania.

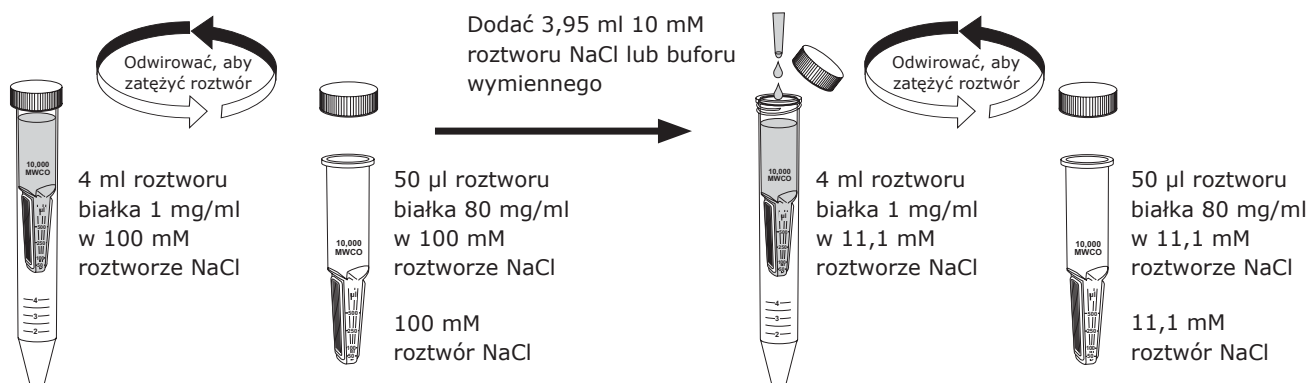
5. Pobieranie substancji rozpuszczonej z zatężonego roztworu: wprowadzić pipetę do dolnej części ultrafiltra i pobrać próbkę, przesuwając końcówkę pipety z boku na bok. Ultrafiltrat można przechowywać w próbówce reakcyjnej.

UWAGA: Aby zapewnić maksymalny odzysk, zatężoną próbkę należy pobrać bezpośrednio po zakończeniu wirowania.

UWAGA: Filtr może nie działać prawidłowo, jeśli wyschnie po zmoczeniu.

Odsalanie lub diafiltracja

Odsalanie, wymiana buforów i diafiltracja to istotne metody eliminacji soli lub rozpuszczalników w roztworach substancji biologicznych. Usunięcie soli lub wymianę buforów można przeprowadzić w urządzeniu Amicon® Ultra-4 poprzez zatężenie próbki, a następnie odtworzenie koncentratu do pierwotnej objętości próbki dowolnym rozpuszczalnikiem. Proces „płukania” można powtarzać do uzyskania zadowalającego obniżenia stężenia substancji zanieczyszczającej. Patrz przykład poniżej.

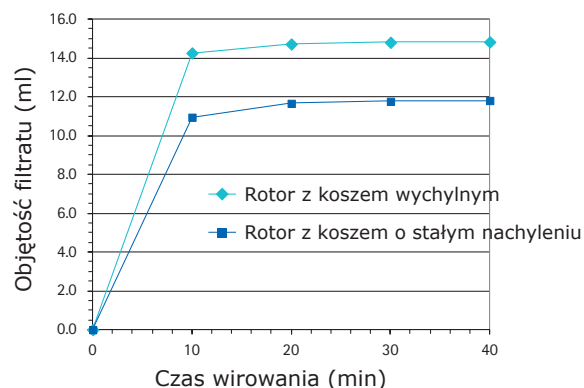


Wydajność

Natężenie przepływu

Czynniki wpływające na natężenie przepływu obejmują: stężenie próbki, objętość początkową, właściwości chemiczne substancji rozpuszczonej, względną siłę wirowania, kąt względem rotora, rodzaj membrany i temperaturę. Rysunek 1 i Tabela 1 mogą służyć do oszacowania czasu wymaganego do uzyskania danej objętości filtratu lub koncentratu. Typowy czas wirowania próbki o objętości 4 ml wynosi mniej więcej 10–20 minut. Pożądane zateżenie próbki najczęściej uzyskuje się po 10–15 minutach wirowania. Jednak w przypadku koncentratów o niewielkich objętościach (30–75 μ l) konieczne jest wirowanie przez 15–20 minut.

Rysunek 1. Typowa objętość filtratu w por. z czasem wirowania



Warunki wirowania: Rotor z koszem wychylnym, 4000 $\times$ g lub rotor z koszem o stałym nachyleniu, 7500 $\times$ g, temperatura pokojowa, objętość początkowa 4 ml.
Użyty marker białkowy: Cytochrom c, n = 6.

Tabela 1. Typowa objętość koncentratu w por. z czasem wirowania

Czas wirowania (min)	Objętość koncentratu (μ l)	
	Rotor z koszem wychylnym 4000 $\times$ g	Rotor z koszem o stałym nachyleniu 35° 7500 $\times$ g
10	176	97
15	76	54
20	58	35

Warunki wirowania: Temperatura pokojowa, objętość początkowa 4 ml.

Użyty marker białkowy: Cytochrom c, n = 6 (wartość średnia z 3 partii urządzeń).

Wartości objętości w zacienionych polach wykorzystano do obliczenia odzysku białek w tabeli 3.

Retencja białek i odzysk koncentratu

Membrany stosowane w urządzeniach Amicon® Ultra charakteryzują się wartością graniczną masy cząsteczkowej (MWCO); oznacza to, że mają one zdolność do zatrzymywania cząsteczek powyżej określonej masy cząsteczkowej. Substancje rozpuszczone o masach cząsteczkowych zbliżonych do MWCO mogą być zatrzymywane jedynie częściowo. Retencja na membranie zależy od wielkości i kształtu cząsteczki substancji rozpuszczonej. W przypadku większości zastosowań masa cząsteczkowa jest wygodnym parametrem służącym do oceny charakterystyki retencji. W celu uzyskania najlepszych wyników należy stosować membrany o wartości MWCO co najmniej dwukrotnie mniejszej niż masa cząsteczkowa substancji białkowej w roztworze przeznaczonym do zateżenia. Patrz Tabela 2.

Tabela 2. Typowe wartości retencji markerów białkowych

Marker/stężenie	Masa cząsteczkowa	Wartość MWCO ultrafiltra	Retencja (%) – rotor z koszem wychylnym	Retencja (%) – rotor z koszem o stałym nachyleniu	Czas wirowania (min)
α -chymotrypsynogen (1 mg/ml)	25 000	10 K	> 95	> 95	15
Cytochrom c (0,25 mg/ml)	12 400		> 95	> 95	15
Witamina B12 (0,2 mg/ml)	1350		< 15	< 15	15

Warunki wirowania: Rotor z koszem wychylnym 4000 $\times$ g lub rotor z koszem o stałym wychyleniu 35° 7500 $\times$ g, objętość początkowa 4 ml, temperatura pokojowa, n = 6 (wartość średnia z 3 partii urządzeń).

Czynniki wpływające na odzysk próbki obejmują: rodzaj rozpuszczonej substancji białkowej i wartość MWCO wybranego filtra, stężenie początkowe oraz współczynnik zateżenia. Tabela 3 przedstawia typowe wartości odzysku dla urządzenia Amicon® Ultra-4 10K.

Tabela 3. Typowe wartości odzysku dla koncentratów

Marker/stężenie	Wartość MWCO ultrafiltra	Czas wirowania (min)	Objętość koncentratu (μ l)		Współczynnik zateżenia (x)		Odzysk koncentratu (%)	
			Rotor z koszem wychylnym	Stały kąt	Rotor z koszem wychylnym	Stały kąt	Rotor z koszem wychylnym	Stały kąt
Cytochrom c (0,25 mg/ml)	10 K	15	76	54	52,3	76,6	97,3	98,5

Warunki wirowania: Rotor z koszem wychylnym 4000 $\times$ g lub rotor z koszem o stałym wychyleniu 35° 7500 $\times$ g, objętość początkowa 4 ml, temperatura pokojowa, n = 6 (wartość średnia z 3 partii urządzeń). Wartości objętości w zacienionych polach skopiowano z Tabeli 1.

Maksymalizacja odzysku próbki

Niewielkie wartości odzysku z koncentratu mogą wskazywać na utratę substancji rozpuszczonej wskutek adsorpcji, nadmiernego zateżenia lub podczas przechodzenia substancji przez membranę.

- Straty wskutek adsorpcji zależą od stężenia i właściwości hydrofobowych substancji rozpuszczonej, temperatury, czasu kontaktu substancji z filtrem, składu oraz odczynu pH. Aby zminimalizować straty substancji, zateżoną próbkę należy pobrać bezpośrednio po zakończeniu wirowania.
- W przypadku roztworów o wysokim stężeniu początkowym należy obserwować stan próbki podczas wirowania, aby nie dopuścić do nadmiernego zateżenia roztworu. Nadmierne zateżenie może skutkować wytrącaniem substancji i utratą przydatności diagnostycznej próbki.
- Jeśli wydaje się, że próbka przechodzi przez membranę, należy wybrać urządzenie Amicon® Ultra-4 o niższym MWCO.

Metoda oznaczania odzysku

Poniżej przedstawiono metodę obliczania odzysku całkowitego, odsetkowego odzysku koncentratu oraz odsetkowego odzysku ultrafiltratu. Podana metoda pozwala na precyzyjne przybliżenie wartości odzysku dla roztworów o stężeniach mniej więcej 20 mg/ml.

UWAGA: Odpowiednie techniki testowe obejmują spektrofotometrię absorpcyjną, test radioimmunologiczny, współczynnik załamania i przewodnictwo.

Ważenie

Gęstość większości badanych roztworów białek jest zbliżona do gęstości wody (1 g/ml), a zatem objętości stężonego roztworu i ultrafiltratu można szacować ilościowo na podstawie pomiaru masy po przekształceniu jednostek z gramów na mililitry. Metoda ma zastosowanie wyłącznie dla roztworów o stężeniach nieprzekraczających mniej więcej 20 mg/ml.

- Przed użyciem należy zważyć oddzielnie pusty ultrafiltr, próbkę reakcyjną oraz pustą próbkę na koncentrat.
- Napełnić ultrafiltr roztworem i ponownie zważyć.
- Zmontować i odwirować ultrafiltr zgodnie z instrukcjami.
- Pobrać koncentrat pipetą i przenieść do uprzednio zważonej próbki na koncentrat.
- Wyjąć ultrafiltr z próbki reakcyjnej i zważyć próbkę reakcyjną oraz próbkę na koncentrat.
- Aby obliczyć masę materiału początkowego, ultrafiltratu i koncentratu, należy odjąć masę pustego ultrafiltra/probówek.
- Określić stężenie badanej substancji na podstawie oznaczeń stężeń materiału wyjściowego, ultrafiltratu oraz koncentratu.
- Obliczyć wartości odzysku na podstawie parametrów masy i objętości oraz zmierzonych stężeń:

$$\% \text{ odzysku koncentratu} = 100 \times \frac{W_c \times C_c}{W_o \times C_o}$$

$$\% \text{ odzysku filtratu} = 100 \times \frac{W_f \times C_f}{W_o \times C_o}$$

$$\text{odzysk całkowity (\%)} = \text{odzysk koncentratu (\%)} + \text{odzysk filtratu (\%)}$$

W_c = całkowita masa koncentratu przed oznaczeniem
 W_o = masa oryginalnego materiału wyjściowego
 W_f = masa filtratu

C_c = stężenie koncentratu
 C_o = stężenie oryginalnego materiału wyjściowego
 C_f = stężenie filtratu

Charakterystyka techniczna

Maksymalna początkowa objętość próbki

Rotory z koszem wychylnym lub o stałym nachyleniu (45° i 35°)	4,0 ml
Rotor z koszem o stałym nachyleniu (23°)	3,5 ml

Typowa objętość końcowa koncentratu 50–100 µl

Maksymalna względna siła wirowania

Rotor z koszem wychylnym	4000 × g
Rotor z koszem o stałym nachyleniu	7500 × g

Obszar aktywny membrany 3 cm²

Wymiary

Ultrafiltr w próbce zamkniętej korkiem	
Długość: 124 mm	Średnica: 17,3 mm
Ultrafiltr	
Długość: 73,4 mm	Średnica: 17,2 mm

Materiały zastosowane w konstrukcji

Ultrafiltr	Kopolimer styren/butadien
Membrana	Słabo wiążąca celuloza regenerowana Ultracel®
Probówka na ultrafiltrat	Polipropylen
Korek i warstwa aktywna próbki na ultrafiltrat	Polietylen
Filtr	MWCO 10K

Kompatybilność chemiczna

Urządzenia wirówkowe Amicon® Ultra są przeznaczone do stosowania z płynami biologicznymi i roztworami wodnymi. Przed użyciem należy sprawdzić kompatybilność chemiczną próbki z urządzeniem. Szczegółowe informacje można znaleźć na stronie SigmaAldrich.com/FilterChemicalCompatibility.

Definicje symboli

Symbol	Definicja	Symbol	Definicja
	Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro		Data produkcji
	Numer katalogowy		Producent
	Nie używać ponownie		Urządzenie niejałowe
	Data ważności		Oznakowanie zgodności WE
	Kod serii		Limit temperatury
	Instrukcja używania dostępna online		Nie używać, jeśli opakowanie jest uszkodzone
	Pobierz dokumentację produktu online		Znak zgodności Zjednoczonego Królestwa

Zamawianie produktów

Kupuj produkty online na stronie SigmaAldrich.com.

Opis	Ilość/op.	Numer katalogowy
Amicon® Ultra-4	8	UFC801008D
	24	UFC801024D
	96	UFC801096D

Uwaga

Przekazujemy naszym klientom informacje i porady dotyczące zastosowań technologicznych i kwestii regulacyjnych zgodnie z naszą aktualną wiedzą i możliwościami, jednak bez zobowiązań i odpowiedzialności. Nasi klienci powinni zawsze stosować się do obowiązujących przepisów i regulacji prawnych. Dotyczy to również wszelkich praw stron trzecich. Nasze informacje i porady nie zwalniają naszych klientów z odpowiedzialności za sprawdzenie przydatności naszych produktów do określonych celów.

Odbiór i utylizacja

Wszystkie próbki muszą być wyraźnie oznaczone. Do pobierania i przygotowania próbek należy użyć odpowiednich instrumentów.

UWAGA: Należy przestrzegać środków ostrożności dotyczących usuwania elementów skażonych z materiałami potencjalnie zakaźnymi lub stanowiącymi zagrożenie biologiczne zgodnie ze wszystkimi obowiązującymi przepisami międzynarodowymi, federalnymi, stanowymi i lokalnymi.

Wsparcie techniczne

Zapraszamy na stronę serwisu technicznego w naszej witrynie internetowej pod adresem SigmaAldrich.com/techservice.

Każdy poważny incydent dotyczący tego urządzenia powinien zostać zgłoszony producentowi i właściwemu organowi kraju, w którym użytkownik ma siedzibę.

Standardowa gwarancja

Gwarancja dla produktów wskazanych w niniejszej publikacji znajduje się pod adresem SigmaAldrich.com/terms.

Historia zmian

- | | |
|---------------------|---|
| październik 2021 r. | <ul style="list-style-type: none">• IFU PR05779 Data wydania październik 2021 r. – zastąpiono wersją PR05139.• Dodano symbole IFU, uszkodzenia opakowania i limitu temperatury.• Punkty „Kompatybilność chemiczna” oraz „Zamawianie produktów” zostały powiązane ze stroną internetową.• Dodano informacje dotyczące usuwania i reklamacji.• Dodano informacje dotyczące osoby odpowiedzialnej w Wielkiej Brytanii i symbolu UKCA |
|---------------------|---|

はじめに

Amicon®ウルトラ-4 10K遠心式フィルターデバイスは、高い濃縮係数が得られ、希釈液および複雑なサンプルマトリックスからの濃縮液回収が容易にできる性能を持ち、迅速な限外ろ過を実現します。垂直なデザインと最大利用可能なメンブレン表面積は、速いサンプル処理、高いサンプル回収率（希薄な初期溶液から通常90%以上）および80倍の濃縮能力を提供します。標準的な処理時間は10～20分です。溶質分極および後続するメンブレンのファウリングは、垂直なデザインなので最低になります。フィルターデバイスには物理的な停止機能があるので、スピンの乾燥およびサンプル損失の可能性を防ぎます。限外ろ過液が、提供された遠心分離試験管に収集されていくのと同時に、濃縮液はピペットを使用してフィルターデバイスサンプル容器から回収できます。デバイスは、(最適な性能が得られる)スイングバケット式か、または固定角ローター式で遠心できます。Amicon® ウルトラ-4 10Kデバイスは、非滅菌で提供されており、1回のみ使用可能です。

用途

Amicon® Ultra-4遠心式フィルターデバイスは、1～4 mLの容量の生物学的溶液をインビトロ診断用に処理する、使い捨てのシングルユース限外ろ過フィルターデバイスです。これらのデバイスは、血清、尿、脳脊髄液、およびその他の生体液をインビトロ診断分析前に濃縮することを目的としています。この製品はシングルユースで、ラボの専門職員による使用を意図しています。

アプリケーション

- 抗原、抗体、酵素、核酸(単鎖または二本鎖のDNA/RNAサンプル)、微生物、コラム溶出液、および精製サンプルを含んだ生物サンプルの濃縮
- 組織培養抽出で検出されたり細胞溶解物における高分子成分の精製、反応混合物におけるプライマやリンカー鎖や分子ラベルの除去、およびHPLC前のタンパク質除去
- 脱塩、バッファー交換、または透析ろ過

供給品

Amicon®ウルトラ-4 10Kデバイスは、キャップ、フィルターデバイスおよび遠心試験管で構成されています。

必要な機器

- 17 mm x 124 mmの15 mL 円錐底試験管を格納できるウェル/キャリアを使って、スイングバケット式(推奨)、または固定角式ローターで遠心にかけます。

注意:遠心分離中の機器破損を防ぐため、回転前にすき間をチェックしてください。

- 濃縮液回収のため、200マイクロリットル(μL)先端があるピペット

適合性

使用目的に適合しているかを確実にするため、事前の回収および保持の試験することを推奨します。「回収率を定量化する方法」のセクションを参照ください。

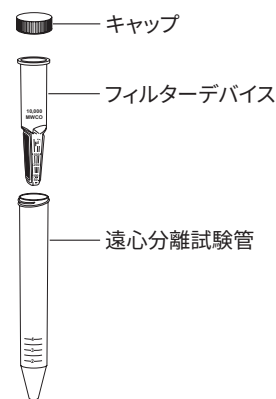
保管および安定性

保管条件と有効期限については、製品ラベルをご覧ください。

予洗

Amicon® ウルトラ-15 10Kデバイスの限外ろ過メンブレンは、微量のグリセリンを含んでいます。この物質が分析を妨げる場合は、バッファーまたはMilli-Q® 水でデバイスを予洗してください。影響が続く場合は、0.1 N NaOHでリンスし、さらにバッファーまたはMilli-Q® 水で遠心回転をしてください。

注意:Amicon® ウルトラフィルターデバイスのフィルターは、一度濡らしたら乾燥させないでください。予洗の直後にデバイスを使わない場合は、デバイスを使用するまでメンブレン上に液体を放置しておいてください。



Amicon® ウルトラ-4遠心式フィルターデバイスの使用法

1. 4 mL(23°固定角ローター式を使用の場合は3.5 mL)以下のサンプルをAmicon®ウルトラ-4フィルターデバイスに加えます。
2. キャップを付けたフィルターデバイスを遠心ローターに取り付けます(スイングバケット式を推奨)。同類のデバイスでバランスをとります。使用前に遠心分離のすき間を確認してください。
3. **スイングバケットローターを使用する場合**、最大4,000 × gで約10-20分間回転させてください。
4. 固定角ローターを使用する場合、メンブレンパネルが上を向くようデバイスを取り付け、最大7,500 × gで約10-20分間回転させてください。

注:標準的な遠心時間は、図1および表1を参照してください。

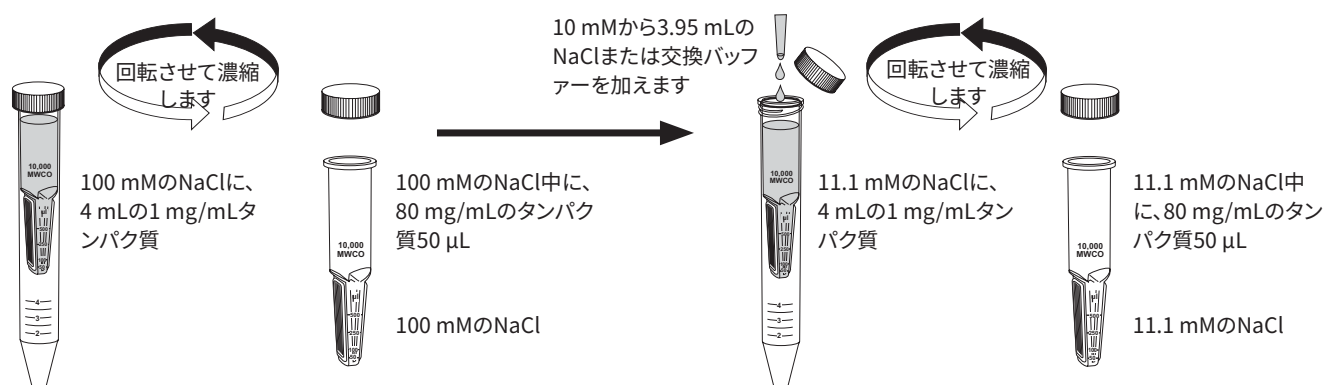
5. 濃縮溶質を回収するためには、フィルターデバイスの底部にピペットを挿入し、左右方向に動かしながら全部を吸い取るようにし、完全な回収を行ってください。限外ろ過液は、遠心分離試験管に保存できます。

注:最適な回収のため、遠心分離の終了後はただちに濃縮サンプルを取り出してください。

注:濡らしたフィルターがその後乾燥してしまうと、フィルターが正しく機能しない恐れがあります。

脱塩または透析ろ過

脱塩、バッファ交換、または透析ろ過は、生体分子を含む溶液において塩または溶媒を除去する重要な方法です。Amicon® ウルトラ-4デバイスを使った場合、塩の除去およびバッファ交換は、サンプルを濃縮し次に濃縮液を希望の溶剤で元のサンプル量までもどすことで実行できます。「ウォッシュアウト」のプロセスは、濃縮の汚染低分子溶質が十分に低減されるまで繰り返すことができます。以下の例を参照してください。

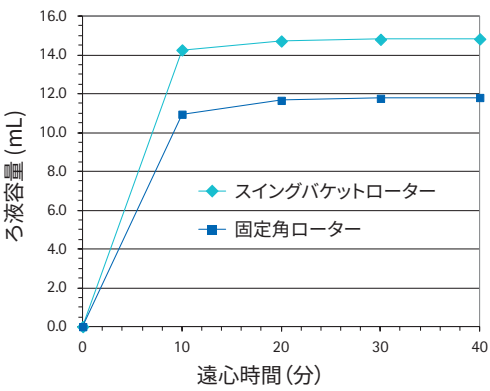


性能

流速

流量に影響する要素としては、サンプル濃度、開始容量、溶質の化学的性質、相対遠心力、遠心機ロータ角度、メンブレンのタイプ、および温度です。図1と表1からさまざまな量の濾液または濃縮液を得るために必要な時間を推計できます。4 mLのサンプルでの標準的な遠心時間は、約10分から20分です。多くのサンプルでは最初の遠心から10分から15分でろ過されますが、最も低い濃縮液容量 (30-75 μ L)に達するのは遠心開始から15分から20分後です。

図 1 一般的な濃縮量対遠心時間



遠心条件:スイングバケット式ローター使用の場合は遠心力4,000 $\times$ g、固定角ローター使用の場合は遠心力7,500 $\times$ g、室温、開始量4 mL。
タンパク質マーカー:シトクロムc、n=6。

表1. 一般的な濃縮量対遠心時間

遠心時間(分)	濃縮容量(μ L)	
	スイングバケットローター式 4,000 $\times$ g	35°固定角ローター 7,500 $\times$ g
10	176	97
15	76	54
20	58	35

遠心条件:室温、開始量4 mL。
タンパク質マーカー:シトクロムc、n=6 (デバイスロット3つの平均値)。
灰色の容量は表3でのタンパク質回収の計算に使用。

タンパク質保持と濃縮液回収率

Amicon® ウルトラデバイスに使用のメンブレンは、分子量カットオフ(MWCO)があることにより特徴付けられています。すなわち、特定された分子量より大きな分子を保持する能力がありま

す。MWCO近傍の分子量を持つ溶質は部分的にしか保持されません。メンブレンの保持能力は、溶質の分子サイズと形状に依存します。多くのアプリケーションにおいて、分子量が保持特性の評価に使える便利なパラメータとなります。濃縮予定のタンパク質溶質の分子量よりも少なくとも半分以下のMWCOのメンブレンの使用を推奨します。表2を参照してください。

表2. タンパク質マーカーの標準保持率

マーカー/濃度	分子量	デバイスMWCO	% 保持	スイングバケッ ト式	% 保持	固定角	遠心時間(分)
アルファキモトリブシノーゲン(1 mg/mL)	25,000	10K	>95		>95		15
シトクロムc(0.25 mg/mL)	12,400		>95		>95		15
ビタミンB-12 (0.2 mg/mL)	1,350		<15		<15		15

遠心条件:スイングバケットローター式の場合:遠心力4,000 $\times$ g、または35°の固定角ローター式の場合:遠心力7,500 $\times$ g、開始量4 mL、室温、n=6 (デバイスロット3つの平均値)。

サンプルの回収率を決定する要素は、タンパク質溶質の特性に対して選択されたデバイスのMWCO、開始時の濃度、濃縮係数などがあります。表3は、Amicon®ウルトラ-4 10Kデバイスの回収率の標準値を記載しています。

表3. 標準的な濃縮液回収率

マーカー/濃度	デバイス MWCO	遠心時間(分)	濃縮容量(μ L)		濃縮係数(x)		濃縮液回収率(%)	
			スイングバケ ット	固定角	スイングバケ ット	固定角	スイングバケ ット	固定角
シトクロムc(0.25 mg/mL)	10K	15	76	54	52.3	76.6	97.3	98.5

遠心条件:スイングバケットローター式の場合:遠心力4,000 $\times$ g、または35°の固定角ローター式の場合:遠心力7,500 $\times$ g、開始量4 mL、室温、n=6 (デバイスロット3つの平均値)。灰色部分の容量は表1から読み取り。

サンプル回収の最大化

濃縮における低いサンプル回収率の原因としては、吸着による損失、過剰濃縮、またはサンプルがメンブレンを透過した可能性があります。

- 吸着損失の原因は、溶質濃度、疎水性、温度、およびフィルターデバイス表面との接触時間、サンプル組成およびpHです。損失を最小に抑えるため、遠心分離の終了後はただちに濃縮サンプルを取り出してください。
- 開始サンプルの濃度が高い場合、過濃縮を避けるために遠心プロセスを良くモニターしてください。過濃縮では、沈殿およびサンプル損失の可能性がでます。
- サンプルがメンブレンを通過しているように見える場合、より低いMWCOのAmicon® ウルトラ-4デバイスを選択してください。

回収率の定量化方法

以下の方法を使用し、合計回収率、濃縮回収率、およびろ過回収率を計算してください。この手順を踏むと、濃縮度が最大約20 mg/mL以下の溶質での回収率の近似値がわかります。

注:適切なアッセイ法としては、吸光度分析、放射性免疫測定、屈折率、および伝導率などがあります。

直接重量測定手順

殆どのタンパク質の密度は、水の密度(すなわち1 g/mL)にほぼ等しいものです。この性質を利用し、濃縮液およびろ過液容量の重さを計り、単位をグラムからミリリットルへ変換して定量化できます。この手法は、約20 mg/mL以下の濃度をもつ溶液に限り有効です。

- 使用前に、空のフィルターデバイス、遠心分離試験管、濃縮液回収用の空試験管の重さを個別に計ります。
- フィルターデバイスを溶液で満たし、再度重さを計ってください。
- 取扱い指示に従い、デバイスと遠心分離機を組み立ててください。
- ピペッターを使用して濃縮液を集め、前もって計量した濃縮液回収チューブに注入してください。
- デバイスを遠心分離試験管から取り外し、遠心分離試験管と濃縮液回収チューブの重さを計ります。
- 空デバイス/試験管の重さを引き、出発物質、ろ過液、および濃縮液の重さを計算します。
- 開始物質、ろ液および濃縮液をアッセイして溶液の濃度を決定します。
- 重量/容量データおよび測定した濃度を使って、次のように回収率を計算します:

$$\begin{aligned} \% \text{ 濃縮液の回収率} &= 100 \times \frac{W_c \times C_c}{W_o \times C_o} & W_c &= \text{アッセイ前の濃縮液の総重量} \\ & & W_o &= \text{元の開始物質の重量} \\ & & W_f &= \text{ろ液の重量} \\ \% \text{ ろ液の回収率} &= 100 \times \frac{W_f \times C_f}{W_o \times C_o} & C_c &= \text{濃縮液の濃度} \\ & & C_o &= \text{元の開始素材の濃度} \\ & & C_f &= \text{ろ液の濃度} \\ \% \text{ 総回収率} &= \% \text{ 濃縮液の回収率} + \% \text{ ろ液の回収率} \end{aligned}$$

仕様

最大開始サンプル容量

スイングバケットおよび固定角ローター(45° および 35°)	4.0 mL
固定角ローター(23°)	3.5 mL

標準的な最終濃縮液容量	50-100 µL
-------------	-----------

最大相対遠心力

スイングバケットローター	4,000 × g
固定角ローター	7,500 × g

活性メンブレン面積	3 cm ²
-----------	-------------------

寸法

試験管にあるフィルターデバイス (キャップ付き)	
長さ: 124 mm	直径: 17.3 mm
フィルターデバイス	
長さ: 73.4 mm	直径: 17.2 mm

構成部材

フィルターデバイス	コポリマスチレン/ブタジエン
メンブレン	Ultracel® 低結合性の再生セルロース
ろ液チューブ	ポリプロピレン
ろ液キャップとライニング材	ポリエチレン
フィルター	MWCO 10K

化学適合性

Amicon® ウルトラ遠心式デバイスは、生体液および水溶液用に設計されています。使用前に、デバイスとサンプルの化学適合性を調べてください。連絡先はSigmaAldrich.com/officesをご覧ください。

記号の意味

記号	定義	記号	定義
	インビトロ診断用医療機器		製造日
	カタログ番号		製造会社
	再使用不可		非滅菌製品
	使用期限		CE適合マーク
	バッチコード		温度限界
	使用方法はオンラインでご覧になれます。		パッケージが破損している場合は使用しないでください。
	製品ドキュメントのダウンロード:		英国適合マーク

製品注文情報

言いご購入はオンラインで SigmaAldrich.com。

内容	包装単位	カタログ番号
Amicon® Ultra-4	8	UFC801008D
	24	UFC801024D
	96	UFC801096D

注意事項

お客様に提供される技術情報および法規情報の内容につきましては可能な限り最善を尽くしておりますが、何らの義務または責任を負うものではありません。お客様は法律と規制を遵守してください。これは第三者の権利に関しても同様です。当社提供の情報と助言は、当社製品の想定使用目的に対する適切性をお客様自身が確認する責任を解くものではありません。

回収と廃棄方法

サンプルは明瞭にラベル付けされているようにしてください。サンプルの取得と調整には適切な装置を使用してください。

注: 感染の恐れのある、または危険な生体物質は、該当する国際、国、地方自治体の規制に従って回収、廃棄してください。

技術サポート

弊社ウェブサイトの技術サービスのページはこちらです SigmaAldrich.com/techservice

この機器に関する重大な事故はすべて、製造者と、ユーザーの所在国の該当局に報告してください。

標準保証

本文書記載の製品に適用される保証については、SigmaAldrich.com/termsをご覧ください。

改訂履歴

2021年10月	- IFU PR05779 発行日2021年10月 - PR05139に置き換わる。 - IFU、パッケージング損傷、温度限度の記号を追加。 - 化学適合性と注文方法をウェブサイトにリンク。 - 廃棄方法、苦情情報を追加。 - 英国担当者とUKCA記号情報を追加
----------	---

引言

Amicon® Ultra-4 10K 离心过滤器具有快速超滤功能, 能够达到较高的浓缩系数, 易于从稀释液和复杂的样品组合进行浓缩液回收。其竖式设计以及可用的滤膜表面积能提供快速的样品处理和较高的样品回收率(通常大于 90% 稀释初始溶液), 并能进行 80 倍浓缩。典型的处理时间为 10 至 20 分钟。竖式设计极大地降低了溶质极化以及之后造成的滤膜结垢, 过滤装置中的物理止动点防止过滤器旋转过度使样品干燥和造成样品损失。浓缩液用移液管从过滤器的样品槽中收集, 而超滤滤出液则收集到所提供的离心管中。该装置可在摆桶(可提供最佳性能)或定角转子中旋转。Amicon® Ultra-4 10K 装置不是无菌设备, 只供一次使用。

预期用途

Amicon® Ultra-4 离心过滤装置是一次性、单次使用的超滤装置, 用于体外诊断, 处理 1-4 mL 体积范围内的生物溶液。它们用来在体外诊断分析之前浓缩生物样品, 例如血清、尿液、脑脊液和其他体液。是供实验室专业人员使用的一次性设备。

应用

- 浓缩含有抗原、抗体、酶、核酸(单株或双株 DNA/RNA 样品)、微生物、柱洗出液和纯化样品的生物样品
- 纯化组织培养基提取液和细胞裂解液中的大分子成分, 从反应混合液中去除引物、连接或分子标记, 在 HPLC 之前去除蛋白质
- 除盐、更换缓冲液、渗滤

所提供的材料

Amicon® Ultra-4 10K 装置包括一个盖子、一个过滤器和一个离心管。

所需设备

- 带有摆桶(首选)或定角式转子的离心机, 以及可以容纳 17 mm × 124 mm 15 mL 锥底试管的样品孔/试管座
- 注意: 为了避免在离心过程中损坏装置, 在旋转前请检查间隙。
- 带有 200 微升 (μL) 尖端的移液管, 用于浓缩液回收

适用性

为确保对预定用途的适用性, 建议进行初步的回收和截留试验。请参见“如何量化回收”部分。

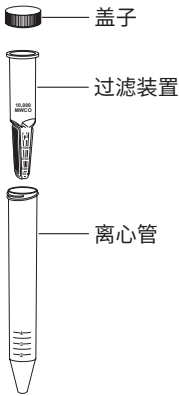
储存和稳定性

有关储存条件和保质期, 请参见产品标签。

使用前的冲洗

Amicon® Ultra-4 10K 装置的超滤膜含有微量甘油。如果此材料干扰分析, 可在使用之前用缓冲液或 Milli-Q® 水冲洗。如果干扰仍然存在, 则先用 0.1 N NaOH 冲洗, 然后再用缓冲液或 Milli-Q® 水转一次。

注意: Amicon® Ultra 过滤装置中的滤膜一旦润湿后应避免干燥。若在冲洗后没有立即使用该装置, 则让液体保留在滤膜上, 直到使用该装置为止。



如何使用 Amicon® Ultra-4 离心过滤装置

1. 向 Amicon® Ultra 过滤装置加入不超过 4 mL 的样品 (如果使用 23°定角转子, 则为 3.5 mL)。
2. 将盖好盖子的过滤装置放入离心转子 (最好为摆桶) 中, 用一个类似的装置相互平衡。使用前检查离心机间隙。
3. 当使用摆桶转子时, 以最大 $4,000 \times g$ 旋转约 10-20 分钟。
4. 当使用定角转子时, 装置的方向要使滤膜面板朝上, 以最大 $7,500 \times g$ 旋转约 10-20 分钟。

说明:关于常用旋转时间, 请参见图 1 和表 1。

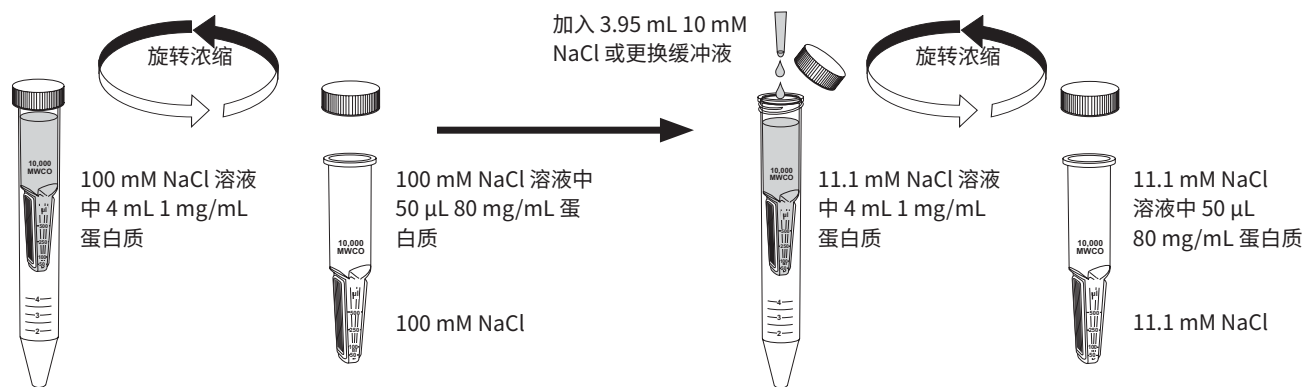
5. 如要回收浓缩后的溶质, 在过滤装置底部插入一个移液管, 然后左右摇摆着吸取样品, 以确保完全回收。
超滤液可以保存在离心管中。

说明:要想达到理想回收, 离心后请立即取走浓缩后的样品。

说明:如果在润湿后干燥, 过滤器可能无法正常工作。

除盐或渗滤

除盐、更换缓冲液或渗滤是去除含有生物分子的溶液中的盐分或溶剂的重要方法。可以在 Amicon® Ultra-4 装置中, 通过浓缩样品、然后向浓缩液加入任何所需溶剂复原至样品原始体积的方式, 去除盐分或更换缓冲液。可重复“洗出”过程, 直至污染微溶质的浓度充分降低为止。请参见下文举例。

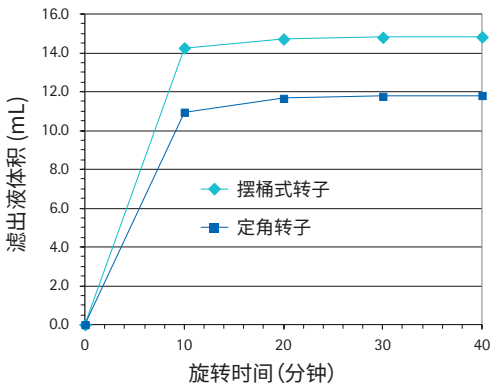


性能

流速

影响流速的因素包括样品的浓度、起始体积、溶质的化学性质、相对离心力、离心转子的角度、滤膜类型以及温度。图 1 和表 1 可用来估计达到给定的滤出液体积或浓度所需的时间。4 mL 样品旋转时间一般约需 10 至 20 分钟。尽管大部分样品在离心过程的前 10 至 15 分钟被过滤，但一般在旋转 15 至 20 分钟之后才能达到最低浓缩液体积 (30–75 μL)。

图 1. 典型滤出液体积与旋转时间



旋转条件: 摆桶转子, $4,000 \times g$, 或定角转子, $7,500 \times g$, 室温, 4 mL 起始体积。
使用的蛋白质标记物: 细胞色素 c, $n=6$ 。

表 1. 典型浓缩液体积与旋转时间

旋转时间 (分钟)	浓缩液体积 (μL)	
	摆桶式转子 $4,000 \times g$	定角转子 $7,500 \times g$
10	176	97
15	76	54
20	58	35

旋转条件: 室温, 4 mL 起始体积。
使用的蛋白质标记物: 细胞色素 c, $n=6$ (3 个装置批次的平均值)。
灰色的体积是用来计算表 3 中蛋白质回收量的。

蛋白质截留率和浓缩液回收率

Amicon® Ultra 装置所用滤膜的特征由截留分子量 (MWCO) 描述, 即它们截留超过一定分子量的分子的能力。分子量接近 MWCO 的溶质可能只有部分被截留。滤膜的截留率取决于溶质的分子大小和形状。在大多数应用中, 分子量是用来评估截留特性的一个方便的参数。为了获得最佳结果, 请使用 MWCO 至少比要浓缩的蛋白质溶质分子量小两倍的滤膜。请参见表 2。

表 2. 蛋白质标记物的典型截留率

标记物 / 浓度	分子量	装置 MWCO	截留率 % 摆桶	截留率 % 定角	旋转时间 (分钟)
α -胰凝乳蛋白酶原 (1 mg/mL)	25,000	10K	>95	>95	15
细胞色素 c (0.25 mg/mL)	12,400		>95	>95	15
维生素 B-12 (0.2 mg/mL)	1,350		<15	<15	15

旋转条件: 摆桶转子, $4,000 \times g$, 或 35° 定角转子, $7,500 \times g$, 4 mL 起始体积, 室温, $n=6$ (3 个装置批次的平均值)。

决定样品回收率的因素包括相对于所选装置的 MWCO 的蛋白质溶质的性质、起始浓度和浓缩系数。表 3 提供了 Amicon® Ultra-4 10K 装置的典型回收率。

表 3. 典型的浓缩回收率

标记物 / 浓度	装置 MWCO	旋转时间 (分钟)	浓缩液体积 (μL)		浓缩系数 (x)		浓缩液回收率 (%)	
			摆桶式	定角	摆桶式	定角	摆桶式	定角
细胞色素 c (0.25 mg/mL)	10K	15	76	54	52.3	76.6	97.3	98.5

旋转条件: 摆桶转子, $4,000 \times g$, 或 35° 定角转子, $7,500 \times g$, 4 mL 起始体积, 室温, $n=6$ (3 个装置批次的平均值)。灰色体积取自表 1。

最大化样品回收率

浓缩液中的样品回收率低可能由于吸附损失、过度浓缩、或者样品穿过滤膜造成。

- 吸附损失取决于溶质浓度、其疏水性、温度和与过滤装置表面接触的时间、样品组成及 pH 值。为了尽量减少损失，离心旋转后请立即取走浓缩后的样品。
- 如果样品起始浓度高，请监视离心过程，以免使样品过度浓缩。过度浓缩可导致沉淀和样品损失。
- 如果样品看起来透过了滤膜，则选用较低 MWCO 的 Amicon® Ultra-4 装置。

如何量化回收

使用以下方法计算总回收量、浓缩液回收率 % 及滤出液回收率 %。本程序可算出浓度最高约 20 mg/mL 的溶液的回收量近似值。

说明:适当的测试技术包括吸收分光光度法、放射免疫测定法、折光率及传导性。

直接称重程序

大多数稀释蛋白的密度与水的密度大致相同 (即 1 g/mL)。利用这一特性,可通过称取浓缩液与滤过液重量并将其单位从克转化成毫升的方法,对其进行量化。本方法仅适用于浓度不超过或约为 20 mg/mL 的溶液。

- 使用之前,分别称取空的过滤装置、离心管和空的浓缩液收集管的重量。
- 在过滤装置中加入溶液,然后重新称重。
- 按照说明组装装置和离心机。
- 用移液管收集浓缩液,然后将其注入到已预先称重的浓缩液收集管。
- 从离心管上取下装置,然后称取离心管和浓缩液收集管的重量。
- 减去空的装置/试管的重量,计算初始材料、滤过液及浓缩液的重量。
- 测试初始材料、滤出液及浓缩液,以确定溶质浓度。
- 使用重量/体积数据及所测出的浓度来计算回收量,方法如下:

$$\text{浓缩液回收率 \%} = 100 \times \frac{W_c \times C_c}{W_o \times C_o}$$
$$\text{滤出液回收率 \%} = 100 \times \frac{W_f \times C_f}{W_o \times C_o}$$
$$\text{总回收率 \%} = \text{浓缩液回收率 \%} + \text{滤出液回收率 \%}$$

$W_c = \text{测定前浓缩液总重量}$ $W_o = \text{原起始材料重量}$ $W_f = \text{滤出液重量}$

$C_c = \text{浓缩液浓度}$ $C_o = \text{原起始材料浓度}$ $C_f = \text{滤出液浓度}$

规格

最大初始样品体积

摆桶和定角转子 (45°和 35°)	4.0 mL
定角转子 (23°)	3.5 mL

典型的最终浓缩液体积	50–100 µL
------------	-----------

最大相对离心力

摆桶式转子	4,000 × g
定角转子	7,500 × g

有效膜面积	3 cm ²
-------	-------------------

尺寸

试管中的过滤装置 (已盖上盖子)	
长度:124 mm	直径:17.3 mm
过滤装置	
长度:73.4 mm	直径:17.2 mm

制造材料

过滤装置	苯乙烯共聚物 / 丁二烯
滤膜	Ultracel® 低结合再生纤维素
滤出液管	聚丙烯
滤出液盖子和衬里	聚乙烯
过滤器	MWCO 10K

化学相容性

Amicon® Ultra 离心装置适用于生物液体及水溶液。使用前, 请检查样品与设备的化学相容性。
欲悉详情, 请访问 SigmaAldrich.com/FilterChemicalCompatibility。

符号定义

符号	定义	符号	定义
	体外诊断医疗设备		生产日期
	货号		制造商
	请勿重复使用		非无菌产品
	过期日		CE 合规标志
	批号		温度限制
	可在网上获取使用说明		如包装破损, 请勿使用
	可在网上下载产品文件		英国合规标志

产品订购信息

如需订购产品, 请前往 SigmaAldrich.com。

描述	数量 / 包装	货号
Amicon® Ultra-4	8	UFC801008D
	24	UFC801024D
	96	UFC801096D

声明

我们尽我们的所知与所能, 向客户提供关于应用技术与法规问题的信息和建议, 但恕不承担任何责任和义务。我们的客户在任何情况下都须遵守现行法律和法规。这也同样适用于任何第三方权利。我们的信息和咨询意见并不解除我们客户对于检查我们的产品是否符合其自身需求的责任。

收集和处置

所有样品都必须清楚地标记。必须使用合适的仪器来获取和制备样品。

说明: 根据所有适用的国际、联邦、州和地方法规, 遵守关于如何处置被潜在传染性或危害性生物材料污染之物品的预防措施。

技术支持

您可访问我们网站上的技术服务页面 SigmaAldrich.com/techservice。

本设备的任何严重事故均应报告给制造商和用户所在国家的主管机构。

标准保修

可在SigmaAldrich.com/terms上找到本出版物所列产品的现行保修条款。

版本的历史记录

2021-OCT	- IFU PR05779 发行日期: 2021 年 10 月 - 取代 PR05139。 - 添加了 IFU、包装破损和温度限制符号。 - 化学相容性和订购信息被链接到网站。 - 添加了处置和投诉信息。 - 添加了英国负责人和 UKCA 符号信息
----------	--

소개

Amicon® Ultra-4 10K 원심분리 여과 장치는 고농축을 그리고 희석물 및 복잡한 검체 기질로부터 농축액의 용이한 회수를 통한 신속한 한외여과를 제공합니다. 수직 디자인과 넓은 멤브레인 표면적에 의해 신속한 검체 처리, 높은 검체 회수율(일반적으로 희석 최초 용액의 90%를 초과) 및 80배에 달하는 농축율을 제공합니다. 통상적인 처리 시간은 10에서 20분입니다. 수직 디자인에 의해 용질 편극화와 이에 따른 막오염(fouling of the membrane)이 최소화되며, 필터 장치에 내장된 물리적 데드스탑(deadstop)에 의해 회전을 방지하여 검체 건조에 따른 잠재적 검체 소실을 예방합니다. 농축액은 필터 장치의 검체 용기로부터 피펫터(pipettor)를 사용하여 회수하는 반면, 한외여과액은 제공되는 원심분리 튜브에 회수됩니다. 본 장치는 날개 회전자(최적 성능) 또는 고정각 회전자를 사용하여 원심분리가 가능합니다. Amicon® Ultra-4 10K 장치는 비멸균 상태로 공급되는 일회용 장치입니다.

사용 용도

Amicon® Ultra-4 원심분리 필터 장치는 1~4 mL 부피 범위의 생물학적 용액을 처리하기 위한 1회용 체외 진단용 일회용 한외여과 필터 장치입니다. 이들 장치는 체외 진단 분석에 앞서 혈청, 소변, 뇌척수액 및 기타 체액과 같은 생물학적 검체를 농축하도록 사용할 수 있습니다. 장치는 일회용이며 실험실 전문가가 사용합니다.

애플리케이션

- 항원, 항체, 효소, 핵산(단일 또는 이중 가닥 DNA/RNA 검체), 미생물, 칼럼 용출액 및 정제 검체를 포함한 생물학적 검체의 농축
- 조직 배양 추출물 및 세포 용해물 내 거대분자 분획의 정제, 반응 혼합물로부터 프라이머, 링커 또는 분자 라벨의 제거 그리고 HPLC 수행 이전 단백질 제거
- 제염, 완충액 교환, 또는 정용여과

공급 재료

Amicon® Ultra-4 10K 장치는 캡, 필터 장치 및 원심분리 튜브와 함께 공급됩니다.

필요 장비

- 17 mm × 124 mm 15 mL 원추형 튜브를 장착할 수 있는 웰/캐리어를 가진 날개 회전자(권장) 또는 고정각 회전자를 사용하는 원심분리기

주의사항: 원심분리 중 장치 손상을 방지하기 위하여 회전시키기 전에 걸리는 것이 없는지 확인하십시오.

- 농축액 회수를 위한 피펫터와 200 마이크로리터(μL) 팁

적합성

회수 및 잔류 예비 연구 결과 의도된 용도에 적합성이 시사되었습니다. “회수율 정량화” 항목을 참고하십시오.

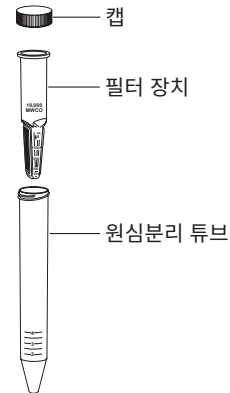
저장 및 안정성

저장 조건 및 유통기한을 위해 제품 라벨을 참조하십시오.

사용 전 세척

Amicon® Ultra-4 10K 장치의 한외여과 멤브레인은 미량의 글리세린을 포함합니다. 이러한 물질이 분석에 간섭을 주는 경우, 사용하기 전에 해당 장치를 완충액 또는 Milli-Q® 정제수로 세척하십시오. 간섭이 계속되는 경우, 0.1 N NaOH로 세척한 후, 완충액 또는 Milli-Q® 정제수로 2차 원심분리하십시오.

주의사항: Amicon® Ultra 필터 장치의 멤브레인을 일단 적신 후에는 마르지 않도록 하십시오. 세척 후 해당 장치를 즉시 사용하지 않을 경우, 장치를 사용할 때까지 멤브레인에 액체를 남겨 두십시오.

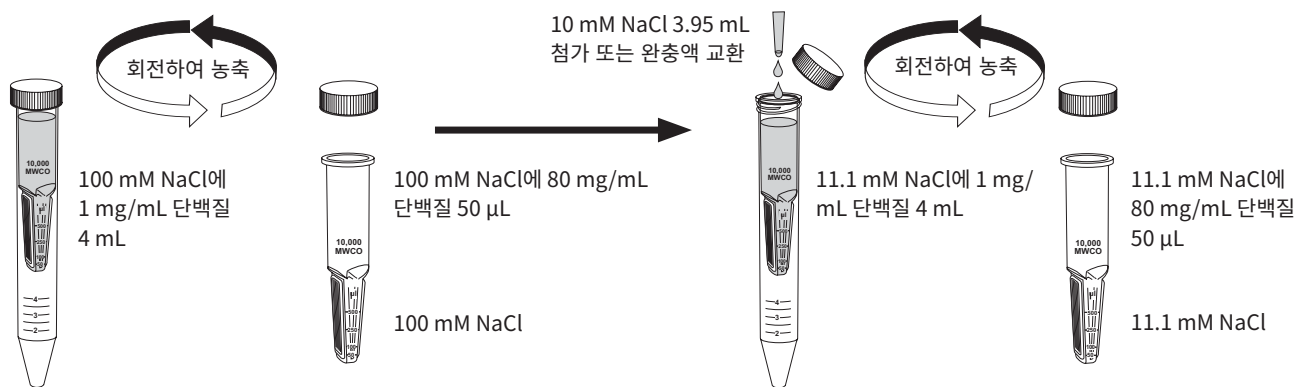


Amicon® Ultra-4 원심분리 필터 장치 사용법

1. Amicon® Ultra 필터 장치에 최대 4 mL의 검체(23° 고정각 회전자 사용 시 3.5 mL)를 추가합니다.
2. 캡이 씌워진 필터 장치를 원심분리 회전자(날개 회전자를 선호함)에 넣고 비슷한 장치로 균형을 맞춥니다. 사용 이전에 원심분리기의 유격을 확인하십시오.
3. **날개 회전자 사용 시**, 장치를 최대 $4,000 \times g$ 에서 약 10–20분간 회전시킵니다.
4. **고정각 회전자 사용 시**, 멤브레인 패널이 위쪽을 향하도록 장치를 위치시키고 최대 $7,500 \times g$ 에서 약 10–20분간 회전시킵니다.
참고사항: 통상적인 회전 시간은 그림 1 및 표 1을 참고하십시오.
5. 농축 용질을 회수할 때는 피펫터를 필터 장치 하단에 삽입한 후, 좌우로 쓸어내리는 조작을 하면서 흡입하여 검체를 완전히 회수합니다. 한외여과액은 원심분리 튜브에 보관할 수 있습니다.
참고사항: 최적의 회수를 위하여 원심분리 직후 농축된 검체를 회수하십시오.
참고사항: 필터는 적신 후 마르게 되면 올바르게 작동하지 않을 수 있습니다.

제염 또는 정용여과(diafiltration)

제염, 완충액 교환, 또는 정용여과는 생체분자를 함유한 용액에서 염 또는 용매를 분리하는 중요한 기법입니다. Amicon® Ultra-4 장치로 검체를 농축한 후, 임의의 원하는 용매로 농축액을 원래 검체 용적으로 재희석시켜 염을 분리하거나 완충액을 교환할 수 있습니다. 오염된 미세용질의 농도가 충분히 낮아질 때까지 이러한 “제거(washing out)”과정을 반복할 수 있습니다. 아래 예를 참고하십시오.

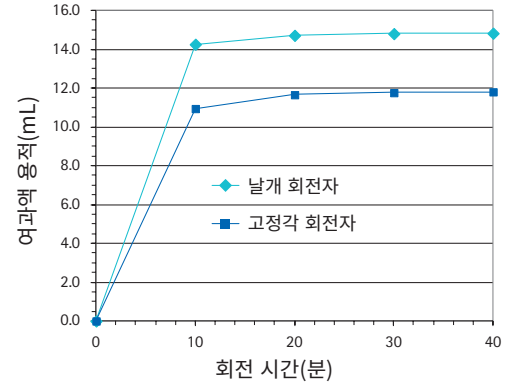


성능

유속

유속에 영향을 미치는 인자로는 검체 농도, 시작 용적, 용질의 화학적 특성, 상대 원심력, 원심분리 회전자 각도, 멤브레인 유형 및 온도 등이 있습니다. 그림 1과 표 1을 이용하여 특정 용적의 여과액 또는 농축액을 얻기 위해 필요한 시간을 추정할 수 있습니다. 4 mL 검체의 경우 통상 원심분리 시간은 약 10-20분입니다. 대부분의 검체는 원심분리를 시작하여 처음 10-15분 사이에 여과되지만, 최소 농축액 용적 (30-75 μL)에 도달하는 것은 회전 후 15-20분입니다.

그림 1. 통상 여과액 용적 대비 회전 시간



회전 조건: 날개 회전자, $4,000 \times g$ 또는 고정각 회전자, $7,500 \times g$, 실온, 시작 용적 4 mL.
사용된 단백질 표지자: 시토크롬 c, n=6.

표 1. 통상 농축액 용적 대비 회전 시간

회전 시간(분)	농축액 용적(μL)	
	날개 회전자 $4,000 \times g$	35° 고정각 회전자 $7,500 \times g$
10	176	97
15	76	54
20	58	35

회전 조건: 실온, 시작 용적 4 mL.
사용된 단백질 표지자: 시토크롬 c, n=6(3개 장치 로트의 평균값).
어둡게 표시된 용적을 이용하여 표 3에서 단백질 회수율을 계산함.

단백질 잔류 및 농축액 회수

Amicon® Ultra 장치에 사용된 멤브레인은 분자량 한계치(MWCO), 즉 특정 분자량을 초과하는 분자를 통과시키지 않는 특성을 가집니다. 분자량이 MWCO에 근접한 용질은 일부만 잔류될 수 있습니다. 멤브레인 잔류는 용질의 분자 크기와 모양에 따라 결정됩니다. 대부분의 애플리케이션에서 분자량은 잔류 특성을 평가하도록 사용되는 편리한 파라미터입니다. 최적의 결과를 위해, 농축하려는 해당 단백질 용질의 분자량보다 최소 두배 작은 MWCO를 가진 멤브레인을 사용하십시오. 표 2를 참고하십시오.

표 2. 단백질 표지자의 통상적 잔류

표지자/농도	분자량	장치 MWCO	% 잔류, 날개 회전자	% 잔류, 고정각 회전자	회전 시간(분)
알파 키모트립시노겐(1 mg/mL)	25,000	10K	> 95	> 95	15
시토크롬 c(0.25 mg/mL)	12,400		> 95	> 95	15
비타민 B-12(0.2 mg/mL)	1,350		< 15	< 15	15

회전 조건: 날개 회전자, $4,000 \times g$ 또는 35° 고정각 회전자, $7,500 \times g$, 시작 용적 4 mL, 실온, n=6(3개 장치 로트의 평균값).

검체 회수율 결정하는 인자로는 선택한 장치의 MWCO에 대한 단백질 용질의 특성, 시작 농도 및 농축 배율 등이 있습니다. 표 3에 Amicon® Ultra-4 10K 장치의 통상적인 회수율을 요약했습니다.

표 3. 통상적인 회수율

표지자/농도	장치 MWCO	회전 시간(분)	농축액 용적(μL)		농축 배율(x)		농축액 회수율(%)	
			날개 회전자	고정각 회전자	날개 회전자	고정각 회전자	날개 회전자	고정각 회전자
시토크롬 c(0.25 mg/mL)	10K	15	76	54	52.3	76.6	97.3	98.5

회전 조건: 날개 회전자, $4,000 \times g$ 또는 35° 고정각 회전자, $7,500 \times g$, 시작 용적 4 mL, 실온, n=6(3개 장치 로트의 평균값). 어둡게 표시된 용적은 표 1에서 발췌함.

검체 회수 최대화

농축액 중 낮은 검체 회수율의 원인으로는 흡착에 의한 소실, 과농축 또는 멤브레인을 통한 검체 이동 등을 생각할 수 있습니다.

- 흡착에 의한 소실은 용질의 농도, 용질의 친수성, 필터 장치 표면의 온도와 접촉 시점, 검체 조성 및 pH 등의 영향을 받습니다. 소실을 최소화하려면 원심분리 직후 농축된 검체를 회수하십시오.
- 시작 검체 농도가 높은 경우, 원심분리 과정을 모니터링하여 검체의 과농축을 피하십시오. 과농축의 경우 침전에 의한 검체 손실이 일어날 수 있습니다.
- 멤브레인을 통과하는 검체 이동이 의심되는 경우, 보다 낮은 MWCO의 Amicon® Ultra-4 장치를 선택하십시오.

회수율 정량화

총 회수율, 퍼센트 농축액 회수율 및 퍼센트 여과액 회수율을 아래 방법으로 계산합니다. 이 과정은 최대 약 20 mg/mL 농도까지 용액의 회수율에 대한 근사치를 제공합니다.

참고사항: 적절한 분석 기법에는 흡수 분광광도법, 방사면역측정법, 굴절지수, 전도율 등이 포함됩니다.

직접 계근(Direct Weighing) 절차

대부분 희석 단백질의 밀도는 물의 밀도(즉, 1 g/mL)와 거의 동일합니다. 이러한 특성을 이용하여 중량을 측정한 후 단위를 그램에서 밀리리터로 환산하여 농축액과 여과액의 용적을 정량화할 수 있습니다. 이러한 기법은 약 20 mg/mL 이하의 농도를 지니는 용액에만 적용할 수 있습니다.

- 사용 전, 빈 필터 장치, 원심분리 튜브 및 농축액을 회수할 빈 튜브 1개의 중량을 각각 따로 측정합니다.
- 필터 장치에 용액을 채운 후 다시 중량을 측정합니다.
- 장치와 원심분리기를 지침에 따라 조립합니다.
- 피펫터를 사용하여 농축액을 회수하여 미리 중량을 측정해 둔 농축액 회수용 튜브에 넣습니다.
- 장치를 원심분리 튜브에서 꺼내어 원심분리 튜브와 농축액 회수용 튜브의 중량을 측정합니다.
- 빈 장치/튜브의 중량을 차감하여 시작 물질, 여과액 및 농축액의 중량을 계산합니다.
- 시작 물질, 여과액 및 농축액을 분석하여 용질의 농도를 알아냅니다.
- 중량/용적 데이터와 측정된 농도를 이용하여 다음과 같이 회수율을 계산합니다.

$$\begin{aligned} \% \text{ 농축액 회수율} &= 100 \times \frac{W_c \times C_c}{W_o \times C_o} & W_c &= \text{분석 전 농축액 총중량} \\ & & W_o &= \text{원 시작 물질 중량} \\ & & W_f &= \text{여과액 중량} \\ \% \text{ 여과액 회수율} &= 100 \times \frac{W_f \times C_f}{W_o \times C_o} & C_c &= \text{농축액 농도} \\ & & C_o &= \text{원 시작 물질 농도} \\ & & C_f &= \text{여과액 농도} \\ \% \text{ 총회수율} &= \% \text{ 농축액 회수율} + \% \text{ 여과액 회수율} \end{aligned}$$

사양

최대 초기 검체 용적

날개 회전자 및 고정각 회전자(45° 및 35°)	4.0 mL
고정각 회전자(23°)	3.5 mL

통상 최종 농축액 용적	50-100 µL
---------------------	-----------

최대 상대 원심력

날개 회전자	4,000 × g
고정각 회전자	7,500 × g

활성 멤브레인 면적	3 cm ²
-------------------	-------------------

치수

튜브에 장착된 필터 장치(캡 씌운 상태)	
길이: 124 mm	직경: 17.3 mm
필터 장치	
길이: 73.4 mm	직경: 17.2 mm

구성 재질

필터 장치	스티렌/부타디엔 혼성중합체
멤브레인	Ultracel® 저결합성 재생 셀룰로오스
여과액 튜브	폴리프로필렌
여과액 캡 및 라이너	폴리에틸렌
필터	MWCO 10K

화학적 적합성

Amicon® Ultra 원심분리 장치는 생물학적 체액 및 수용액과 함께 사용하도록 제작되었습니다. 사용 전, 본 장치와 시료에 대한 화학적 적합성을 확인하십시오. 자세한 정보를 위해 SigmaAldrich.com/FilterChemicalCompatibility를 방문하십시오.

기호 정의

기호	정의	기호	정의
	의료용 체외 진단 장치		제조일자
	카탈로그 번호		제조사
	재사용 금지		비멸균 제품
	사용기한		CE 적합성 표시
	배치 코드		온도 한계
	온라인에서 이용할 수 있는 사용 지침		포장이 손상된 경우 사용하지 말 것
	제품 문건 온라인 다운로드		영국 적합성 마크

제품 주문

SigmaAldrich.com에서 제품을 온라인으로 주문하십시오.

설명	Qty/Pk	카탈로그 번호
Amicon® Ultra-4	8	UFC801008D
	24	UFC801024D
	96	UFC801096D

공지사항

자사는 최선의 지식과 능력에 따라서 애플리케이션 기술과 규제 사안에 관한 정보 및 권고사항을 자사의 고객에게 제공하지만, 의무 또는 책임을 보장하지 않습니다. 자사의 고객은 모든 경우에 기존의 법규를 지켜야 합니다. 이는 제삼자의 모든 권리에 대해서도 또한 적용됩니다. 자사의 정보 및 권고사항은 예상된 목적을 위해 자사 제품의 적합성을 확인해야 하는 자사 고객 자신의 책임을 면제하지는 않습니다.

수집 및 폐기

모든 시료에는 명확한 라벨이 부착되어야 합니다. 시료를 채취하고 준비하기 위해 적합한 기기를 사용해야 합니다.

참고사항: 적용되는 모든 국제적, 연방, 주 및 지역 규정에 따라서 감염성 또는 유해성 생물학적 물질로 오염된 가능성이 있는 품목의 폐기에 대한 주의 사항을 따르십시오.

기술적 지원

자사 웹사이트의 기술 서비스 페이지 SigmaAldrich.com/techservice를 방문하십시오.

이 장치의 심각한 사고는 사용자가 위치한 국가의 제조업체 및 관할 기관에 보고해야 합니다.

표준 보증

본 출판물에 수록된 해당 제품에 적용되는 보증 내용은 SigmaAldrich.com/terms에 실려 있습니다.

개정 이력

2021-OCT	- IFU PR05779 발행일 2021년 10월 - PR05139를 대체함. - IFU, 포장 손상 및 온도 제한 기호를 추가함. - 화학적 적합성 및 주문 정보를 웹사이트에 링크함. - 폐기 및 불만 사항 정보를 추가함. - UK 담당자 및 UKCA 기호 정보를 추가함.
----------	---

Introduksjon

Sentrifugalenheterne Amicon® Ultra-4 10K gir rask ultrafiltrering med mulighet for høye konsentrasjonsfaktorer og enkel konsentratutvinning fra fortynnede og komplekse prøvematerialer. Den vertikale utformingen og det tilgjengelige overflatearealet i membran gir rask prosessering av prøver, høy prøveutvinning (typisk mer enn 90% av fortynnet startløsning) og mulighet for 80-gangers konsentrasjon. Vanlig prosesseringstid er 10 til 20 minutter. Polarisasjon av oppløst stoff og etterfølgende tilsmussing av membranen minimeres av den vertikale utformingen. En fysisk og fullstendig stans i filterenheten forhindrer at det sentrifugerer seg tørt, og hindrer dermed et potensielt prøvetap. Konsentratet blir samlet opp fra filterenhetens prøvemagasin ved hjelp av en pipette, mens ultrafiltratet samles i det medfølgende sentrifugerør. Enheten kan sentrifugeres i en svingbeholder (for optimal ytelse) eller med en rotor med fast vinkel. Amicon® Ultra-4 10K-enheter leveres som ikke-sterile, og er beregnet for engangsbruk.

Tiltenkt bruk

Amicon® Ultra-4-sentrifugalfilterenheter er ultrafiltreringsenheter for engangsbruk for diagnostikk in vitro for å prosessere biologiske løsninger i volumområdet 1–4 ml. De er beregnet for å konsentrere biologiske prøver som serum, urin, cerebrospinalvæske og andre kroppsvæsker før diagnostiske analyser in vitro. Enheten er beregnet for engangsbruk, og brukes av fagfolk ved laboratorier.

Anvendelser

- Konsentrasjon av biologiske prøver som inneholder antigener, antistoffer, enzymer, nukleinsyrer (DNA/RNA-prøver, enten enkelt- eller dobbeltrådet), mikroorganismer, kolonneeluat og rensede prøver.
- Rensing av makromolekylære komponenter funnet i ekstrakter fra vevskultur og cellelysater, fjerning av primer, linkere eller molekylære merker fra en reaksjonsblanding, samt proteinfjerning før væsekromatografi (HPLC).
- Avsalting, bufferutveksling eller diafiltrering

Medfølgende materialer

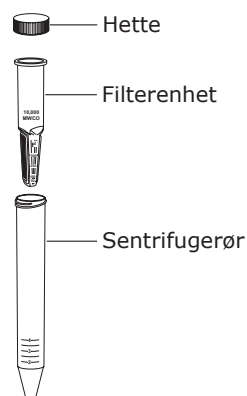
Amicon® Ultra-4 10K-enheten leveres med hette, filterenhet og sentrifugerør.

Nødvendig utstyr

- Sentrifuge med svingbeholder (foretrukket) eller rotor med fast vinkel med brønner/beholdere som rommer rør med konisk bunn på 17 mm x 124 mm, 15 ml.

FORSIKTIGHETSREGLER: Kontroller klarering for å unngå skade på enheten under sentrifugeringen.

- Pipetter med spiss på 200 mikroliter (µL) for utvinning av konsentrat



Egnethet

Vi anbefaler å utføre utvinnings- og bevaringsundersøkelser i forkant for å sikre egnethet for tiltenkt bruk. Se avsnittet «Slik kvantifiserer du utvinninger».

Lagring og stabilitet

Se produktetiketten for informasjon om lagringsforhold og holdbarhet.

Skyll før bruk

Ultrafiltreringsmembranene i Amicon® Ultra-4 10K-enheter inneholder spor av glyserin. Hvis materialet forstyrrer analysen, kan du skylle enheten med buffer eller Milli-Q®-vann før bruk. Hvis forstyrrelsen vedvarer, kan du skylle med 0,1 N NaOH etterfulgt av en andregangssentrifugering med buffer eller Milli-Q®-vann.

FORSIKTIGHETSREGLER: Membranen i Amicon®-ultrafilteret må ikke tørke ut når det først har blitt vått. Hvis du ikke bruker enheten umiddelbart etter skylling, må du sørge for at membranen er dekket med væske til enheten skal brukes.

Slik bruker du sentrifugale filterenheter fra Amicon® Ultra-4

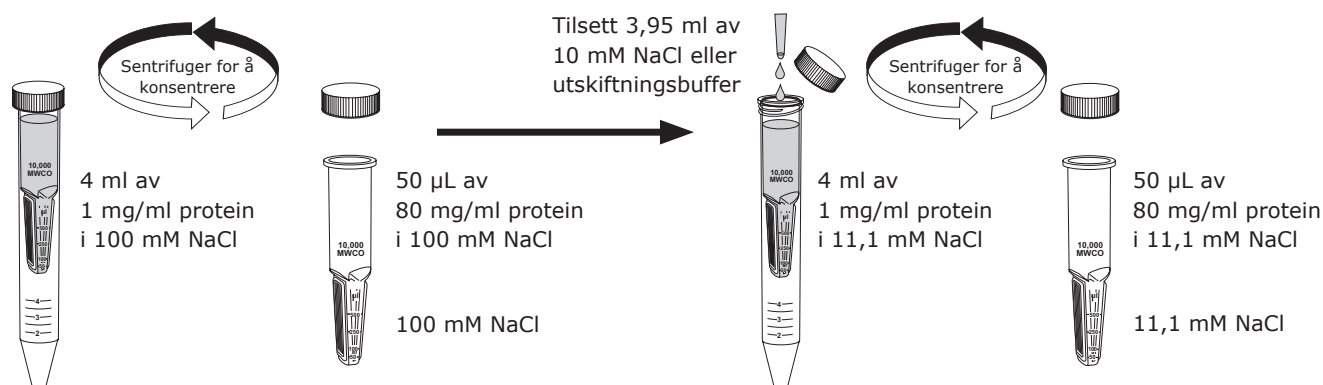
1. Tilsett opptil 4 ml prøvemateriale (3,5 ml hvis du bruker en rotor med fast vinkel på 23°) i Amicon®-ultrafilterenheten.
 2. Plasser filterenheten med lokk på i sentrifugerotoren (svingbeholder foretrekkes), og utligne vekten med en lignende enhet. Kontroller sentrifugeklaring før bruk.
 3. **Når du bruker en rotor med svingbeholder,** må du sentrifugere enheten på maksimalt 4000 × g i omlag 10–20 minutter.
 4. **Når du bruker en rotor med fast vinkel,** må du plassere enheten med membranpanelet pekende oppover, og sentrifugere ved maksimalt 7500 × g i omlag 10–20 minutter.
- MERK:** Se figur 1 og tabell 1 for vanlige sentrifugeringstider.
5. For å utvinne det konsentrerte oppløste stoffet, må du sette inn en pipette i bunnen av filterenheten og trekke ut prøven ved å bruke en sveipende bevegelse fra side-til-side for å sikre total utvinning. Ultrafiltratet kan lagres i sentrifugerøret.

MERK: For optimal utvinning, må du fjerne det konsentrerte prøveinnholdet umiddelbart etter sentrifugering.

MERK: Hvis filteret tørkes ut etter væting, kan det føre til at det ikke fungerer korrekt.

Avsalting eller diafiltrering

Avsalting, bufferutveksling eller diafiltrering er viktige metoder for å fjerne salter eller løsemidler i løsninger som inneholder biomolekyler. Fjerning av salter eller utveksling av buffere kan utføres i Amicon® Ultra-4-enheten ved å konsentrere prøven, og deretter rekonstituere konsentratet til det opprinnelige prøvevolumet med ønsket løsemiddel. Prosessen med å «vaske ut» kan gjentas til konsentrasjonen av den forurensede mikroløsningen er tilstrekkelig redusert. Se eksempel over.

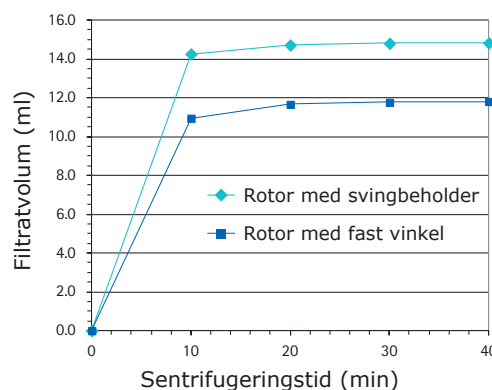


Ytelse

Strømningshastighet

Faktorer som påvirker strømningshastigheten omfatter prøvekonsentrasjon, startvolum, den kjemiske naturen til det oppløste stoffet, relativ sentrifugalkraft, rotorvinkel for sentrifuge, membrantype og temperatur. Figur 1 og tabell 1 kan brukes til å beregne tiden det tar å oppnå et gitt volum av filtrat eller konsentrat. Vanlig prosesseringstid for en prøve på 4 ml er 10 til 20 minutter. Mens det meste av prøven filtreres i de første 10 til 15 minuttene av sentrifugeringen, blir det laveste konsentratvolumet (30–75 µL) nådd etter sentrifugering i 15 til 20 minutter.

Figur 1. Standard filtratvolum kontra sentrifugeringstid



Sentrifugeringsforhold: Rotor med svingbeholder, 4000 × g, eller rotor med fast vinkel, 7500 × g, romtemperatur, 4 ml startvolum. Proteinmarkør brukt: Cytokrom c, n=6.

Tabell 1. Vanlig konsentratvolum kontra sentrifugeringstid

Sentrifugeringstid (min)	Konsentratvolum (µL)	
	Rotor med svingbeholder 4 000 × g	Rotor med fast vinkel på 35°, 7500 × g
10	176	97
15	76	54
20	58	35

Sentrifugeringsforhold: Romtemperatur, 4 ml startvolum.
Proteinmarkør brukt: Cytokrom c, n=6 (gjennomsnittlig verdi av tre enhetspartier).
Skraverte volumer ble brukt for å beregne proteinutvinning i tabell 3.

Proteinbevaring og konsentratutvinning

Membranen som blir brukt i Amicon® Ultra-enheter er karakterisert av en molekylvektsgrense (MWCO) – det vil si deres evne til å bevare molekyler over en angitt molekylvekt. Oppløste stoffer med molekylvekt nær MWCO kan bare delvis bevares. Membranbevaring avhenger av det oppløste stoffets molekylære størrelse og form. For de fleste bruksområder er molekylvekt en praktisk parameter å bruke for å vurdere bevaringsegenskapene. For best resultat bør du bruke en membran med en MWCO som er minst to ganger mindre enn molekylvekten til det oppløste proteinet du vil konsentrere. Se tabell 2.

Tabell 2. Vanlig bevaring av proteinmarkører

Markør/konsentrasjon	Molekylvekt	Enhets MWCO	% bevaring med svingbeholder	% bevaring med fast vinkel	Sentrifugeringstid (min)
A-kymotrypsinogen (1 mg/ml)	25 000	10K	> 95	> 95	15
Cytokrom c (0,25 mg/ml)	12 400		> 95	> 95	15
Vitamin B12 (0,2 mg/ml)	1 350		< 15	< 15	15

Sentrifugeringsforhold: Rotor med svingbeholder, 4000 × g, eller rotor med fast vinkel på 35°, 7500 × g, 4 ml startvolum, romtemperatur, n=6 (gjennomsnittlig verdi av tre enhetspartier).

Faktorer som avgjør prøveutvinning omfatter naturen av det oppløste proteinet i forhold til enhetens valgte MWCO, startkonsentrasjon og konsentrasjonsfaktor. Tabell 3 viser typiske utvinninger for Amicon® Ultra-4 10K-enheten.

Tabell 3. Standard konsentratutvinning

Markør/ konsentrasjon	Enhets MWCO	Sentrifugeringstid (min)	Konsentratvolum (µL)		Konsentratfaktor (x)		Konsentratutvinning (%)	
			Svingbeholder	Fast vinkel	Svingbeholder	Fast vinkel	Svingbeholder	Fast vinkel
Cytokrom c (0,25 mg/ml)	10K	15	76	54	52,3	76,6	97,3	98,5

Sentrifugeringsforhold: Rotor med svingbeholder, 4000 × g, eller rotor med fast vinkel på 35°, 7500 × g, 4 ml startvolum, romtemperatur, n=6 (gjennomsnittlig verdi av tre enhetspartier). De skraverte volumene ble hentet fra tabell 1.

Maksimering av prøveutvinning

Lav prøveutvinning i konsentratet kan skyldes adsorberende tap, overkonsentrasjon eller overføring av prøve gjennom membranen.

- Adsorberende tap avhenger av konsentrasjonen av oppløst stoff, stoffets hydrofobe natur, temperatur og kontaktid med overflater på filterenheten, prøvesammensetning og pH. For å minimere tap må du fjerne konsentrerte prøver umiddelbart etter sentrifugering.
- Hvis startprøvekonsentrasjonen er for høy må du overvåke sentrifugeringsprosessen for å unngå overkonsentrasjon av prøven. Overkonsentrasjon kan føre til spredning og potensielt prøvetap.
- Hvis det ser ut til at prøven passerer gjennom membranen, må du velge en Amicon® Ultra-4-enhet med lavere MWCO.

Slik kvantifiserer du utvinninger

Beregn total utvinning, prosent konsentratutvinning og prosent filtratutvinning ved å bruke metoden nedenfor. Prosedyren gir et tett anslag av utvinninger for løsninger med konsentrasjoner opptil omtrent 20 mg/ml.

MERK: Egnede analyseteknikker omfatter absorpsjonsspektrofotometri, radioimmunologisk analyse, brytningsindeks og konduktivitet.

Prosedyre for direkte veiing

Tettheten til de fleste fortynnede proteiner er nesten lik tettheten til vann (dvs. 1 g/ml). Ved å bruke denne egenskapen kan konsentrat- og filtervolumene kvantifiseres ved å veie dem og konvertere enhetene fra gram til milliliter. Denne teknikken er kun gyldig for løsninger med konsentrasjoner på ca. 20 mg/ml eller mindre.

- Før bruk må du veie de tomme filterenhetene, sentrifugerøret og et tomt rør for konsentratoppsamling hver for seg.
- Fyll filterenheten med løsning, og vei på nytt.
- Sett sammen enheten og sentrifugen i henhold til instruksjonene.
- Samle konsentratet med en pipette og fordel det over i det forhåndsveide oppsamlingsrøret for konsentratet.
- Fjern enheten fra sentrifugerøret og vei sentrifugerøret og oppsamlingsrøret for konsentratet.
- Trekk fra vekten av tom enhet / tomme rør for å beregne vekten på startmaterialet, filtratet og konsentratet.
- Analyser startmaterialet, filtratet og konsentratet for å finne konsentrasjonen av oppløst stoff.
- Beregn utvinninger ved å bruke vekt/volumdata og de målte konsentrasjonene som følger:

$$\% \text{ konsentratutvinning} = 100 \times \frac{V_k \times K_k}{V_o \times K_o}$$

$$\% \text{ filtratutvinning} = 100 \times \frac{V_f \times K_f}{V_o \times K_o}$$

$$\% \text{ total utvinning} = \% \text{ konsentratutvinning} + \% \text{ filtratutvinning}$$

V_k = totalvekt for konsentrat før analyse

V_k = vekt for opprinnelig startmateriale

V_f = filtratets vekt

K_k = konsentratkonsentrasjon

K_o = konsentrasjon for opprinnelig startmateriale

K_f = filtratkonsentrasjon

Spesifikasjoner

Maksimalt startprøvevolum

Svingbeholder og rotor med fast vinkel (45° og 35°) 4,0 ml

Rotor med fast vinkel (23°) 3,5 ml

Vanlig sluttkonsentratvolum 50–100 µL

Maksimal relativ sentrifugalkraft

Rotor med svingbeholder 4000 × g

Rotor med fast vinkel 7500 × g

Aktivt membranområde 3 cm²

Dimensjoner

Filterenhet i rør (med hette)

Lengde: 124 mm

Diameter: 17,3 mm

Filterenhet

Lengde: 73,4 mm

Diameter: 17,2 mm

Konstruksjonsmaterialer

Filterenhet Kololymestyren/butadien

Membran Lavbindingsregenerert cellulose fra Ultracel®

Filtratrør Polypropylen

Filtrathette- og foring Polyeten

Filter MWCO 10K

Kjemisk kompatibilitet

Sentrifugale enheter fra Amicon® Ultra er beregnet for bruk med biologiske væsker og vandige løsninger. Kontroller prøven for kjemisk kompatibilitet med enheten før bruk. Gå til SigmaAldrich.com/offices for kontaktinformasjon.

Symboldefinisjoner

Symbol	Definisjon	Symbol	Definisjon
	Medisinsk utstyr for in vitro-diagnostikk		Produksjonsdato
	Katalognummer		Produsent
	Ikke til gjenbruk		Ikke-sterilt produkt
	Best før-dato		CE-samsvarsmarkering
	Partikode		Temperaturgrense
	Bruksanvisninger er tilgjengelige på nettet		Ikke bruk dette produktet dersom innpakningen er skadet
	Last ned produktdokumentasjon på nettet		United Kingdom Mark of Conformity (Storbritannias sertifiseringsmerke for samsvar)

Produktbestilling

Kjøp produkter på nettet på SigmaAldrich.com.

Beskrivelse	Antall/pk	Katalognummer
Amicon® Ultra-4	8	UFC801008D
	24	UFC801024D
	96	UFC801096D

Merknad

Vi gir informasjon og råd til kundene våre om applikasjonsteknologier og forskriftsmessige forhold etter beste kunnskap og evne, men uten forpliktelser eller ansvar. Eksisterende lover og regler skal overholdes i alle tilfeller av våre kunder. Dette gjelder også i henhold til eventuelle rettigheter fra en tredjepart. Informasjon og råd vi gir fritar ikke våre kunder for sitt eget ansvar for å sjekke egnetheten til våre produkter til det påtenkte formålet.

Innsamling og avhending

Alle prøver må merkes tydelig. Egnede instrumenter må benyttes for innhenting og klargjøring av prøver.

MERK: Følg forholdsregler for avhending av gjenstander som er forurensset med potensielt smittefarlig eller farlig biologisk materiale i henhold til alle gjeldende internasjonale, nasjonale og lokale forskrifter.

Teknisk støtte

Besøk siden for tekniske tjenester på nettstedet vårt på SigmaAldrich.com/techservice.

Enhver alvorlig hendelse med denne enheten må rapporteres til produsenten og den kompetente myndigheten i landet brukeren holder til.

Standardgaranti

Gjeldende garanti for de oppførte produktene i denne publikasjonen finner du på SigmaAldrich.com/terms.

Revisjonshistorikk

OKT 2021	- Bruksanvisning PR05779, utstedelsesdato OKT 2021 – erstattet PR05139. - Symboler for bruksanvisning, emballasjeskade og temperaturgrense er lagt til. - Kjemisk kompatibilitet og bestillingsinformasjon koblet til nettsted. - Informasjon om avhending og klager er lagt til. - Symbolinformasjon for ansvarsperson i Storbritannia og UKCA (Storbritannias sertifiseringsmerke for samsvar) er lagt til
----------	--

Úvod

Centrifugačné filtračné pomôcky CentriAmicon® Ultra-4 10K poskytujú rýchlu ultrafiltráciu s možnosťou dosiahnutia vysokých koeficientov koncentrácie a jednoduchým získaním koncentráту zo zriedených a zložitých matric vzoriek. Vertikálny dizajn a dostupná plocha povrchu membrány poskytujú rýchle spracovanie vzorky, vysokú výťažnosť vzorky (zvyčajne viac ako 90 % zriedeného štartovacieho roztoku) a možnosť 80-násobnej koncentrácie. Typický čas spracovania je 10 až 20 minút. Polarizácia rozpustenej látky a následné znečistenie membrány sú minimalizované vertikálnym dizajnom a fyzická záťažka vo filtračnom zariadení zabraňuje odstredenie do sucha a potenciálnej strate vzorky. Koncentrát sa odoberá zo zásobníka na vzorky filtračnej pomôcky pomocou pipetovača, zatiaľ čo ultrafiltrát sa zbiera v dodanej centrifugačnej skúmavke. Pomôcku je možné centrifugovať vo výkyvnom rotore (na dosiahnutie optimálneho výkonu) alebo v rotore s fixným uhlom. Pomôcky Amicon® Ultra-4 10K sa dodávajú nesterilné a sú určené len na jednorazové použitie.

Použitie

Centrifugačné filtračné pomôcky Amicon® Ultra-4 sú jednorazové ultrafiltračné filtračné pomôcky na jedno použitie na diagnostické použitie in vitro na spracovanie biologických roztokov v objemovom rozsahu 1 – 4 ml. Sú určené na koncentrovanie biologických vzoriek, napr. séra, moču, mozgovomiechového moku a iných telových tekutín pred diagnostickou analýzou in vitro. Pomôcka je určená na jednorazové použitie odborníkom v laboratóriu.

Aplikácie

- Koncentrácia biologických vzoriek obsahujúcich antigény, protilátky, enzýmy, nukleové kyseliny (vzorky DNA/RNA, buď jednovláknové alebo dvojvláknové), mikroorganizmy, kolónové eluáty a purifikované vzorky
- Purifikácia makromolekulových komponentov, ktoré sa nachádzajú v extraktoch tkanivových kultúr a bunkových lyzátach, odstránenie primérov, linkerov alebo molekulových značiek z reakčnej zmesi a odstránenie proteínov pred analýzou HPLC
- Odsolovanie, výmena tlmivého roztoku alebo diafiltrácia

Dodané materiály

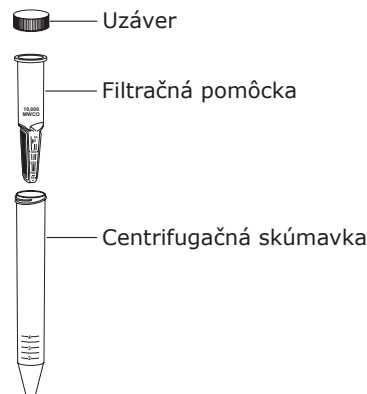
Pomôcky Amicon® Ultra-4 10K sa dodávajú s uzáverom, filtračnou pomôckou a centrifugačnou skúmavkou.

Požadované vybavenie

- Centrifúga s výkyvným rotorom (uprednostňuje sa) alebo rotorom s fixným uhlom s jamkami/nosičmi, do ktorých sa zmestia skúmavky s kónickým dnom s rozmermi 17 mm × 124 mm a objemom 15 ml

UPOZORNENIE: Aby sa zabránilo poškodeniu počas centrifugácie, pred odstredovaním skontrolujte priestor okolo centrifúgy.

- Pipetovač s 200 mikrolitrovou (µl) špičkou na odobratie koncentrátu



Vhodnosť

Navrhnuté sú predbežné štúdie výťažnosti a retencie, aby sa zabezpečila vhodnosť na plánované použitie. Pozrite časť „Kvantifikácia výťažnosti“.

Skladovanie a stabilita

Podmienky skladovania a dobu skladovateľnosti nájdete na označení výrobku.

Prepláchnutie pred použitím

Ultrafiltračné membrány v pomôckach Amicon® Ultra-4 10K obsahujú stopové množstvá glycerínu. Ak tento materiál interferuje s analýzou, pred použitím prepláchnite pomôcku tlmivým roztokom alebo vodou Milli-Q®. Ak zasahovanie pokračuje, prepláchnite 0,1 N NaOH a následne použite druhý preplach tlmivým roztokom alebo vodou Milli-Q®.

UPOZORNENIE: Membránu v ultrafiltračných pomôckach Amicon® Ultra nenechajte po namočení vyschnúť. Ak pomôcku nepoužívate okamžite po opláchnutí, nechajte tekutinu na membráne až do použitia pomôcky.

Ako používať centrifugačné filtračné pomôcky Amicon® Ultra-4

1. Pridajte maximálne 4 ml vzorky (3,5 ml ak používate rotor s fixným uhlom 23°) k filtračnej pomôcke Amicon® Ultra.
2. Filtračnú pomôcku s nasadeným uzáverom vložte do rotora centrifúgy (uprednostňuje sa výkyvný rotor). Vyvážte ju podobnou pomôckou. Pred použitím skontrolujte priestor okolo centrifúgy.
3. **Ked' používate výkyvný rotor**, odstredíte pomôcku pri otáčkach maximálne 4 000 × g počas doby približne 10 – 20 minút.
4. **Ked' používate rotor s fixným uhlom**, otočte pomôcku membránovým panelom smerujúcim nahor a odstredíte pri otáčkach maximálne 7 500 × g počas doby približne 10 – 20 minút.

POZNÁMKA: Typické časy odstredovania nájdete na obrázku 1 a v tabuľke 1.

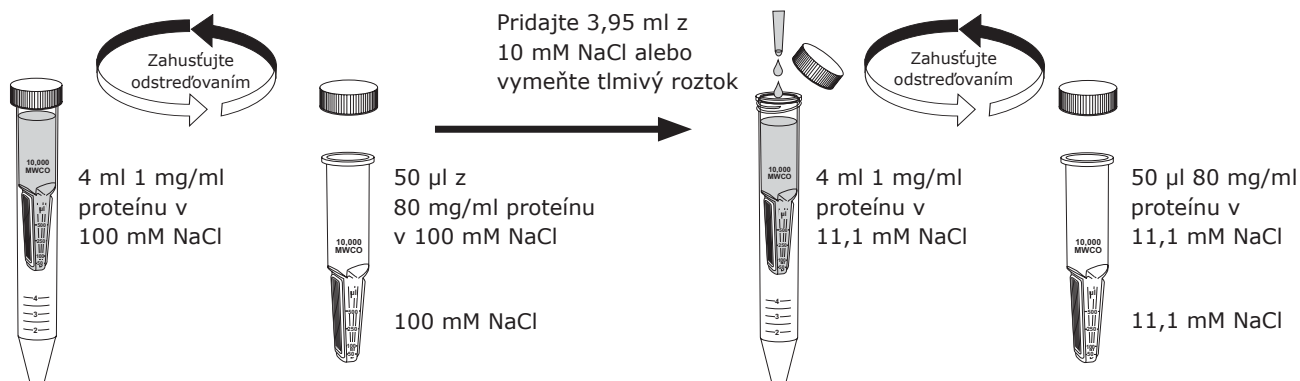
5. Ak chcete získať koncentrovanú rozpustenú látku, vložte pipetovač do spodnej časti filtračnej pomôcky a odoberte vzorku pohybom zo strany na stranu, aby sa zabezpečila úplná výťažnosť. Ultrafiltrát možno skladovať v centrifugačnej skúmavke.

POZNÁMKA: Ak chcete dosiahnuť optimálnu výťažnosť, odstráňte koncentrovanú vzorku okamžite po centrifugácii.

POZNÁMKA: Ak sa filter po namočení nechá vyschnúť, nemusí fungovať správne.

Odsol'ovanie alebo diafiltrácia

Odsol'ovanie, výmena tlmivého roztoku alebo diafiltrácia sú dôležitými metódami na odstraňovanie solí alebo rozpúšťadiel z roztokov obsahujúcich biomolekuly. Odstránenie solí alebo výmena tlmivých roztokov sa môže vykonať v pomôcke Amicon® Ultra-4 zahustením vzorky a následnou rekonštitúciou koncentráту na pôvodný objem vzorky s akýmkoľvek požadovaným rozpúšťadlom. Postup „vymývania“ je možné opakovať dovtedy, kým sa dostatočne neznižuje koncentrácia kontaminujúceho mikromolekulového solútu. Pozrite príklad nižšie.

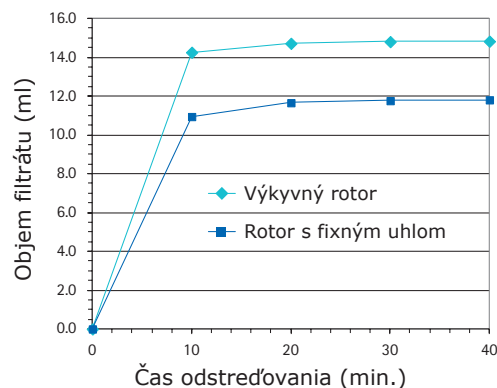


Výkonnostné charakteristiky

Prietok

Medzi faktory, ktoré majú vplyv na prietok, patrí koncentrácia vzorky, štartovací objem, chemická povaha rozpustenej látky, relatívna odstredivá sila, uhol rotora centrifúgy, typ membrány a teplota. Na odhadnutie času potrebného na dosiahnutie daného objemu filtrátu alebo koncentráту sa môže použiť obrázok 1 a tabuľka 1. Typický čas odstredovania v prípade 4 ml vzorky je približne 10 až 20 minút. Zatiaľ čo väčšina vzorky sa odfiltruje v prvých 10 až 15 minútach centrifugácie, najnižší objem koncentráту (30-75 μ l) sa dosiahne po 15 až 20-minútovom odstredovaní.

Obrázok 1. Typický objem filtrátu oproti času odstredovania



Podmienky pri odstredovaní: Výkyvný rotor, 4 000 $\times$ g alebo rotor s fixným uhlom, 7 500 $\times$ g, izbová teplota, štartovací objem 4 ml. Použitý proteínový marker: Cytochróm c, n=6.

Tabuľka 1. Typický objem koncentráту oproti času odstredovania

Čas odstredovania (min.)	Objem koncentráту (μ l)	
	Rotor s výkyvným uhlom 4 000 $\times$ g	Rotor s fixným uhlom 35° 7 500 $\times$ g
10	176	97
15	76	54
20	58	35

Podmienky pri odstredovaní: Izbová teplota, štartovací objem 4 ml. Použitý proteínový marker: Cytochróm c, n=6 (priemerná hodnota 3 šarží pomôcok). Vytieňované objemy boli použité na výpočet výťažnosti proteínov v tabuľke 3.

Retencia proteínov a výťažnosť koncentráту

Membrány používané v pomôckach Amicon® Ultra sú charakterizované na základe limitu molekulovej hmotnosti (MWCO), to znamená ich schopnosť zadržať molekuly nad stanovenú molekulovú hmotnosť. Rozpustené látky s molekulovou hmotnosťou blízko limitu MWCO môžu byť zadržané iba čiastočne. Retencia membrány závisí od veľkosti a tvaru molekúl rozpustenej látky. Pri väčšine aplikácií je molekulová hmotnosť vhodným parametrom na použitie pri hodnotení retenčných charakteristík. Najlepšie výsledky dosiahnete, ak použijete membránu s hodnotou MWCO aspoň dvakrát menšou ako je molekulová hmotnosť proteínového solútu, ktorý chcete koncentrovať. Pozrite tabuľku 2.

Tabuľka 2. Typická retencia proteínových markerov

Marker/koncentrácia	Molekulová hmotnosť	MWCO pomôcky	% retencie výkyvný	% retencie fixný uhol	Čas odstredovania (min.)
α -chymotrypsinogén (1 mg/ml)	25 000	10K	> 95	> 95	15
Cytochróm c (0,25 mg/ml)	12 400		> 95	> 95	15
Vitamín B-12 (0,2 mg/ml)	1 350		< 15	< 15	15

Podmienky pri odstredovaní: Výkyvný rotor, 4 000 $\times$ g alebo rotor s fixným uhlom 35°, 7 500 $\times$ g, štartovací objem 4 ml, izbová teplota, n=6 (priemerná hodnota 3 šarží pomôcok).

Medzi faktory, ktoré určujú výťažnosť vzorky, patrí povaha proteínového solútu vo vzťahu k zvolenému MWCO pomôcky, počiatočná koncentrácia a koeficient koncentrácie. V tabuľke 3 sú uvedené typické hodnoty výťažnosti pri použití pomôcky Amicon® Ultra-4 10K.

Tabuľka 3. Typická výťažnosť koncentráту

Marker/koncentrácia	MWCO pomôcky	Čas odstredovania (min.)	Objem koncentráту (μ l)		Koeficient koncentrácie (x)		Výťažnosť koncentráту (%)	
			Výkyvný rotor	Fixný uhol	Výkyvný rotor	Fixný uhol	Výkyvný rotor	Fixný uhol
Cytochróm c (0,25 mg/ml)	10K	15	76	54	52,3	76,6	97,3	98,5

Podmienky pri odstredovaní: Výkyvný rotor, 4 000 $\times$ g alebo rotor s fixným uhlom 35°, 7 500 $\times$ g, štartovací objem 4 ml, izbová teplota, n=6 (priemerná hodnota 3 šarží pomôcok). Vytieňované objemy boli prevzaté z tabuľky 1.

Maximalizácia výťažnosti vzoriek

Nízka výťažnosť vzorky v koncentráte môže byť spôsobená adsorpčnými stratami, nadmernou koncentráciou alebo prechodom vzorky cez membránu.

- Adsorpčné straty závisia od koncentrácie rozpustenej látky, hydrofóbnej povahy, teploty a trvania kontaktu s povrchmi filtračnej pomôcky, zloženia vzorky, ako aj od pH. Ak chcete minimalizovať straty, odoberte koncentrované vzorky okamžite po centrifugácii.
- Ak je počiatočná koncentrácia vzorky vysoká, monitorujte postup odstredovania, aby ste zabránili nadmernému zahutneniu vzorky. Nadmerná koncentrácia môže viesť k vyzrážaniu a nožnej strate vzorky.
- Ak sa zdá, že vzorka prechádza cez membránu, zvolte pomôcku Amicon® Ultra-4 s nižšou hodnotou MWCO.

Kvantifikácia výťažnosti

Vypočítajte celkovú výťažnosť, percentuálnu výťažnosť koncentrátu a percentuálnu výťažnosť filtrátu použitím metódy uvedenej nižšie. Postup poskytuje blízku aproximáciu výťažnosti pre roztoky, ktoré majú koncentrácie až do približne 20 mg/ml.

POZNÁMKA: Vhodné techniky analýzy zahŕňajú absorpčnú spektrofotometriu, rádioimunoanalýzu, index lomu a vodivosť.

Postup priameho váženia

Hustota väčšiny zriedených proteínov je takmer rovnaká ako hustota vody (t.j. 1 g/ml). Na základe tejto vlastnosti je možné kvantifikovať objemy koncentrátu a filtrátu ich vážením a prevedením jednotiek z gramov na mililitre. Táto technika je platná len pre roztoky s koncentráciou približne 20 mg/ml alebo menej.

- Pred použitím oddelene odvážte prázdnu filtračnú pomôcku, centrifugačnú skúmavku a prázdnu skúmavku na zber koncentrátu.
- Naplňte filtračnú pomôcku roztokom a znova odvážte.
- Zostavte pomôcku a centrifugujte podľa pokynov.
- Koncentrát odoberte pipetovačom a nadávajte ho do vopred zvaženej zbernej skúmavky na koncentrát.
- Vyberte pomôcku z centrifugačnej skúmavky a odvážte centrifugačnú skúmavku a zbernú skúmavku na koncentrát.
- Odčítajte hmotnosť prázdnej pomôcky/skúmaviek, aby ste vypočítali hmotnosti východiskového materiálu, filtrátu a koncentrátu.
- Analyzujte východiskový materiál, filtrát a koncentrát, aby ste určili koncentráciu rozpustenej látky.
- Hodnoty výťažnosti sa vypočítajú na základe údajov o hmotnosti/objeme a odmeraných koncentráciách nasledovne:

$$\% \text{ výťažnosť koncentrátu} = 100 \times \frac{W_c \times C_c}{W_o \times C_o}$$

W_c = celková hmotnosť koncentrátu pred analýzou
 W_o = hmotnosť pôvodného východiskového materiálu
 W_f = hmotnosť filtrátu

$$\% \text{ výťažnosť filtrátu} = 100 \times \frac{W_f \times C_f}{W_o \times C_o}$$

C_c = koncentrácia koncentrátu
 C_o = koncentrácia pôvodného východiskového materiálu
 C_f = koncentrácia filtrátu

$$\% \text{ celková výťažnosť} = \% \text{ výťažnosť koncentrátu} + \% \text{ výťažnosť filtrátu}$$

Špecifikácie

Maximálny počiatočný objem vzorky

Výkyvné rotory a rotory s fixným uhlom (45° a 35°)	4,0 ml
Rotor s fixným uhlom (23°)	3,5 ml

Typický konečný objem koncentrátu 50 – 100 µl

Maximálna relatívna odstredivá sila

Výkyvný rotor	4 000 × g
Rotor s fixným uhlom	7 500 × g

Aktívna plocha membrány 3 cm²

Rozmery

Filtračná pomôcka v skúmavke (s nasadeným uzáverom)

Dĺžka: 124 mm Priemer: 17,3 mm

Filtračná pomôcka

Dĺžka: 73,4 mm Priemer: 17,2 mm

Materiály konštrukcie

Filtračná pomôcka	Styrénový/butadiénový kopolymér
Membrána	Regenerovaná celulóza s nízkou väzbou Ultracel®
Skúmavka na filtrát	Polypropylén
Uzáver a podložka na filtrát	Polyetylén
Filter	MWCO 10K

Chemická kompatibilita

Centrifugačné pomôcky Amicon® Ultra sú určené na použitie s biologickými tekutinami a vodnými roztokmi. Pred použitím skontrolujte, či je vzorka chemicky kompatibilná s pomôckou. Ďalšie informácie nájdete na stránke [SigmaAldrich.com/FilterChemicalCompatibility](https://sigmaaldrich.com/FilterChemicalCompatibility).

Definície symbolov

Symbol	Definícia	Symbol	Definícia
	Diagnostická zdravotnícka pomôcka in vitro		Dátum výroby
	Katalógové číslo		Výrobca
	Nepoužívajte opakovane		Nesterilný výrobok
	Dátum spotreby		Označenie CE
	Kód šarže		Maximálna teplota
	Návody na použitie sú k dispozícii online		Nepoužívajte, ak je obal poškodený
	Stiahnite si online dokumentáciu k produktu		Značka zhody vo Veľkej Británii

Objednávanie výrobkov

Výrobky môžete zakúpiť online na webovej stránke [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com).

Popis	Množstvo v jednom balení	Katalógové číslo
Amicon® Ultra-4	8	UFC801008D
	24	UFC801024D
	96	UFC801096D

Poznámka

Informácie pre aplikačné technológie a regulačné záležitosti poskytujeme našim zákazníkom na základe našich najlepších vedomostí a schopností, ale bez ďalšej povinnosti alebo záväzku. Naši zákazníci sú v každom prípade povinní dodržiavať existujúce zákony a predpisy. To platí rovnako aj vo vzťahu k tretím stranám. Naše informácie a rady nezbavujú našich zákazníkov ich vlastnej zodpovednosti za kontrolu vhodnosti našich výrobkov pre nimi zamýšľané využitie.

Zber a likvidácia

Všetky vzorky musia byť zreteľne označené. Na získanie a prípravu vzoriek je nutné použiť vhodné nástroje.

POZNÁMKA: Dodržiavajte opatrenia na likvidáciu predmetov kontaminovaných potenciálne infekčným alebo nebezpečným biologickým materiálom podľa všetkých medzinárodných, federálnych, štátnych a miestnych predpisov.

Technická pomoc

Navštívte stránku technického servisu na našej webovej lokalite [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Každú závažnú udalosť s touto pomôckou je potrebné hlásiť výrobcovi a príslušnému orgánu v krajine, v ktorej sídli používateľ.

Štandardná záruka

Informácie o platnej záruke na výrobky uvedené v tomto dokumente možno nájsť na stránke [SigmaAldrich.com/terms](https://sigmaaldrich.com/terms).

História revízií

2021-OKT	- IFU PR05779 Dátum vydania OKT 2021 – nahradené PR05139. - Pridané symboly IFU, poškodenie balenia a teplotný limit. - Chemická kompatibilita a informácie k objednávaní prepojené na webovú stránku. - Pridané informácie o likvidácii a sťažnostiach. - Pridané informácie o zodpovednej osobe vo Veľkej Británii a symbole UKCA
----------	---

Giriş

Amicon® Ultra-4 10K sentrifüj filtre cihazları hızlı ultrafiltrasyon sağlamanın yanında yüksek derişim faktörlerine ve seyreltik ve karmaşık örnek matrislerinden kolayca konsantre madde kazanımı özelliklerine sahiptir. Dikey tasarımı ve kullanıma açık membran yüzey alanı hızlı örnek işlemesi, yüksek örnek kazanımı (tipik olarak seyreltik başlangıç çözeltilerinde %90'dan fazla) ve 80 kat derişim özelliklerini kazandırır. Genel olarak işlem süresi 10 ila 20 dakika arasında değişmektedir. Çözünmüş madde kutuplaştırması ve sonrasındaki membran bozulması dikey tasarım ile minimize edilir ve filtreleme cihazındaki fiziksel bir susturucu çözelti kuruyana kadar dönmeyi ve potansiyel örnek kaybını da önler. Konsantre madde pipetör ile filtreleme cihazı örnek rezervuarından toplanır, ultra süzölmüş madde ise sisteme sağlanmış sentrifüj tüpüne biriktirilir. Cihaz sallanan kovalı (optimum performans için) ya da sabit açılı çarklarda döndürülebilir. Amicon® Ultra-4 10K cihazları steril olmayan bir şekilde sağlanır ve tek kullanımlıktır.

Kullanım Amacı

Amicon® Ultra-4 sentrifüj filtreleme cihazları biyolojik çözeltilerde in vitro teşhis amaçlı kullanım için tasarlanmış, 1-4 mL hacim aralığında çalışan tek kullanımlık ultrafiltrasyon filtreleme cihazlarıdır. Bu cihazlar kan serumu, idrar, beyin-omurilik sıvısı ve diğer vücut sıvılarının in vitro teşhis analizinin yapılmasından önce deriştirilmesi düşünülerek yapılmıştır. Cihaz tek kullanımlıktır ve laboratuvar profesyonelleri tarafından kullanılır.

Uygulamalar

- Antijen, antikor, enzim, nükleik asit (DNA/RNA örnekleri, tek ya da çift sarmal olarak), mikroorganizmalar, kolon eluatları ve saflaştırılmış örneklerin biyolojik örneklerdeki derişimleri
- Doku kültürü ayıklamalarında ve hücre parçalanmalarında bulunan makromoleküler bileşiklerin saflaştırılması; primer, bağlayıcı ya da moleküler etiketlerin tepkime karışımından uzaklaştırılması; ayrıca HPLC öncesi protein uzaklaştırma
- Tuzdan arındırma, tampon değişimi ya da diyafiltrasyon

Sağlanan malzemeler

Amicon® Ultra-4 10K cihazı bir kapak, bir filtreleme cihazı ve bir sentrifüj tüpüyle birlikte sunulmaktadır.

Gerekli Ekipmanlar

- Sallanan kovalı (önerilen tür) ya da sabit açılı çarkı olan, taşıyıcı tüpleri 17 mm x 124 mm boyutlarında ve 15 mL'ye kadar altı kapalı konik tüpleri olabilen sentrifüj cihazları
- **DİKKAT:** Sentrifüj sırasında cihaza bir zarar gelmemesi için uygulama öncesinde açıklığı kontrol edin.
- Konsantre maddelerin geri kazanımı için 200 mikrolitre (µL) uçlu pipetör

Uygunluk

Kullanım amacına uygunluğun test edilmesi için ön tutunma ve geri kazanım çalışmaları önerilir. "Geri Kazanım Miktarı Nasıl Hesaplanır?" bölümüne bakın.

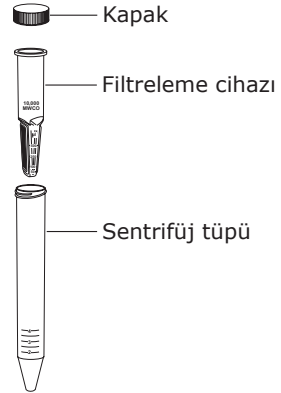
Saklama ve Stabilite

Saklama koşulları ve raf ömrü için ürün etiketine bakın.

Kullanım Öncesi Durulama

Amicon® Ultra-4 10K cihazlarındaki ultrafiltrasyon membranları eser miktarda gliserin içermektedir. Eğer bu madde analiz sonuçlarına müdahale edecekse bu cihazı tampon çözeltiyle ya da Milli-Q® su ile durulayın. Eğer müdahale hala sürüyorsa önce 0.1 Normal NaOH ile, sonra da ikinci döngüde tampon ya da Milli-Q® su ile durulayın.

DİKKAT: Amicon® Ultra filtreleme cihazındaki membranların bir kere ıslandıktan sonra kurumalarına izin vermeyin. Eğer durulama işleminden hemen sonra cihazı kullanmayacaksanız bu sıvıyı membranın üstünde cihazı yeniden kullanıncaya dek bırakın.



Amicon® Ultra-4 Sentrifüj Filtreleme Cihazları Nasıl Kullanılır?

1. Amicon® Ultra filtreleme cihazına 4 mL'ye kadar örneği (eğer 23° sabit açılı çark kullanılıyorsa 3,5 mL) ekleyin.
2. Kapağı kapanmış filtreleme cihazını sentrifüj çarkına (sallanan kovalı olan önerilir) karşısına bir dengeleyici ağırlık koyarak yerleştirin. Kullanmadan önce sentrifüj açıklıklarını kontrol edin.
3. **Sallanan kovalı çark kullanırken**, cihazı maksimum 4000 g ile yaklaşık 10-12 dakika boyunca döndürün.
4. **Sabit açılı çark kullanırken**, cihazı membran paneli yukarı bakacak şekilde yerleştirip maksimum 7500 g ile yaklaşık olarak 10-12 dakika döndürün.

NOT: Tipik dönme süreleri için Şekil 1 ve Tablo 1'e bakın.

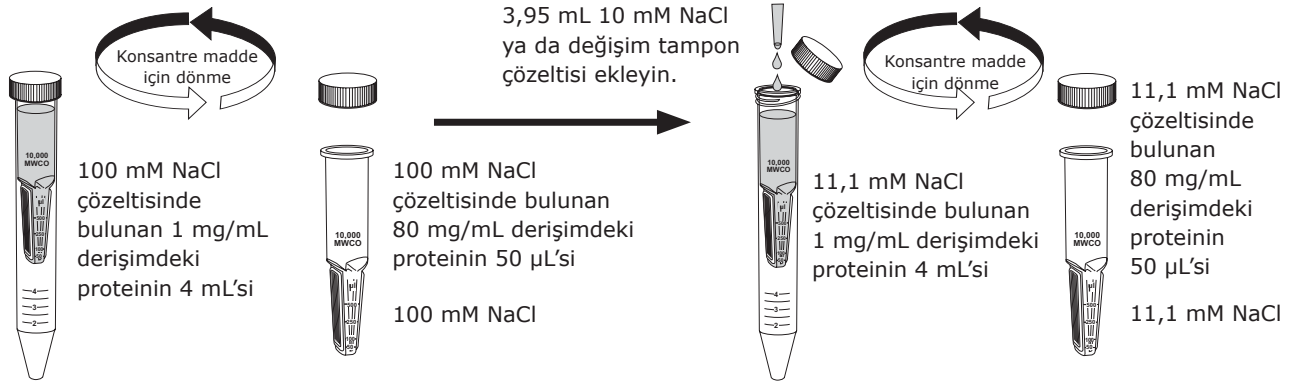
5. Konsantre edilmiş maddeyi geri kazanmak için, pipetör ile filtre cihazının dibine ulaşp tamamının geri kazanımı için örneği sağdan sola süpürme hareketiyle çekin. Ultrafiltre edilmiş madde sentrifüj tüpünde saklanabilir.

NOT: Optimum geri kazanım için konsantre maddeyi sentrifüjden hemen sonra uzaklaştırın.

NOT: Eğer ıslandıktan sonra kuruması engellenmezse filtreler doğru bir şekilde çalışmayabilir.

Tuz Giderimi ya da Diyafiltrasyon

Tuz giderimi, tampon değişimi ya da diyafiltrasyon biyomolekül içeren çözeltilerden tuzun ya da çözücünün ayrılmasında kullanılan önemli yöntemlerdir. Tuzların uzaklaştırılmasının ya da tampon çözeltilerin değişiminin Amicon® Ultra-4 cihazında gerçekleştirilmesi; örneğin önce deriştirilmesi, sonra da konsantre maddenin orijinal örnek hacmine istenilen çözücüyle yeniden yerleştirilmesi ile başarılabılır. "Yıkama işlemi" kirletici mikroçözünmüş maddenin derişimi yeterince azaltılıncaya kadar tekrar edilebilir. Aşağıdaki örneğe bakın.

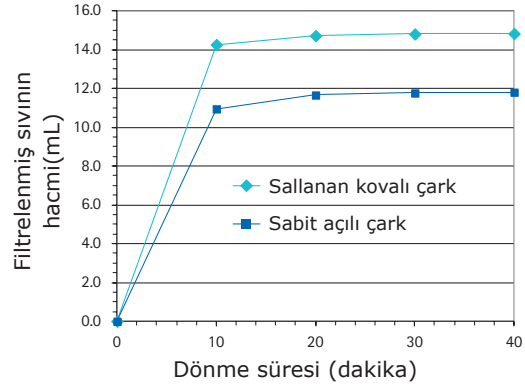


Performans

Akış Hızı

Akış hızına etki eden faktörler arasında örnek derişimi, başlangıç hacmi, çözünmüş maddenin kimyasal özellikleri, görelî sentrifüj kuvveti, sentrifüj çark açısı, membran tipi ve sıcaklık vardır. Herhangi bir konsantre madde ya da filtre edilmiş maddenin istenilen hacimde elde edilmesi için gereken zamanın tahmin edilmesinde Şekil 1 ve Tablo 1 kullanılabilir. 4 mL örnek için genel olarak 10 ila 20 dakika arasında değişen bir dönme süresi gerekir. Her ne kadar örneğin çoğu ilk 10-15 dakika sentrifüjde filtre edilmiş olsa da en düşük konsantre madde hacmi (30–75 µL) 15. ile 20. dakikadaki dönme sürelerinde elde edilir.

Şekil 1. Tipik Konsantre Madde Hacmi ve Dönme Süresi



Dönme Koşulları: Sallanan kovalı çark, 4000 x g, ya da sabit açılı çark, 7500 x g, oda sıcaklığı, 4 mL başlangıç hacmi. Kullanılan protein işaretleyici: Sitokrom c, n=6.

Tablo 1. Tipik Konsantre Madde hacmi ve Dönme Süresi

Dönme süresi (dakika)	Konsantre madde hacmi (µL)	
	Sallanan kovalı çark 4000 x g	35° Sabit açılı çark 7500 x g
10	176	97
15	76	54
20	58	35

Dönme Koşulları: Oda sıcaklığı, 4 mL başlangıç hacmi.

Kullanılan protein işaretleyici: Sitokrom c, n=6 (3 cihazdan gelen ortalama değer).

Gölgelenmiş hacim bölümleri Tablo 3'teki protein geri kazanımlarını hesaplamak için kullanılır.

Protein Tutunumu ve Konsantre Madde Geri Kazanımı

Amicon® Ultra cihazlarında kullanılan membranlar moleküler ağırlık sınır değerleriyle (MWCO) tanımlanır. Bunun anlamı onların MWCO'nun üstündeki moleküler ağırlıkları tuttuğudur. Eğer çözünmüş maddelerin ağırlığı MWCO'ya yakınsa, bu moleküller salt kısmen tutunabilir. Membranın tutma gücü çözünmüş maddenin moleküler boyutu ve şekline bağlıdır. Çoğu uygulama için moleküler ağırlık, tutunma karakteristiklerini değerlendirmede yeterli bir parametredir. En iyi sonuçları elde etmek için kullanılan membran değiştirilmek istenen konsantre maddenin moleküler ağırlığından en az iki kat daha küçük MWCO değerine sahip olmalıdır. Tablo 2'ye bakın.

Tablo 2. Protein İşaretleyicilerin Tipik Tutunumu

İşaretleyici/Derişim	Moleküler Ağırlık	Cihaz MWCO	Sallanan kaptaki % tutunum	Sabit açıdaki % tutunum	Dönme Süresi (dakika)
α-Kimotripsinojen (1 mg/mL)	25.000	10K	> 95	> 95	15
Sitokrom c (0,25 mg/mL)	12.400		> 95	> 95	15
Vitamin B-12 (0,2 mg/mL)	1.350		< 15	< 15	15

Dönme Koşulları: Sallanan kovalı çark, 4000 x g, ya da 35° sabit açılı çark, 7500 x g, 4 mL başlangıç hacmi, oda sıcaklığı, n=6 (3 cihazın ortalama değerleri).

Örnek geri kazanımını belirleyen faktörler arasında protein çözücüsünün seçilen cihaz MWCO değerine kıyasla ne gibi bir doğası olduğu, başlangıç derişimi ve derişim faktörü vardır. Tablo 3, Amicon® Ultra-4 10K cihazlarının tipik geri kazanım değerlerini listelemektedir.

Tablo 3. Tipik Konsantre Madde Geri Kazanımı

İşaretleyici/Derişim	Cihaz MWCO	Dönme Süresi (dakika)	Konsantre Madde Hacmi (µL)		Derişim Faktörü (x)		Konsantre Madde Geri Kazanımı (%)	
			Sallanan kovalı	Sabit açılı	Sallanan kovalı	Sabit açılı	Sallanan kovalı	Sabit açılı
Sitokrom c (0,25 mg/mL)	10K	15	76	54	52,3	76,6	97,3	98,5

Dönme Koşulları: Sallanan kovalı çark, 4000 x g, ya da 35° sabit açılı çark, 7500 x g, 4 mL başlangıç hacmi, oda sıcaklığı, n=6 (3 cihazın ortalama değerleri). Gölgelenmiş hacim değerleri Tablo 1'den alınmıştır.

Örnek Geri Kazanımını Maksimize Etme

Konsantre maddenin düşük geri kazanımı yüzeye yapışma kayıplarından, çok yüksek deriştirmeden ya da örneğin membrandan geçişi sırasındaki durumlardan kaynaklanabilmektedir.

- Yüzeye yapışma ilgili kayıplar çözünmüş maddenin derişimine, hidrofobik doğasına, filtreleme cihazı yüzeyleriyle temas süresine, sıcaklığa, örnek bileşimine ve pH değerine bağlı olabilir. Bu kayıpları en aza indirmek için örnek sentrifüj dönmesinden hemen sonra uzaklaştırılmalıdır.
- Eğer başlangıç örnek derişimi zaten yüksekse, bizzat sentrifüj işlemini izleyerek örneğin aşırı deriştirilmesini önleyin. Aşırı deriştirme durumu örnekteki maddenin çökmesine ve potansiyel örnek kaybına yol açabilir.
- Eğer örnek membrandan geçip gidiyor, sızıyor gibi görünüyorsa daha düşük MWCO değerli bir Amicon® Ultra-4 cihazı seçin.

Geri Kazanım Miktarı Nasıl Hesaplanır?

Aşağıda açıklanan yöntem ile toplam geri kazanımı, % konsantre madde geri kazanımını, % filtre edilmiş madde geri kazanımını hesaplayın. Bu prosedür 20 mg/mL'ye kadar derişimi olan çözeltiler için oldukça yakın geri kazanım sonuçları tahminleri sağlamaktadır.

NOT: Uygun deney teknikleri arasında absorpsiyon spektrofotometrisi, radioimmuno analiz, kırılma indisi ve iletkenlik ölçümü bulunmaktadır.

Doğrudan Tartım Prosedürü

Çoğunlukla seyreltik proteinlerin yoğunlukları suyun yoğunluğuna (1 g/mL) yakın bir değere sahiptir. Bu bilgiyi kullanarak, konsantre madde ve filtre edilmiş madde hacimleri onları tartıp kütle değerlerini hacme çevirerek hesaplanabilir. Bu teknik yalnızca derişim düzeyleri 20 mg/mL ya da daha az olan çözeltiler için geçerlidir.

- Kullanımdan önce ayrı ayrı olarak boş filtreleme cihazını, sentrifüj tüpünü ve konsantre madde toplanması için kullanılacak boş tüpü tartın.
- Filtreleme cihazını çözeltiliyle doldurup yeniden tartın.
- Cihazı yerleştirip açıklamalara göre sentrifüjü başlatın.
- Pipetör ile konsantre maddeyi toplayıp daha önceden boş kütlesi tartılmış bir toplama tüpüne boşaltın.
- Cihazı sentrifüj tüpünden çıkarın ve hem sentrifüj tüpünü hem de konsantre maddenin toplandığı tüpü tartın.
- Boş cihaz ve tüplerin kütlesini bu dolu cihaz/tüp kütlelerinden çıkarın ve başlangıç malzemesi, filtre edilmiş madde ve konsantre madde kütlelerini hesaplayın.
- Çözünmüş madde derişimini belirlemek için başlangıç malzemesi, filtre edilmiş madde ve konsantre maddeyi uygun deney yöntemleriyle analiz edin.
- Geri kazanımları kütle/hacim verileri ve ölçülen derişim değerlerini kullanarak aşağıdaki gibi hesaplayın:

$$\% \text{ konsantre madde geri kazanımı} = 100 \times \frac{W_c \times C_c}{W_o \times C_o}$$

W_c = analizden önce konsantre maddenin toplam ağırlığı
 W_o = orijinal başlangıç maddesinin ağırlığı
 W_f = filtre edilmiş maddenin ağırlığı

$$\% \text{ filtre edilmiş madde geri kazanımı} = 100 \times \frac{W_f \times C_f}{W_o \times C_o}$$

C_c = konsantre maddenin derişimi
 C_o = orijinal başlangıç maddesinin derişimi
 C_f = filtre edilmiş maddenin ağırlığı

$$\% \text{ toplam kazanım} = \% \text{ konsantre madde kazanımı} + \% \text{ filtre edilmiş madde geri kazanımı}$$

Özellikler

Başlangıçtaki örneğin maksimum hacmi

Sallanan kovalı ve sabit açılı çarklar (45° ve 35°)	4,0 mL
Sabit açılı çark (23°)	3,5 mL
Tipik konsantre madde final hacmi	50-100 µL

Maksimum görelî sentrifüj kuvveti

Sallanan kovalı çark	4000 × g
Sabit açılı çark	7500 × g

Aktif membran alanı

	3 cm ²
--	-------------------

Boyutlar

Tüpün içinde (kapağı kapanmış) filtreleme cihazı

Uzunluk: 124 mm Çap: 17,3 mm

Filtreleme cihazı

Uzunluk: 73,4 mm Çap: 17,2 mm

Yapım malzemeleri

Filtreleme cihazı	Stiren/bütadien kopolimer
Membran	Ultracel®'in yenilenebilen düşük bağlayıcı güçlü selülozu
Filtre edilmiş madde tüpü	Polipropilen
Filtre edilmiş maddenin kabı ve astarı	Polietilen
Filtre	MWCO 10K

Kimyasal Uygunluk

Amicon® Ultra sentrifüj cihazları biyolojik akışkanlar ve sulu çözeltilerle kullanımı göz önünde bulunularak üretilmiştir. Kullanımdan önce örneğin cihazla kimyasal olarak uyumluluğunu kontrol edin. İletişim bilgileri için [SigmaAldrich.com/FilterChemicalCompatibility](https://www.sigmaaldrich.com/FilterChemicalCompatibility) adresine gidin.

Sembol Tanımları

Sembol	Tanım	Sembol	Tanım
	In Vitro diagnostik medikal cihazlar		Üretim tarihi
	Katalog numarası		İmalatçı
	Birden fazla kez kullanmayın.		Steril olmayan ürün
	Önerilen son kullanım tarihi		CE uygunluk işareti için
	Sıra numarası		Sıcaklık sınırı
	Kullanım talimatları çevrimiçi olarak mevcuttur		Paket hasar görmüşse kullanmayın
	Ürünle ilgili belgeleri çevrimiçi ortamdan indirin		Birleşik Krallık uygunluk işareti

Ürün Siparişi

Ürünleri çevrimiçi olarak şuradan satın alabilirsiniz [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com).

Tanım	Adet/Paket	Katalog Numarası
	8	UFC801008D
Amicon® Ultra-4	24	UFC801024D
	96	UFC801096D

Uyarı

Müşterilerimize uygulama teknolojileri ve düzenleyici konular hakkında bilgimiz ve yeteneğimiz dâhilinde ancak herhangi bir yükümlülük veya sorumluluk olmaksızın bilgi ve tavsiye veriyoruz. Müşterilerimiz her durumda mevcut yasalara ve yönetmeliklere uymalıdır. Bu, aynı zamanda üçüncü şahısların hakları için de geçerlidir. Sağladığımız bilgi ve tavsiyelerimiz müşterilerimizin, ürünlerimizin öngörülen amaca uygunluğunu kontrol etme sorumluluklarını ortadan kaldırmaz.

Toplama ve Bertaraf

Bütün örnekler net bir şekilde etiketlenmelidir. Örnekleri toplamak ve hazırlamak için uygun cihazlar kullanılmalıdır.

NOT: Potansiyel olarak bulaşıcı ya da tehlikeli biyolojik malzemeyle kontamine olan maddenin bertaraf edilmesi için bütün uygulanabilir uluslararası, federal, devlet ya da yerel yönetmeliklere göre düzenlenmiş önlemleri takip edin.

Teknik Destek

[SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice) adresindeki web sitemizdeki teknik servis sayfasını ziyaret edin.

Cihazla ilgili her türlü ciddi kaza üretici firmaya ve kullanıcının bulunduğu ülkenin ilgili yetki sahibi kişiliğine rapor edilmelidir.

Standart Garanti

Bu belgede listelenen ürünlerin geçerli garantisi [SigmaAldrich.com/terms](https://www.sigmaaldrich.com/terms) adresinde bulunabilir.

Revizyon Tarihçesi

2021-OCT	- IFU PR05779 Yayın Tarihi EKİM 2021 - Mülga PR05139. - IFU, paketlenme hasarları ve sıcaklık sınırlarıyla ilgili semboller eklendi. - Kimyasal uyumluluk ve Sipariş Bilgisi web siteye köprü olarak verildi. - Bertaraf ve Şikayet bilgisi eklendi. - Birleşik Krallık Sorumlu Kişisi ve Birleşik Krallık CA sembol bilgisi eklendi
----------	--



Made in Ireland

Merck Millipore Ltd.
Tullagreen, Carrigtwohill,
Co. Cork, Ireland
T45 KD29

an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany

UK Responsible Person:

Millipore (UK) Ltd.
Kirkton Campus
Fleming Road,
Livingston, UK
EH54 7BN

Merck, Millipore, Amicon, Milli-Q, Ultracel, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.
© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All Rights Reserved.

The life science business of Merck operates
as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

