

Prawidłowy dobór MWCO

Po określeniu objętości próbki kolejnym krokiem jest dobór odpowiedniej wartości MWCO (w przypadku ultrafiltracji) lub wielkości porów (w przypadku mikrofiltracji). Wartości MWCO są wartościami nominalnymi opartymi na zdolności do zatrzymywania > 90% substancji rozpuszczonej o znanej masie cząsteczkowej (w kilodaltonach). Poniższa tabela przedstawia charakterystykę retencji różnych membran MWCO dla niektórych substancji rozpuszczonych. W przypadku białek zaleca się wybór MWCO, które jest od trzech do sześciu razy mniejsze niż masa cząsteczkowa zatrzymywanej substancji rozpuszczonej. Jeśli ważnym czynnikiem jest szybkość przepływu, należy wybrać membranę o MWCO w dolnej części tego zakresu (3X); jeśli głównym czynnikiem jest retencja, należy wybrać membranę o mniejszym MWCO (6X).

Należy pamiętać, że retencja cząsteczki przez membranę ultrafiltracyjną zależy od wielu czynników, a jej masa cząsteczkowa stanowi jedynie ogólny wskaźnik. Dlatego też dobór odpowiedniej wartości MWCO do konkretnego zastosowania wymaga uwzględnienia wielu czynników, w tym kształtu cząsteczki, ładunku elektrycznego, stężenia próbki, składu próbki oraz warunków pracy.

Ponieważ różni producenci stosują różne cząsteczki do określenia MWCO swoich membran, ważne jest przeprowadzenie analiz testowych w celu zweryfikowania wydajności membrany w określonych zastosowaniach.

Typowe czynniki zwiększające przepływ cząstek:

- Stężenie próbki poniżej 1 mg/ml
- Cząsteczki liniowe vs. cząsteczki kuliste
- Wysokie ciśnienie transmembranowe wywołane przeciążeniem w wirówkach. (Ma to szczególne znaczenie w przypadku cząsteczek liniowych, na przykład fragmentów DNA. Zmniejszenie przeciążenia może zwiększyć retencję cząsteczek przez membranę.)
- Skład buforu sprzyjający rozpadowi cząsteczek oraz kwasowość i jonowość, które powodują zmiany w cząsteczce (na przykład zmiany konformacyjne lub agregację)

Typowe czynniki zmniejszające przepływ cząstek:

- Stężenie próbki powyżej 10 mg/ml
- Warunki buforowe sprzyjające agregacji cząsteczek
- Obecność innych cząsteczek zwiększających stężenie próbki
- Niższe ciśnienie transmembranowe (w przypadku wirówek - niższe przeciążenia)
- Adsorpcja na membranie lub urządzeniu
- Niska temperatura (4°C vs. 24°C)

Dobór MWCO dla białek

MWCO	Nominalny rozmiar porów membrany*	Rozmiar biomolekuły	Masa cząsteczkowa biomolekuły
1K	-	-	3K - 9K
3K	-	-	9K - 30K
10K	-	-	30K - 90K
30K	-	-	90K - 300K
100K	10 nm	30 - 90 nm	300K - 900K
300K	35 nm	90 - 200 nm	900K - 3000K

Dobór MWCO dla wirusów

MWCO	Nominalny rozmiar porów membrany*	Średnica wirusa lub cząstki
100K	10 nm	30 - 90 nm
300K	35 nm	90 - 200 nm

Dobór MWCO dla kwasów nukleinowych

MWCO	Pary zasad (DS)	Nukleotydy (SS)
1K	5 - 16 Bp	9 - 32 Bs
3K	16 - 50 Bp	32 - 95 Bs
10K	50 - 145 Bp	95 - 285 Bs
30K	145 - 475 Bp	285 - 950 Bs
100K	475 - 1450 Bp	950 - 2900 Bs
300K	1450 - 9500 Bp	2900 - 9500 Bs

* Nominalny rozmiar porów mierzony za pomocą mikroskopii elektronowej

