

9. Anhang

9.1 Puffer und Reagenzien

Natriumacetatpuffer pH 4,0–6,0:

0,02 M Natriumacetat

0,01 CaCl₂

0,02% NaN₃

pH-Wert einstellen

Phosphatpuffer pH 6,0–8,0:

pH 6,0: 36,9 ml 0,1 M Citrat + 63,1 ml 0,1 M Na₂PO₄

pH 6,4: 30,8 ml 0,1 M Citrat + 69,2 ml 0,1 M Na₂PO₄

pH 7,0: 17,7 ml 0,1 M Citrat + 82,4 ml 0,1 M Na₂PO₄

pH 7,5: 7,8 ml 0,1 M Citrat + 92,2 ml 0,1 M Na₂PO₄

Glycinpuffer pH 3,0–4,0:

50 mM Glycin

pH-Wert mit HCl einstellen

FPLC-Laufpuffer:

0,02 M Natriumacetat

0,15 M NaCl

0,02% NaN₃

pH 6,0 einstellen

Carbonatpuffer pH 10,0:

138 ml 0,2 m Na₂CO₃ (sicc.)

113 ml 0,2 m NaHCO₃

749 ml H₂O

pH 10,0 einstellen

DNSS-Reagenz:

10 mg/l 3,5-Dinitrosalicylsäure

100 ml/l 4 N NaOH

300 g/l Kalium-Natriumtartrat

Bradford–Reagenz:

10 mg Comassie Brilliant Blue in 5 ml 95% Ethanol
10 ml 85%ige Phosphorsäure
auf 100 ml mit Wasser auffüllen (bei 4°C aufbewahren)

Pufferlösungen für SDS–Gele

1,5 M Tris/HCl–Puffer; pH 8,8:

18,15 g Tris

40–45 ml H₂O vorlegen, mit 1 N HCl bis zum pH 8,8 titrieren (bei 4°C aufbewahren)

0,5 M Tris/HCl–Puffer; pH 6,8:

6,0 g Tris

40–45 ml H₂O vorlegen, mit 1 N HCl bis zum pH 8,8 titrieren (bei 4°C aufbewahren)

10%ige SDS–Lösung

10 g Natrium–Dodecyl–Sulfat auf 100 ml H₂O (bei RT aufbewahren)

Laufpuffer pH 8,3 (10fach konzentriert):

9 g Tris

43,2 g Glycine, auf 500 ml mit H₂O auffüllen.

Gebrauchslösung:

40 ml Laufpuffer + 4 ml 10%ige SDS mit H₂O auf 400 ml auffüllen

Probenpuffer:

4 ml H₂O

1 ml 0,5 mol Tris/HCl–Puffer

0,8 ml Glycerol

1,6 ml 10%ige SDS

0,4 ml 2–6–Mercaptoethanol

0,2 ml Bromphenolblau (0,1%)

Das Verhältnis Probe/Probenpuffer liegt bei 1:4.

Acrylamide/BIS:

29,2 g Acrylamide

0,8 g N'N'–bis–Acrylamide

mit H₂O auf 100 ml auffüllen.

Stock-Solutions:

Komponenten	Trenngel	Sammelgel
Acrylamide/BIS	4,8 ml	0,65 ml
1,5 M Tris/HCl, pH 8,8	3,28 ml	–
0,5 M Tris/HCl, pH 6,8	–	1,25 ml
10%ige SDS-Lösung	130 μ l	50 μ l
H ₂ O bzw. Lichenin, Xylan-Lsg.	3,06 ml	3,05 ml
Glycerin	660 μ l	–
10% APS-Lsg.	66 μ l	25 ml
Temed	6 μ l	5 ml

Belegung der Bahnen mit 0,5–1 μ g Protein (nach Bradfordtest)

Lösungen zur Proteinfärbung im Gel:

Färbelösung:

1 g/l	Comassie Blue R250
5 Teile	Methanol
1 Teil	Essigsäure
1 Teil	H ₂ O

Entfärbelösung:

1 Teil	Methanol
1 Teil	Essigsäure
1 Teil	H ₂ O

9.2 Produktbeschreibung Haferspelzenxylan

Artikelnummer 9289

Reinheit: aus Haferspelzen

Formel: $(C_5H_8O_4)_n$

Molekulargewicht $(132)_n$

Tabelle 51: Produktspezifikation (Analysezertifikate, Fa. Roth, Karlsruhe) einiger Haferspelzenxylanchargen

Charge:	13626880	47629581	47628581	09730775
Aspekt	beiges bis hellbraunes Pulver			
Löslichkeit (1% G/V, NaOH 5%)	klar			
Trockenverlust	3,4	8,2	8,2	8,2
spez. Drehung (c=1,2, in 5%iger NaOH)	-79,3°	-84,1	-84,1	-84,1

9.3 Gradienten-Programm der HPLC

Eluent A: 0,1 m NaOH

Eluent B: 0,1 m NaOH + 1 m NaOAC

Init	A	B	
20'	95	5	
30'	79	21	
40'	0	100	
45'	0	100	Spülprogramm

dann wieder auf Anfangsbedingungen und ca. 10 min equilibrieren