

Colonne Agilent BioHPLC

IDENTIFICATION DES PROTÉINES ET PROFILAGE DES IMPURETÉS AVEC HPLC/UHPLC EN PHASE INVERSE

The Measure of Confidence



Agilent Technologies

HPLC/UHPLC EN PHASE INVERSE

Boostez votre précision et votre productivité avec Agilent

La phase inverse est utilisée pour confirmer l'identité des protéines et le profilage des impuretés, et pour quantifier les modifications post-traductionnelles.

La technique, qui permet d'effectuer la séparation sur la base des différences d'hydrophobicité, utilise des conditions dénaturantes. Elle fournit des informations à propos de la séquence primaire d'acides aminés, ainsi que des variations et modifications de la séquence.

Notre vaste gamme de colonnes BioHPLC en phase inverse et de pores de grande taille (300 Å, 450 Å et plus) est appuyée par des experts en support technique et des chimistes d'application à travers le monde. La gamme comporte des particules entièrement poreuses de 1,8, 3,5 et 5 µm pour des pressions de 400 à 1200 bars, des particules Poroshell (superficiellement poreuses) pour les séparations par UHPLC à des pressions plus basses ainsi que des colonnes polymériques pour des analyses dans les conditions extrêmes.



Colonnes Agilent AdvanceBio RP-mAb : reposant sur la technologie Poroshell, dotée d'une conception de diamètre de pore et de phase greffée unique, ces colonnes offrent une meilleure résolution et des temps d'analyse plus rapides permettant d'obtenir des résultats reproductibles précis lors de l'analyse d'anticorps monoclonaux intacts et de fragments mAb.

Colonnes Agilent AdvanceBio Peptide Mapping : résolvez et identifiez rapidement les modifications d'acides aminés dans la structure primaire. Avec leurs particules de 2,7 μm et leur fonctionnalité C18, les colonnes AdvanceBio Peptide Mapping offrent une excellente rétention, résolution et forme de pic pour les peptides hydrophobes de base.

Colonnes Agilent Poroshell 300 : les premières colonnes à faible granulométrie superficiellement poreuses destinées à des séparations rapides de polypeptides et protéines.

Colonnes Agilent ZORBAX RRHD 300 Å 1,8 μm : offrent des performances UHPLC pour des séparations en phase inverse de protéines intacts, de fragments de protéines et de digestions avec une stabilité à 1200 bars.

Colonnes Agilent ZORBAX 300 Å 3,5 & 5 μm : matériaux entièrement poreux pour HPLC et séparations préparatives ; une grande partie des phases greffées sont transposables sur une taille de particule de 1,8 μm .

Colonnes Agilent PLRP-S : les particules polymères macroporeuses permettent des séparations HPLC sur la plus grande plage de pH. Avec trois diamètres de pores de grande taille et 8 granulométries, les colonnes PLRP-S offrent des solutions optimales pour les séparations préparatives analytiques des peptides, protéines et complexes protéiques.



AU SOMMAIRE

Colonnes AdvanceBio RP-mAb

Pour anticorps monoclonaux intacts et fragments mAb **Page 5**

Colonnes AdvanceBio Peptide Mapping

Pour les peptides hydrophobes basiques **Page 7**

Colonnes Agilent Poroshell 300

Pour les séparations de protéines intacts **Page 10**

Colonnes ZORBAX RRHD

Pour les protéines intacts et digestions de peptides **Page 15**

Colonnes Agilent ZORBAX 300StableBond

Pour les séparations à faible pH **Page 17**

Colonnes PLRP-S

Pour la stabilité dans des conditions extrêmes **Page 18**

Guide de sélection des colonnes/ Informations de commande **Page 20**

Pour en savoir plus sur les séparations de protéines haute résolution avec les colonnes en phase inverse d'Agilent, rendez-vous sur le site agilent.com/chem/AdvanceBio

HPLC EN PHASE INVERSE

Quelle colonne de LC rapide est la mieux adaptée à vos séparations en phase inverse ?

Agilent propose la plus large gamme de colonnes HPLC/UHPLC rapides à grand diamètre de pore, qui vous permet de créer des méthodes avec une résolution maximale, que ce soit avec un instrument 400, 600 ou 1200 bars. Pour être efficace, la séparation des protéines et des peptides exige des colonnes à large diamètre de pore (300 Å), car la phase greffée est alors complètement accessible à ces composés.

Sélection de colonnes en phase inverse			
Application	Colonnes Agilent	Remarques	
Anticorps monoclonaux intacts et fragments mAb	AdvanceBio RP-mAb, 450 Å, 3,5 µm • SB-C8 • C4 • Diphényle	Pour réussir à séparer efficacement les grosses biomolécules comme les mAb intacts, il est nécessaire d'utiliser des particules avec des pores de grands diamètres car elles permettent aux analytes d'avoir un accès complet à la phase greffée. Le recours à la technologie Poroshell, avec des distances de diffusion réduites, améliore davantage cette efficacité. La chimie C4 convient bien aux séparations des mAb, offrant une grande stabilité à pH faible et une bonne compatibilité avec des méthodes nécessitant les colonnes USP L26. La colonne StableBond C8 dispose des propriétés de transposition d'échelle et de transfert de méthode. La phase diphényl, une exclusivité d'Agilent, offre une sélectivité alternative.	Appartient à la gamme AdvanceBio
Protéines intactes, anticorps monoclonaux, fragments mAb et polypeptides	ZORBAX 300 Å, 1,8 µm • RRHD 300SB-C18 • RRHD 300SB-C8 • RRHD 300SB-C3 • RRHD 300-Diphényle	L'optimisation des processus de remplissage offre une stabilité pouvant atteindre 1 200 bars avec les colonnes LC Agilent 1290 Infinity. Les colonnes Haute Définition à Résolution Rapide (RRHD) 1,8 µm sont disponibles dans les longueurs de 50 et 100 mm pour des séparations rapides ou à haute résolution - une réelle haute définition - de vos échantillons les plus complexes. La technologie StableBond en C18 est parfaite pour les séparations de digestions de protéine et de protéines complexes.	Appartient à la gamme AdvanceBio
	ZORBAX 300 Å, 3,5 et 5 µm • 300SB-C18 • 300SB-C8 • 300SB-C3 • 300SB-CN	Idéal avec les systèmes HPLC. La technologie StableBond en C3 et CN est utile avec les composés plus gros et plus hydrophobes.	
	ZORBAX 300 Å Extend-C18	Incorpore un unique silane bidentate, combiné avec un processus de double greffage terminal qui protège la silice de la dissolution à des pH élevés – jusqu'à 11,5.	
Grosses protéines intactes, anticorps monoclonaux	Poroshell 300 • 300SB-C18 • 300SB-C8 • 300SB-C3 • 300Extend-C18	Les colonnes Poroshell utilisent une particule unique faite d'une couche de silice poreuse sur un noyau plein en silice. La distance de diffusion des protéines est ainsi réduite, ce qui rend possible des séparations HPLC de protéines et peptides pratiques et rapides.	Appartient à la gamme AdvanceBio
Peptides	AdvanceBio Peptide Mapping	Un diamètre de pore de 120 Å, idéal pour l'identification des peptides dans une large gamme de poids moléculaires. Testée avec un mélange complexe de peptides afin d'en assurer les performances. La technologie Poroshell, une exclusivité Agilent, permet d'obtenir un plus grand débit et une meilleure résolution de toute la séquence du peptide.	Appartient à la gamme AdvanceBio
Des peptides à l'ADN	PLRP-S • 100 Å • 300 Å • 1000 Å • 4000 Å	Les particules étant intrinsèquement hydrophobes, il n'est pas nécessaire de recourir à un ligand alkyle de la phase greffée pour les séparations en phase inverse. Cela permet d'obtenir un matériau de 100 Å extrêmement reproductible, ne présentant pas de groupements silanols ni d'ions métalliques lourds.	
Synthèse/Petites molécules	PLRP-S 100 Å		
Peptides et protéines recombinants	PLRP-S 300 Å		
Grosses protéines	PLRP-S 1000 Å		
Séparation ultra rapide/ADN	PLRP-S 4000 Å		
Acides aminés	Analyse des acides aminés (AAA) ZORBAX	Testée en utilisant des chimies de dérivation précolonne OPA et FMOc bien connues. Options disponibles pour les systèmes HPLC et UHPLC	

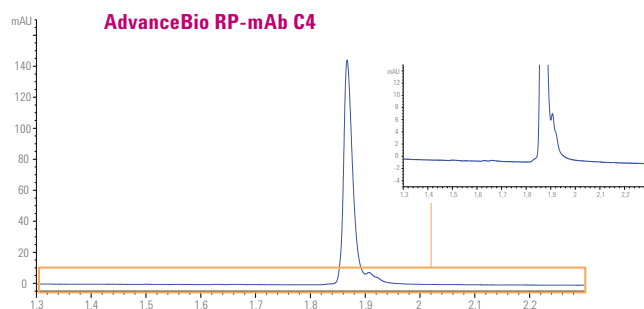
COLONNES ADVANCEBIO RP-mAb POUR MIEUX SÉPARER LES mAb PLUS RAPIDEMENT

La colonne Agilent AdvanceBio RP-mAb offre une meilleure résolution et des temps d'analyse plus rapides permettant d'obtenir des résultats reproductibles précis lors de l'analyse d'anticorps monoclonaux dans le cadre de l'exploration, le développement et les applications d'assurance qualité / contrôle qualité en biopharmacie.

La technologie Poroshell, une exclusivité Agilent, intégrée dans chaque colonne AdvanceBio RP-mAb, offre les avantages suivants :

- ▶ **Précision supérieure** : des particules partiellement poreuses (3,5 µm) avec des pores de grande taille (450 Å) augmentent la résolution des mAb tout en maintenant la compatibilité avec tous les instruments LC
- ▶ **Vitesse** : un temps d'analyse plus court comparativement aux colonnes remplies de particules entièrement poreuses de même diamètre (**figure 1**)
- ▶ **Coûts réduits** : le fritté d'entrée de 2 µm et le remplissage Poroshell robustes prolongent la durée de vie de la colonne en aidant à éviter l'obstruction de l'injecteur
- ▶ **Développement de méthodes flexibles** : gamme de chimies : SB-C8, C4, et diphényle

Pics fins et détaillés pour des analyses courtes : caractérisation en moins de 2 minutes

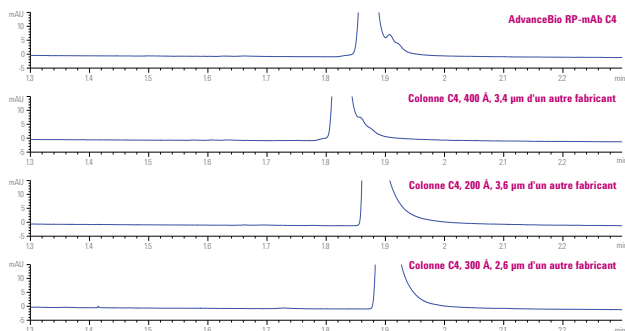


Paramètres de la méthode

Dimensions de la colonne : 2,1 x 100 mm, 3,5 µm
 Phase mobile A : 0,1 % TFA dans l'eau:IPA (98:2)
 Phase mobile B : IPA:ACN:phase mobile A (70:20:10)
 Débit : 1,0 ml/min
 Gradient : 10-58 % B en 4 min, 1 min de rinçage à 95 % de B, 1 min de stabilisation à 10 % de B
 Échantillon : injection de 5 µl d'herceptine recombinée humanisée IgG1 intacte de Creative Biolabs (1 mg/ml)
 Température : 80 °C
 Détection : UV à 254 nm

Figure 1. La colonne AdvanceBio RP-mAb C4 a fourni en moins de 2 minutes les résultats de l'analyse d'herceptine recombinée humanisée intacte IgG1, avec une excellente forme de pic et une résolution précise.

Les colonnes de séparation des protéines Agilent AdvanceBio sont supérieures à celles proposées par la concurrence



Paramètres de la méthode

Dimensions de la colonne : 2,1 x 100 mm, 3,5 µm
 Phase mobile A : 0,1 % TFA dans l'eau:IPA (98:2)
 Phase mobile B : IPA:ACN:phase mobile A (70:20:10)
 Débit : 1,0 ml/min
 Gradient : 10-58 % B en 4 min, 1 min de rinçage à 95 % de B, 1 min de stabilisation à 10 % de B
 Échantillon : injection de 5 µl d'herceptine recombinée humanisée IgG1 intacte de Creative Biolabs (1 mg/ml)
 Température : 80 °C
 Détection : UV à 254 nm

Figure 2. Conçues spécifiquement pour la séparation des mAb, les colonnes AdvanceBio RP-mAb offrent une forme et une résolution des pics supérieures à celles obtenues avec d'autres colonnes de séparation de protéines intactes.

Pour en savoir plus sur les séparations de protéines haute résolution avec les colonnes en phase inverse d'Agilent, rendez-vous sur le site agilent.com/chem/AdvanceBio

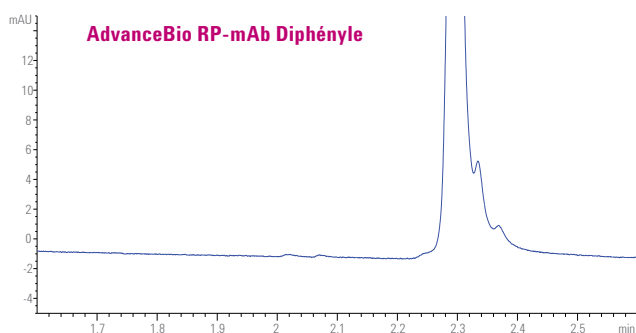
Pour des séparations de mAb avec une vitesse et une fiabilité exceptionnelles

Comme pour *toutes* les colonnes fabriquées par Agilent, les colonnes AdvanceBio RP-mAb sont soumises à des tests de contrôle qualité complets et rigoureux qui garantissent reproductibilité et performance.

Dans cet exemple (**figure 3**), l'herceptine recombinée humanisée IgG1 intacte a été caractérisée à l'aide de la colonne AdvanceBio RP-mAb Diphényle. La phase diphényle unique révèle les moindres détails.

La **figure 4** montre comment la technologie Poroshell, à large diamètre de pore, de la colonne AdvanceBio RP-mAb permet une analyse rapide, très efficace, à faible pression et à une température inférieure à 80 °C, la température typique de nombreuses méthodes en phase inverse.

Phase diphényle sélective, pour une meilleure résolution des détails

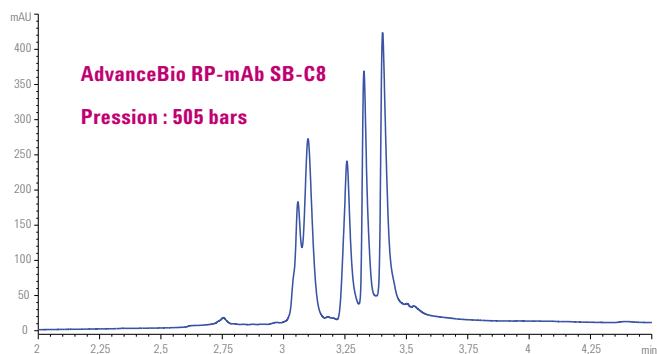


Paramètres de la méthode

Dimensions de la colonne : 2,1 x 100 mm, 3,5 µm
Phase mobile A : 0,1 % TFA dans l'eau:IPA (98:2)
Phase mobile B : IPA:ACN:phase mobile A (70:20:10)
Débit : 1,0 ml/min
Gradient : 10-58 % B en 4 min, 1 min de rinçage à 95 % de B, 1 min de stabilisation à 10 % de B
Échantillon : injection de 5 µl d'herceptine recombinée humanisée IgG1 intacte de Creative Biolabs (1 mg/ml)
Température : 80 °C
Détection : UV à 254 nm

Figure 3. La sélectivité unique de la colonne AdvanceBio RP-mAb Diphényle permet de révéler les moindres détails.

L'avantage Poroshell : grande précision, faible contrepression



Paramètres de la méthode

Dimensions de la colonne : 2,1 x 100 mm, 3,5 µm
Phase mobile A : 0,1 % de TFA dans l'eau
Phase mobile B : n-propanol:ACN:phase mobile A (80:10:10)
Débit : 0,8 ml/min
Gradient : 5-40% B en 5 min, 1 min de rinçage à 95 % de B, 1 min de stabilisation à 10 % de B
Échantillon : injection de 1 µl de Fc/Fab d'herceptine recombinée humanisée IgG1 digérée par la papaïne, de Creative Biolabs (2 mg/ml)
Température : 60 °C
Détection : UV à 220 nm

Figure 4. Les colonnes AdvanceBio RP-mAb sont performantes à des températures inférieures à 80 °C.

COLONNES ADVANCEBIO PEPTIDE MAPPING

Réduisez le temps de cartographie peptidique sans perdre en résolution

Les colonnes AdvanceBio Peptide Mapping d'Agilent vous permettent de résoudre et d'identifier rapidement les modifications d'acides aminés dans la structure primaire, contrairement aux colonnes entièrement poreuses qui peuvent prendre 60 minutes pour y parvenir.

Ces biocolonnes avancées incluent un diamètre de pore de 120 Å avec des particules superficiellement poreuses de 2,7 µm. Elles ont été élaborées pour vous apporter les avantages suivants :

► **Fiabilité analytique supérieure** : chaque lot de support de cartographie peptidique AdvanceBio est testé avec un mélange de peptides rigoureux afin d'assurer l'adéquation et la reproductibilité, mais aussi de permettre l'identification des peptides principaux sur des cartes peptidiques complexes.

► **Gain de temps** : divisez par deux ou trois le temps des séparations haute résolution qui utilisent les colonnes HPLC entièrement poreuses.

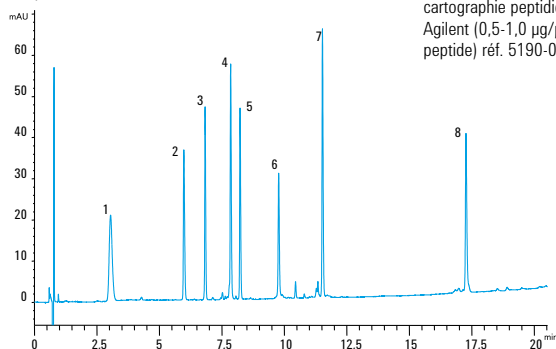
► **Chaque instrument travaille plus efficacement** : les colonnes à d.i. de 4,6, 3,0 et 2,1 mm étant stables jusqu'à 600 bars, vous pouvez tirer le meilleur parti de vos instruments UHPLC. Elles peuvent aussi fournir d'excellentes performances pour vos anciens instruments 400 bars.

► **Flexibilité accrue** : augmentez la sensibilité MS avec des phases mobiles contenant de l'acide formique sur tout HPLC.

Test d'assurance qualité avec le mélange de peptides

Colonne : **AdvanceBio Peptide Mapping**, Détection : 220 nm
 2,1 x 150 mm, 2,7 µm, Gradient : A, eau (0,1 % de TFA), B, ACN (0,08 % de TFA), 0-25 min, 15-65 % B ; 25-26 min, 65-95 % B
 Débit : 0,5 ml/min
 Injection : 5 µl
 Temp. : 55 °C

Échantillon : Mélange d'étalons pour cartographie peptidique Agilent (0,5-1,0 µg/µl par peptide) réf. 5190-0583



No. pic	MM	Composant
1	757	Fragment de bradykinine 1-7
2	1060	Bradykinine
3	1046	Angiotensine II
4	1673	Neurotensine
5	1295	Angiotensine I
6	2465	Fragment d'ACTH 18-39
7	1759	Rénine
8	2845	Mélicitine



Figure 5. Mélange test utilisé pour chaque lot de support AdvanceBio Peptide Mapping. Le mélange contient 8 peptides hydrophiles, hydrophobes et basiques, d'un poids moléculaire de 757 Da à 2845 Da. Chaque colonne est aussi testée avec une petite molécule pour assurer l'efficacité.

Carte peptidique d'une EPO biosimilaire

Colonne : **AdvanceBio Peptide Mapping**, Injection : 5 µl (2,0 mg/ml)
 2,1 x 250 mm, 2,7 µm, Temp. : 55 °C
 réf 651750-902 Détection : 220 nm
 Débit : 0,5 ml/min Gradient : A, w n, 60-95 % B

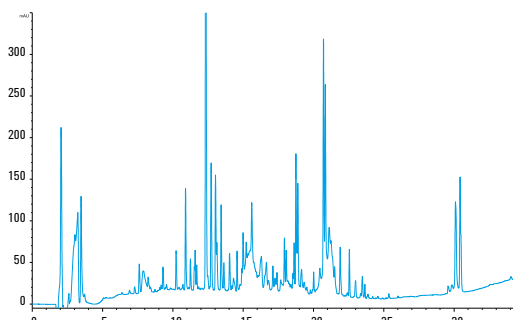


Figure 6. La colonne AdvanceBio Peptide Mapping confirme facilement l'identité de la protéine et identifie toutes les modifications post-traductionnelles.

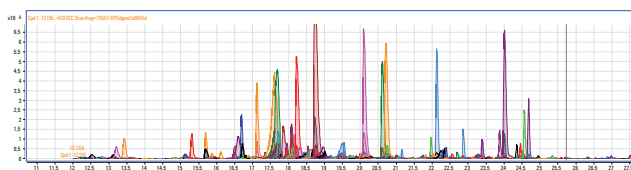


Figure 6a. Digestion d'EPO, LC/MS TOF 95 % de couverture de séquence obtenue avec le logiciel MassHunter Workstation

Pour en savoir plus sur les séparations de protéines haute résolution avec les colonnes en phase inverse d'Agilent, rendez-vous sur le site agilent.com/chem/AdvanceBio

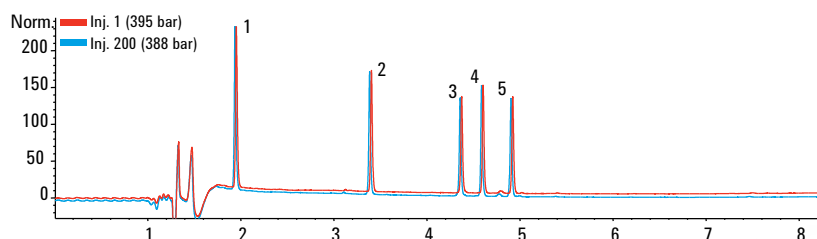
Une excellente reproductibilité

La science sur laquelle repose les colonnes AdvanceBio introduit de nombreux avantages : amélioration de la précision, de la productivité et de l'efficacité, et augmentation de la rapidité d'analyse biopharmaceutique. De plus, les colonnes AdvanceBio subissent des tests rigoureux afin d'assurer la reproductibilité et d'augmenter la fiabilité de vos résultats.

La **figure 7** démontre la reproductibilité supérieure entre lots et analyses pouvant être obtenue avec les colonnes AdvanceBio Peptide Mapping.

Reproductibilité entre lots après 200 injections

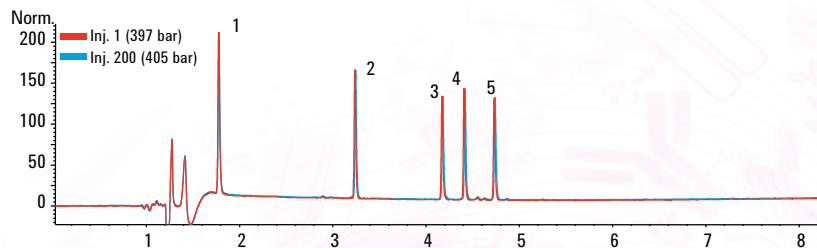
Lot de silice PEP1227229



Injection	TR2 (min)	TR3 (min)	TR4 (min)	TR5 (min)
1	3,39	4,36	4,59	4,90
200	3,52	4,48	4,70	5,02

Injection	LP2	LP3	LP4	LP5
1	0,020	0,021	0,020	0,022
200	0,020	0,021	0,019	0,021

Lot de silice B12169



Injection	TR2 (min)	TR3 (min)	TR4 (min)	TR5 (min)
1	3,36	4,29	4,52	4,85
200	3,24	4,18	4,41	4,74

Injection	LP2	LP3	LP4	LP5
1	0,019	0,020	0,019	0,020
200	0,019	0,020	0,019	0,020

Colonne : **AdvanceBio Peptide Mapping.**
2,1 x 250 mm, 2,7 µm,
réf 651750-902

Débit : 0,50 ml/min.
Injection : 1 µl
Temp. : 55 °C

Détection : 220 nm
Gradient : A, eau (0,1 % de TFA), B, ACN (0,08 % de TFA),
0-8 min,10-60% B ; 8,1-9 min, maintien 95 % B

Échantillon : Étalons de peptide HPLC sigma :
1- Gly-Tyr, 2-Val-Tyr-Val, 3-Met Enk,
4- Angio II, 5- Leu Enk

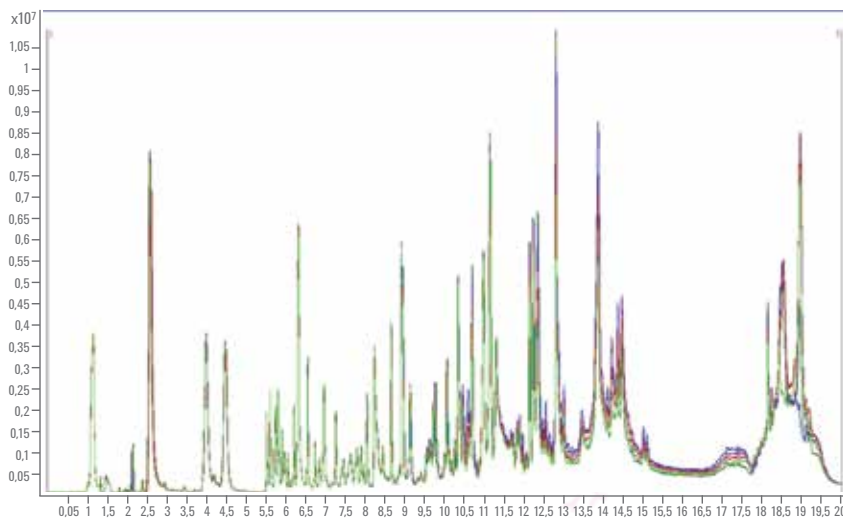
Figure 7. Une colonne AdvanceBio Peptide Mapping 2,1 x 250 mm a été utilisée pour une résolution maximale.

Idéal pour les séparations de peptides rapides et haute résolution

Nos colonnes AdvanceBio Peptide Mapping sont composées de silice superficiellement poreuse 2,7 μm ultrapure (>99,995 % SiO_2). Elles sont densément greffées au C18 afin de fournir la sélectivité élevée nécessaire aux séparations de peptides. Ce type de particule offre une meilleure efficacité à des pressions plus basses par rapport à de petites particules entièrement poreuses.

La **figure 8** illustre comment les colonnes AdvanceBio Peptide Mapping assurent la reproductibilité des hauteurs de pics et des temps de rétention, et affinent l'identification des peptides cibles.

Reproductibilité LC/MS



Colonne : **AdvanceBio Peptide Mapping**,
3,0 x 150 mm, 2,7 μm ,
réf 653950-302

LC/MS (Agilent 6520 Q-TOF) Paramètres :
gaz de dessiccation : 10 l/min, Vcap : 4000 V.
Fragmenteur : 150 V
Débit : 0,3 ml/min
Injection : 1 μl
Temp. : 40 °C
Gradient : A, eau (0,1 % de FA), B, ACN (0,10 % de FA),
0-3 min, 2 % B ; 3-13 min, 2-45 %
B ; 13-15 min, 45-65 % B ; 15,1-17 min,
maintien 90 % B

Échantillon : Stratagene mAb, digestion tryptique interne

Figure 8. Cette carte peptidique de tryptique IgG1 complète a été réalisée en seulement 20 minutes (n=5).



Pour en savoir plus sur les séparations de protéines haute résolution avec les colonnes en phase inverse d'Agilent, rendez-vous sur le site agilent.com/chem/AdvanceBio

COLONNES AGILENT POROSHELL 300

Séparation rapide et fiable des protéines intactes et fragments de protéines

Les colonnes Agilent Poroshell sont le choix idéal pour séparer et caractériser des biomolécules complexes, y compris les intactes et les fragments de protéines à des pressions atteignant 400 bars.

Pour une analyse rapide des protéines intactes, nous recommandons les colonnes Agilent Poroshell 300. La particule superficiellement poreuse de la Poroshell 300 est un matériel de chromatographie révolutionnaire qui produit des séparations RP-HPLC haute résolution très rapides des protéines et autres macromolécules.

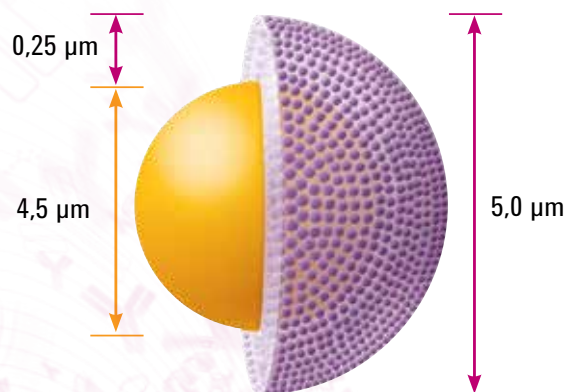
Les colonnes Poroshell sont particulièrement conseillées pour les séparations rapides des macromolécules en raison de leur faible résistance au transfert de masse dans et hors de leur fine couche poreuse de 300 Å. Cette caractéristique produit des pics plus étroits avec une résolution et une précision supérieures du profilage des impuretés et des modifications post-traductionnelles.

Temps d'analyse plus court et résolution supérieure, avec des pressions de colonne inférieures

Fonctionnalité	Avantage
Surface poreuse de 0,25 µm, 300 Å sur particules solides	<ul style="list-style-type: none">• Distances de diffusion plus courtes pour des temps d'analyse plus courts
Particule 5 µm	<ul style="list-style-type: none">• Pression de fonctionnement plus basse• Durée de vie de la colonne améliorée due à la minimisation du piégeage de l'échantillon• Résolution et efficacité UHPLC à des pressions plus basses, pour des séparations plus rapides
Chimie StableBond	<ul style="list-style-type: none">• Stabilité avérée à pH faible• Longue durée de vie de la colonne avec TFA et acide formique



Poroshell 300



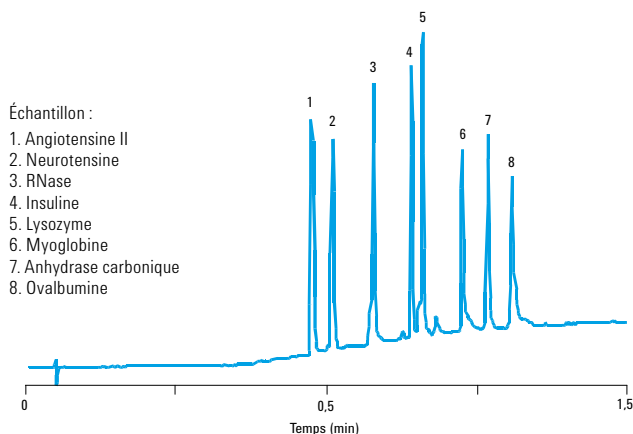
Utilisez les colonnes Poroshell 300 pour analyser les protéines intactes et les grands fragments de peptides.

Débits élevés avec d.i. 2,1 mm

Avec leurs pores de grand diamètre de 300 Å et leur fine couche poreuse, les colonnes Poroshell 300 constituent un choix fiable pour la séparation rapide de protéines intactes. La séparation indiquée à la **figure 9** a été terminée en moins de 1,5 minute.

Avec la capacité de transfert de masse rapide des particules poreuses en surface, les colonnes Poroshell 300 se prêtent particulièrement bien aux séparations extrêmement rapides et à haute efficacité des protéines.

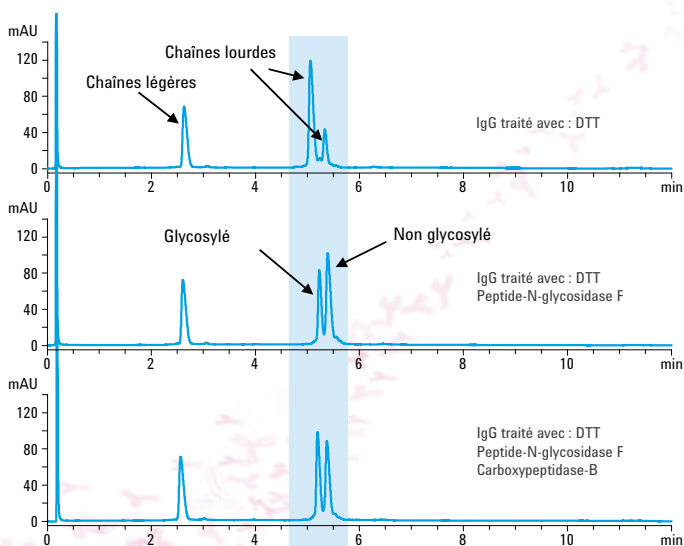
Séparation des peptides et protéines



Colonne : **Poroshell 300SB-C18**, 2,1 x 75 mm, 5 µm
 Phase mobile : A : 0,1 % de TFA
 B : 0,07% de TFA + AcN
 Débit : 3,0 ml/min
 Température : 70 °C
 Détection : UV 215 nm
 Gradient : 5 à 100 % B en 1,0 min
 Pression : 250 bar

Figure 9. Séparation de 8 peptides et protéines en moins de 1,5 minute, et bonne capacité de pic pour la séparation rapide des échantillons complexes.

Séparation des chaînes lourdes et légères d'anticorps monoclonaux



Gradient :

Temps (min)	% solvant B
0,00	25
10,00	40
10,10	25
12,00	25

Colonne : **Poroshell 300SB-C8**, 2,1 x 75 mm, 5 µm
 Phase mobile : A : H₂O-ACN (90:10)
 B : H₂O-ACN (10:90)
 A et B contiennent 0,1 % de TFA et 3 ml/l de PEG 300
 Débit : 1,0 ml/min
 Température : 70 °C
 Détection : UV 210 nm

Figure 10. Comparaison chromatographique d'IgG d'anticorps après réduction et séparation enzymatique.

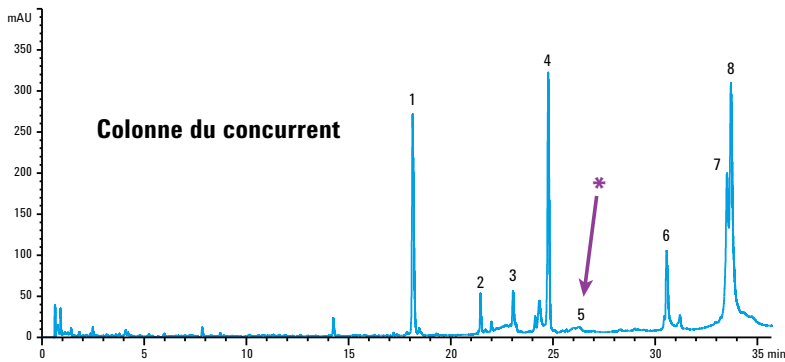
Pour en savoir plus sur les séparations de protéines haute résolution avec les colonnes en phase inverse d'Agilent, rendez-vous sur le site agilent.com/chem/AdvanceBio

Avantage d'une séparation ultrarapide

En matière de séparation rapide, les colonnes 5 µm Poroshell 300 offrent des avantages considérables par rapport aux colonnes concurrentes superficiellement poreuses 3,7 µm, 150 mm (faible débit).

Dans le **figure 11**, la colonne Poroshell 300 a maintenu une résolution critique à des vitesses de séparation ultrarapides avec des gradients balistiques, tout en conservant des contre-pressions de type HPLC inférieures à 400 bars. La colonne Agilent Poroshell 300 résout les 8 protéines 12x plus rapidement que la colonne superficiellement poreuse alternative.

Poroshell 300 contre Concurrent

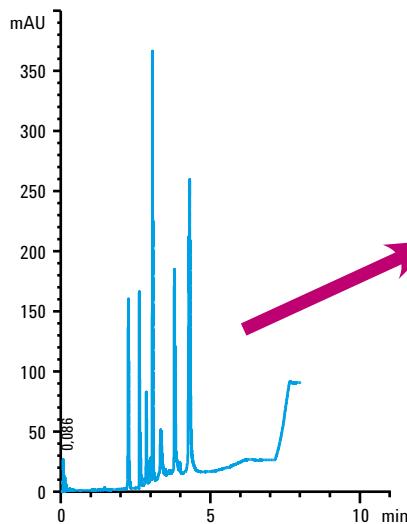


Colonne : **Colonne du concurrent : C18**, 2,1 x 150 mm, 3,7 µm
 Échantillon : Mélange d'étalons de protéines (13 kDa- 660 kDa)
 Phase mobile : A : eau (0,1 % TFA)
 B : AcN (0,08 % de TFA)
 Température : 40 °C
 DAD : UV 215 nm
 Gradient : 5-90 % B, 60 min, 0,3 ml/min

Échantillon :

1. Ribonucléase A	5. Transferrine
2. Lysozyme	6. Myoglobine
3. Cytochrome C	7. B-amylase
4. Insuline	8. Thyroglobuline

Colonne Agilent 12x plus rapide



Colonne : **Poroshell 300SB-C18**, 2,1 x 75 mm, 5 µm
 Phase mobile : A : eau (0,1 % TFA)
 B : AcN (0,08 % de TFA)
 Température : 40 °C
 DAD : UV 215 nm
 Gradient : 5-90 % B, 5 min, 2,5 ml/min

* La colonne Agilent Poroshell 300 offre une meilleure forme de pic pour une précision supérieure dans l'analyse du pic 5, transferrine.

Figure 11. Avantage d'une séparation ultrarapide avec les colonnes Poroshell 300 SB-C18 par rapport à celle d'un concurrent.

Les choix de phase greffée offrent une plus grande puissance de résolution et une meilleure rendement

Les colonnes HPLC Poroshell 300 sont disponibles en quatre phases greffées 300SB-C18, C8, C3, et 300Extend-C18.

La réduction de la chaîne réduit l'hydrophobicité des phases greffées 300SB-C8 et 300SB-C3. Par exemple, l'insuline et le cytochrome c sont résolus à la ligne de base sur la colonne Poroshell 300SB-C3, tandis que ces mêmes analytes co-éluent sur la colonne Poroshell 300SB-C18 dans les conditions décrites à la **figure 12**.

Pour certains échantillons complexes, le rendement des protéines peut poser problème. Il s'est avéré que l'utilisation des colonnes Poroshell 300SB-C8 et C3 moins hydrophobes améliore le rendement.

La **figure 13** montre les traces résultant de l'injection de 100 µl de bouillon de fermentation sur une colonne Poroshell 300SB-C3, suivies de la trace propre immédiatement après une injection à blanc de 100 µl d'eau. Le meilleur rendement d'échantillon et la résolution de paires critiques de pics améliorent la précision de l'analyse des protéines.

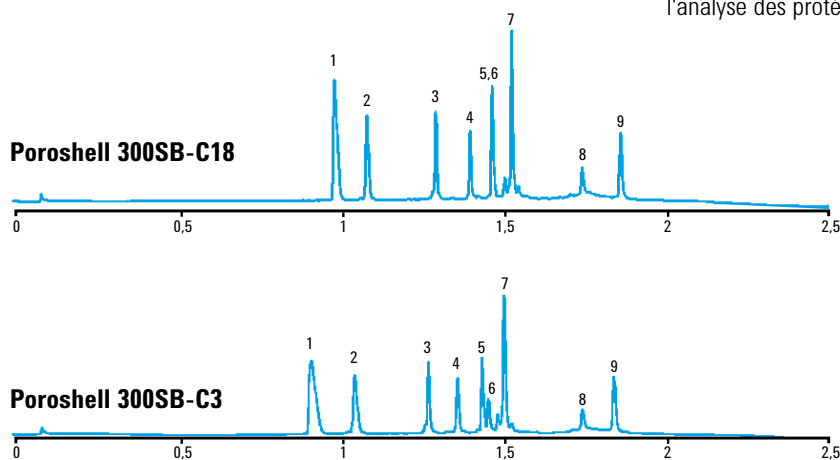


Figure 12. Poroshell 300SB-C3 résout les pics 5 et 6, l'insuline et le cytochrome c, qui co-éluent avec la phase C18 plus hydrophobique C18.

Colonnes : **Poroshell 300SB-C18**,
2,1 x 75 mm, 5 µm
Poroshell 300SB-C3,
2,1 x 75 mm, 5 µm
Phase mobile : A : 0,1 % de TFA/H₂O
B : 0,07 % de TFA/AcN
Débit : 0,5 ml/min
Température : 70 °C
Gradient : 5 à 100 % B en 3,0 min
Détection : UV 215 nm

Échantillon :
1. Angiotensine II
2. Neurotensine
3. RNase A
4. Insuline chaîne B
5. Insuline
6. Cytochrome C
7. Lysozyme
8. Myoglobine
9. Anhydrase carbonique

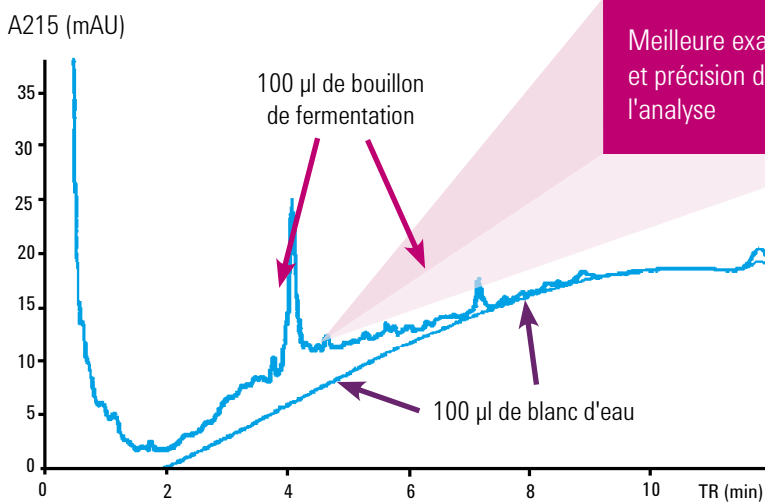


Figure 13. Pas d'effet mémoire avec la colonne Agilent Poroshell 300SB-C3.

Colonne : **Poroshell 300SB-C3**,
2,1 x 75 mm, 5 µm
Phase mobile : A : 0,1 % de TFA/H₂O
B : 0,07 % de TFA/AcN
Débit : 1,0 ml/min
Température : 50 °C
Gradient : 10 à 60 % de B en 10,5 min,
à 100 % de B en 1 min
Injection 100 µl de bouillon
de fermentation clarifié suivie
immédiatement d'une injection
d'eau (blanc)
Détection : UV 215 nm

Pour en savoir plus sur les séparations de protéines haute résolution avec les colonnes en phase inverse d'Agilent, rendez-vous sur le site agilent.com/chem/AdvanceBio

Obtenez une sélectivité exceptionnelle à partir d'un pH 2-11,5

La **figure 14** montre que les différences de sélectivité, associées au pouvoir de résolution élevé des colonnes Poroshell 300, peuvent vous aider à obtenir des améliorations très favorables dans votre séparation.

Les colonnes Poroshell 300Extend-C18 associent le silane bidentate à un processus de double greffage terminal qui protège

la silice de la dissolution à pH élevé afin de prolonger la durée de vie de la colonne et d'améliorer la ligne de base à un pH plus élevé.

La **figure 15** présente la séparation rapide des petites protéines et polypeptides en moins d'une minute avec la phase la plus hydrophobe, C18.

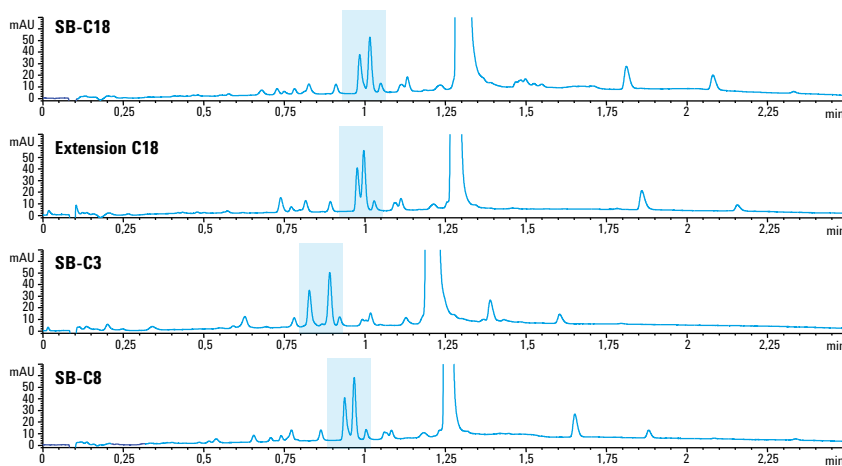


Figure 14. Le changement de phase greffée améliore la résolution de la paire critique de pics pour améliorer la précision de l'analyse.

Colonne : **Poroshell 300**,
2,1 x 75 mm, 5 µm
Échantillon : Insuline dégradée
Phase mobile : A : eau (0,1 % TFA)
B : AcN (0,08 % de TFA)
Débit : 1,75 ml/min
Température : 45 °C
Gradient : 5% B maintien 0,3 min,
5 à 65 % B, 2,7 min

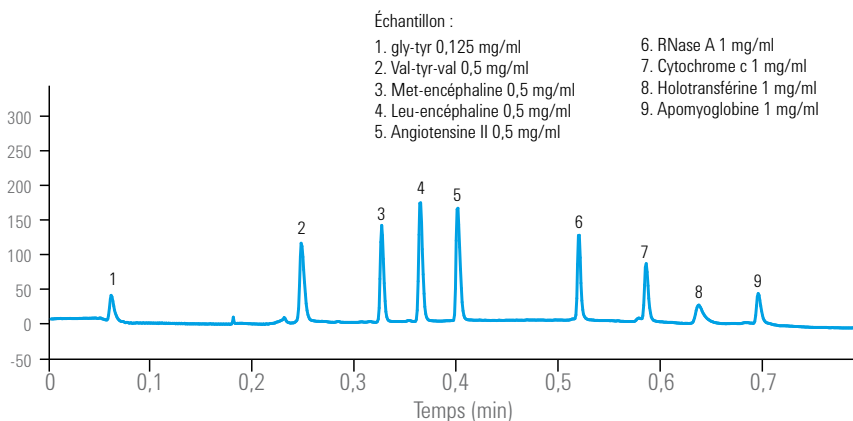


Figure 15. Séparation rapide des petites protéines et polypeptides en moins d'une minute.

Colonne : **Poroshell 300SB-C18**,
2,1 x 75 mm, 5 µm
Échantillon : peptides/protéines, 0,5 µl
Mélangeur dérivé avec
réf G1312-67301;
Boucle-programme de dérivation
Phase mobile : A : 0,1% de TFA, H2O
B : 0,07 % de TFA, AcN
Débit : 3 ml/min.
Gradient : 0-100 % B en 1,33 min
Température : 70 °C
DéTECTEUR : DAD 215/16 nm, réf = 310/10 nm

COLONNES ZORBAX RRHD

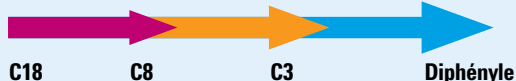
Les particules 300 Å 1,8 µm assurent la stabilité à 1200 bars

Les colonnes de grande porosité ZORBAX RRHD 300SB-C18, C8, C3, et 300-diphényle 1,8 µm offrent des performances UHPLC pour la séparation des protéines intactes et digestions de peptides. Associées aux instruments UHPLC, tels que le LC Agilent 1290 Infinity, ces colonnes polyvalentes offrent une caractérisation d'ordre supérieur et des temps d'analyse plus courts.

La phase diphényle délivre une sélectivité unique, et la technologie StableBond ZORBAX (C18, C8 et C3) vous offre les avantages suivants :

- **Stabilité à faible pH**, ce qui vous permet de réaliser, en toute confiance, des séparations de protéines et peptides jusqu'à un pH 1 avec des éluants d'acide trifluoroacétique (TFA) et d'acide formique.
- **Stabilité de la température**, jusqu'à 80 °C, pour effectuer des séparations à des températures plus élevées sans compromettre la durée de vie de la colonne. Résultat : amélioration de l'efficacité et réduction de la viscosité de l'éluant.

Taille de protéines et hydrophobicité accrues



Avec quatre différents types de ligand : chaîne alkyle C18, C8, C3 et du diphényle pour une sélectivité accrue basée sur les acides aminés aromatiques par interaction pi-pi, Agilent dispose de la plus grande gamme de colonnes en phase inverse pour la séparation des peptides et protéines par UHPLC.



Reproductibilité et rendement des anticorps monoclonaux

Pour les plus grandes protéines, y compris les anticorps monoclonaux, une fonctionnalité C8 plus courte et moins hydrophobe est utilisée. Ce procédé améliore la résolution et augmente le rendement.

Colonne : **ZORBAX RRHD 300SB-C8**,
2,1 x 50 mm, 1,8 µm
Échantillon : mAb
Phase mobile : A : H₂O:IPA (98:2), 0,1 % de TFA
B : PA:ACN:H₂O (70:20:10), 0,1 % de TFA
Débit : 1,0 ml/min
Température : 80 °C
Détection : 1290 Infinity LC à 225 nm

Gradient :

Temps (min)	% B
0,00	25
3,00	35
4,00	90
5,00	25

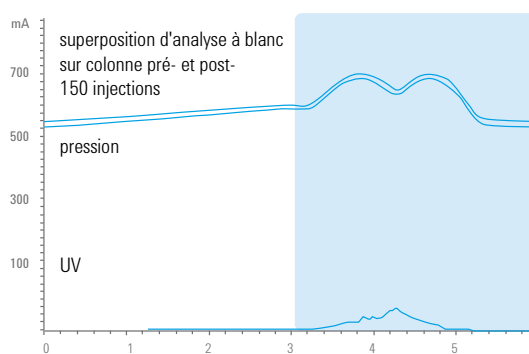
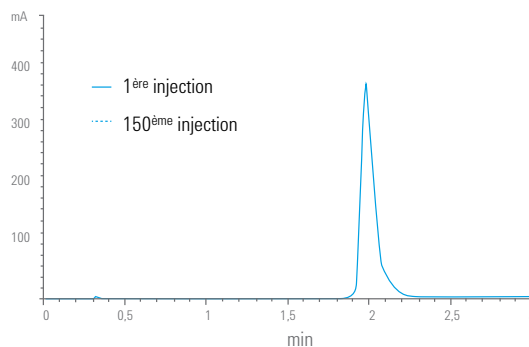


Figure 16. Cet exemple montre la reproductibilité et la durée de vie d'une colonne Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C8 sur 150 injections, sans décalage du temps de rétention ou anomalie de la forme de pic. Le chromatogramme du bas montre les analyses à blanc avant et après 150 injections et les courbes de pression de gradient, et met en évidence l'absence de pics fantômes ou d'augmentation de pression après 150 injections ; donc **aucune défaillance de colonne ou perte d'échantillon, ce qui améliore la précision de la quantification.**

Pour en savoir plus sur les séparations de protéines haute résolution avec les colonnes en phase inverse d'Agilent, rendez-vous sur le site agilent.com/chem/AdvanceBio

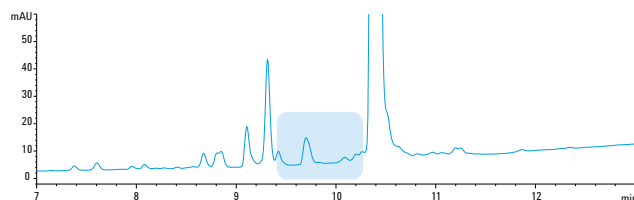
Plus de vitesse, plus de résolution

Auparavant la **phase diphenyle exclusive** n'était disponible que sur les colonnes de petite porosité 100 Å Pursuit XR et 200 Å Pursuit. Désormais, en appliquant cette chimie de greffage aux colonnes ZORBAX 300 Å 1,8 µm, cette sélectivité unique peut être utilisée pour les séparations de plus grandes protéines.

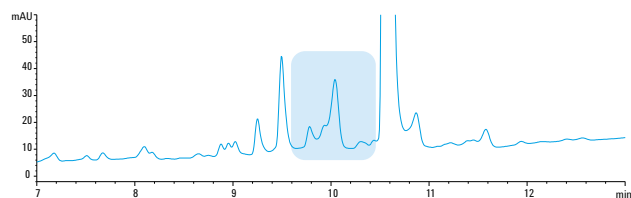
Les colonnes RRHD 1,8 µm offrent une séparation plus rapide que les colonnes 3,7 µm concurrentes (modèle à nanodébit), ce qui permet d'accroître la vitesse d'analyse en maintenant une résolution comparable. Dans la **figure 18**, les colonnes 1,8 µm ont maintenu (et dépassé) la résolution critique à des vitesses de séparation **ultra-rapides** avec des gradients balistiques, un avantage évident de l'UHPLC.

ZORBAX RRHD contre colonne concurrente

Colonne du concurrent : C18, 2,1 x 150 mm
164 bar



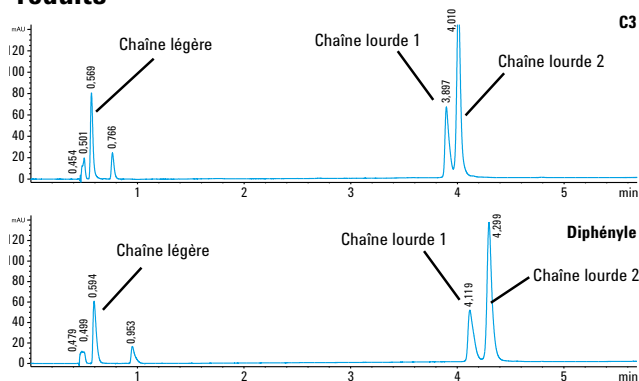
ZORBAX RRHD 300SB-C18, 2,1 x 100 mm, 1,8 µm
359 bar



Échantillon : insuline dégradée
Phase mobile : A : eau (0,1 % TFA)
B : AcN (0,08 % de TFA)
Gradient : 3% B maintien 3,0 min, 3 à 65 % B, 15 min
Débit : 0,3 ml/min
Température : 40 °C
DAD : 225 nm

Figure 18. Séparation d'insuline dégradée. Les colonnes Agilent 300 Å 1,8 µm haute définition à résolution rapide obtiennent des finesses et symétries de pics supérieures au concurrent (meilleure résolution des produits de dégradation).

Séparation rapide des anticorps monoclonaux réduits



Colonnes : **ZORBAX RRHD 300SB-C3 et 300-diphényl**,
2,1 x 100 mm, 1,8 µm
Échantillon : Anticorps monoclonal réduit (IgG1) (1,0 mg/ml)
Injection des échantillons : 2 µl
Phase mobile : A : 0,1 % de TFA dans l'eau
B : 80 % d'alcool n-propylique, 10 % d'AcN, 9,9 % d'eau
et 0,1 % de TFA
Gradient : 0 min-1 % de B, 2 min-20 % de B, 5 min-50 % de B
Débit : 0,5 ml/min
Température : 74 °C
Détection : UV 280

Figure 17. Comparaison de la séparation rapide des anticorps monoclonaux réduits avec la colonne Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C3 et 300-diphényl, 2,1 x 100 mm, 1,8 µm – une meilleure résolution des deux chaînes lourdes est obtenue avec la colonne diphenyle.



COLONNES ZORBAX 300 À 3,5 ET 5 μm

Stabilité chimique et de température incomparable dans la plage de pH 1-6

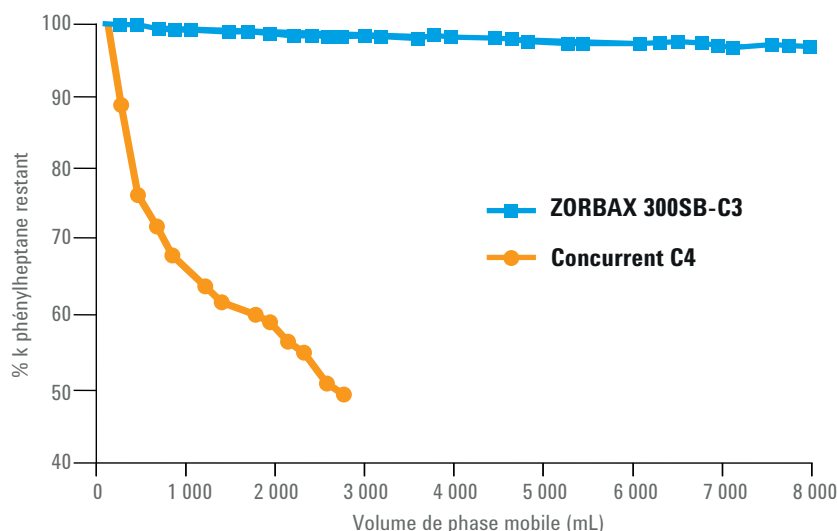
Les colonnes Agilent ZORBAX 300StableBond sont idéales pour la séparation reproductible des protéines et des peptides, et ce pour deux raisons :

- ▶ Les colonnes 300 Å à larges pores permettent aux protéines, peptides et autres grandes molécules d'accéder complètement à la phase greffée.
- ▶ Les colonnes ZORBAX 300StableBond ont une durée de vie inégalée avec les phases mobiles à faible pH (dont le TFA) généralement utilisées pour la séparation des protéines et peptides.

Pour les séparations LC/MS à faible pH, les colonnes ZORBAX 300StableBond peuvent aussi être utilisées avec les modificateurs de phase mobile comme l'acide formique et l'acide acétique.

Ces colonnes sont disponibles dans quatre différentes phases greffées, **StableBond C18, C8, C3 et Extend-C18** pour une sélectivité et un recouvrement optimisés des protéines et polypeptides. Pour améliorer davantage le taux de rendement et l'efficacité dans le cas de protéines difficiles, les colonnes 300StableBond peuvent être utilisées jusqu'à 80 ou 90 °C.

Les colonnes ZORBAX 300SB-C3 à chaîne courte sont stables à faible pH et haute température. Elles permettent donc la reproductibilité des séparations et l'allongement de la durée de vie des colonnes.



Colonne : **ZORBAX 300SB-C3**,
4,6 x 150 mm, 5 μm
Phase mobile : Gradients 0-100 % de B en 80 min
A : 0,5 % de TFA dans l'eau
B : 0,5 % de TFA dans l'acétonitrile
Conditions du test de rétention isocratique :
1-phénylheptane 50 % de A, 50 % de B
Débit : 1,0 ml/min
Température : 60 °C

Figure 19. Les phases mobiles classiques pour la séparation des protéines et des peptides combinent un pH faible et du TFA (ou un autre acide) à une température élevée pour dénaturer et solubiliser les protéines. Dans ces conditions, les colonnes Agilent StableBond ont une durée de vie extrêmement longue.



Pour en savoir plus sur les séparations de protéines haute résolution avec les colonnes en phase inverse d'Agilent, rendez-vous sur le site agilent.com/chem/AdvanceBio

COLONNES PLRP-S POUR LA HPLC

Séparations reproductibles dans des conditions extrêmes

Les divers diamètres de pore et granulométrie de notre gamme de colonnes PLRP-S présentent toutes des chimies et caractéristiques chromatographiques fondamentales identiques. Elles proposent :

- ▶ des particules de polymères durables à haute résilience, qui fournissent des résultats reproductibles sur une longue durée de vie ;
- ▶ une stabilité thermique et chimique pour les séparations aux pH extrêmes et à des températures élevées ;
- ▶ des diamètres de pores 100-4000 Å, qui offrent des séparations hautement efficaces sur toute la plage de tailles de protéines et peptides

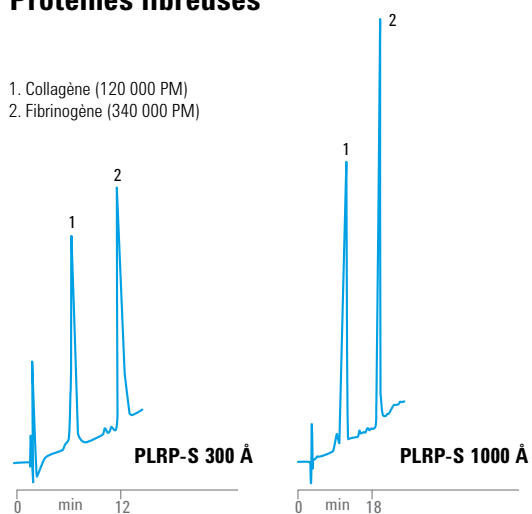
Les particules de PLRP-S étant intrinsèquement hydrophobes, il n'est pas nécessaire de recourir à un ligand alkyle de la phase greffée. Cela permet d'obtenir un matériau extrêmement reproductible, qui ne présente aucun groupement silanol ni d'ions métal lourds.

De plus, les PLRP offrent une transposition d'échelle des séparations analytiques jusqu'à la purification, des colonnes préparatives et du matériau en vrac.

Lors de la purification des protéines, il peut être nécessaire de nettoyer la colonne PLRP-S. Il est possible d'utiliser un nettoyage extrêmement agressif, y compris 1M NaOH, comme illustré à la **figure 21**. Le support peut être nettoyé dans une colonne remplie (CIP) ou en vrac avec divers agents de solubilisation, tels que de l'hydroxyde de sodium, afin d'assurer une durée de vie inégalée de la colonne et du support.

Protéines fibreuses

1. Collagène (120 000 PM)
2. Fibrinogène (340 000 PM)



Colonne : **PLRP-S 300 Å**
4,6 x 150 mm, 8 µm

Colonne : **PLRP-S 1000 Å**
4,6 x 150 mm, 8 µm

Phase mobile : A : 0,25% de TFA dans l'eau
B : 0,25 % de TFA dans un mélange AcN: eau 95:5

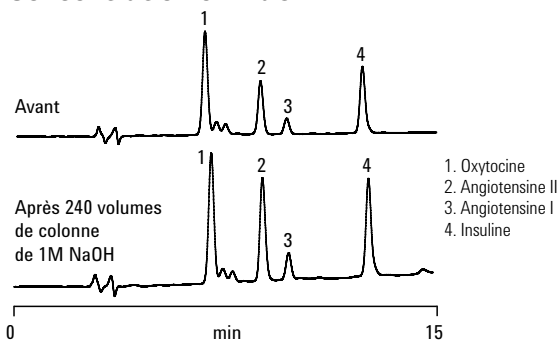
Débit : 1,0 ml/min

Gradient : 20-60% B en 15 min

Détecteur : UV, 220 nm

Figure 20. Les colonnes Agilent PLRP-S 300 Å et PLRP-S 1000 Å séparent les grandes protéines fibreuses, comme indiqué ici. Cependant, une meilleure forme et hauteur de pic a été obtenue avec la colonne à plus grands pores PLRP-S 1000 Å.

Exploitation de la stabilité chimique - Concentration en NaOH



Colonne : **PLRP-S 300 Å** Gradient : 20-50 % B en 15 min
4,6 x 250 mm, 10-15 µm Débit : 1,0 ml/min

Phase mobile : A : 0,1 % de TFA dans l'eau Détecteur : UV 220 nm
B : 0,1 % de TFA dans de l'AcN

Figure 21. Le support Agilent PLRP-S est chimiquement robuste et peut résister à des protocoles de nettoyage extrêmement agressifs pour assurer une durée de vie inégalée de la colonne et du support.



INSTRUMENTS AGILENT POUR L'IDENTIFICATION DES PROTÉINES ET LE PROFILAGE DES IMPURETÉS



Utilisation pour l'identification des protéines - pour des résultats optimaux, utilisez avec Poroshell 300

Système de LC quaternaire Agilent 1260 Infinity Bio-inert : votre meilleur choix pour les séparations de protéines

Le seul UHPLC avec un circuit sans métal. Autres avantages :

- ▶ 100 % bioinerte
 - Pas d'acier inoxydable : l'échantillon n'entre pas en contact avec des surfaces métalliques
 - pH 1 à pH 13 (pH 14 à court terme)
 - Traite 2 M de sel et 8 M d'urée
 - Nouvelle technologie capillaire
- ▶ Capacité UHPLC : 600 bars
- ▶ Robuste et facile à utiliser avec une faible activité de surface, une résistance à la corrosion, un rinçage dynamique des joints et un mélange de tampon quaternaire

BIO inert



Utilisation pour le profilage des impuretés, la cartographie peptidique ou des gradients ultrarapides - pour des résultats optimaux, utilisez avec ZORBAX RRHD 300 Å 1,8 µm

Système de LC binaire Agilent 1290 Infinity : un système UHPLC très flexible doté d'une large gamme d'applications

Performance de pointe en termes de résolution dans le temps, de dispersion, de sensibilité, d'exactitude et de précision dans les LC/UV et LC/MS. L'association d'un amortissement actif, d'un mélange microfluidique et de la technologie de détection à guide d'onde optofluidique offre de multiples avantages :

- ▶ Plage de puissance UHPLC jusqu'à 1200 bars et 5 ml/min
- ▶ Transfert des méthodes rapide et simple grâce à ISET, la technologie d'émulation intelligente d'Agilent
- ▶ Productivité UHPLC, coûts de propriété de type HPLC



Utilisation pour tout type d'application UHPLC standard

Avec le système de LC binaire Agilent 1260 Infinity, la norme en HPLC analytique franchit un nouveau cap : pression de 600 bars, détecteur ultra rapide à 80 Hz et sensibilité jusqu'à 10x supérieure

100 % compatible HPLC, capacité UHPLC :

- ▶ Performance UHPLC, coûts de propriété de type HPLC
- ▶ Prise en charge des applications LC et LC/MS, avec toute colonne analytique de diamètre standard et petit (2,1 - 4,6 mm d.i.)
- ▶ Précision de gradient supérieure par mélange haute pression



Utilisation pour le développement de méthodes ou les systèmes en libre service avec un mélange de tampon précis

Système de LC quaternaire Agilent 1290 Infinity : associez la performance à la flexibilité

Le seul système UHPLC quaternaire avec une exactitude et précision binaires. Autres avantages :

- ▶ Plage de puissance UHPLC jusqu'à 1200 bars et 5 ml/min
- ▶ BlendAssist, l'outil le plus facile pour un mélange précis de tampon et d'additif
- ▶ Productivité UHPLC, coûts de propriété de type HPLC

Pour en savoir plus sur les séparations de protéines haute résolution avec les colonnes en phase inverse d'Agilent, rendez-vous sur le site agilent.com/chem/AdvanceBio

Informations de commande et spécifications

Colonnes AdvanceBio RP-mAb

Phase greffée	Diamètre de pore :	Limites de température.	plage de pH	Postsilanisation (endcapping)
C4	450 Å	90 °C	1,0 à 8,0	Oui
SB-C8	450 Å	90 °C	1,0 à 8,0	Non
Diphényle	450 Å	90 °C	1,0 à 8,0	Oui



Description	Taille (mm)	Granulométrie (µm)	Référence
C4	2,1 x 50	3,5	799775-904
C4	2,1 x 75	3,5	797775-904
C4	2,1 x 100	3,5	795775-904
C4	2,1 x 150	3,5	793775-904
C4	4,6 x 50	3,5	799975-904
C4	4,6 x 100	3,5	795975-904
C4	4,6 x 150	3,5	793975-904
SB-C8	2,1 x 50	3,5	789775-906
SB-C8	2,1 x 75	3,5	787775-906
SB-C8	2,1 x 100	3,5	785775-906
SB-C8	2,1 x 150	3,5	783775-906
SB-C8	4,6 x 50	3,5	789975-906
SB-C8	4,6 x 100	3,5	785975-906
SB-C8	4,6 x 150	3,5	783975-906
Diphényle	2,1 x 50	3,5	799775-944
Diphényle	2,1 x 75	3,5	797775-944
Diphényle	2,1 x 100	3,5	795775-944
Diphényle	2,1 x 150	3,5	793775-944
Diphényle	4,6 x 50	3,5	799975-944
Diphényle	4,6 x 100	3,5	795975-944
Diphényle	4,6 x 150	3,5	793975-944

Colonnes Poroshell 300 pour l'analyse des protéines.

Phase greffée	Diamètre de pore :	Limites de température.	plage de pH	Postsilanisation (endcapping)
300SB-C18, C8, C3	300 Å	90 °C	1,0 à 8,0	Non
300Extend-C18	300 Å	40 °C au-dessus du pH 8, 60 °C en dessous du pH 8	2,0 à 11,0	Oui



Description	Taille (mm)	300SB-C18 USP L1	300SB-C8 USP L7	300SB-C3	300Extend-C18 USP L1
Capillaires	0,5 x 75		5065-4468		
Capillaires	0,5 x 75		5065-4468		
Microcolonne	1,0 x 75	661750-902	661750-906	661750-909	971750-902
Petit diamètre int.	2,1 x 75	660750-902	660750-906	660750-909	970750-902
Cartouche de garde, 4/pqt	2,1 x 12,5	821075-920	821075-918	821075-924	
Kit de montage pour cartouche de garde		820888-901	820888-901	820888-901	
Cartouche de garde pour microcolonne, 3/pqt	1,0 x 17	5185-5968	5185-5968	5185-5968	5185-5968

Colonnes ZORBAX 300Å pour séparations de protéines HPLC et UHPLC

Phase greffée	Diamètre de pore :	Limites de température.	plage de pH	Postsilanisation (endcapping)
300SB-C18	300 Å	90 °C	1,0 à 8,0	Non
300SB-C8	300 Å	80 °C	1,0 à 8,0	Non
300SB-C3	300 Å	80 °C	1,0 à 8,0	Non
300SB-CN	300 Å	80 °C	1,0 à 8,0	Non
300Extend-C18	300 Å	60 °C	2,0 à 11,5	Double
300-Diphényl	300 Å	80 °C	1,0 à 8,0	Oui

Description	Taille (mm)	Granulométrie (µm)	300SB-C18 USP L1	300SB-C8 USP L7	300SB-CN USP L10	300SB-C3 USP L56	300Extend-C18 USP L1	300-Diphényl USP L11
Microcolonne	1,0 x 250	5	861630-902					
Microcolonne RR	1,0 x 150	3,5	863630-902	863630-906				
Microcolonne RR	1,0 x 50	3,5	865630-902	865630-906				
Petit diamètre int.	2,1 x 250	5	881750-902					
Petit diamètre int.	2,1 x 150	5	883750-902	883750-906	883750-905	883750-909		
Petit diamètre int.	2,1 x 100	1,8	858750-902	858750-906		858750-909	858750-944	
Petit diamètre int.	2,1 x 50	1,8	857750-902	857750-906		857750-909	857750-944	
Petit diamètre RR	2,1 x 150	3,5		863750-906			763750-902	
Petit diamètre RR	2,1 x 100	3,5	861775-902	861775-906			761775-902	
Petit diamètre RR	2,1 x 50	3,5	865750-902	865750-906			765750-902	
Économe en solvant "Plus"	3,0 x 150	3,5	863974-302	863974-306		863974-309		
Économe en solvant "Plus"	3,0 x 100	3,5		861973-306				
Analytique	4,6 x 250	5	880995-902	880995-906	880995-905	880995-909	770995-902	
Analytique	4,6 x 150	5	883995-902	883995-906	883995-905	883995-909	773995-902	
Analytique	4,6 x 50	5	860950-902	860950-906	860950-905	860950-909		
Résolution rapide	4,6 x 150	3,5	863973-902	863973-906	863973-905	863973-909	763973-902	
Résolution rapide	4,6 x 100	3,5	861973-902	861973-906			761973-902	
Résolution rapide	4,6 x 50	3,5	865973-902	865973-906	865973-905	865973-909	765973-902	
Semi-préparative	9,4 x 250	5	880995-202	880995-206	880995-205	880995-209		
Cartouche de garde pour microcolonne, 3/pqt	1,0 x 17	5	5185-5920	5185-5920				
Cartouche de garde, 4/pqt	4,6 x 12,5	5	820950-921	820950-918	820950-923	820950-924	820950-932	
Cartouche de garde, 4/pqt	2,1 x 12,5	5	821125-918	821125-918	821125-924	821125-924	821125-932	
Cartouche PrepHT	21,2 x 250	7	897250-102	897250-106	897250-105	897250-109		
Cartouche PrepHT	21,2 x 150	7	897150-102	897150-106		897150-109		
Cartouche PrepHT	21,2 x 150	5	895150-902	895150-906		895150-909		
Cartouche PrepHT	21,2 x 100	5	895100-902	895100-906		895100-909		
Cartouche PrepHT	21,2 x 50	5	895050-902	895050-906		895050-909		
Raccords pour cartouche PrepHT, 2/pqt			820400-901	820400-901	820400-901	820400-901		
Cartouches de garde PrepHT, 2/pqt	17 x 7,5	5	820212-921	820212-918	820212-924	820212-924		
Kit de montage pour cartouche de garde			820444-901	820444-901	820444-901	820444-901		



Pour en savoir plus sur les séparations de protéines haute résolution avec les colonnes en phase inverse d'Agilent, rendez-vous sur le site [agilent.com/chem/AdvanceBio](https://www.agilent.com/chem/AdvanceBio)

Colonne HPLC PLRP-S pour une large plage de pH

Description	Taille (mm)	Granulométrie (µm)	PLRP-S 100 Å USP L21	PLRP-S 300 Å USP L21	PLRP-S 1000 Å USP L21	PLRP-S 4000 Å USP L21
Microcolonne	1,0 x 50	3	PL1312-1300	PL1312-1301		
Microcolonne	1,0 x 50	5	PL1312-1500		PL1312-1502	
Microcolonne	1,0 x 150	3	PL1312-3300			
Analytique	4,6 x 50	8		PL1512-1801	PL1512-1802	PL1512-1803
Analytique	4,6 x 250	5	PL1512-5500	PL1512-5501		
Analytique	4,6 x 150	5	PL1111-3500	PL1512-3501		
Analytique	4,6 x 50	5	PL1512-1500	PL1512-1501	PL1512-1502	PL1512-1503
Analytique	4,6 x 150	3	PL1512-3300	PL1512-3301		
Analytique	4,6 x 50	3	PL1512-1300	PL1512-1301		
Analytique	2,1 x 250	8		PL1912-5801		
Analytique	2,1 x 150	8		PL1912-3801	PL1912-3802	PL1912-3803
Analytique	2,1 x 50	8		PL1912-1801	PL1912-1802	PL1912-1803
Analytique	2,1 x 250	5	PL1912-5500	PL1912-5501		
Analytique	2,1 x 150	5	PL1912-3500	PL1912-3501		
Analytique	2,1 x 50	5	PL1912-1500	PL1912-1501	PL1912-1502	PL1912-1503
Analytique	2,1 x 150	3	PL1912-3300	PL1912-3301		
Analytique	2,1 x 50	3	PL1912-1300	PL1912-1301		
Développement de méthodes	4,6 x 250	30		PL1512-5702	PL1512-5703	821125-918
Développement de méthodes	4,6 x 250	15-20	PL1512-5200	PL1512-5201		
Développement de méthodes	4,6 x 250	10-15	PL1512-5400	PL1512-5401		
Développement de méthodes	4,6 x 250	10	PL1512-5100	PL1512-5101	PL1512-5102	PL1512-5103
Développement de méthodes	4,6 x 250	8	PL1512-5800	PL1512-5801	PL1512-5802	
Développement de méthodes	4,6 x 150	30			PL1512-3702	PL1512-3703
Développement de méthodes	4,6 x 150	15-20	PL1512-3200	PL1512-3201		
Développement de méthodes	4,6 x 150	10-15		PL1512-3401		
Développement de méthodes	4,6 x 150	10	PL1512-3100	PL1512-3101	PL1512-3102	PL1512-3103
Développement de méthodes	4,6 x 150	8	PL1512-3800	PL1512-3801	PL1512-3802	PL1512-3803
De la préparative aux procédés industriels	100 x 300	30			PL1812-3102	PL1812-3103
De la préparative aux procédés industriels	100 x 300	15-20	PL1812-6200	PL1812-6201	880995-902	880995-906
De la préparative aux procédés industriels	100 x 300	10-15	PL1812-6400	PL1812-6401	883995-902	883995-906
De la préparative aux procédés industriels	100 x 300	10	PL1812-6100	PL1812-6101	860950-902	860950-906
De la préparative aux procédés industriels	100 x 300	8	PL1812-6800	PL1812-6801	863973-902	863973-906
De la préparative aux procédés industriels	50 x 300	8	PL1712-6800	PL1712-6801	861973-902	861973-906
De la préparative aux procédés industriels	50 x 150	30			PL1712-3702	PL1712-3703
De la préparative aux procédés industriels	50 x 150	15-20	PL1712-3200	PL1712-3201	863974-302	863974-306
De la préparative aux procédés industriels	50 x 150	10-15	PL1712-3400	PL1712-3401		861973-306
De la préparative aux procédés industriels	50 x 150	10	PL1712-3100	PL1712-3101	PL1712-3102	PL1712-3103
De la préparative aux procédés industriels	50 x 150	8	PL1712-3800	PL1712-3801	883750-902	883750-906
De la préparative aux procédés industriels	25 x 300	15-20	PL1212-6200	PL1212-6201		863750-906
De la préparative aux procédés industriels	25 x 300	10-15	PL1212-6400	PL1212-6401	861775-902	861775-906
De la préparative aux procédés industriels	25 x 300	10	PL1212-6100		865750-902	865750-906
De la préparative aux procédés industriels	25 x 300	8	PL1212-6800		861630-902	
De la préparative aux procédés industriels	25 x 150	30			PL1212-3702	PL1212-3703
De la préparative aux procédés industriels	25 x 150	10	PL1212-3100		PL1712-3102	PL1712-3103
De la préparative aux procédés industriels	25 x 150	8	PL1212-3800		5185-5920	5185-5920
De la préparative aux procédés industriels	25 x 50	10			PL1212-1102	PL1212-1103
Cartouches de garde PLRP-S	pour 5 x 3 mm, 2/pqt		PL1612-1801	PL1612-1801	PL1612-1801	PL1612-1801
Porte-cartouche de garde	pour cartouches 3,0 x 5,0 mm		PL1310-0016	PL1310-0016	PL1310-0016	PL1310-0016

HPLC PLRP-S en vrac

Granulométrie (µm)	Unité	PLRP-S 100 Å USP L21	PLRP-S 300 Å USP L21	PLRP-S 1000 Å USP L21	PLRP-S 4000 Å USP L21
50	1 kg	PL1412-6K00	PL1412-6K01	PL1412-6K02	
	100 g	PL1412-4K00	PL1412-4K01	PL1412-4K02	
30	1 kg			PL1412-6702	PL1412-6703
	100 g			PL1412-4702	PL1412-4703
15-20	1 kg	PL1412-6200	PL1412-6201	861973-906	
	100 g	PL1412-4200	PL1412-4201		
10-15	1 kg	PL1412-6400	PL1412-6401		
	100 g	PL1412-4400	PL1412-4401		
10	1 kg	PL1412-6100	PL1412-6101	PL1412-6102	PL1412-6103
	100 g	PL1412-4100	PL1412-4101	PL1412-4102	PL1412-4103
8	1 kg	PL1412-6800	PL1412-6801		

Pour des quantités plus importantes, veuillez contacter votre représentant local Agilent.

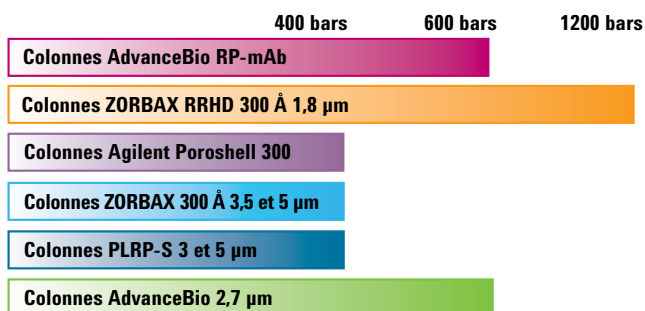
Colonnes AdvanceBio Peptide Mapping

Description	Référence
4,6 x 150 mm, 2,7 µm	653950-902
3,0 x 150 mm, 2,7 µm	653950-302
2,1 x 250 mm, 2,7 µm	651750-902
2,1 x 150 mm, 2,7 µm	653750-902
2,1 x 100 mm, 2,7 µm	655750-902
4,6 mm Fast Guard*	850750-911
3,0 mm Fast Guard*	853750-911
2,1 mm Fast Guard*	851725-911



*Les précolonnes Fast Guards prolongent la vie des colonnes sans ralentir la séparation ni affecter la résolution.

Pression maximale



Colonnes Agilent AdvanceBio :

Pour des analyses biopharmaceutiques rapides et constantes

La gamme de biocolonnes de pointe Agilent AdvanceBio assure des performances exceptionnelles et constantes pour la séparation et la caractérisation des peptides et protéines. La science sur laquelle repose les colonnes AdvanceBio introduit de nombreux avantages : amélioration de la précision et de la productivité et élimination des interférences pouvant affecter la progression. Les colonnes AdvanceBio subissent des tests rigoureux afin de garantir d'excellents résultats. Elles sont également appuyées par la garantie satisfaction d'Agilent de 60 jours.



Pour en savoir plus sur les séparations de protéines haute résolution avec les colonnes en phase inverse d'Agilent, rendez-vous sur le site agilent.com/chem/AdvanceBio

Biocolonnes Agilent :

des résultats fiables pour une BioHPLC en phase inverse rapide et précise

- **Choix et flexibilité supérieurs** pour l'analyse de biomolécules en phase inverse
- **LC rapide de pointe**, avec des colonnes AdvanceBio RP-mAb reposant sur la technologie Poroshell pour une analyse plus rapide et une résolution élevée sur toute HPLC ou UHPLC
- **Affinage de la méthode UHPLC** avec les colonnes ZORBAX RRHD 1,8 µm (stables jusqu'à 1200 bars)
- **Performance, reproductibilité et valeur** avérées via des millions d'injections
- **Analyse biopharmaceutique rapide et constante** : Les colonnes BioHPLC AdvanceBio Peptide Mapping vous

permettent de résoudre et d'identifier rapidement les modifications d'acides aminés dans la structure primaire

- **Performances de forme de pic exceptionnelles** grâce à la silice innovante et des technologies de greffe, pour une confirmation plus précise de l'identité des protéines et de l'analyse des impuretés
- **Gamme de sélectivités**, pour une résolution et un recouvrement élevés des peptides et des protéines

Agilent, c'est aussi une vaste bibliothèque d'applications pour vous aider dans le développement de méthodes, une assistance technique mondiale pour une résolution rapide des problèmes, et une infrastructure et un réseau de distribution mondiaux.

Pour plus d'informations

Pour en savoir plus sur les colonnes en phase inverse Agilent, rendez-vous sur le site www.agilent.com/chem/AdvanceBio

Pour trouver un centre de clientèle Agilent dans votre pays, consultez la page : agilent.com/chem/contactus

États-Unis et Canada

1-800-227-9770

agilent_inquiries@agilent.com

Europe

info_agilent@agilent.com

France

0-810-446-446 (N° Azur)

Belgique

02-404-9222

Suisse

0848 80 35 60

Asie pacifique

inquiry_lsca@agilent.com

Ces informations peuvent être modifiées sans préavis.

© Agilent Technologies, Inc. 2014

Imprimé aux États-Unis, le 19 novembre 2014
5991-0625FR

Matériel de colonne Load & Lock pour la purification

Agilent propose Load & Lock, des stations de préparation/analyse et de remplissage de colonne pour la purification de quantités de produit multi-g à multi-kg. Le support PLRP-S est disponible dans des tailles de lots plus grandes pour remplir ces colonnes.



Besoin de préparation d'échantillons pour votre analyse de protéines ?

Les filtres à faible interaction protéique sont le meilleur choix pour filtrer les échantillons de protéines/peptides, avec la plus faible rétention de protéine pendant la filtration.



Agilent Technologies