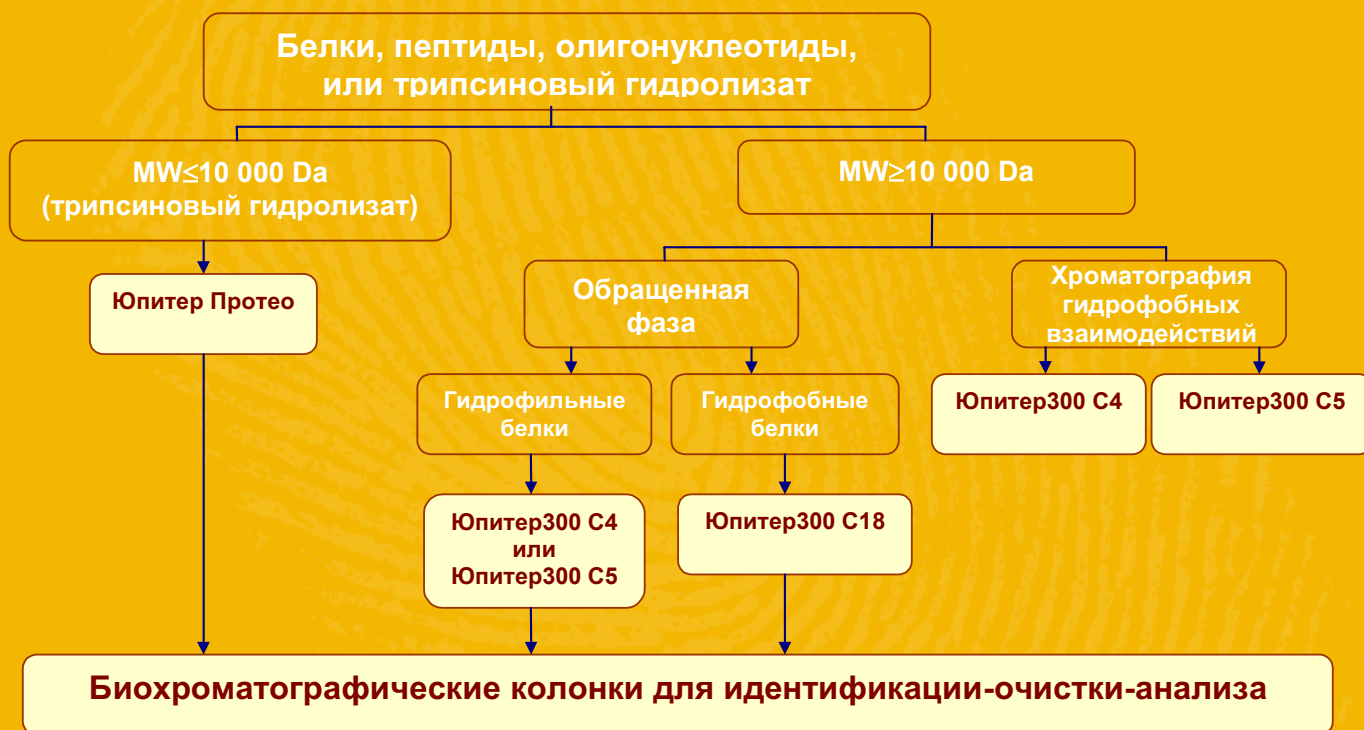


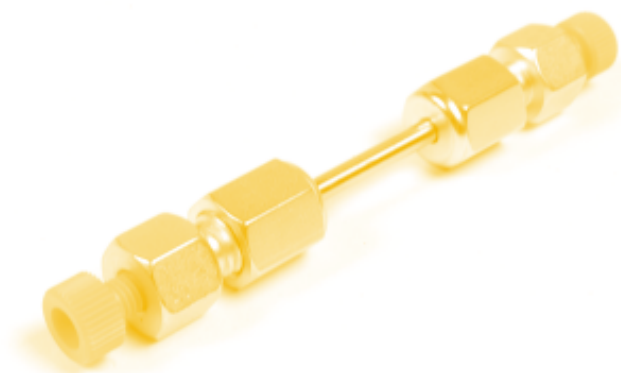


# Jupiter™ Юпитер



**ВЭЖХ**  
**КОЛОНКИ ДЛЯ**  
**ЭРЫ ПРОТЕОМИКИ**





## СОДЕРЖАНИЕ

<b>Идентификация-очистка-анализ любых белков.....</b>	<b>1</b>
<b>Новые колонки Юпитер Протео для трипсиновых гидролизатов и белков.....</b>	<b>2</b>
Разработаны для разделения 100 и более пиков.....	3
Удобство мониторинга окисления и деаминарования.....	4
Совместимость с модификаторами	
+ рН стабильность = улучшенное разрешение.....	5
Разделение пептидов и генетических разновидностей инсулина.....	6
<b>Юпитер300 – колонка для интактных белков и олигонуклеотидов.....</b>	<b>7</b>
Уменьшение времени анализа до 70% .....	8
Стабильность в диапазоне рН от 1,5 до 10 .....	9
Быстрое масштабирование для препаративных процессов очистки..	10
<b>Технические характеристики .....</b>	<b>11</b>

# Jupiter™

# ИДЕНТИФИЦИРОВАТЬ – ОЧИСТИТЬ – ПРОАНАЛИЗИРОВАТЬ ЛЮБОЙ БЕЛОК

Также как отпечатки пальцев являются уникальным параметром для идентификации человека, трипсиновый гидролизат может служить «отпечатками пальцев» для идентификации белков. В связи с увеличением числа экспериментов по характеристике белков, необходимость в углублённых данных о белковых гидролизатах становится все более актуальной. Поэтому мы создали Юпитер Протео, колонку для анализа трипсиновых гидролизатов, для обеспечения возможности выявления большего количества пиков, получения большего числа данных и белковых «отпечатков пальцев». Линия колонок Юпитер, включающая Юпитер Протео и Юпитер300, лидеров среди колонок для очистки белков, в настоящее время предлагает универсальное обращённо-фазное биохроматографическое решение.

- Выделение и очистка интактных белков – колонки Юпитер300 с улучшенной воспроизводимостью анализа, обладающие способностью очистки больших интактных белков и олигонуклеотидов (РИСУНОК 2)
- Анализ трипсиновых гидролизатов – Юпитер Протео, колонки, обладающие эффективностью и соответствующим качеством пиков для воспроизводимого разделения сложных образцов трипсиновых гидролизатов. На рисунке 1 показаны полученные с помощью трипсинового гидролиза генетические разновидности Цитохрома С – разрешающая способность Юпитер Протео позволяет четко выявлять различия между рассматриваемыми генетическими вариантами.

РИС. 1

Выделенный и очищенный интактный цитохром С

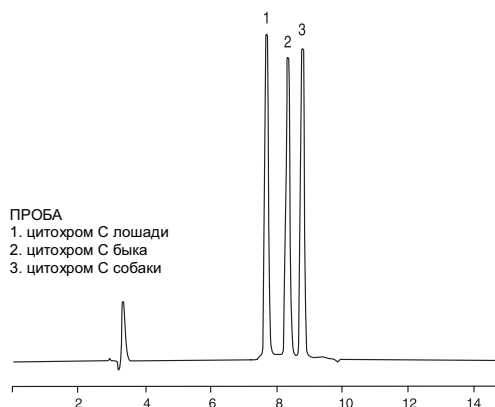
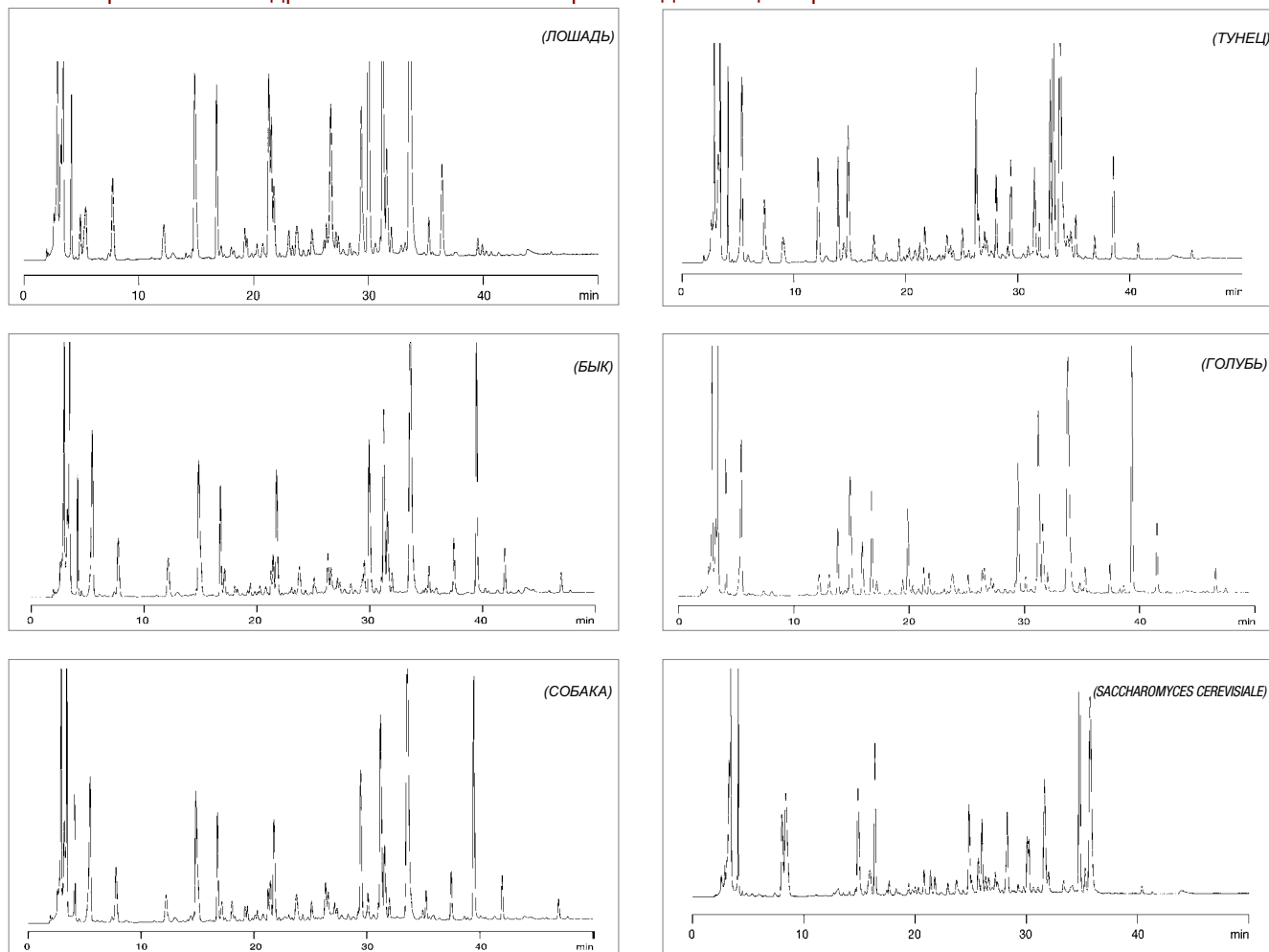


РИС. 2

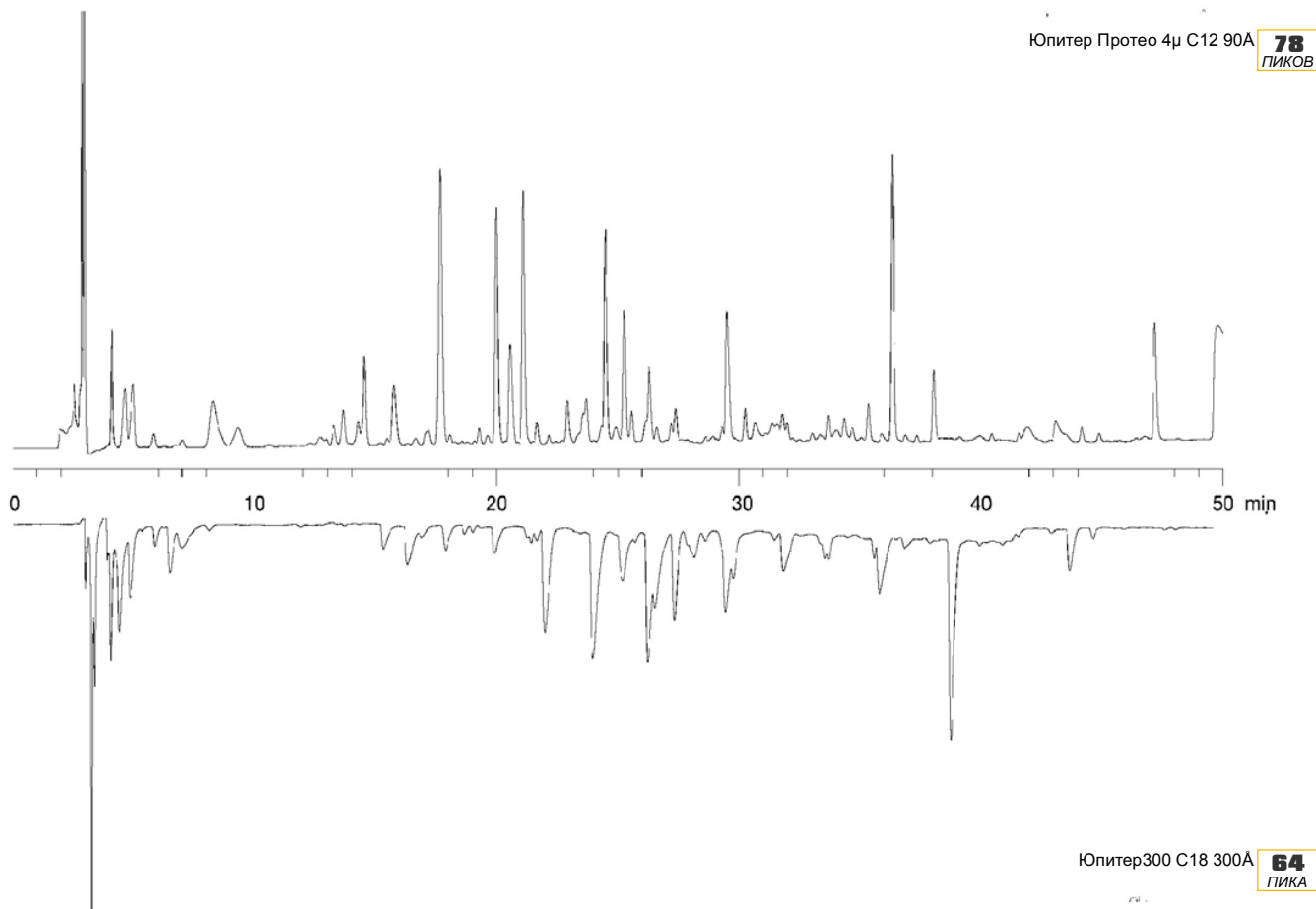
Анализ трипсиновых гидролизатов: генетические разновидности цитохрома С



# НОВЫЕ КОЛОНКИ ЮПИТЕР ПРОТЕО ДЛЯ ТРИПСИНОВЫХ ГИДРОЛИЗАТОВ И ПЕПТИДОВ

РИС. 3

Сравнение: 300Å С18 против 90Å Юпитер Протео (Трипсиновый гидролизат миоглобина)



Обычно колонки, содержащие сорбент с зернением 300Å, использовались для анализа интактных белков, пептидов и трипсиновых гидролизатов. Силикагели с зернением 300Å имеют малую удельную поверхность, что обеспечивает хорошее удерживание и разрешение для интактных белков, но приводит к слабому удерживанию и низкой эффективности, что неприемлемо при анализе трипсиновых гидролизатов. Юпитер Протео нарушает все традиции и обладает оптимальными характеристиками для обеспечения “экстремального” разрешения. (РИСУНОК 3).

Использование силикагелей с размером пор 90Å, обладающих высокой удельной поверхностью, максимизирует взаимодействие компонентов пробы с неподвижной фазой; частицы силикагеля размером 4 мкм обеспечивают высокую эффективность колонок. Кроме того, уникальная привитая фаза С12 с соответствующим эндкаппингом специально создана для:

- большего разрешения и хорошей симметрии пиков, обеспечиваемой увеличенным на 25% покрытием поверхности привитой фазой по сравнению со стандартными С18 колонками.
- лучшего взаимодействия образец / привитая фаза, и, как следствие, правильной формы пиков (РИСУНОК 3).

## УСЛОВИЯ

### РИС. 1

#### Интактный цитохром С

**Колонка:** Юпитер300 5 мкм С18 300Å  
**Размеры:** 250 x 4,6 мм  
**Подвижная фаза:** А) 0,1% ТФУ к-ты в воде  
 Б) 0,1% ТФУ к-ты в ацетонитриле  
**Градиент:** А/Б (75:5) до А/Б (45:55) за 15 мин (2% Б/мин)  
**Расход:** 1,0 мл/мин  
**Детектирование:** УФ 220 нм  
**Проба:** 1. цитохром С лошади  
 2. цитохром С быка  
 3. цитохром С собаки

### РИС. 2

#### Генетические разновидности цитохрома С

**Колонка:** Юпитер 4 мкм Протео 90Å  
**Размеры:** 250 x 4,6 мм  
**Подвижная фаза:** А) 0,012% ТФУ к-ты в воде  
 Б) 0,01% ТФУ к-ты в ацетонитриле  
**Градиент:** А/Б (95:5) за 5 мин, затем до А/Б (60:40) за 55 мин  
**Расход:** 1,0 мл/мин  
**Температура:** 22°C  
**Детектирование:** УФ 210 нм  
**Проба:** трипсиновая карта генетических разновидностей цитохрома С – см. подписи к хроматограммам

### РИС. 3

#### Трипсиновый гидролизат миоглобина

**Колонка:** Юпитер 4 мкм Протео 90Å  
**Размеры:** 250 x 4,6 мм  
**Подвижная фаза:** А) 0,012% ТФУ к-ты в воде  
 Б) 0,01% ТФУ к-ты в ацетонитриле  
**Градиент:** А/Б (95:5) за 5 мин, затем до А/Б (60:40) за 55 мин  
**Расход:** 1,0 мл/мин  
**Температура:** 22°C  
**Детектирование:** УФ 210 нм  
**Проба:** трипсиновый гидролизат миоглобина

# РАЗРЕШЕНИЕ 100 ПИКОВ И БОЛЕЕ

Также как каждая линия в отпечатке пальцев идентифицирует своего обладателя, каждый пик трипсинового гидролизата вносит вклад в характеристику интактного белка. Поэтому нами была разработана колонка для разделения максимального количества пиков. Высокое разрешение сложных белков достигается при помощи:

- Высокой эффективности колонок, сравнимой с эффективностью сорбентов с зернением 3 мкм, но с низким обратным давлением, характерным для сорбентов с зернением 5 мкм.
- Площадь удельной поверхности 475 м<sup>2</sup>/г увеличивает взаимодействия привитая фаза/образец и улучшает форму пиков.

Колонки Юпитер Протео позволяют разделять множество пиков с высокой эффективностью – крайне важное качество, так как большое количество пиков требует большей разрешающей способности (РИСУНКИ 4-5).

РИС. 4

## Сравнение трипсиновых гидролизатов миоглобина

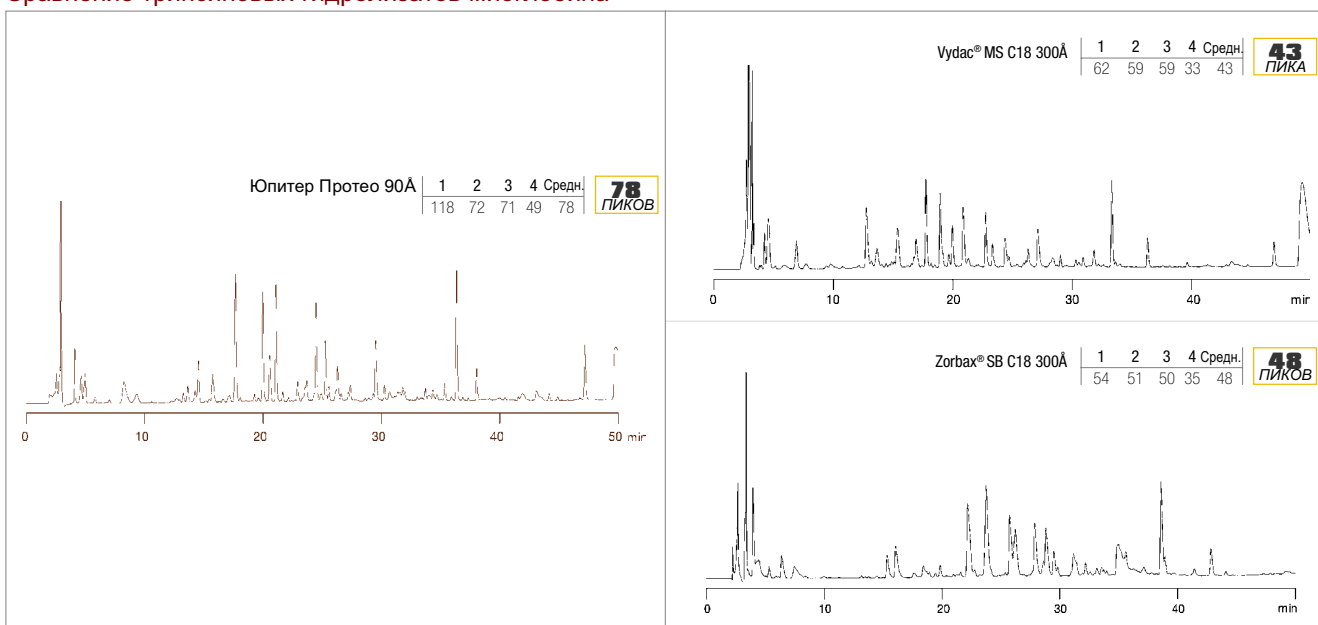
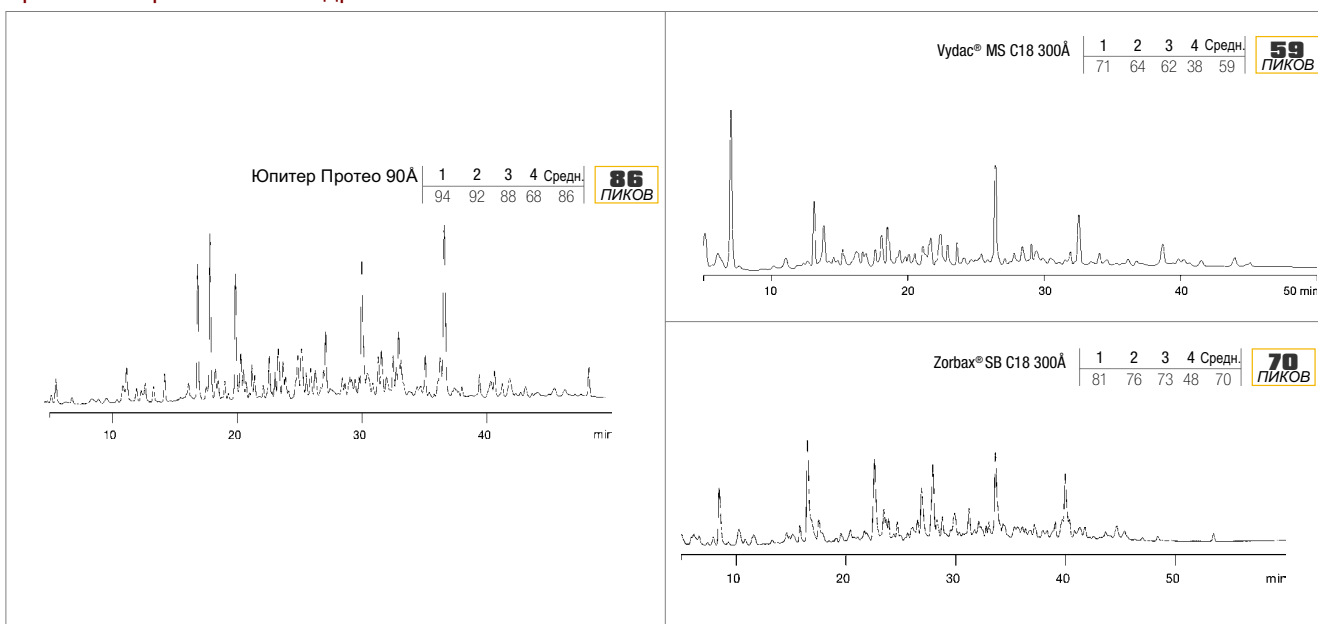


РИС. 5

## Сравнение трипсиновых гидролизатов к-казеина



# УДОБСТВО МОНИТОРИНГА ОКИСЛЕНИЯ И ДЕАМИНИРОВАНИЯ

Длительное хранение продуктов белковой природы является одной из главных проблем биотехнологического производства, так как белки могут подвергаться дезактивации вследствие деаминации и окисления. Окисление обычно заметно по метиониновым остаткам из-за легко окисляемой SH-группы. В трипсиновых гидролизатах  $\beta$ -лактоглобулина выявляются более ранние пики, представляющие более полярные продукты окисления (РИСУНОК 6).

При деаминации аспарагина образуется менее полярная аспарагиновая кислота, которая элюируется раньше. РНКазы подвергаются деаминации и пики легко разделяются на колонке Юпитер Протео (РИСУНОК 7). Мониторинг пиков продуктов окисления и деаминации белков в «джунглях» трипсинового гидролизата может быть затруднен без адекватного разрешения, таким образом, колонки Юпитер Протео были созданы с единственной целью: для высокой разрешающей способности.

РИС. 6

## Окисление $\beta$ -лактоглобулина

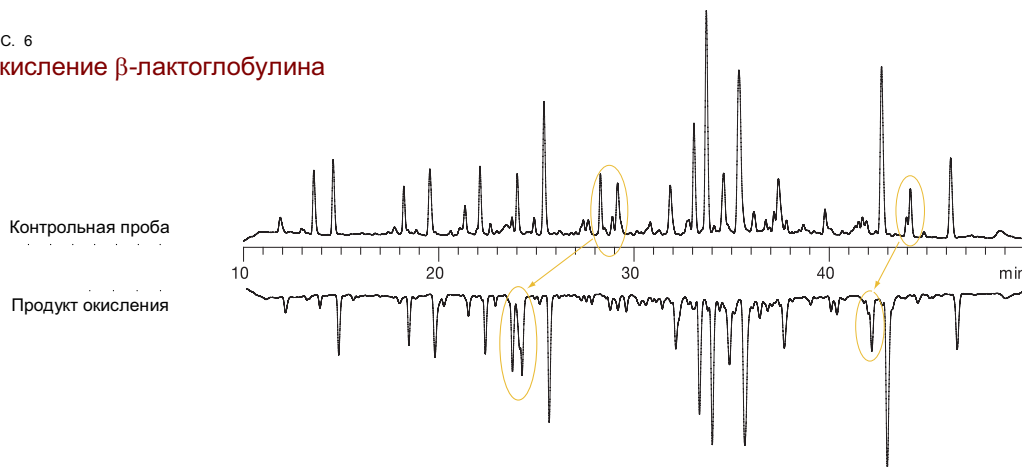
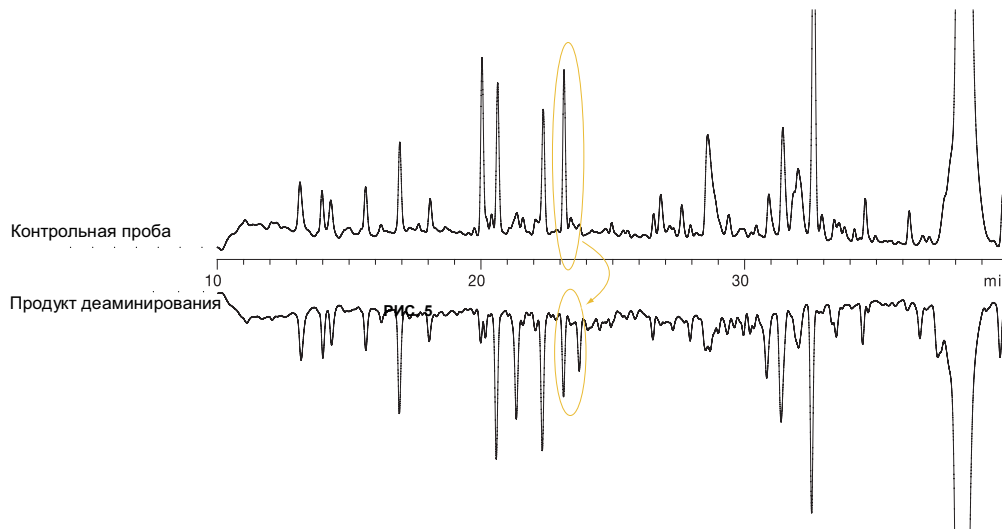


РИС. 7

## Деаминация РНКазы



### УСЛОВИЯ

РИС. 4

**Трипсиновый гидролизат миоглобина**  
**Колонка:** Юпитер 4 мкм Протео 90А  
 Vydac 5 $\mu$  MS C18 300А  
 Zorbax 5 $\mu$  SB-C18 300А  
**Размеры:** 250 x 4,6 мм  
**Подвижная фаза:** А) 0,012% ТФУ к-ты в воде  
 Б) 0,01% ТФУ к-ты в ацетонитриле  
**Градиент:** А/Б (95:5) за 5 мин,  
 затем до А/Б (60:40) за 55 мин  
**Расход:** 1,0 мл/мин  
**Температура:** 22°C  
**Детектирование:** УФ 210 нм  
**Проба:** трипсиновый гидролизат миоглобина

РИС. 5

**Трипсиновый гидролизат к-казеина**  
**Колонка:** Юпитер 4 мкм Протео 90А  
 Vydac 5 $\mu$  MS C18 300А  
 Zorbax 5 $\mu$  SB-C18 300А  
**Размеры:** 250 x 4,6 мм  
**Подвижная фаза:** А) 0,012% ТФУ к-ты в воде  
 Б) 0,01% ТФУ к-ты в ацетонитриле  
**Градиент:** А/Б (95:5) за 5 мин,  
 затем до А/Б (60:40) за 55 мин  
**Расход:** 1,0 мл/мин  
**Температура:** 22°C  
**Детектирование:** УФ 210 нм  
**Проба:** трипсиновый гидролизат к-казеина

РИС. 6

**Трипсиновый гидролизат окисленного и контрольного  $\beta$ -лактоглобулина**  
**Колонка:** Юпитер 4 мкм Протео 90А  
**Размеры:** 250 x 4,6 мм  
**Подвижная фаза:** А) 0,012% ТФУ к-ты в воде  
 Б) 0,01% ТФУ к-ты в ацетонитриле  
**Градиент:** А/Б (95:5) за 5 мин,  
 затем до А/Б (60:40) за 55 мин  
**Расход:** 1,0 мл/мин  
**Температура:** 22°C  
**Детектирование:** УФ 210 нм  
**Проба:** верхняя хроматограмма - трипсиновый гидролизат  $\beta$ -лактоглобулина;  
 нижняя хроматограмма - трипсиновый гидролизат окисленного  $\beta$ -лактоглобулина

РИС. 7

**Трипсиновый гидролизат деаминированной и контрольной РНКазы**  
**Колонка:** Юпитер 4 мкм Протео 90А  
**Размеры:** 250 x 4,6 мм  
**Подвижная фаза:** А) 0,012% ТФУ к-ты в воде  
 Б) 0,01% ТФУ к-ты в ацетонитриле  
**Градиент:** А/Б (95:5) за 5 мин,  
 затем до А/Б (60:40) за 55 мин  
**Расход:** 1,0 мл/мин  
**Температура:** 22°C  
**Детектирование:** УФ 210 нм  
**Проба:** верхняя хроматограмма - трипсиновый гидролизат РНКазы;  
 нижняя хроматограмма - трипсиновый гидролизат деаминированной РНКазы

# СОВМЕСТИМОСТЬ С МОДИФИКАТОРАМИ + pH-СТАБИЛЬНОСТЬ = УЛУЧШЕННОЕ РАЗРЕШЕНИЕ

Большая гибкость в отношении применения различных подвижных фаз позволит Вам работать при условиях, обеспечивающих оптимальное разделение. Юпитер Протео гарантирует разрешение и селективность, обеспечивая:

- Отличные эксплуатационные характеристики в MS-совместимых буферных растворах (ТФУ, ТЭАМ, муравьиная кислота) (РИСУНОК 8).
- Превосходную форму пиков в системах, содержащих до 0,001% трифторуксусной кислоты (РИСУНОК 9).

Просто подберите подходящий профиль градиента, чтобы уменьшить удерживание (РИСУНОК 10). Юпитер Протео расширяет ваш рабочий диапазон pH до интервала 1,5 – 10 (2 – 8 для обычных колонок, содержащих силикагель). Результатом является большая гибкость метода и легкость регенерации колонки.

РИС. 8

## Влияние модификатора на селективность

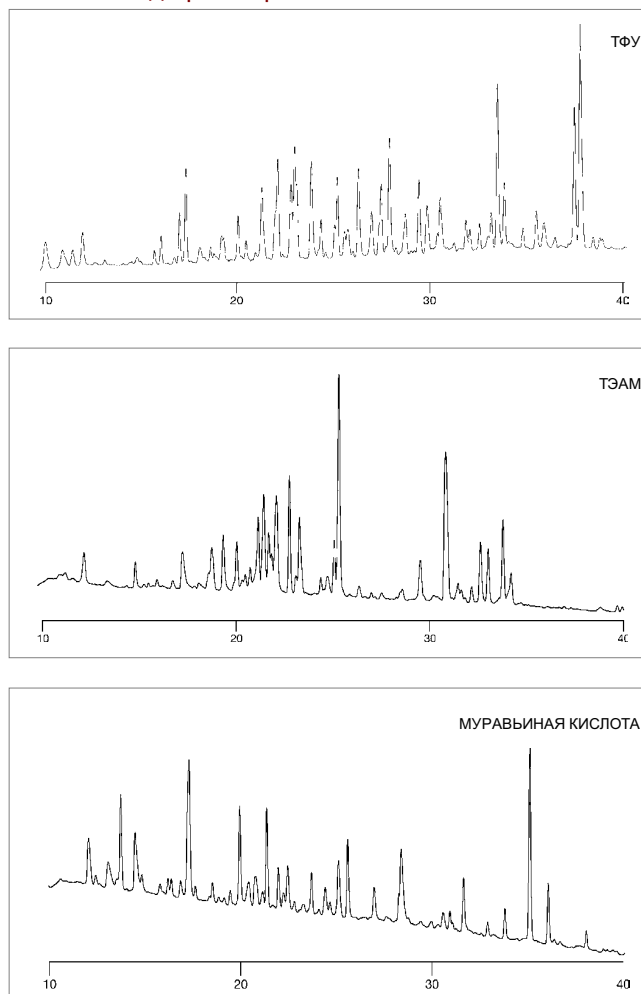
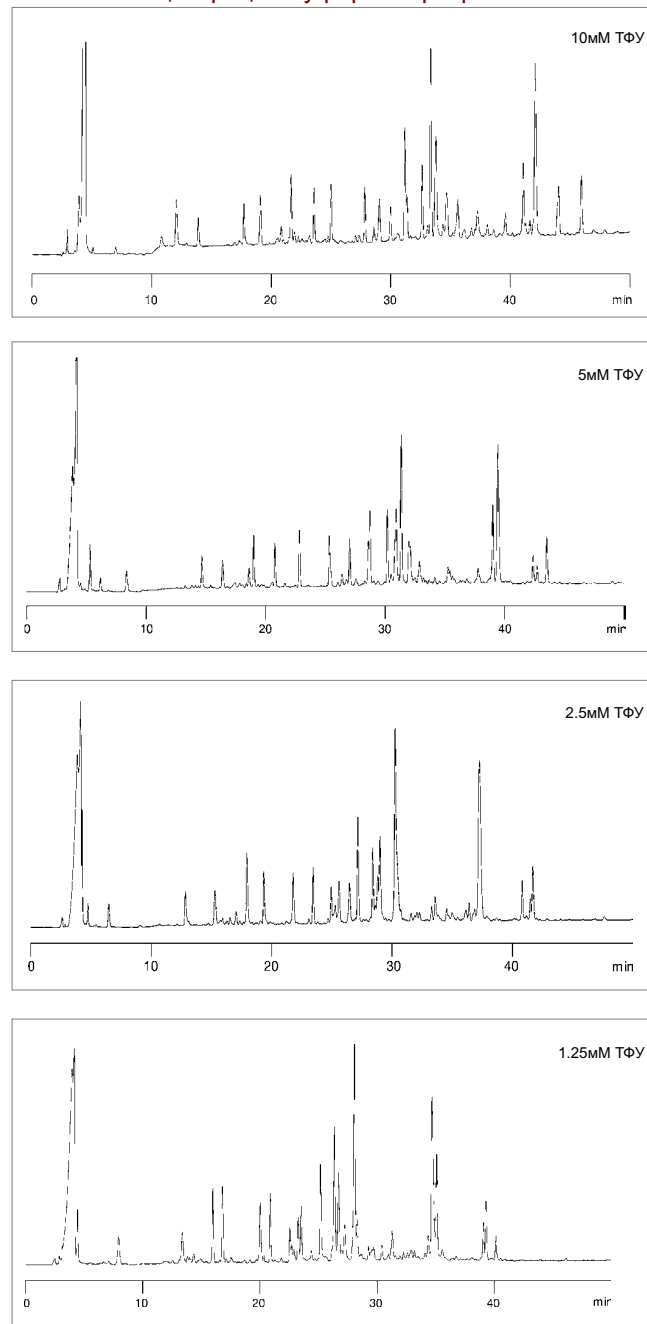


РИС. 9

## Влияние концентрации буфера на разрешение



### УСЛОВИЯ

РИС. 8

#### Влияние модификатора на селективность

Колонка: Юпитер 4 мкм Протео 90А  
 Размеры: 250 x 4,6 мм  
 Подвижная фаза: А) 5мМ модификатора в воде  
 Б) 5мМ модификатора в ацетонитриле  
 (см. модификаторы на хроматограммах)  
 Градиент: А/Б (95:5) за 5 мин,  
 затем до А/Б (60:40) за 55 мин  
 Расход: 1,0 мл/мин  
 Температура: 22°C  
 Детектирование: УФ 210 нм  
 Проба: трипсиновый гидролизат миоглобина

РИС. 9

#### Сравнение концентрации буфера

Колонка: Юпитер 4 мкм Протео 90А  
 Размеры: 250 x 4,6 мм  
 Подвижная фаза: А) ТФУ к-ты в воде  
 Б) ТФУ к-ты в ацетонитриле  
 (см. концентрации ТФУ к-ты на хроматограммах)  
 Градиент: А/Б (95:5) за 5 мин,  
 затем до А/Б (60:40) за 55 мин  
 Расход: 1,0 мл/мин  
 Температура: 22°C  
 Детектирование: УФ 210 нм  
 Проба: трипсиновый гидролизат миоглобина

РИС. 10

#### Оптимизация градиента

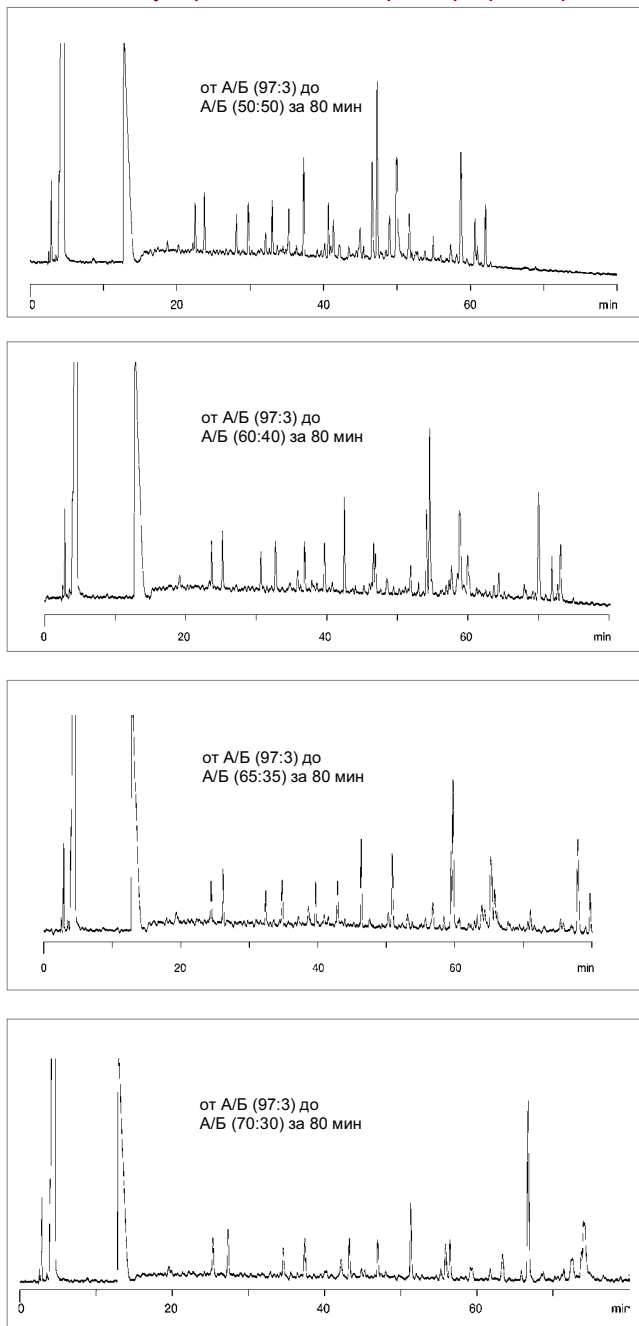
Колонка: Юпитер 4 мкм Протео 90А  
 Размеры: 250 x 4,6 мм  
 Подвижная фаза: А) 0,012% ТФУ к-ты в воде  
 Б) 0,01% ТФУ к-ты в ацетонитриле  
 А/Б (97:3) за 10 мин,  
 затем см. градиентный профиль на хроматограммах  
 Расход: 1,0 мл/мин  
 Температура: 22°C  
 Детектирование: УФ 210 нм  
 Проба: трипсиновый гидролизат лактоглобулина



# РАЗДЕЛЕНИЕ ПЕПТИДОВ И ГЕНЕТИЧЕСКИХ РАЗНОВИДНОСТЕЙ ИНСУЛИНА

РИС. 10

Оптимизация удерживания подбором профиля градиента



Колонки Юпитер Протео могут использоваться для разделения пептидов с молекулярной массой  $\leq 10000$  Da, и зачастую способны даже к разделению пептидов, различающихся всего на 1-2 аминокислотных остатка. На рисунке 11 приведено сравнительное разделение пяти пептидных стандартов, аминокислотные последовательности каждого из которых отличаются по гидрофобности на одну метильную группу. Сравнительное изучение различий в значениях эффективности, селективности и разрешения позволяет нам отслеживать эксплуатационные характеристики колонки в целом; на колонке Юпитер Протео полностью отделяется каждый из пептидов. Использование колонок Юпитер Протео позволяет добиться более правильной формы пиков и лучшего разрешения по сравнению с колонками конкурирующих производителей, что также проиллюстрировано на примере разделения инсулина и продуктов его распада и деаминации (РИСУНОК 12).

РИС. 11

Сравнение метиленовой селективности

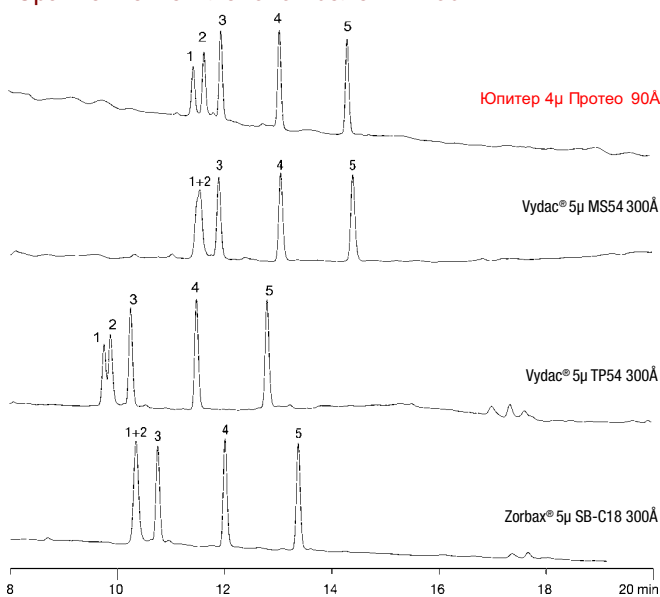


РИС. 12

Инсулин, продукты деградации и деаминации

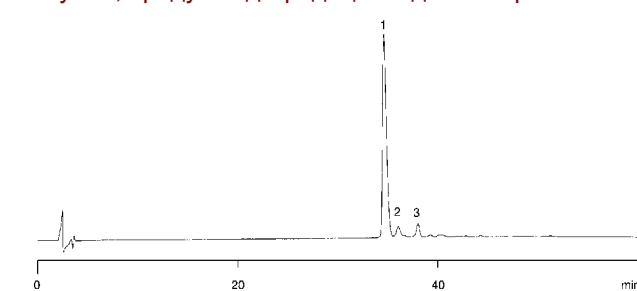


РИС. 11

Сравнение метиленовой селективности

Колонка: Юпитер 4 мкм Протео 90Å  
Vydac 5µ MS54 300Å  
Vydac 5µ TP54 300Å  
Zorbax 5µ SB-C18 300Å

Размеры: 250 x 4,6 мм

Подвижная фаза: А) 0,1% ТФУ к-ты в воде  
Б) 0,085% ТФУ к-ты в ацетонитриле  
от А/В (95:5) до А/В (55:45) за 20 мин,  
затем см. градиентный профиль на  
хроматограммах

Расход: 1,0 мл/мин

Температура: 22°C

Детектирование: УФ 214 нм

Проба: 1. NH<sub>2</sub>-Arg-Gly-Gly-Ala-Gly-Gly-Leu-Gly-Leu-Gly-Lys-Amide  
2. Ac-Arg-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Leu-Gly-Leu-Gly-Lys-Amide  
3. Ac-Arg-Gly-Ala-Gly-Gly-Gly-Leu-Gly-Leu-Gly-Lys-Amide  
4. Ac-Arg-Gly-Val-Gly-Gly-Gly-Leu-Gly-Leu-Gly-Lys-Amide  
5. Ac-Arg-Gly-Val-Gly-Gly-Gly-Leu-Gly-Leu-Gly-Lys-Amide

РИС. 12

Инсулин, продукты деградации и деаминации

Колонка: Юпитер 4 мкм Протео 90Å

Размеры: 250 x 4,6 мм

Подвижная фаза: А) 0,012% ТФУ к-ты в воде

Б) 0,01% ТФУ к-ты в ацетонитриле  
от А/В (85:15) до А/В (70:30) за 45 мин,  
затем до А/В (60:40) за 55 мин

Расход: 1,0 мл/мин

Температура: 40°C

Детектирование: УФ 210 нм

Проба: 1. инсулин  
2. продукт деаминации инсулина  
3. продукт деградации инсулина

# ЮПИТЕР300 – КОЛОНКА ДЛЯ ИНТАКТНЫХ БЕЛКОВ И ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ

Биохроматографисты всего мира имели возможность убедиться в эффективности колонок для ВЭЖХ Юпитер300. Надежность колонок Юпитер300 основана на:

- Супергладком, механически прочном силикагеле, что уменьшает образование мелких частиц в процессе упаковки и гарантирует получение высокоэффективных колонок с длительными временами службы.
- Высокой плотности покрытия поверхности привитой фазой для низкой неспецифической адсорбции белков, обеспечивающей высокие выходы.

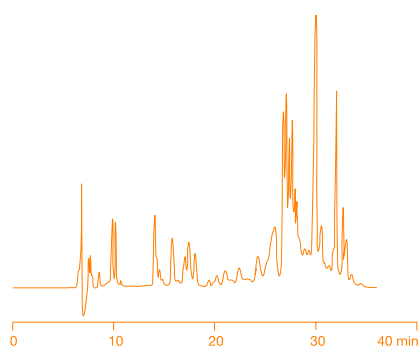
- Широкий рабочий диапазон pH от 1,5 до 10 позволяет нативным белкам сохранять биологическую активность в процессе деления и позволяет осуществлять промывки растворами с высокими значениями pH для легкой регенерации колонки.
- Низкая степень гидролиза неподвижной фазы и исключительные эксплуатационные характеристики при низких концентрациях буфера (0,01% трифторуксусной кислоты) обеспечивают превосходные результаты хроматомаксиметрии.
- Возможность использования частиц с зернением 5, 10, и 15 мкм способствует быстрому масштабированию анализа для применения в препаративных процессах.

РИС. 13

## Экстракт белка пшеницы.

Колонка: 5мкм С18, 300Å, 250 x 4.6 мм.  
 “Ранее мы использовали обращенно-фазную колонку Vydac.... Как бы то ни было, мы остались неудовлетворёнными результатами, полученными на данной колонке, прежде всего плохой воспроизводимостью и плохим разрешением. Мы приобрели колонку Юпитер300 С18 300Å несколько месяцев назад и были поражены её эксплуатационными качествами. Колонка Юпитер лучше разделяет белки, а что касается её воспроизводимости, то профиль стандартной пробы не претерпел ни малейшего изменения с первого дня её использования”

Юпитер300



Vydac®

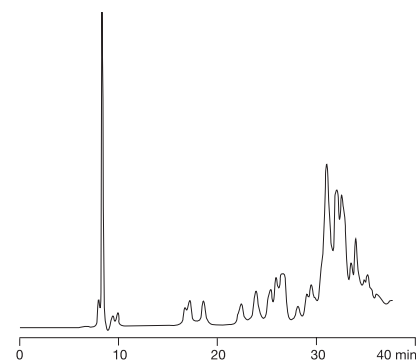
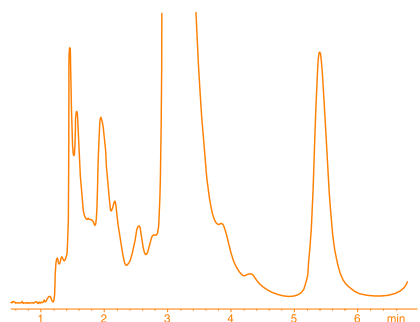


РИС. 14

## Протопорфирины

Колонка: 10 мкм С4, 300Å, 150 x 4.6 мм.  
 “Сравнивая колонку Юпитер компании Феноменек с колонкой Vydac С4, я обнаружил значительное улучшение формы и симметрии пиков. Причём это касалось не только миниатюрных пиков, но и пиков с площадью большей в несколько десятков раз.”

Юпитер300



Vydac®

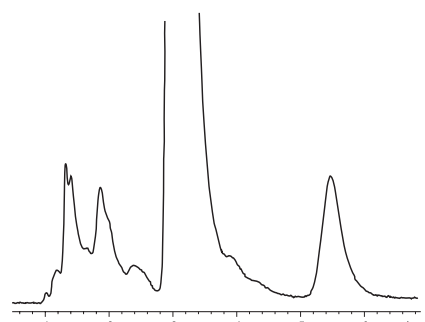
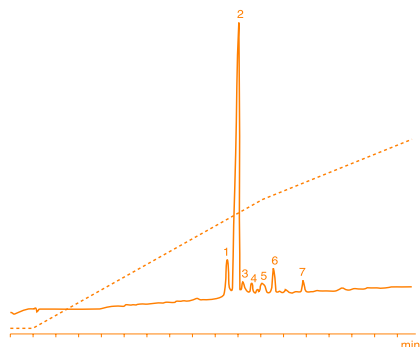


РИС. 15

## 13-мерный синтетический пептид

Колонка: 5 мкм С18, 300Å, 150 x 4.6 мм  
 «Как компания, специализирующаяся на производстве синтетических белков, мы синтезируем огромное количество пептидов. С момента их появления, колонки Юпитер300 от Феноменек стали единственным нашим выбором для процесса очистки, так как они безоговорочно обеспечивают лучшее разрешение, чем любая другая колонка данного типа.»

Юпитер300



Vydac®

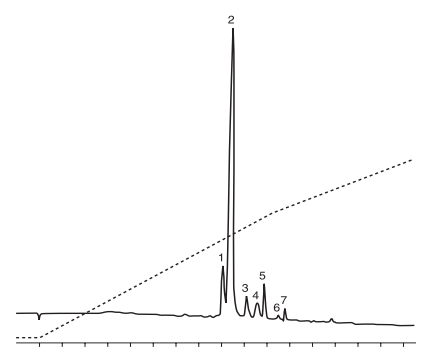
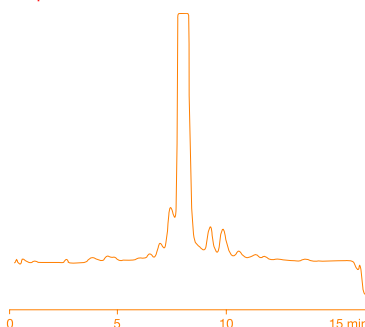


РИС. 16

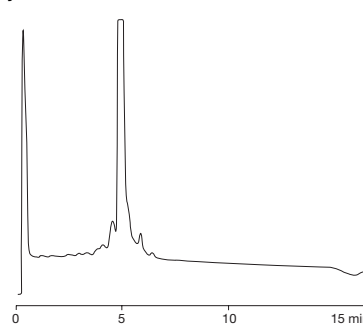
## Рекомбинантные белки

Колонка: 5 мкм С4 300Å, 250 x 4.6 мм  
«По сравнению с любой другой С4 колонкой для анализа рекомбинантных белков, колонку Юпитер отличает стабильность: она выдерживает сотни инъекций и не теряет свои качества даже после хранения в 0,1% ТФУ»

Юпитер300



Vydac®

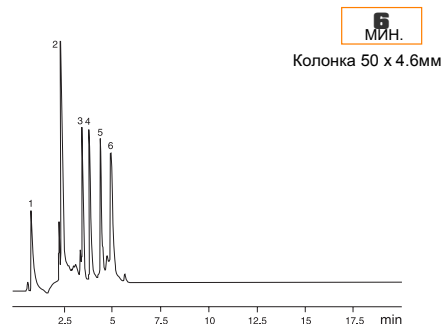
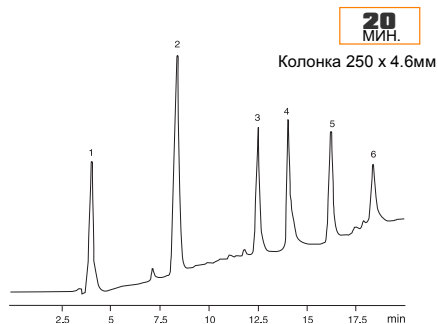


# УМЕНЬШЕНИЕ ВРЕМЕНИ АНАЛИЗА ДО 70%

РИС. 18

## Разделение белков на колонке Юпитер300 300Å С4

При разделении белков большого размера длина колонки оказывает незначительный эффект на удерживание. Использование колонок 50 x 4,6мм приводит к снижению времен анализа на 70% по сравнению с колонками 250 x 4,6 мм. Потребление растворителей при этом также снижается, таким образом, необходимый результат достигается быстрее и с меньшими экономическими затратами.



### УСЛОВИЯ

РИСУНКИ 13,14,15,16  
ПРИВЕДЕННЫЕ ВЫШЕ ДАННЫЕ ПРЕДОСТАВЛЕНЫ НАШИМИ  
КЛИЕНТАМИ.  
УСЛОВИЯ ПАТЕНТОВАНЫ ДЛЯ ОБЕИХ КОЛОНОК. МОГУТ НЕ  
БЫТЬ РЕПРЕЗЕНТАТИВНЫМИ ДЛЯ ВСЕХ ПРИМЕНЕНИЙ.

РИС. 18

### Разделение протеинов на Юпитер С4 300 Å

#### Условия для колонки 250 x 4,6 мм

Колонка: Юпитер300 5 мкм С4 300Å

Подвижная фаза: А) 0,1% ТФУ к-ты в воде

Б) 0,1% ТФУ к-ты в ацетонитриле  
от А/Б (95:5) до А/Б (74:26) за 7 мин,  
затем до А/Б (63:34) за 3 мин,  
затем до А/Б (46:54) за 10 мин

Расход: 1,0 мл/мин

Детектирование: УФ 220 нм

#### Условия для колонки 50 x 4,6 мм

Подвижная фаза: А) 0,1% ТФУ к-ты в воде

Б) 0,1% ТФУ к-ты в ацетонитриле  
от А/Б (100:0) до А/Б (80:20) за 1 мин,  
затем до А/Б (65:35) за 1,5 мин,  
затем до А/Б (53,5:46,5) за 1,5 мин,  
А/Б (53,5:46,5) в течение 2 мин.

Градиент:

Расход: 1,0 мл/мин

Детектирование: УФ 220 нм

Проба:

1. щелочная фосфатаза
2. цианокобаламин
3. РНКаза
4. инсулин
5. трансферрин
6. ингибитор трипсина

# СТАБИЛЬНОСТЬ В ДИАПАЗОНЕ pH ОТ 1,5 ДО 10

Широкий рабочий диапазон pH подразумевает не только увеличение срока службы колонок, он также предполагает широкие возможности разработки и модификации методов разделения. Колонки Юпитер300 стабильны в диапазоне pH от 1,5 до 10 на протяжении более чем 2500 часов работы (РИСУНОК 19), обеспечивают хорошую форму пиков при концентрациях трифторуксусной кислоты до 0,01% (РИСУНОК 21). Широкий рабочий диапазон pH позволяет "играть" с pH подвижной фазы с целью улучшения селективности (РИСУНОК 20).

Изменения pH подвижной фазы могут также обеспечивать возможность получения характеристик чистоты продукта, способствуя получению дополнительных доказательств существования примесей. Промывка элюентами с высокими значениями pH позволяет легко удалять примеси и восстанавливать рабочие характеристики колонок.

РИС. 20

Влияние pH на разделение брадикинина

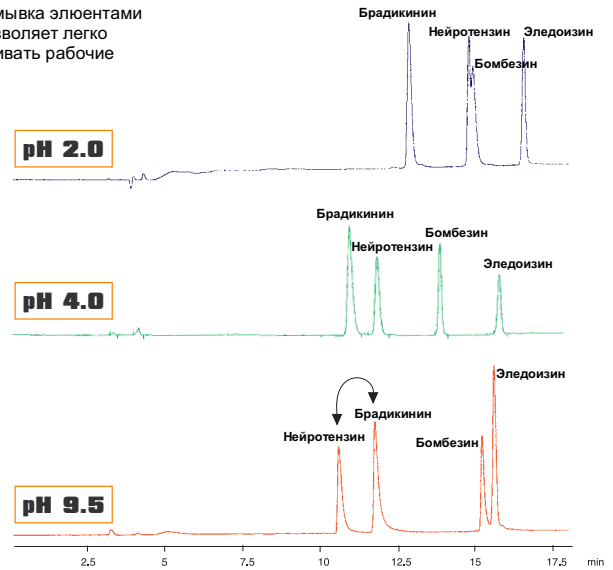


РИС. 21

Влияние концентрации буфера на разделение белков

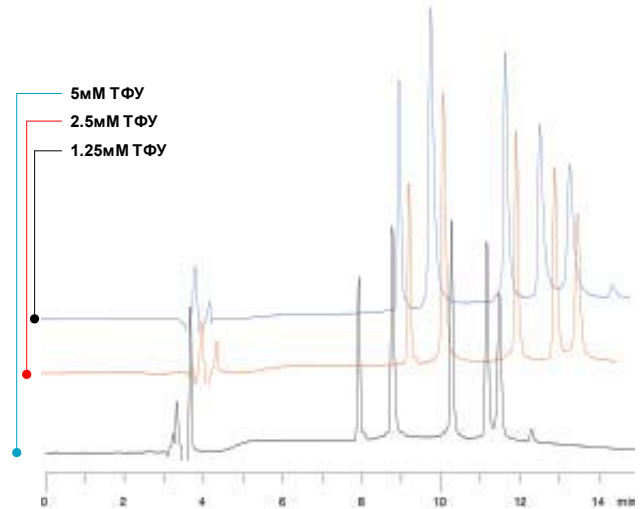
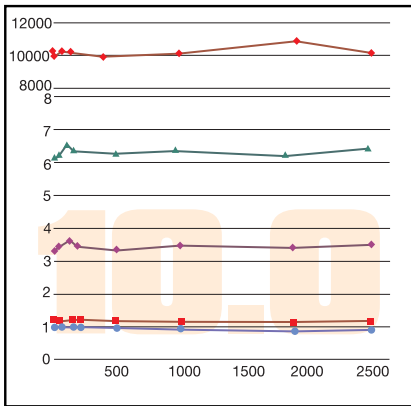


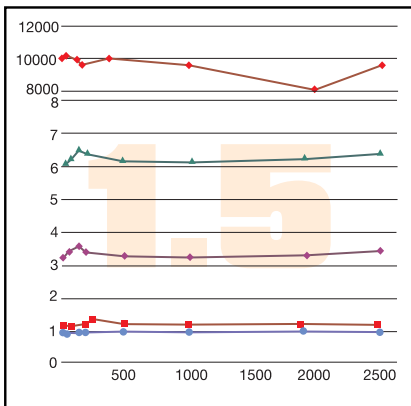
РИС. 19

Стабильность Юпитер300 C18 при pH 1,5 и 10



Продолжительность эксперимента

Условия теста: колонка уравнивалась 20мМ Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (pH 10,0) в воде / ацетонитрил (50:50)



Продолжительность эксперимента

Условия теста: колонка уравнивалась 0,1 % ТФУ (pH 1,5) в воде / ацетонитрил (50:50)

## УСЛОВИЯ

РИС. 20

Влияние pH на разделение брадикинина

Колонка: Юпитер300 5 мкм C1 300A

Размеры: 250 x 4,6 мм

Расход: 1,0 мл/мин

Детектирование: УФ 215 нм

Проба: 1. брадикинин  
2. бомбезин  
3. нейротензин  
4. эледоизин

РИС. 21

Влияние концентрации буфера на разделение

Колонка: Юпитер300 5 мкм C4 300A

Размеры: 250 x 4,6 мм

Подвижная фаза: А) вода с ТФУ

Б) ацетонитрил с ТФУ (концентрации ТФУ см. на хроматограммах) от А/Б (75:25) до А/Б (5:95) за 20 мин,

Расход: 1,0 мл/мин

Температура: 35°C

Детектирование: УФ 214 нм

Проба: 1. инсулин  
2. трипсиноген  
3. лактальбумин  
4. миоглобин  
5. карбоангидраза

# БЫСТРОЕ МАСШТАБИРОВАНИЕ ДЛЯ ПРЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ ОЧИСТКИ

Колонки Юпитер300, заполненные сорбентом с зернением 10 и 15 мкм, обладают такими же свойствами, как и колонки, заполненные сорбентами зернением 5 мкм – они не являются «преп-вариантами». Это гарантирует быстрое прямое масштабирование аналитических методов до препаративных процессов. Эти колонки обладают следующими преимуществами:

- Силикагели с высокой механической прочностью, обеспечивающие лучшую плотность упаковки
- Большая грузочная емкость для более высокого извлечения образца (РИСУНОК 23)
- Устойчивость частиц силикагеля к механическому повреждению и образованию крошки при высоких давлениях в процессе упаковки и высоких скоростях хроматографирования
- Легкость очистки и регенерации колонок является результатом стабильности в диапазоне pH от 1,5 до 10

Устойчивость силикагелей Юпитер подтверждается при их тестировании на сопротивляемость механическим повреждениям после упаковки в колонках Динамического Аксиального Сжатия (Dynamic Axial Compression (DAC)). Частицы силикагелей Юпитер сохраняют гладкость поверхности и структурную однородность, в то время как в других силикагелях обнаруживаются крошки от разрушенных частиц (РИСУНОК 22). При низком содержании «крошки» разрушенного силикагеля заполнение колонки является более стабильным, противодавление – более низким, уровень загрязнения снижается. Все это позволяет колонкам серии Юпитер сохранять эксплуатационные характеристики в течении более длительного периода.

В наличии имеются колонки с внутренним диаметром до 100 мм, а также сорбенты для флэш-хроматографии. Возможно также изготовление колонок с внутренним диаметром более 100 мм на заказ.

РИС. 22

Силикагель высокой механической прочности устойчивый к повреждению

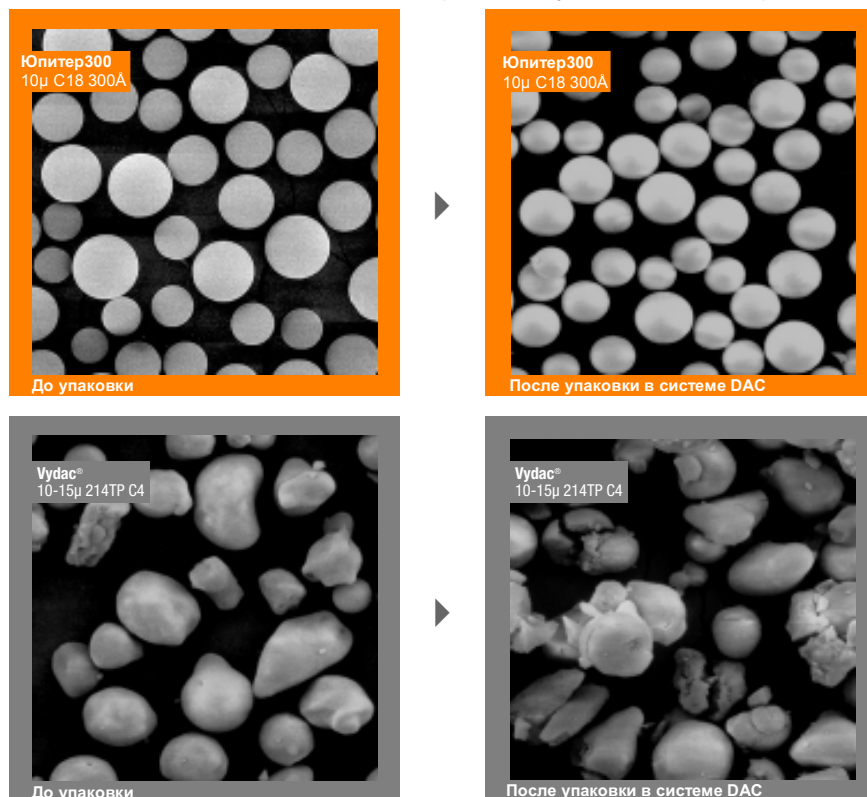


РИС. 23

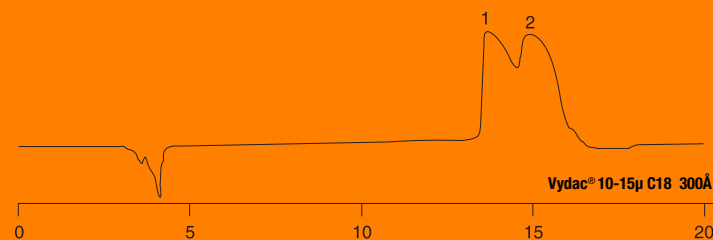
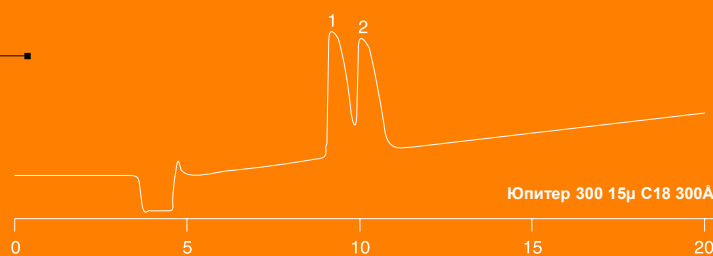
Сравнение грузочной емкости

Выход образца как функция площади пика

Площадь пика (mAU/сек)

	Цитохром С лошади	Цитохром С быка
<b>Юпитер</b>	<b>89420</b>	<b>89253</b>
Vydac®	44412	58078

Ввод пробы:  
4мг протеина / 800мкл



## УСЛОВИЯ

РИС. 23

Сравнение грузочной емкости

Условия для всех колонок:

Размеры: 250 x 4,6 мм

Подвижная фаза: А) 0,1% ТФУ в воде

Б) 0,1% ТФУ в ацетонитриле

Градиент: от А/Б (75:25) до А/Б (35:65) за 20 мин.

Расход: 1,0 мл/мин

Детектирование: УФ 280 нм

Проба: 4 мг протеина / 800 мкл

1. цитохром С лошади

2. цитохром С быка

# ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Упаковка сорбента колонки Юпитер Протео и Юпитер300 контролируется и проверяется на воспроизводимость. Строгий контроль осуществляется в отношении однородности частиц силикагеля, их размера и гладкости. Более 25 отдельных тестов проводится для каждой партии сорбентов Юпитер чтобы гарантировать воспроизводимую хроматографию (РИСУНКИ 25 и 26) – результаты всех тестов приводятся в документации, сопровождающей каждую аналитическую колонку Юпитер Протео 4мкм и Юпитер300 5 мкм.

## Характеристики материала

	Юпитер Протео	Юпитер300
Размер частиц	4, 10 мкм	5, 10, 15 мкм
Привитые фазы	C12 с патентованным эндкеплингом	C4, C5, C18
Эндкеплинг	есть (патентованный, неполярный)	есть (неполярный)
Размер пор	90Å	300Å
pH стабильность	от 1,5 до 10	от 1,5 до 10
Удельная поверхность	475 м <sup>2</sup> /г	170 м <sup>2</sup> /г
Применение	трипсиновый гидролизат и белки	интактные белки
Диапазон молекулярного веса пробы	≤ 10 000 Da	≥ 10 000 Da

РИС. 24  
Сравнение силикагеля  
ЮПИТЕР 5μ C18 300Å



12,000X

YVDAC® 5μ C18 300Å

ЮПИТЕР ПРОТЕО 4μ 90Å

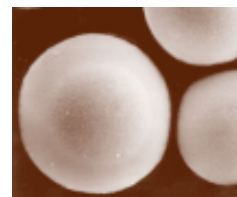
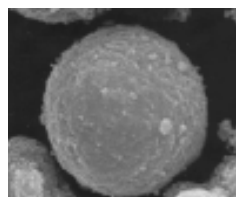


РИС. 25  
Воспроизводимость от партии к партии  
для Юпитер 4мкм Протео 90 Å

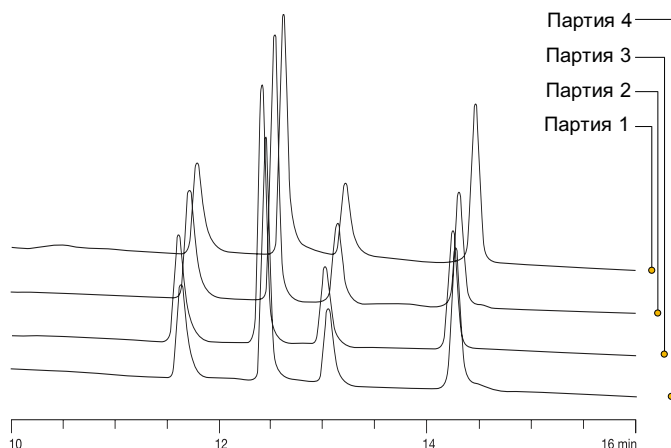
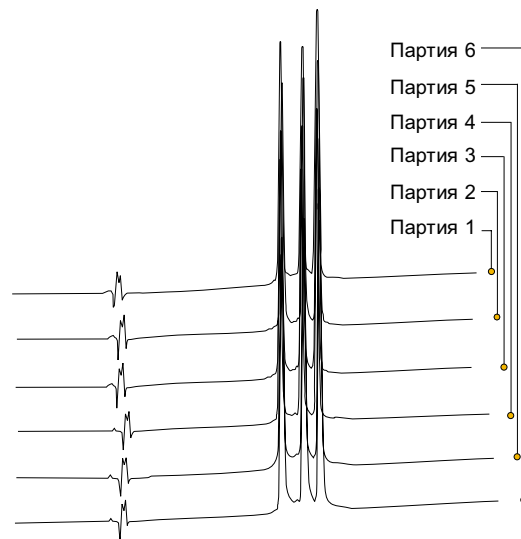


РИС. 26  
Воспроизводимость от партии к партии  
для Юпитер300 5мкм C18 300 Å



## УСЛОВИЯ

РИС. 25  
Воспроизводимость от партии к партии для Юпитер 4мкм Протео 90 Å

Колонка: Юпитер300 5 мкм C18 300Å  
 Размеры: 250 x 4,6 мм  
 Подвижная фаза: А) 0,1% ТФУ в воде  
 Б) 0,1% ТФУ в ацетонитриле  
 Градиент: от А/Б (75:25) до А/Б (45:55) за 15 мин (2% Б/мин),  
 Расход: 1,0 мл/мин  
 Детектирование: УФ 220 нм  
 Проба: 1. брадикинин (300 мкг/мл)  
 2. ангиотензин III (100мкг/мл)  
 5. нейротензин (300 мкг/мл)  
 3. эледиозин (250 мкг/мл)

РИС. 26  
Воспроизводимость от партии к партии для Юпитер300 5мкм C18 300 Å

Колонка: Юпитер300 5 мкм C18 300Å  
 Размеры: 250 x 4,6 мм  
 Подвижная фаза: А) 0,1% ТФУ в воде  
 Б) 0,1% ТФУ в ацетонитриле  
 Градиент: от А/Б (75:25) до А/Б (45:55) за 15 мин (2% Б/мин),  
 Расход: 1,0 мл/мин  
 Детектирование: УФ 220 нм  
 Проба: 1. Цитохром С лошади  
 2. Цитохром С быка  
 3. Цитохром С собаки

Yupiter торговая марка Phenomenex.  
 Zorbax SB-C18 зарегистрированная  
 торговая марка Agilent Technologies.  
 Yvdac MS C18 торговая марка Grace  
 Yvdac Co.  
 Phenomenex зарегистрированная  
 торговая марка.