

Agilent BioHPLC-Säulen

PROTEINIDENTIFIZIERUNG UND CHARAKTERISIERUNG VON VERUNREINIGUNGEN MIT REVERSED PHASE-HPLC/UHPLC

The Measure of Confidence



Agilent Technologies

REVERSED PHASE-HPLC/UHPLC

Steigern Sie mit Agilent die Genauigkeit und Produktivität

Reversed Phase-Verfahren werden zur Bestätigung der Identität eines Proteins, zur Charakterisierung von Verunreinigungen und zur Quantifizierung posttranslatiionaler Modifikationen angewendet. Bei dieser Technik erfolgt die Trennung auf der Basis unterschiedlicher Hydrophobie unter denaturierenden Bedingungen. Daraus lassen sich Rückschlüsse über die primäre Aminosäuresequenz des Moleküls sowie über Sequenzvariationen und -modifikationen ziehen.

Agilent bietet die umfassendste Auswahl an weitporigen Reversed Phase BioHPLC-Säulen mit Porengrößen von 300 Å, 450 Å und größer mit weltweiter Unterstützung durch hochqualifizierte technische Kundenbetreuer und Applikationschemiker. Die Produktreihe schließt Säulen mit voll porösen 1,8-, 3,5- und 5-µm-Partikeln, die für Drücke von 400 bis 1200 bar geeignet sind, Poroshell-Säulen mit oberflächenporösen Partikeln für die UHPLC-Trennung bei niedrigeren Drücken und Polymer-Säulen für Analysen unter extremsten Bedingungen ein.



Agilent AdvanceBio RP-mAb-Säulen: Diese Säulen basieren auf der Poroshell-Technologie mit einzigartiger Verfahrenstechnik für Porengröße und gebundene Phase und bieten eine höhere Auflösung sowie kürzere Analysendauer für genaue, reproduzierbare Ergebnisse bei der Analyse von intakten monoklonalen Antikörpern und mAb-Fragmenten.

Agilent AdvanceBio Peptide Mapping-Säulen: schnelle Auflösung zur Identifizierung von Aminosäureveränderungen in der Primärstruktur. Mit ihren 2,7- μm -Partikeln und der C18-Funktion bieten AdvanceBio Peptide Mapping-Säulen hervorragende Retention, Auflösung und Peakform bei der Trennung basischer hydrophober Peptide.

Agilent Poroshell 300-Säulen: die ersten Säulen der Branche mit kleinen, oberflächenporösen Partikeln zur schnellen Trennung von Polypeptiden und Proteinen.

Agilent ZORBAX RRHD 300 Å 1,8- μm -Säulen: Stabilität bis 1200 bar für die Reversed Phase-Trennung von intakten Proteinen, Proteinfragmenten und Proteinverdauen unter UHPLC-Bedingungen.

Agilent ZORBAX 300 Å 3,5- und 5- μm -Säulen: voll poröse Materialien für die HPLC- und präparative Trennung; viele der gebundenen Phasen bieten Skalierbarkeit ausgehend von 1,8- μm -Partikeln.

Agilent PLRP-S-Säulen: makroporöse Polymerpartikel erlauben die HPLC-Trennung in einem sehr weiten pH-Bereich. Mit 8 Partikelgrößen und 3 weiten Porengrößen bieten die PLRP-S-Säulen optimale Lösungen für die analytisch-präparative Trennung von Peptiden, Proteinen und Proteinkomplexen.



INHALT

AdvanceBio RP-mAb-Säulen

Für intakte monoklonale Antikörper und mAb-Fragmente **Seite 5**

AdvanceBio Peptide Mapping-Säulen

Für basische hydrophobe Peptide **Seite 7**

Poroshell 300-Säulen

Für intakte Proteintrennungen **Seite 10**

ZORBAX RRHD-Säulen

Für intakte Proteine und Peptid-Verdaue **Seite 15**

ZORBAX 300StableBond-Säule

Für Trennungen bei niedrigem pH-Wert **Seite 17**

PLRP-S-Säulen

Für Stabilität unter extremen Bedingungen **Seite 18**

Selektionshilfe für Säulen/ Bestellinformationen **Seite 20**

Wenn Sie mehr über die Durchführung hochauflösender Proteintrennungen mit Agilent Reversed Phase-Säulen erfahren möchten, besuchen Sie www.agilent.com/chem/AdvanceBio

REVERSED PHASE-HPLC

Welche schnelle LC-Säule ist für Ihre Reversed Phase-Trennung am besten geeignet?

Agilent bietet die größte Auswahl an schnellen weitporigen HPLC-/UHPLC-Säulen. So können Sie flexibel Methoden mit höchster Auflösung erstellen, unabhängig davon, ob Sie ein 400-, ein 600- oder ein 1200-bar-Gerät verwenden. Für die effiziente Trennung von Proteinen und Peptiden sind weitporige 300 Å-Säulen erforderlich, da sie diesen Analyten kompletten Zugang zur gebundenen Phase erlauben.

Auswahl von Reversed Phase-Säulen		
Applikation	Agilent-Säulen	Hinweise
Intakte monoklonale Antikörper und mAb-Fragmente	AdvanceBio RP-mAb, 450 Å, 3,5 µm <ul style="list-style-type: none"> • SB-C8 • C4 • Diphenyl 	Zur effizienten Trennung von großen Biomolekülen sind Partikel mit einem großen Porendurchmesser, wie intakte mAbs, erforderlich, da diese den Analyten kompletten Zugang zur gebundenen Phase erlauben. Durch Nutzung der Poroshell-Technologie mit kürzerem Diffusionsweg wird die Effizienz noch weiter erhöht. Die C4-Säule ist für mAb-Trennungen gut geeignet, da sie bei niedrigem pH Stabilität bietet und mit Methoden kompatibel ist, die USP L26-Säulen erfordern. StableBond C8 bietet Skalierbarkeit und schnellen Methodentransfer. Die Diphenyl-Phase bietet eine Selektivitätsalternative, die nur von Agilent erhältlich ist.
Intakte Proteine, monoklonale Antikörper, mAb-Fragmente und Polypeptide	ZORBAX 300 Å, 1,8 µm <ul style="list-style-type: none"> • RRHD 300SB-C18 • RRHD 300SB-C8 • RRHD 300SB-C3 • RRHD 300-Diphenyl 	Optimierte Packungsverfahren für Stabilität bis 1.200 bar für den Einsatz zusammen mit dem Agilent 1290 Infinity LC. RRHD 1,8-µm-Säulen sind in den Längen 50 und 100 mm erhältlich und ermöglichen schnelle oder hochauflösende High-Definition-Trennungen komplexester Proben. StableBond C18 ist ideal für Trennungen von komplexen Proteinen und Proteinverdau.
	ZORBAX 300 Å, 3,5 und 5 µm <ul style="list-style-type: none"> • 300SB-C18 • 300SB-C8 • 300SB-C3 • 300SB-CN 	Ideal zur Verwendung mit HPLC-Systemen. StableBond C3 und CN sind für größere, hydrophobere Verbindungen geeignet.
	ZORBAX 300 Å, Extend-C18	Verwendung eines einzigartigen zweizähligen Silans in Kombination mit einem zweifachen Endcapping-Verfahren, wodurch das Kieselgel vor der Auflösung bei hohem pH-Wert (bis 11,5) geschützt ist.
Große intakte Proteine, monoklonale Antikörper	Poroshell 300 <ul style="list-style-type: none"> • 300SB-C18 • 300SB-C8 • 300SB-C3 • 300Extend-C18 	Poroshell-Säulen nutzen einzigartige Partikel, die aus einer Schicht porösen Kieselgels auf einem festen Kieselgelkern aufgebaut sind. So wird der Diffusionsweg für Proteine verringert, wodurch eine schnelle HPLC-Trennung von Proteinen und Peptiden möglich ist.
Peptide	AdvanceBio Peptid-Mapping	Durch die ideale Porengröße von 120 Å zur Ermittlung eines weiten Molekulargewichtsbereichs von Peptiden geeignet. Durch Tests mit einem komplexen Peptid-Gemisch nachgewiesene Leistungsfähigkeit. Die einzigartige Agilent Poroshell-Technologie ermöglicht höhere Durchsatzraten und eine bessere Auflösung der vollständigen Peptidsequenz.
Peptide bis DNA	PLRP-S <ul style="list-style-type: none"> • 100 Å • 300 Å • 1000 Å • 4000 Å 	Diese Partikel sind selbst hydrophob. Daher ist für die Reversed Phase-Trennung kein Alkyl-Ligand als gebundene Phase erforderlich. Dies gewährleistet ein Material von 100 Å, das hohe Reproduzierbarkeit bietet und frei von Silanolen und Schwermetallionen ist.
Kleine Moleküle/Synthese	PLRP-S 100 Å	
Rekombinante Peptide/Proteine	PLRP-S 300 Å	
Große Proteine	PLRP-S 1000 Å	
DNA/Trennungen mit hoher Geschwindigkeit	PLRP-S 4000 Å	
Aminosäuren	ZORBAX Amino Acid Analysis (AAA)	Getestet für die Analyse von Aminosäuren unter Verwendung von OPA und FMOC zur Vorsäulen-Derivatisierung. Optionen für HPLC und UHPLC verfügbar.



ADVANCEBIO RP-mAb-SÄULEN

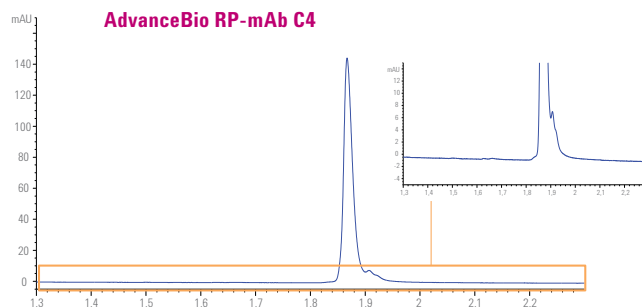
SCHNELLERE UND BESSERE AUFLÖSUNG VON mAbs

Die Agilent AdvanceBio RP-mAb-Säule bietet eine höhere Auflösung sowie kürzere Analysendauer für genaue, reproduzierbare Ergebnisse bei der Analyse von monoklonalen Antikörpern zur Erforschung und Entwicklung von Biopharmazeutika und in QA/QC-Applikationen.

Die exklusive Agilent Poroshell-Technologie, die in jede AdvanceBio RP-mAb-Säule integriert ist, bietet folgende Vorteile:

- ▶ **Verbesserte Genauigkeit:** Oberflächenporöse Partikel (3,5 µm) mit weiten Poren (450 Å) erhöhen die Auflösung für mAb, während die Kompatibilität mit allen LC-Geräten bestehen bleibt
- ▶ **Geschwindigkeit:** Kürzere Analysedauer als bei Säulen mit vollporösen Partikeln derselben Größe (**Abbildung 1**)
- ▶ **Niedrigere Kosten:** Das robuste gepackte Poroshell-Säulenbett und die 2 µm-Einlassfritte verlängern die Lebensdauer der Säule, indem Verstopfungen am Einlass verhindert werden
- ▶ **Flexible Methodenentwicklung:** Auswahl an Säulentypen – SB-C8, C4 und Diphenyl

Scharfe Peaks mit allen Details für kurze Laufzeiten – Charakterisierung in weniger als zwei Minuten

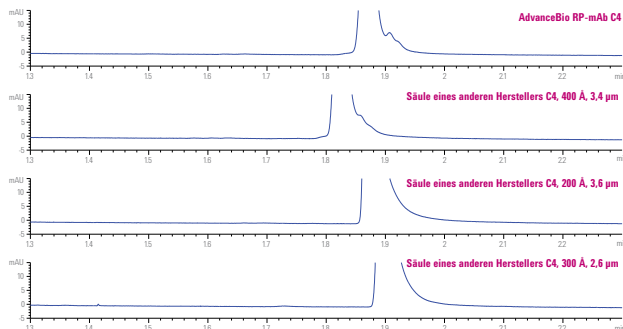


Methodenparameter

Abmessungen der Säule: 2,1 x 100 mm, 3,5 µm
 Mobile Phase A: 0,1 % TFA in Wasser: IPA (98:2)
 Mobile Phase B: IPA: ACN: Mobile Phase A (70:20:10)
 Flussrate: 1,0 ml/min
 Gradient: 10-58 % B in 4 min, Spülung 1 min bei 95 % B, erneute Äquilibration 1 min bei 10 % B
 Probe: 5 µl-Injektion der intakten humanisierten rekombinanten Herceptin-Variante IgG1 von Creative Biolabs (1 mg/ml)
 Temperatur: 80 °C
 Detektion: UV bei 254 nm

Abbildung 1. Hier zeigt die AdvanceBio RP-mAb C4-Säule eine herausragende Peakform und detaillierte Auflösung des intakten humanisierten rekombinanten Herceptins IgG1 in weniger als 2 Minuten.

Agilent AdvanceBio vs. Säule eines anderen Anbieters – Anderen Proteinsäulen weit überlegen



Methodenparameter

Abmessungen der Säule: 2,1 x 100 mm, 3,5 µm
 Mobile Phase A: 0,1 % TFA in Wasser: IPA (98:2)
 Mobile Phase B: IPA: ACN: Mobile Phase A (70:20:10)
 Flussrate: 1,0 ml/min
 Gradient: 10-58 % B in 4 min, Spülung 1 min bei 95 % B, erneute Äquilibration 1 min bei 10 % B
 Probe: 5 µl-Injektion der intakten humanisierten rekombinanten Herceptin-Variante IgG1 von Creative Biolabs (1 mg/ml)
 Temperatur: 80 °C
 Detektion: UV bei 254 nm

Abbildung 2. Die AdvanceBio RP-mAb-Säulen sind speziell für mAb-Trennungen entwickelt und liefern eine bessere Peakform und Auflösung als andere Säulen, die bei Trennungen von intakten Proteinen zum Einsatz kommen.

Wenn Sie mehr über die Durchführung hochauflösender Proteintrennungen mit Agilent Reversed Phase-Säulen erfahren möchten, besuchen Sie www.agilent.com/chem/AdvanceBio

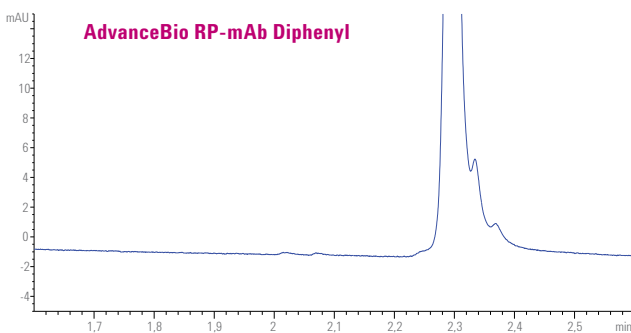
Außergewöhnliche Geschwindigkeit und Zuverlässigkeit bei mAb-Trennungen

Wie *alle* von Agilent hergestellten Säulen werden die AdvanceBio RP-mAb-Säulen im gesamten Produktionsprozess strengen QC-Tests unterzogen, um Reproduzierbarkeit und Leistung zu gewährleisten.

In diesem Beispiel (**Abbildung 3**) wurde intaktes humanisiertes rekombinantes Herceptin IgG1 mit einer AdvanceBio RP-mAb Diphenyl-Säule charakterisiert. Die einzigartige Diphenyl-Phase bietet eine noch feinere Auflösung.

Abbildung 4 zeigt, wie die weitporige Poroshell-Technologie der AdvanceBio RP-mAb-Säulen hohe Effizienz, eine kurze Analysendauer und niedrigen Druck bei Temperaturen unter 80 °C bietet – die typische Temperatur von vielen Reversed Phase-Methoden.

Selektive Diphenyl-Phase – Für eine noch feinere Auflösung

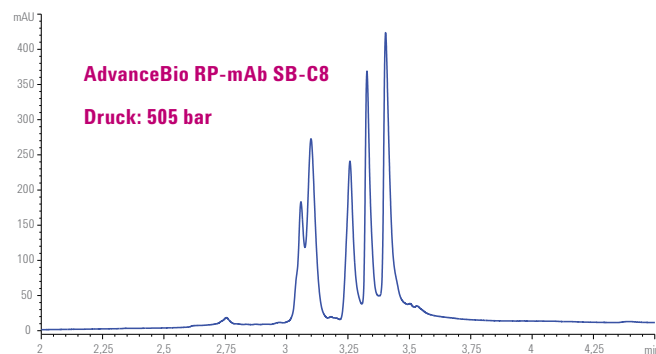


Methodenparameter

Abmessungen der Säule: 2,1 x 100 mm, 3,5 µm
Mobile Phase A: 0,1 % TFA in Wasser: IPA (98:2)
Mobile Phase B: IPA: ACN: Mobile Phase A (70:20:10)
Flussrate: 1,0 ml/min
Gradient: 10-58 % B in 4 min, Spülung 1 min bei 95 % B, erneute Äquilibration 1 min bei 10 % B
Probe: 5 µl-Injektion der intakten humanisierten rekombinanten Herceptin-Variante IgG1 von Creative Biolabs (1 mg/ml)
Temperatur: 80 °C
Detektion: UV bei 254 nm

Abbildung 3. Die einzigartige Selektivität der AdvanceBio RP-mAb Diphenyl-Säule ermöglicht eine noch feinere Auflösung.

Der Vorteil von Poroshell – Hohe Genauigkeit, niedriger Rückdruck



Methodenparameter

Abmessungen der Säule: 2,1 x 100 mm, 3,5 µm
Mobile Phase A: 0,1 % TFA in Wasser
Mobile Phase B: n-Propanol: ACN: Mobile Phase A (80:10:10)
Flussrate: 0,8 ml/min
Gradient: 5-40 % B in 5 min, Spülung 1 min bei 95 % B, erneute Äquilibration 1 min bei 10 % B
Probe: 1 µl-Injektion von Fc/Fab, Papain-verdaute humanisierte rekombinante Herceptin-Variante IgG1 von Creative Biolabs (2 mg/ml)
Temperatur: 60 °C
Detektion: UV bei 220 nm

Abbildung 4. AdvanceBio RP-mAb-Säulen zeigen bei Temperaturen unter 80 °C gute Leistungen.

ADVANCEBIO PEPTIDE MAPPING-SÄULEN

Schnelleres Peptid-Mapping ohne Verlust an Auflösung

Mit Agilent AdvanceBio Peptide Mapping-Säulen lassen sich Aminosäureveränderungen in der Primärstruktur rasch nachweisen und identifizieren, im Gegensatz zu voll porösen Säulen, die bis zu 60 Minuten beanspruchen können.

Diese leistungsstarken Biosäulen sind mit oberflächenporösen 2,7- μm -Partikeln der Porengröße 120 Å gepackt.

► **Höhere analytische Leistungsfähigkeit:** Jede Charge des AdvanceBio Peptide Mapping-Mediums wird mit einer komplexen Peptidmischung getestet, um Eignung und Reproduzierbarkeit zu gewährleisten und um die Identifizierung wichtiger Peptide in komplexen Peptid-Maps zu ermöglichen.

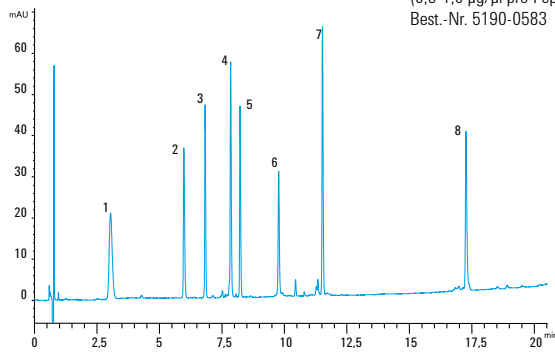
► **Zeitersparnis:** Hochauflösende Trennung in zwei bis drei Mal kürzerer Zeit als mit voll porösen HPLC-Säulen.

► **Optimale Nutzung Ihrer Geräte:** Säulen mit 4,6, 3,0 und 2,1 mm ID sind bis 600 bar stabil, sodass Sie Ihre UHPLC-Geräte optimal nutzen können. Darüber hinaus bieten sie hervorragende Leistung bei Ihren älteren 400 bar-Systemen.

► **Mehr Flexibilität:** Höhere MS-Empfindlichkeit bei Verwendung mobiler Phasen mit Ameisensäure bei jeder beliebigen HPLC-Trennung.

Tests zur Qualitätskontrolle mit dem Peptid-Mix

Säule: **AdvanceBio Peptide Mapping**, 2,1 x 150 mm, 2,7 μm , Best.-Nr. 653750-902
 Detektion: 220 nm
 Gradient: A: Wasser (0,1 % TFA), B: ACN (0,08 % TFA); 0-25 min: 15-65 % B; 25-26 min: 65-95 % B
 Flussrate: 0,5 ml/min
 Injektion: 5 μl
 Temp.: 55 °C
 Probe: Agilent Peptid-Mapping Standard-Mischung (0,5-1,0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ pro Peptid) Best.-Nr. 5190-0583



Peak-Nr.	MG	Komponente
1	757	Bradykininfragment 1-7
2	1060	Bradykinin
3	1046	Angiotensin II
4	1673	Neurotensin
5	1295	Angiotensin I
6	2465	ACTH-Fragment 18-39
7	1759	Renin
8	2845	Melittin



Abbildung 5. Testmischung, die für alle Chargen der AdvanceBio Peptide Mapping-Medien verwendet wird. Die Mischung enthält acht Peptide mit entweder hydrophilem, hydrophobem oder basischem Charakter und Molekulargewichten von 757 Da bis 2845 Da. Die Säulen werden außerdem mit einer Probe kleiner Moleküle getestet, um ihre Effizienz zu überprüfen.

Peptid-Map für biosimilares EPO

Säule: **AdvanceBio Peptide Mapping**, 2,1 x 250 mm, 2,7 μm , Best.-Nr. 651750-902
 Temp.: 55 °C
 Detektion: 220 nm
 Gradient: A, w n, 60-95 % B
 Flussrate: 0,5 ml/min
 Injektion: 5 μl (2,0 mg/ml)

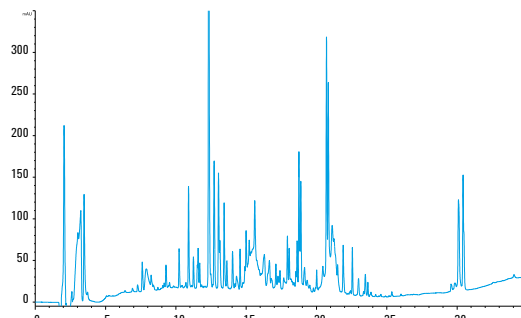


Abbildung 6. Die AdvanceBio Peptide Mapping-Säule bestätigt die Identität eines Proteins und weist alle posttranslationalen Modifikationen nach.

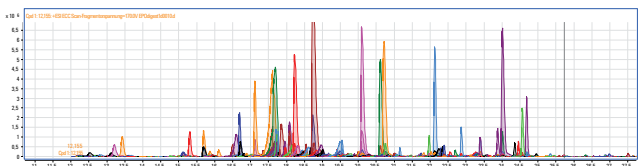


Abbildung 6a. EPO-Verdau, LC/MS-TOF, 95 % Sequenzabdeckung erzielt bei Verwendung der MassHunter Workstation-Software

Wenn Sie mehr über die Durchführung hochauflösender Proteintrennungen mit Agilent Reversed Phase-Säulen erfahren möchten, besuchen Sie www.agilent.com/chem/AdvanceBio

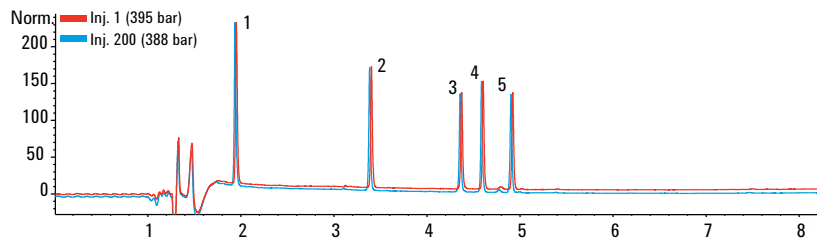
Exzellente Reproduzierbarkeit

Das wissenschaftliche Know-how hinter den AdvanceBio-Säulen trägt zu erhöhter Genauigkeit und Produktivität bei und ermöglicht eine schnellere und effizientere biopharmazeutische Analyse. Darüber hinaus werden AdvanceBio-Säulen bei Agilent strengen Tests unterzogen, um sicherzustellen, dass sie reproduzierbare Resultate ergeben, denen Sie vertrauen können.

Abbildung 7 zeigt die überlegene Reproduzierbarkeit von Charge zu Charge und von Lauf zu Lauf, die mit AdvanceBio Peptide Mapping-Säulen erzielt werden kann.

Reproduzierbarkeit von Charge zu Charge nach 200 Injektionen

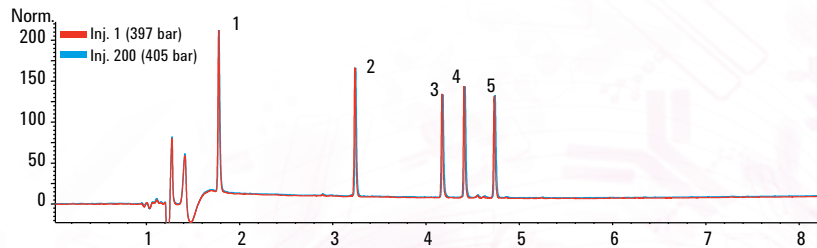
Kieselgel-Charge PEP1227229



Injektion	RT2 (min)	RT3 (min)	RT4 (min)	RT5 (min)
1	3,39	4,36	4,59	4,90
200	3,52	4,48	4,70	5,02

Injektion	PW2	PW3	PW4	PW5
1	0,020	0,021	0,020	0,022
200	0,020	0,021	0,019	0,021

Kieselgel-Charge B12169



Injektion	RT2 (min)	RT3 (min)	RT4 (min)	RT5 (min)
1	3,36	4,29	4,52	4,85
200	3,24	4,18	4,41	4,74

Injektion	PW2	PW3	PW4	PW5
1	0,019	0,020	0,019	0,020
200	0,019	0,020	0,019	0,020

Säule: **AdvanceBio Peptide Mapping.**
2,1 x 250 mm, 2,7 µm,
Best.-Nr. 651750-902

Flussrate: 0,50 ml/min
Injektion: 1 µl
Temp.: 55 °C

Detektion: 220 nm
Gradient: A: Wasser (0,1 % TFA), B: ACN (0,08 % TFA); 0-8 min:
10-60 % B; 8,1-9 min: konstant 95 % B
Probe: Sigma HPLC Peptid-Standard:
1: Gly-Tyr, 2: Val-Tyr-Val, 3: Met-Enk,
4: Angio II, 5: Leu-Enk

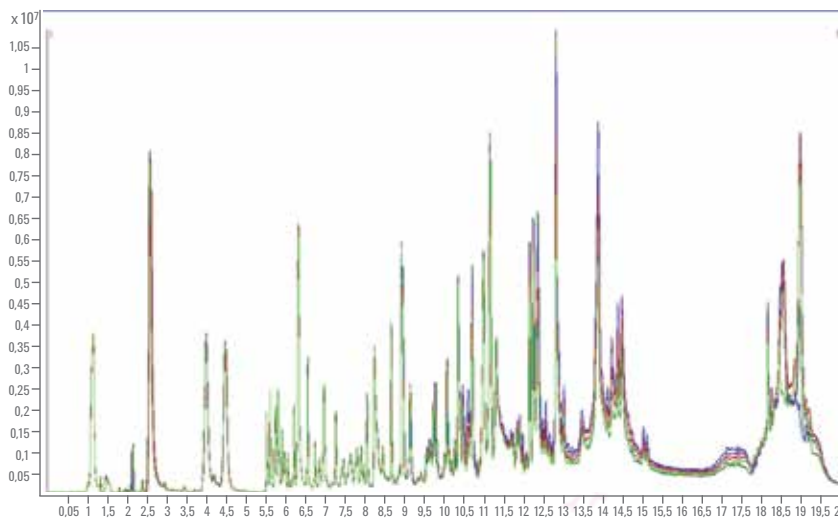
Abbildung 7. Um maximale Auflösung zu erreichen, wurde eine 2,1 x 250 mm AdvanceBio Peptide Mapping-Säule verwendet.

Ideal für die schnelle oder hochauflösende Trennungen von Peptiden

Agilent AdvanceBio Peptide Mapping-Säulen werden aus ultrareinem (> 99,995 % SiO₂), oberflächenporösem Kieselgel mit einer Partikelgröße von 2,7 µm hergestellt, an das C18 in hoher Dichte gebunden ist. Hierdurch ist die hohe Selektivität möglich, die für die Peptid-Trennung erforderlich ist. Dieser Partikeltyp bietet im Vergleich zu kleineren, vollporösen Partikeln hohe Effizienz bei niedrigen Drücken.

Abbildung 8 zeigt die hohe Reproduzierbarkeit der Peakhöhe und der Retentionszeit mit AdvanceBio Peptide Mapping-Säulen für eine genauere Identifizierung der Zielpolypeptide.

LC/MS-Reproduzierbarkeit



Säule: **AdvanceBio Peptide Mapping**,
3,0 x 150 mm, 2,7 µm,
Best.-Nr. 653950-302

LC/MS-Parameter (Agilent 6520 Q-TOF)

Trockengas: 10 l/min, Vcap: 4000 V,
Fragmentor: 150 V
Flussrate: 0,3 ml/min
Injektion: 1 µl
Temp.: 40 °C

Gradient: A: Wasser (0,1 % FA), B: ACN (0,10 % FA);
0-3 min: 2 % B; 3-13 min: 2-45 %
B; 13-15 min: 45-65 % B; 15,1-17 min:
konstant 90 % B

Probe: Stratagene mAb, intern hergestellter tryptischer
Verdau

Abbildung 8. Die gesamte hier gezeigte tryptische Peptid-Map von IgG1 wurde in nur 20 Minuten erstellt (n = 5).



Wenn Sie mehr über die Durchführung hochauflösender Proteintrennungen mit Agilent Reversed Phase-Säulen erfahren möchten, besuchen Sie www.agilent.com/chem/AdvanceBio

POROSHELL 300-SÄULEN

Schnelle, zuverlässige Trennung von intakten Proteinen und Proteinfragmenten

Agilent Poroshell-Säulen sind ideal für die Trennung und Charakterisierung komplexer Biomoleküle, einschließlich intakter Proteine und Proteinfragmente, bei Drücken von bis zu 400 bar.

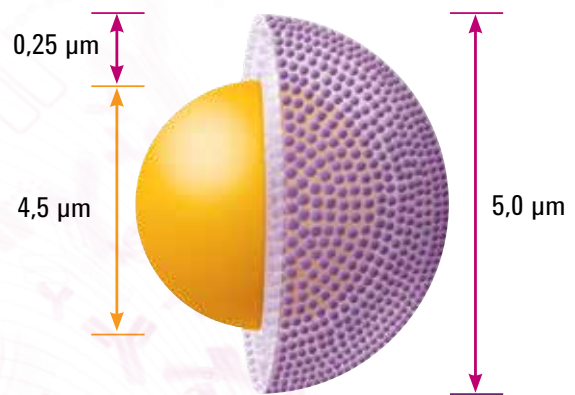
Für die schnelle Analyse intakter Proteine empfehlen wir Agilent Poroshell 300-Säulen. Die oberflächenporösen Poroshell 300-Partikel stellen ein völlig neuartiges Chromatographie-Material dar, das eine sehr schnelle hochauflösende RP-HPLC-Trennung von Proteinen und anderen Makromolekülen erlaubt.

Der Grund dafür, dass sich Poroshell-Säulen so gut für die rasche Trennung eignen, ist der schnelle Massentransfer durch ihre dünne, 300 Å starke poröse Schicht. Dieser führt bei der Charakterisierung von Verunreinigungen und posttranslationalen Modifikationen zu schärferen Peaks, einer besseren Auflösung und höherer Genauigkeit.

Kürzere Analysendauer und höhere Auflösung bei niedrigeren Säulendrücken

Merkmal	Vorteil
0,25 µm, poröse 300 Å-Schicht auf festem Kern	• Kürzere Diffusionswege führen zu kürzerer Analysendauer
5 µm-Partikel	• Niedrigerer Betriebsdruck • Längere Lebensdauer der Säulen durch verringertes Festhalten von Probenstoffen • Auflösung und Effizienz wie bei der UHPLC, jedoch bei niedrigeren Drücken, was eine schnellere Trennung ermöglicht
StableBond-Phasen	• Erwiesene Beständigkeit bei niedrigen pH-Werten • Lange Lebensdauer der Säulen auch bei Verwendung von TFA und Ameisensäure

Poroshell 300



Poroshell 300-Säulen eignen sich besonders für die Analyse intakter Proteine und großer Peptid-Fragmente.

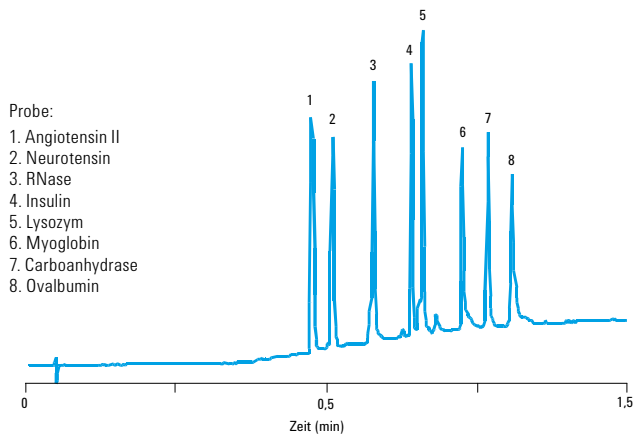


Hohe Flussraten bei 2,1 mm ID

Poroshell 300-Säulen sind mit ihren größeren 300 Å-Poren und der dünnen Schale eine zuverlässige Wahl für die schnelle Trennung intakter Proteine. Die in **Abbildung 9** gezeigte Trennung wurde in weniger als 1,5 Minuten durchgeführt.

Aufgrund des schnellen Massentransfers durch die oberflächenporösen Partikel bieten die Poroshell 300-Säulen höchste Effizienz bei höheren Flussraten und erlauben eine extrem schnelle Trennung von Proteinen.

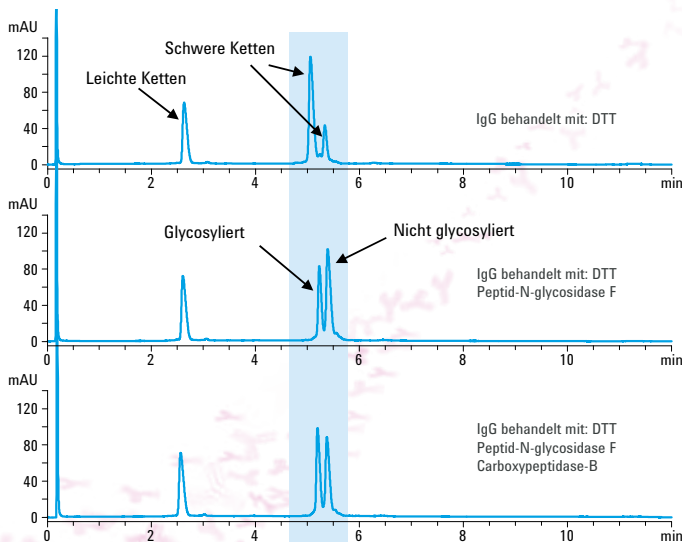
Trennung von Peptiden und Proteinen



Säule: **Poroshell 300SB-C18**, 2,1 x 75 mm, 5 µm
 Mobile Phase: A: 0,1 % TFA
 B: 0,07 % TFA in ACN
 Flussrate: 3,0 ml/min
 Temperatur: 70 °C
 Detektion: UV, 215 nm
 Gradient: 5 bis 100 % B in 1,0 min
 Druck: 250 bar

Abbildung 9. Trennung von acht Peptiden und Proteinen in weniger als 1,5 Minuten – hohe Peakkapazität für die rasche Trennung komplexer Proben.

Trennung der leichten und schweren Ketten eines monoklonalen Antikörpers



Gradient:

Zeit (min)	% Lösungsmittel B
0,00	25
10,00	40
10,10	25
12,00	25

Säule: **Poroshell 300SB-C8**, 2,1 x 75 mm, 5 µm
 Mobile Phase: A: H₂O-ACN (90:10)
 B: H₂O-ACN (10:90)
 A und B enthalten 0,1 % TFA und 3 ml/l PEG 300
 Flussrate: 1,0 ml/min
 Temperatur: 70 °C
 Detektion: UV, 210 nm

Abbildung 10. Chromatographischer Vergleich eines IgG-Antikörpers vor und nach Reduktion und enzymatischer Spaltung.

Wenn Sie mehr über die Durchführung hochauflösender Proteintrennungen mit Agilent Reversed Phase-Säulen erfahren möchten, besuchen Sie www.agilent.com/chem/AdvanceBio

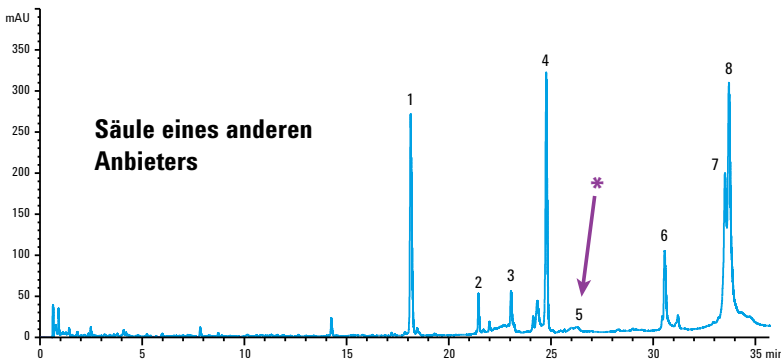
Ultraschnelle Trennung: ein entscheidender Vorteil

Poroshell 300-Säulen mit 5 µm-Partikeln sind der Säule eines anderen Anbieters mit oberflächenporösen 3,7 µm-Partikeln und 150 mm Länge (niedrige Flussrate) deutlich überlegen.

Gradienten erhalten blieb, während der Druckabfall bei der HPLC weniger als 400 bar betrug. Die Agilent Poroshell 300-Säule trennt die acht Proteine zwölf Mal schneller als die Vergleichssäule mit oberflächenporösen Partikeln.

Abbildung 11 zeigt, dass bei der Poroshell 300-Säule die kritische Auflösung bei ultrahohen Trenngeschwindigkeiten mit ballistischen

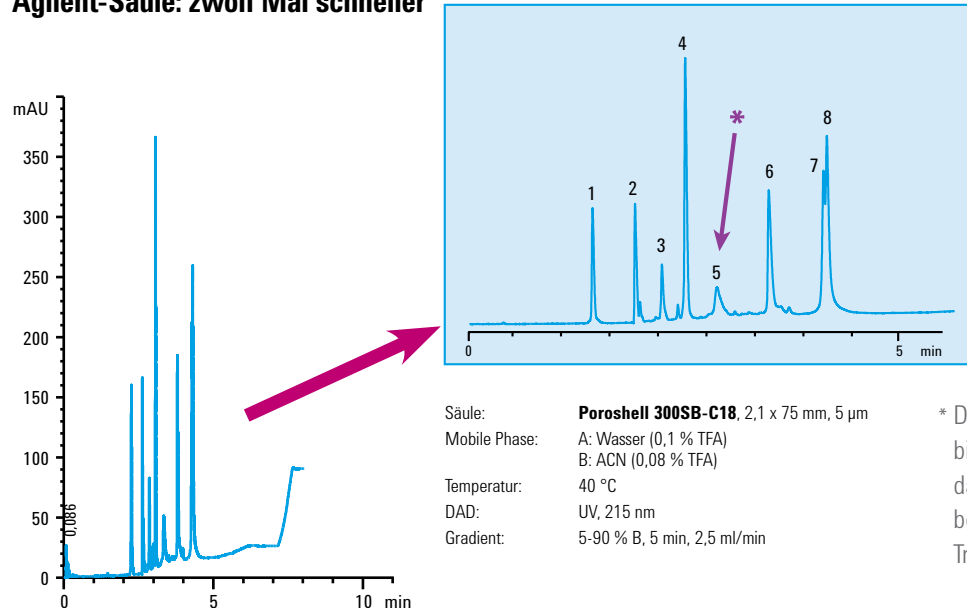
Poroshell 300 vs. Säule eines anderen Anbieters



Säule: **Säule eines anderen Anbieters: C18**, 2,1 x 150 mm, 3,7 µm
 Probe: Protein-Standardmischung (13 kDa - 660 kDa)
 Mobile Phase: A: Wasser (0,1 % TFA)
 B: ACN (0,08 % TFA)
 Temperatur: 40 °C
 DAD: UV, 215 nm
 Gradient: 5-90 % B, 60 min, 0,3 ml/min

Probe:
 1. Ribonuklease A
 2. Lysozym
 3. Cytochrom C
 4. Insulin
 5. Transferrin
 6. Myoglobin
 7. B-Amylase
 8. Thyroglobulin

Agilent-Säule: zwölf Mal schneller



Säule: **Poroshell 300SB-C18**, 2,1 x 75 mm, 5 µm
 Mobile Phase: A: Wasser (0,1 % TFA)
 B: ACN (0,08 % TFA)
 Temperatur: 40 °C
 DAD: UV, 215 nm
 Gradient: 5-90 % B, 5 min, 2,5 ml/min

* Die Agilent Poroshell 300-Säule bietet eine bessere Peakform und damit eine höhere Genauigkeit bei der Analyse von Peak 5, Transferrin.

Abbildung 11. Überlegene ultraschnelle Trennung mit Poroshell 300 SB-C18-Säulen im Vergleich zu einer Säule eines anderen Anbieters

Die Auswahl an gebundenen Phasen bietet bessere Auflösungsleistung und höhere Wiederfindung

Poroshell 300 HPLC-Säulen sind mit den vier gebundenen Phasen 300SB-C18, C8, C3 und 300Extend-C18 erhältlich.

Die kürzere Kettenlänge der gebundenen Phasen 300SB-C8 und 300SB-C3 vermindert deren Hydrophobie. So wird z. B. für Insulin und Cytochrom C auf der Poroshell 300SB-C3-Säule eine Basislinientrennung erzielt, während dieselben Analyten auf der 300SB-C18-Säule unter den in **Abbildung 12** beschriebenen Bedingungen zusammen eluieren.

Bei komplexen Proben kann es zu Problemen mit der Protein-Wiederfindung kommen. Es hat sich gezeigt, dass die Verwendung der weniger hydrophoben Poroshell 300SB-C8- und -C3-Säulen zu höherer Wiederfindung führt.

Abbildung 13 zeigt das Chromatogramm nach Injektion von 100 µl Fermentationsmedium auf einer Poroshell 300SB-C3-Säule, gefolgt von einem Chromatogramm ohne Peaks unmittelbar nach der Blind-Injektion von 100 µl Wasser. Eine höhere Probenwiederfindung und eine bessere Auflösung kritischer Peak-Paare steigern die Genauigkeit der Proteinanalyse.

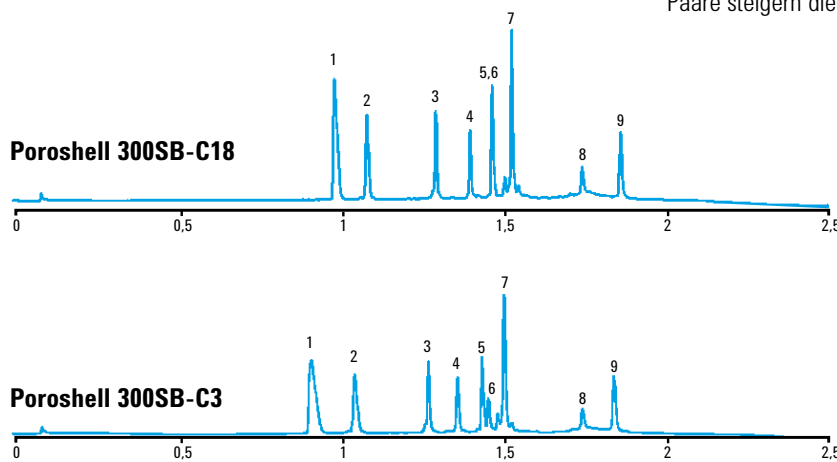


Abbildung 12. Poroshell 300SB-C3 löst die Peaks 5 und 6, Insulin und Cytochrom C auf, die auf der hydrophoberen C18-Phase zusammen eluieren.

Säulen: **Poroshell 300SB-C18**,
2,1 x 75 mm, 5 µm
Poroshell 300SB-C3,
2,1 x 75 mm, 5 µm
Mobile Phase:
A: 0,1 % TFA/H₂O
B: 0,07 % TFA/ACN
Flussrate: 0,5 ml/min
Temperatur: 70 °C
Gradient: 5 bis 100 % B in 3,0 min
Detektion: UV, 215 nm

Probe:
1. Angiotensin II
2. Neurotensin
3. RNase A
4. Insulin-B-Kette
5. Insulin
6. Cytochrom C
7. Lysozym
8. Myoglobin
9. Carboanhydrase

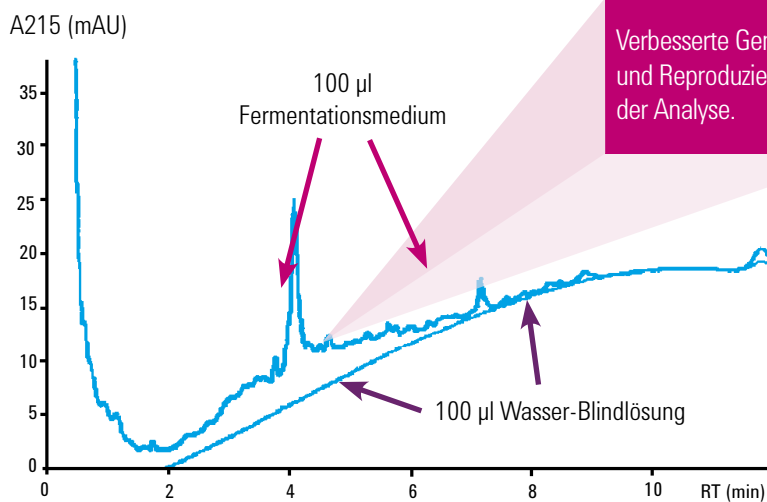


Abbildung 13. Keine Verschleppung bei Verwendung der Agilent Poroshell 300SB-C3-Säule.

Säule: **Poroshell 300SB-C3**,
2,1 x 75 mm, 5 µm
Mobile Phase:
A: 0,1 % TFA/H₂O
B: 0,07 % TFA/ACN
Flussrate: 1,0 ml/min
Temperatur: 50 °C
Gradient: 10 bis 60 % B in 10,5 min, bis 100 % B in 1 min. Die Wasserinjektion (Blindwert) folgt unmittelbar auf eine Injektion von 100 µl geklärtetem Fermentationsmedium
Detektion: UV, 215 nm

Wenn Sie mehr über die Durchführung hochauflösender Proteintrennungen mit Agilent Reversed Phase-Säulen erfahren möchten, besuchen Sie www.agilent.com/chem/AdvanceBio

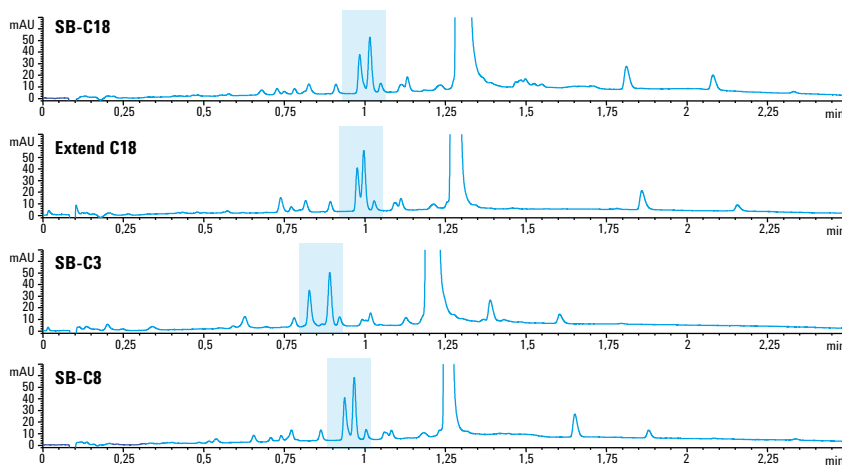
Einzigartige Selektivität bei pH-Werten von 2 bis 11,5

Abbildung 14 zeigt, dass Unterschiede in der Selektivität, zusammen mit der guten Auflösungsleistung der Poroshell 300-Säulen, die Trennung deutlich verbessern können.

Bei den Poroshell 300Extend-C18-Säulen wird das Kieselgel durch die Kombination aus zweizähmigem Silan und zweifachem

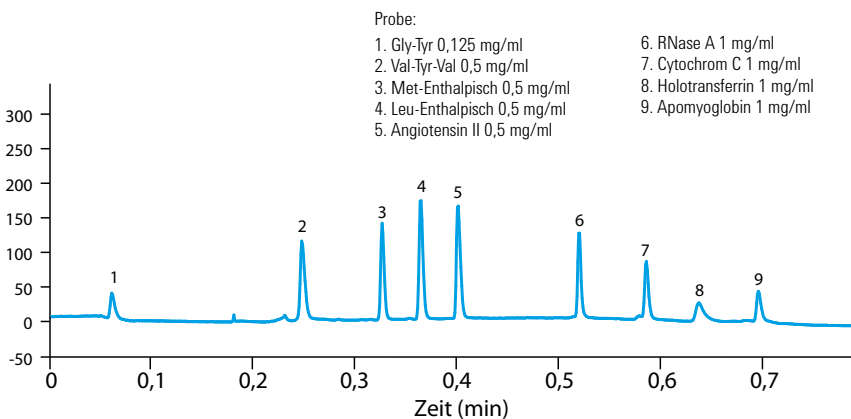
Endcapping-Verfahren vor der Auflösung bei hohem pH-Wert geschützt. Dies führt zu einer längeren Lebensdauer der Säulen und verbessert die Basislinie bei hohen pH-Werten.

Abbildung 15 zeigt die rasche Trennung von kleinen Proteinen und Polypeptiden in weniger als einer Minute bei Verwendung der am stärksten hydrophoben Phase C18.



Säule: **Poroshell 300**,
2,1 x 75 mm, 5 µm
 Probe: Degradiertes Insulin
 Mobile Phase: A: Wasser (0,1 % TFA)
 B: ACN (0,08 % TFA)
 Flussrate: 1,75 ml/min
 Temperatur: 45 °C
 Gradient: 0,3 min: konstant 5 % B;
 2,7 min: 5-65 % B.

Abbildung 14. Die Verwendung einer anderen gebundenen Phase verbessert die Auflösung des kritischen Peak-Paares und steigert so die Genauigkeit der Analyse.



Probe:
 1. Gly-Tyr 0,125 mg/ml
 2. Val-Tyr-Val 0,5 mg/ml
 3. Met-Enthalpisch 0,5 mg/ml
 4. Leu-Enthalpisch 0,5 mg/ml
 5. Angiotensin II 0,5 mg/ml
 6. RNase A 1 mg/ml
 7. Cytochrom C 1 mg/ml
 8. Holo transferrin 1 mg/ml
 9. Apomyoglobin 1 mg/ml

Säule: **Poroshell 300SB-C18**,
2,1 x 75 mm, 5 µm
 Probe: Peptide/Proteine, 0,5 µl
 Mischer umgangen mit Best.-Nr.
 G1312-67301;
 Loop-Bypass-Programm
 Mobile Phase: A: 0,1 % TFA, H₂O
 B: 0,07 % TFA, ACN
 Flussrate: 3 ml/min
 Gradient: 0-100 % B in 1,33 min
 Temperatur: 70 °C
 Detektor: DAD 215/16 nm, Ref. = 310/10 nm

Abbildung 15. Rasche Trennung von kleinen Proteinen und Polypeptiden in weniger als einer Minute.

ZORBAX RRHD-SÄULEN

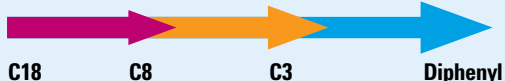
300 Å 1,8 µm-Partikel gewährleisten Stabilität bei 1200 bar

Die weitporigen 1,8-µm-Säulen ZORBAX RRHD 300SB-C18, C8, C3 und 300-Diphenyl bieten UHPLC-Leistung bei der Trennung von intakten Proteinen und Peptid-Verdauen. Zusammen mit UHPLC-Geräten wie dem Agilent 1290 Infinity LC ermöglichen diese vielseitigen Säulen eine Charakterisierung höherer Ordnung und eine kürzere Analysendauer.

Die Diphenyl-Phase bietet einzigartige Selektivität, während die ZORBAX StableBond-Phasen (C18, C8 und C3) weitere Vorteile besitzen:

- ▶ **Beständigkeit bei niedrigem pH:** Protein- und Peptidtrennungen mit Trifluoressigsäure (TFA) oder Ameisensäure enthaltenden Eluenten bei pH-Werten bis zu 1 können ohne Probleme durchgeführt werden.
- ▶ **Temperaturstabilität bis 80 °C:** Dies erlaubt die Trennung bei höheren Temperaturen ohne Beeinträchtigung der Lebensdauer der Säulen. So lässt sich die Effizienz steigern und die Viskosität des Eluenten verringern.

Steigende Größe und Hydrophobie des Proteins



Mit vier verschiedenen Ligandentypen – C18-, C8- und C3-Alkylketten sowie Diphenyl für zusätzliche Selektivität basierend auf der Pi-pi-Wechselwirkung mit aromatischen Aminosäuren – bietet Agilent das breiteste Spektrum an Reversed Phase-Säulen für die UHPLC-Trennung von Peptiden und Proteinen.



Reproduzierbarkeit und Wiederfindung bei der Analyse monoklonaler Antikörper

Bei größeren Proteinen, wie z. B. monoklonalen Antikörpern, wird die kürzere, weniger hydrophobe C8-Funktionalität eingesetzt. Dies führt zu einer besseren Auflösung und hohen Wiederfindung.

Säule: **ZORBAX RRHD 300SB-C8**,
2,1 x 50 mm, 1,8 µm
Probe: mAb
Mobile Phase: A: H₂O:IPA (98:2), 0,1 % TFA
B: PA: ACN: H₂O (70:20:10), 0,1 % TFA
Flussrate: 1,0 ml/min
Temperatur: 80 °C
Detektion: 1290 Infinity LC bei 225 nm

Gradient:

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

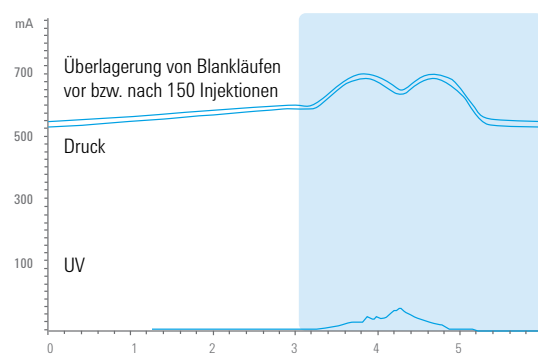
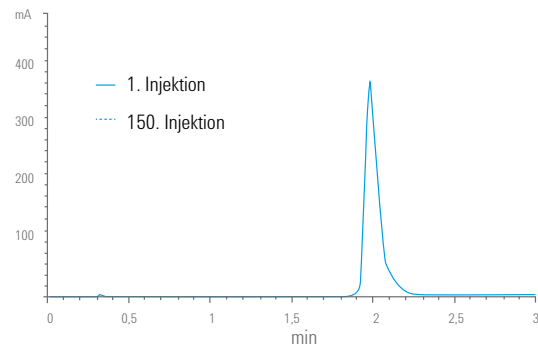


Abbildung 16. Dieses Beispiel zeigt die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse mit einer ZORBAX RRHD 300SB-C8 -Säule über 150 Injektionen und die lange Lebensdauer der Säule: Es machen sich weder Verschiebungen der Retentionszeit noch Veränderungen der Peakform bemerkbar. Das untere Chromatogramm zeigt zwei Blindläufe vor bzw. nach 150 Injektionen und die Kurven des Gradientendrucks, die keinerlei Ghosting oder Druckerhöhung nach 150 Injektionen erkennen lassen. Das bedeutet: **kein Säulenversagen oder Probenverlust und damit eine höhere Genauigkeit bei der Quantifizierung.**

Wenn Sie mehr über die Durchführung hochauflösender Proteintrennungen mit Agilent Reversed Phase-Säulen erfahren möchten, besuchen Sie www.agilent.com/chem/AdvanceBio

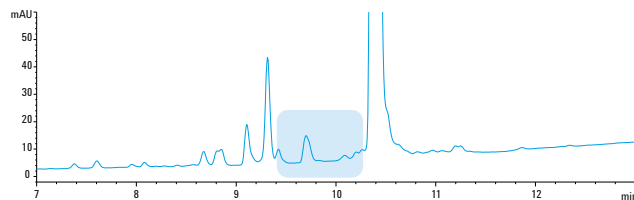
Höhere Geschwindigkeit, bessere Auflösung

Die **ausschließlich von Agilent angebotene Diphenyl-Phase** war bisher nur bei Pursuit XR-Säulen mit den kleineren 100 Å-Poren und Pursuit-Säulen mit 200 Å-Poren erhältlich. Nun ist diese bewährte Bindungschemie auch bei ZORBAX 300 Å 1,8-µm-Säulen verfügbar, sodass diese einzigartige Selektivität auch zur Trennung von größeren Proteinen eingesetzt werden kann.

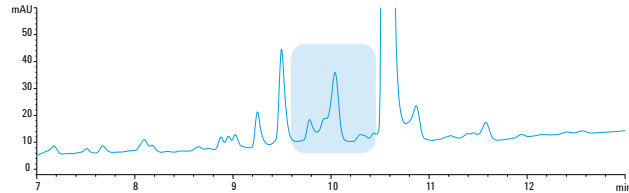
1,8 µm RRHD-Säulen ermöglichen eine deutlich schnellere Trennung als 3,7 µm-Säulen (Modelle mit niedriger Flussrate) von anderen Anbietern, was bei vergleichbarer Auflösung zu kürzerer Analysedauer führt. **Abbildung 18** zeigt die gleichbleibende (und sogar höhere) kritische Auflösung mit 1,8-µm-Säulen bei **ultraschnellen** Trenngeschwindigkeiten mit ballistischen Gradienten – ein deutlicher Vorteil bei der UHPLC.

ZORBAX RRHD vs. Säule eines anderen Anbieters

Säule eines anderen Anbieters: C18, 2,1 x 150 mm
164 bar



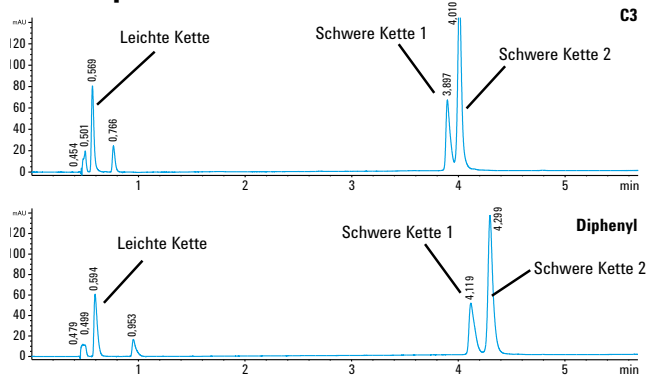
ZORBAX RRHD 300SB-C18, 2,1 x 100 mm, 1,8 µm
359 bar



Probe: Degradierter Insulin
Mobile Phase: A: Wasser (0,1 % TFA)
B: ACN (0,08 % TFA)
Gradient: 3,0 min: konstant 3% B; 15 min: 3-65 % B.
Flussrate: 0,3 ml/min
Temperatur: 40 °C
DAD: 225 nm

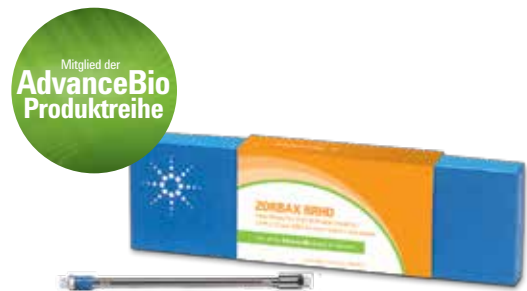
Abbildung 18. Trennung von degradiertem Insulin. Agilent Rapid Resolution High Definition 300 Å 1,8 µm-Säulen ergeben im Vergleich zur Säule eines anderen Anbieters bessere Bandbreiten und Peakformen (verbesserte Auflösung der Abbauprodukte).

Rasche Trennung eines reduzierten monoklonalen Antikörpers



Säulen: **ZORBAX RRHD 300SB-C3** und **300-Diphenyl**,
2,1 x 100 mm, 1,8 µm
Probe: Reduzierter monoklonaler Antikörper (IgG1) (1,0 mg/ml)
Probeninjektion: 2 µl
Mobile Phase: A: 0,1 % TFA in Wasser
B: 80 % n-Propylalkohol, 10 % ACN, 9,9 % Wasser und 0,1 % TFA
Gradient: 0 min: 1 % B, 2 min: 20 % B, 5 min: 50 % B
Flussrate: 0,5 ml/min
Temperatur: 74 °C
Detektion: UV, 280 nm

Abbildung 17. Vergleich der schnellen Trennung eines reduzierten monoklonalen Antikörpers mit den Säulen Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C3 und 300-Diphenyl, 2,1 x 100 mm, 1,8 µm: Mit der Diphenyl-Säule wird eine höhere Auflösung der schweren Ketten erzielt.



ZORBAX 300 Å 3,5- UND 5-µm-SÄULEN

Überragende chemische und thermische Beständigkeit bei pH-Werten von 1 bis 6

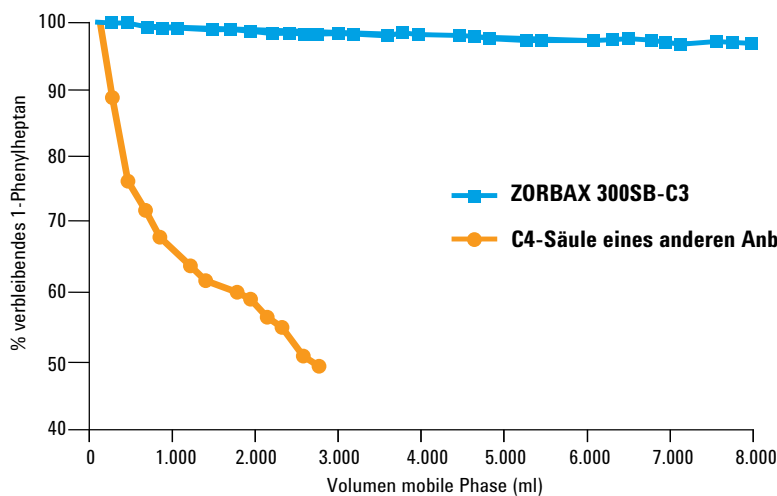
Agilent ZORBAX 300StableBond-Säulen sind aus zwei Gründen ideal für die reproduzierbare Trennung von Proteinen und Peptiden:

- ▶ Die Säulen mit weiten 300-Å-Poren erlauben Proteinen, Peptiden und anderen großen Molekülen vollständigen Zugang zur gebundenen Phase.
- ▶ ZORBAX 300StableBond-Säulen bieten unübertroffene Haltbarkeit bei Verwendung von mobilen Phasen mit niedrigem pH-Wert (einschließlich TFA), die üblicherweise bei der Trennung von Proteinen und Peptiden verwendet werden.

ZORBAX 300StableBond-Säulen können darüber hinaus für die LC/MS-Trennung bei niedrigen pH-Werten mit Ameisensäure oder Essigsäure als Modifier der mobilen Phase eingesetzt werden.

Diese Säulen sind mit vier verschiedenen gebundenen Phasen erhältlich, **StableBond C18, C8, C3 und Extend-C18**, und bieten Selektivität und optimierte Wiederfindung von Proteinen und Polypeptiden. Um die Probenwiederfindung noch weiter zu erhöhen und die Effizienz bei „schwierigen“ Proteinen zu verbessern, lassen sich 300StableBond-Säulen bei hoher Temperatur bis zu 80-90 °C einsetzen.

Die kurzketzige ZORBAX 300SB-C3-Phase ist bei niedrigem pH und hoher Temperatur beständig, was reproduzierbare Trennungen bei längerer Lebensdauer der Säulen ermöglicht



Säule: **ZORBAX 300SB-C3**
4,6 x 150 mm, 5 µm
Mobile Phase: Gradienten: 0-100 % B in 80 min
A: 0,5 % TFA in Wasser
B: 0,5 % TFA in Acetonitril
Bedingungen für isokratischen Retentionstest
1-Phenylheptan 50 % A, 50 % B
Flussrate: 1,0 ml/min
Temperatur: 60 °C

Abbildung 19. Typische mobile Phasen für die Trennung von Proteinen und Peptiden enthalten TFA (oder andere Säuren) und haben einen sehr niedrigen pH-Wert. Zum Denaturieren und Lösen von Proteinen werden sie bei hohen Temperaturen eingesetzt. Unter diesen Bedingungen weisen Agilent StableBond-Säulen eine extrem lange Lebensdauer auf.



Wenn Sie mehr über die Durchführung hochauflösender Proteintrennungen mit Agilent Reversed Phase-Säulen erfahren möchten, besuchen Sie www.agilent.com/chem/AdvanceBio

PLRP-S HPLC-SÄULEN

Reproduzierbare Trennung unter extremen Bedingungen

Die Produktreihe der Agilent PLRP-S-Säulen bietet eine Reihe von Poren- und Partikelgrößen, die identische Phasen und chromatographische Eigenschaften besitzen. Dies hat folgende Vorteile:

- ▶ Langlebige, widerstandsfähige Polymerpartikel ergeben reproduzierbare Resultate und tragen zu einer langen Säulenlebensdauer bei
- ▶ Thermische und chemische Beständigkeit für die Trennung bei pH-Werten im Extrembereich und hoher Temperatur
- ▶ Porengrößen von 100-4000 Å erlauben eine hocheffiziente Trennung über den gesamten Größenbereich von Proteinen und Peptiden

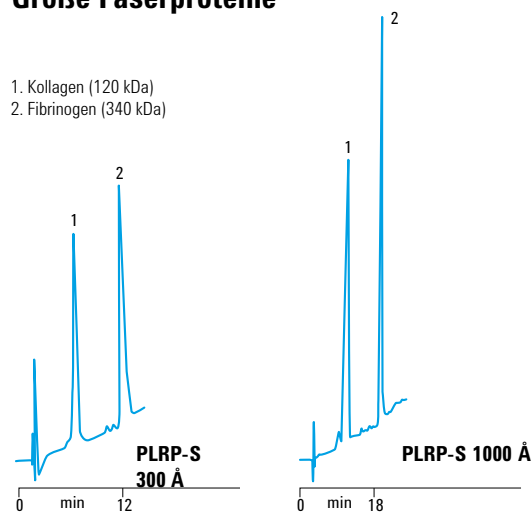
PLRP-S-Partikel sind selbst hydrophob. Daher ist kein Alkyl-Ligand als gebundene Phase erforderlich. Dies gewährleistet ein Material, das hohe Reproduzierbarkeit bietet und frei von Silanolen und Schwermetallionen ist.

Darüber hinaus bietet PLRP-S Skalierbarkeit von der analytischen Trennung über Aufreinigungs- und präparative Säulen bis hin zur Bulk-Ware.

Bei der Aufreinigung von Proteinen kann es erforderlich sein, die Säule mit dem PLRP-S-Material zu desinfizieren. Es können sehr aggressive Reinigungsverfahren mit 1 M NaOH angewendet werden, wie in **Abbildung 21** dargestellt ist. Die Medien können in der gepackten Säule oder als Bulk-Ware mit solubilisierenden Substanzen, z. B. Natriumhydroxid, gereinigt werden. Dies stellt eine unübertroffene Lebensdauer von Säule bzw. Medium sicher.

Große Faserproteine

1. Kollagen (120 kDa)
2. Fibrinogen (340 kDa)



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

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

Mobile Phase: A: 0,25 % TFA in Wasser
B: 0,25 % TFA in 5 % Wasser:
95 % ACN

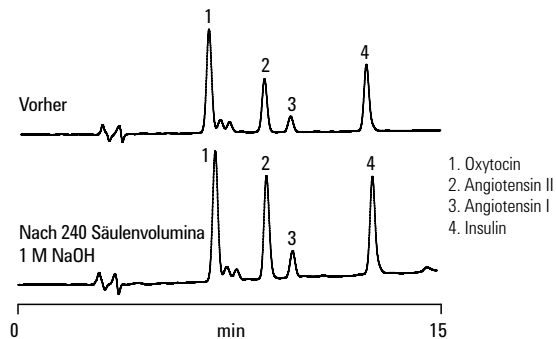
Flussrate: 1,0 ml/min

Gradient: 20-60 % B in 15 min

Detektor: UV, 220 nm

Abbildung 20. Mit den Materialien Agilent PLRP-S 300 Å und PLRP-S 1000 Å lassen sich, wie hier gezeigt, lange Faserproteine trennen. Die PLRP-S 1000 Å-Säule mit den weiteren Poren ergab jedoch eine bessere Peakform und eine größere Peakhöhe.

Nutzen der chemischen Beständigkeit – die NaOH-Konzentration



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

Mobile Phase: A: 0,1 % TFA in Wasser Detektor: UV, 220 nm
B: 0,1 % TFA in ACN

Abbildung 21. Aufgrund seiner chemischen Beständigkeit und seiner Widerstandsfähigkeit gegenüber extrem aggressiven Desinfektions- und Reinigungsmitteln weist das Agilent PLRP-Medium eine unübertroffene Lebensdauer auf.



SYSTEME ZUR PROTEINIDENTIFIZIERUNG UND CHARAKTERISIERUNG VON VERUNREINIGUNGEN



Für die Proteinidentifizierung – beste Ergebnisse beim Einsatz mit Poroshell 300-Säulen

Agilent 1260 Infinity bioinertes quaternäres LC-System: Die beste Wahl zur Proteintrennung

Das einzige UHPLC-System mit metallfreiem Probenweg. Weitere Vorteile sind:

- ▶ 100 % bioinert
 - kein Edelstahl: kein Kontakt der Probe mit Metalloberflächen
 - pH 1 bis 13 (kurzzeitig pH 14)
 - geeignet für 2 M Salzlösungen und 8 M Harnstofflösung
 - Neuartige Kapillartechnologie
- ▶ UHPLC-fähig: 600 bar
- ▶ Robust und benutzerfreundlich mit geringer Oberflächenaktivität, Korrosionsbeständigkeit, aktiver Kolbenhinterspülung und quaternärer Puffermischung

BIO inert



Für die Charakterisierung von Verunreinigungen, Peptid-Mapping oder ultraschnelle Gradienten – beste Ergebnisse beim Einsatz mit ZORBAX RRHD 300 Å 1,8 µm-Säulen

Agilent 1290 Infinity binäres LC-System: unser anpassungsfähigstes UHPLC-System mit dem breitesten Applikationsspektrum

Das führende Instrument hinsichtlich Auflösung pro Zeit, Dispersion, Empfindlichkeit, Genauigkeit und Präzision bei der LC/UV und LC/MS-Applikationen. Durch Kombination von innovativer aktiver Dämpfung, Mikrofluidmischung und Optofluidic-Waveguide-Detektion:

- ▶ UHPLC-Leistungsbereich von bis zu 1200 bar und 5 ml/min
- ▶ Äußerst schneller und einfacher Methodentransfer mit ISET, Agilent's einzigartiger „Intelligent System Emulation Technology“
- ▶ UHPLC-Produktivität auf dem Betriebskostenniveau der HPLC



Für alle Arten von UHPLC-Standardapplikationen

Agilent 1260 Infinity binäres LC-System: Ein neuer Standard für die analytische HPLC mit 600 bar, 80 Hz-Hochgeschwindigkeitsdetektor und bis zu zehnfach höherer Empfindlichkeit

100 % HPLC-Kompatibilität, UHPLC-Fähigkeit:

- ▶ UHPLC-Leistung auf dem Betriebskostenniveau der HPLC
- ▶ Unterstützt LC- und LC/MS-Anwendungen mit allen analytischen Narrow und Standard Bore-Säulen (2,1 - 4,6 mm ID)
- ▶ Hervorragende Gradientengenauigkeit durch Hochdruckmischung



Für die Methodenentwicklung oder Walk-Up-Systeme mit genauer Puffermischfunktion

Agilent 1290 Infinity quaternäres LC-System: Die Verbindung von Leistung und Flexibilität

Das einzige quaternäre UHPLC-System mit der Genauigkeit und der Reproduzierbarkeit eines binären Systems. Weitere Vorteile sind:

- ▶ UHPLC-Leistungsbereich von bis zu 1200 bar und 5 ml/min
- ▶ BlendAssist, das einfachste Tool zum genauen Mischen von Puffern und Additiven
- ▶ UHPLC-Produktivität auf dem Betriebskostenniveau der HPLC

Wenn Sie mehr über die Durchführung hochauflösender Proteintrennungen mit Agilent Reversed Phase-Säulen erfahren möchten, besuchen Sie www.agilent.com/chem/AdvanceBio

Bestellinformationen und technische Daten

AdvanceBio RP-mAb-Säulen

Gebundene Phase	Porengröße	Temp.-Begrenzung	pH-Bereich	Mit Endcapping
C4	450 Å	90 °C	1,0 bis 8,0	Ja
SB-C8	450 Å	90 °C	1,0 bis 8,0	Nein
Diphenyl	450 Å	90 °C	1,0 bis 8,0	Ja



Beschreibung	Größe (mm)	Partikelgröße (µm)	Bestellnummer
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
Diphenyl	2,1 x 50	3,5	799775-944
Diphenyl	2,1 x 75	3,5	797775-944
Diphenyl	2,1 x 100	3,5	795775-944
Diphenyl	2,1 x 150	3,5	793775-944
Diphenyl	4,6 x 50	3,5	799975-944
Diphenyl	4,6 x 100	3,5	795975-944
Diphenyl	4,6 x 150	3,5	793975-944

Poroshell 300-Säulen für die Protein-Analyse

Gebundene Phase	Porengröße	Temp.-Begrenzung	pH-Bereich	Mit Endcapping
300SB-C18, C8, C3	300 Å	90 °C	1,0 bis 8,0	Nein
300Extend-C18	300 Å	40 °C über pH 8, 60 °C unter pH 8	2,0 bis 11,0	Ja



Beschreibung	Größe (mm)	300SB-C18 USP L1	300SB-C8 USP L7	300SB-C3	300Extend-C18 USP L1
Kapillare	0,5 x 75		5065-4468		
Kapillare	0,5 x 75		5065-4468		
MicroBore	1,0 x 75	661750-902	661750-906	661750-909	971750-902
Narrow Bore	2,1 x 75	660750-902	660750-906	660750-909	970750-902
Vorsäulenkartusche, 4 St.	2,1 x 12,5	821075-920	821075-918	821075-924	
Vorsäulen-Hardware-Kit		820888-901	820888-901	820888-901	
MicroBore-Vorsäule, 3 St.	1,0 x 17	5185-5968	5185-5968	5185-5968	5185-5968

ZORBAX 300 Å-Säulen für die Proteintrennung mit HPLC und UHPLC

Gebundene Phase	Porengröße	Temp.-Begrenzung	pH-Bereich	Mit Endcapping
300SB-C18	300 Å	90 °C	1,0 bis 8,0	Nein
300SB-C8	300 Å	80 °C	1,0 bis 8,0	Nein
300SB-C3	300 Å	80 °C	1,0 bis 8,0	Nein
300SB-CN	300 Å	80 °C	1,0 bis 8,0	Nein
300Extend-C18	300 Å	60 °C	2,0 bis 11,5	Doppelt
300-Diphenyl	300 Å	80 °C	1,0 bis 8,0	Ja

Beschreibung	Größe (mm)	Partikelgröße (µm)	300SB-C18 USP L1	300SB-C8 USP L7	300SB-CN USP L10	300SB-C3 USP L56	300Extend-C18 USP L1	300-Diphenyl USP L11
MicroBore	1,0 x 250	5	861630-902					
MicroBore RR	1,0 x 150	3,5	863630-902	863630-906				
MicroBore RR	1,0 x 50	3,5	865630-902	865630-906				
Narrow Bore	2,1 x 250	5	881750-902					
Narrow Bore	2,1 x 150	5	883750-902	883750-906	883750-905	883750-909		
Narrow Bore	2,1 x 100	1,8	858750-902	858750-906		858750-909	858750-944	
Narrow Bore	2,1 x 50	1,8	857750-902	857750-906		857750-909	857750-944	
Narrow Bore RR	2,1 x 150	3,5		863750-906			763750-902	
Narrow Bore RR	2,1 x 100	3,5	861775-902	861775-906			761775-902	
Narrow Bore RR	2,1 x 50	3,5	865750-902	865750-906			765750-902	
Solvent Saver Plus	3,0 x 150	3,5	863974-302	863974-306		863974-309		
Solvent Saver Plus	3,0 x 100	3,5		861973-306				
Analytisch	4,6 x 250	5	880995-902	880995-906	880995-905	880995-909	770995-902	
Analytisch	4,6 x 150	5	883995-902	883995-906	883995-905	883995-909	773995-902	
Analytisch	4,6 x 50	5	860950-902	860950-906	860950-905	860950-909		
Rapid Resolution	4,6 x 150	3,5	863973-902	863973-906	863973-905	863973-909	763973-902	
Rapid Resolution	4,6 x 100	3,5	861973-902	861973-906			761973-902	
Rapid Resolution	4,6 x 50	3,5	865973-902	865973-906	865973-905	865973-909	765973-902	
Semi-präparativ	9,4 x 250	5	880995-202	880995-206	880995-205	880995-209		
MicroBore-Vorsäule, 3 St.	1,0 x 17	5	5185-5920	5185-5920				
Vorsäulenkartusche, 4 St.	4,6 x 12,5	5	820950-921	820950-918	820950-923	820950-924	820950-932	
Vorsäulenkartusche, 4 St.	2,1 x 12,5	5	821125-918	821125-918	821125-924	821125-924	821125-932	
PrepHT Kartusche	21,2 x 250	7	897250-102	897250-106	897250-105	897250-109		
PrepHT Kartusche	21,2 x 150	7	897150-102	897150-106		897150-109		
PrepHT Kartusche	21,2 x 150	5	895150-902	895150-906		895150-909		
PrepHT Kartusche	21,2 x 100	5	895100-902	895100-906		895100-909		
PrepHT Kartusche	21,2 x 50	5	895050-902	895050-906		895050-909		
PrepHT Endfittings, 2 St.			820400-901	820400-901	820400-901	820400-901		
PrepHT Vorsäulenkartusche, 2 St.	17 x 7,5	5	820212-921	820212-918	820212-924	820212-924		
Vorsäulenkartuschen-Hardware			820444-901	820444-901	820444-901	820444-901		



Wenn Sie mehr über die Durchführung hochauflösender Proteintrennungen mit Agilent Reversed Phase-Säulen erfahren möchten, besuchen Sie www.agilent.com/chem/AdvanceBio

PLRP-S HPLC-Säulen für breiteste pH-Bereiche

Beschreibung	Größe (mm)	Partikelgröße 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
MicroBore	1,0 x 50	3	PL1312-1300	PL1312-1301		
MicroBore	1,0 x 50	5	PL1312-1500		PL1312-1502	
MicroBore	1,0 x 150	3	PL1312-3300			
Analytisch	4,6 x 50	8		PL1512-1801	PL1512-1802	PL1512-1803
Analytisch	4,6 x 250	5	PL1512-5500	PL1512-5501		
Analytisch	4,6 x 150	5	PL1111-3500	PL1512-3501		
Analytisch	4,6 x 50	5	PL1512-1500	PL1512-1501	PL1512-1502	PL1512-1503
Analytisch	4,6 x 150	3	PL1512-3300	PL1512-3301		
Analytisch	4,6 x 50	3	PL1512-1300	PL1512-1301		
Analytisch	2,1 x 250	8		PL1912-5801		
Analytisch	2,1 x 150	8		PL1912-3801	PL1912-3802	PL1912-3803
Analytisch	2,1 x 50	8		PL1912-1801	PL1912-1802	PL1912-1803
Analytisch	2,1 x 250	5	PL1912-5500	PL1912-5501		
Analytisch	2,1 x 150	5	PL1912-3500	PL1912-3501		
Analytisch	2,1 x 50	5	PL1912-1500	PL1912-1501	PL1912-1502	PL1912-1503
Analytisch	2,1 x 150	3	PL1912-3300	PL1912-3301		
Analytisch	2,1 x 50	3	PL1912-1300	PL1912-1301		
Methodenentwicklung	4,6 x 250	30		PL1512-5702	PL1512-5703	821125-918
Methodenentwicklung	4,6 x 250	15-20	PL1512-5200	PL1512-5201		
Methodenentwicklung	4,6 x 250	10-15	PL1512-5400	PL1512-5401		
Methodenentwicklung	4,6 x 250	10	PL1512-5100	PL1512-5101	PL1512-5102	PL1512-5103
Methodenentwicklung	4,6 x 250	8	PL1512-5800	PL1512-5801	PL1512-5802	
Methodenentwicklung	4,6 x 150	30			PL1512-3702	PL1512-3703
Methodenentwicklung	4,6 x 150	15-20	PL1512-3200	PL1512-3201		
Methodenentwicklung	4,6 x 150	10-15		PL1512-3401		
Methodenentwicklung	4,6 x 150	10	PL1512-3100	PL1512-3101	PL1512-3102	PL1512-3103
Methodenentwicklung	4,6 x 150	8	PL1512-3800	PL1512-3801	PL1512-3802	PL1512-3803
Präparativ bis Prozess	100 x 300	30			PL1812-3102	PL1812-3103
Präparativ bis Prozess	100 x 300	15-20	PL1812-6200	PL1812-6201	880995-902	880995-906
Präparativ bis Prozess	100 x 300	10-15	PL1812-6400	PL1812-6401	883995-902	883995-906
Präparativ bis Prozess	100 x 300	10	PL1812-6100	PL1812-6101	860950-902	860950-906
Präparativ bis Prozess	100 x 300	8	PL1812-6800	PL1812-6801	863973-902	863973-906
Präparativ bis Prozess	50 x 300	8	PL1712-6800	PL1712-6801	861973-902	861973-906
Präparativ bis Prozess	50 x 150	30			PL1712-3702	PL1712-3703
Präparativ bis Prozess	50 x 150	15-20	PL1712-3200	PL1712-3201	863974-302	863974-306
Präparativ bis Prozess	50 x 150	10-15	PL1712-3400	PL1712-3401		861973-306
Präparativ bis Prozess	50 x 150	10	PL1712-3100	PL1712-3101	PL1712-3102	PL1712-3103
Präparativ bis Prozess	50 x 150	8	PL1712-3800	PL1712-3801	883750-902	883750-906
Präparativ bis Prozess	25 x 300	15-20	PL1212-6200	PL1212-6201		863750-906
Präparativ bis Prozess	25 x 300	10-15	PL1212-6400	PL1212-6401	861775-902	861775-906
Präparativ bis Prozess	25 x 300	10	PL1212-6100	PL1212-6101	865750-902	865750-906
Präparativ bis Prozess	25 x 300	8	PL1212-6800	PL1212-6801	861630-902	
Präparativ bis Prozess	25 x 150	30			PL1212-3702	PL1212-3703
Präparativ bis Prozess	25 x 150	10	PL1212-3100	PL1212-3101	PL1712-3102	PL1712-3103
Präparativ bis Prozess	25 x 150	8	PL1212-3800	PL1212-3801	5185-5920	5185-5920
Präparativ bis Prozess	25 x 50	10			PL1212-1102	PL1212-1103
PLRP-S Vorsäulenkartuschen	für 5 x 3 mm, 2 St.		PL1612-1801	PL1612-1801	PL1612-1801	PL1612-1801
Vorsäulenkartuschenhalter	für 3,0 x 5,0 mm		PL1310-0016	PL1310-0016	PL1310-0016	PL1310-0016

PLRP-S HPLC als Bulk-Ware

Partikelgröße µm	Einheit	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		

Wenn Sie größere Mengen benötigen, setzen Sie sich bitte mit Ihrer zuständigen Vertriebsniederlassung von Agilent Technologies in Verbindung.

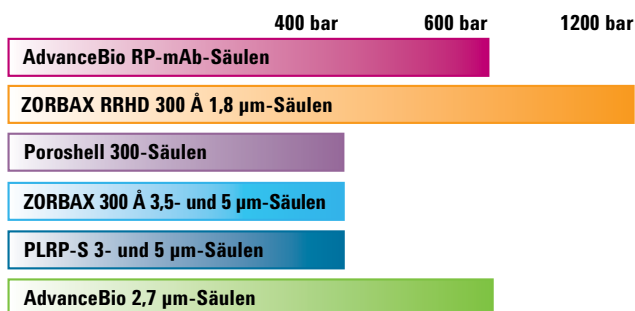
AdvanceBio Peptide Mapping-Säulen

Beschreibung	Bestellnummer
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



*Fast Guards verlängern die Lebensdauer von Analysensäulen, ohne die Trennung zu verlangsamen oder die Auflösung zu beeinträchtigen.

Maximaler Betriebsdruck



Agilent AdvanceBio-Säulen:

Für eine schnellere und konsistentere biopharmazeutische Analyse

Agilent AdvanceBio-Säulen bieten konsistente, hervorragende Leistung, die Sie bei der Trennung und Charakterisierung von Peptiden und Proteinen benötigen. Das wissenschaftliche Know-how hinter der AdvanceBio-Familie verbessert die Genauigkeit, erhöht die Produktivität und eliminiert Interferenzen, die den Fortschritt bei der Analyse behindern können. Wir unterziehen die AdvanceBio-Säulen strengen Tests, um herausragende Ergebnisse zu sicherzustellen. Darüber hinaus gilt für sie eine 60-Tage-Zufriedenheitsgarantie.



Wenn Sie mehr über die Durchführung hochauflösender Proteintrennungen mit Agilent Reversed Phase-Säulen erfahren möchten, besuchen Sie www.agilent.com/chem/AdvanceBio

Agilent Bio-Säulen:

Schnelle, genaue Reversed Phase-BioHPLC: Ergebnisse, denen Sie vertrauen können

- **Große Auswahl und hohe Flexibilität** für die Reversed Phase-Analyse von Biomolekülen
- **Moderne schnelle LC** durch fortschrittliche Entwicklungen wie die AdvanceBio RP-mAb-Säulen mit Poroshell-Technologie – für eine schnellere Analyse und höhere Auflösung bei jeder HPLC oder UHPLC
- **Verfeinerung von UHPLC-Methoden** mithilfe von ZORBAX RRHD 1,8 µm-Säulen (stabil bis 1200 bar)
- **Leistung, Reproduzierbarkeit und Hochwertigkeit** – belegt durch Millionen von Injektionen
- **Schnelle, konsistente biopharmazeutische Analyse:** Mit AdvanceBio Peptide Mapping-Säulen lassen sich Aminosäureveränderungen in der Primärstruktur schnell nachweisen und identifizieren.

- **Hervorragende Peakform** durch die Kombination von innovativer Kieselgel- und Bindungstechnologien – Voraussetzung für Genauigkeit bei der Identitätsbestätigung von Proteinen und der Analyse von Verunreinigungen
- **Eine Vielzahl von Selektivitäten** ermöglicht hohe Auflösung und Wiederfindung von Peptiden und Proteinen

Sie haben ferner Zugang zur umfangreichen Applikationsbibliothek von Agilent, um die eigene Methodenentwicklung zu beschleunigen, und können zudem auf weltweiten technischen Support, schnelle Hilfe bei der Problembewegung und unser globales Infrastruktur- und Liefernetzwerk zurückgreifen.

Weitere Informationen

Weitere Informationen zu Agilent Reversed Phase-Säulen finden Sie unter agilent.com/chem/AdvanceBio

Hier finden Sie Ihr Agilent Kundeninformationszentrum in Ihrem Land:

agilent.com/chem/contactus

USA und Kanada:

1-800-227-9770

agilent_inquiries@agilent.com

Europa:

info_agilent@agilent.com

Asien / Pazifik:

inquiry_lsca@agilent.com

Änderungen vorbehalten.

© Agilent Technologies, Inc. 2014
Gedruckt in den USA, 19. November 2014
5991-0625DEE

Load & Lock Säulen-Hardware für die Aufreinigung

Für die Reinigung von Produkten in Gramm- bis Kilogramm-Mengen bietet Agilent Load & Lock-Hardware für präparative und Prozesssäulen sowie Packstationen an. Zum Packen dieser Säulen ist das PLPR-S-Medium in größeren Chargen lieferbar.



Sie müssen Proben für die Proteinanalyse präparieren?

Agilent Low Protein Binding-Filter mit ihrer konsistent geringen Proteinbindung sind die beste Wahl für die Filtration von Protein- oder Peptid-Proben.



Agilent Technologies