

Columnas BioHPLC Agilent

IDENTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS Y DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE IMPUREZAS MEDIANTE HPLC/UHPLC DE FASE REVERSA

The Measure of Confidence



Agilent Technologies

HPLC/UHPLC DE FASE REVERSA

Agilent puede potenciar su precisión y productividad

La fase reversa se utiliza para confirmar la identidad de las proteínas, determinar el perfil de impurezas y cuantificar las modificaciones postranslacionales.

La técnica separa los elementos basándose en las diferencias en hidrofobicidad y utiliza condiciones de desnaturalización. De esta forma, se consigue información sobre la secuencia de aminoácidos primarios de la molécula, así como las variaciones y modificaciones de la secuencia.

Agilent ofrece la gama más completa de columnas BioHPLC de fase reversa de poro ancho (tamaños de 300 Å, 450 Å y más grandes), respaldadas por un equipo experto de servicio técnico y químicos de aplicaciones de todo el mundo. La gama incluye partículas totalmente porosas de 1,8, 3,5 y 5 µm para presiones de 400 a 1200 bares, partículas Poroshell (superficialmente porosas) para separaciones de UHPLC a presiones bajas, y columnas poliméricas para análisis bajo las condiciones más extremas.



Columnas Agilent AdvanceBio RP-mAb: estas columnas, basadas en la tecnología Poroshell y con un exclusivo diseño del tamaño de poro y de la fase ligada, ofrecen una resolución mayor y unos tiempos de análisis más cortos que permiten obtener resultados precisos y reproducibles a la hora de analizar anticuerpos monoclonales (mAb) intactos y fragmentos de dichos anticuerpos.

Columnas de mapeo de péptidos Agilent AdvanceBio: le permiten resolver e identificar rápidamente las modificaciones de aminoácidos en estructuras primarias. Con sus partículas de 2,7 μm y la funcionalidad C18, las columnas de mapeo de péptidos AdvanceBio proporcionan niveles excelentes de retención, resolución y forma de pico para péptidos hidrofóbicos básicos.

Columnas Agilent Poroshell 300: las primeras columnas de partículas pequeñas superficialmente porosas de la industria para separaciones rápidas de polipéptidos y proteínas.

Columnas Agilent ZORBAX RRHD 300Å de 1,8 μm : ofrecen el rendimiento UHPLC para separaciones de fase reversa de proteínas intactas y fragmentos de proteínas, y realizan asimilaciones con una estabilidad de 1200 bares.

Columnas Agilent ZORBAX 300Å de 3,5 y 5 μm : materiales completamente porosos para separaciones preparativas y HPLC; muchas de las fases ligadas escalables a partir de partícula de 1,8 μm .

Columnas Agilent PLRP-S: las partículas de polímero macroporosas ofrecen separaciones HPLC en el rango de pH más amplio. Con 8 tamaños de partícula y 3 tamaños de ancho de poro, las columnas PLRP-S proporcionan soluciones óptimas para separaciones analíticas preparativas de péptidos, proteínas y complejos de proteínas.



ÍNDICE

Columnas AdvanceBio RP-mAb

Para anticuerpos monoclonales (mAb) intactos y fragmentos de estos **Página 5**

Columnas de mapeo de péptidos AdvanceBio

Para péptidos hidrofóbicos básicos **Página 7**

Columnas Agilent Poroshell 300

Para separaciones de proteínas intactas **Página 10**

Columnas ZORBAX RRHD

Para digestión de péptidos y proteínas intactas **Página 15**

Columnas Agilent ZORBAX StableBond de 300 A

Para separaciones de pH bajo **Página 17**

Columnas PLRP-S

Para estabilidad en condiciones extremas **Página 18**

Guía de selección de columnas/ Información para pedidos **Página 20**

Para obtener más información sobre la realización de separaciones de proteínas de alta resolución con las columnas de fase reversa Agilent, visite agilent.com/chem/AdvanceBio

HPLC DE FASE REVERSA

¿Qué columna LC rápida es la más adecuada para su separación de fase reversa?

Agilent ofrece la gama más amplia de columnas de poro ancho rápidas de HPLC/UHPLC. Estas columnas le proporcionan la flexibilidad necesaria para crear métodos con una resolución máxima, tanto si dispone de un instrumento de 400, 600 o 1.200 bares. Las columnas de poro ancho (300 Å) son necesarias para conseguir una separación eficaz de proteínas y péptidos, porque permiten que estos analitos entren por completo en la fase ligada.

Selección de columnas de fase reversa		
Aplicación	Columnas Agilent	Notas
Anticuerpos monoclonales (mAb) intactos y fragmentos de estos	AdvanceBio RP-mAb de 450 Å y 3,5 µm	Para conseguir una separación eficiente de biomoléculas grandes como anticuerpos monoclonales (mAb) intactos se requieren diámetros de poro grandes, ya que permiten que los analitos accedan íntegramente a la fase ligada. El uso de la tecnología Poroshell, que ofrece unas distancias de difusión menores, mejora aún más la eficiencia. Las fases C4 resultan idóneas para las separaciones de mAb, ya que aportan estabilidad a bajo pH y compatibilidad con los métodos que exigen utilizar columnas USP L26. Las columnas StableBond con fase C8 ofrecen ventajas como la escalabilidad y la transferencia de métodos. La fase difenilica, única de Agilent, ofrece selectividad alternativa.
	<ul style="list-style-type: none"> • SB-C8 • C4 • Difenil 	
Proteínas intactas, anticuerpos monoclonales (mAb), fragmentos de mAb y polipéptidos	ZORBAX 300Å, 1,8 µm	Los procesos de envasado optimizados garantizan la estabilidad hasta 1200 bares para uso con el LC Agilent 1290 Infinity. Las columnas de resolución rápida y alta definición de 1,8 µm están disponibles en longitudes de 50 y 100 mm que consiguen separaciones rápidas o de alta resolución (excelente definición) de las muestras más complejas. Las columnas StableBond con fase C18 son idóneas para la separación de proteínas complejas y asimilaciones de proteínas. Idóneas para su uso con sistemas HPLC. Las columnas StableBond-C3 y StableBond-CN resultan útiles para la separación de compuestos de gran tamaño y carácter marcadamente hidrofóbico.
	<ul style="list-style-type: none"> • RRHD 300SB-C18 • RRHD 300SB-C8 • RRHD 300SB-C3 • RRHD 300-Difenil 	
	ZORBAX 300Å 3,5 y 5 µm	
	<ul style="list-style-type: none"> • 300SB-C18 • 300SB-C8 • 300SB-C3 • 300SB-CN 	
Proteínas intactas de gran tamaño y anticuerpos monoclonales	ZORBAX 300Å Extend-C18	Incorporan un exclusivo silano bidentado combinado con un proceso de desactivación doble que protege la sílice frente a la disolución a pH alto (hasta valores de 11,5).
	Poroshell 300	
Péptidos	<ul style="list-style-type: none"> • 300SB-C18 • 300SB-C8 • 300SB-C3 • 300Extend-C18 	Las columnas Poroshell contienen unas exclusivas partículas compuestas por un núcleo sólido de sílice y una capa de sílice porosa. Esto reduce la distancia de difusión de las proteínas y posibilita conseguir separaciones HPLC prácticas y rápidas de péptidos y proteínas. Tamaño de poro de 120 Å, idóneo para identificar péptidos de un amplio rango de pesos moleculares. Probadas con mezclas complejas de péptidos para garantizar el rendimiento. La exclusiva tecnología Agilent Poroshell posibilita mayores velocidades de flujo y mejora la resolución de la secuencia completa de péptidos.
	Mapeo de péptidos AdvanceBio	
Péptidos hasta ADN	PLRP-S	Las partículas poseen un carácter hidrofóbico inherente a ellas que hace que no se requiera una fase ligada con ligando alquílico para las separaciones de fase reversa. Esto hace que sea un material altamente reproducible de 100 Å que no contiene silanoles ni iones metálicos pesados.
	<ul style="list-style-type: none"> • 100Å • 300Å • 1000Å • 4000Å 	
Moléculas pequeñas y síntesis	PLRP-S 100Å	
Péptidos y proteínas recombinantes	PLRP-S 300Å	
Proteínas grandes	PLRP-S 1000Å	
ADN y separaciones a alta velocidad	PLRP-S 4000Å	
Aminoácidos	ZORBAX para análisis de aminoácidos (AAA)	Capacidad contrastada de análisis de aminoácidos utilizando fases de derivación de precolumnas OPA y FMOC. Existen versiones para HPLC y UHPLC.

Parte de la Familia AdvanceBio

Parte de la Familia AdvanceBio

Parte de la Familia AdvanceBio

Parte de la Familia AdvanceBio

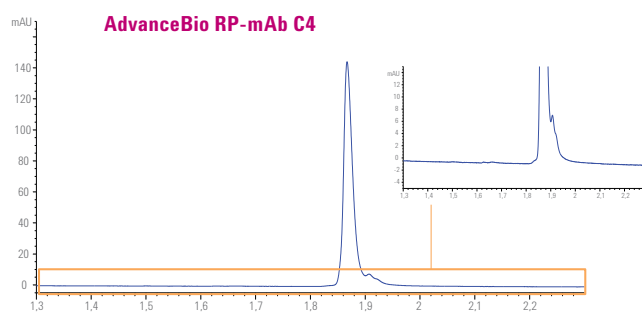
LAS COLUMNAS ADVANCEBIO RP-mAb MEJORAN Y AGILIZAN EL ANÁLISIS DE ANTICUERPOS MONOCLONALES (mAb)

Las columnas Agilent AdvanceBio RP-mAb ofrecen una resolución mayor y unos tiempos de análisis más cortos que permiten obtener resultados precisos y reproducibles a la hora de analizar anticuerpos monoclonales (mAb) en aplicaciones biofarmacéuticas de exploración, desarrollo y control y garantía de calidad (QA/QC).

La exclusiva tecnología Agilent Poroshell que incorporan todas las columnas AdvanceBio RP-mAb le ofrece las siguientes ventajas:

- **Mejora de la precisión:** Partículas superficialmente porosas (3,5 μm) con poros anchos (450 \AA) que aumentan la resolución de mAb y mantienen la compatibilidad con todos los instrumentos LC.
- **Velocidad:** Tiempos de análisis más cortos en comparación con las columnas rellenas con partículas completamente porosas del mismo tamaño (**Figura 1**).
- **Menores costes:** El robusto lecho compacto Poroshell y la frita de entrada de 2 μm prolongan la vida útil de la columna ya que contribuyen a impedir la obstrucción de la entrada.
- **Desarrollo de métodos flexible:** Variedad de fases (SB-C8, C4 y difenil).

Picos estrechos y detallados con análisis cortos: caracterización en menos de 2 minutos

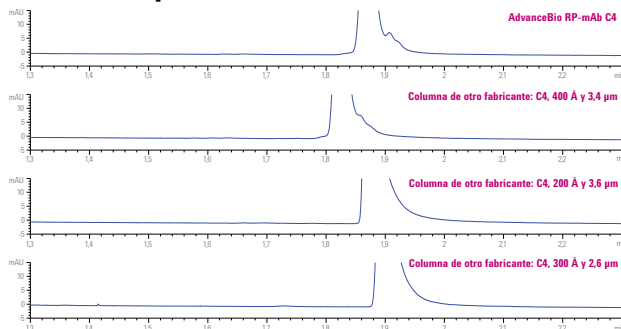


Parámetros del método

Dimensiones de la columna:	2,1 x 100 mm, 3,5 μm
Fase móvil A:	TFA al 0,1 % en agua e IPA (98-2)
Fase móvil B:	IPA, ACN y fase móvil A (70:20:10)
Velocidad de flujo:	1,0 ml/min
Gradiente:	10-58 % B durante 4 min, lavado durante 1 min con 95 % B y reequilibrado durante 1 min con 10 % B
Muestra:	Inyección de 5 μl de un anticuerpo IgG1 recombinante humanizado (Herceptin) intacto de Creative Biolabs (1 mg/ml)
Temperatura:	80 $^{\circ}\text{C}$
Detección:	UV a 254 nm

Figura 1. En este ejemplo, una columna AdvanceBio RP-mAb C4 consiguió una forma de pico excelente y una resolución detallada de un anticuerpo IgG1 recombinante humanizado (Herceptin) intacto en menos de 2 minutos.

Agilent AdvanceBio frente a la competencia: prestaciones superiores a las de otras columnas de análisis de proteínas



Parámetros del método

Dimensiones de la columna:	2,1 x 100 mm, 3,5 μm
Fase móvil A:	TFA al 0,1 % en agua e IPA (98-2)
Fase móvil B:	IPA, ACN y fase móvil A (70:20:10)
Velocidad de flujo:	1,0 ml/min
Gradiente:	10-58 % B durante 4 min, lavado durante 1 min con 95 % B y reequilibrado durante 1 min con 10 % B
Muestra:	Inyección de 5 μl de un anticuerpo IgG1 recombinante humanizado (Herceptin) intacto de Creative Biolabs (1 mg/ml)
Temperatura:	80 $^{\circ}\text{C}$
Detección:	UV a 254 nm

Figura 2. Las columnas AdvanceBio RP-mAb, diseñadas específicamente para la separación de anticuerpos monoclonales (mAb), ofrecen una forma de pico y una resolución mejores que las de otras columnas utilizadas para la separación de proteínas intactas.

Para obtener más información sobre la realización de separaciones de proteínas de alta resolución con las columnas de fase reversa Agilent, visite agilent.com/chem/AdvanceBio

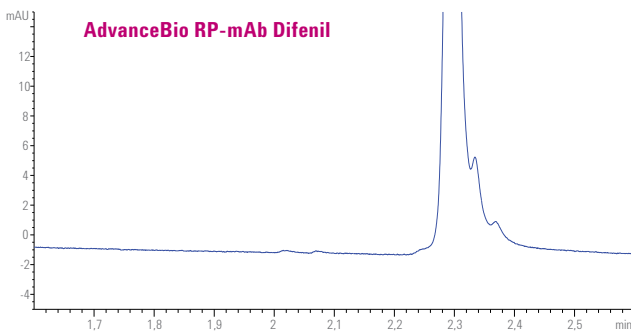
Velocidad y confianza excepcionales para la separación de anticuerpos monoclonales (mAb)

Al igual que sucede con *todas* las columnas fabricadas por Agilent, las columnas AdvanceBio RP-mAb se someten a rigurosos ensayos de control de calidad (QC) para garantizar la reproducibilidad y las prestaciones.

En el ejemplo de la **Figura 3**, se caracterizó un anticuerpo IgG1 recombinante humanizado (Herceptin) intacto con una columna AdvanceBio RP-mAb Difenil. La exclusiva fase de difenil permite conseguir un análisis con un nivel de detalle aún mayor.

En la **Figura 4** se demuestra cómo la tecnología de poro ancho Poroshell de la columna AdvanceBio RP-mAb ofrece una eficiencia elevada, un tiempo de análisis corto y una presión baja a temperaturas inferiores a 80 °C (las habituales en muchos métodos de fase reversa).

Fase selectiva de difenil: análisis con un nivel de detalle aún mayor

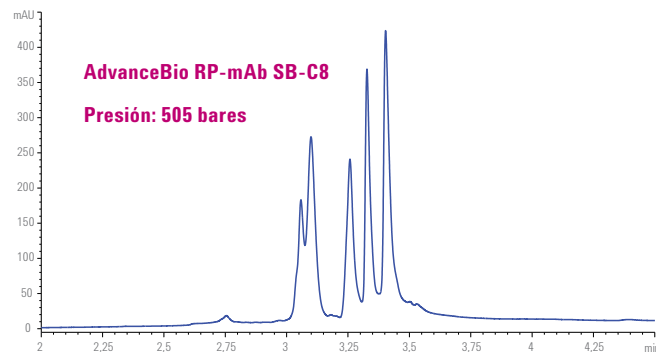


Parámetros del método

Dimensiones de la columna:	2,1 x 100 mm, 3,5 µm
Fase móvil A:	TFA al 0,1 % en agua e IPA (98-2)
Fase móvil B:	IPA, ACN y fase móvil A (70:20:10)
Velocidad de flujo:	1,0 ml/min
Gradiente:	10-58 % B durante 4 min, lavado durante 1 min con 95 % B y reequilibrado durante 1 min con 10 % B
Muestra:	Inyección de 5 µl de un anticuerpo IgG1 recombinante humanizado (Herceptin) intacto de Creative Biolabs (1 mg/ml)
Temperatura:	80 °C
Detección:	UV a 254 nm

Figura 3. La exclusiva selectividad de la columna AdvanceBio RP-mAb Difenil permite realizar análisis con un nivel de detalle aún mayor.

Ventajas de la tecnología Poroshell: mayor precisión y baja retropresión



Parámetros del método

Dimensiones de la columna:	2,1 x 100 mm, 3,5 µm
Fase móvil A:	0,1 % TFA en agua
Fase móvil B:	n-propanol, ACN y fase móvil A (80:10:10)
Velocidad de flujo:	0,8 ml/min
Gradiente:	5-40 % B durante 5 min, lavado durante 1 min con 95 % B y reequilibrado durante 1 min con 10 % B
Muestra:	Inyección de 1 µl de un anticuerpo IgG1 recombinante humanizado (Herceptin) digerido en papaina de Creative Biolabs (2 mg/ml)
Temperatura:	60 °C
Detección:	UV a 220 nm

Figura 4. Las columnas AdvanceBio RP-mAb ofrecen unas excelentes prestaciones a temperaturas inferiores a 80 °C.

COLUMNAS DE MAPEO DE PÉPTIDOS ADVANCEBIO

Reduzca el tiempo de mapeo de péptidos sin perder resolución

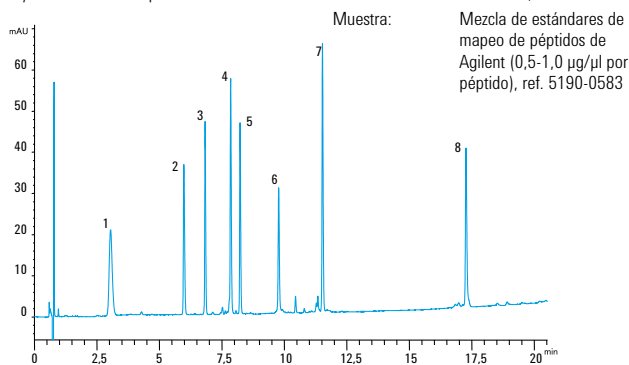
Las columnas de mapeo de péptidos Agilent AdvanceBio le permiten resolver e identificar rápidamente las modificaciones de aminoácidos en estructuras primarias, al contrario que las columnas completamente porosas que pueden tardar 60 minutos.

Estas biocolumnas avanzadas cuentan con un tamaño de poro de 120 Å con partículas superficialmente porosas de 2,7 µm y se han diseñado para ofrecer:

- **Mayor fiabilidad analítica:** Cada uno de los lotes de medio de mapeo de péptidos AdvanceBio se somete a pruebas con una mezcla compleja de péptidos para garantizar su conformidad y reproducibilidad, así como para identificar los péptidos clave en mapeos de péptidos complejos.

Prueba de garantía de calidad con una mezcla de péptidos

Columna: **Mapeo de péptidos AdvanceBio**, 2,1 x 150 mm, 2,7 µm, ref. 653750-902
 Temp.: 55 °C
 Detección: 220 nm
 Gradiente: A, agua (0,1 % TFA), B, ACN (0,08 % TFA), 0-25 min, 15-65 % B; 25-26 min, 65-95 % B
 Velocidad de flujo: 0,5 ml/min
 Inyección: 5 µL



N.º pico	PM	Componente
1	757	Fragmento de bradiquinina 1-7
2	1.060	Bradiquinina
3	1.046	Angiotensina II
4	1.673	Neurotensina
5	1.295	Angiotensina I
6	2.465	Fragmento ACTH 18-39
7	1.759	Renina
8	2.845	Melitina



Figura 5. Mezcla de prueba utilizada para todos los lotes de medio de mapeo de péptidos AdvanceBio. La mezcla contiene 8 péptidos hidrofílicos, hidrofóbicos y básicos, con un peso molecular que va desde los 757 Da a los 2845 Da. Todas las columnas también se han probado con una sonda de moléculas pequeñas para garantizar su eficacia.

- **Ahorro de tiempo:** Realice separaciones en alta resolución de 2 a 3 veces más rápidamente que con las columnas HPLC completamente porosas.
- **Todos los instrumentos trabajan más duro:** Las columnas de 4,6, 3,0 y 2,1 mm de DI son estables a 600 bares, lo que le permite aprovechar al máximo sus instrumentos UHPLC. Asimismo, pueden ofrecer un rendimiento excelente para sus instrumentos tradicionales de 400 bares.
- **Más flexibilidad:** Aumente la sensibilidad MS con fases móviles de ácido fórmico en cualquier HPLC.

Mapeo de péptidos de una EPO biosimilar

Columna: **Mapeo de péptidos AdvanceBio**, 2,1 x 250 mm, 2,7 µm, ref. 651750-902
 Inyección: 5 µL (2,0 mg/ml)
 Temp.: 55 °C
 Detección: 220 nm
 Gradiente: A, w n, 60-95% B
 Velocidad de flujo: 0,5 ml/min

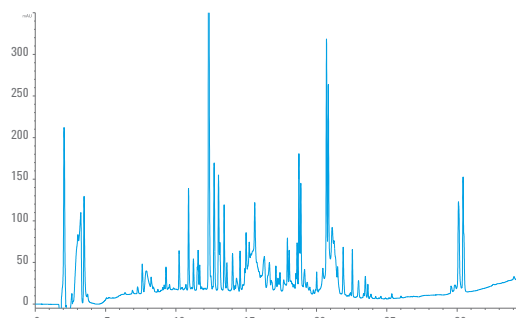


Figura 6. La columna de mapeo de péptidos AdvanceBio permite confirmar fácilmente la identidad de las proteínas e identificar todas las modificaciones posttranslacionales.

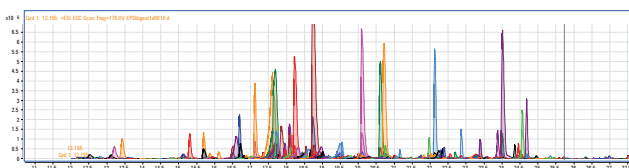


Figura 6a. Digesto de EPO, LC/MS TOF 95 % de cobertura de secuencia conseguida con el software MassHunter Workstation

Para obtener más información sobre la realización de separaciones de proteínas de alta resolución con las columnas de fase reversa Agilent, visite agilent.com/chem/AdvanceBio

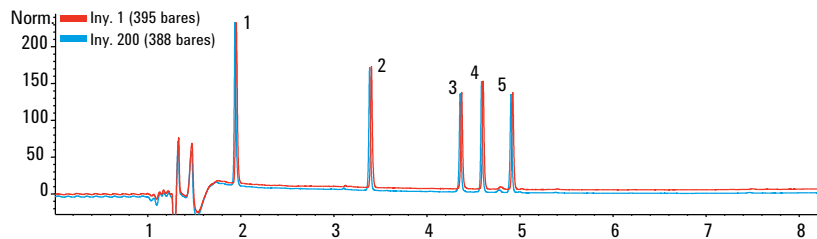
Excelente reproducibilidad

Los principios científicos de las columnas AdvanceBio lo ayudan a aumentar la precisión y la productividad para conseguir eficacia y análisis biofarmacéuticos más rápidos. Además, las columnas AdvanceBio se someten a pruebas rigurosas en las instalaciones de Agilent para garantizarle su reproducibilidad y ofrecerle resultados de confianza.

La **Figura 7** demuestra la excelente reproducibilidad entre lotes y entre análisis que puede conseguirse utilizando las columnas de mapeo de péptidos AdvanceBio.

Reproducibilidad entre lotes después de 200 inyecciones

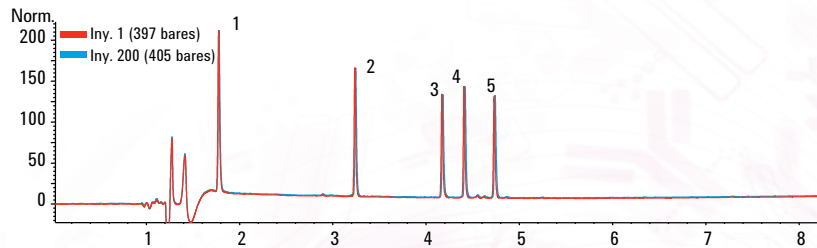
Lote de sílice PEP1227229



Inyección	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

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

Lote de sílice B12169



Inyección	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

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

Columna: **Mapeo de péptidos AdvanceBio**,
2,1 x 250 mm, 2,7 µm,
ref. 651750-902

Velocidad de flujo: 0,50 ml/min.

Inyección: 1 µL

Temp.: 55 °C

Detección: 220 nm

Gradiente: A, agua (0.1% TFA), B, ACN (0.08% TFA), 0-8 min, 10-60% B; 8.1-9 min, mantener 95% B

Muestra: Estándares de péptidos Sigma HPLC:
1- Gli-Tir, 2-Val-Tir-Val, 3-Met Enk,
4- Angio II, 5- Leu Enk

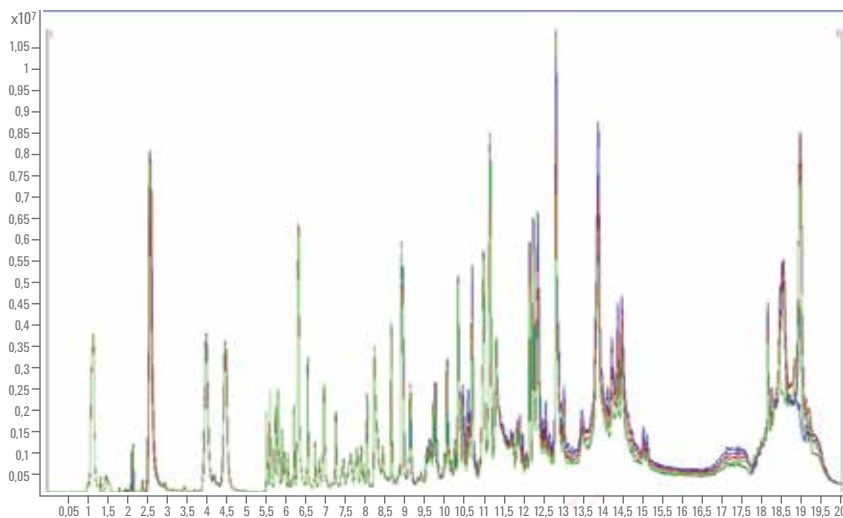
Figura 7. Se utilizó una columna de mapeo de péptidos AdvanceBio de 2,1 x 250 mm para obtener la máxima resolución.

Ideal para separaciones de péptidos rápidas y de alta resolución

Las columnas de mapeo de péptidos Agilent AdvanceBio están fabricadas con sílice superficialmente porosa de 2,7 μm y pureza ultraelevada (>99,995 % SiO_2), que se liga densamente con C18 para ofrecer la alta selectividad necesaria para las separaciones de péptidos. Este tipo de partícula ofrece una alta eficacia a bajas presiones cuando se compara con las partículas pequeñas y completamente porosas.

En la **Figura 8** puede ver de qué forma las columnas de mapeo de péptidos AdvanceBio garantizan la reproducibilidad, las alturas de pico y los tiempos de retención para conseguir una identificación de péptidos objetivo más precisa.

Reproducibilidad LC/MS



Columna: **Mapeo de péptidos AdvanceBio**,
3,0 x 150 mm, 2,7 μm ,
ref. 653950-302

Parámetros de LC/MS (Agilent 6520 Q-TOF)

Gas seco: 10 l/min, Vcap: 4000 V,
Fragmentador: 150 V
Velocidad de flujo: 0,3 ml/min
Inyección: 1 μL
Temp.: 40 °C

Gradiente: A, agua (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.,
mantener 90% B

Muestra: Digestión triptica interna Stratagene mAb

Figura 8. Este mapeo completo de péptidos tripticos de IgG1 se completó en tan solo 20 minutos (n=5).



Para obtener más información sobre la realización de separaciones de proteínas de alta resolución con las columnas de fase reversa Agilent, visite agilent.com/chem/AdvanceBio

COLUMNAS AGILENT POROSHELL 300

Separación rápida y fiable de proteínas intactas y fragmentos de proteínas

Las columnas Agilent Poroshell son la elección perfecta para separar y caracterizar biomoléculas complejas, incluidos proteínas intactas y fragmentos de proteínas a presiones de hasta 400 bares.

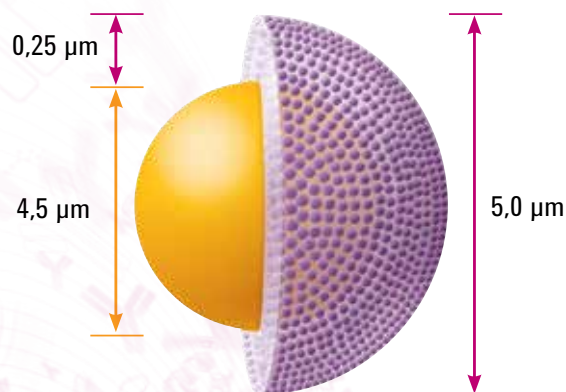
Para conseguir análisis rápidos de proteínas intactas, recomendamos las columnas Agilent Poroshell 300. La partícula superficialmente porosa Poroshell 300 es un material cromatográfico revolucionario que produce separaciones de RP-HPLC en alta resolución muy rápidas para proteínas y otras macromoléculas.

Las columnas Poroshell funcionan muy bien para separaciones rápidas de macromoléculas gracias a su transferencia de masa rápida dentro y fuera de la célula porosa delgada de 300 Å, proporcionando picos más estrechos para una mayor resolución, mayor precisión de la determinación del perfil de impurezas y modificaciones postranslacionales.

Reducción del tiempo de análisis y mayor resolución con presiones inferiores de columna

Función	Ventaja
Armazón poroso de 0,25 μm , 300 Å en partícula sólida	<ul style="list-style-type: none">• Distancias de difusión más cortas para tiempos de análisis reducidos
Partícula de 5 μm	<ul style="list-style-type: none">• Presión operativa más baja• Larga vida útil de la columna gracias a la reducción de retención de muestra• Resolución y eficacia de UHPLC a presiones más bajas para conseguir unas separaciones más rápidas
Química StableBond	<ul style="list-style-type: none">• Estabilidad demostrada en valores de pH bajos• Larga vida útil de la columna con TFA y ácido fórmico

Poroshell 300



Utilice las columnas Agilent Poroshell 300 para analizar proteínas intactas y grandes fragmentos de péptidos.



Velocidades de flujo altas con 2,1 mm de DI

Las columnas Poroshell 300, con su tamaño de poro superior (300 Å) y fino armazón, son una opción fiable para lograr separaciones rápidas de proteínas intactas. La separación mostrada en la **Figura 9** se completó en menos de 1,5 minutos.

Gracias a su rápida transferencia de masa de las partículas superficialmente porosas, las columnas Poroshell 300 son la mejor opción para lograr alta eficacia a velocidades de flujo elevadas para separaciones rápidas de proteínas.

Separación de péptidos y proteínas

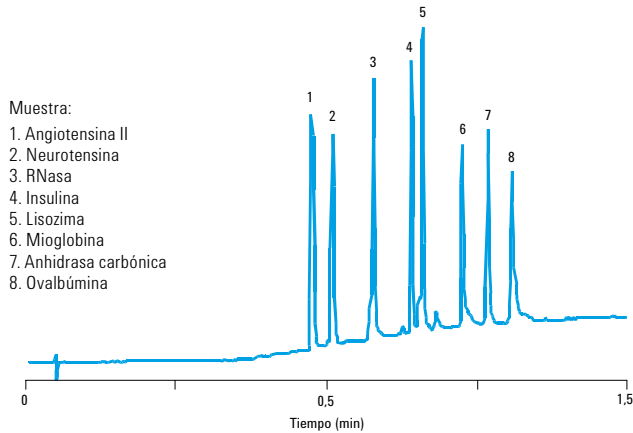


Figura 9. Separación de 8 péptidos y proteínas en tan solo 1,5 minutos: buena capacidad de picos para separar rápidamente muestras complejas.

Columna: **Poroshell 300SB-C18**, 2,1 x 75 mm, 5 µm
 Fase móvil: A: 0,1 % TFA
 B: 0,07 % TFA en ACN
 Velocidad de flujo: 3,0 ml/min
 Temperatura: 70 °C
 Detección: UV 215 nm
 Gradiente: 5 a 100 % B en 1,0 min
 Presión: 250 bares

Separación de cadenas pesadas y ligeras de anticuerpos monoclonales

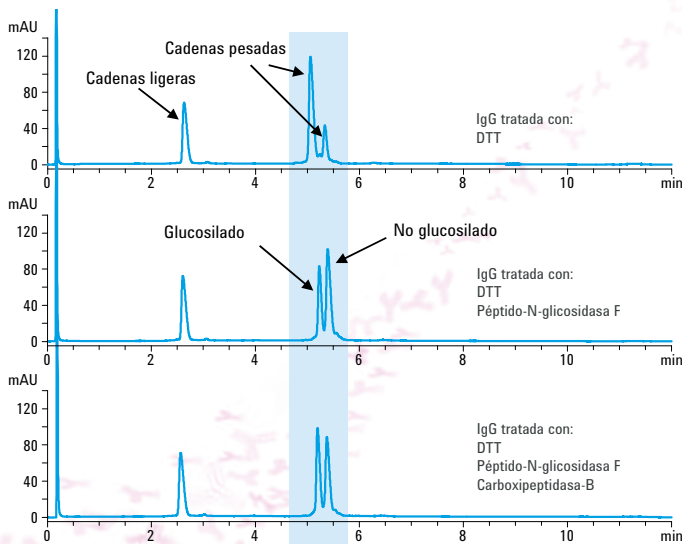


Figura 10. Comparación cromatográfica del anticuerpo IgG después de reducción y división enzimática.

Gradiente:

Tiempo (min)	% de disolvente B
0,00	25
10,00	40
10,10	25
12,00	25

Columna: **Poroshell 300SB-C8**, 2,1 x 75 mm, 5 µm
 Fase móvil: A: H₂O-ACN (90:10)
 B: H₂O-ACN (10:90)
 A y B contienen 0,1 % TFA y 3 ml/l de PEG 300
 Velocidad de flujo: 1,0 ml/min
 Temperatura: 70 °C
 Detección: UV 210 nm

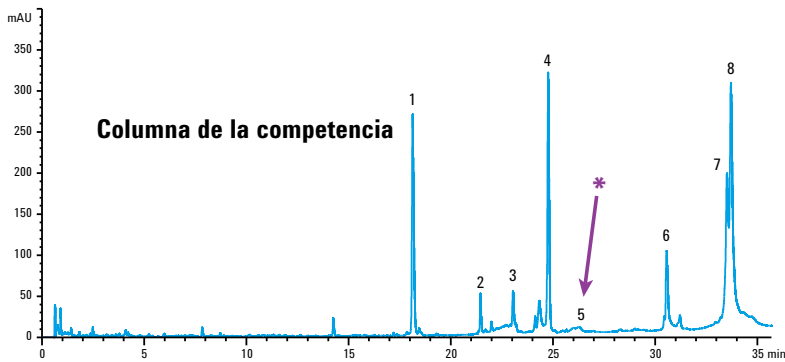
Para obtener más información sobre la realización de separaciones de proteínas de alta resolución con las columnas de fase reversa Agilent, visite agilent.com/chem/AdvanceBio

Ventaja de la separación ultrarrápida

Las columnas Agilent Poroshell 300 de 5 µm pueden ofrecer ventajas de separación rápida muy atractivas en comparación con la columna superficialmente porosa de la competencia de 3,7 µm, 150 mm (flujo bajo).

En la **Figura 11**, la columna Poroshell 300 mantuvo una resolución crítica a velocidades de separación ultrarrápidas con gradientes balísticos, al tiempo que mantuvo las caídas de presión para HPLC por debajo de los 400 bares. La columna Agilent Poroshell 300 resuelve las 8 proteínas 12 veces más rápido que la columna superficialmente porosa de la competencia.

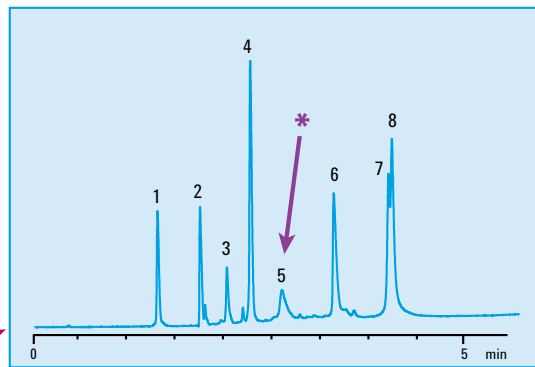
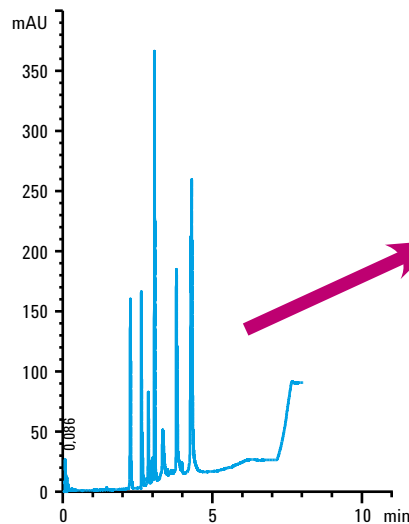
Agilent Poroshell 300 comparada con la competencia



Columna: **Columna de la competencia: C18**, 2,1 x 150 mm, 3,7 µm
 Muestra: Mezcla de proteínas estándar (13 kDa - 660 kDa)
 Fase móvil: A: agua (0,1 % TFA)
 B: ACN (0,08 % TFA)
 Temperatura: 40 °C
 DAD: UV 215 nm
 Gradiente: 5-90 % B, 60 min, 0,3 ml/min

Muestra:
 1. Ribonucleasa A
 2. Lisozima
 3. Citocromo c
 4. Insulina
 5. Transferrina
 6. Mioglobina
 7. B-amilasa
 8. Tiroglobulina

La columna Agilent es 12 veces más rápida



Columna: **Poroshell 300SB-C18**, 2,1 x 75 mm, 5 µm
 Fase móvil: A: agua (0,1 % TFA)
 B: ACN (0,08 % TFA)
 Temperatura: 40 °C
 DAD: UV 215 nm
 Gradiente: 5-90 % B, 5 min, 2,5 ml/min

* La columna Agilent Poroshell 300 ofrece una mejor forma de pico para aumentar la precisión en el análisis del pico 5, transferrina.

Figura 11. Ventaja de separación ultrarrápida con las columnas Poroshell 300 SB-C18 en comparación con la competencia.

Las opciones de fase ligada ofrecen más potencia de resolución y una mejor recuperación

Las columnas Poroshell 300 HPLC están disponibles en cuatro fases ligadas: 300SB-C18, C8, C3 y 300Extend-C18.

La reducción de la cadena de la fase ligada también reduce la hidrofobicidad de las fases ligadas de 300SB-C8 y 300SB-C3. Por ejemplo, la insulina y el citocromo c se resuelven hasta la línea base en la columna Poroshell 300SB-C3, mientras estos mismos analitos coeluyen en la columna Agilent Poroshell 300SB-C18 en las condiciones descritas en la **Figura 12**.

Para algunas muestras complejas, la recuperación de proteínas puede ser un problema. Se ha demostrado que la utilización de las columnas menos hidrofóbicas Poroshell 300SB-C8 y C3 pueden mejorar la recuperación.

La **Figura 13** muestra las trazas que resultan de inyectar 100 μ l de caldo de fermentación en una columna Poroshell 300SB-C3, seguido de la traza limpia inmediatamente después de la inyección de blanco con 100 μ l de agua. La recuperación de la muestra mejorada y la resolución de los pares críticos de picos mejoran la precisión de los análisis de proteínas.

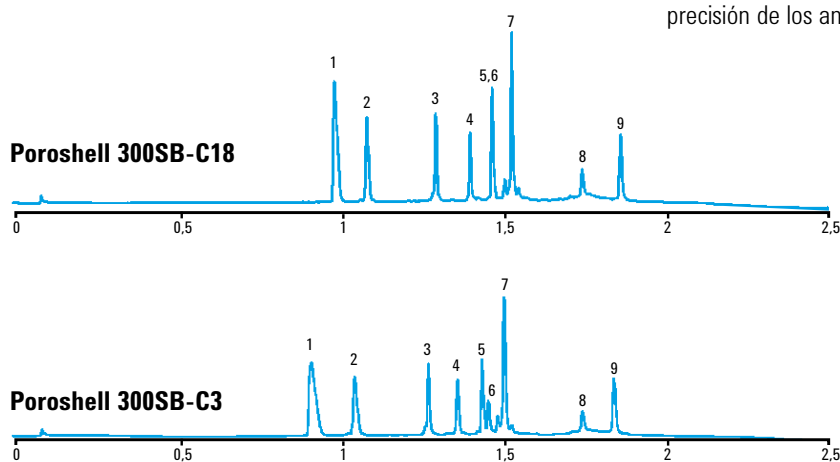


Figura 12. Poroshell 300SB-C3 resuelve los picos 5 y 6, insulina y citocromo c, que coeluyen con la fase C18 más hidrofóbica.

Columnas: **Poroshell 300SB-C18**,
2,1 x 75 mm, 5 μ m
Poroshell 300SB-C3,
2,1 x 75 mm, 5 μ m

Fase móvil: A: 0,1 % TFA/H₂O
B: 0,07 % TFA/ACN

Velocidad de flujo: 0,5 ml/min
Temperatura: 70 °C
Gradiente: 5 a 100 % B en 3,0 min
Detección: UV 215 nm

Muestra:

1. Angiotensina II	6. Citocromo c
2. Neurotensina	7. Lisozima
3. RNasa A	8. Mioglobina
4. Cadena B de insulina	9. Anhidrasa carbónica
5. Insulina	

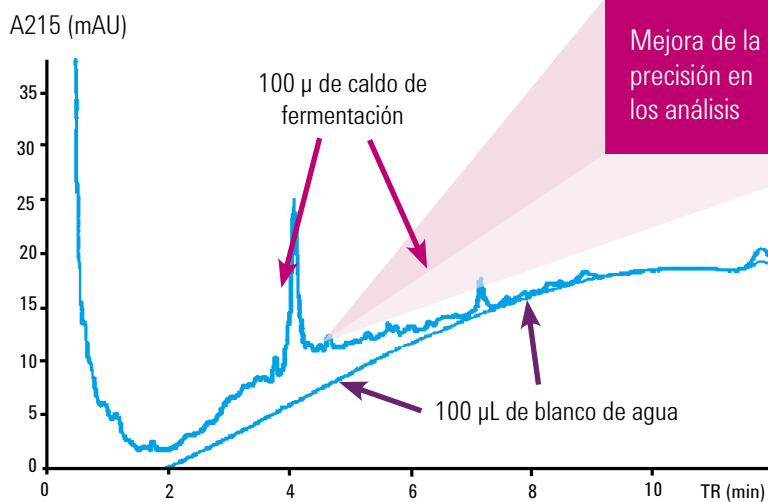


Figura 13. Sin efecto memoria cuando se utiliza la columna Agilent Poroshell 300SB-C3.

Columna: **Poroshell 300SB-C3**,
2,1 x 75 mm, 5 μ m

Fase móvil: A: 0,1 % TFA/H₂O
B: 0,07 % TFA/ACN

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min
Temperatura: 50 °C
Gradiente: 10 a 60 % B en 10,5 min,
hasta 100 % B en 1 min.
Inyección de agua (blanco) seguida
inmediatamente de una inyección
de 100 μ l de caldo de fermentación
clarificado

Detección: UV 215 nm

Para obtener más información sobre la realización de separaciones de proteínas de alta resolución con las columnas de fase reversa Agilent, visite agilent.com/chem/AdvanceBio

Consiga una selectividad única con pH 2-11,5

La **Figura 14** muestra que las diferencias de selectividad, junto con la alta potencia de resolución de las columnas Poroshell 300, pueden ayudarle a conseguir mejoras muy favorables en sus separaciones.

Las columnas Poroshell 300Extend-C18 combinan silano bidentado con un proceso de desactivación doble que protege la sílice de la

disolución en valores de pH altos, para aumentar la vida útil de la columna y mejorar la línea base a valores de pH más altos.

La **Figura 15** ilustra la separación rápida de pequeñas proteínas y polipéptidos en menos de un minuto, utilizando la fase más hidrofóbica, C18.

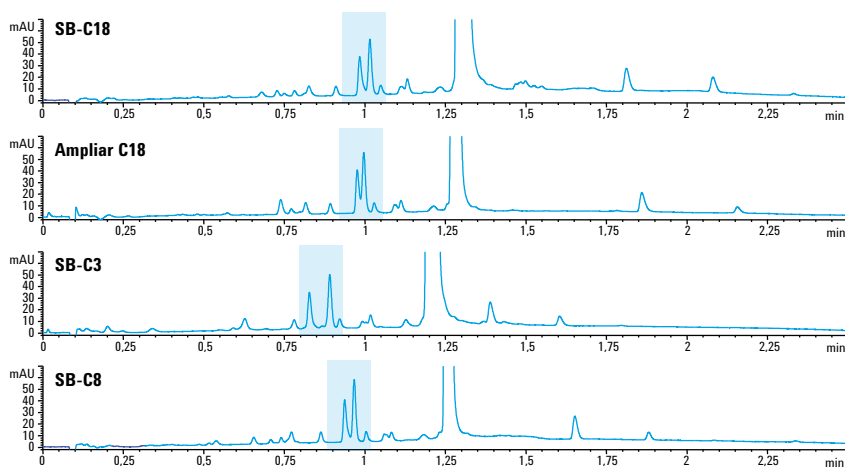
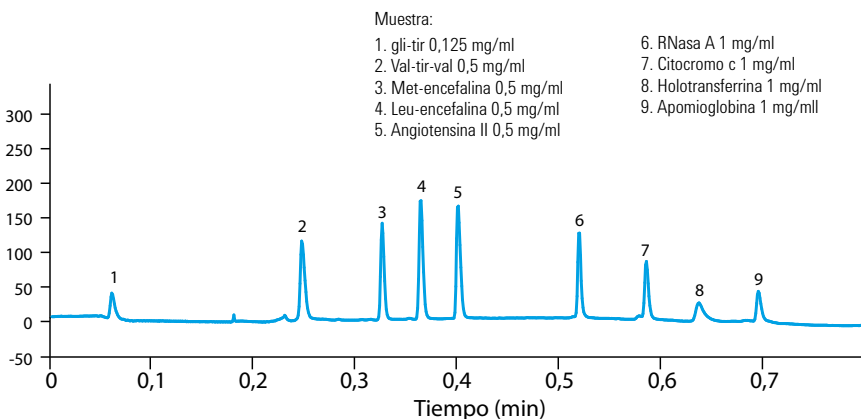


Figura 14. El cambio de la fase ligada mejora la resolución del par crítico de picos para mejorar la precisión del análisis.

Columna: **Poroshell 300**,
2,1 x 75 mm, 5 µm
Muestra: Insulina degradada
Fase móvil: A: agua (0,1 % TFA)
B: ACN (0,08 % TFA)
Velocidad de flujo: 1,75 ml/min
Temperatura: 45 °C
Gradiente: 5 % B mantener 0,3 min,
5-65 % B, 2,7 min.



Columna: **Poroshell 300SB-C18**,
2,1 x 75 mm, 5 µm
Muestra: péptidos/proteínas, 0,5 µl
Mezclador derivado con ref. G1312-67301;
Programa de derivación de loop
Fase móvil: A: 0,1 % TFA, H₂O
B: 0,07 % TFA, ACN
Velocidad de flujo: 3 ml/min
Gradiente: 0-100 % B en 1,33 min
Temperatura: 70 °C
Detector: DAD 215/16 nm, ref. = 310/10 nm

Figura 15. Separación rápida de pequeñas proteínas y polipéptidos en menos de un minuto.

COLUMNAS ZORBAX RRHD

Las partículas de 300 Å 1,8 µm garantizan estabilidad a 1200 bares

Las columnas ZORBAX RRHD 300SB-C18, C8, C3 y 300-Difenil de 1,8 µm de poro ancho ofrecen el rendimiento de UHPLC para separaciones de proteínas intactas y asimilaciones de péptidos. Junto con los instrumentos UHPLC, como el LC Agilent 1290 Infinity, estas columnas versátiles proporcionan una caracterización de orden más alto y tiempos de análisis reducidos.

La fase de difenil aporta una selectividad única y, además, la tecnología ZORBAX StableBond (C18, C8 y C3) le ofrece las ventajas siguientes:

- **Baja estabilidad de pH**, que le permite realizar con total seguridad separaciones de proteínas y péptidos con valores de hasta pH 1 utilizando ácido trifluoroacético (TFA) y eluentes de ácido fórmico.
- **La estabilidad térmica** de hasta 80 °C le permite analizar separaciones a temperaturas más altas sin comprometer la vida útil de la columna. De esta forma, puede mejorar la eficacia y reducir la viscosidad del eluyente.

Aumento del tamaño de proteínas y la hidrofobicidad



Con cuatro tipos distintos de ligandos, cadenas alquílicas C18, C8 y C3 y difenil para selectividad adicional a partir de aminoácidos aromáticos pi-pi, Agilent tiene la gama más amplia de columnas de fase reversa para separaciones UHPLC de proteínas y péptidos.



Reproducibilidad y recuperación de anticuerpos monoclonales

Para proteínas más grandes, incluidos los anticuerpos monoclonales, se utiliza una funcionalidad C8 más corta y menos hidrofóbica. Este método mejora la resolución y la alta recuperación.

Columna: **ZORBAX RRHD 300SB-C8**,
2,1 x 50 mm, 1,8 µm
mAb
Fase móvil: A: H₂O:IPA (98:2), 0,1 % TFA
B: IPA:ACN:H₂O (70:20:10), 0,1 % TFA
Velocidad de flujo: 1,0 ml/min
Temperatura: 80 °C
Detección: 1290 Infinity LC a 225 nm

Gradiente:

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

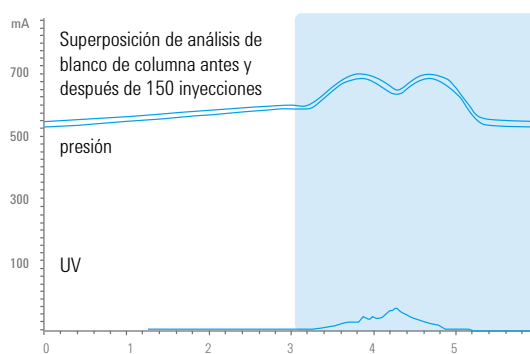
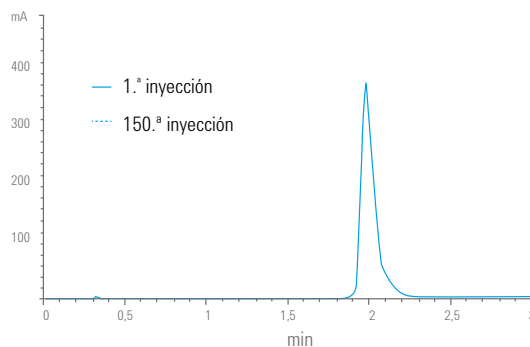


Figura 16. Este ejemplo demuestra la reproducibilidad y la vida útil de una columna Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C8 durante 150 inyecciones, sin derivas del tiempo de retención ni anomalías en la forma de pico. El cromatograma inferior muestra los análisis de blanco antes y después de 150 inyecciones y curvas de presión de gradiente, lo que demuestra que no se produjeron picos fantasma ni aumentos de presión después de 150 inyecciones. Por lo tanto, se demuestra que **no existen fallos de columna ni pérdidas de muestra que mejorarán la precisión de la cuantificación.**

Para obtener más información sobre la realización de separaciones de proteínas de alta resolución con las columnas de fase reversa Agilent, visite agilent.com/chem/AdvanceBio

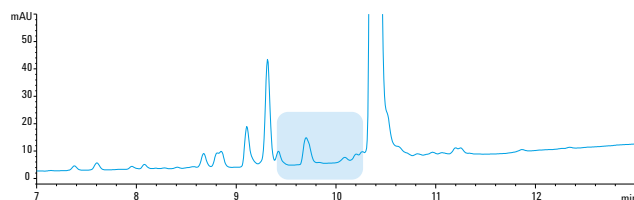
Más rapidez, mayor resolución

La **fase difenilica única** solo estaba disponible previamente en las columnas 100Å Pursuit XRs y 200Å Pursuit de poro más pequeño. Ahora, aplicando esta química de enlace probada a las columnas ZORBAX 300 Å de 1,8 µm, esta selectividad exclusiva puede usarse para separaciones de proteínas más grandes.

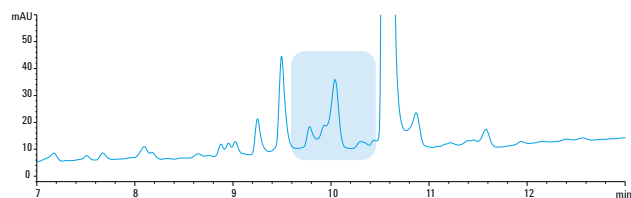
Las columnas RRHD de 1,8 µm pueden ofrecer separaciones rápidas más competitivas que las columnas de 3,7 µm de la competencia (modelo de flujo bajo). Ofrecen ventajas considerables en velocidad de análisis y mantienen una resolución comparable. En la **Figura 18**, las columnas de 1,8 µm mantuvieron (y sobrepasaron) la resolución crítica a velocidades de separación **ultrarrápidas** con gradientes balísticos: toda una ventaja UHPLC demostrable.

ZORBAX RRHD en comparación con la columna de la competencia

Columna de la competencia: C18, 2,1 x 150 mm
164 bares



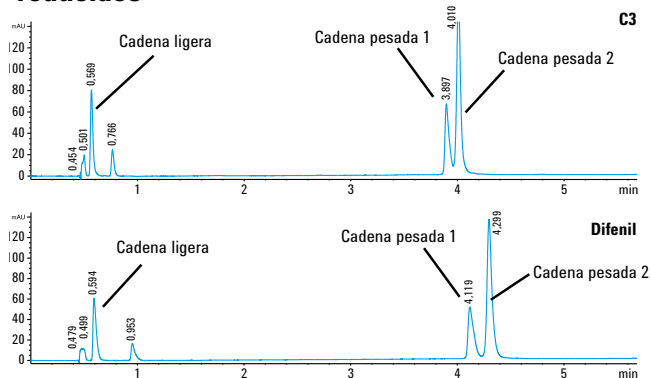
ZORBAX RRHD 300SB-C18, 2,1 x 100 mm, 1,8 µm
359 bares



Muestra: Insulina degradada
Fase móvil: A: agua (0,1 % TFA)
B: ACN (0,08 % TFA)
Gradiente: 3 % B mantener 3,0 min, 3-65 % B, 15 min.
Velocidad de flujo: 0,3 ml/min
Temperatura: 40 °C
DAD: 225 nm

Figura 18. Separación de insulina degradada. Las columnas Agilent 300Å 1,8 µm de resolución rápida y alta definición consiguen anchos de banda y formas de pico superiores a los de la competencia (resolución mejorada de productos de degradación).

Separación rápida de anticuerpos monoclonales reducidos



Columnas: **ZORBAX RRHD 300SB-C3 y 300-Difenil**,
2,1 x 100 mm, 1,8 µm
Muestra: Anticuerpo monoclonal reducido (IgG1) (1,0 mg/ml)
Inyección de la muestra: 2 µL
Fase móvil: A: 0,1 % TFA en agua
B: 80 % de n-alcohol propílico, 10 % ACN, 9,9 % agua y 0,1 % TFA
Gradiente: 0 min-1 % B, 2 min-20 % B, 5 min-50 % B
Velocidad de flujo: 0,5 ml/min
Temperatura: 74 °C
Detección: UV 280

Figura 17. Comparación de separación rápida de anticuerpos monoclonales reducidos utilizando ZORBAX RRHD 300SB-C3 y 300-Difenil, 2,1 x 100 mm, 1,8 µm: se obtiene una mejor resolución de las dos cadenas pesadas con la columna difenilica.



COLUMNAS ZORBAX 300 Å 3,5 Y 5 µm

Estabilidad química y térmica extraordinaria en el rango pH 1-6

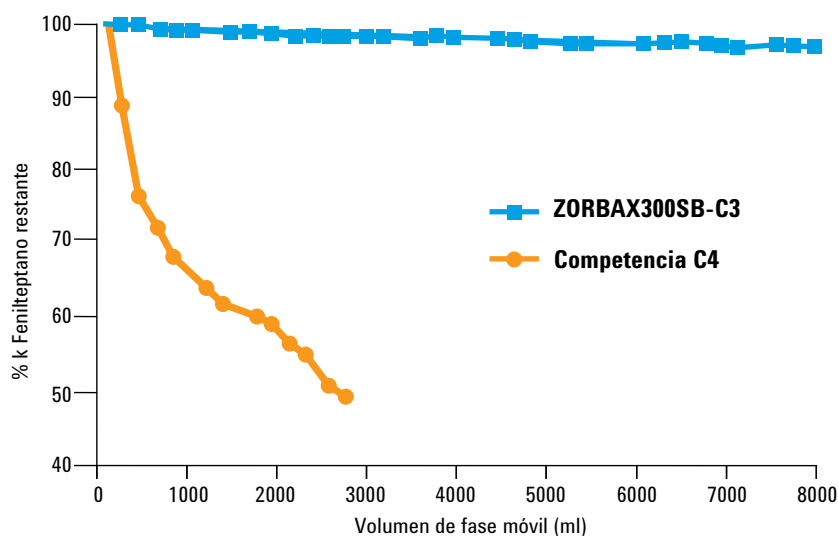
Las columnas Agilent ZORBAX 300StableBond son ideales para la separación reproducible de proteínas y péptidos por dos motivos:

- ▶ Las columnas 300 Å de poro ancho permiten que las proteínas, los péptidos y otras moléculas grandes entren por completo a la fase ligada.
- ▶ Las columnas ZORBAX 300StableBond tienen una durabilidad incomparable con las fases móviles de pH bajo (incluido TFA), que suelen utilizarse para separaciones de proteínas y péptidos.

Para separaciones LC/MS con pH bajo, las columnas ZORBAX 300StableBond también pueden usarse con modificadores de fase móvil de ácido fórmico y ácido acético.

Estas columnas están disponibles en cuatro fases ligadas distintas: **StableBond C18, C8, C3 y Extend-C18** para selectividad y recuperación optimizada de proteínas y polipéptidos. Para aumentar todavía más la recuperación de muestras y mejorar la eficacia para proteínas complejas, las columnas 300StableBond pueden usarse hasta a 80-90 °C.

La columna ZORBAX 300SB-C3 de cadena corta es estable con valores de pH bajos y alta temperatura para separaciones reproducibles y el aumento de la vida útil de la columna



Columna: **ZORBAX 300SB-C3**,
4,6 x 150 mm, 5 µm
Fase móvil: Gradientes 0-100 % B en 80 min
A: 0,5 % TFA en agua
B: 0,5 % TFA en acetonitrilo
Condiciones de prueba de retención isocrática:
1-fenilheptano 50 % A, 50 % B
Velocidad de flujo: 1,0 ml/min
Temperatura: 60 °C



Figura 19. Las fases móviles típicas para separaciones de proteínas y péptidos combinan un pH muy bajo con TFA (u otros ácidos) con alta temperatura para desnaturalizar y solubilizar las proteínas. Las columnas Agilent StableBond tienen una vida útil muy larga en estas condiciones.

Para obtener más información sobre la realización de separaciones de proteínas de alta resolución con las columnas de fase reversa Agilent, visite agilent.com/chem/AdvanceBio

COLUMNAS PLRP-S HPLC

Separaciones reproducibles en condiciones extremas

La serie de columnas PLRP-S de Agilent incluye distintos tamaños de poro y partícula con composiciones químicas idénticas y características cromatográficas fundamentales. Estos productos incluyen:

- ▶ Las partículas de polímero duraderas y flexibles ofrecen resultados reproducibles para ampliar la vida útil de la columna.
- ▶ Estabilidad térmica y química para separaciones a temperaturas altas y valores de pH extremos.
- ▶ Tamaños de poro de 100 a 4000 Å que proporcionan separaciones de alta eficacia en toda la gama de tamaños de proteínas y péptidos.

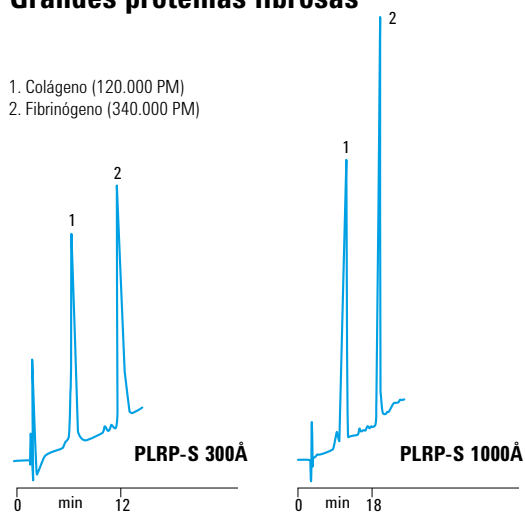
Las partículas PLRP-S son inherentemente hidrofóbicas, por lo que no se necesita fase ligada ni ligando de alquilo. Esto garantiza un material altamente reproducible que está exento de silanoles e iones metálicos pesados.

Además, PLRP-S proporciona escalabilidad desde separaciones analíticas hasta purificación, columnas preparativas y medios a granel.

Al purificar proteínas, puede que sea necesario esterilizar la columna con el material PLRP-S. Se pueden utilizar detergentes muy agresivos, como 1 M NaOH, como se demuestra en la **Figura 21**. El medio puede limpiarse en una columna empaquetada (CIP) o a granel, utilizando una serie de agentes de solubilización como el hidróxido sódico, para garantizar una vida útil insuperable de la columna/ medio.

Grandes proteínas fibrosas

1. Colágeno (120.000 PM)
2. Fibrinógeno (340.000 PM)



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

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

Fase móvil: A: 0,25 % TFA en agua
B: 0,25 % TFA en 5 % de agua:
95 % ACN

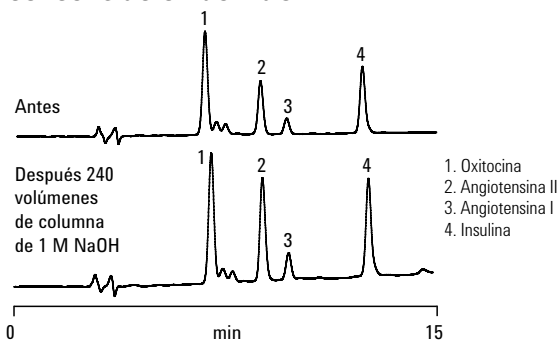
Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Gradiente: 20-60 % B en 15 min

Detector: UV, 220 nm

Figura 20. Los materiales Agilent PLRP-S 300Å y PLRP-S 1000Å separan grandes proteínas fibrosas, como se muestra aquí. Sin embargo, la forma de pico mejorada y la altura de pico aumentada se obtuvieron con la columna PLRP-S 1000Å de poro más grande.

Explotación de la estabilidad química: concentración de NaOH



Columna: **PLRP-S 300Å**
4,6 x 250 mm, 10-15 µm

Fase móvil: A: 0,1 % TFA en agua
B: 0,1 % TFA en ACN

Gradiente: 20-50 % B en 15 minutos

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Detector: UV 220 nm

Figura 21. El medio Agilent PLRP-S es químicamente resistente y puede soportar protocolos de limpieza/esterilización muy agresivos para proporcionar tiempos de vida útil de la columna/ medio inigualables.



INSTRUMENTOS PARA IDENTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS Y DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE IMPUREZAS



Uso para identificación de proteínas: usar con Poroshell 300 para obtener los mejores resultados

Sistema LC cuaternario bioinerte Agilent 1260 Infinity: la mejor elección para separaciones de proteínas

El único UHPLC que proporciona una ruta de paso de muestras exenta de metal. Otras ventajas:

- ▶ 100 % bioinerte
 - Sin acero inoxidable: la muestra no toca las superficies metálicas.
 - pH 1 a pH 13 (pH 14 durante breve tiempo).
 - Maneja 2 M de sal y 8 M de urea.
 - Nueva tecnología capilar.
- ▶ Características de UHPLC: 600 bares
- ▶ Robusto y fácil de usar con baja actividad de superficie, resistencia a la corrosión, lavado activo de sellos y mezcla de tampón cuaternaria.



Uso para la determinación del perfil de impurezas, mapeo de péptidos o gradientes ultrarrápidos: usar con ZORBAX RRHD 300Å 1,8 µm para obtener los mejores resultados

Sistema LC binario Agilent 1290 Infinity: el sistema UHPLC más adaptativo con la gama de aplicaciones más amplia

Rendimiento líder en su clase en términos de resolución por tiempo, dispersión, sensibilidad y precisión en LC/UV y LC/MS. Combina una innovadora amortiguación activa, mezcla microfluidica y tecnología de detección de guía de ondas optofluídica:

- ▶ Rango de potencia de UHPLC con hasta 1200 bares y 5 ml/min.
- ▶ La transferencia de métodos más rápida y sencilla empleando ISET, la tecnología inteligente de simulación de sistemas de Agilent.
- ▶ Productividad de UHPLC, coste de explotación similar a HPLC.



Uso adecuado para cualquier tipo de aplicación UHPLC estándar

Sistema LC binario Agilent 1260 Infinity: mejora del HPLC analítico con el detector de alta velocidad de 80 Hz, 600 bares y una sensibilidad hasta 10 veces superior

100 % compatible con HPLC, características de UHPLC:

- ▶ Rendimiento de UHPLC, coste de utilización similar a HPLC.
- ▶ Admite aplicaciones LC y LC/MS, con cualquier columna analítica de diámetro estrecho y estándar (DI de 2,1 a 4,6 mm).
- ▶ Precisión de gradiente superior mediante mezcla en alta presión.



Uso adecuado para desarrollo de métodos o sistemas automatizados con una mezcla de tampón precisa

Sistema LC cuaternario Agilent 1290 Infinity: combinación de rendimiento y flexibilidad

El único sistema UHPLC cuaternario con niveles de precisión similares a los de sistemas binarios. Las otras ventajas incluyen:

- ▶ Rango de potencia de UHPLC con hasta 1200 bares y 5 ml/min.
- ▶ BlendAssist, la herramienta más sencilla para una combinación precisa de tampón y aditivo
- ▶ Productividad de UHPLC, coste de explotación similar a HPLC.

Para obtener más información sobre la realización de separaciones de proteínas de alta resolución con las columnas de fase reversa Agilent, visite agilent.com/chem/AdvanceBio

Especificaciones e información para pedidos

Columnas AdvanceBio RP-mAb

Fase ligada	Tamaño de poro	Límites de temp.	Rango de pH	Desactivado
C4	450 Å	90 °C	1,0 a 8,0	Si
SB-C8	450 Å	90 °C	1,0 a 8,0	No
Difenil	450 Å	90 °C	1,0 a 8,0	Si

Parte de la
Familia
AdvanceBio

Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Referencia
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
Difenil	2,1 x 50	3,5	799775-944
Difenil	2,1 x 75	3,5	797775-944
Difenil	2,1 x 100	3,5	795775-944
Difenil	2,1 x 150	3,5	793775-944
Difenil	4,6 x 50	3,5	799975-944
Difenil	4,6 x 100	3,5	795975-944
Difenil	4,6 x 150	3,5	793975-944

Columnas Poroshell 300 para análisis de proteínas

Fase ligada	Tamaño de poro	Límites de temp.	Rango de pH	Desactivado
300SB-C18, C8, C3	300 Å	90 °C	1,0 a 8,0	No
300Extend-C18	300 Å	40 °C por encima de un pH de 8, 60 °C por debajo de pH 8	2,0 a 11,0	Si

Parte de la
Familia
AdvanceBio

Descripción	Tamaño (mm)	300SB-C18 USP L1	300SB-C8 USP L7	300SB-C3	300Extend-C18 USP L1
Capilar	0,5 x 75		5065-4468		
Capilar	0,5 x 75		5065-4468		
Microbore	1,0 x 75	661750-902	661750-906	661750-909	971750-902
Columna de diámetro estrecho	2,1 x 75	660750-902	660750-906	660750-909	970750-902
Precolumna, 4/paq.	2,1 x 12,5	821075-920	821075-918	821075-924	
Kit de piezas de la precolumna		820888-901	820888-901	820888-901	
Precolumna MicroBore, 3/paq.	1,0 x 17	5185-5968	5185-5968	5185-5968	5185-5968

Columnas ZORBAX 300Å para separaciones de proteínas HPLC y UHPLC

Fase ligada	Tamaño de poro	Límites de temp.	Rango de pH	Desactivado
300SB-C18	300 Å	90 °C	1,0 a 8,0	No
300SB-C8	300 Å	80 °C	1,0 a 8,0	No
300SB-C3	300 Å	80 °C	1,0 a 8,0	No
300SB-CN	300 Å	80 °C	1,0 a 8,0	No
300Extend-C18	300 Å	60 °C	2,0 a 11,5	Doble
300-Difenil	300 Å	80 °C	1,0 a 8,0	Sí

Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	300SB-C18 USP L1	300SB-C8 USP L7	300SB-CN USP L10	300SB-C3 USP L56	300Extend-C18 USP L1	300-Difenil 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				
Columna de diámetro estrecho	2,1 x 250	5	881750-902					
Columna de diámetro estrecho	2,1 x 150	5	883750-902	883750-906	883750-905	883750-909		
Columna de diámetro estrecho	2,1 x 100	1,8	858750-902	858750-906		858750-909	858750-944	
Columna de diámetro estrecho	2,1 x 50	1,8	857750-902	857750-906		857750-909	857750-944	
Columna de diámetro estrecho RR	2,1 x 150	3,5		863750-906			763750-902	
Columna de diámetro estrecho RR	2,1 x 100	3,5	861775-902	861775-906			761775-902	
Columna de diámetro estrecho RR	2,1 x 50	3,5	865750-902	865750-906			765750-902	
Disolvente Saver Plus	3,0 x 150	3,5	863974-302	863974-306		863974-309		
Disolvente Saver Plus	3,0 x 100	3,5		861973-306				
Analítica	4,6 x 250	5	880995-902	880995-906	880995-905	880995-909	770995-902	
Analítica	4,6 x 150	5	883995-902	883995-906	883995-905	883995-909	773995-902	
Analítica	4,6 x 50	5	860950-902	860950-906	860950-905	860950-909		
Resolución rápida	4,6 x 150	3,5	863973-902	863973-906	863973-905	863973-909	763973-902	
Resolución rápida	4,6 x 100	3,5	861973-902	861973-906			761973-902	
Resolución rápida	4,6 x 50	3,5	865973-902	865973-906	865973-905	865973-909	765973-902	
Semipreparativa	9,4 x 250	5	880995-202	880995-206	880995-205	880995-209		
Precolumna MicroBore, 3/paq.	1,0 x 17	5	5185-5920	5185-5920				
Precolumna, 4/paq.	4,6 x 12,5	5	820950-921	820950-918	820950-923	820950-924	820950-932	
Precolumna, 4/paq.	2,1 x 12,5	5	821125-918	821125-918	821125-924	821125-924	821125-932	
Cartucho PrepHT	21,2 x 250	7	897250-102	897250-106	897250-105	897250-109		
Cartucho PrepHT	21,2 x 150	7	897150-102	897150-106		897150-109		
Cartucho PrepHT	21,2 x 150	5	895150-902	895150-906		895150-909		
Cartucho PrepHT	21,2 x 100	5	895100-902	895100-906		895100-909		
Cartucho PrepHT	21,2 x 50	5	895050-902	895050-906		895050-909		
Terminales de conexión PrepHT, 2/paq.			820400-901	820400-901	820400-901	820400-901		
Precolumna PrepHT, 2/paq.	17 x 7,5	5	820212-921	820212-918	820212-924	820212-924		
Piezas de precolumna			820444-901	820444-901	820444-901	820444-901		

Parte de la
Familia
AdvanceBio

Para obtener más información sobre la realización de separaciones de proteínas de alta resolución con las columnas de fase reversa Agilent, visite agilent.com/chem/AdvanceBio

Columnas PLRP-S HPLC para el rango de pH más amplio

Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	PLRP-S 100Å USP L21	PLRP-S 300Å USP L21	PLRP-S 1000Å USP L21	PLRP-S 4000Å 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			
Analítica	4,6 x 50	8		PL1512-1801	PL1512-1802	PL1512-1803
Analítica	4,6 x 250	5	PL1512-5500	PL1512-5501		
Analítica	4,6 x 150	5	PL1111-3500	PL1512-3501		
Analítica	4,6 x 50	5	PL1512-1500	PL1512-1501	PL1512-1502	PL1512-1503
Analítica	4,6 x 150	3	PL1512-3300	PL1512-3301		
Analítica	4,6 x 50	3	PL1512-1300	PL1512-1301		
Analítica	2,1 x 250	8		PL1912-5801		
Analítica	2,1 x 150	8		PL1912-3801	PL1912-3802	PL1912-3803
Analítica	2,1 x 50	8		PL1912-1801	PL1912-1802	PL1912-1803
Analítica	2,1 x 250	5	PL1912-5500	PL1912-5501		
Analítica	2,1 x 150	5	PL1912-3500	PL1912-3501		
Analítica	2,1 x 50	5	PL1912-1500	PL1912-1501	PL1912-1502	PL1912-1503
Analítica	2,1 x 150	3	PL1912-3300	PL1912-3301		
Analítica	2,1 x 50	3	PL1912-1300	PL1912-1301		
Desarrollo de métodos	4,6 x 250	30		PL1512-5702	PL1512-5703	821125-918
Desarrollo de métodos	4,6 x 250	15-20	PL1512-5200	PL1512-5201		
Desarrollo de métodos	4,6 x 250	10-15	PL1512-5400	PL1512-5401		
Desarrollo de métodos	4,6 x 250	10	PL1512-5100	PL1512-5101	PL1512-5102	PL1512-5103
Desarrollo de métodos	4,6 x 250	8	PL1512-5800	PL1512-5801	PL1512-5802	
Desarrollo de métodos	4,6 x 150	30			PL1512-3702	PL1512-3703
Desarrollo de métodos	4,6 x 150	15-20	PL1512-3200	PL1512-3201		
Desarrollo de métodos	4,6 x 150	10-15		PL1512-3401		
Desarrollo de métodos	4,6 x 150	10	PL1512-3100	PL1512-3101	PL1512-3102	PL1512-3103
Desarrollo de métodos	4,6 x 150	8	PL1512-3800	PL1512-3801	PL1512-3802	PL1512-3803
Preparativa a proceso	100 x 300	30			PL1812-3102	PL1812-3103
Preparativa a proceso	100 x 300	15-20	PL1812-6200	PL1812-6201	880995-902	880995-906
Preparativa a proceso	100 x 300	10-15	PL1812-6400	PL1812-6401	883995-902	883995-906
Preparativa a proceso	100 x 300	10	PL1812-6100	PL1812-6101	860950-902	860950-906
Preparativa a proceso	100 x 300	8	PL1812-6800	PL1812-6801	863973-902	863973-906
Preparativa a proceso	50 x 300	8	PL1712-6800	PL1712-6801	861973-902	861973-906
Preparativa a proceso	50 x 150	30			PL1712-3702	PL1712-3703
Preparativa a proceso	50 x 150	15-20	PL1712-3200	PL1712-3201	863974-302	863974-306
Preparativa a proceso	50 x 150	10-15	PL1712-3400	PL1712-3401		861973-306
Preparativa a proceso	50 x 150	10	PL1712-3100	PL1712-3101	PL1712-3102	PL1712-3103
Preparativa a proceso	50 x 150	8	PL1712-3800	PL1712-3801	883750-902	883750-906
Preparativa a proceso	25 x 300	15-20	PL1212-6200	PL1212-6201		863750-906
Preparativa a proceso	25 x 300	10-15	PL1212-6400	PL1212-6401	861775-902	861775-906
Preparativa a proceso	25 x 300	10	PL1212-6100	PL1212-6101	865750-902	865750-906
Preparativa a proceso	25 x 300	8	PL1212-6800	PL1212-6801	861630-902	
Preparativa a proceso	25 x 150	30			PL1212-3702	PL1212-3703
Preparativa a proceso	25 x 150	10	PL1212-3100	PL1212-3101	PL1712-3102	PL1712-3103
Preparativa a proceso	25 x 150	8	PL1212-3800	PL1212-3801	5185-5920	5185-5920
Preparativa a proceso	25 x 50	10			PL1212-1102	PL1212-1103
Precolumnas PLRP-S	para 5 x 3 mm, 2/paq.		PL1612-1801	PL1612-1801	PL1612-1801	PL1612-1801
Soporte para precolumna	para cartuchos de 3,0 x 5,0 mm		PL1310-0016	PL1310-0016	PL1310-0016	PL1310-0016

PLRP-S HPLC a granel

Tamaño de partícula (µm)	Unidad	PLRP-S 100Å USP L21	PLRP-S 300Å USP L21	PLRP-S 1000Å USP L21	PLRP-S 4000Å 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		

Para cantidades mayores, póngase en contacto con su oficina de ventas local de Agilent.

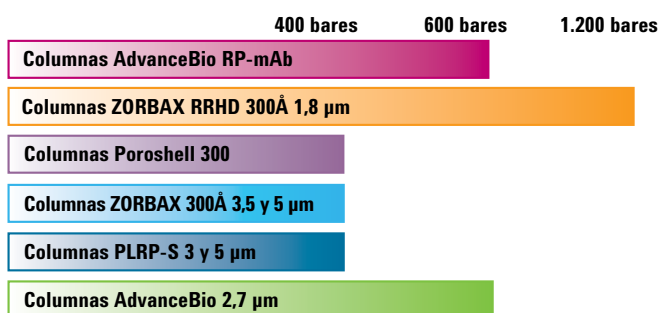
Columnas de mapeo de péptidos AdvanceBio

Descripción	Referencia
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
Precolumna rápida de 4,6 mm*	850750-911
Precolumna rápida de 3,0 mm*	853750-911
Precolumna rápida de 2,1 mm*	851725-911



*Las precolumnas rápidas prolongan la vida útil de las columnas sin retardar la separación ni afectar a la resolución.

Presión operativa máxima



Columnas Agilent AdvanceBio:

Para análisis biofarmacéuticos más rápidos y uniformes

Agilent AdvanceBio es una gama de biocolumnas de última generación que se han diseñado para proporcionar un rendimiento excepcional y uniforme para la separación y caracterización de péptidos y proteínas. Los preceptos científicos sobre los que se asientan las columnas AdvanceBio ayudan a aumentar la precisión, conseguir mayor productividad y eliminar las interferencias que pueden impedir progresar. Las columnas AdvanceBio se han sometido a pruebas exhaustivas en las instalaciones de Agilent para garantizar resultados excelentes. Estas columnas están respaldadas por la garantía de completa satisfacción de 60 días exclusiva de Agilent.



Para obtener más información sobre la realización de separaciones de proteínas de alta resolución con las columnas de fase reversa Agilent, visite agilent.com/chem/AdvanceBio

Biocolumnas Agilent:

Resultados en los que puede confiar para BioHPLC de fase reversa rápida y precisa

- **Calidad superior y mayor flexibilidad** para análisis de biomoléculas de fase reversa
- **LC rápida de vanguardia** con avances tales como las columnas AdvanceBio RP-mAb, basadas en la tecnología Poroshell, que permiten realizar análisis más rápidos y ofrecen una alta resolución en cualquier HPLC o UHPLC
- **Perfeccionamiento del método UHPLC** con columnas ZORBAX RRHD 1,8 μm (estables a 1200 bares).
- **Rendimiento, reproducibilidad y valor añadido** demostrados en millones de inyecciones
- **Análisis biofarmacéuticos rápidos y uniformes:** las columnas de mapeo de péptidos AdvanceBio BioHPLC le permiten resolver e identificar rápidamente las modificaciones de aminoácidos en estructuras primarias.

- **Rendimiento excepcional de forma de pico** mediante tecnologías innovadoras de sílice y enlace, que se combinan para ofrecer precisión en la confirmación de la identidad de proteínas y análisis de impurezas
- **Amplio rango de selectividades** para proporcionar alta resolución y recuperación para péptidos y proteínas

También tiene acceso a la extensa biblioteca de aplicaciones de Agilent para conseguir un desarrollo de métodos más rápido, además de asistencia técnica en todo el mundo, resolución rápida de problemas y nuestra infraestructura y red de suministros mundial.

Más información

Para obtener más información sobre las columnas de fase reversa de Agilent, visite agilent.com/chem/AdvanceBio

Encuentre un centro de atención al cliente de Agilent en su país:

agilent.com/chem/contactus

Estados Unidos y Canadá:

1-800-227-9770

agilent_inquiries@agilent.com

Europa:

info_agilent@agilent.com

Asia Pacífico:

inquiry_lsca@agilent.com

Esta información está sujeta a cambios sin previo aviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2014.
Impreso en los Estados Unidos, 19 de noviembre de 2014.
5991-0625ES

Piezas de columna de carga y sellado para purificación

Agilent ofrece estaciones de empaquetado y piezas de carga y sellado para columnas preparativas y de proceso para purificación a partir de cantidades de varios gramos a kilogramos de producto. El medio PLRP-S está disponible en lotes de tamaños más grandes para empaquetar estas columnas.



¿Necesita preparación de muestras para sus análisis de proteínas?

Los filtros de unión de bajo nivel de proteínas de Agilent son la mejor elección para la filtración de muestras relacionadas con péptidos/proteínas, con un consistente nivel bajo de unión de proteínas durante la filtración.



Agilent Technologies