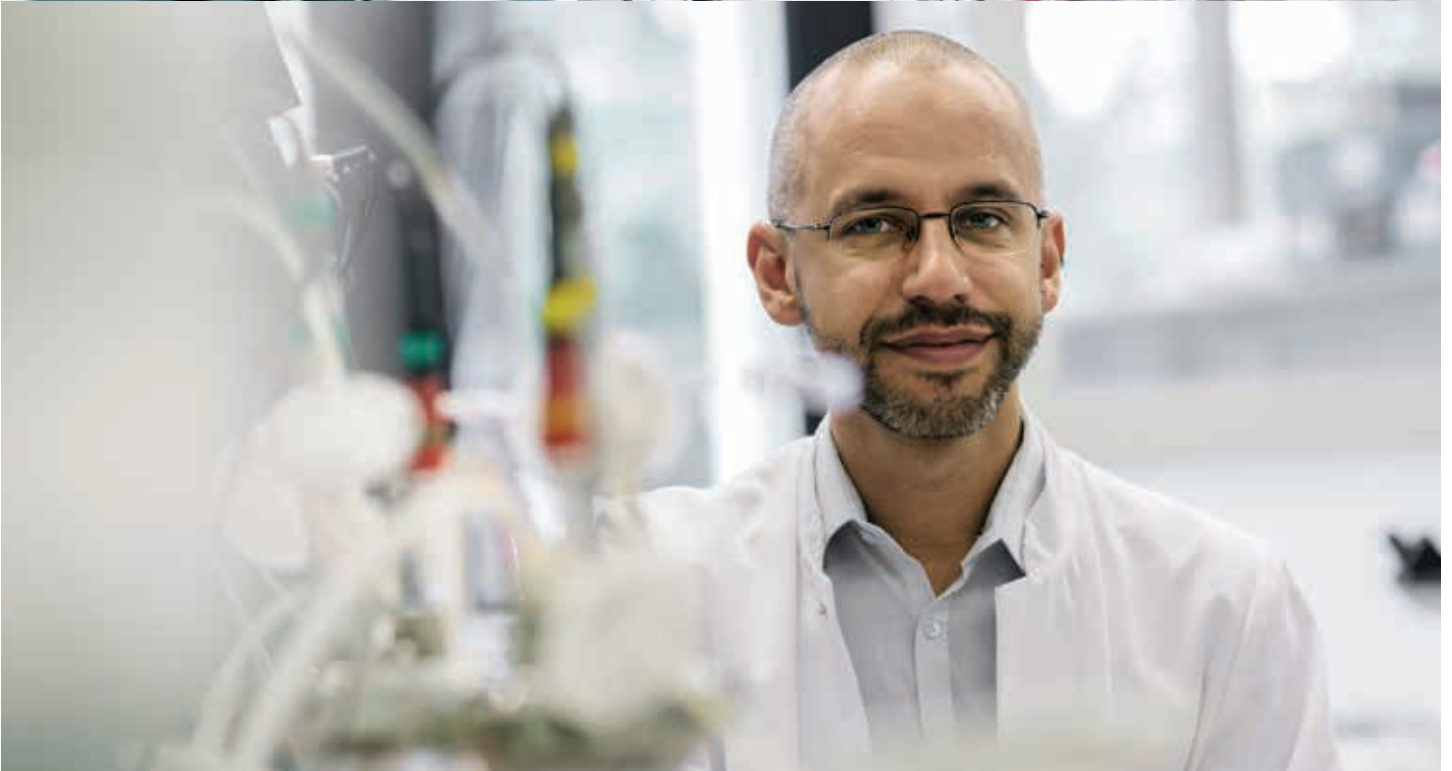


# Procédures de travail Agilent AdvanceBio pour l'analyse de milieux de culture épuisés





# Analysez vos milieux de culture cellulaire de bioréacteur rapidement et de manière reproductible

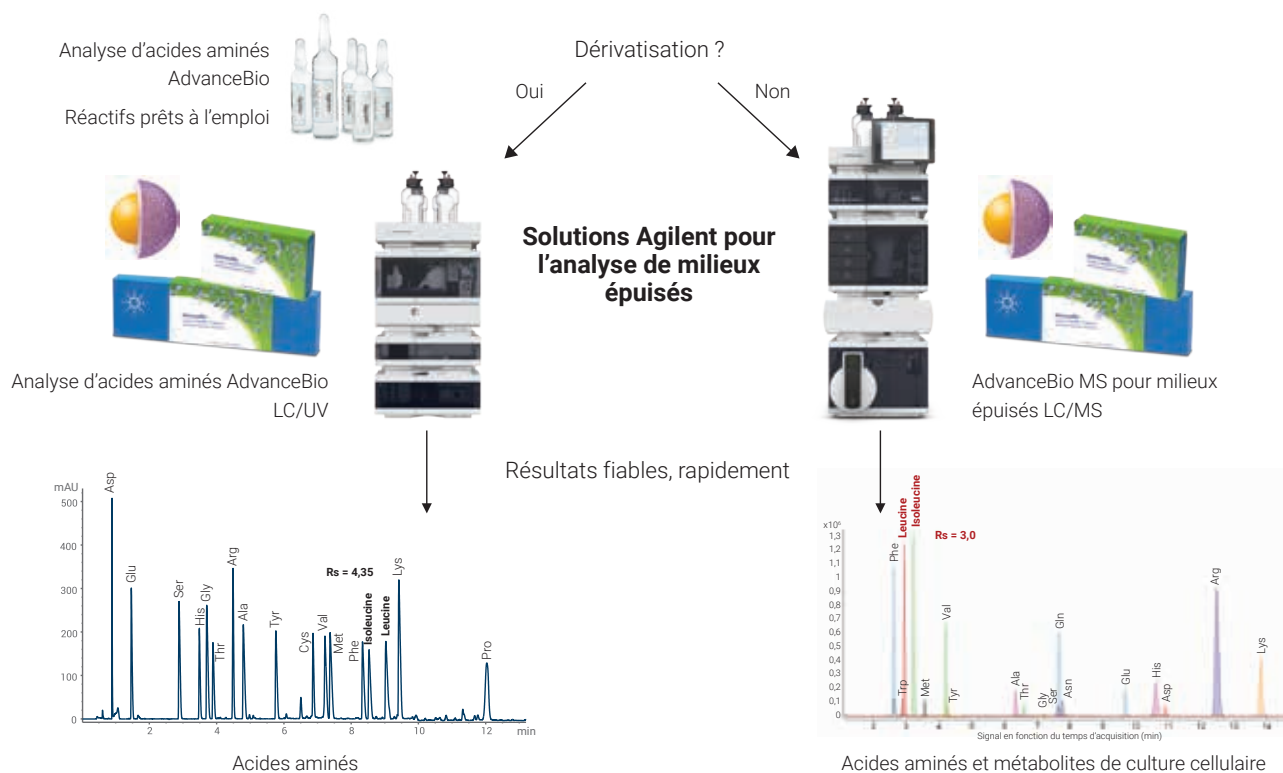
Les colonnes AdvanceBio d'Agilent facilitent l'analyse des acides aminés et d'autres petits métabolites dans le milieu de culture cellulaire épuisé, avec ou sans dérivation des échantillons, par votre laboratoire de biotechnologie. Les colonnes, aussi bien pour échantillons dérivés que non dérivés, sont testées à l'aide d'acides aminés pour garantir leur qualité et leurs performances. Il vous suffit de choisir la procédure de travail adaptée à vos besoins.

## Choisissez le kit d'analyse d'acides aminés Agilent AdvanceBio pour l'analyse standard en LC-UV

- Dérivation en ligne automatisée des acides aminés avec séparation LC en phase inverse et détection UV.
- Compatible avec tout système LC Agilent.
- Investissement minimal en termes d'instruments et d'expertise.

## Choisissez les colonnes Agilent AdvanceBio MS pour milieu épuisé pour une analyse rapide et non dérivée par LC/MS

- Analyse d'acides aminés et d'autres métabolites de culture cellulaire avec une seule méthode : séparation HILIC avec détection MS.
- Aucune dérivation de l'échantillon nécessaire.
- Compatible avec tout système LC/MS.
- Résolution chromatographique de la ligne de base inutile avec la détection MS.



# Analyse d'acides aminés dérivés par LC-UV



Le kit d'analyse d'acides aminés Agilent AdvanceBio fait de la dérivation un jeu d'enfant à l'aide de réactifs conditionnés sous une seule référence et d'une dérivation automatisée dans le passeur automatique d'échantillons. Vous pourrez trouver une description complète de la méthode dans notre guide pratique sur l'analyse d'acides aminés (numéro de publication 5991-7694EN).

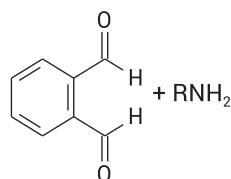
**Fiable** : Les réactions de dérivation par OPA et FMOC sont bien établies.

**Économique** : La silice modifiée chimiquement pour résister aux pH élevés rallonge la durée de vie des colonnes.

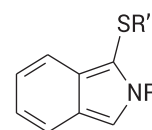
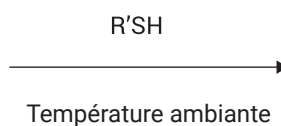
**Flexible** : Compatibilité avec les systèmes d'HPLC et d'UHPLC grâce à des particules Poroshell de 2,7 µm.

La dérivation des échantillons est entièrement automatisée dans le passeur automatique d'échantillons du système LC Agilent, ce qui permet d'économiser du temps, d'éliminer les erreurs et la variabilité associées à la préparation manuelle des échantillons.

## Orthophthalaldéhyde (OPA)

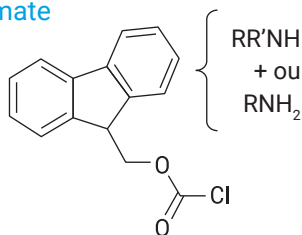


Non fluorescent  
N'absorbe pas à 338 nm

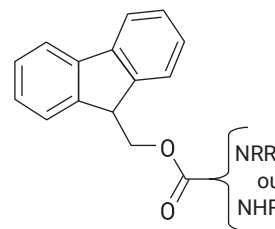
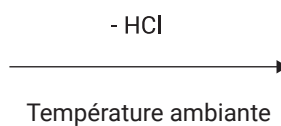


Fluorescence : Ex 340 nm, Em 450 nm  
DAD : 338, 10 nm ; Réf. 390, 20 nm

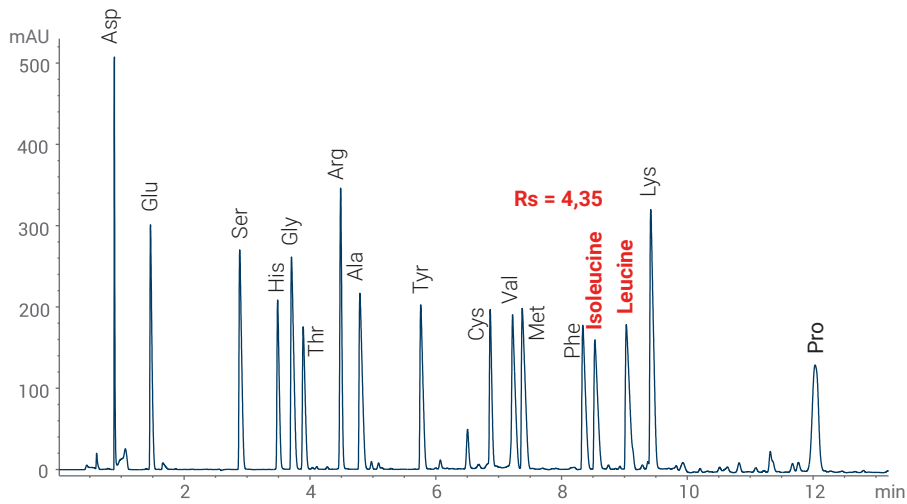
## Fluorenylméthoxy chloroformate (FMOC)



Fluorescent  
Absorbe à 262 nm et émet à  
324 nm



Fluorescence : Ex 260 nm, Em 325 nm  
DAD : 262, 16 nm ; Réf. 324, 8 nm



Chromatogramme avec détection UV des acides aminés dans un hydrolysat de protéines. La résolution entre la leucine et l'isoleucine est de 4,35, ce qui est largement conforme à la Pharmacopée européenne qui exige une résolution supérieure à 1,5. [Pharmacopée européenne 9.0 (2.2.56) Analyse d'acides aminés.]

**LC/UV**

**Colonne :** Analyse d'acides animés Agilent AdvanceBio, 4,6 x 100 mm, réf. 655950-802

**Température**

**de colonne :** 30 °C

**Phase mobile :** pH faible, détection MS en mode ions positifs :

A = Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 10 mM, Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub> 10 mM, pH 8,2

B = acétonitrile:méthanol : eau, 45 : 45 : 10 (v : v : v)

**Débit :** 1,5 mL/min

**Gradient :** Temps (min) % B

0 2

0,35 2

13,4 57

13,5 100

15,7 100

15,7 2

18 fin

**Échantillon :** Hydrolysat de protéine

**Détection :** Détecteur à barrette de diodes Agilent 1260 Infinity II WR



Échantillonneur compact  
Agilent 1260 Infinity II



Multi-échantillonneur Agilent 1290  
Infinity II

# Analyse d'acides aminés non dérivatisés et de métabolites de culture cellulaire par LC/MS



Désormais, vous pouvez analyser les acides aminés et d'autres métabolites de culture cellulaire à l'aide d'une méthode unique pour obtenir plus de données en moins de temps.

**Performance :** Les colonnes en acier inoxydable recouvertes de PEEK offrent une forme de pic excellente et permettent de récupérer des métabolites ioniques difficiles tout en résistant à des pressions allant jusqu'à 600 bars.

**Sensibilité :** Les phases mobiles compatibles avec la MS fournissent une sensibilité analytique excellente.

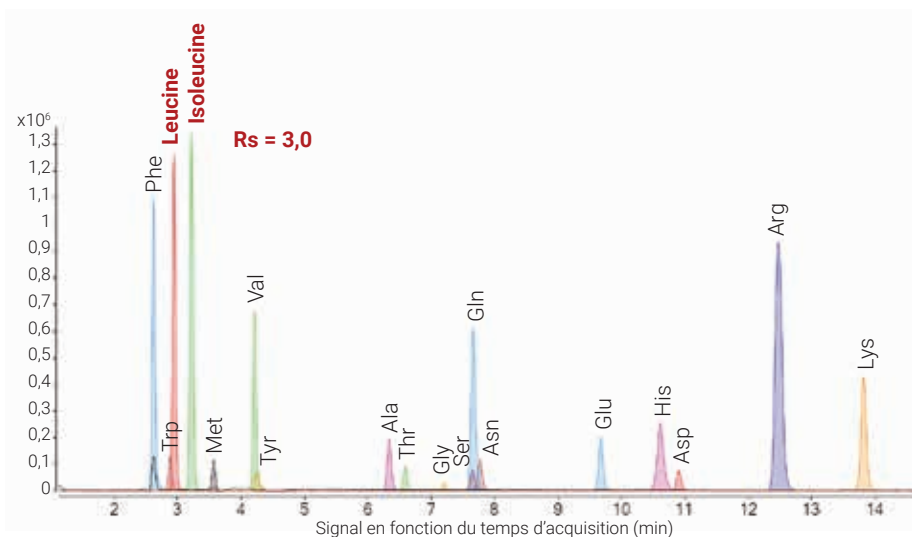
**Flexibilité :** Compatibilité avec les systèmes d'HPLC et d'UHPLC grâce à des particules Poroshell de 2,7  $\mu\text{m}$ .

Grâce aux colonnes AdvanceBio MS pour milieux épuisés, vous n'êtes plus obligé de dériver vos échantillons.

- Vitamines solubles dans l'eau
- Glucose
- Lactate
- Polyamines
- Et autres



Vous pouvez utiliser les colonnes AdvanceBio MS pour milieux épuisés avec tous les systèmes LC/MS. De gauche à droite : Système LC 1290 Infinity II avec les systèmes Q-TOF 6545XT, MSD XT et Ultivo triple quadripôle.



Chromatogrammes d'ions extraits des acides aminés dans du milieu de culture cellulaire obtenus avec un instrument à temps de vol en mode ions positifs. La résolution entre la leucine et l'isoleucine est de 3,0, ce qui est largement conforme à la Pharmacopée européenne qui exige une résolution supérieure à 1,5. [Pharmacopée européenne 9.0 (2.2.56) Analyse d'acides aminés.]

#### LC/MS

**Colonne :** AdvanceBio MS pour milieux épuisés, 2,1 x 100 mm, réf. 675775-901

#### Température

**de colonne :** 30 °C

**Phase mobile :** pH faible, détection MS en mode ions positifs :

A = 10 % de formiate d'ammonium

200 mM dans de l'eau pH 3, 90 % d'eau

B = 10 % de formiate d'ammonium

200 mM dans de l'eau pH 3, 90 %

d'acétonitrile

La concentration finale en sel est de 20 mM.

Nous conseillons de préparer les phases mobiles à partir de solutions mères concentrées de tampon pour garantir la robustesse et l'uniformité des phases mobiles.

**Débit :** 0,5 mL/min

Temps (min)	% B (pH faible, mode ions positifs)	% B (pH élevé, mode ions négatifs)
0	100	100
15	80	80
15,5	100	100
20	100	100

**Échantillon :** Milieu de culture cellulaire, dilué au 1/5 avec la phase mobile B

**Détection :** LC/MS à temps de vol Agilent 6230

## Informations pour commander

### Colonnes AdvanceBio AAA

Analyse d'acides aminés dérivés par LC/UV

Description	Référence
Analyse d'acides animés AdvanceBio 100 Å, 3,0 x 100 mm, 2,7 µm	695975-322
Analyse d'acides animés AdvanceBio 100 Å, 4,6 x 100 mm, 2,7 µm	655950-802
Analyse d'acides animés AdvanceBio 100 Å, 3,0 x 5 mm, 2,7 µm (3/paquet)	823750-946
Analyse d'acides animés AdvanceBio 100 Å, 4,6 x 5 mm, 2,7 µm (3/paquet)	820750-931

### Étalons et réactifs AdvanceBio AAA

Ensembles de réactifs et d'étalons prêts à l'emploi, combinés en une seule référence pour faciliter la commande

Description	Référence
<b>Kit d'étalons et de réactifs</b>	<b>5190-9426</b>
Contenu du kit (chaque produit peut être commandé séparément)	
Tampon, borate, 100 mL	5061-3339
Réactif FMOC, 10 ampoules de 1 mL chacune pour AAA	5061-3337
Réactif OPA, 10 mg/mL, 6 ampoules de 1 mL chacune	5061-3335
Acide dithiodipropionique (DTDPA), 5 g	5062-2479
Étalon d'AA, 1 nmol, 10/pqt	5061-3330
Étalon d'AA, 250 pmol, 10/pqt	5061-3331
Étalon d'AA, 100 pmol, 10/pqt	5061-3332
Étalon d'AA, 25 pmol, 10/pqt	5061-3333
Étalon d'AA, 10 pmol, 10/pqt	5061-3334
Complément d'acides aminés, 1 g de chaque	5062-2478

### Colonnes d'analyse de milieux épuisés AdvanceBio MS

Analyse d'acides aminés et d'autres métabolites de culture cellulaire non dérivés par LC/MS

Description	Référence
AdvanceBio MS pour milieux épuisés 120 Å, 2,1 x 50 mm, 2,7 µm	679775-901
AdvanceBio MS pour milieux épuisés 120 Å, 2,1 x 100 mm, 2,7 µm	675775-901
AdvanceBio MS pour milieux épuisés 120 Å, 2,1 x 150 mm, 2,7 µm	673775-901

En savoir plus :

**[www.agilent.com/chem/advancebio](http://www.agilent.com/chem/advancebio)**

Acheter en ligne :

**[www.agilent.com/chem/store](http://www.agilent.com/chem/store)**

Pour contacter un bureau Agilent local :

**[www.agilent.com/chem/contactus](http://www.agilent.com/chem/contactus)**

France

**0810 446 446**

**[customercare\\_france@agilent.com](mailto:customercare_france@agilent.com)**

États-Unis et Canada

**[agilent\\_inquiries@agilent.com](mailto:agilent_inquiries@agilent.com)**

Europe

**[info\\_agilent@agilent.com](mailto:info_agilent@agilent.com)**

Asie et Pacifique

**[inquiry\\_lsca@agilent.com](mailto:inquiry_lsca@agilent.com)**

**Destiné à la recherche uniquement.  
Ne pas utiliser à des fins diagnostiques.**

Ces informations peuvent être modifiées sans préavis.

© Agilent Technologies, Inc. 2018  
Publié aux États-Unis, le 16 janvier 2018  
5991-8817FR

