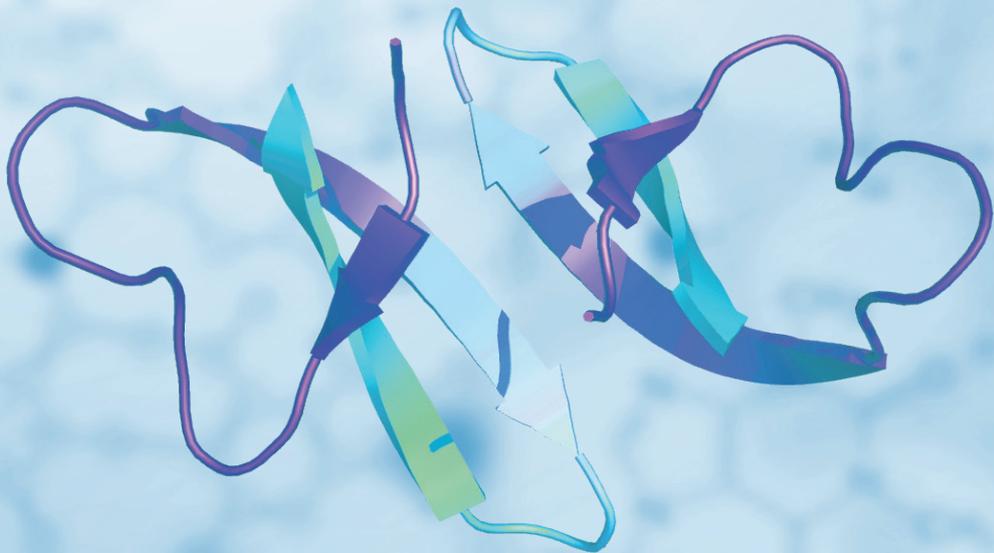


# Tipps zur Trennung von Peptiden



## Tipps zur Trennung von Peptiden

Die Trennung von sehr ähnlichen Peptiden stellt häufig eine Herausforderung an die RP-LC-Methodenentwicklung dar. In diesem Applikationsbeispiel werden die Einflüsse zweier wichtiger Methodenparameter dargestellt:

• Temperatur

• Mobile Phase

Als Beispiel dienen Defensine, welche als kleine antimikrobielle Peptide eine Rolle in der Immunabwehr von Tieren und Pflanzen spielen. Diese drei exemplarischen Defensine unterscheiden sich nur in einer Aminosäure am N-Terminus und sind sich sonst sehr ähnlich.

**$\alpha$ -Defensin-1:**

MW 3,442

**$\alpha$ -Defensin-2:**

MW 3,371

**$\alpha$ -Defensin-3:**

MW 3,486

**A CYCRIPACIAGERRYGTCTIYQGRLWAFCC**

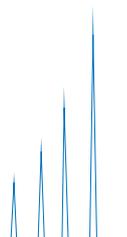
**CYCRIPACIAGERRYGTCTIYQGRLWAFCC**

**D CYCRIPACIAGERRYGTCTIYQGRLWAFCC**

Unterschied in der N-terminalen Aminosäure

Auch mit einer geeigneten UHPLC C18-Säule ist es nicht möglich diese drei Formen unter Standardbedingungen voneinander zu trennen. Es bedarf einer Methodenoptimierung.

<b>Säule</b>	YMC-Triart C18, (1,9 $\mu$ m, 12 nm) 50 x 2,0 mm ID
<b>Bestell-Nr.</b>	TA12SP9-0502PT
<b>Eluent</b>	A) Wasser / TFA (100/0,1) B) Acetonitril / TFA (100/0,1) 25-45%B (0-5 min)
<b>Flussrate</b>	0,4 mL/min
<b>Detektion</b>	220 nm
<b>Temperatur:</b>	40 °C



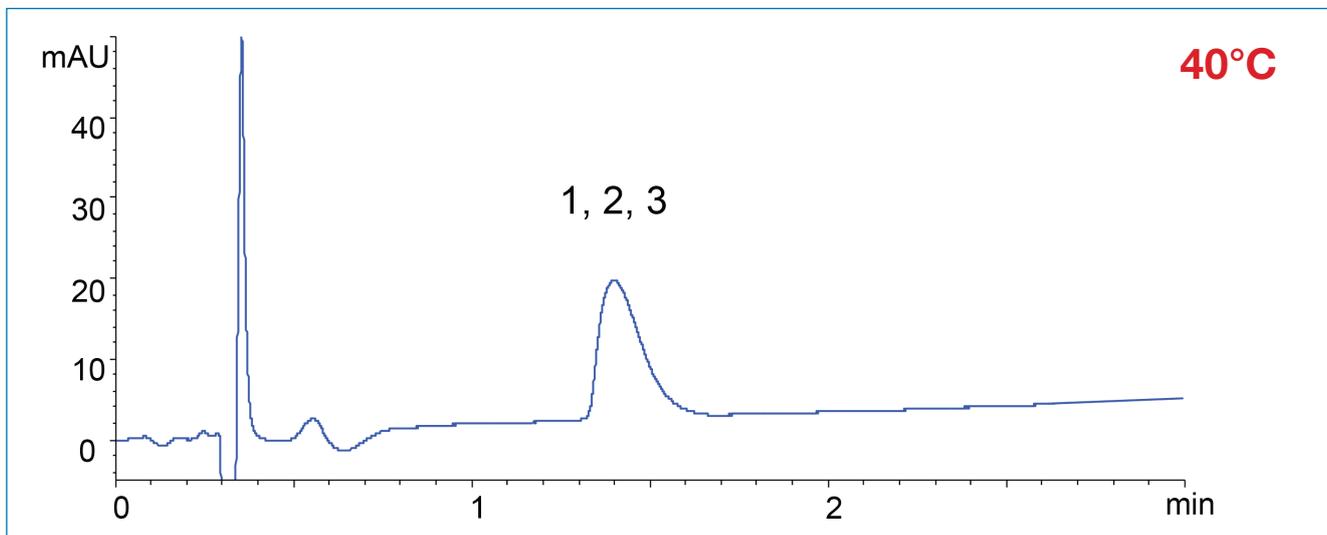


Abbildung 1: Trennung Defensine ohne Methodenoptimierung

- 1.  $\alpha$ -Defensin-1
- 2.  $\alpha$ -Defensin-2
- 3.  $\alpha$ -Defensin-3

### • Temperatur

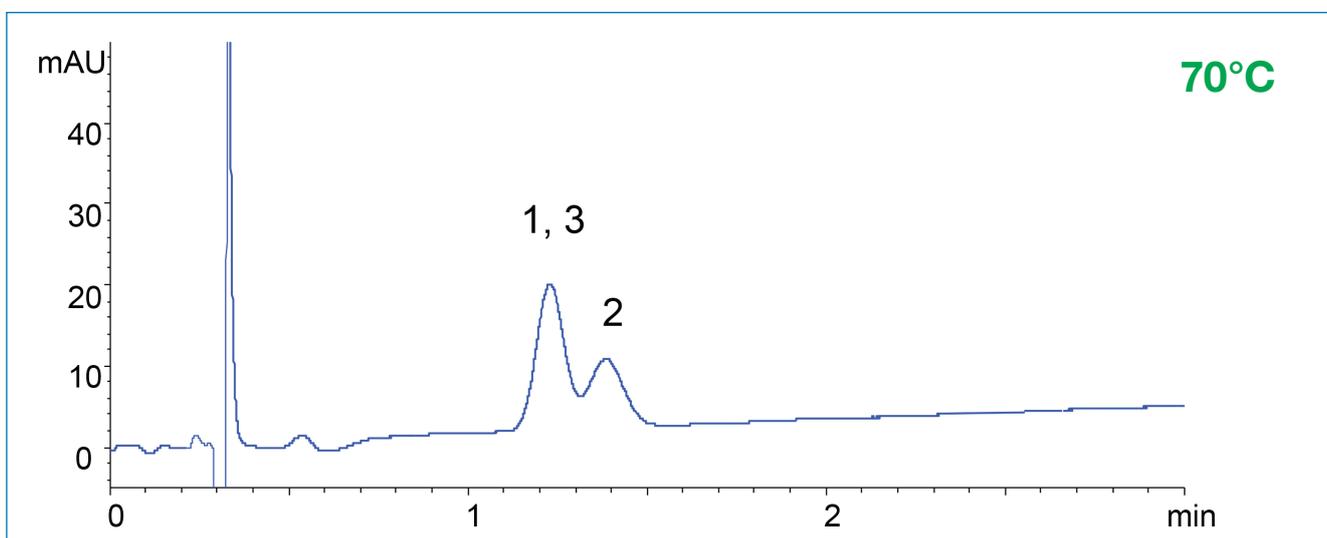
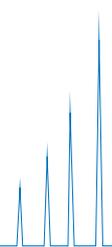


Abbildung 2: Trennung Defensine mit Temperaturoptimierung



## • Mobile Phase

Wegen der unterschiedlichen ionischen Eigenschaften von Peptiden kann die Auswahl der Säure und deren Konzentration die Trennung beeinflussen.

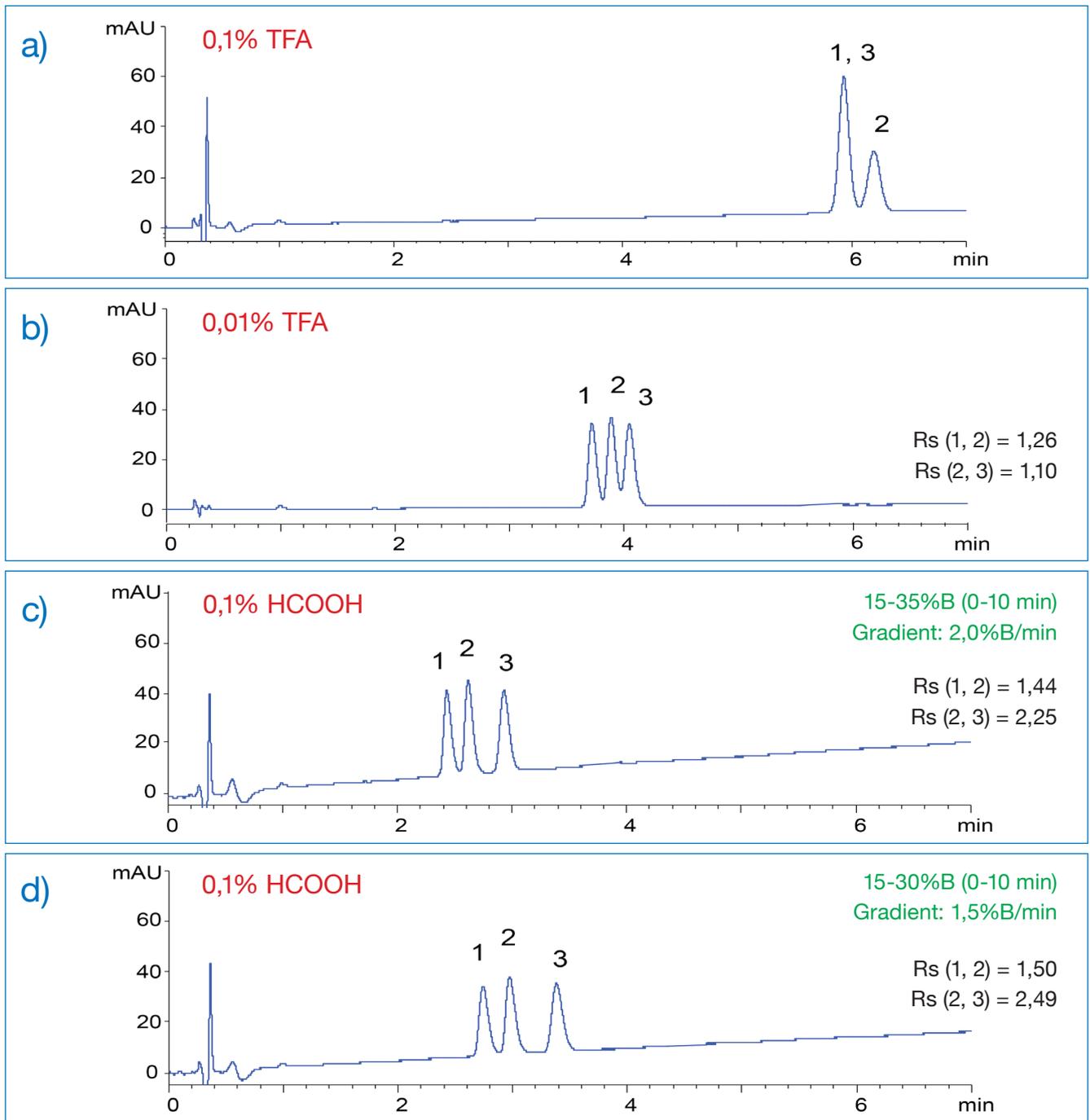


Abbildung 3: a)-d) Optimierung der mobilen Phase

1.  $\alpha$ -Defensin-1
2.  $\alpha$ -Defensin-2
3.  $\alpha$ -Defensin-3

# Tipps zur Trennung von Peptiden

Neben der Gradientenanpassung ist die Auswahl der organischen Phase eine weitere Möglichkeit zur Verbesserung der Trennung.

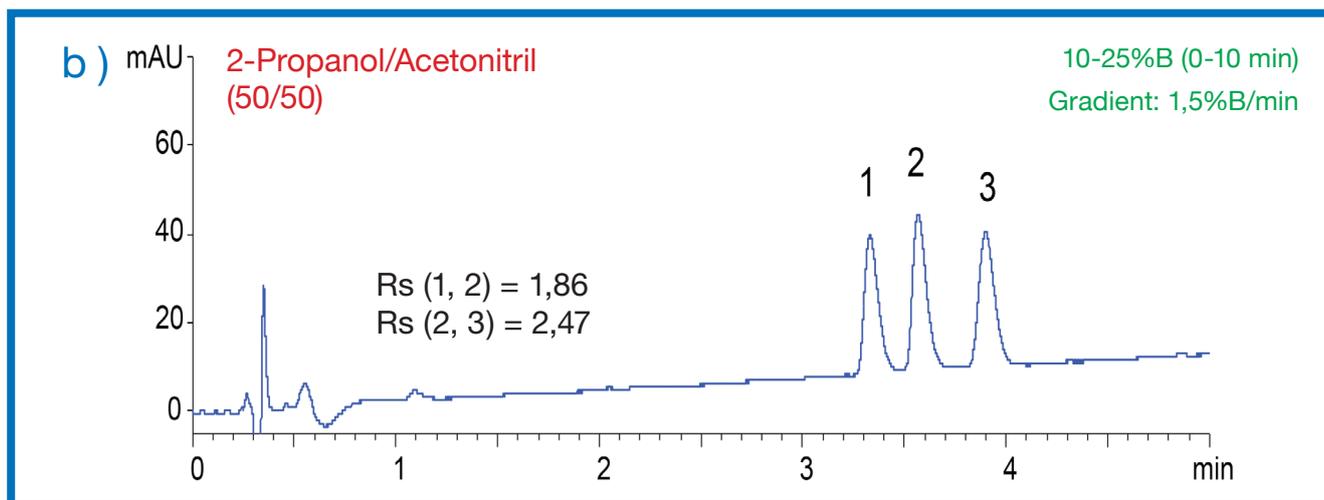
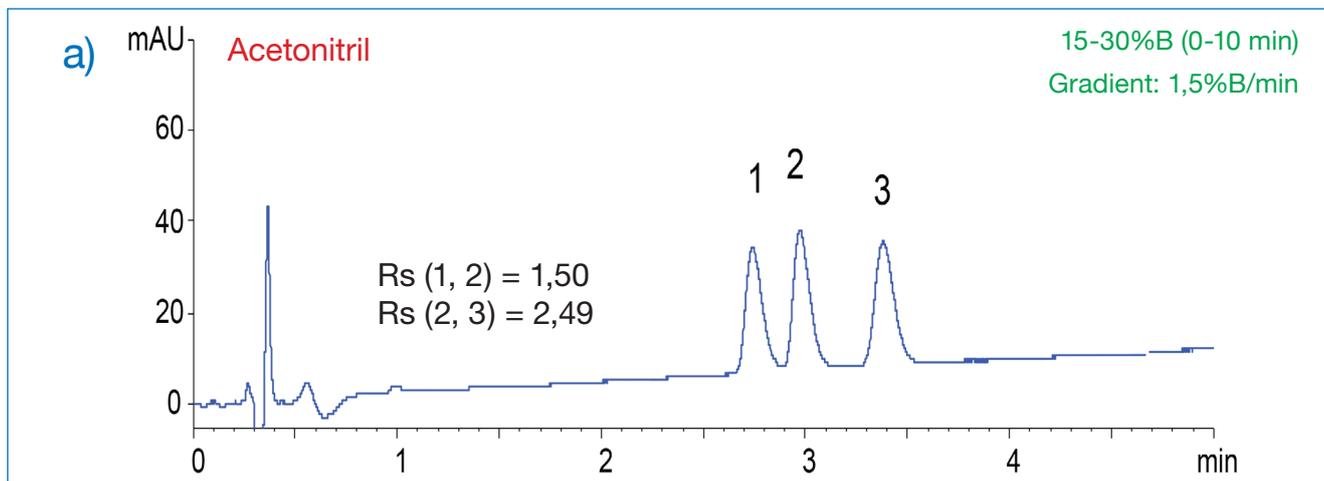
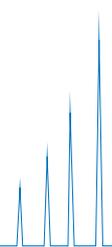
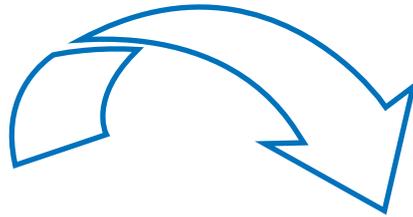


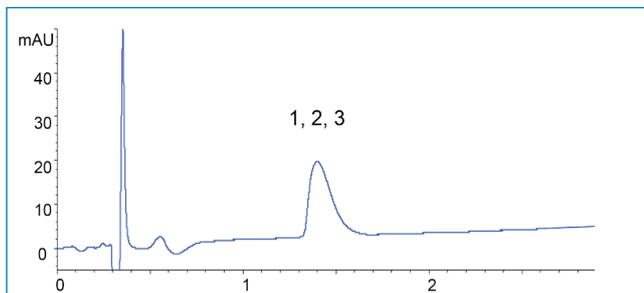
Abbildung 4: a)-b) Eluentenauswahl

1.  $\alpha$ -Defensin-1
2.  $\alpha$ -Defensin-2
3.  $\alpha$ -Defensin-3



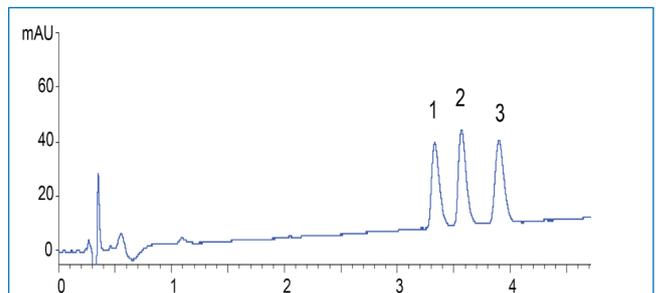


## Ausgangsmethode



Eluent: A) Wasser / TFA (100/0,1)  
 B) Acetonitril / TFA (100/0,1)  
 Flussrate: 0,4 mL/min  
 Temperatur: 40 °C  
 Detektion: 220 nm

## Optimierte Methode



Eluent: A) Wasser / Ameisensäure (100/0,1)  
 B) 2-Propanol / Acetonitril /  
 Ameisensäure (50/50/0,08)  
 Flussrate: 0,4 mL/min  
 Temperatur: 70 °C  
 Detektion: 220 nm

Dieses Beispiel zeigt, dass auch anspruchsvolle Analyten basisliniengetreunt werden. Die wichtigen Parameter, die in der Methodenentwicklung unterstützen, sind:

- **Temperatur**
- **Mobile Phase.**

Daher ist es wichtig eine Phase zu wählen, die flexibel ist. Hier in diesem Beispiel wurde ein pH- und temperaturstabilen Säulenmaterial eingesetzt:

**YMC-Triart C18** ist die ideale Phasenauswahl zur Trennung von Peptiden und gehört auch in Ihr Screening-Repertoire – nicht nur für die Peptidanalyse.

**Fragen Sie noch heute nach Ihrer YMC-Triart Testsäule!**

### Kontakt

Dr. Ute Schlund  
 Product Specialist Chromatography  
 Telefon +49 (0)2064 427-260  
 E-mail schlund@ymc.de

