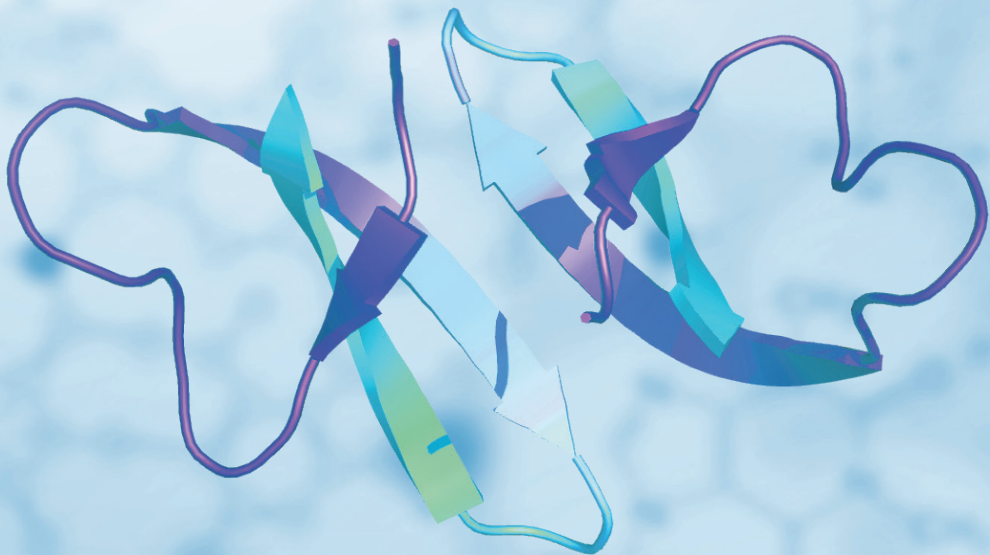


Tipps zur Trennung von Peptiden



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.

α -Defensin-1:

MW 3,442

α -Defensin-2:

MW 3,371

α -Defensin-3:

MW 3,486

A CYCRIPACIAGERRYGT**C** IYQGRLWAFCC

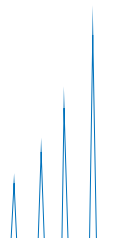
CYCRIPACIAGERRYGT**C** IYQGRLWAFCC

D CYCRIPACIAGERRYGT**C** IYQGRLWAFCC

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.

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



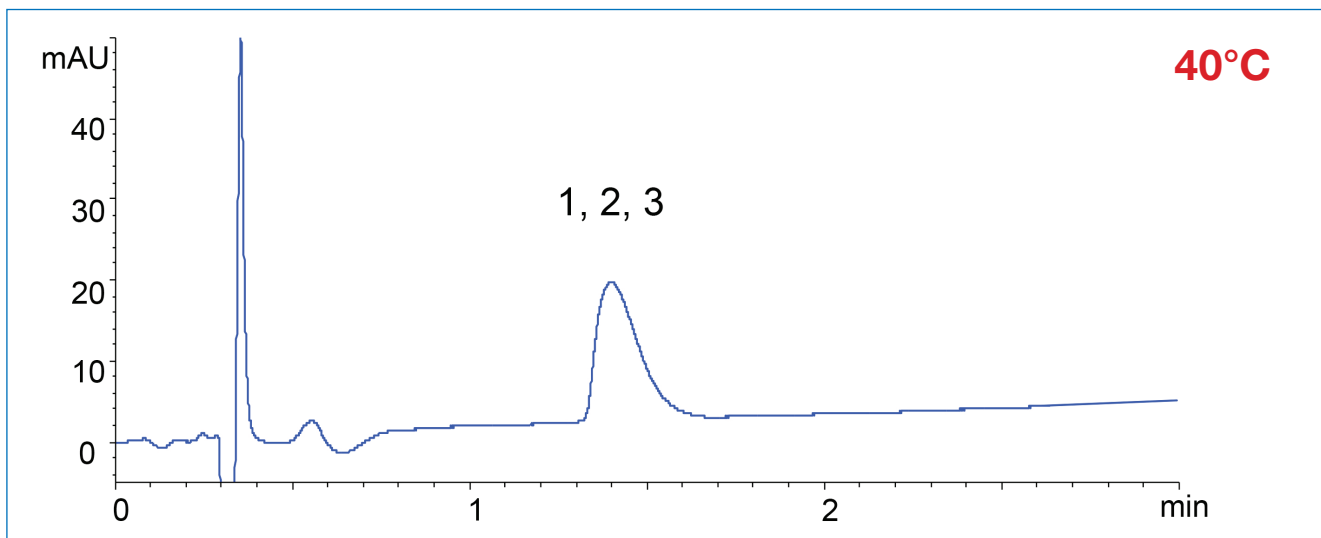


Abbildung 1: Trennung Defensine ohne Methodenoptimierung

- 1. α -Defensin-1
- 2. α -Defensin-2
- 3. α -Defensin-3

• Temperatur

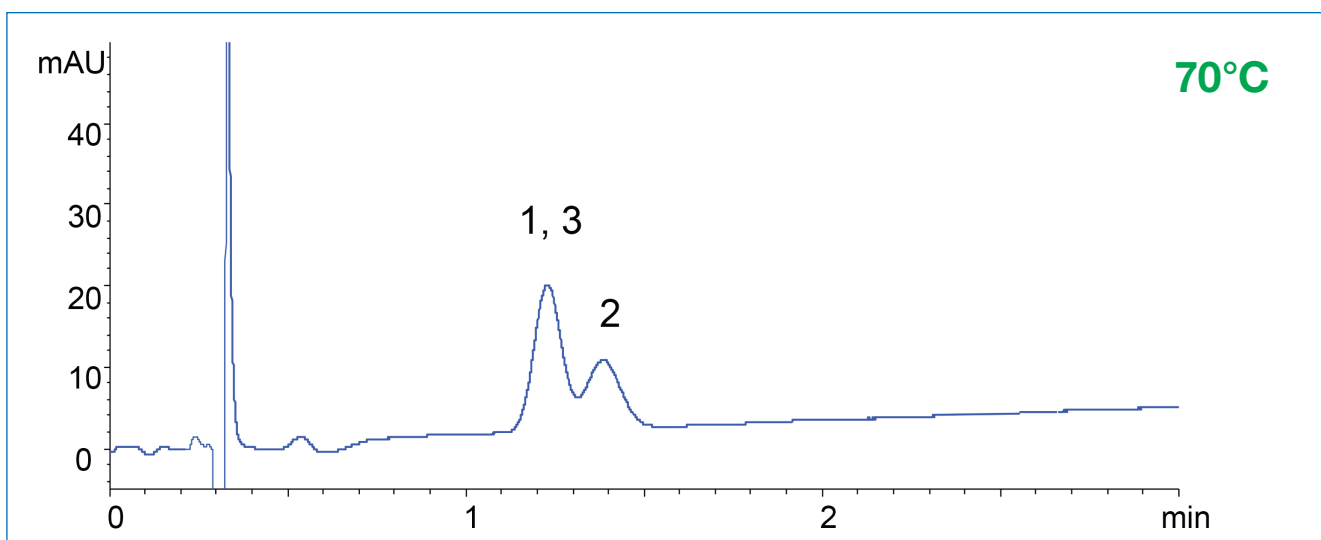
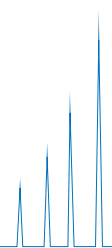


Abbildung 2: Trennung Defensine mit Temperaturoptimierung



• Mobile Phase

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

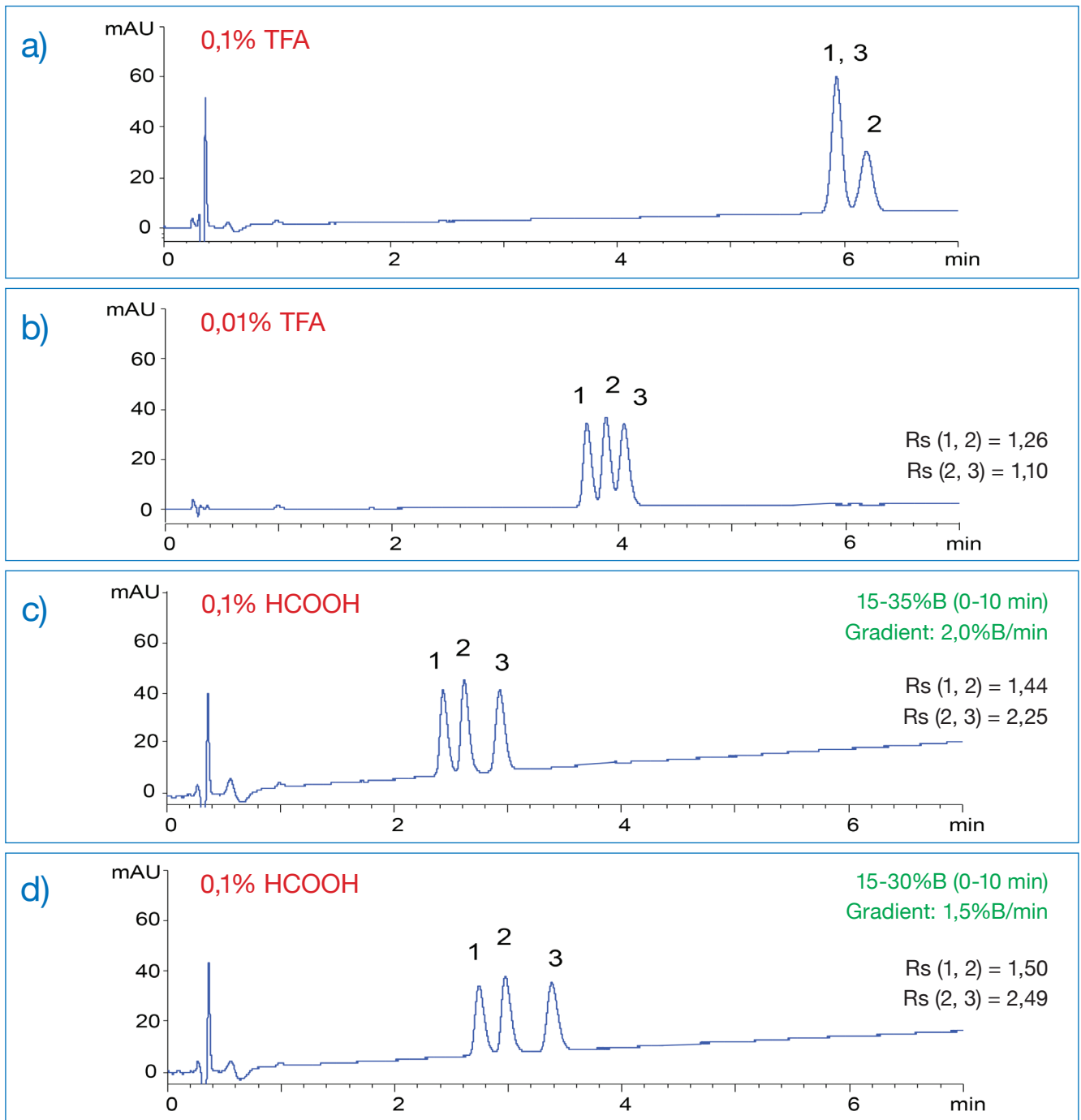


Abbildung 3: a)-d) Optimierung der mobilen Phase

1. α -Defensin-1
2. α -Defensin-2
3. α -Defensin-3

Tipps zur Trennung von Peptiden

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

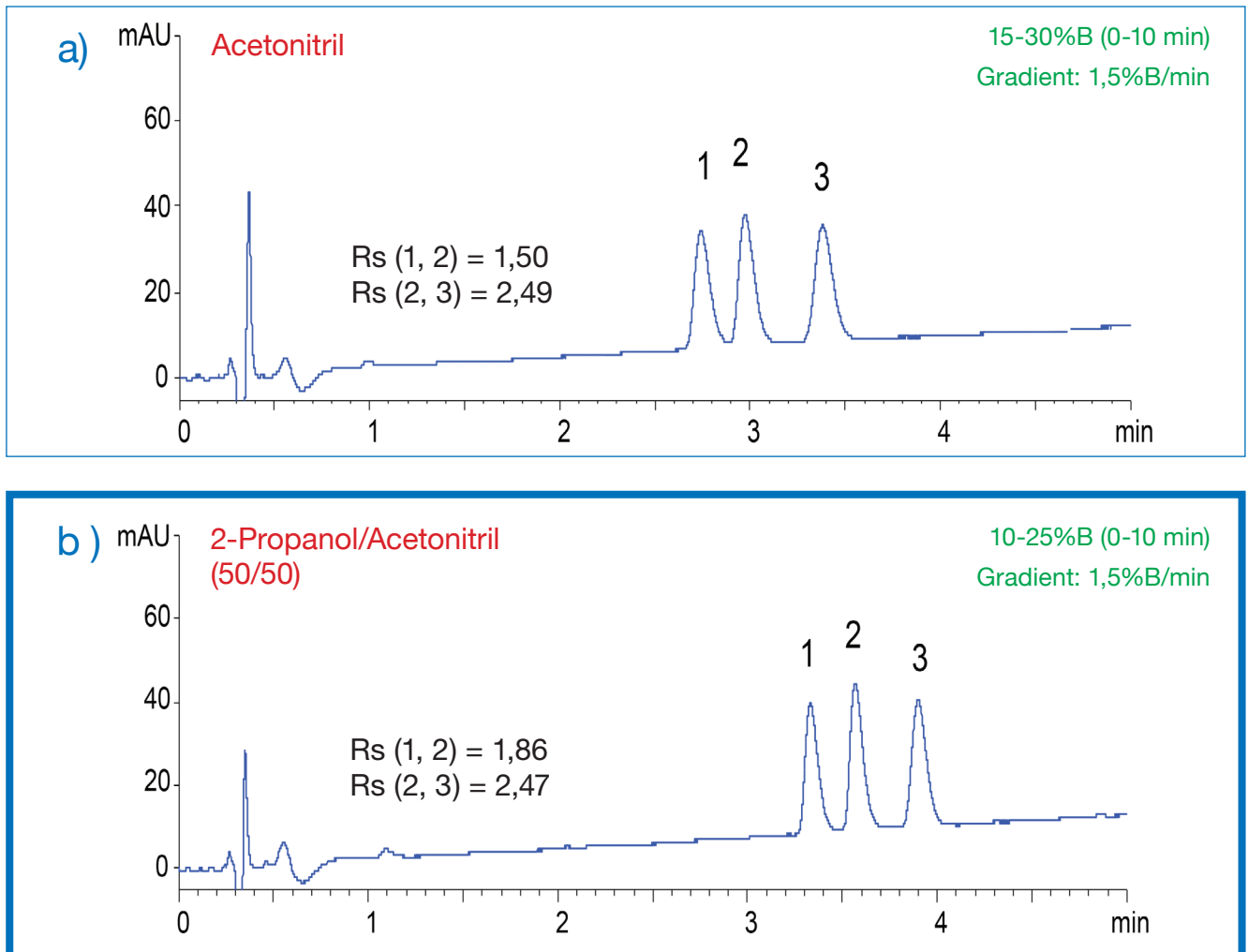
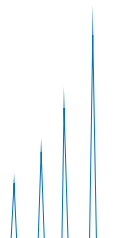
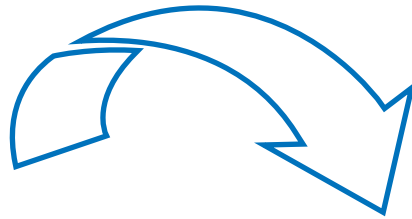


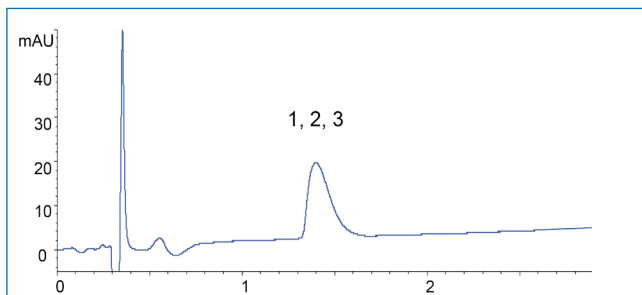
Abbildung 4: a)-b) Eluentenauswahl

1. α -Defensin-1
2. α -Defensin-2
3. α -Defensin-3



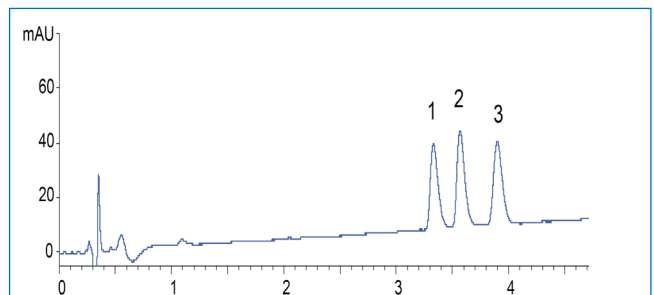


Ausgangsmethode



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

