

Respire profundo

Y permítanos llevarlo a un nuevo estado zen de productos biológicos

 **bioZen**[™]
serie biológica



Partículas novedosas

+

8

Fases

+



Estructura biocompatible

+



Gurús técnicos

Mapeo de péptidos (fase reversa)

Análisis de agregados (SEC)

NUEVO Análisis de heterogeneidad de carga de anticuerpos monoclonales (IEX)

Análisis de glicanos (HILIC)

Cuantificación de péptidos (fase reversa)

Análisis de proteínas intactas y fragmentos (fase reversa)

Masa intacta (fase reversa)

Relación anticuerpo-fármaco (fase reversa)

NUEVO Preparación de muestras de glicanos (SPE)

 **phenomenex**[®]
...breaking with traditionSM

www.phenomenex.com/bioZen

Concéntrese en el zumbido de sus instrumentos.

Note el clic de su automuestreador.

Observe atentamente cómo se crea el próximo pico de su cromatograma.



Trabajamos bastante.

De la experiencia de los químicos en proteínas, especialistas en cromatografía y gurús en espectrometría de masa, surgió algo nuevo.

¿Una combinación completa de innovadores y aclamados materiales de separación?

SI

¿Una nueva estructura de titanio para minimizar el cebado?

SI

¿Un producto para CC que refleje las aplicaciones del cliente?

SI

¿Un equipo de científicos expertos en proteínas y separaciones que respalde sus búsquedas?

SI

¿Una promesa de realizar bioseparaciones exitosas y satisfacer las necesidades de nuestros clientes en todo el mundo?

SI

Y eso no es todo. Bienvenido a bioZen.





Mente

Innovaciones que dan energía y concentración..... 4-8

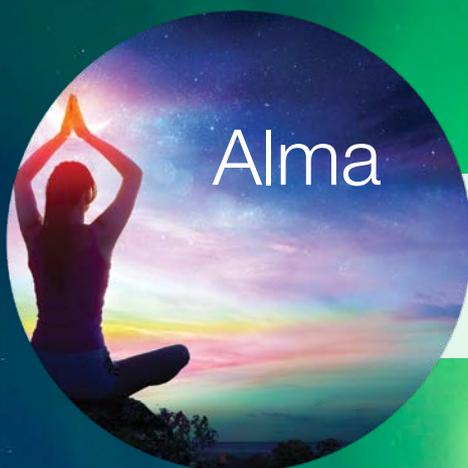
BioTi™: Trayectoria del flujo biocompatible	4-5
3 plataformas de partículas innovadoras	6
8 composiciones químicas de las partículas y en crecimiento	7
El equipo: La proteína se encuentra con la ciencia de la separación	8

Trabajo inspirador para sus productos de bioterapia..... 9-19

Mapeo de péptidos	9
Análisis de agregados.....	10-11
Análisis de heterogeneidad de carga de anticuerpos monoclonales (IEX)	12-13
Análisis de glicanos	14
Cuantificación de péptidos.....	15
Análisis de proteínas intactas y de fragmentos.....	16
Masa intacta	17
Relación anticuerpo-fármaco (DAR).....	18
Bio controles de calidad	19



Cuerpo



Alma

Una senda balanceada para el éxito en bioseparaciones.....20-21

El flujo bioZen™ - Selección de columna fácil

Gurús comprometidos para ampliar su alcance ...22-27

Un buffer saturado para la exclusión por tamaño	22
Hágalo usted mismo: desglucosilación de AcMo	23
La importancia de la desglucosilación previa a la masa intacta.....	23
Capacidad de carga para SEC y fase reversa.....	24
Solvente orgánico y exclusión por tamaño	25
Limpieza de la columna luego de un análisis de proteínas	25
Información para pedidos.....	26-27



Trayectoria del flujo biocompatible

Relájese al saber que hemos **minimizado la necesidad del cebado** con una nueva estructura y frita biocompatibles cubiertas de titanio ¡que no interfieren con la integridad de las proteínas ni péptidos!



- **Análisis de heterogeneidad de carga de anticuerpos monoclonales**
- **Mapeo de péptidos**
- **Análisis de agregados**
- **Análisis de glicanos**
- **Cuantificación de péptidos**
- **Relación anticuerpo-fármaco**
- **Masa intacta**
- **Análisis de proteínas intactas y de fragmentos**



Aumente la duración de la columna con los sistemas de cartuchos protectores

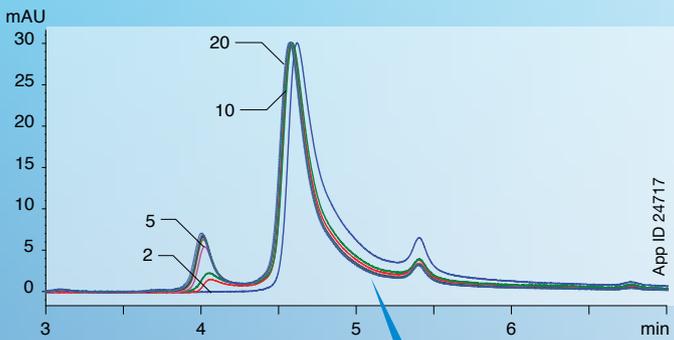
Los nuevos sistemas de cartuchos SecurityGuard™ Standard y ULTRA eliminan los contaminantes indeseados antes de que obstruyan su columna o sistema. Cada columna bioZen™ tiene su precolumna para asegurar la estabilidad en el trabajo diario. Descubra más en la página 26.

Las proteínas nos dijeron **qué tienen en MENTE** y nosotros **escuchamos**. La estructura BioTi™ de titanio de bioZen™ para HPLC/UHPLC está diseñada para limitar las interacciones secundarias indeseadas, sustancias de acarreo problemáticas y dificultades de recuperación entre la inyección y la detección.

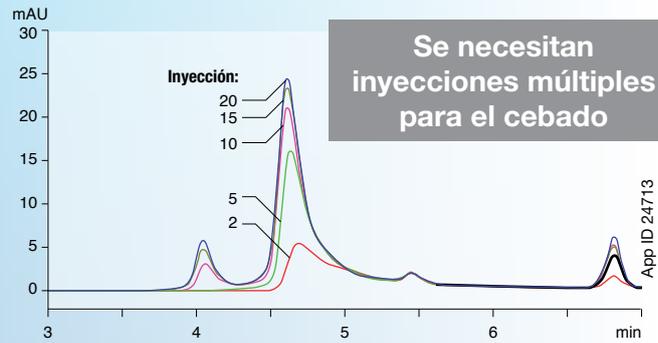


Inyecciones superpuestas - Comparación del cebado de proteínas

Estructura de titanio de BioTi de bioZen



Acero inoxidable tradicional



Hemos desarrollado nuestros productos de BioTi biocompatible para devolverle a usted las horas, días y semanas invertidas en el cebado de las columnas.

—Dr. Jason Anspach
Científico principal

Condiciones para ambas columnas:

- Columna:** bioZen™ 1.8 µm SEC-3
- Dimensión:** 150 x 4.6 mm
- Fase móvil:** Fosfato dipotásico 50 mM + Sulfato de sodio 100 mM, pH 5.0
- Flujo:** 0.3 ml/min
- Temperatura:** Ambiente
- Detección:** UV a 280 nm
- Muestra:** 1. γ-Globulina, 5 mg/ml
2. Ovoalbúmina, 1 mg/ml

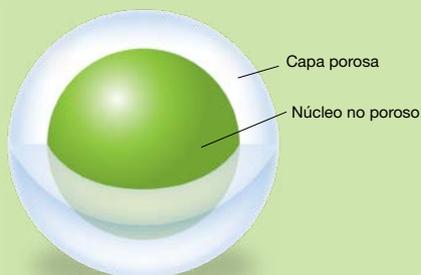
3 plataformas de partículas innovadoras

Las tres nuevas plataformas de partículas bioZen™ fueron diseñadas y creadas individualmente por Phenomenex para obtener la máxima ventaja de los niveles fundamentales de rendimiento, robustez y reproducibilidad para aplicaciones de caracterización de proteínas. La diferencia en cada plataforma radica en las técnicas de procesamiento patentadas que se utilizan para controlar el tamaño y morfología de las partículas. Con toda la MENTE puesta en los detalles de las partículas, ¡imagínese cómo se ven nuestros laboratorios!

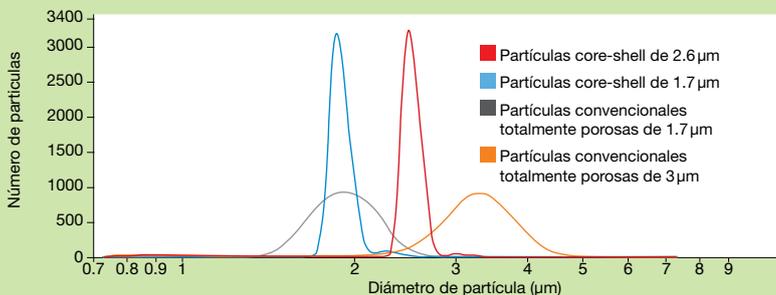
Totalmente porosa modificada térmicamente

Mediante una serie de procesos térmicos patentados, eliminamos los microporos, obtenemos así una columna más inerte y además **mejoramos la consistencia, la eficiencia, la robustez y la reproducibilidad de la columna.**

Tecnología core-shell

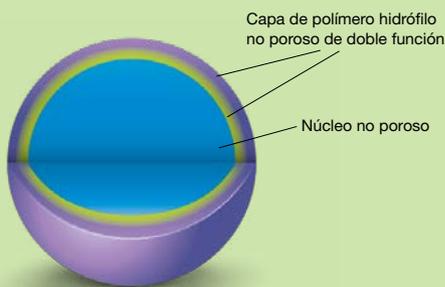


Dispersión uniforme de tamaños de partícula

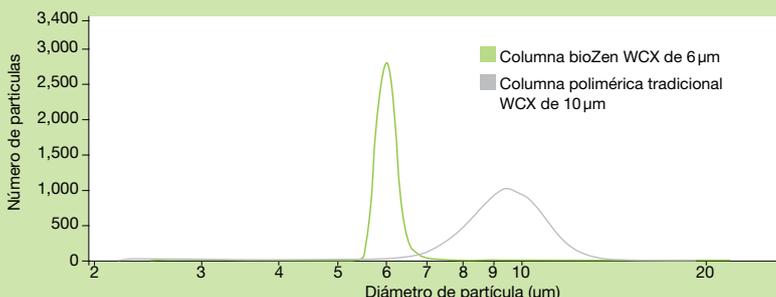


Usando la técnica sol-gel que incorpora la tecnología de nano estructuración, se forma una cubierta porosa, homogénea y duradera, que envuelve el núcleo sólido de sílica. Este proceso sumamente optimizado, en combinación con la tecnología de empaque líder en la industria, produce **columnas altamente reproducibles que elevan la eficiencia y sensibilidad.**

Partícula polimérica no porosa de tamaño uniforme



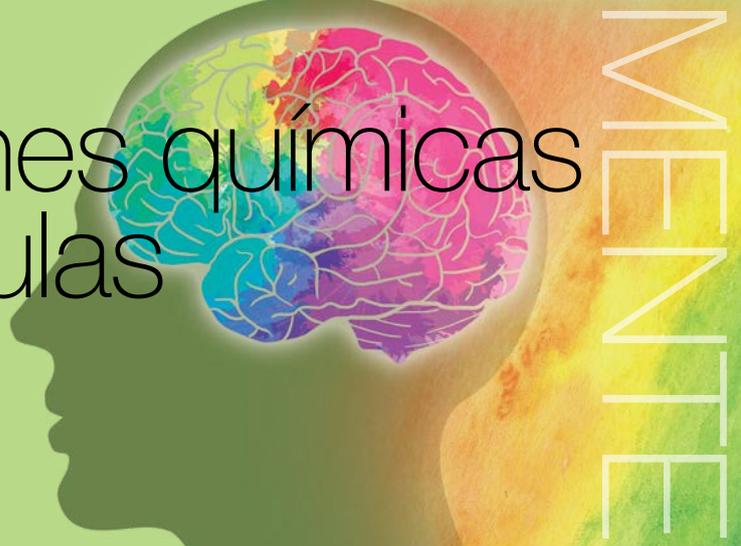
Dispersión uniforme de tamaños de partícula



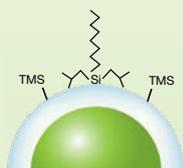
La tecnología de partículas de tamaño uniforme controlada meticulosamente asegura **una excelente homogeneidad de partículas que ofrece una eficiencia superior y reproducible.** Esta innovadora partícula no porosa funciona como la columna vertebral perfecta para el intercambio de iones en mezclas químicas complejas.

8 composiciones químicas de las partículas

Con una sola línea de productos innovadores que abarca las principales áreas de trabajo biológicas, ahora puede descansar y dejar de revisar múltiples catálogos, marcapáginas y proveedores. **Dele un respiro a su MENTE** con las composiciones químicas de partículas de alta calidad diseñadas y probadas para productos biológicos.

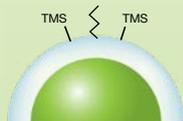


Intactos



bioZen™ Intact XB-C8 3.6 μm

Partícula core-shell de poro grande para un flujo rápido de muestras biológicas. El C8 ofrece una selectividad hidrofóbica moderada que resulta muy útil.



bioZen Intact C4 3.6 μm

Partícula core-shell de poro grande para un flujo rápido de muestras biológicas. La fase estacionaria de C4 ofrece los componentes más buscados luego de una retención a baja hidrofobicidad, algo en especial importante para los productos biológicos muy retentivos.

Exclusión por tamaño (SEC)



bioZen SEC-2 1.8 μm

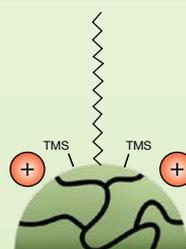
Partícula totalmente porosa de alta densidad y extremadamente inerte de alta eficiencia con un rango de separación de bajo peso molecular (BPM) de 1 k-450 kDa.



bioZen SEC-3 1.8 μm

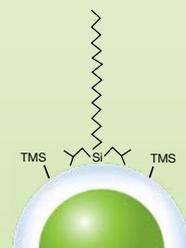
Partícula totalmente porosa de alta densidad y extremadamente inerte de alta eficiencia con un rango de separación de alto peso molecular (APM) de 10 k-700 kDa.

Péptidos



bioZen Peptide PS-C18 1.6 μm y 3 μm

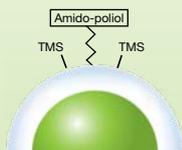
Retención excelente gracias a la combinación del ligando secundario cargado positivamente y el ligando C18.



bioZen Peptide XB-C18 1.7 μm y 2.6 μm

Retención general de péptidos ácidos y básicos mediante la fase estacionaria C18 con cadenas laterales de di-isobutilo.

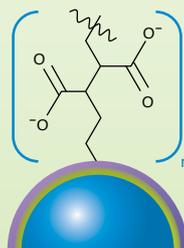
Glicanos



bioZen Glycan 2.6 μm

Ofrece una combinación óptima de alta eficiencia con gran selectividad para los glicanos liberados.

Intercambio de iones



bioZen WCX 6 μm

Partículas de tamaño uniforme con cadenas lineales de policarboxilato que separan las proteínas de las variantes ácidas/básicas.

La proteína se encuentra con la ciencia de la separación



Tenemos en MENTE que lo mejor para los productos biológicos es que los bioquímicos y expertos en cromatografía unan fuerzas. En verdad, **nuestro talento está a su disposición** con exhaustiva experiencia en todas las áreas referente a la composición química, conjugación, preparación de muestras, análisis y detección de proteínas.



Mapeo
Masa Intacta
Expresión
Fase

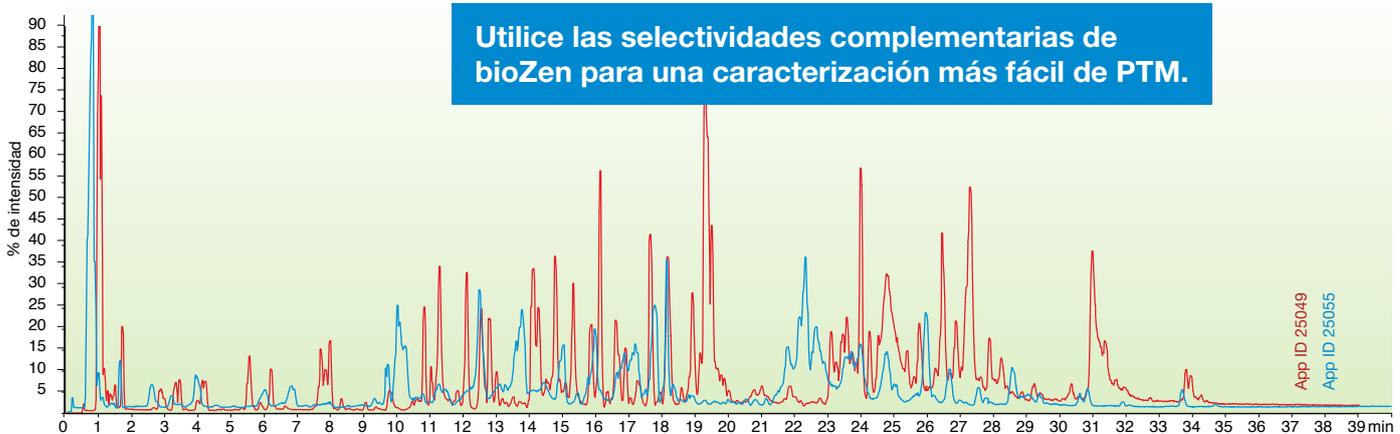
Microbiología, Cromatografía, Fármaco, Muestra, AcMo, Exclusión, SolGel, LC-MS, Anticuerpo, Glicano, Conjugación, LC-MS/MS, UHPLC, Preparación, Sólido, ADC, Fragmentos, Célula, Morfología, Estructura, MicroLC, Derivatización, Conjugados, Bioingeniería, Desglicosilación, Bioquímica, Tamaño, Química, LC-UV, Partícula, Inmunología, Unión, QTOF, Cebado, HPLC, Espectrometría, Ligando, Móvil, Proteínas, Agregado, Fab Fc, Péptido, Extracción, Análisis



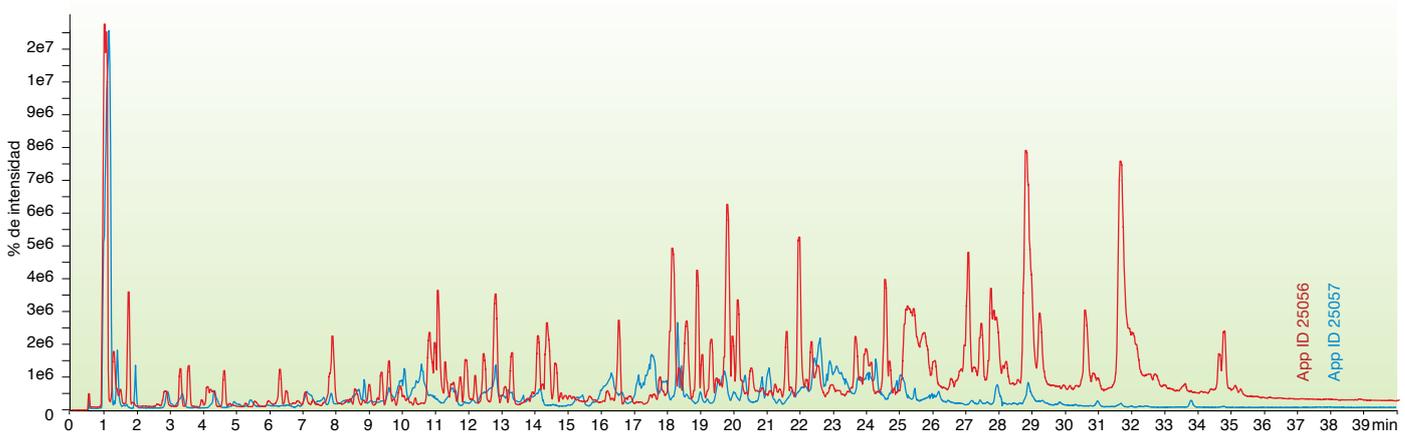
Mapeo de péptidos

Los AcMo (anticuerpos monoclonales, o mAb) digeridos o conjugados anticuerpo-fármaco (ADC) incluyen una **amplia gama de compuestos** que son cruciales para comprender las modificaciones posteriores. Así que diseñamos las dos columnas bioZen™ Peptide para ofrecer **perfiles de retención muy útiles y únicos**. Cada columna ofrece ventanas de elución más rápidas al utilizar partículas core-shell de alta eficiencia o totalmente porosas modificadas térmicamente para obtener picos más definidos, con **mayor capacidad y sensibilidad general**.

Mapeo de péptidos de biosimilar de Trastuzumab



Mapeo de péptidos de biosimilar de Infliximab



Condiciones para todas las columnas:

Columnas: bioZen 1.6µm Peptide PS-C18
 bioZen 2.6µm Peptide XB-C18

Dimensiones: 150 x 2.1 mm

N.º de catálogo: 00F-4770-AN

00F-4768-AN

Fase móvil: A: Ácido fórmico al 0.1 % en agua

B: 0.1 % de Ácido fórmico en acetonitrilo

Gradiente:	Tiempo (min)	% B
	0	1
	0.5	1
	50	50
	55	50
	56	95

Flujo: 0.3 ml/min

Temperatura: 40 °C

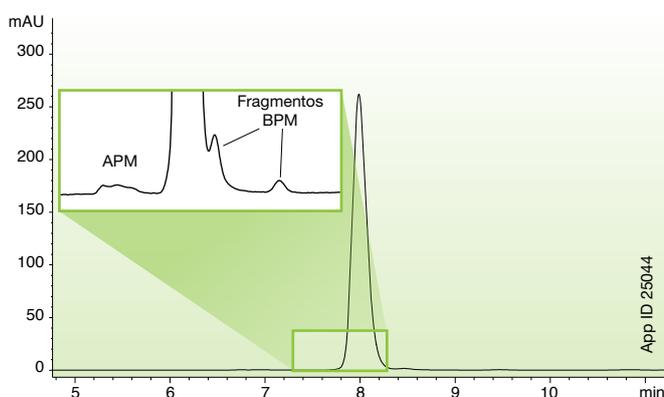
Detección: QTOF (SCIEX® X500B)

Análisis de agregados

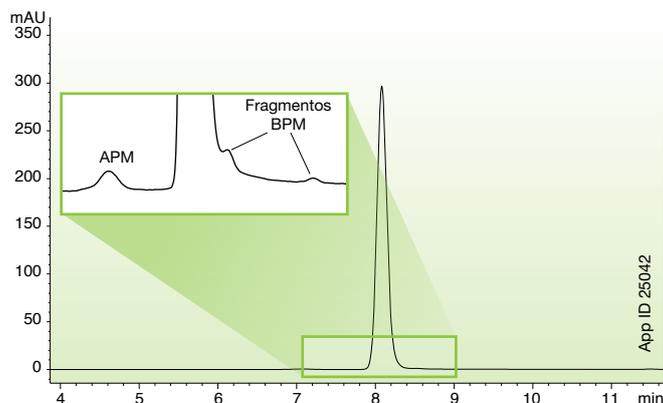
Con la frecuente presencia de **agregados de AcMo (mAb) a niveles muy bajos** (0.1% por área comparado con el monómero) y la separación de fragmentos como requerimiento, una resolución y forma de pico adecuadas se convirtieron en objetivos de métodos aún más cruciales. Para abordar esta necesidad, la robusta línea de columnas bioZen™ de exclusión por tamaño fue desarrollada con una **combinación de la eficiencia y alta sensibilidad del UHPLC** para obtener resolución e identificación de los niveles más bajos de analitos.



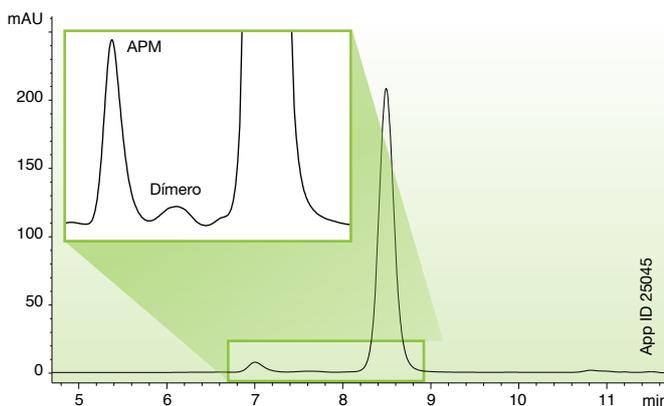
Cetuximab



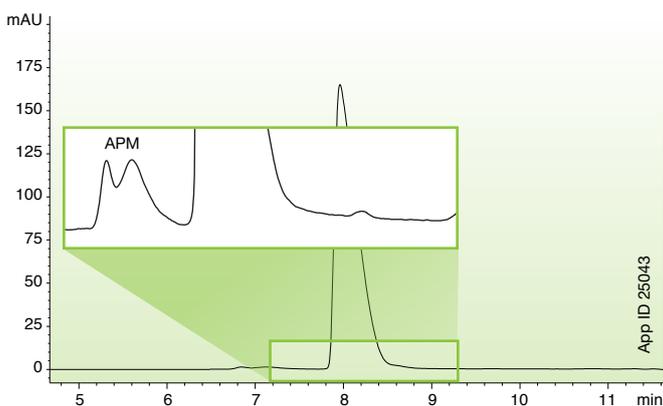
Trastuzumab



Rituximab



Infliximab—abda



Condiciones iguales para todas las muestras:
 Columna: bioZen™ 1.8 µm SEC-3
 Dimensión: 300 x 4.6 mm
 N.º de catálogo: 00H-4772-E0
 Fase móvil: Fosfato potásico 50 mM + Cloruro de potasio 250 mM (pH 6.8)
 Flujo: 0.35 ml/min
 Temperatura: 30 °C

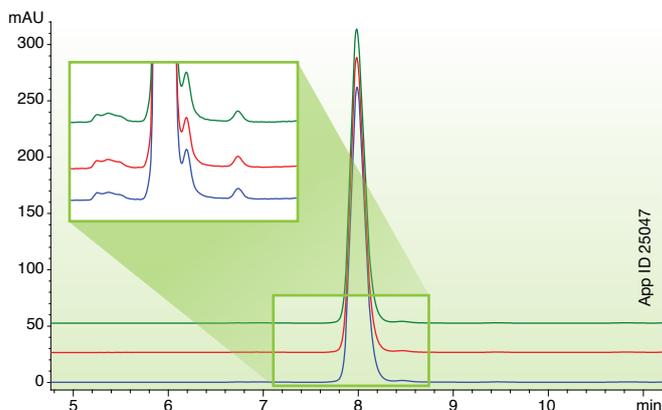
Detección: UV a 280 nm
Muestra: Como se ha especificado

Análisis de agregados

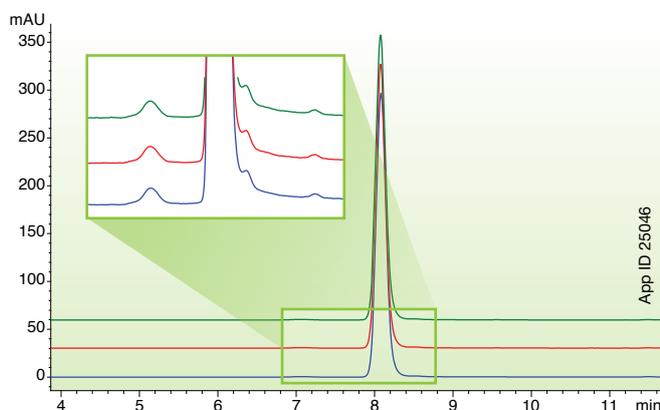
La consistencia de partículas altamente inertes en ambas columnas bioZen™ SEC producen mayor reproducibilidad de una inyección a otra. Combine esto con la estructura bioinerte BioTi™, y ya no se perderá una buena recuperación de agregados.

CUERPO

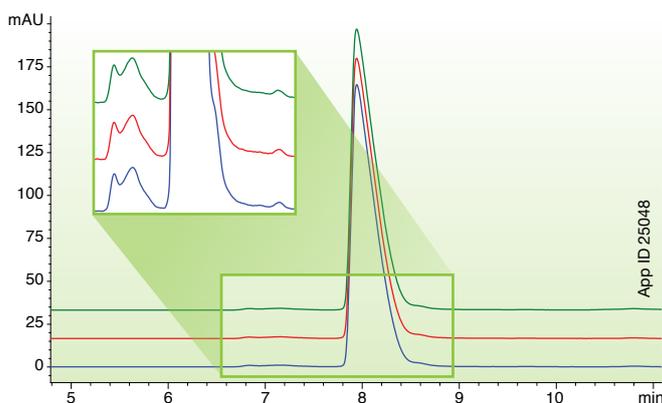
Inyecciones de Cetuximab por triplicado



Inyecciones de Trastuzumab por triplicado



Inyecciones de Infliximab-dyyb por triplicado

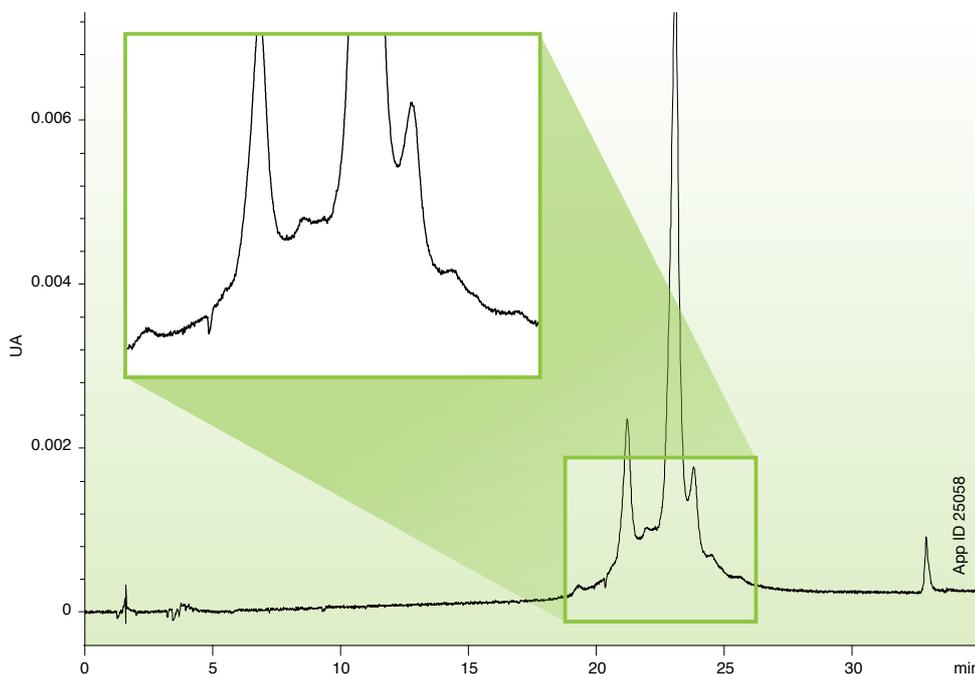


Condiciones iguales para todas las muestras:
Columna: bioZen™ 1.8 µm SEC-3
Dimensión: 300 x 4.6 mm
N.º de catálogo: 00H-4772-E0
Fase móvil: Fosfato potásico 50 mM + Cloruro de potasio 250 mM (pH 6.8)
Flujo: 0.35 ml/min
Temperatura: 30 °C
Detección: UV a 280 nm
Muestra: Como se ha especificado

Análisis de heterogeneidad de carga de anticuerpos monoclonales

bioZen WCX fue diseñada para descifrar de manera consistente entre las variantes de proteínas nativas que surgen de las modificaciones postraduccionales (PTMs) en la creación y desarrollo de terapéuticos. Las partículas poliméricas no porosas de tamaño uniforme contienen cadenas lineales de policarboxilato que envuelven y separan las proteínas de las variantes ácidas y básicas. Con un proceso de fabricación altamente optimizado y controlado, el relleno de bioZen WCX le permite a los científicos caracterizar la heterogeneidad de carga de anticuerpos monoclonales de manera reproducible. Esto es en adición a la excelente recuperación proporcionada por las partículas altamente inertes y la estructura bioinerte de las columnas de titanio BioTi.

Trastuzumab (Gradiente de concentración de sal en MES)

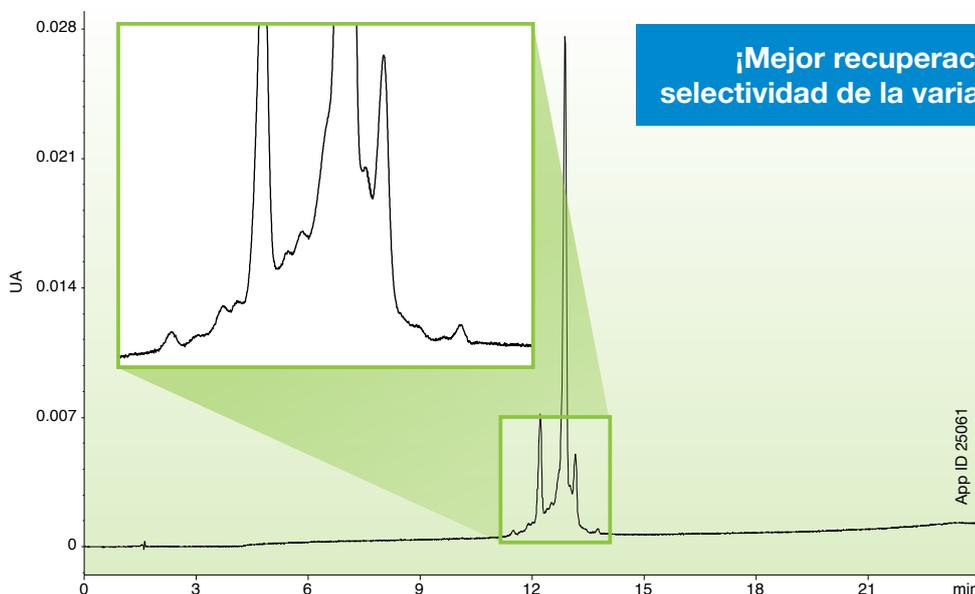


Columna: bioZen 6 µm WCX
Dimensiones: 250 x 4.6 mm
N.º de catálogo: 00G-4777-E0
Fase móvil: A: MES 20 mM (pH 5.6)
 B: MES 20 mM + NaCl 300 mM (pH 5.6)
Gradiente:

Tiempo (min)	% B
0	15
1	15
31	45
31.1	100
34	100
35	15

Flujo: 1 ml/min
Temperatura: 30 °C
Detección: UV a 280 nm
Muestra: Trastuzumab

Trastuzumab (Buffer de gradiente de pH)



¡Mejor recuperación y selectividad de la variante ácida!

Columna: bioZen 6 µm WCX
Dimensiones: 250 x 4.6 mm
N.º de catálogo: 00G-4777-E0
Fase móvil: A: Buffer para gradiente de pH CX -1 (pH 5.6)*
 B: Buffer para gradiente de pH CX -1 (pH 10.2)*
Gradiente:

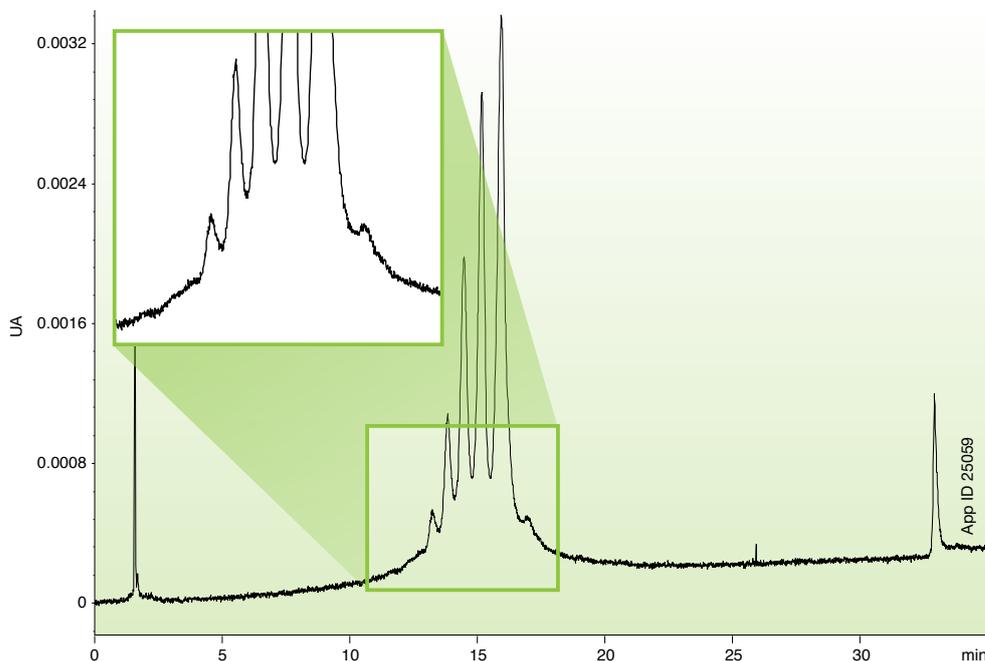
Tiempo (min)	% B
0	0
1	0
21	100
23	100
24	0

Flujo: 1 ml/min
Temperatura: 30 °C
Detección: UV a 280 nm
Muestra: Trastuzumab

* De Thermo Fisher Scientific® Inc.

Mientras que las partículas poliméricas no porosas de tamaño uniforme sirven como el vehículo perfecto para las cadenas de policarboxilato, estas partículas robustas también aseguran que la bioZen™ WCX sea resistente a los complejos sistemas de gradiente de concentración de sal y de pH. Esta robustez y alta estabilidad, en combinación con una selectividad consistente, permiten que los científicos no se conformen con optar por gradientes de pH o de concentración de sal cuando necesiten separar y cuantificar variantes de carga de proteínas, compuestos innovadores y biosimilares. A veces, es bueno saber que tiene opciones.

Cetuximab (Gradiente de concentración de sal en MES)

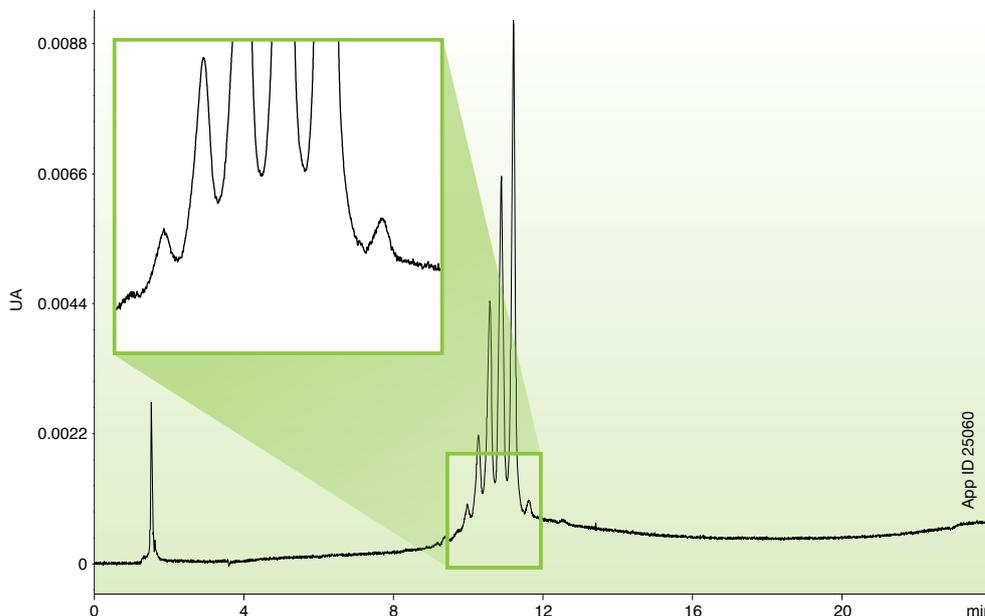


Columna: bioZen 6 µm WCX
Dimensiones: 250 x 4.6 mm
N.º de catálogo: 00G-4777-E0
Fase móvil: A: MES 20 mM (pH 5.6)
 B: MES 20 mM + NaCl 300 mM (pH 5.6)
Gradiente:

Tiempo (min)	% B
0	15
1	15
31	45
31.1	100
34	100
35	15

Flujo: 1 ml/min
Temperatura: 30 °C
Detección: UV a 280 nm
Muestra: Cetuximab, biosimilar expresado en HEK
Agradecimiento: Muestra gentilmente donada por Catherine Bladen, Absolute Antibody

Cetuximab (Buffer de gradiente de pH)



Columna: bioZen 6 µm WCX
Dimensiones: 250 x 4.6 mm
N.º de catálogo: 00G-4777-E0
Fase móvil: A: Buffer para gradiente CX -1 (pH 5.6)*
 B: Buffer para gradiente CX -1 (pH 10.2)*
Gradiente:

Tiempo (min)	% B
0	0
1	0
21	100
23	100
24	0

Flujo: 1 ml/min
Temperatura: 30 °C
Detección: UV a 280 nm
Muestra: Cetuximab, biosimilar expresado en HEK
Agradecimiento: Muestra gentilmente donada por Catherine Bladen, Absolute Antibody
 * De Thermo Fisher Scientific Inc.

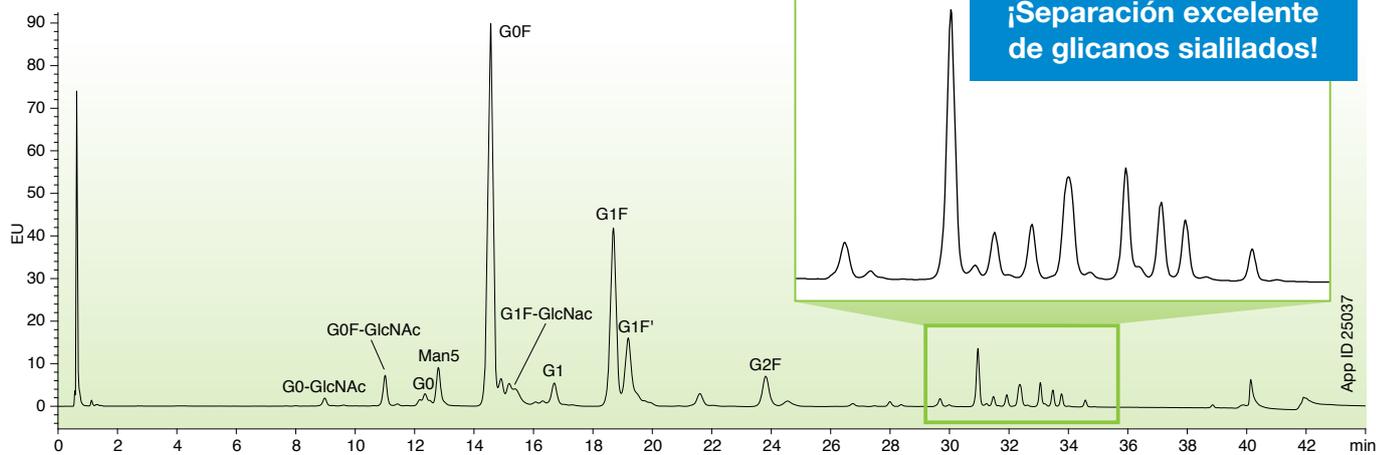


Análisis de glicanos

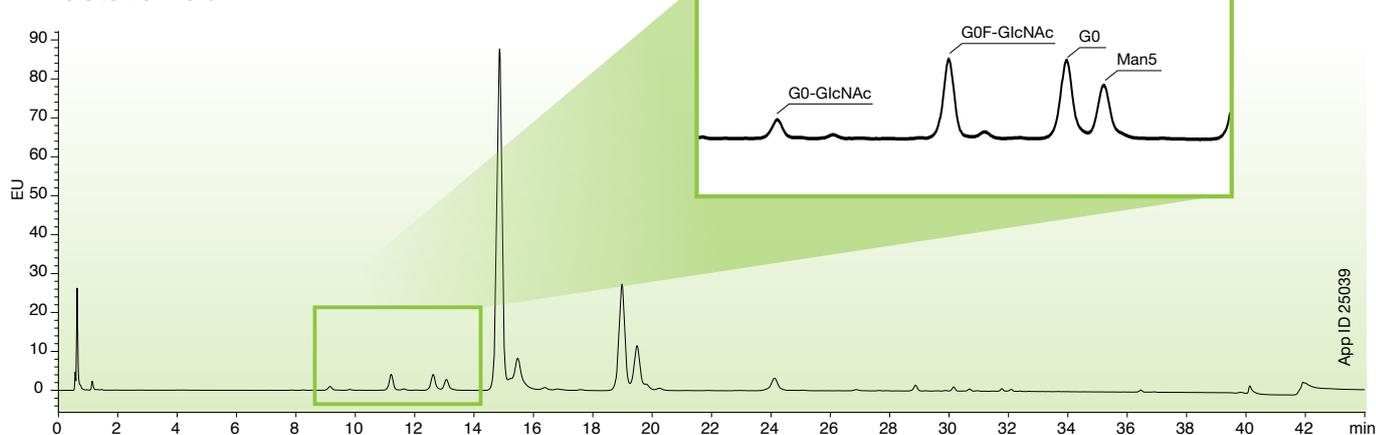
La exclusiva selectividad de la bioZen Glycan fue diseñada para **proporcionar mejores separaciones de los glicanos libres e identificados**. Con una partícula core-shell de 2.6 µm, los usuarios que tengan sistemas HPLC o UHPLC pueden usar la columna bioZen Glycan para obtener resultados de alta eficiencia a mayores velocidades lineales y formas de picos más definidas en **tiempos de corridas más rápidos**, sin la alta presión de UHPLC. Bajo condiciones HILIC-FLR o HILIC-MS, la bioZen Glycan se destaca por su mayor retención polar y selectividad.



Biosimilar de Infliximab



Trastuzumab



Condiciones para ambas columnas:

Columna: bioZen 2.6 µm Glycan
Dimensiones: 150 x 2.1 mm
N.º de catálogo: 00F-4773-AN
Fase móvil: A: Formato de amonio 100 mM, pH 4.5
 B: Acetonitrilo

Gradiente:	Tiempo (min)	% B
	0	78
	10	74.5
	24	72
	38.5	55.9
	38.6	40
	40.6	40
	40.7	78
	48	78

Flujo: 0.5 ml/min
Temperatura: 50 °C
Detección: FLD a 285/345 nm (ex/em)
Muestra: Como se ha especificado



bioZen N-Glycan Clean-Up

¡Una novedosa fase estacionaria HILIC para extracción en fase sólida (SPE) que se destaca en la retención y recuperación de glicanos libres e identificados! Disponible en formato de placa de microelución de 96 pocillos que funciona de manera excelente en el procesamiento y limpieza de pequeños volúmenes de muestra.

www.phenomenex.com/GlycanSPE

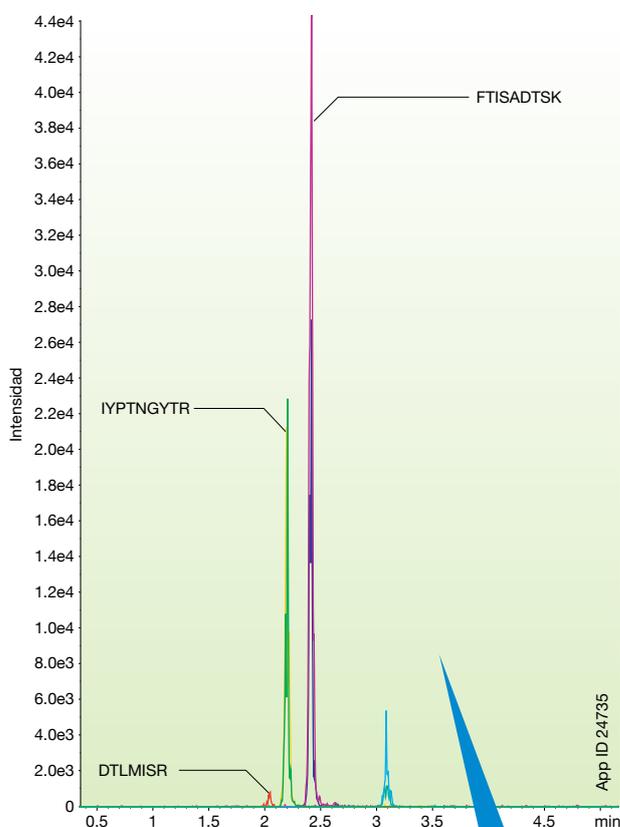
Cuantificación de péptidos

Al cuantificar péptidos distintivos de las matrices biológicas, usted necesita formas de picos definidas y una retención suficiente de los péptidos hidrofílicos para evitar cualquier pérdida de señal de las áreas de supresión de la matriz. Las dos columnas bioZen™ Peptide fueron desarrolladas para **dar excelente selectividad incluso entre los péptidos más similares**. Además, desarrollan el **CUERPO de características valiosas** con maneras únicas de obtener formas de picos más definidas de los péptidos básicos; la bioZen Peptide XB-C18 bloquea las interacciones superficiales secundarias mediante la cadena lateral de isobutilo, mientras que la bioZen Peptide PS-C18 contiene una base débil con carga positiva que repele otras especies básicas.

CUERPO

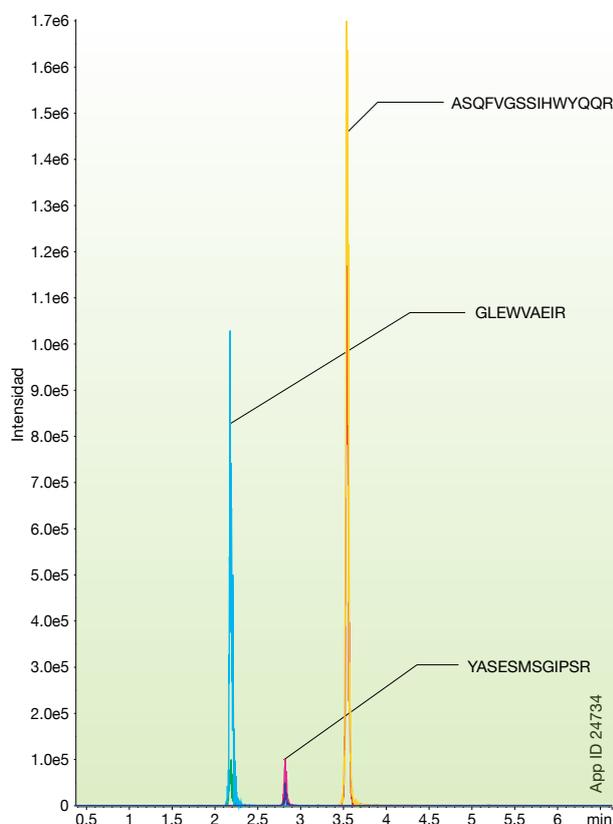
Kadcyla

(4 péptidos distintos)



Infliximab

(3 péptidos distintos)



¡Los picos bien definidos y la altura hacen que la cuantificación con la PS-C18 lo lleve a un nuevo estado zen!

Condiciones iguales para ambas muestras:

Columna: bioZen 3 µm Peptide PS-C18
Dimensiones: 50 x 2.1 mm
N.º de catálogo: OOB-4771-AN
Fase móvil: A: Ácido fórmico al 0.1 % en agua
B: 0.1 % de Ácido fórmico en acetonitrilo
Gradiente:

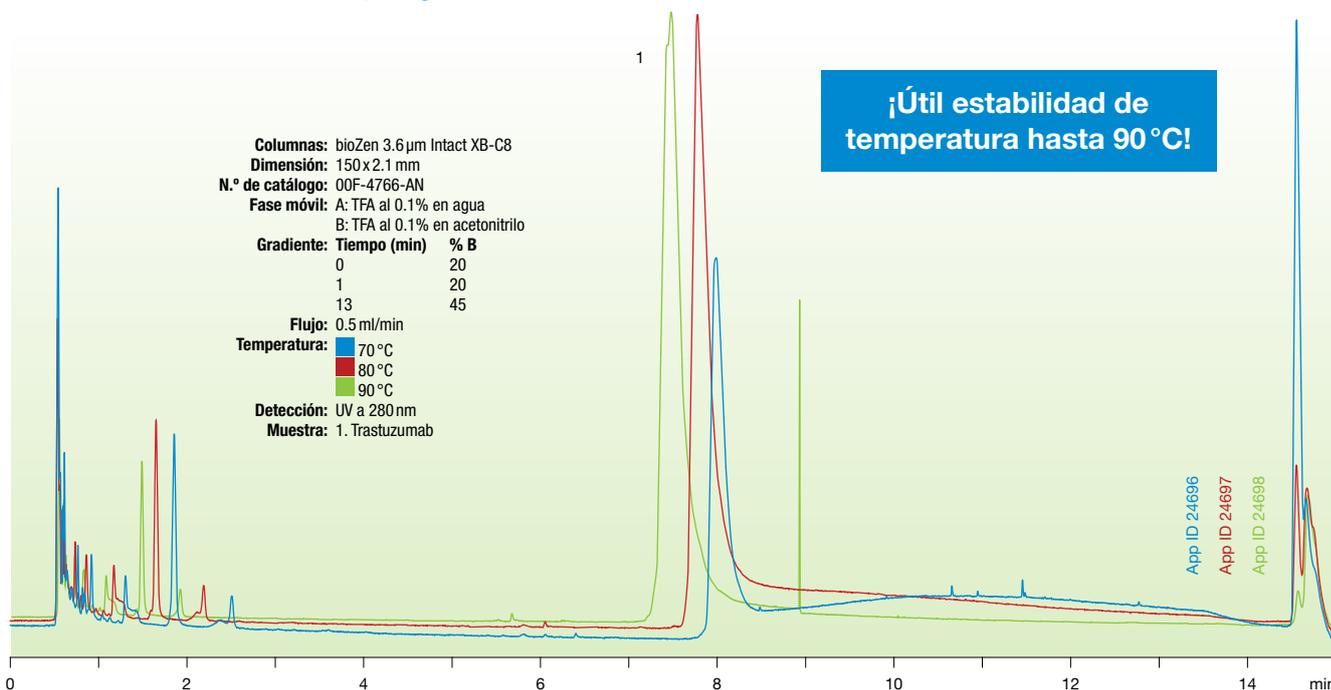
Tiempo (min)	% B
0	3
1	3
4.5	25

Flujo: 0.5 ml/min
Temperatura: 22 °C
Sistema LC: ExionLC™ AD HPLC
Detección: MS/MS
Detector: SCIEX QTRAP® 5500
Muestra: Como se ha especificado

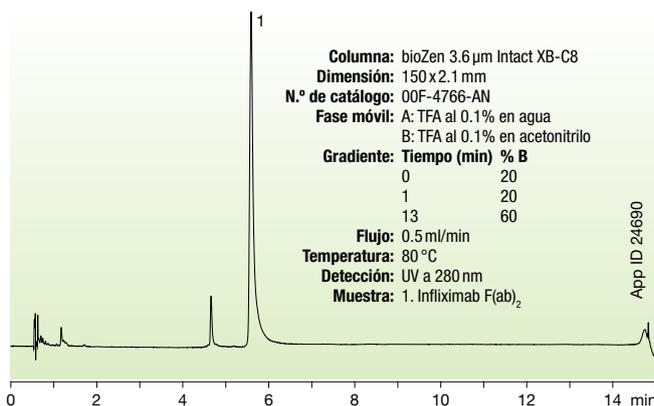
Análisis de proteínas intactas y fragmentos

La identificación y caracterización de impurezas de fragmentos biológicos intactos es todo un desafío por las mínimas diferencias entre las variantes. Las dos columnas bioZen Intact poseen partículas core-shell fabricadas especialmente con poros grandes para que puedan **ofrecer picos más altos y delgados con mayor resolución entre las HC/LC, Fc/Fab o sus isoformas.**

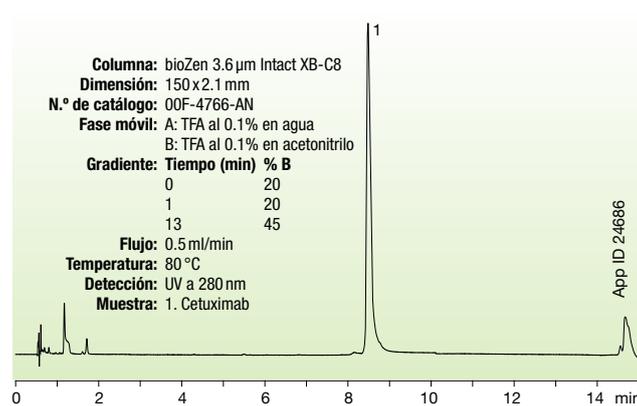
Trastuzumab intacto a 70, 80 y 90 °C



Infliximab F(ab)₂



Cetuximab



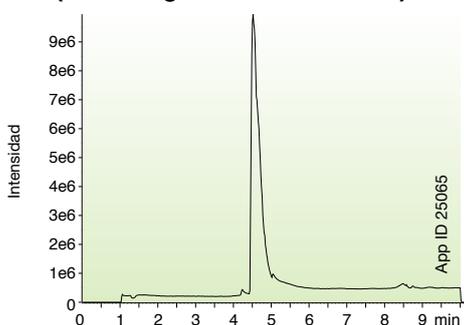
Masa intacta

La masa intacta puede dar indicaciones no solo de la abundancia relativa de glicofomas, sino también de la estabilidad, ya que los AcMo degradados no darán una buena carga mediante ESI-MS. La masa intacta con un espectrómetro de masas de alta resolución para identificar PTM, en especial la abundancia relativa de glicofomas, **funciona perfectamente con los rápidos tiempos de análisis y las formas de picos delgados** que proporcionan las columnas bioZen™ Intact C4 y XB-C8.

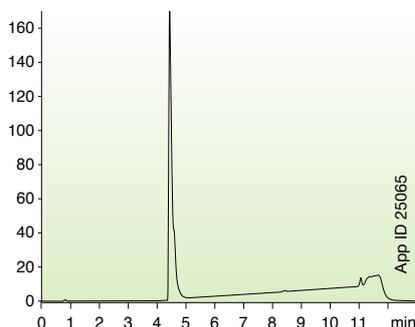
CUERPO

Masa intacta de Trastuzumab usando bioZen Intact XB-C8 y SCIEX® X500B

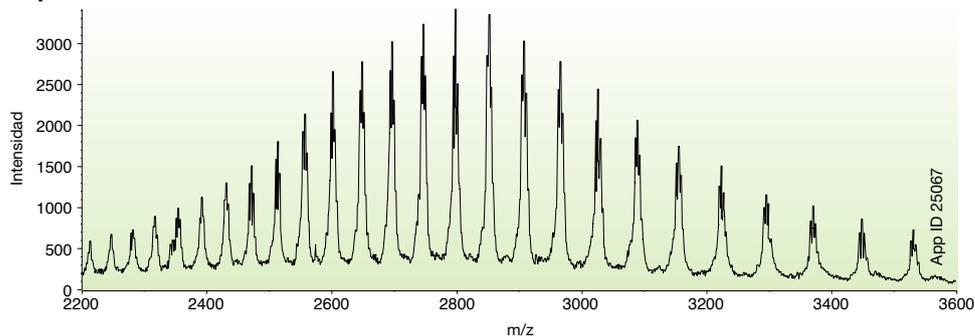
TIC (Cromatograma total de Iones)



UV



Espectros

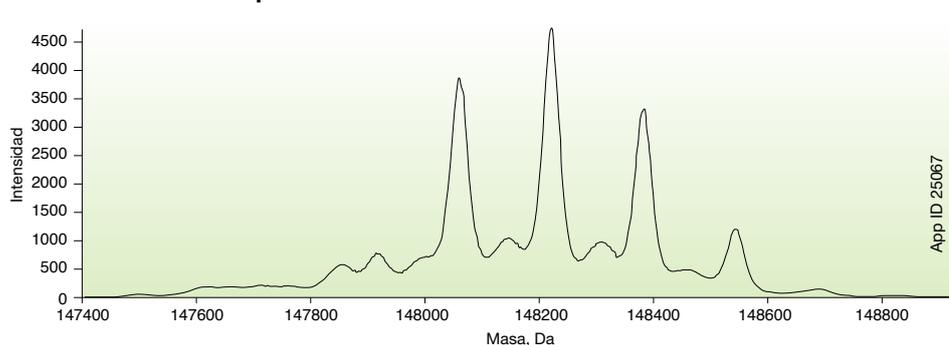


Columnas: bioZen 3.6 µm Intact XB-C8
Dimensión: 150 x 2.1 mm
N.º de catálogo: 00F-4766-AN
Fase móvil: A: Ácido fórmico al 0.1 % en agua
B: 0.1 % de Ácido fórmico en acetonitrilo / Alcohol isopropílico (50:50)
Gradiente:

Tiempo (min)	% B
2.5	20
10	65
10.1	95

Flujo: 0.3 ml/min
Temperatura: 90 °C
Detección: QTOF (SCIEX X500B)
Muestra: Trastuzumab

Deconvolución del espectro



Flujo de trabajo simplificado para la caracterización de productos biológicos en el sistema X500B QTOF

Acelere su rendimiento con este sistema QTOF para mesa de trabajo fácil de usar que combina una instrumentación robusta con un software poderoso e intuitivo para obtener sus resultados de caracterización de manera más rápida y sencilla.

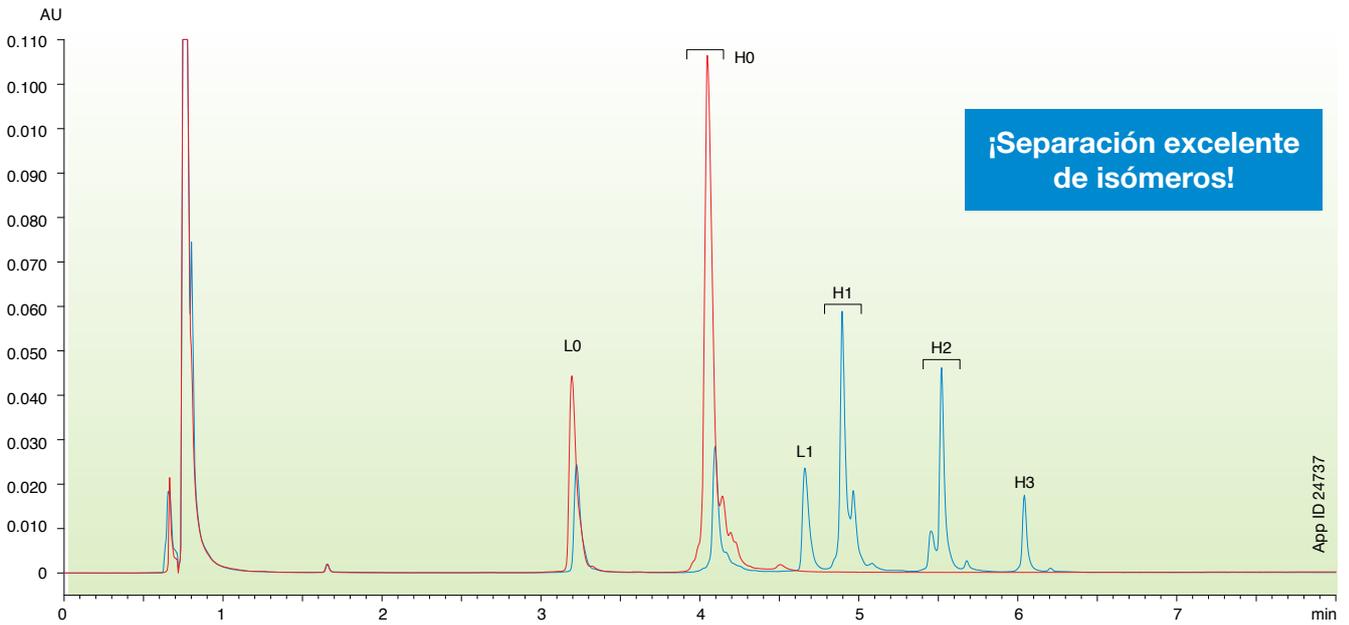
Descubra más en www.sciex.com/X500B



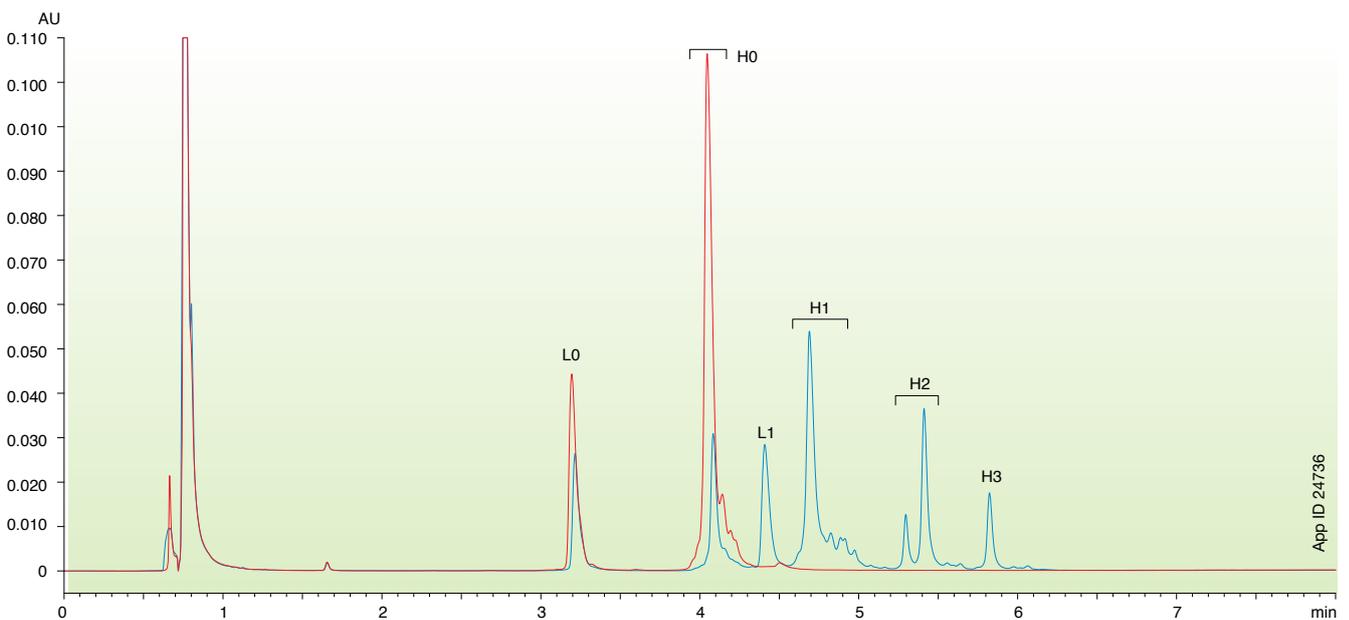
Relación anticuerpo-fármaco (DAR)

Con un efecto directo en la eficacia y la seguridad, **debe comprenderse bien la conjugación de cada ADC**. La bioZen Intact XB-C8 ofrece un vehículo excelente para determinar la distribución de la carga de fármaco y la relación anticuerpo-fármaco (DAR, que proviene del inglés **D**rug **A**ntibody **R**atio) para los ADC. Su poro de gran tamaño permite que los ADC intactos interactúen con una fase estacionaria moderadamente retentiva mientras que las partículas core-shell brindan mayor eficiencia para **brindar la resolución necesaria entre las especies de ADC con diferentes cargas de fármacos**.

Herceptin—vcMMAE utilizando bioZen 3.6µm Intact XB-C8



Herceptin—mcMMAF utilizando bioZen 3.6µm Intact XB-C8



Agradecimiento
Queremos agradecerles especialmente a Colin McKee y ADC Biotechnology LTD por su apoyo y muestras de ADC para esta aplicación.

Encuentre las condiciones en línea en:
www.phenomenex.com/bioZen

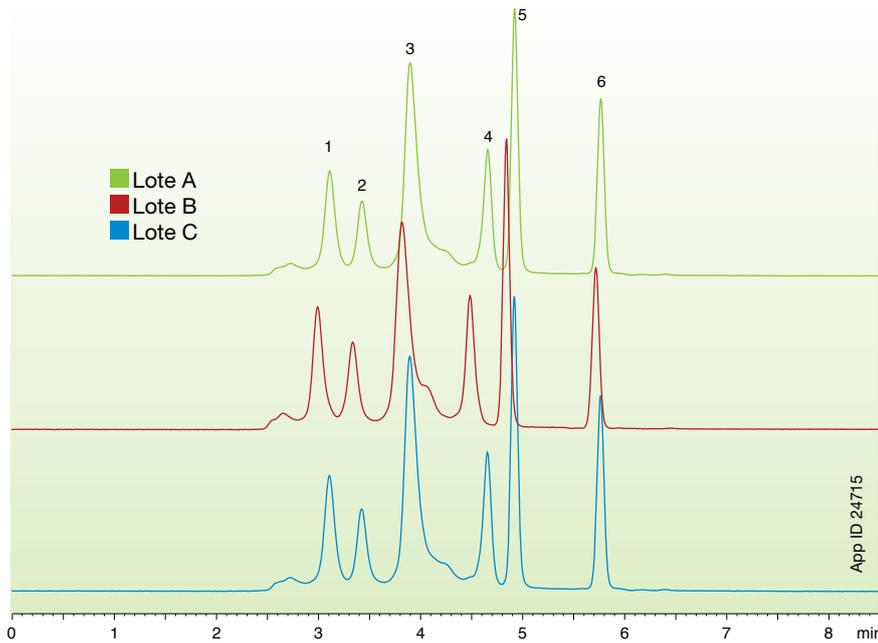
Bio controles de calidad

En cada etapa de nuestros controles de producción y calidad tenemos a usted y a sus análisis de productos biológicos en mente. En primera instancia nos concentramos en productos innovadores que mejorarán los flujos de trabajo, luego trabajamos incansablemente para asegurarnos de que esos productos sean confiables una y otra vez. Para enriquecer aún más la calidad de estos productos, asignamos protocolos de control orientados a aplicaciones muy específicas que imitan las condiciones que usted y otros usuarios requieren.

Cada lote de medios y cada columna pasa por una serie de controles para asegurarnos de que usted está recibiendo nuestra ciencia en su mayor nivel, y así podrá entrar al progreso sin escalas.

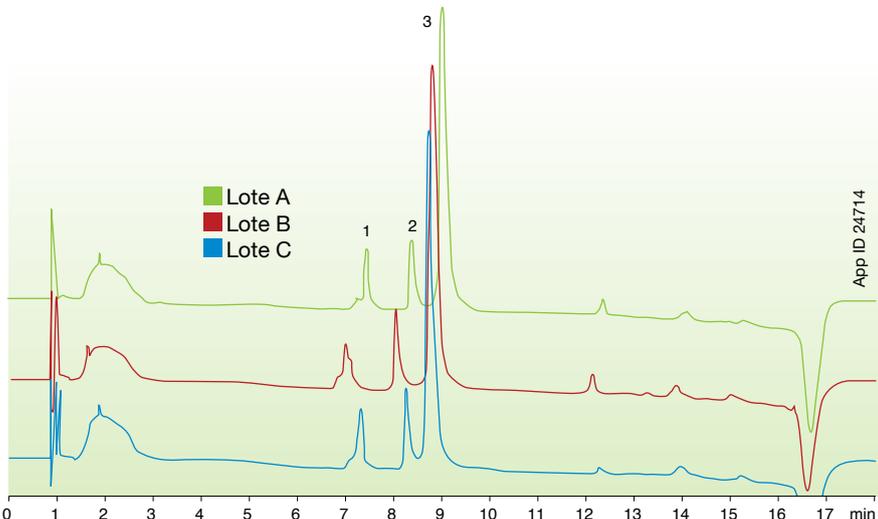
CUERPO

Resultados lote a lote—bioZen™ 1.8µm SEC-3



Columna: bioZen™ 1.8 µm SEC-3
Dimensiones: 150 x 4,6 mm
N.º de catálogo: 00F-4772-E0
Fase móvil: Fosfato de sodio en agua 100 mM pH 6.8
Flujo: 0.3 ml/min
Temperatura: Ambiente
Detección: UV a 280 nm
Muestra: 1. Tiroglobulina (669 kDa)
2. IgA (300 kDa)
3. IgG (150 kDa)
4. Ovalbúmina (44 kDa)
5. Mioglobina (17 kDa)
6. Uridina

Resultados lote a lote—bioZen 3.6µm Intact C4



Columnas: bioZen 3.6 µm Intact C4
Dimensiones: 150 x 2,1 mm
N.º de catálogo: 00F-4767-AN
Fase móvil: A: TFA al 0.1% en agua
B: TFA al 0.1% en acetonitrilo
Gradiente: Tiempo (min) % B
0 10
1 30
20 50
20.1 10
Flujo: 1.5 ml/min
Temperatura: 40 °C
Detección: UV a 280 nm
Muestra: 1. Cadena ligera
2. Cadena pesada
3. AcMo intacto

El flujo bioZen™ Selección de la columna

Queríamos copiar su dedicación por los análisis biológicos, por lo que **pusimos nuestra ALMA y corazón en el desarrollo** de la gama de productos bioZen. En todo el desarrollo de un elemento biológico, los productos de separación bioZen ofrecen una mejor caracterización en una amplia variedad de técnicas.

Perfil / Desarrollo temprano AcMo (mAb)

Mapeo de péptidos (Fase reversa-MS)

- AcMo completo
- Región Fab

bioZen Peptide PS-C18
bioZen Peptide XB-C18

Heterogeneidad de carga (IEX)

bioZen WCX

Agregación (SEC)

bioZen SEC-3

Agregación (Alto rendimiento-SEC)

bioZen SEC-3

DAR ADC promedio (RP-UV)

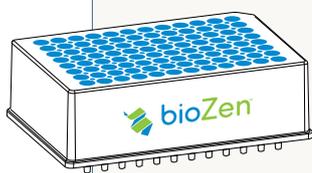
bioZen Intact XB-C8

Análisis de glicanos (HILIC-FL)

bioZen Glycan

Análisis de glicanos (HILIC-MS)

bioZen Glycan



bioZen N-Glycan Clean-Up

¡Una novedosa fase estacionaria HILIC para extracción en fase sólida (SPE) que se destaca en la retención y recuperación de glicanos libres e identificados! Disponible en formato de placa de microelución de 96 pocillos que funciona de manera excelente en el procesamiento y limpieza de pequeños volúmenes de muestra.

www.phenomenex.com/GlycanSPE



**Preclínico
AcMo (mAb)**

**Formulación
(SEC)**

bioZen™ SEC-2
bioZen SEC-3

**Heterogeneidad
de carga
(IEX)**

bioZen WCX

**AcMo total
(Fase reversa-UV)**

bioZen Intact C4
bioZen Intact XB-C8

**Masa intacta
(Fase reversa-MS)**

bioZen Intact C4
bioZen Intact XB-C8

**AcMo total
(SEC-UV)**

bioZen SEC-2
bioZen SEC-3

**Cuantificación de péptidos
(Fase reversa-MS)**

bioZen Peptide PS-C18
bioZen Peptide XB-C18



**Estructura de titanio biocompatible:
¡Mejor recuperación y reproducibilidad
en todos los flujos de trabajo!**

Exclusión por tamaño y un buffer saturado con sal



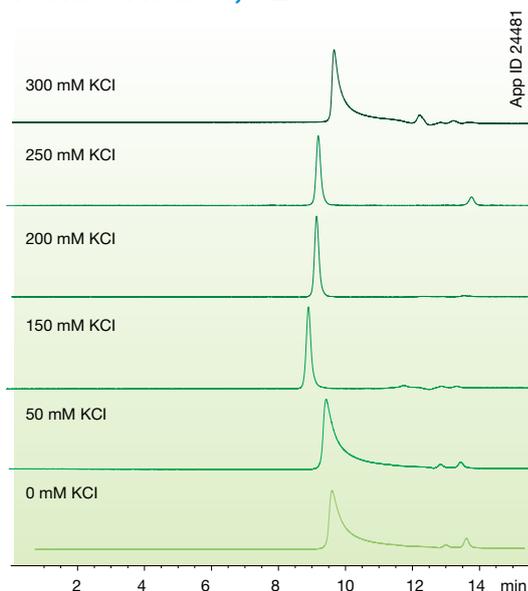
Dani Xing

Gurú técnica - Bioseparaciones

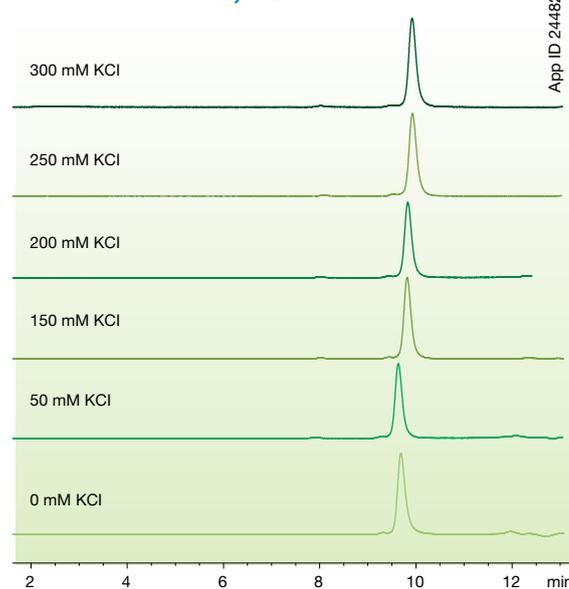
Al desarrollar un método para el análisis de agregados de AcMo por SEC, resulta crítico optimizar las condiciones de la fase móvil para evitar interacciones secundarias no específicas. A continuación, puede ver el efecto al alterar la concentración de sal en la fase móvil para dos diferentes biosimilares de AcMo. El primer AcMo necesitó una cantidad moderada de sal para lograr una forma de pico aceptable. El segundo AcMo se desempeñó bien incluso sin sal. Sin embargo, al aumentar la sal se vieron mejoras en la forma de los picos.

De manera ideal, el buffer y la concentración de sal se optimizan según los requerimientos del método o análisis. No obstante, cuando hay necesidad de un método plataforma, como cuando se deben evaluar diferentes AcMo, un buen punto de partida para el desarrollo del método es 50 mM de fosfato potásico, 250 mM de cloruro de potasio, pH 6.8.

Perfiles AcMo 1, SEC



Perfiles AcMo 2, SEC



Condiciones iguales para ambas muestras, excepto donde se indique lo contrario:

Columna: bioZen™ 1.8 μm SEC-3

Dimensiones: 300 x 4.6 mm

N.º de catálogo: 00H-4772-E0

Fase móvil: 50 mM KH₂PO₄, pH 6.8
KCl (como se indicó)

Flujo: 0.3 ml/min

Detección: UV a 280 nm

Temperatura: Ambiente

Sobre la desglicosilación

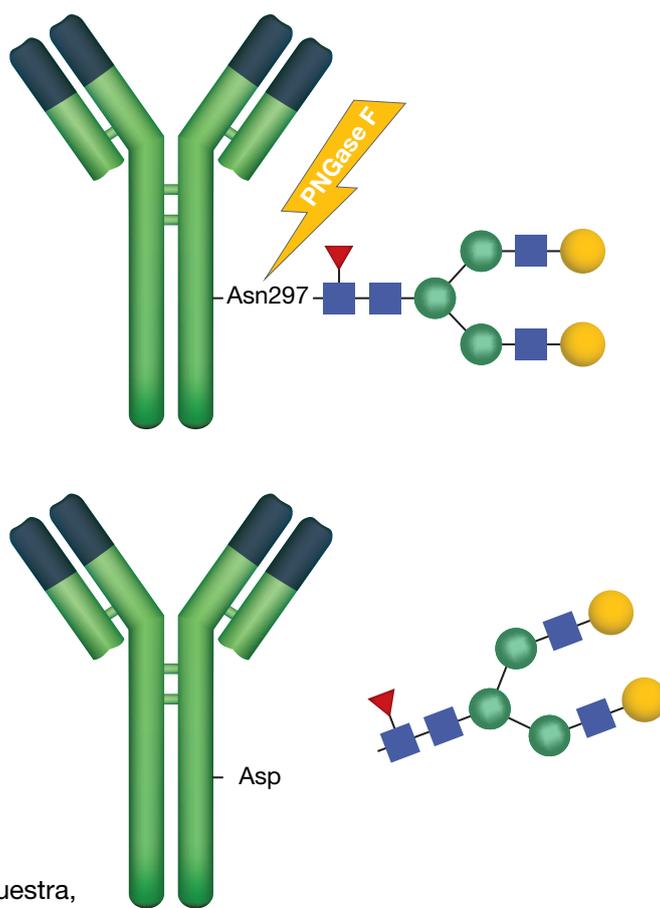


¿Cómo debo desglicosilar mi anticuerpo?

PNGase F es una endoglicosidasa que se adhiere a los N-glicanos sin preferencia, a excepción de los que están fucosilados $\alpha(1-3)$; me atrevo a asegurar que si está trabajando con insectos y plantas, felicitaciones, está haciendo un trabajo interesante en el mundo de la glicobiología.

La mayoría de los protocolos para PNGase F se desarrollaron originalmente para desglicosilar glicoproteínas complejas, es decir, proteínas con múltiples sitios de glicosilación. Por ejemplo, la fetuina bovina, un modelo común de glicoproteína, posee 18 sitios de glicosilación.¹ Por lo tanto, la mayoría de los protocolos se desarrollan usando una desglicosilación durante la noche para asegurar que la desglicosilación se complete.

¿Qué hacer si necesita tener respuestas mañana? Para una glicoproteína menos compleja como una IgG1 (2 puntos de glicosilación en la región conservada en Asn297), es aceptable un tiempo de digestión más corto. De hecho, la mayoría de los proveedores venden PNGase F formulada para una desglicosilación más rápida, en algunos casos de diez minutos o menos. Además, como los puntos de glicosilación son de fácil acceso, no se requiere la desnaturalización.²



¿Por qué debo desglicosilar mi ADC o anticuerpo antes de usar masa intacta?

Dependiendo de cuántas glicofomas diferentes pueda tener la muestra, un grado alto de complejidad en la glicosilación puede llevar a espectros bastante desordenados, algo especialmente difícil con ADC.

Por lo tanto, la desglicosilación debe poder ofrecer espectros más aceptables, para lograr así una evaluación mejor de la cantidad relativa de las diferentes especies de DAR, como también el DAR promedio.

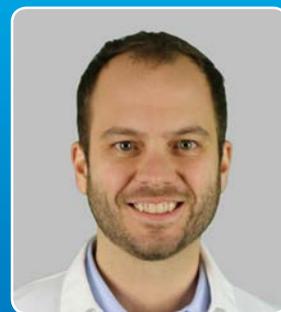
Algo importante a considerar: la desglicosilación del N-glicano producen ácido aspártico (Asp), lo que genera un cambio de masa a 1 Da. Y algo más: el buffer para reacciones con PNGase F es, típicamente, Tris, es decir, con un pH relativamente alto. Se podría observar desamidación, comúnmente con el motivo NG, por lo que podrían desearse protocolos de desglicosilación más rápidos.

1. Nwosu, Charles C., et al. "Simultaneous and Extensive Site-Specific N- and O-Glycosylation Analysis in Protein Mixtures." *Journal of Proteome Research*, vol. 10, no. 5, June 2011, pp. 2612-2624., doi:10.1021/pr2001429

2. Hosfield, C., Engel, L., Paguio, A., Surowy, T., Jones, R., Ford, M., Urh, M., Rosenblatt, M. Recombinant PNGase F for Glycoprotein Analysis. Página web de Promega Corporation. <http://www.promega.com/resources/pubhub/recombinant-pngase-f-for-glycoprotein-analysis-article/> Actualizado en 2013. Citado el 29 de enero, 2018.

**Consejos de nuestros maestros zen
en separación de proteínas**

Capacidad de carga para SEC y fase reversa



Dr. Chad Eichman

Gerente de marketing global de productos biofarmacéuticos

¿Cómo determino la capacidad de carga de una columna SEC?

Para la exclusión por tamaño, existen dos consideraciones: volumen de muestra y concentración de la muestra.

Por regla general, no cargue más del 5 % del volumen de la columna. En teoría, una columna de 300 x 4.6 mm, con un volumen de ~5 ml, tendría un volumen de inyección límite de 200 µl. En la práctica, son comunes los volúmenes de 10-30 µl.

Otra consideración importante es la concentración de la muestra; cuanto mayor sea la concentración de proteína, mayor será la viscosidad de la muestra, y esta diferencia en viscosidad puede provocar distorsión en la forma de los picos (ya sea por los efectos de la exclusión o por el empuje del solvente menos viscoso sobre un fluido más viscoso). Un buen punto de partida es 1 mg/ml, aunque las concentraciones óptimas deben determinarse de manera experimental.

¿Cuál es la capacidad de carga de las columnas bioZen™ Intact y Peptide?

Para las columnas bioZen Peptide, se pueden usar cargas similares a otras columnas RP-LC: 5-20 µg de mezcla peptídica o de digestión en una columna de 4.6 mm DI dará una buena sensibilidad (especialmente para LC-MS) para separación de péptidos. Se puede cargar hasta 50 µg de una muestra de digestión sin aumentar demasiado el ancho de los picos. Para columnas de 2.1 mm DI se debe escalar la carga de manera acorde.

En el caso de las columnas bioZen Intact, debido a su área superficial menor, la carga puede tener consecuencias drásticas sobre la forma de los picos y debe determinarse de manera experimental para obtener resultados óptimos. Para 4.6 mm DI, 5 µg es un buen punto de partida. Para 2.1 mm DI, 1 µg es un buen punto de partida. Al aumentar la carga puede aumentar el tailing y el ancho del pico de manera significativa.



Solvente orgánico y exclusión por tamaño

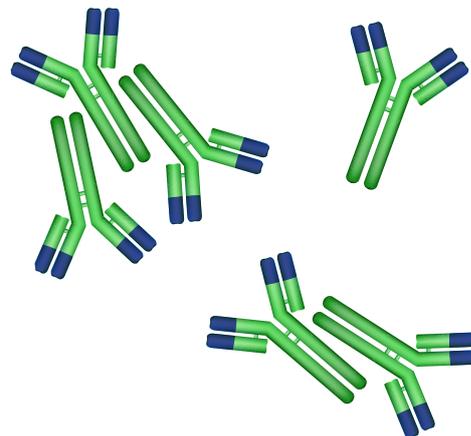


Solvente orgánico y exclusión por tamaño

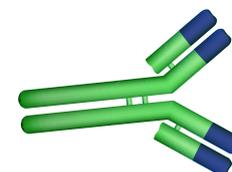
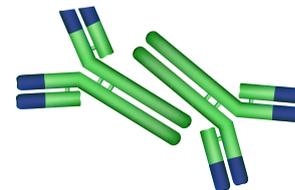
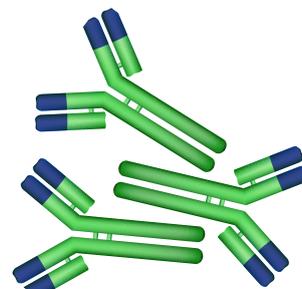
Para obtener una separación SEC “ideal” (es decir, una separación puramente entrópica, sin interacción del analito con la fase estacionaria), a menudo podría necesitarse un modificador orgánico, 5-15 % isopropanol o acetonitrilo.

Sin embargo, la pregunta ahora es si la proteína se encuentra en un estado verdaderamente nativo; uno de los contribuyentes principales de la agregación son las interacciones hidrofóbicas entre monómeros y fragmentos.

La mayoría de los métodos para ADC usan solventes orgánicos, de los cuales el 15 % IPA es el más común. Esto está ampliamente aceptado para evaluar los agregados, aunque puede ser necesario confirmar los resultados con una ultracentrifugación analítica de la velocidad de la sedimentación ortogonal (SV-AUC).



+



¿Cómo se debe limpiar una columna si habitualmente se usa para analizar muestras de proteínas?

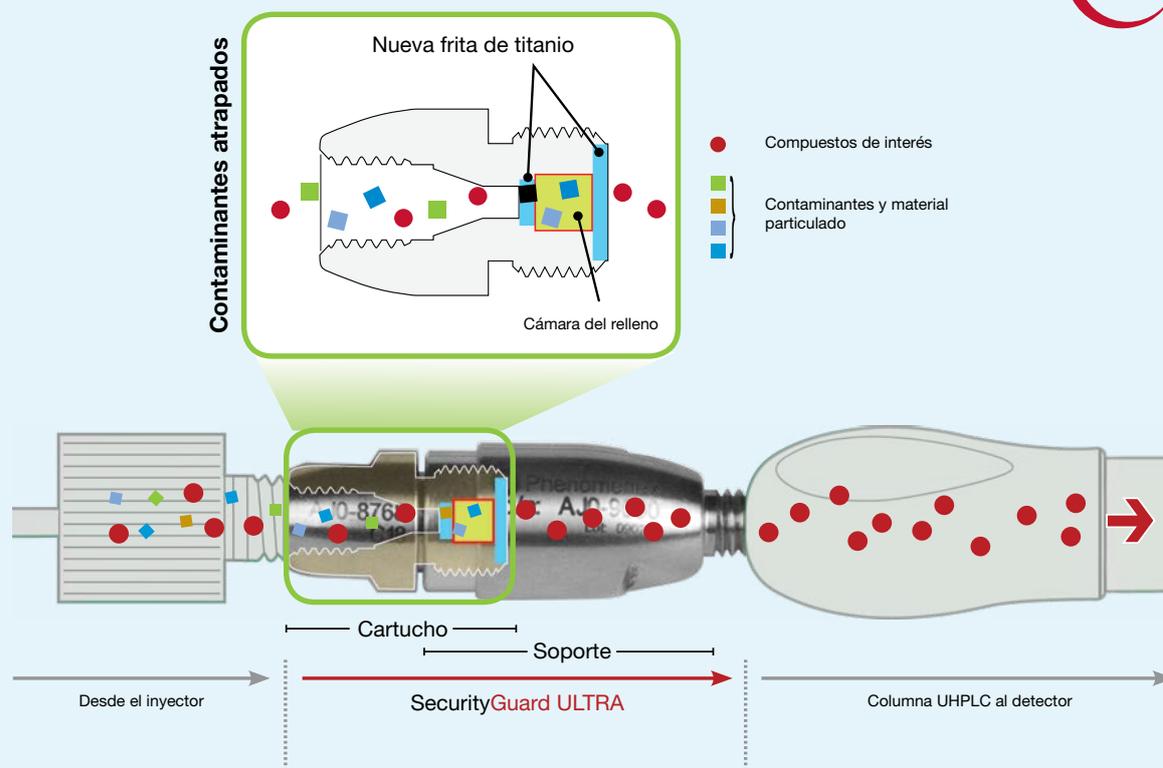
Si se sospechan interacciones iónicas fuertes entre las proteínas y la fase estacionaria, comience limpiándola con un desnaturizante como hidrocloreuro de guanidinio 6 M o 10 % DMSO. Si la proteína es relativamente hidrofóbica, comience enjuagándola con un tampón con 95-100 % agua, luego limpie las proteínas hidrofóbicas con un gradiente desde 95 % agua 5 % acetonitrilo hasta 5 % agua 95 % acetonitrilo por los 3-5 volúmenes de la columna. Durante cada paso, tenga cuidado de que las presiones no excedan los límites recomendados; ajuste los niveles de flujo según sea necesario.

Protección biocompatible columna-sistema



La manera más fácil de aumentar el rendimiento de una columna y minimizar el deterioro costoso del sistema y el detector es evitando que en la columna entren contaminantes y partículas y pasen a su LC con un sistema de protección. Los sistemas de cartuchos protectores SecurityGuard brindan esta protección verdaderamente facilitan la incorporación de este beneficio para los sistemas HPLC y UHPLC.

Sistema de cartucho protector SecurityGuard ULTRA



* Esquema del cartucho no dibujado a escala

Limpieza selectiva para volúmenes de muestra pequeños

Con su formato de placa de microelución, tanto el sorbente polimérico Strata-X para SPE como bioZen N-Glycan Clean-Up ofrecen dos grandes beneficios: mejor recuperación absoluta y mayor ahorro de tiempo.



N-Glycan Clean-Up por SPE

Una fase estacionaria HILIC que se caracteriza por una óptima retención y recuperación de N-glicanos libres e identificados.

www.phenomenex.com/GlycanSPE



Extracción en Fase Sólida Polimérica

Sorbente polimérico Strata-X para SPE

Desalinice su muestra antes de inyectarla en su columna para obtener resultados más precisos y mayor vida útil de la columna.

www.phenomenex.com/StrataX

Información para pedidos

Productos bioZen™ – Diseñados con estructura de titanio biocompatible



Columnas bioZen (mm)						Cartuchos de protección biocompatibles		
	50 x 2.1	100 x 2.1	150 x 2.1	50 x 4.6	150 x 4.6	para 2.1 mm	para 4.6 mm	Soporte
	—	—	—	—	—	3/paq.	—	c.u.
bioZen Glycan de 2.6 µm	—	00D-4773-AN	00F-4773-AN	—	—	AJO-9800	—	AJO-9000
	—	—	—	—	—	3/paq.	—	c.u.
bioZen Peptide PS-C18 de 1.6 µm	00B-4770-AN	00D-4770-AN	00F-4770-AN	—	—	AJO-9803	—	AJO-9000
	—	—	—	—	—	10/paq.	10/paq.	c.u.
bioZen Peptide PS-C18 de 3 µm	00B-4771-AN	—	00F-4771-AN	00B-4771-E0	00F-4771-E0	AJO-7605	AJO-7606	KJO-4282
	—	—	—	—	—	3/paq.	—	c.u.
bioZen Peptide XB-C18 de 1.7 µm	00B-4774-AN	00D-4774-AN	00F-4774-AN	—	—	AJO-9806	—	AJO-9000
	—	—	—	—	—	3/paq.	3/paq.	c.u.
bioZen Peptide XB-C18 de 2.6 µm	00B-4768-AN	00D-4768-AN	00F-4768-AN	00B-4768-E0	00F-4768-E0	AJO-9806	AJO-9808	AJO-9000
	—	—	—	—	—	3/paq.	3/paq.	c.u.
bioZen Intact C4 de 3.6 µm	00B-4767-AN	00D-4767-AN	00F-4767-AN	00B-4767-E0	00F-4767-E0	AJO-9809	AJO-9811	AJO-9000
bioZen Intact XB-C8 de 3.6 µm	00B-4766-AN	00D-4766-AN	00F-4766-AN	00B-4766-E0	00F-4766-E0	AJO-9812	AJO-9814	AJO-9000

	50 x 4.6	100 x 4.6	150 x 4.6	250 x 4.6	300 x 4.6		para 4.6 mm	Soporte
	—	—	—	—	—	—	3/paq.	c.u.
bioZen SEC-2 de 1.8 µm	—	—	00F-4769-E0	—	00H-4769-E0	—	AJO-9850	AJO-9000
bioZen SEC-3 de 1.8 µm	—	00D-4772-E0	00F-4772-E0	—	00H-4772-E0	—	AJO-9851	AJO-9000
	—	—	—	—	—	—	10/paq.	c.u.
bioZen WCX de 6 µm	00B-4777-E0	00D-4777-E0	00F-4777-E0	00G-4777-E0	—	—	AJO-9400	KJO-4282

Preparación de muestras

Extracción en fase sólida bioZen	Formato	Masa del sorbente	N.º de parte	Unidad	Precio
bioZen N-Glycan Clean-Up	Placas de 96 pocillos para microelución	5 mg/pocillo	8M-S009-NGA	1/caja	



garantía

Si las columnas bioZen de este folleto no proporcionan separaciones al menos equivalentes a las obtenidas con otra columna del mismo tamaño de partículas, fase y dimensiones, remítanos sus datos comparativos en un plazo de 45 días y ¡consérvese la columna GRATIS!

¡Asegure la recuperación de proteínas con accesorios biocompatibles!



Filtros de jeringa Phenex

Las membranas de PES ofrecen flujo muy rápido y unión de proteínas ultrabaja

www.phenomenex.com/SFfinder



Viales, tapas y kits Verex

Una amplia gama de productos para viales y tapas para asegurar la precisión

www.phenomenex.com/VialFinder



¡Vuelva al estado zen al analizar productos biológicos!



Alemania

t: +49 (0)6021-58830-0
anfrage@phenomenex.com

Australia

t: +61 (0)2-9428-6444
auinfo@phenomenex.com

Austria

t: +43 (0)1-319-1301
anfrage@phenomenex.com

Bélgica

t: +32 (0)2 503 4015 (en francés)
t: +32 (0)2 511 8666 (en neerlandés)
beinfo@phenomenex.com

Canadá

t: +1 (800) 543-3681
info@phenomenex.com

China

t: +86 400-606-8099
cninfo@phenomenex.com

Dinamarca

t: +45 4824 8048
nordicinfo@phenomenex.com

España

t: +34 91-413-8613
espinfo@phenomenex.com

Estados Unidos

t: +1 (310) 212-0555
info@phenomenex.com

Finlandia

t: +358 (0)9 4789 0063
nordicinfo@phenomenex.com

Francia

t: +33 (0)1 30 09 21 10
franceinfo@phenomenex.com

India

t: +91 (0)40-3012 2400
indiainfo@phenomenex.com

Irlanda

t: +353 (0)1 247 5405
eireinfo@phenomenex.com

Italia

t: +39 051 6327511
italiainfo@phenomenex.com

Luxemburgo

t: +31 (0)30-2418700
nlinfo@phenomenex.com

México

t: 01-800-844-5226
tecnicomx@phenomenex.com

Nueva Zelanda

t: +64 (0)9-4780951
nzinfo@phenomenex.com

Noruega

t: +47 810 02 005
nordicinfo@phenomenex.com

Países Bajos

t: +31 (0)30-2418700
nlinfo@phenomenex.com

Portugal

t: +351 221 450 488
ptinfo@phenomenex.com

Reino Unido

t: +44 (0)1625-501367
ukinfo@phenomenex.com

Singapur

t: +65 800-852-3944
sginfo@phenomenex.com

Suecia

t: +46 (0)8 611 6950
nordicinfo@phenomenex.com

Suiza

t: +41 61 692 20 20
swissinfo@phenomenex.com

Todos los demás países Oficina corporativa en EE. UU.

t: +1 (310) 212-0555
info@phenomenex.com



www.phenomenex.com

Los productos Phenomenex están disponibles en todo el mundo. Para informarse sobre el distribuidor en su país, póngase en contacto con Phenomenex EE.UU., Departamento Internacional en international@phenomenex.com

Términos y condiciones

Sujeto a los Términos y condiciones estándar de Phenomenex, que se pueden consultar en www.phenomenex.com/TermsAndConditions.

Marcas comerciales

Strata es una marca comercial registrada, BioTi, bioZen, SecurityGuard, Phenex y Verex son marcas comerciales de Phenomenex. SCIEEX y QTRAP son marcas registradas y ExionLC es una marca comercial de AB SCIEEX Pte. Ltd. AB SCIEEX™ se usa bajo licencia. Thermo Scientific es una marca registrada y Synchronis es una marca comercial de Thermo Fisher Scientific Inc.

Strata-X está patentada por Phenomenex. Patente de los Estados Unidos N° 7,119,145

SecurityGuard está patentada por Phenomenex. Patente de los Estados Unidos N° 6,162,362

PRECAUCIÓN: Esta patente aplica únicamente al soporte del cartucho protector de tamaño analítico; y no aplica a los soportes para SemiPrep, PREP o ULTRA, ni a cualquier otro tipo de cartucho.

PARA USO DE INVESTIGACIÓN SOLAMENTE. No debe usarse en procedimientos de diagnóstico clínico.

© 2018 Phenomenex, Inc. Todos los derechos reservados.