COLUNAS CROMATOGRAFICAS

Colunas cromatograficas pre-empacotadas para purificacao e analise de biomoleculas

Documento consolidado para exame de similaridade

Item	Modelo
1	COLUNA TROCA ANIONICA FORTE Q 1ML
2	COLUNA TROCA ANIONICA FRACA DEAE 1ML
3	COLUNA AFINIDADE IMAC NIQUEL 1ML
4	COLUNA AFINIDADE HEPARINA 1ML
5	COLUNA AFINIDADE ESTREPTAVIDINA 1ML
6	COLUNA EXCLUSAO MOLECULAR 10X300
7	COLUNA EXCLUSAO MOLECULAR 5X150
8	COLUNA EXCLUSAO MOLECULAR 3P2X300

COLUNA TROCA ANIONICA FORTE Q 1ML

1. Descricao do bem

Coluna cromatografica pre-empacotada, pronta para uso, com volume de leito de 1 mL, contendo resina de troca anionica forte de alta performance. O grupo funcional e amonio quaternario (Q), acoplado por ligacao eter quimicamente estavel a uma matriz de agarose reticulada esferica com particula mediana de aproximadamente 34 um (micrometros). O ligante permanece totalmente carregado em toda a faixa de pH, garantindo alta capacidade de ligacao e separacoes de alta resolucao.

2. Aplicacao

Purificacao de proteinas, peptideos e acidos nucleicos por cromatografia de troca ionica. A coluna de 1 mL e utilizada para triagem de metodos (definicao rapida das condicoes otimas de ligacao e eluicao), purificacoes em pequena escala, separacao de grupos, concentracao de amostras diluidas antes de cromatografia de exclusao molecular e nas etapas intermediaria e final de esquemas de purificacao.



Figura 1. Coluna pre-empacotada de 1 mL: tampa de entrada com conexao rosqueada e ponta de saida destacavel.

3. Especificacoes tecnicas da coluna

Dimensoes (diametro interno x altura)	0,7 x 2,5 cm
Volume de leito	1 mL
Vazao recomendada	1,0 mL por minuto
Vazao maxima (tampoes aquosos, temperatura ambiente)	4,0 mL por minuto
Limite de pressao do hardware	5 bar (0,5 MPa, 73 psi)
Armazenamento	Etanol a 20 por cento, de 4 a 30 graus C
Material do corpo	Polipropileno biocompativel, que nao interage com biomoleculas
Filtros superior e inferior	Polietileno poroso, permitindo altas vazoes
Fornecimento	Tampa na entrada e ponta destacavel na saida; coluna fechada, nao pode ser aberta nem reempacotada
Formas de operacao	Seringa (com adaptador luer fornecido), bomba peristaltica ou sistema automatizado de cromatografia liquida
Escalonamento	Duas ou tres colunas podem ser conectadas em serie para aumento de capacidade (a contrapressao aumenta)

4. Especificacoes tecnicas da resina

Matriz	Agarose reticulada, esferica
Tamanho de particula (d50v, mediana da distribuicao volumetrica)	Aproximadamente 34 um
Grupo funcional	Amonio quaternario, CH2N(CH3)3 com carga positiva
Tipo de troca ionica	Troca anionica forte
Capacidade ionica	0,14 a 0,20 mmol de cloreto por mL de resina
Capacidade dinamica de ligacao	Aproximadamente 70 mg de albumina serica bovina por mL de resina
Limite de exclusao (proteinas globulares)	Mr aproximadamente 1 x 10 elevado a 7
Estabilidade quimica	Tampoes aquosos usuais; hidroxido de sodio 1,0 M e acido acetico 1,0 M (somente para limpeza); ureia 8 M; cloridrato de guanidina 6 M; isopropanol a 30 por cento; etanol a 70 por cento

Estabilidade de pH, operacao	2 a 12
Estabilidade de pH, limpeza no local (CIP)	2 a 14
Faixa de pH com ligante totalmente carregado	Toda a faixa de pH
Vazao maxima recomendada em grande escala	90 cm por hora

5. Desempenho comprovado

Concentracao de imunoglobulina G humana na coluna de 1 mL, com aplicacao a 0,5 mL por minuto e eluicao com seringa. O rendimento e elevado mesmo para amostras muito diluidas:

Conc. amostra (ug por mL)	Volume amostra (mL)	Conc. eluida (ug por mL)	Volume eluido (mL)	Fator de concentracao	Rendimento (pct)
23	450	3180	3,0	150	92
10	100	4700	2,0	50	93
1010	10	3370	3,0	3	100

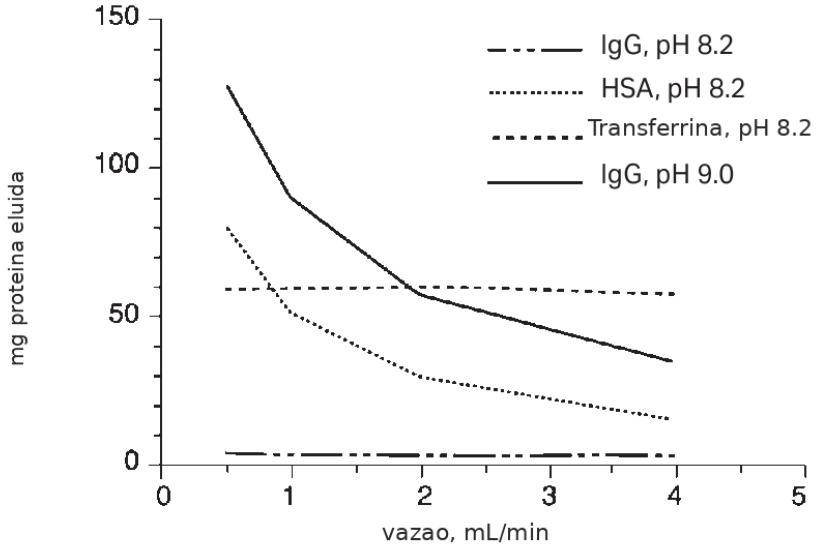


Figura 2. Capacidade de ligacao de imunoglobulina G humana, albumina serica humana e transferrina humana em diferentes valores de pH e vazoes, em coluna de troca anionica forte Q de 1 mL. Amostra aplicada ate 5 pct de ruptura, lavagem com Tris-HCl 20 mM e eluicao com Tris-HCl 20 mM com NaCl 1 M.

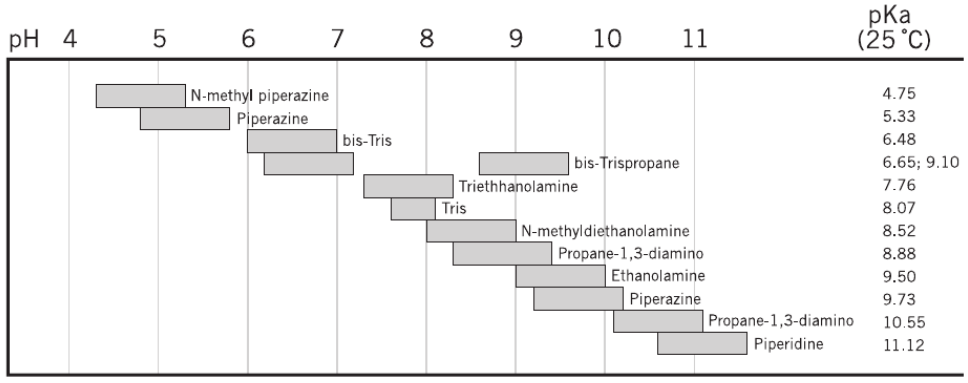


Figura 3. Substancias tampao recomendadas para cromatografia de troca anionica, com faixas de pH de uso e valores de pKa a 25 graus C.



Operacao com seringa: (A) preparo dos tampoes e da amostra, remocao da tampa de entrada e da ponta de saida, lavagem e equilibrio; (B) aplicacao da amostra e inicio da coleta de fracoes; (C) lavagem, eluicao e continuidade da coleta de fracoes.

6. Caracteristicas tecnicas distintivas

- Particula de aproximadamente 34 um em agarose reticulada, que proporciona separacoes de alta resolucao com alta capacidade e alta recuperacao.
- Ligante de troca anionica forte totalmente carregado em toda a faixa de pH, com operacao de pH 2 a 12.
- Alta estabilidade quimica, permitindo limpeza no local com hidroxido de sodio 1,0 M e sanitizacao regular.
- Capacidade de concentrar amostras diluidas em ate 150 vezes com rendimento de 92 a 100 pct.
- Resultados reprodutiveis e escalonamento direto pela conexao de colunas em serie ou transferencia para colunas maiores com a mesma resina.

7. Itens fornecidos

Itens fornecidos com cada embalagem: adaptador de conexao padrao de um dezesseis avos de polegada macho para luer femea (conexao a seringa), tampoes de vedacao femea para a saida da coluna e instrucoes de operacao.

COLUNA TROCA ANIONICA FRACA DEAE 1ML

1. Descricao do bem

Coluna cromatografica pre-empacotada, pronta para uso, com volume de leito de 1 mL, contendo resina de troca anionica fraca com grupo funcional dietilaminoetil (DEAE) imobilizado em matriz robusta de agarose reticulada a 6 pct, de particulas esfericas, com excelentes propriedades de fluxo e alta capacidade de carga.

2. Aplicacao

Triagem de metodos, separacao de grupos, concentracao de amostras e limpeza de amostras contendo biomoleculas carregadas negativamente, por cromatografia de troca anionica. Utilizada na purificacao de proteinas quando a amostra e estavel em pH acima do seu ponto isoeletrico.



Figura 1. Coluna pre-empacotada de 1 mL: tampa de entrada com conexao rosqueada e ponta de saida destacavel.

3. Especificacoes tecnicas da coluna

Dimensoes (diametro interno x altura)	0,7 x 2,5 cm
Volume de leito	1 mL
Vazao de operacao recomendada	1 mL por minuto
Vazao maxima recomendada (agua, temperatura ambiente)	4 mL por minuto
Limite de pressao do hardware	5 bar (0,5 MPa)
Armazenamento	Etanol a 20 por cento, de 4 a 30 graus C
Material do corpo	Polipropileno biocompativel, que nao interage com biomoleculas
Filtros superior e inferior	Polietileno poroso, permitindo altas vazoes
Fornecimento	Tampa na entrada e ponta destacavel na saida; coluna fechada, nao pode ser aberta nem reempacotada
Formas de operacao	Seringa (com adaptador luer fornecido), bomba peristaltica ou sistema automatizado de cromatografia liquida
Escalonamento	Duas ou tres colunas podem ser conectadas em serie para aumento de capacidade (a contrapressao aumenta)

4. Especificacoes tecnicas da resina

Matriz	Agarose reticulada a 6 pct, esferica
Tipo de troca ionica	Troca anionica fraca
Grupo funcional	Dietilaminoetil, N(C2H5)2H com carga positiva
Capacidade ionica	0,11 a 0,16 mmol de cloreto por mL de resina
Tamanho de particula (d50v)	Aproximadamente 90 um
Capacidade dinamica de ligacao	Aproximadamente 110 mg de albumina serica humana por mL de resina
Estabilidade de pH, operacao	2 a 12
Estabilidade de pH, limpeza no local (CIP)	2 a 14
Faixa de pH com ligante totalmente carregado	Abaixo de pH 9
Estabilidade quimica	Tampoes aquosos usuais; hidroxido de sodio 1,0 M (somente para limpeza); ureia 8 M; cloridrato de guanidina 6 M; etanol a 70 por cento
Evitar	Agentes oxidantes, detergentes anionicos e tampoes anionicos

5. Principio de funcionamento

A ligacao ocorre por interacao eletrostatica reversivel entre a biomolecula e o grupo funcional de carga oposta. Em pH acima do ponto isoeletrico, a biomolecula possui carga liquida negativa e liga-se ao trocador anionico. O pH inicial recomendado e de pelo menos 1 unidade acima do ponto isoeletrico da substancia alvo, com forca ionica do tampao inicial abaixo de 5 mS por cm. A eluicao e feita por gradiente de sal (tampao inicial com NaCl 1 M), continuo ou em degraus.

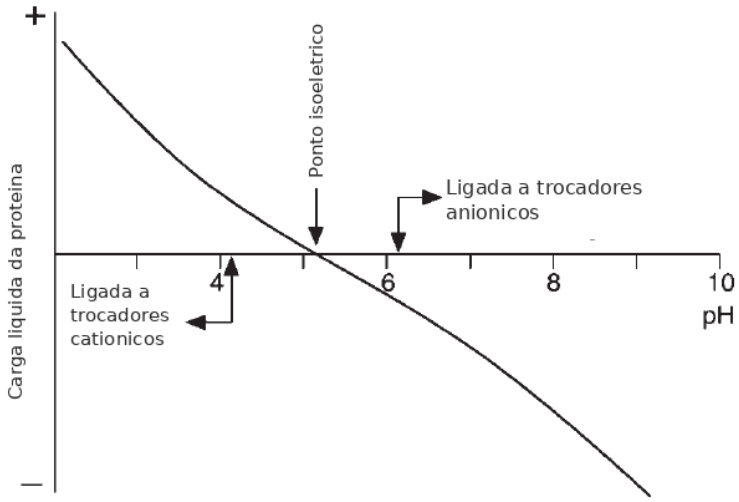


Figura 2. Carga liquida de uma proteina em funcao do pH: abaixo do ponto isoeletrico a proteina liga-se a trocadores cationicos; acima, a trocadores anionicos.

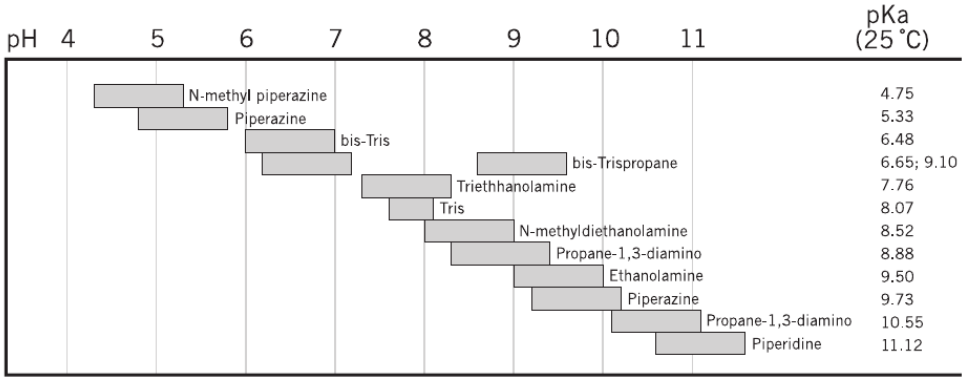


Figura 3. Substancias tampao recomendadas para cromatografia de troca anionica, com faixas de pH de uso e valores de pKa a 25 graus C.



Operacao com seringa: (A) preparo dos tampoes e da amostra, remocao da tampa de entrada e da ponta de saida, lavagem e equilibrio; (B) aplicacao da amostra e inicio da coleta de fracoes; (C) lavagem, eluicao e continuidade da coleta de fracoes.

6. Caracteristicas tecnicas distintivas

- Alta capacidade dinamica de ligacao, de aproximadamente 110 mg de albumina serica humana por mL de resina.
- Matriz de agarose reticulada a 6 pct com excelentes propriedades de fluxo e alta robustez mecanica.

- Resistencia a hidroxido de sodio 1,0 M, ureia 8 M e cloridrato de guanidina 6 M, permitindo limpeza eficiente e reutilizacao.
- Escalonamento direto para colunas maiores e escala de processo com a mesma resina.

7. Itens fornecidos

Itens fornecidos com cada embalagem: adaptador de conexao padrao de um dezesseis avos de polegada macho para luer femea (conexao a seringa), tampoes de vedacao femea para a saida da coluna e instrucoes de operacao.

COLUNA AFINIDADE IMAC NIQUEL 1ML

1. Descricao do bem

Coluna cromatografica pre-empacotada, pronta para uso, com volume de leito de 1 mL, contendo meio de cromatografia de afinidade por ion metalico imobilizado (IMAC). O meio e composto por esferas de agarose altamente reticulada a 6 pct, com particula media de 34 um, nas quais foi imobilizado um grupo quelante carregado com ions niquel bivalentes. O meio retem seletivamente proteinas recombinantes marcadas com cauda de histidina, separando-as de contaminantes celulares ou de sistemas livres de celulas.

2. Aplicacao

Purificacao preparativa, em etapa unica, de proteinas recombinantes marcadas com cauda de histidina (tipicamente seis residuos de histidina em serie), expressas em sistemas celulares ou livres de celulas, em condicoes nativas ou desnaturantes.



Figura 1. Colunas pre-empacotadas do tipo descrito, contendo o meio de afinidade com niquel (coloracao azul esverdeada caracteristica do meio carregado com niquel).

3. Especificacoes tecnicas

Matriz	Agarose esferica altamente reticulada a 6 pct
Tamanho medio de particula	34 um
Capacidade de ion metalico	Aproximadamente 15 umol de niquel por mL de meio
Capacidade dinamica de ligacao	No minimo 40 mg de proteina com cauda de seis histidinas por mL de meio
Dimensoes (diametro interno x altura)	0,7 x 2,5 cm
Volume de leito	1 mL
Vazao recomendada	1 mL por minuto
Vazao maxima	4 mL por minuto
Limite de pressao do hardware	5 bar (0,5 MPa, 70 psi)
Compatibilidade durante o uso	Estavel em todos os tampoes, agentes redutores, desnaturantes e detergentes usualmente empregados
Estabilidade quimica (meio sem niquel)	HCl 0,01 M e NaOH 0,1 M por uma semana a 40 graus C; NaOH 1 M e acido acetico a 70 pct por 12 h; SDS a 2 pct por 1 h; 2-propanol a 30 pct por 30 min
Evitar nos tampoes	Agentes quelantes, como EDTA, EGTA e citrato
Estabilidade de pH, limpeza	2 a 14
Estabilidade de pH, trabalho	3 a 12
Armazenamento	Etanol a 20 pct, de 4 a 30 graus C
Material do corpo	Polipropileno biocompativel, que nao interage com biomoleculas
Filtros superior e inferior	Polietileno poroso, permitindo altas vazoes

Fornecimento	Tampa na entrada e ponta destacavel na saida; coluna fechada, nao pode ser aberta nem reempacotada
Formas de operacao	Seringa (com adaptador luer fornecido), bomba peristaltica ou sistema automatizado de cromatografia liquida
Escalonamento	Duas ou tres colunas podem ser conectadas em serie para aumento de capacidade (a contrapressao aumenta)

4. Compatibilidade quimica comprovada

Agentes redutores e desnaturantes nos quais o meio e estavel, no minimo nas concentracoes indicadas: ditioeritritol (DTE) 5 mM; ditiotreitol (DTT) 5 mM; beta-mercaptoetanol 20 mM; TCEP 5 mM; glutationa reduzida 10 mM; ureia 8 M e cloridrato de guanidina 6 M (testados por uma semana a 40 graus C).

Detergentes, aditivos e tampoes compativeis, no minimo nas concentracoes indicadas: detergente nao ionico octilfenol etoxilado 2 pct; polissorbato 20 a 2 pct; nonilfenol etoxilado 2 pct; colato 2 pct; CHAPS 1 pct; imidazol 500 mM; etanol 20 pct; glicerol 50 pct; sulfato de sodio 100 mM; NaCl 1,5 M; EDTA 1 mM; citrato 60 mM; fosfato de sodio 50 mM pH 7,4; Tris-HCl 100 mM pH 7,4; Tris-acetato 100 mM pH 7,4; HEPES 100 mM pH 7,4; MOPS 100 mM pH 7,4; acetato de sodio 100 mM pH 4.

5. Desempenho comprovado

Parametro	Meio ofertado	Meio de referencia de mercado
Liberacao de niquel (exposicao a pH 4,0)	Inferior a 5 pct	Media de 9 pct
Capacidade dinamica, proteina de ligacao a maltose com cauda de histidina, temperatura ambiente	68 mg por mL	13 mg por mL
Capacidade dinamica, mesma proteina, 4 graus C	67 mg por mL	8 mg por mL
Capacidade em ureia 8 M, proteina de ligacao a maltose	10 mg por mL	0 mg por mL
Capacidade em ureia 8 M, proteina verde fluorescente	59 mg por mL	9 mg por mL
Concentracao de proteina no pool eluido	1,60 mg por mL	0,91 mg por mL
Niquel no pool eluido	185 ug por L	231 ug por L
Razao molar niquel por proteina	0,055	0,121

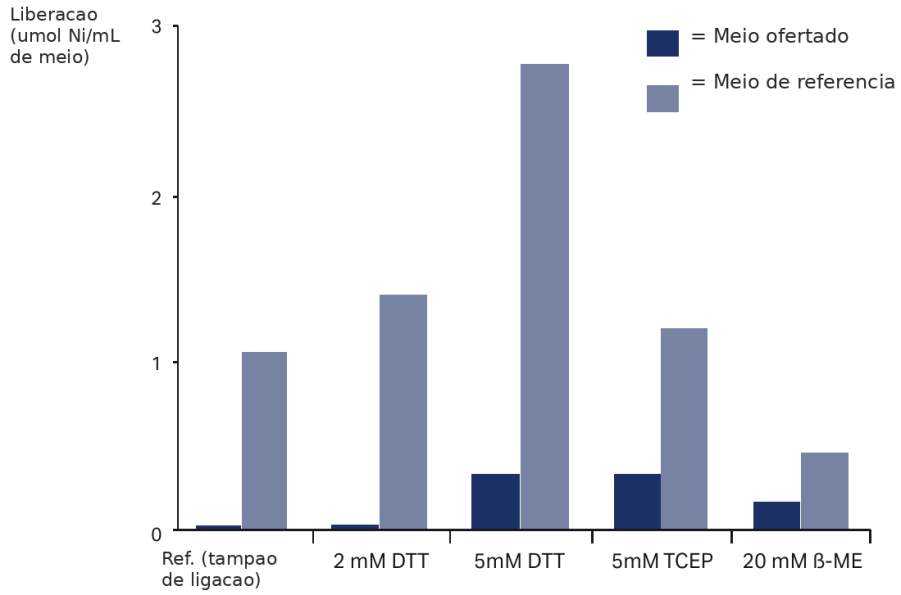


Figura 2. Liberacao de niquel sob condicoes redutoras (60 volumes de coluna): a liberacao do meio ofertado e desprezivel, ate dez vezes menor que a do meio de referencia.

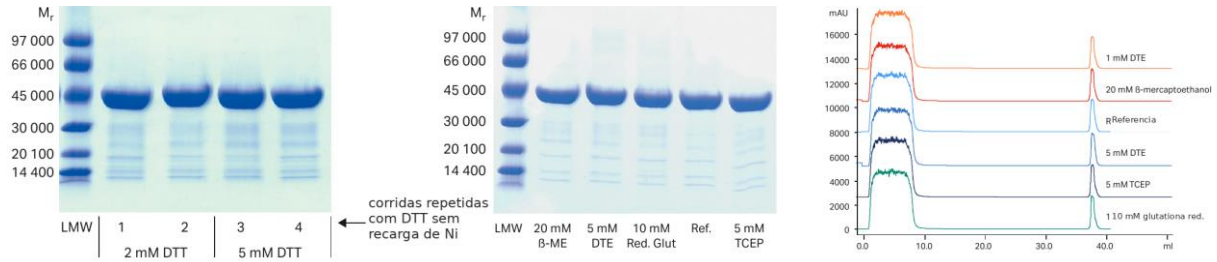


Figura 3. Agentes redutores nao afetam a pureza nem a recuperacao: eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) das fracoes eluidas em corridas com DTT, DTE, beta-mercaptoetanol, glutationa reduzida e TCEP, e cromatogramas correspondentes.



Operacao com seringa: (A) preparo dos tampoes e da amostra, remocao da tampa de entrada e da ponta de saida, lavagem e equilibrio; (B) aplicacao da amostra e inicio da coleta de fracoes; (C) lavagem, eluicao e continuidade da coleta de fracoes.

6. Caracteristicas tecnicas distintivas

- Liberacao de niquel desprezivel (inferior a 5 pct), preservando a atividade da proteina purificada e reduzindo sua precipitacao.
- Capacidade dinamica de ligacao muito elevada (65 a 68 mg por mL), cerca de cinco vezes superior a de meio de referencia de mercado.
- Mantem alta capacidade em ureia 8 M, permitindo purificacao em condicoes desnaturantes.
- Compativel com agentes redutores (DTT e DTE ate 5 mM), sem alteracao de cor do meio.
- Rendimento de proteina cerca de duas vezes superior ao de meio de referencia em extrato celular.
- Recomendacao de uso: imidazol de 20 a 40 mM na amostra e no tampao de ligacao para maxima pureza.

7. Itens fornecidos

Itens fornecidos com cada embalagem: adaptador de conexao padrao de um dezesseis avos de polegada macho para luer femea (conexao a seringa), tampoes de vedacao femea para a saida da coluna e instrucoes de operacao.

COLUNA AFINIDADE HEPARINA 1ML

1. Descricao do bem

Coluna cromatografica pre-empacotada, pronta para uso, com volume de leito de 1 mL, contendo meio de afinidade de alta performance com heparina imobilizada por ligacao covalente em esferas de agarose altamente reticulada a 6 pct, com particula media de 34 um. A heparina e um glicosaminoglicano sulfatado de ocorrencia natural, extraido do proteoglicano nativo da mucosa intestinal suina, formado por unidades alternadas de acido uronico e D-glicosamina, em sua maioria substituidas por um ou dois grupos sulfato.

2. Aplicacao

Isolamento e purificacao de antitrombina III e outros fatores de coagulacao, lipoproteinas, lipases, fatores de sintese proteica, hormonios, receptores de esteroides, enzimas de ligacao a acidos nucleicos e interferon. A heparina imobilizada atua como ligante de afinidade (fatores de crescimento, antitrombina III) e como trocador cationico, devido ao alto teor de grupos sulfato (proteinas de ligacao a acidos nucleicos). A eluicao e normalmente feita por gradiente de sal.



Figura 1. Colunas pre-empacotadas do tipo descrito contendo o meio de afinidade com heparina.

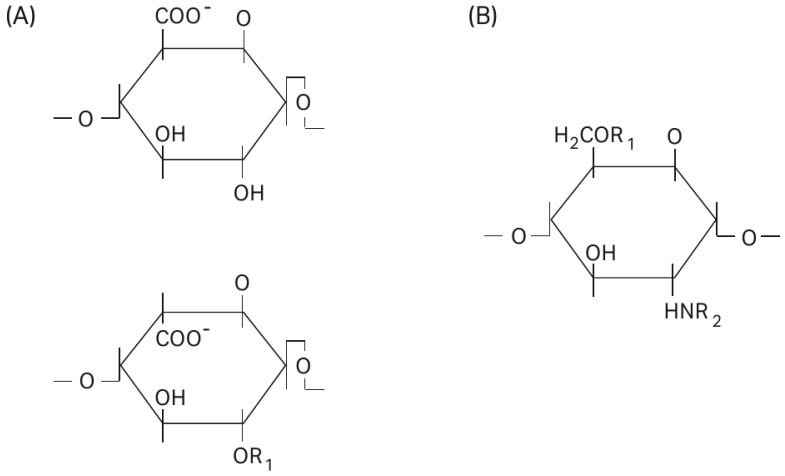


Figura 2. Estrutura do polissacarideo de heparina: acido hexuronico (A) e D-glicosamina (B) alternados. O acido hexuronico pode ser acido D-glicuronico ou seu epimero C-5, acido L-iduronico. R1 = H ou SO3 com carga negativa; R2 = SO3 com carga negativa ou COCH3.

3. Especificacoes tecnicas

Dimensoes (diametro interno x altura)	0,7 x 2,5 cm
Volume de leito	1 mL
Ligante	Heparina (origem: mucosa intestinal suina)
Concentracao do ligante	Aproximadamente 10 mg por mL
Capacidade de ligacao	Aproximadamente 3 mg de antitrombina III por mL de meio
Tamanho medio de particula	34 um
Estrutura da particula	Agarose esferica altamente reticulada a 6 pct
Limite de pressao do hardware	5 bar (0,5 MPa, 70 psi)
Vazao maxima (agua, temperatura ambiente)	4 mL por minuto
Vazao recomendada	1 mL por minuto
Estabilidade de pH, trabalho	5 a 10
Estabilidade de pH, limpeza	5 a 10
Temperatura de trabalho	4 graus C ate temperatura ambiente
Temperatura de armazenamento	4 a 30 graus C
Solucao de armazenamento	Etanol a 20 pct
Material do corpo	Polipropileno biocompativel, que nao interage com biomoleculas
Filtros superior e inferior	Polietileno poroso, permitindo altas vazoes
Fornecimento	Tampa na entrada e ponta destacavel na saida; coluna fechada, nao pode ser aberta nem reempacotada
Formas de operacao	Seringa (com adaptador luer fornecido), bomba peristaltica ou sistema automatizado de cromatografia liquida
Escalonamento	Duas ou tres colunas podem ser conectadas em serie para aumento de capacidade (a contrapressao aumenta)

4. Biomoleculas purificaveis

Enzimas (proteases de mastocitos, lipase lipoproteica, enzimas de coagulacao, superoxido dismutase); inibidores de serino proteases (antitrombina III, nexinas de protease); fatores de crescimento (fator de crescimento de fibroblastos, fator de crescimento de celulas de Schwann, fator de crescimento de celulas endoteliais); proteinas de matriz extracelular (fibronectina, vitronectina, laminina, trombospondina, colagenos); proteinas de ligacao a acidos nucleicos (fatores de iniciacao e de alongamento, endonucleases de restricao, DNA ligase, DNA e RNA polimerases); receptores hormonais (de estrogeno e de androgeno) e lipoproteinas.

5. Desempenho comprovado

Purificacao de antitrombina III de plasma bovino em coluna de 1 mL: 30 mL de plasma diluido em Tris 0,1 M, citrato 0,01 M, NaCl 0,225 M, pH 7,4; vazao 1,0 mL por minuto; eluicao em degraus com Tris 0,1 M, acido citrico 0,01 M, NaCl 2 M, pH 7,4. Foram eluidos 2,9 mg de antitrombina III no segundo pico.

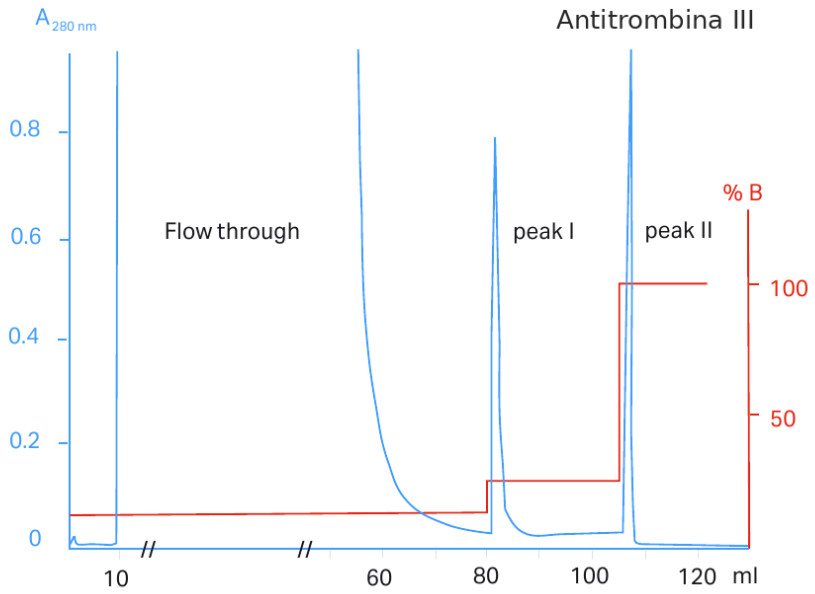


Figura 3. Cromatograma da purificacao de antitrombina III de plasma bovino: fracao nao ligada, pico I e pico II (antitrombina III); linha vermelha indica a porcentagem de tampao de eluicao.

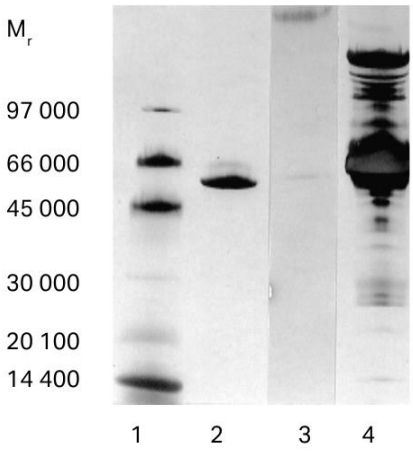


Figura 4. Eletroforese SDS-PAGE (coloracao com prata): 1, marcadores de baixa massa molecular; 2, pico II (antitrombina III); 3, pico I; 4, material nao ligado.



Operacao com seringa: (A) preparo dos tampoes e da amostra, remocao da tampa de entrada e da ponta de saida, lavagem e equilibrio; (B) aplicacao da amostra e inicio da coleta de fracoes; (C) lavagem, eluicao e continuidade da coleta de fracoes.

6. Caracteristicas tecnicas distintivas

- Meio de alta performance com particula de 34 um, proporcionando cinetica rapida e alta capacidade dinamica.
- Duplo modo de interacao (afinidade especifica e troca cationica), permitindo separar proteinas com pequenas diferencas de ligacao.
- Ampla faixa de biomoleculas purificaveis, de fatores de coagulacao a enzimas de acidos nucleicos.

- Operacao simples com seringa, bomba ou sistema automatizado, com escalonamento por conexao de colunas em serie.

7. Itens fornecidos

Itens fornecidos com cada embalagem: adaptador de conexao padrao de um dezesseis avos de polegada macho para luer femea (conexao a seringa), tampoes de vedacao femea para a saida da coluna e instrucoes de operacao.

COLUNA AFINIDADE ESTREPTAVIDINA 1ML

1. Descricao do bem

Coluna cromatografica pre-empacotada, pronta para uso, com volume de leito de 1 mL, contendo meio de afinidade com estreptavidina purificada, isolada de Streptomyces avidinii, imobilizada em matriz de agarose rigida, altamente reticulada e esferica, com boas propriedades de fluxo e alta estabilidade fisica e quimica.

2. Aplicacao

Ligacao rapida e confiavel de substancias biotiniladas. Qualquer substancia biotinilada ligada via estreptavidina pode ser usada como ligante em purificacao por afinidade, permitindo ao usuario construir seus proprios meios de afinidade. Aplicacoes incluem a purificacao de antigenos por meio de complexos anticorpo biotinilado e antigeno, e a purificacao de substancias iminobiotiniladas, eluidas em pH 4.



Figura 1. Colunas pre-empacotadas do tipo descrito e frasco do meio de afinidade com estreptavidina.

3. Especificacoes tecnicas

Dimensoes (diametro interno x altura)	0,7 x 2,5 cm
Volume de leito	1 mL
Vazao recomendada	1 mL por minuto
Vazao maxima	4 mL por minuto
Limite de pressao do hardware	5 bar (70 psi, 0,5 MPa)
Ligante	Estreptavidina
Capacidade de ligacao	Biotina: superior a 300 nmol por mL de meio; albumina serica bovina biotinilada: 6 mg por mL de meio
Tamanho medio de particula	34 um
Estrutura da particula	Agarose esferica altamente reticulada
Estabilidade de pH, trabalho	2 a 10,5
Estabilidade de pH, armazenamento	4 a 9
Temperatura de trabalho	4 graus C ate temperatura ambiente
Temperatura de armazenamento	4 a 8 graus C
Solucao de armazenamento	Etanol a 20 pct

Material do corpo	Polipropileno biocompativel, que nao interage com biomoleculas
Filtros superior e inferior	Polietileno poroso, permitindo altas vazoes
Fornecimento	Tampa na entrada e ponta destacavel na saida; coluna fechada, nao pode ser aberta nem reempacotada
Formas de operacao	Seringa (com adaptador luer fornecido), bomba peristaltica ou sistema automatizado de cromatografia liquida
Escalonamento	Duas ou tres colunas podem ser conectadas em serie para aumento de capacidade (a contrapressao aumenta)

4. Desempenho comprovado

Capacidade de ligacao determinada com albumina serica bovina biotinilada a 1 mg por mL em tampao fosfato de sodio 20 mM com NaCl 0,15 M, pH 7,5, a 1 mL por minuto: ate 6 mg por mL de meio antes de 10 pct de ruptura.

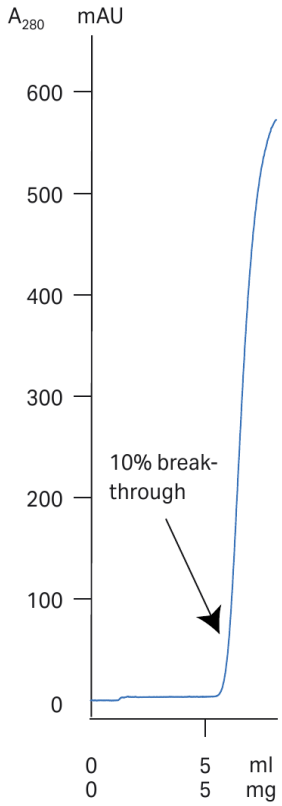


Figura 2. Curva de ruptura de albumina serica bovina biotinilada na coluna de 1 mL; a seta indica o ponto de 10 pct de ruptura (eixo inferior em mL e em mg aplicados).

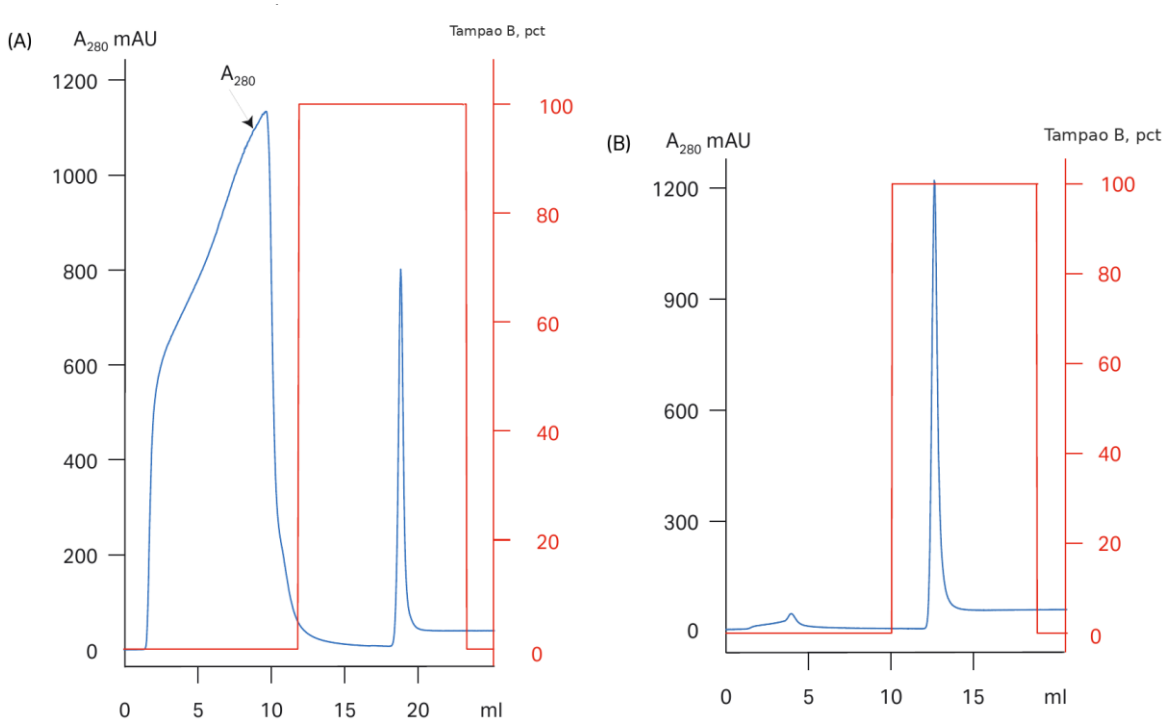


Figura 3. Purificacao de albumina serica bovina iminobiotinilada: (A) 9,0 mL de mistura de albumina e albumina iminobiotinilada, ligacao em carbonato de amonio 50 mM, NaCl 0,5 M, pH 10,0 e eluicao em acetato de amonio 50 mM, NaCl 0,5 M, pH 4,0; (B) recromatografia de 3,0 mL do eluato de A apos troca de tampao.



Operacao com seringa: (A) preparo dos tampoes e da amostra, remocao da tampa de entrada e da ponta de saida, lavagem e equilibrio; (B) aplicacao da amostra e inicio da coleta de fracoes; (C) lavagem, eluicao e continuidade da coleta de fracoes.

5. Caracteristicas tecnicas distintivas

- Alta capacidade de ligacao: superior a 300 nmol de biotina e 6 mg de proteina biotinilada por mL de meio.
- Ligacao estreptavidina e biotina de altissima afinidade, base para construcao de meios de afinidade personalizados.
- Permite eluicao em condicoes suaves (pH 4) quando utilizada com substancias iminobiotiniladas.
- Matriz rigida e altamente reticulada com alta estabilidade fisica e quimica.

6. Itens fornecidos

Itens fornecidos com cada embalagem: adaptador de conexao padrao de um dezesseis avos de polegada macho para luer femea (conexao a seringa), tampoes de vedacao femea para a saida da coluna e instrucoes de operacao.

COLUNA EXCLUSAO MOLECULAR 10X300

1. Descricao do bem

Coluna cromatografica pre-empacotada, em vidro de alta performance, com leito de 10 x 300 mm (diametro x altura) e volume de leito de aproximadamente 24 mL, contendo resina de exclusao molecular (filtracao em gel) de alta resolucao, composta por composito de agarose reticulada e dextrana com particula mediana de 8,6 um. Destinada a separacao e caracterizacao de proteinas com massa molecular (Mr) entre 10 000 e 600 000.

2. Aplicacao

Purificacao preparativa em pequena escala (miligramas) e analise de alta resolucao com volumes de amostra de 25 a 500 uL. Aplicacoes incluem purificacao de proteinas, analise de agregados, estudo de formacao de complexos e triagem de amostras. A tecnica separa moleculas por diferenca de tamanho, sem ligacao a resina, permitindo distinguir formas monomericas, oligomericas e agregadas da proteina alvo.



Figura 1. Colunas de vidro pre-empacotadas do tipo descrito, com conexoes nas extremidades para sistemas de cromatografia de alta performance.

3. Especificacoes tecnicas da coluna

Dimensoes do leito (diametro x altura)	10 x 300 mm
Volume aproximado do leito	24 mL
Volume de amostra recomendado	25 a 500 uL
Pratos teoricos	48 000 por metro
Vazao recomendada	0,75 mL por minuto
Vazao maxima (agua a 25 graus C)	1,8 mL por minuto
Pressao tipica sobre a coluna na vazao maxima	3,0 MPa
Material da coluna	Vidro de alta performance, permitindo inspecao visual do leito; todas as partes biocompativeis
Conexoes	Conexoes para sistemas de cromatografia liquida de alta performance

4. Especificacoes tecnicas da resina

Matriz	Composito de agarose reticulada e dextrana

Faixa de fracionamento	Mr 10 000 a 600 000 (proteinas globulares); massa molecular de pico 1000 a 100 000 (dextranas)
Limite de exclusao	Mr 1 300 000 (proteinas globulares)
Tamanho de particula (d50v)	8,6 um
Estabilidade de pH, operacao	3 a 12
Estabilidade de pH, limpeza no local (CIP)	1 a 14
Temperatura de operacao	4 a 40 graus C
Temperatura de armazenamento	4 a 30 graus C
Estabilidade quimica	Agentes caotropicos (cloridrato de guanidina 6 M, ureia 8 M) e detergentes como SDS ate 2 pct; ciclos curtos de limpeza (cerca de 3 h) com HCl 0,1 M, NaOH 1,0 M ou acetonitrila a 30 pct sem perda de desempenho

5. Comparativo das configuracoes da familia

Leito	Volume (mL)	Amostra (uL)	Pratos por m	Vazao rec. (mL por min)	Vazao max. (mL por min)	Pressao (MPa)
10 x 300 mm	24	25 a 500	48 000	0,75	1,8	3,0
5 x 150 mm	3	4 a 50	42 000	0,45	0,75	3,0
3,2 x 300 mm	2,4	4 a 50	48 000	0,075	0,15	2,0

O presente catalogo refere-se exclusivamente a configuracao de 10 x 300 mm.

6. Desempenho comprovado

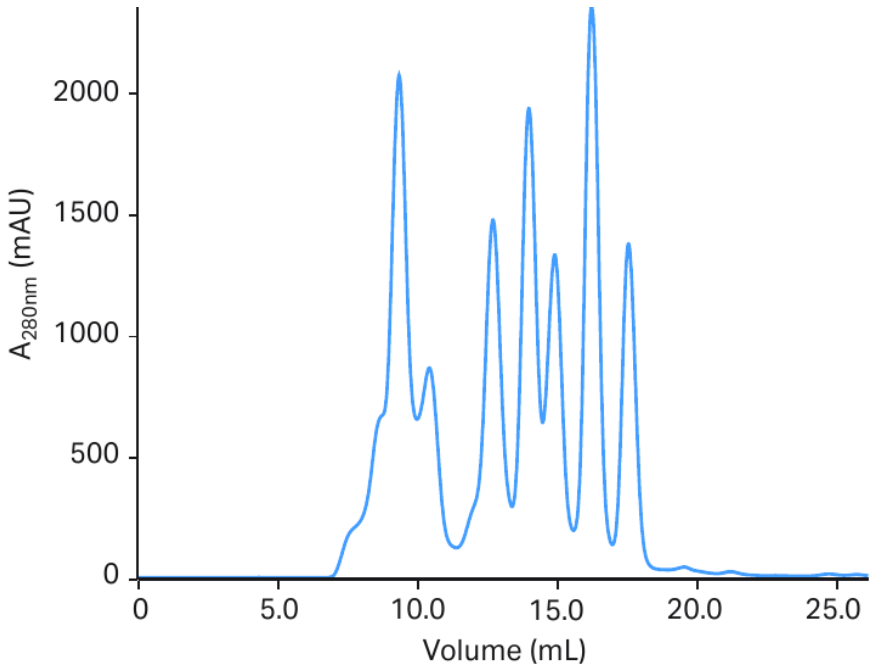


Figura A. Separacao com alta carga de amostra (500 uL, 9,2 mg de proteina total) de sete proteinas modelo: tireoglobulina (Mr 669 000), ferritina (440 000), aldolase (158 000), conalbumina (75 000), ovalbumina (44 000), anidrase carbonica (29 000) e ribonuclease A (13 700). Tampao PBS pH 7,4; vazao 0,5 mL por minuto.

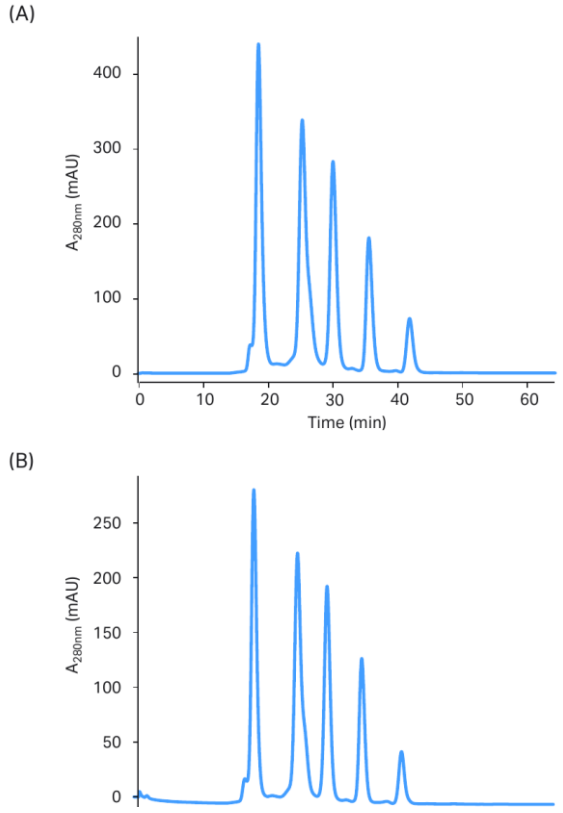


Figura B. Reprodutibilidade: separacao de proteinas padrao (A) na corrida inicial e (B) apos 150 corridas com amostra de imunoglobulina G e ciclos de limpeza com NaOH 1 M.

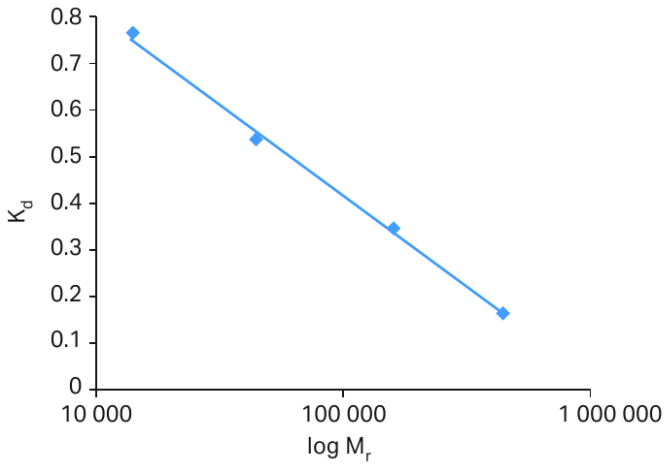


Figura C. Curva de seletividade da resina: a inclinacao linear e acentuada indica separacao de alta resolucao na faixa de Mr 10 000 a 600 000.

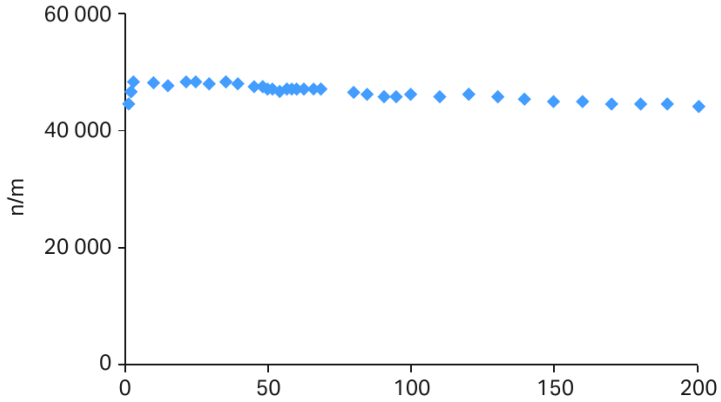


Figura D. Numero de pratos teoricos por metro em funcao do numero de injecoes, demonstrando eficiencia estavel ao longo de 200 injecoes.

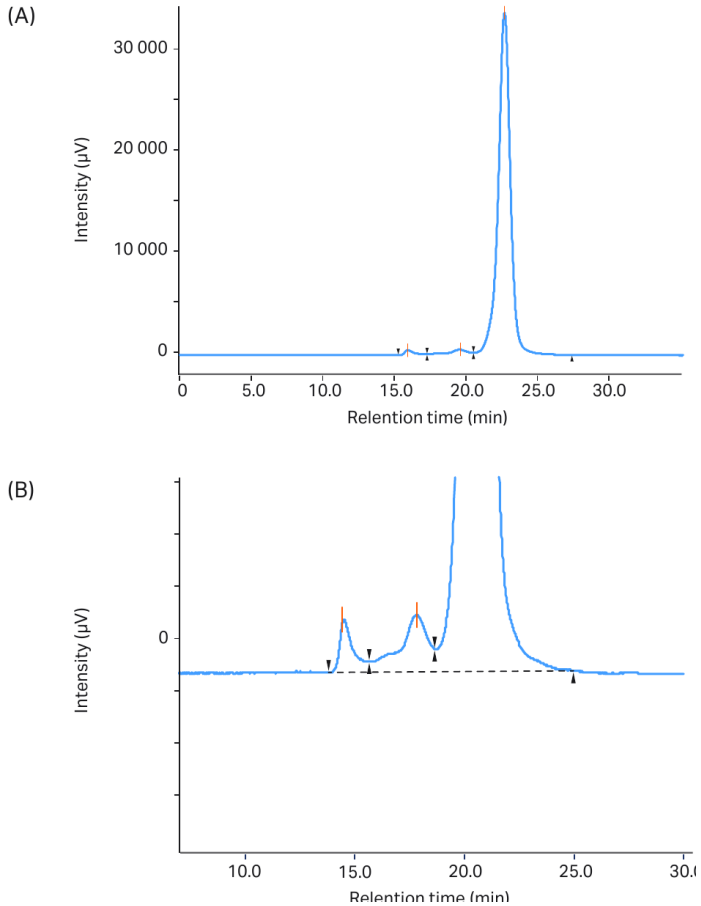


Figura E. Analise de agregados de anticorpo monoclonal IgG1 de camundongo: (A) cromatograma completo; (B) ampliacao mostrando agregados, dimero e monomero bem separados.

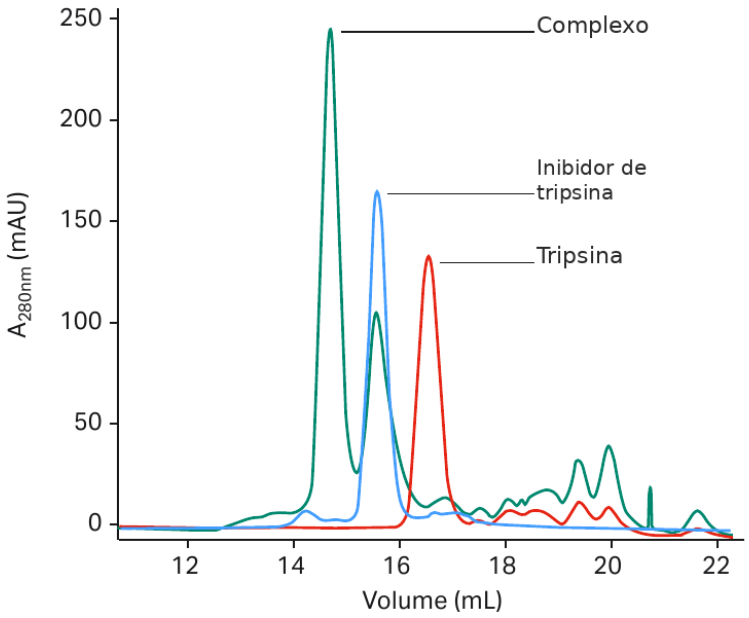


Figura F. Monitoramento da formacao de complexo proteina-proteina: tripsina (vermelho), inibidor de tripsina de soja (azul) e mistura (verde), cujo pico precoce corresponde ao complexo formado.

7. Caracteristicas tecnicas distintivas

- Particula mediana de 8,6 um, que proporciona separacoes analiticas e preparativas de altissima resolucao (48 000 pratos teoricos por metro).
- Resolucao aumentada e tempo de corrida reduzido em relacao a resinas de exclusao molecular de geracao anterior.
- Baixa interacao nao especifica, com alta recuperacao de material biologico.
- Alta estabilidade quimica (pH 1 a 14 em limpeza) e durabilidade comprovada por mais de 150 corridas sem perda de desempenho.
- Coluna em vidro que permite inspecao visual do leito.

8. Recomendacoes de operacao

Recomenda-se eluente com NaCl 0,15 M ou forca ionica equivalente para minimizar interacoes ionicas residuais com a matriz. Para alta resolucao, o volume de amostra deve ser inferior a 2 pct do volume total da coluna, sendo de 0,1 a 1,0 pct a faixa de maior resolucao. A reducao da vazao aumenta a resolucao.

COLUNA EXCLUSAO MOLECULAR 5X150

1. Descricao do bem

Coluna cromatografica pre-empacotada, em vidro de alta performance, com leito de 5 x 150 mm (diametro x altura) e volume de leito de aproximadamente 3 mL, contendo resina de exclusao molecular (filtracao em gel) de alta resolucao, composta por composito de agarose reticulada e dextrana com particula mediana de 8,6 um. Destinada a separacao e caracterizacao de proteinas com massa molecular (Mr) entre 10 000 e 600 000.

2. Aplicacao

Verificacao rapida de pureza e triagem rapida de condicoes, com resultados em aproximadamente 7 a 8 minutos e baixo consumo de amostra e tampao. Aplicacoes incluem purificacao de proteinas, analise de agregados, estudo de formacao de complexos e triagem de amostras. A tecnica separa moleculas por diferenca de tamanho, sem ligacao a resina, permitindo distinguir formas monomericas, oligomericas e agregadas da proteina alvo.



Figura 1. Colunas de vidro pre-empacotadas do tipo descrito, com conexoes nas extremidades para sistemas de cromatografia de alta performance.

3. Especificacoes tecnicas da coluna

Dimensoes do leito (diametro x altura)	5 x 150 mm
Volume aproximado do leito	3 mL
Volume de amostra recomendado	4 a 50 uL
Pratos teoricos	42 000 por metro
Vazao recomendada	0,45 mL por minuto
Vazao maxima (agua a 25 graus C)	0,75 mL por minuto
Pressao tipica sobre a coluna na vazao maxima	3,0 MPa
Material da coluna	Vidro de alta performance, permitindo inspecao visual do leito; todas as partes biocompativeis
Conexoes	Conexoes para sistemas de cromatografia liquida de alta performance

4. Especificacoes tecnicas da resina

Matriz	Composito de agarose reticulada e dextrana

Faixa de fracionamento	Mr 10 000 a 600 000 (proteinas globulares); massa molecular de pico 1000 a 100 000 (dextranas)
Limite de exclusao	Mr 1 300 000 (proteinas globulares)
Tamanho de particula (d50v)	8,6 um
Estabilidade de pH, operacao	3 a 12
Estabilidade de pH, limpeza no local (CIP)	1 a 14
Temperatura de operacao	4 a 40 graus C
Temperatura de armazenamento	4 a 30 graus C
Estabilidade quimica	Agentes caotropicos (cloridrato de guanidina 6 M, ureia 8 M) e detergentes como SDS ate 2 pct; ciclos curtos de limpeza (cerca de 3 h) com HCl 0,1 M, NaOH 1,0 M ou acetonitrila a 30 pct sem perda de desempenho

5. Comparativo das configuracoes da familia

Leito	Volume (mL)	Amostra (uL)	Pratos por m	Vazao rec. (mL por min)	Vazao max. (mL por min)	Pressao (MPa)
10 x 300 mm	24	25 a 500	48 000	0,75	1,8	3,0
5 x 150 mm	3	4 a 50	42 000	0,45	0,75	3,0
3,2 x 300 mm	2,4	4 a 50	48 000	0,075	0,15	2,0

O presente catalogo refere-se exclusivamente a configuracao de 5 x 150 mm.

6. Desempenho comprovado

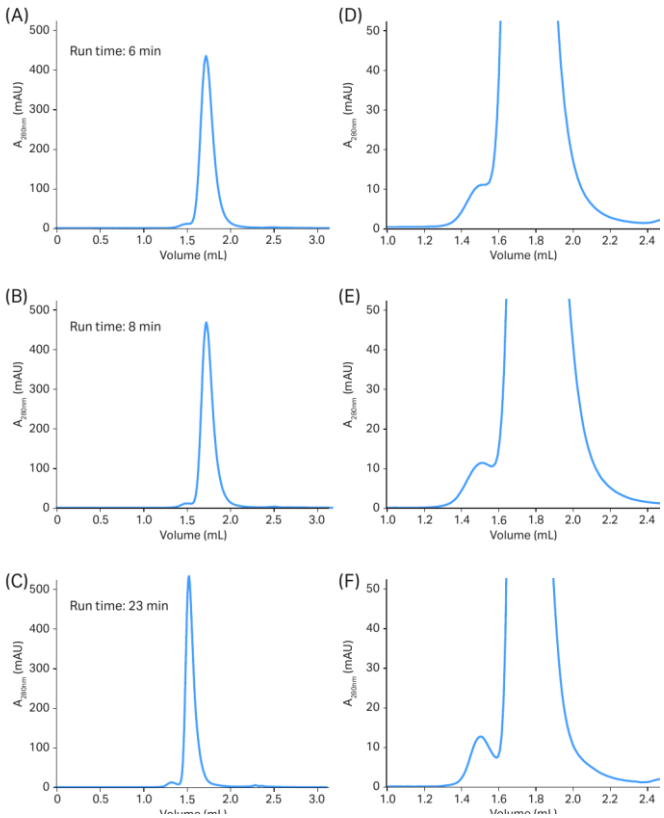


Figura A. Efeito da vazao sobre o tempo de ciclo e a resolucao de monomeros e dimeros de anticorpo monoclonal (3,4 mg por mL, 50 uL): (A) 0,6 mL por minuto, 6 min; (B) 0,45 mL por minuto (recomendada), 8 min; (C) 0,15 mL por minuto, 23 min. D, E e F sao ampliacoes de A, B e C.

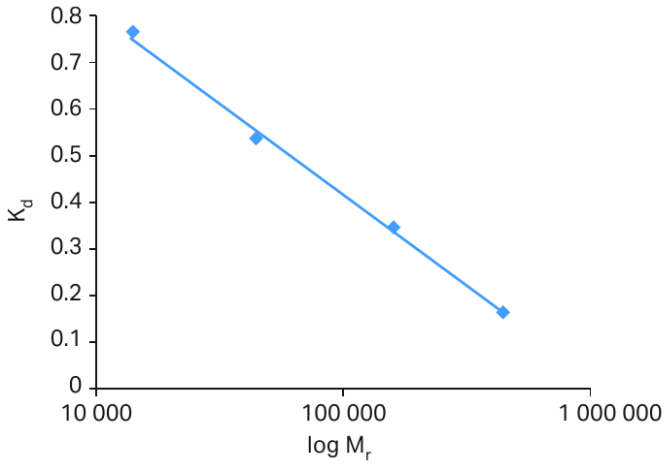


Figura C. Curva de seletividade da resina (ensaio realizado com a mesma resina em coluna de 10 x 300 mm): a inclinacao linear e acentuada indica separacao de alta resolucao na faixa de Mr 10 000 a 600 000.

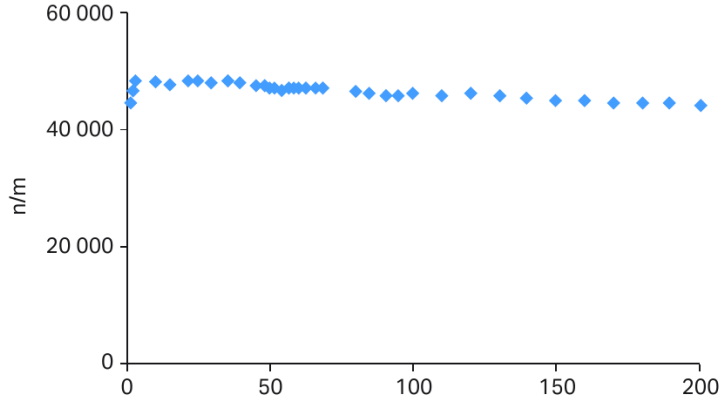


Figura D. Numero de pratos teoricos por metro em funcao do numero de injecoes (ensaio realizado com a mesma resina em coluna de 10 x 300 mm), demonstrando eficiencia estavel ao longo de 200 injecoes.

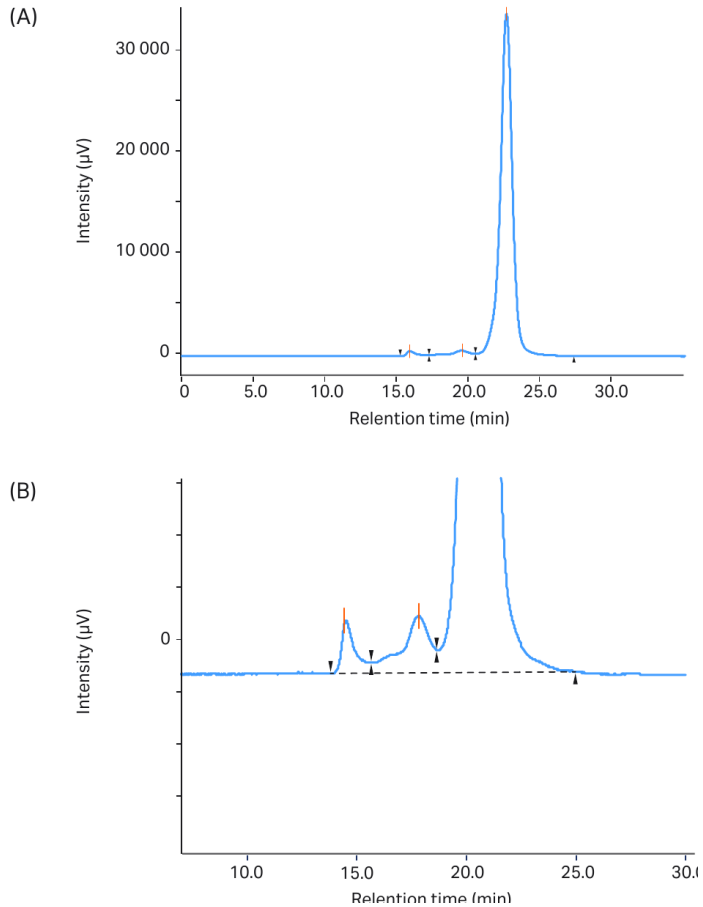


Figura E. Analise de agregados de anticorpo monoclonal IgG1 de camundongo (ensaio realizado com a mesma resina em coluna de 10 x 300 mm): (A) cromatograma completo; (B) ampliacao mostrando agregados, dimero e monomero bem separados.

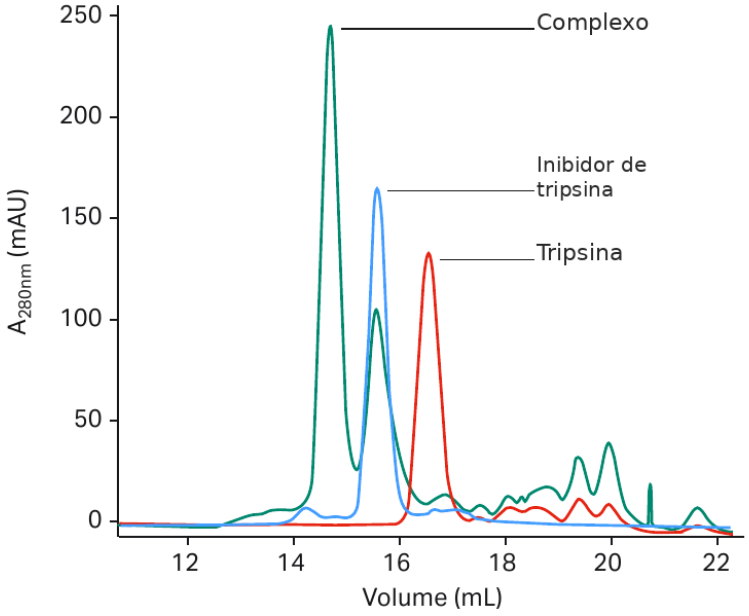


Figura F. Monitoramento da formacao de complexo proteina-proteina (ensaio realizado com a mesma resina em coluna de 10 x 300 mm): tripsina (vermelho), inibidor de tripsina de soja (azul) e mistura (verde), cujo pico precoce corresponde ao complexo formado.

7. Caracteristicas tecnicas distintivas

- Particula mediana de 8,6 um, que proporciona separacoes analiticas e preparativas de altissima resolucao (42 000 pratos teoricos por metro).
- Resolucao aumentada e tempo de corrida reduzido em relacao a resinas de exclusao molecular de geracao anterior.
- Baixa interacao nao especifica, com alta recuperacao de material biologico.

- Alta estabilidade quimica (pH 1 a 14 em limpeza) e durabilidade comprovada por mais de 150 corridas sem perda de desempenho.
- Coluna em vidro que permite inspecao visual do leito.

8. Recomendacoes de operacao

Recomenda-se eluente com NaCl 0,15 M ou forca ionica equivalente para minimizar interacoes ionicas residuais com a matriz. Para alta resolucao, o volume de amostra deve ser inferior a 2 pct do volume total da coluna, sendo de 0,1 a 1,0 pct a faixa de maior resolucao. A reducao da vazao aumenta a resolucao.

COLUNA EXCLUSAO MOLECULAR 3P2X300

1. Descricao do bem

Coluna cromatografica pre-empacotada, em vidro de alta performance, com leito de 3,2 x 300 mm (diametro x altura) e volume de leito de aproximadamente 2,4 mL, contendo resina de exclusao molecular (filtracao em gel) de alta resolucao, composta por composito de agarose reticulada e dextrana com particula mediana de 8,6 um. Destinada a separacao e caracterizacao de proteinas com massa molecular (Mr) entre 10 000 e 600 000.

2. Aplicacao

Purificacao preparativa em microescala (microgramas) e analise de alta resolucao com volumes de amostra de 4 a 25 uL, quando a quantidade de amostra e limitada e o baixo consumo de tampao e importante. Mesmo pequenas quantidades de amostra geram bom sinal de deteccao. Aplicacoes incluem purificacao de proteinas, analise de agregados, estudo de formacao de complexos e triagem de amostras. A tecnica separa moleculas por diferenca de tamanho, sem ligacao a resina, permitindo distinguir formas monomericas, oligomericas e agregadas da proteina alvo.



Figura 1. Colunas de vidro pre-empacotadas do tipo descrito, com conexoes nas extremidades para sistemas de cromatografia de alta performance.

3. Especificacoes tecnicas da coluna

Dimensoes do leito (diametro x altura)	3,2 x 300 mm
Volume aproximado do leito	2,4 mL
Volume de amostra recomendado	4 a 50 uL
Pratos teoricos	48 000 por metro
Vazao recomendada	0,075 mL por minuto
Vazao maxima (agua a 25 graus C)	0,15 mL por minuto
Pressao tipica sobre a coluna na vazao maxima	2,0 MPa
Material da coluna	Vidro de alta performance, permitindo inspecao visual do leito; todas as partes biocompativeis
Conexoes	Conexoes para sistemas de cromatografia liquida de alta performance

4. Especificacoes tecnicas da resina

Matriz	Composito de agarose reticulada e dextrana
Faixa de fracionamento	Mr 10 000 a 600 000 (proteinas globulares); massa molecular de pico 1000 a 100 000 (dextranas)
Limite de exclusao	Mr 1 300 000 (proteinas globulares)
Tamanho de particula (d50v)	8,6 um
Estabilidade de pH, operacao	3 a 12
Estabilidade de pH, limpeza no local (CIP)	1 a 14
Temperatura de operacao	4 a 40 graus C
Temperatura de armazenamento	4 a 30 graus C
Estabilidade quimica	Agentes caotropicos (cloridrato de guanidina 6 M, ureia 8 M) e detergentes como SDS ate 2 pct; ciclos curtos de limpeza (cerca de 3 h) com HCl 0,1 M, NaOH 1,0 M ou acetonitrila a 30 pct sem perda de desempenho

5. Comparativo das configuracoes da familia

Leito	Volume (mL)	Amostra (uL)	Pratos por m	Vazao rec. (mL por min)	Vazao max. (mL por min)	Pressao (MPa)
10 x 300 mm	24	25 a 500	48 000	0,75	1,8	3,0
5 x 150 mm	3	4 a 50	42 000	0,45	0,75	3,0
3,2 x 300 mm	2,4	4 a 50	48 000	0,075	0,15	2,0

O presente catalogo refere-se exclusivamente a configuracao de 3,2 x 300 mm.

6. Desempenho comprovado

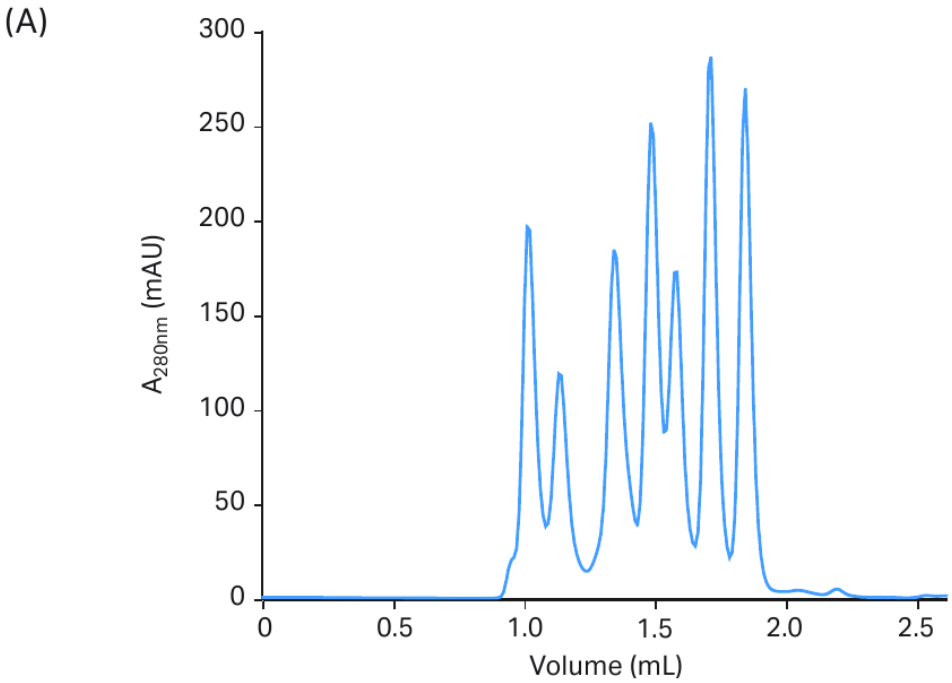


Figura A. Separacao de 20 uL de mistura de sete proteinas modelo (370 ug de proteina total) na coluna de 3,2 x 300 mm, vazao 0,05 mL por minuto, com sinal de deteccao elevado.

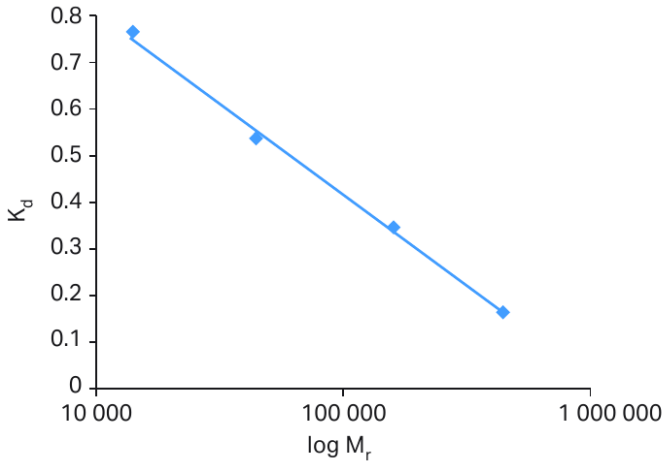


Figura C. Curva de seletividade da resina (ensaio realizado com a mesma resina em coluna de 10 x 300 mm): a inclinacao linear e acentuada indica separacao de alta resolucao na faixa de Mr 10 000 a 600 000.

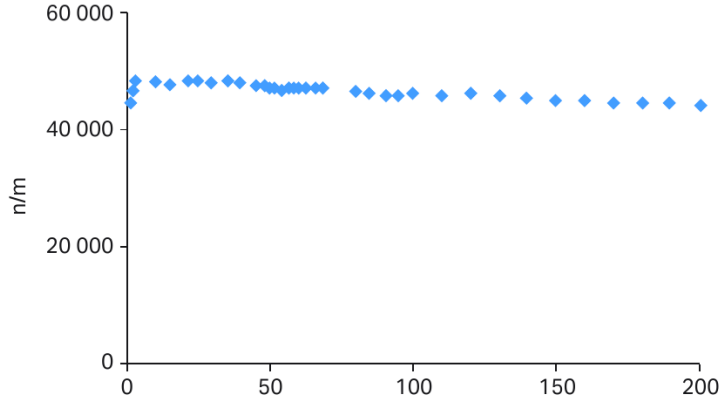


Figura D. Numero de pratos teoricos por metro em funcao do numero de injecoes (ensaio realizado com a mesma resina em coluna de 10 x 300 mm), demonstrando eficiencia estavel ao longo de 200 injecoes.

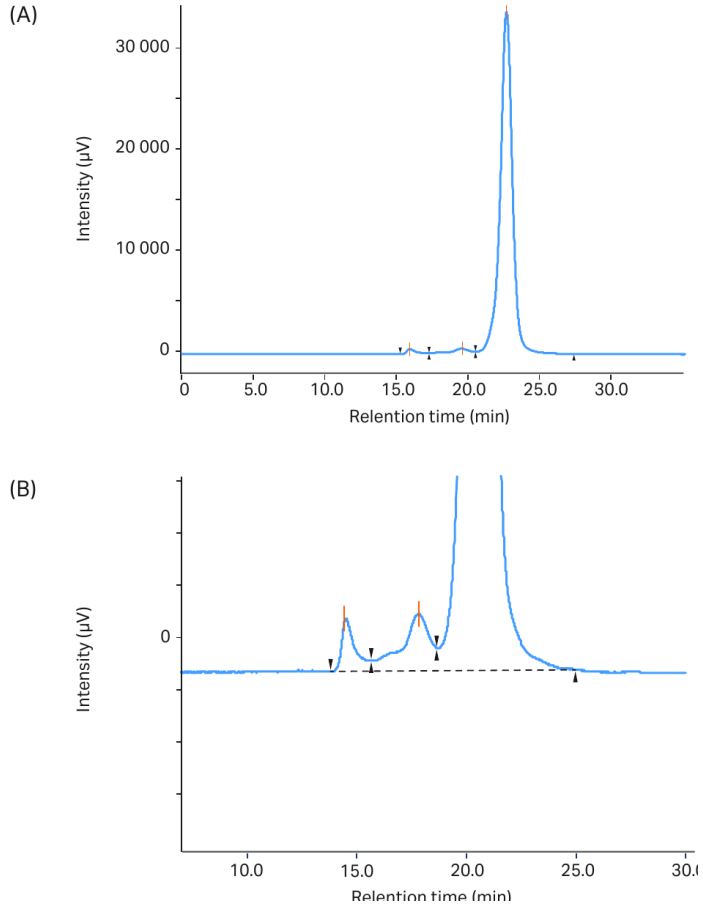


Figura E. Analise de agregados de anticorpo monoclonal IgG1 de camundongo (ensaio realizado com a mesma resina em coluna de 10 x 300 mm): (A) cromatograma completo; (B) ampliacao mostrando agregados, dimero e monomero bem separados.

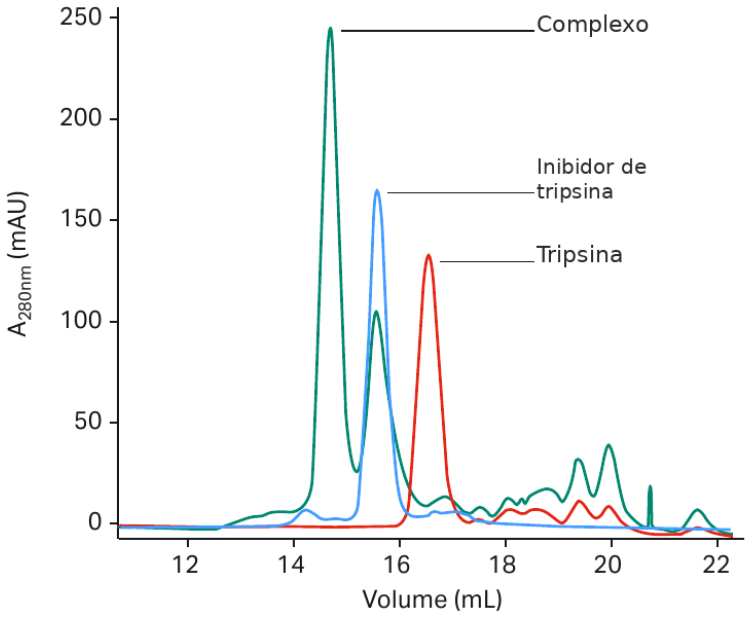


Figura F. Monitoramento da formacao de complexo proteina-proteina (ensaio realizado com a mesma resina em coluna de 10 x 300 mm): tripsina (vermelho), inibidor de tripsina de soja (azul) e mistura (verde), cujo pico precoce corresponde ao complexo formado.

7. Caracteristicas tecnicas distintivas

- Particula mediana de 8,6 um, que proporciona separacoes analiticas e preparativas de altissima resolucao (48 000 pratos teoricos por metro).
- Resolucao aumentada e tempo de corrida reduzido em relacao a resinas de exclusao molecular de geracao anterior.
- Baixa interacao nao especifica, com alta recuperacao de material biologico.

- Alta estabilidade quimica (pH 1 a 14 em limpeza) e durabilidade comprovada por mais de 150 corridas sem perda de desempenho.
- Coluna em vidro que permite inspecao visual do leito.

8. Recomendacoes de operacao

Recomenda-se eluente com NaCl 0,15 M ou forca ionica equivalente para minimizar interacoes ionicas residuais com a matriz. Para alta resolucao, o volume de amostra deve ser inferior a 2 pct do volume total da coluna, sendo de 0,1 a 1,0 pct a faixa de maior resolucao. A reducao da vazao aumenta a resolucao.