

SERVICIOS DE PURIFICACIÓN POR HPLC

Mapa peptídico

Este servicio incluye la digestión con tripsina (u otra proteasa) de la proteína, la separación cromatográfica de los péptidos resultantes y su recolección manual.

Las condiciones cromatográficas estándar serán las siguientes:

- Columna de fase reversa C18
- Gradiente lineal de 0-70 % de acetonitrilo en 0.1 % de TFA, durante 90 minutos.
- Detección a 214 y 280 nm
- Caudal 0.5 ml/min

El usuario recibirá los tubos con los péptidos separados y el cromatograma.

El usuario deberá aportar un gel de la muestra que se entrega en el servicio.

Purificación de péptidos sintéticos

Este servicio incluye la separación cromatográfica en columna preparativa C18 del péptido correspondiente a la secuencia completa solicitada de las cadenas truncadas contaminantes y el análisis de pureza mediante LC-MS.

El usuario recibirá el péptido liofilizado acompañado del cromatograma y el espectro de masas.

Cuando el péptido no haya sido sintetizado en el servicio, se facilitará toda la información disponible sobre el mismo.

Purificación en columna de afinidad de níquel

Este servicio incluye la purificación de proteínas etiquetadas con una cola de histidinas y el análisis del resultado mediante SDS-PAGE con tinción de Coomassie.

Las condiciones cromatográficas estándar serán las siguientes:

- Columna HisTrap HP 1 ó 5 ml (Capacidad de carga 40 mg/ml)
- Sistema de tampones

A: 20 mM fosfato sódico o Tris-HCl, 0.5 M NaCl, 20–40 mM imidazol, pH 7.4

B: 20 mM fosfato sódico o Tris-HCl, 0.5 M NaCl, 500 mM imidazol, pH 7.4

(La concentración de imidazol óptima requerida para la elución depende de cada proteína).

Gradiente lineal de 0-100% B durante 20 volúmenes de columna.

- Detección 280 y 260 nm

Cuando el usuario lo solicite se determinará la concentración de proteína mediante análisis de aminoácidos.

El usuario deberá aportar un gel de la muestra que se entrega en el servicio.

Purificación de anticuerpos mediante cromatografía de afinidad con proteína A o proteína G.

Este servicio incluye la purificación a pequeña escala de IgG policlonales o monoclonales procedentes de suero, fluido ascítico o sobrenadante de un cultivo celular y el análisis del resultado mediante SDS-PAGE con tinción de Coomassie.

Las condiciones cromatográficas estándar serán las siguientes:

- Columnas: HiTrap prot G HP (Capacidad de carga 25 mg IgG/ml) o HiTrap prot A HP (Capacidad de carga 20 mg IgG/ml)
- Sistema de tampones:

Tampón de carga fosfato sódico 20mM pH7.

Elución a pH ácido sobre fracciones tamponadas a pH neutro.

El usuario suministrará la muestra centrifugada o filtrada por un filtro 0.45µm y ajustada a las condiciones del buffer de carga.