



Секвенаторы белков PPSQ-51A / 53A

Секвенаторы PPSQ являются частью ВЭЖХ системы Shimadzu по определению аминокислотных последовательностей белков и пептидов. Принцип действия секвенаторов PPSQ основан на обработке исследуемого пептида определенным набором реагентов, в результате которой происходит отщепление одной аминокислоты с N-конца последовательности в виде фенилтиогидантоинового производного (реакция Эдмана).

В ходе реакции Эдмана аминокислоты отщепляются по порядку от N-конца белка путем многократного проведения деградации по Эдману и дериватируются. В результате продуцируются стабильные ПТГ-аминокислоты.

Идентификацию фенилтиогидантоиновых производных производят с помощью жидкостного хроматографа.



Несмотря на недостатки (длительность) и появление альтернативных методов, таких как MALDI спектроскопия, метод Эдмана до сих пор используется благодаря стабильности и однозначности получаемых результатов.

Секвенаторы PPSQ гарантируют быстрое определение аминокислотных последовательностей.

Модели различаются между собой количеством реакторов: PPSQ-31A - 1 реактор PPSQ-33A - 3 реактора. На секвенаторе PPSQ-53A непрерывный анализ аминокислотных последовательностей нескольких образцов может выполняться один за другим.

Прибор предназначен только для исследовательских целей. Не применяется в диагностических целях.



Изократическая система



Система градиента

Преимущества использования деградации по Эдману для секвенирования аминокислот:

- Гарантированная N-концевая последовательность белков;
- Не требуется предварительная обработка образцов;
- Дифференциация изобарных аминокислот (лейцин и изолейцин);
- Возможна идентификация даже по неизвестным белкам, не зарегистрированным в базах данных
- Соответствие FDA 21 CFR Часть 11



Соответствие FDA 21 CFR Часть 11

Программное обеспечение **LabSolutions PPSQ** обеспечивает соответствие рекомендациям FDA 21 CFR Part 11 и обеспечивает соответствие требованиям безопасности, управления пользователями и контрольному журналу, установленным FDA 21 CFR Part 11.

1. Безопасность

Пользователи управляются на основе групп, при этом каждый пользователь распознается по имени пользователя и паролю. Уникальные группы могут быть созданы путем включения лиц с разными правами доступа. Четкое определение прав доступа каждого пользователя предотвращает несанкционированные изменения настроек, работы прибора и доступа к данным.

2. Управление пользователями

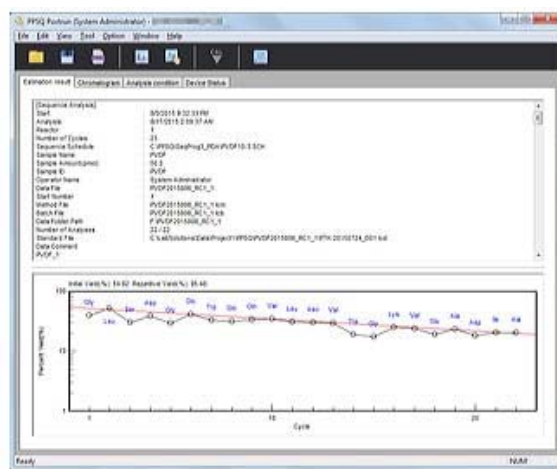
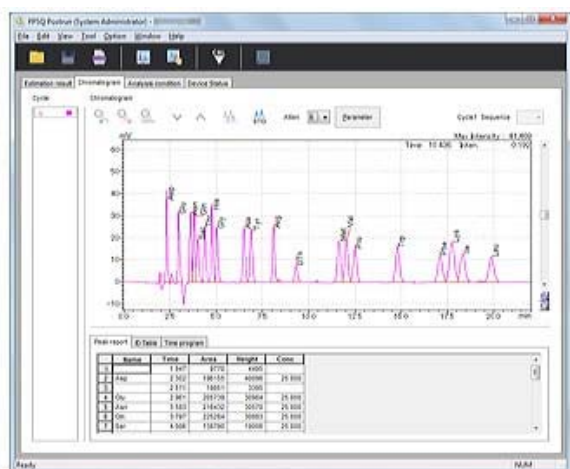
Администрирование пользователей LabSolutions включает настройку групп прав и назначение прав пользователям, как в Windows. Права доступа, необходимые для каждого пользователя, могут быть установлены путем назначения различных уровней доступа каждому пользователю. Это помогает обеспечить эффективное администрирование пользователей и более эффективную работу лаборатории.

3. Контрольный журнал

Регистрируются входы в систему и выход из нее, изменения в пользователях и группах, а также начало и завершение сбора данных вместе с именем пользователя и временем. Записанный оперативный журнал может быть зарегистрирован в базе данных для обеспечения прослеживаемости.

4. Проверка программного обеспечения

Целостность программ, составляющих систему, и необработанных данных, полученных с помощью приборов, может быть проверена, что обеспечивает надежность системы и данных. Результатами этих проверок изменений можно управлять в виде распечаток. Объединение пиков хроматограммы, печать и другие процессы могут выполняться для каждого образца.



- Калибрует время удерживания ПТГ-аминокислот.
- Время удерживания можно редактировать, просто выбрав ПТГ-аминокислоту и щелкнув пик.
- Автоматически создает отчет, содержащий аналитические параметры, расчетные последовательности, нормы урожайности и другую информацию.

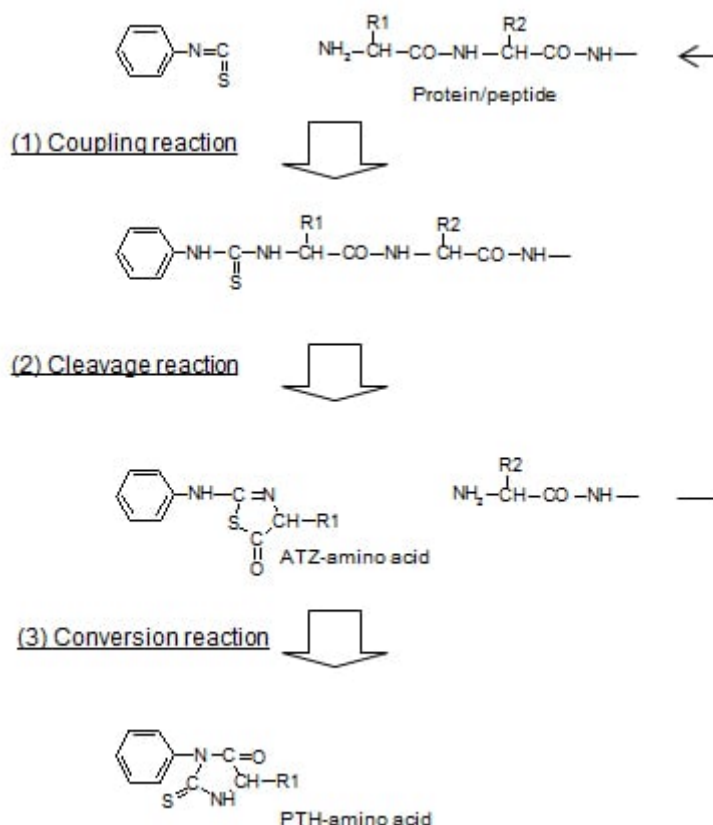
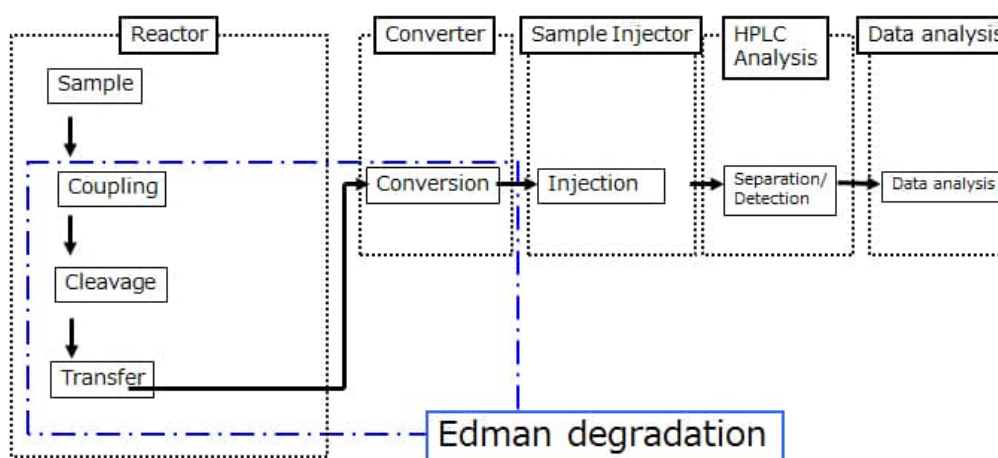
Автоматическая оценка последовательности. Последовательности автоматически оцениваются после завершения анализа каждого цикла. Отображается до четырех аминокислот-кандидатов вместе с их уровнями достоверности.

Настраиваемые отчеты. Отчеты, содержащие такую информацию, как аналитические параметры, расчетные последовательности и нормы урожайности, создаются автоматически.

Отображение графика доходности

Начальная и повторная нормы доходности рассчитываются и отображаются в виде графика. Аминокислоты, используемые для расчетов, можно выбирать произвольно.

Состав. Используя деградацию по Эдману, система дериватизирует аминокислоты белка в порядке от N-концов, расщепляет производные и, исходя из времен удерживания этих расщепленных производных ВЭЖХ, идентифицирует аминокислоты.



Идентификация более чем 20 остатков из 10 pmol белка при помощи дифференциальных хроматограмм

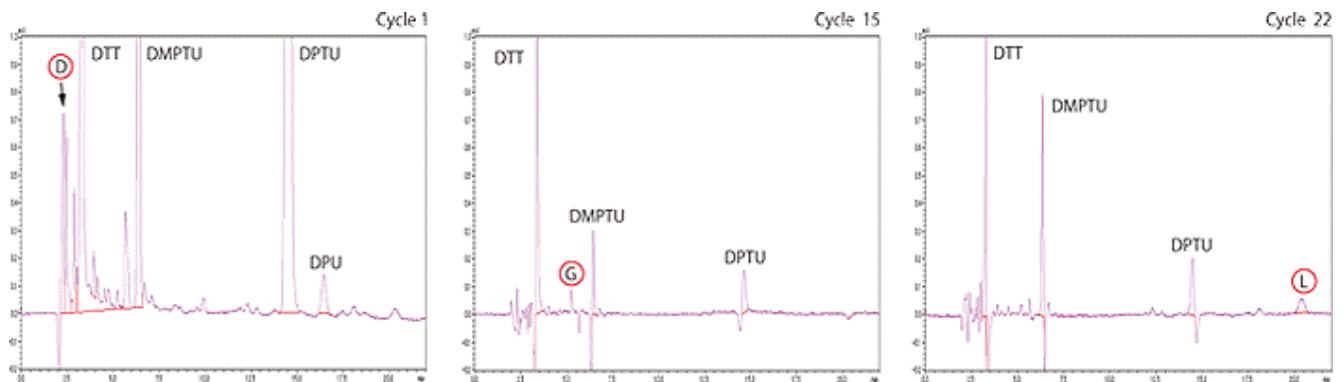


Рис. 1 Пример анализа 10 pmol BSA (Bovine Serum Albumin) 1 – необработанная хроматограмма. 2 и 3 – дифференциальные хроматограммы.

Количество циклов указывает на количество остатков из N-terminal. Цикл 1 показывает хроматограмму РТН-амино кислоты при N-terminal, где D (aspartic acid) может быть идентифицирована. DMPTU и DPTU являются продуктами реакций Деградации Эдмана.

DTT (dithiothreitol) понижающий агент, включенный в реагент. За исключением Цикла 1, хроматограммы являются дифференцирующими полученными вычитанием хроматограмм из предшествующего цикла из хроматограмм текущего цикла. Различные хроматограммы облегчают идентификацию последовательностей аминокислот так как они прекращают реакцию побочных продуктов и фоновых пиков и ясно показывают селективность пиков амплифицированных РТН-амино кислот. Эти результаты показывают что 15t-ый и 22-й остатки это G (glycine) и L (leucine), соответственно.

Легко идентифицирует Лецитин и Изолецитин в последовательности

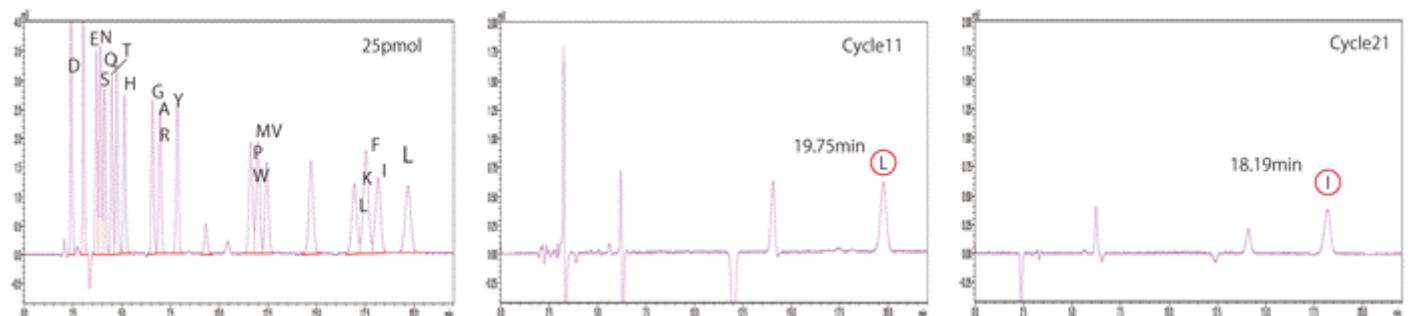


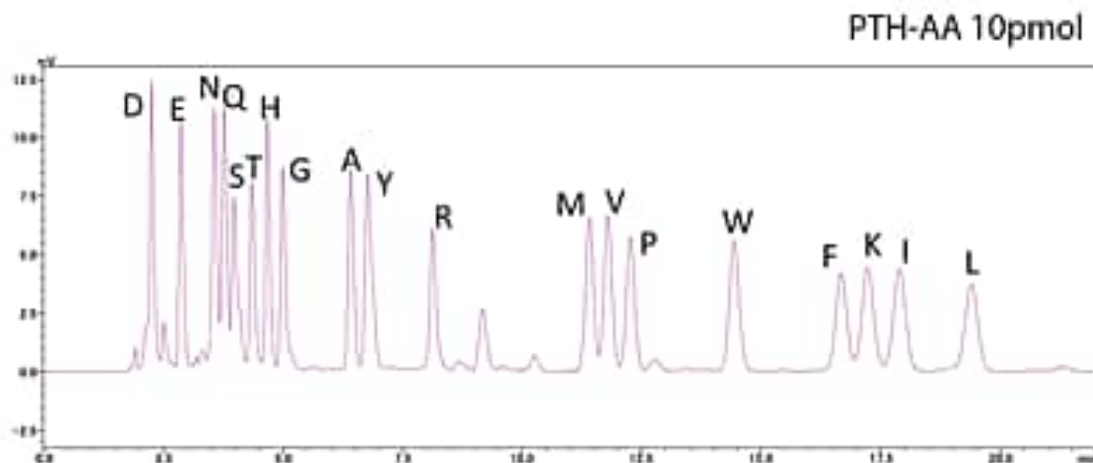
Рис. 2 Пример анализа 50 pmol Bovine Myoglobin Циклы 11 и 21 – дифференциальные хроматограммы.

Левая хроматограмма является примером анализа РТН-смеси аминокислот. Изолецитин и лецитин детектируются в разное время. Как 11-тый остаток из bovine myoglobin, который L (leucine), так и 21-ый остаток, который I (isoleucine), четко идентифицированы.

Изократическая система

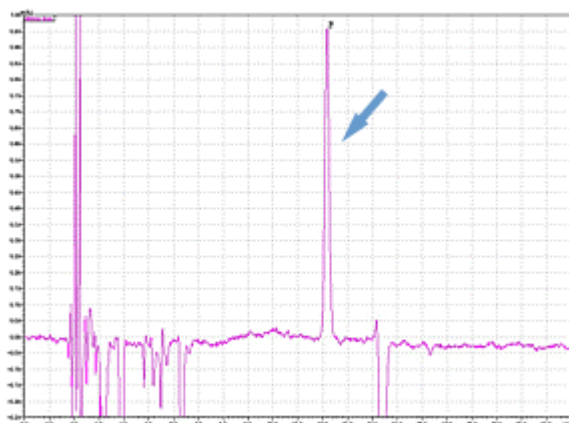
Белковые секвенаторы серии PPSQ изократически разделяют ПТГ-аминокислоты. Это улучшает базовую стабильность и позволяет проводить высокочувствительный анализ ПТГ-аминокислот.

Изократический анализ последовательности обеспечивает более стабильное время удерживания. Пики, обнаруженные в предыдущих циклах, могут быть отменены с помощью обработки хроматограммы подстанции, что упрощает идентификацию последовательностей.

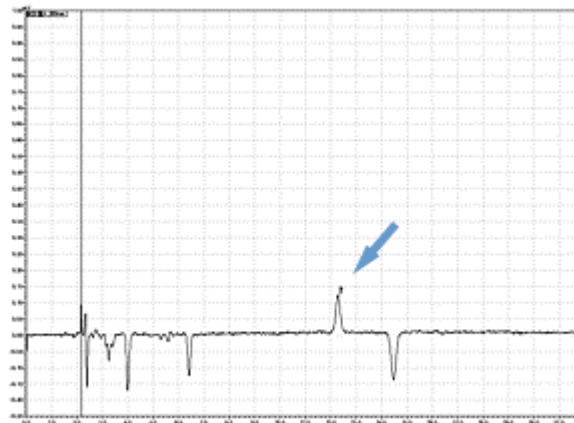


Более высокое обнаружение

Цикл 10 PTH-Val

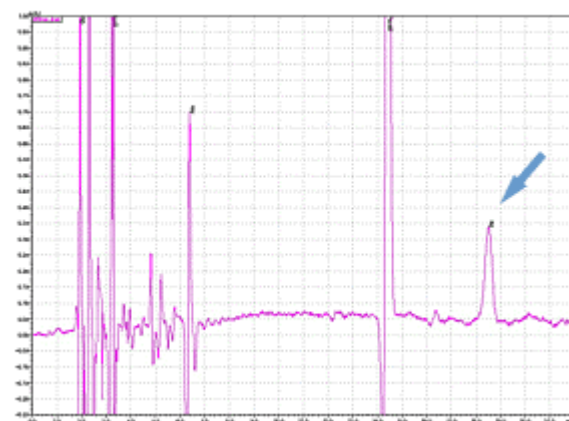


PPSQ-51A / 53A



PPSQ-31B / 33B

Цикл 21 PTH-Ile



PPSQ-51A / 53A



PPSQ-31B / 33B

Образец: конский миоглобин 10 пмоль.

Результаты показывают хроматограммы вычитания для SPD-M30A (PPSQ-51A / 53A) и SPD-20A (PPSQ-31B / 33B), соединенных тандемно после разложения по Эдману.

Экологически чистый эко-дизайн

Выполнение анализа ПТГ-аминокислот в изократическом режиме, в котором элюенты рециркулируют, чтобы позволить многократное использование подвижной фазы, позволяет сократить жидкие отходы и эксплуатационные расходы.

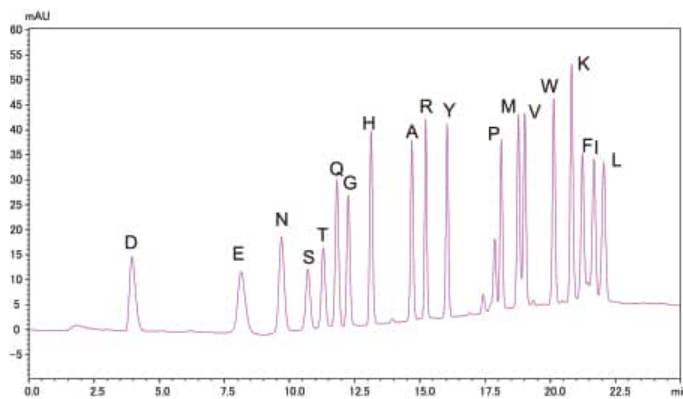


Система градиента

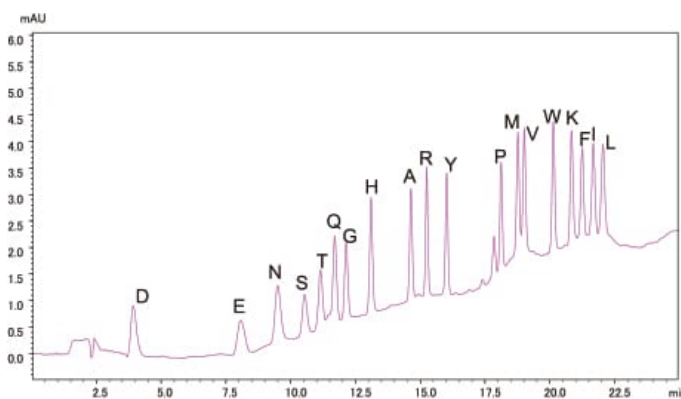
Высококчувствительный анализ

Высококчувствительная проточная кювета обеспечивает высококчувствительное обнаружение ПТГ-аминокислот, что позволяет проводить последовательный анализ с использованием следовых проб.

Анализ стандартной смеси ПТГ-аминокислот



10 пмоль



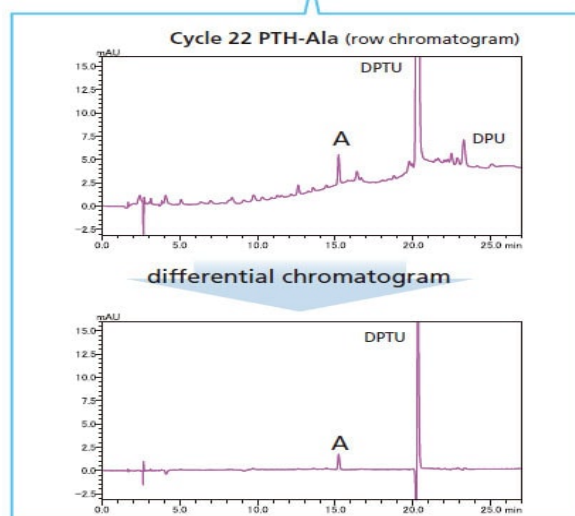
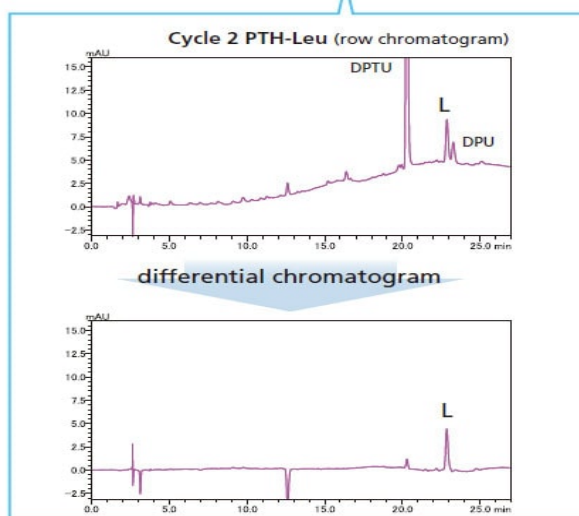
500 фмоль

Стабильность анализа

Эта система обладает высокой стабильностью анализа, поскольку она оснащена высокопроизводительным детектором и насосом для подачи растворителя, который обеспечивает отличную производительность перекачивания даже в диапазоне микропотока, что в совокупности обеспечивает высокую стабильность анализа. Поскольку можно получить хроматограммы с хорошей воспроизводимостью, пики, обнаруженные в предыдущем цикле, могут быть отменены путем выполнения обработки дифференциальной хроматограммы. Это позволяет легко идентифицировать ПТГ-аминокислоты даже в следовых пробах.

Анализ конского миоглобина (10 пмоль)

Sequence: G-L-S-D-G-E-W-Q-Q-V-L-N-V-W-G-K-V-E-A-D-I-A-.....





Технические характеристики:

Основной блок	PPSQ-51A	PPSQ-53A
Метод реакции	Деградация Эдмана	
Время реакции	46,5 мин / цикл	48 мин / цикл
Количество реакторов	1	3
Метод иммобилизации образца	Диск из стекловолокна (диаметр 8 мм) или мембрана из ПВДФ	
Диапазон регулирования температуры реактора	От 10 ° С выше комнатной до 60 ° С	
Диапазон регулирования температуры преобразователя	На 10 ° С выше комнатной до 70 ° С	
Количество реагентов / растворителей	7	
Способ доставки реагента / растворителя	Давление газообразного азота	
Габаритные размеры	W510 x D500 x H540 мм	
Масса	43 кг	45 кг



PPSQ-51A, одиночный реактор
Предлагает очень экономичную работу.



PPSQ-53A Тройной реактор
Поддерживает последовательный анализ 3 проб. Использование тройного реактора позволяет сэкономить время и усилия, а также дает большую свободу при составлении программ анализа.

Стандартные конфигурации

Изократическая система

Секвенатор PPSQ-51A / 53A
Насос LC-40D
Диодно-матричный детектор SPD-M30A
Термостат колонок СТО-40С

Система градиента

Секвенатор PPSQ-51A / 53A
Насос LC-40D (2 шт.)
Диодно-матричный детектор SPD-M30A
Термостат колонок СТО-40С

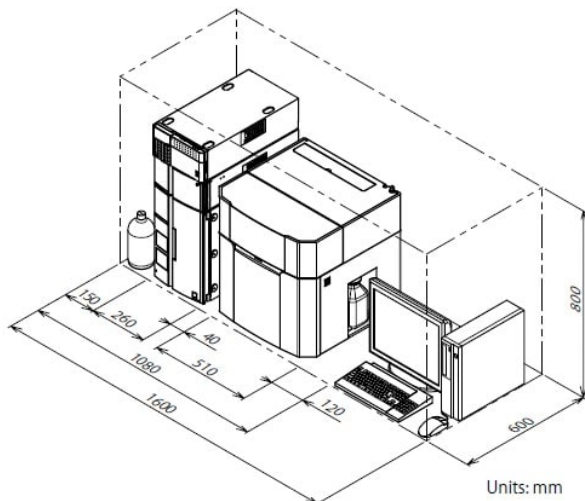
Требования к месту установки:

Место для установки	Рабочий стол: мин. 1800 x 800 x 800 мм.
Газообразный азот	Чистота: 99,9999% мин.
	Регулятор давления в баллоне и газовая трубка (10 м) входят в стандартную комплектацию.
Вытяжное оборудование	Выхлопная труба (20 м) входит в стандартную комплектацию.

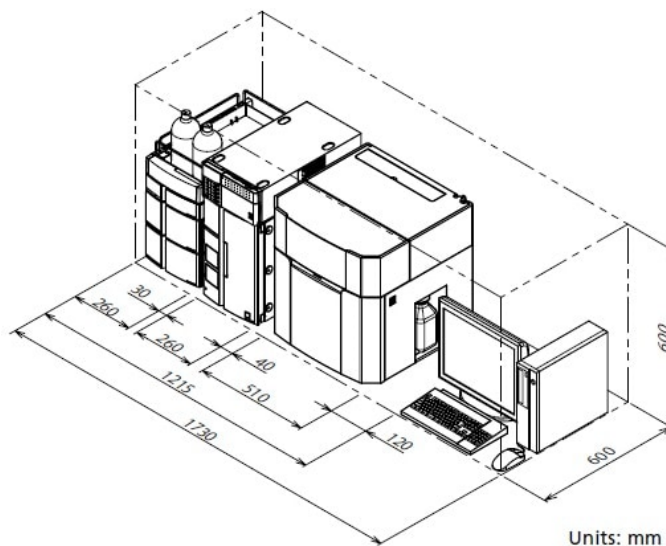


Пример установки:

Изократическая система



Система градиента



Статьи и брошюры:

Дата создания

Обнаружение восстановительно-алкилированных цистеинов с помощью белкового секвенатора [PDF / 811.65KB]	2020-12-10
Обнаружение цистеина / цистина с помощью секвенатора белков [PDF / 742.58KB]	2020-05-12
Анализ аминокислотной последовательности пептидов и белков с модифицированной аминокислотой с использованием изократической системы PPSQ™ -50A [PDF / 659.44KB]	2019-08-27
Платформа для анализа белков [PDF / 808,27KB]	2019-08-22
N-концевое аминокислотное секвенирование мышиногo IgG с использованием градиентной системы PPSQ™ -51A / 53A [PDF / 164.63KB]	2019-06-12
N-концевое аминокислотное секвенирование антител IgG [PDF / 110.74KB]	2019-03-20
Решения для биофармацевтики [PDF / 16,14MB]	2018-03-23