



PLATEFORME D'INGÉNIERIE CELLULAIRE ET ANALYSES DES PROTÉINES

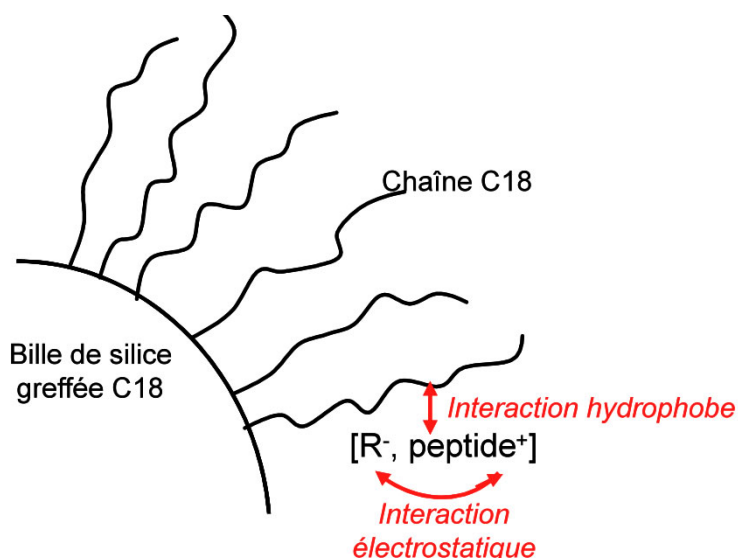
chromatographie en phase liquide

[Accueil](#) > [Équipements](#)

La chromatographie en phase liquide (CPL) est une technique d'analyse quantitative, qualitative et séparative principalement utilisée dans le domaine de la chimie analytique comme outil scientifique majeur mais aussi dans des domaines variés tels que la chimie organique et la biochimie.

Il existe entre autres la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC). Ce type de chromatographie repose sur la séparation de composés entraînés par un liquide (phase mobile) à travers un solide divisé (phase stationnaire) qui est soit placé dans un tube (colonne chromatographique), soit fixé sur une surface inerte. La séparation s'opère suivant les interactions chimiques ou physiques des analytes avec la phase mobile ainsi qu'avec la phase stationnaire.

Le système acquis sur la plateforme est l'Ultimate 3000™ NanoRSLC.



La chromatographie à polarité de phases inversée, RPLC, consiste à séparer les composés d'intérêt en fonction de leur hydrophobicité, par interaction avec une phase stationnaire apolaire hydrophobe.

Elle fournit une haute efficacité de séparation en raison du transfert de masse rapide de l'analyte entre phase mobile et phase stationnaire.

La phase mobile est constitué par un mélange entre un solvant aqueux et organique. L'acétonitrile est toujours largement employé pour éluer les peptides. En revanche, les tampons salins (par exemple le tampon phosphate permettant de fournir un pH acide), incompatibles avec une bonne ionisation ESI, sont prohibés.

Les acides carboxyliques perfluorés, l'acide trifluoroacétique (TFA) et heptafluorobutyrique (HFBA), ont beaucoup été utilisés.

La phase stationnaire habituellement utilisée est constituée de particules sphériques de silice poreuse greffées écyle (C18). Ce type de phase est généralement utilisé pour la séparation de peptides.

La complexité des échantillons et leur gamme dynamique de concentrations constituent un challenge important

dans les analyses protéomiques. Or, la MS seule ne peut tolérer qu'une complexité relativement faible, présente une gamme dynamique limitée par spectre et est très sensible au phénomène de suppression spectrale. C'est pourquoi, en MS, il est nécessaire de limiter le nombre de composés à analyser en même temps. Grâce aux efforts de miniaturisation des colonnes et à l'introduction des techniques d'ionisation douce, la RPLC couplée à la MS est devenue la technique analytique principale dans le domaine de la protéomique. A partir d'une quantité d'échantillon limitée, des milliers de peptides peuvent être identifiés et quantifiés en routine avec une haute sensibilité.

Caractéristiques de la plateforme est l'Ultimate 3000™ NanoRSLC