

## Instrukcja przygotowania i stosowania Acetyl GLP-1 + GIP 5mg

Przygotowano przez Peptogen LTD.

590 Kingston Road

London, SW20 8DN, United Kingdom.

### 1. Cel badania:

Preparat Acetyl GLP-1 + GIP w liofilizowanym proszku jest przygotowywany jako standard lub próbka analityczna do badań HPLC w celu identyfikacji i oznaczania związków aktywnych w analizie jakościowej lub ilościowej.

### 2. Materiały i sprzęt:

- Fiolka z Acetyl GLP-1 + GIP (liofilizowany proszek, 5 mg).
- Woda dejonizowana lub rozpuszczalnik klasy HPLC (np. bufor fosforanowy, woda + acetonitryl).
- Filtry strzykawkowe (0,2  $\mu\text{m}$ ) klasy HPLC.
- Strzykawki i pipety automatyczne.
- Zlewki, probówki lub fiołki autosamplera.
- Kolumna HPLC odpowiednia do badania peptydów.
- Aparat HPLC z detektorem (UV, FLD, MS, zależnie od protokołu).

### 3. Przygotowanie roztworu:

#### 1. Rozpuszczanie liofilizatu:

- Otwórz fiolkę z odczynnikami:
  - Usunąć plastikowy kapsel.
  - Zdezynfekuj gumowy korek alkoholem izopropylowym lub etanolem (70%).
- Wprowadź odpowiednią ilość rozpuszczalnika (np. 1 ml wody klasy HPLC) przez gumowy korek za pomocą jałowej strzykawki, aby uzyskać stężenie 5 mg/ml.
- Delikatnie mieszaj fiolkę ruchem kolistym, aż proszek całkowicie się rozpuści. Unikaj intensywnego mieszania, które może spowodować denaturację peptydu.

#### 2. Filtrowanie:

- Przefiltruj roztwór przez filtr strzykawkowy 0,2  $\mu\text{m}$  do czystej fiołki lub probówki autosamplera, aby usunąć ewentualne zanieczyszczenia.

#### 3. Rozcieńczanie do odpowiedniego stężenia:

- Jeśli wymagane, wykonaj dalsze rozcieńczenia zgodnie z protokołem HPLC, używając odpowiedniego rozpuszczalnika (np. 0,1% TFA w wodzie).

## 4. Warunki pracy HPLC:

### 1. Faza ruchoma:

- Faza A: 0,1% TFA w wodzie.
- Faza B: 0,1% TFA w acetonitrylu.
- Gradient elucji: np. od 5% do 50% fazy B w ciągu 30 minut (dostosować do charakterystyki próbki).

### 2. Kolumna:

- Kolumna C18 (150 x 4,6 mm, 5  $\mu$ m) lub odpowiednia dla analizy peptydów.
- Temperatura kolumny: 25–40°C (zależnie od protokołu).

### 3. Detekcja:

- Detektor UV: długość fali 220 nm lub inna optymalna dla peptydów.
- Alternatywnie: detekcja MS (jeśli dostępna).

### 4. Prędkość przepływu:

- Zazwyczaj 1 ml/min, o ile protokół nie zaleca inaczej.

### 5. Objętość próbki:

- Wstrzykuj 10–50  $\mu$ l roztworu, w zależności od czułości aparatu i protokołu.

## 5. Analiza danych:

### 1. Interpretacja chromatogramu:

- Zidentyfikuj piki na podstawie czasu retencji (w porównaniu do wzorca, jeśli dostępny).
- Oceniaj integralność peptydu na podstawie jednorodności pików.

### 2. Obliczenia ilościowe:

- Wykorzystaj krzywą kalibracyjną przygotowaną na podstawie roztworów wzorcowych.

## 6. Uwagi:

- Przechowuj gotowy roztwór w lodówce (2–8°C) i użyj w ciągu 24 godzin.
- Rozpuszczone peptydy są wrażliwe na działanie światła – przechowuj roztwór w ciemnych naczyniach.
- Regularnie sprawdzaj stan kolumny HPLC i jakość faz ruchomych.

## 7. Utylizacja:

Zużyte próbki oraz odpady należy utylizować zgodnie z lokalnymi przepisami dotyczącymi odpadów chemicznych.

Jeśli potrzebujesz dalszych wyjaśnień lub doprecyzowania protokołu, skontaktuj się z dostawcą odczynnika lub działem technicznym.