
Programme de Formation

HPLC préparative appliquée à la purification de peptides



Organisation

Durée : 14 heures

Mode d'organisation : Présentiel

Contenu pédagogique



Public visé

Ingénieurs, techniciens, utilisateurs de la technique de chromatographie en phase liquide



Objectifs pédagogiques

- Comprendre les phénomènes chromatographiques mis en jeu pendant l'analyse pour optimiser le protocole de purification
- Transposer le changement d'échelle (de l'analytique vers la préparative)
- Mettre en œuvre une purification par HPLC préparative en phase inverse



Description

1er jour

Formation théorique (3h30) COURS

- Principes généraux : comprendre les phénomènes mis en jeux en chromatographie
- Silices greffées : fabrication, état du marché, apprendre à choisir le bon support
- Grandeurs fondamentales : définitions, apprendre à les calculer
- Facteurs influençant les purifications : temp ; nature des éluants (compo et pH), géométrie colonne, volume d'injection, charge, type de greffage

Méthodologie (3h30) COURS

- Préparation de l'échantillon
- Détermination des paramètres chromatographiques
- Exemple d'étude méthodologique : pH-temps d'élution-estimation de la quantité à purifier-écriture de méthode
- Les bonnes pratiques et erreurs à éviter
- Exercices d'application à effectuer en autonomie

2ème jour

Travaux pratiques/Travaux dirigés (3h30)



- Détermination expérimentale du volume mort et du volume délai (3 injections)
- (1 injection sans colonne de 200µl de DMSO à 100% de voie A - 1 injection avec colonne de 200µl de DMSO à 100% de voie A - 1 élution de 10 minutes voie A (ACN) et voie B (ACN+5% Acétone))
- Déterminer par le calcul tous les paramètres chromatographiques (Débit optimal - volume retard - temps retard - quantité de silice - volume d'injection - temps réel d'élution - % réel d'élution)
- Détermination graphique du % d'élution observé estimé du composé ciblé
- Déterminer le gradient de purification
- Ecriture de la méthode sur l'appareil
- Estimer le temps de rétention en mode préparatif.

Travaux pratiques / Travaux dirigés (3h30)

- Mise en œuvre de la purification et description des fonctionnalités
- Corrections des exercices d'application
- Test d'évaluation



Prérequis

Niveau Bac + 2 minimum en chimie ou en biologie. Connaissances de base en HPLC



Modalités pédagogiques

Alternance de cours (7 h) et de TP/TD (7 h).



Moyens et supports pédagogiques

Un support papier et un fichier au format PDF seront mis à disposition du participant.



Modalités d'évaluation et de suivi

Un suivi individualisé par des évaluations formatives est assuré. Une attestation de fin de formation est délivrée à la fin du parcours.



Informations sur l'admission

L'admission à cette formation ne fait l'objet d'aucun examen, test ou sélection préalable ; l'inscription est validée après réception du dossier complet et confirmation par l'organisme de formation.



Informations sur l'accessibilité

Notre organisme s'engage à garantir l'accessibilité de ses formations à distance et en présentiel aux personnes en situation de handicap. Un référent handicap est mobilisable afin d'analyser les besoins spécifiques et de mettre en place, lorsque cela est possible, les adaptations pédagogiques, techniques ou organisationnelles nécessaires.