

Instituto Clodomiro Picado  
División Académica - Laboratorio de Proteómica  
**Servicios de Análisis Proteómicos**

**Guía para solicitar los servicios de análisis y recomendaciones a los usuarios**  
(2013)

Los servicios de análisis de proteínas y péptidos que el laboratorio ofrece incluyen:

**1. Determinación de la masa total de una proteína o péptido:**

Para esta determinación se requiere alrededor de 1-10  $\mu\text{g}$  de muestra, como mínimo, preferiblemente purificada o semipurificada. La muestra debe estar libre de sales, y puede proporcionarse seca, o disuelta en solventes compatibles con los análisis por MS (por ej. agua, mezclas de agua con acetonitrilo, u otros). La presencia de sales o detergentes en la muestra interfiere con la ionización de péptidos/proteínas y dificulta la obtención de los resultados. El ámbito de masas de las proteínas/péptidos a analizar abarca hasta los 180.000 daltons.

**2. Identificación de una proteína a partir de una banda de gel de poliacrilamida:**

Se pueden obtener segmentos cortos de las secuencias de aminoácidos de la(s) proteína(s) presente(s) en una banda de un gel de poliacrilamida (generalmente un SDS-PAGE, aunque también es posible utilizar otros tipos de geles), con el fin de comparar su similitud en bases de datos y determinar la probable identidad de la(s) proteína(s). También es posible obtener secuencias *de novo* de los segmentos, basadas en espectros MS/MS de alta calidad. Para esto se requiere de una banda electroforética del gel, teñido con azul de Coomassie, preferiblemente de intensidad mediana a fuerte. Es posible intentar la identificación con bandas tenues, aunque las probabilidades de identificación positiva disminuyen en tal caso. Igualmente, el proporcionar una banda de proteína de intensidad adecuada no garantiza su identificación (especialmente para especies cuyos genomas no se conocen), pues esta es dependiente de la información disponible en bases de datos. Se deberá cubrir los costos de todas las muestras que se procesen, independientemente de una identificación positiva o no.

Se recomienda manejar los geles siempre con guantes, y en recipientes limpios, para prevenir la contaminación con keratinas. Las bandas pueden cortarse con un sacabocados circular (2 mm de diámetro, <2 mm grosor), por ej. una punta de pipeta recortada, o con bisturí, evitando tomar un exceso de poliacrilamida sin proteína alrededor de la muestra. Si los geles se van a almacenar por un tiempo, prevenir la contaminación microbiana manteniéndolos a 4°C. Los trozos de gel con la muestra (ej. 2 discos de 2 mm) se pueden depositar en un vial para microcentrífuga de 1,5 ml (tipo Eppendorf) nuevo, y mantenerlos a 4 °C hasta su análisis.

### 3. Secuenciación N-terminal:

Mediante degradación de Edman, se realiza la secuenciación de proteínas y péptidos desde el extremo N-terminal (excepto si este se encuentra bloqueado). La muestra puede proporcionarse seca o en solución, y debe estar libre de sales y detergentes. La pureza mínima de la proteína a secuenciar debe ser  $\geq 90\%$ , y la cantidad mínima es  $\geq 1$  nanomol. Para muestras en solución, el solvente preferido es agua o mezclas agua/acetonitrilo. También pueden procesarse muestras que hayan sido previamente transferidas a una membrana de PVDF.

### 4. Procedimiento para solicitar los servicios:

Para solicitar estos servicios de análisis se puede contactar a la Sra. Jenny Masís ([jenny.masis@gmail.com](mailto:jenny.masis@gmail.com), tel. 2511-7888, Administración), al Dr. Bruno Lomonte ([bruno.lomonte@ucr.ac.cr](mailto:bruno.lomonte@ucr.ac.cr)) con el fin de estimar los costos (ver la lista adjunta) o aclarar dudas técnicas.

Una vez aceptadas las condiciones, se completará un formulario con la información pertinente sobre las muestras, y los análisis requeridos. Debe indicarse si se requiere la elaboración previa de una factura proforma. Los resultados se entregarán mediante un informe escrito, preferiblemente mediante correo electrónico, contra cancelación de la factura.

El personal a cargo de los análisis de laboratorio, así como de los trámites administrativos, está en la mejor disposición de aclarar cualquier duda sobre los servicios a los usuarios que lo requieran.

### 5. Instrumentación disponible:



Espectrómetro de Masas  
Applied Biosystems 4800-Plus  
MALDI-TOF-TOF Proteomics Analyzer



Espectrómetro de Masas  
Applied Biosystems  
Q-Trap 3200



Secuenciador N-terminal  
Shimadzu  
Protein Sequencer PPSQ-33A

## 6. Costos de los servicios:

- **Espectrometría de Masas** (proteínas y péptidos)\*

<b>Usuarios</b>	<b>Masa total ESI</b>	<b>Masa total MALDI</b>	<b>Identificación dig. trípica + MALDI</b>	<b>Identificación dig. trípica + ESI</b>
ICP	¢ 13.000 (\$ 25,00)	¢ 13.000 (\$ 25,00)	¢ 15.600 (\$ 30,00)	¢ 20.800 (\$ 40,00)
UCR	¢ 14.300 (\$ 27,50)	¢ 14.300 (\$ 17,60)	¢ 17.160 (\$ 33)	¢ 22.900 (\$ 44)
Inst. Públicas	¢ 15.800 (\$ 30,25)	¢ 15.800 (\$ 30,25)	¢ 18.900 (\$ 36,30)	¢ 25.200 (\$ 48,40)
Inst. Privadas	¢ 18.200 (\$ 34,80)	¢ 18.200 (\$ 34,80)	¢ 21.700 (\$ 41,70)	¢ 29.000 (\$ 55,70)

\* Los costos incluyen el procesamiento de las muestras y la elaboración de un informe de resultados. En el caso de los servicios de identificación mediante MS/MS, se cubrirá los costos de todas las muestras a procesar, independientemente de una identificación positiva o negativa.

- **Secuenciación N-terminal** (proteínas y péptidos)

<b>Servicio</b>	<b>ICP</b>	<b>UCR</b>	<b>Instituciones Públicas</b>	<b>Instituciones Privadas</b>
Servicio Básico (10 aminoácidos)	¢ 22.500 (\$ 45)	¢ 24.750 \$ 49,5	¢ 27.000 \$ 54	¢ 31.500 \$ 63
Cada ciclo adicional, después de 10 aminoácidos	¢ 1.500 \$ 3,0	¢ 1.650 \$ 3,3	¢ 1.800 \$ 3,6	¢ 2.100 \$ 4,2

\* Los costos incluyen el procesamiento de las muestras y la elaboración de un informe de resultados. En el caso de las muestras que presenten un bloqueo N-terminal, se deberá cubrir los costos del servicio básico.

Atentamente,

Bruno Lomonte, PhD  
Coordinador  
Servicios de Análisis Proteómicos  
Instituto Clodomiro Picado  
Universidad de Costa Rica

**Actualización: 18-MAR-2013**