



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

Guía para solicitar los servicios de análisis y recomendaciones a los usuarios (2018)

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 μg 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. Si la muestra posee sales, el Servicio puede ofrecer una limpieza en puntilla tipo ZipTip o en columna, por un costo adicional. El ámbito de masas de las proteínas/péptidos a analizar abarca hasta un máximo de 120.000 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, en algunas ocasiones. 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 organismos "no-modelo", es decir, cuyos genomas/transcriptomas/proteomas no se conocen), pues la identificación es muy dependiente de la información disponible en bases de datos. Por razones de consumo de materiales, reactivos y trabajo, se deberá cubrir los costos de todas las muestras que se procesen, independientemente de resulten en una identificación positiva o no.

Se recomienda manejar los geles siempre con guantes, y en recipientes limpios, para prevenir la contaminación con keratinas o con residuos de muestras usadas previamente en los recipientes. Las bandas pueden cortarse con un sacabocados circular (2 mm de diámetro, <2 mm grosor), por ej. con una punta de pipeta recortada, o también con un bisturí limpio. Debe evitarse tomar un exceso de poliacrilamida sin proteína alrededor de la muestra. Si los geles se van a almacenar por un tiempo, es recomendable mantenerlos en refrigeración para prevenir su contaminación microbiana. Por ejemplo, los trozos de gel con la muestra (ej. 1-3 discos de 2 mm, o una bandita rectangular) se pueden depositar en un vial para microcentrifuga de 1,5 ml (tipo Eppendorf) nuevo, con unos pocos microlitros de agua o solución decoloradora, 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 1 nanomol. Para muestras en solución, el solvente preferido es agua o mezclas de agua/acetonitrilo. También pueden procesarse muestras que hayan sido previamente transferidas a una membrana de PVDF.

4. Procedimiento para solicitar los servicios:

Para consultar las tarifas o solicitar una cotización de estos servicios de análisis se puede contactar a la Lic. Jenny Masís (jenny.masis@gmail.com, tel. 2511-7888, Administración). Para consultas o dudas técnicas se puede contactar al Dr. Bruno Lomonte (bruno.lomonte@ucr.ac.cr), tel. 2511-7888.

El cliente proporcionará las muestras junto con la información pertinente (origen biológico), y deberá depositar previamente el monto acordado para el análisis. Los resultados se le entregarán mediante un informe escrito, preferiblemente mediante correo electrónico. Se solicitará posteriormente a los clientes llenar una boleta de evaluación de los servicios.

El personal a cargo de los trámites administrativos y los análisis de laboratorio 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

Atentamente,

Bruno Lomonte, PhD
Coordinador - Servicios de Análisis Proteómicos
Instituto Clodomiro Picado - Universidad de Costa Rica
Actualización: 28-AGO-2018