



Instituto de Biotecnología  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA - UNAM

AV. UNIVERSIDAD, 2001, COL. CHAMILPA, CUERNAVACA-MOR, 62210

DEPENDENCIA UNAM 328  
Laboratorio Universitario de Proteómica

*Servicios de identificación, caracterización estructural y cuantificación de proteínas a través de la Espectrometría de Masas de alta resolución.*

## GUIA PARA EL ENVÍO DE MUESTRAS

### Contaminación

Los contaminantes pueden introducirse en varios pasos durante la preparación de la muestra. Algunos pasarán desapercibidos, otros oscurecerán totalmente todas las proteínas. Por lo tanto, minimizar la contaminación será esencial para obtener resultados positivos.

### Otras proteínas contaminantes

Otras proteínas frecuentemente observadas son: BSA, inmunoglobulinas y otras proteínas séricas. Estos generalmente se originan a partir de medios de cultivo celular.

### Queratinas

Las queratinas son proteínas contaminantes omnipresentes y notorias que se originan en la piel, el cabello, el polvo, la ropa, los productos químicos, etc. La eliminación total es prácticamente imposible (y no necesaria), pero la abundancia excesiva dará como resultado la identificación repetida de las queratinas, y no su proteína de interés. Se cree que la mayoría de las queratinas contaminantes se originan en el polvo acumulado en el gel después de usarlo. Por lo tanto, un entorno de laboratorio limpio ciertamente beneficiará el resultado del experimento de EM. Adicionalmente, hay un par de medidas que puede tomar: Use guantes de nitrilo sin polvo en todo momento. Nunca toque el gel (o el líquido en el que flota) con las manos desnudas. Use bandejas / recipientes limpios que solo se usan con el fin de teñir el gel (y no para, por ejemplo, soluciones de bloqueo para transferencias Western), y déjelos cerrados con una tapa durante la tinción / almacenamiento. No te inclines por los geles y te rasques la cabeza para interpretar el patrón de la banda. Si saca el gel del recipiente (por ejemplo, para escanear, cortar), limpie bien el área con agua

o etanol al 70%. Utilice siempre soluciones nuevas para preparar y ejecutar geles, incluido el tampón de carga de muestras. Los solventes viejos tienden a acumular polvo, literalmente.

## **Polímeros**

Los polímeros suelen ser contaminantes más graves que las queratinas, ya que tienden a adherirse a las columnas de HPLC, ya sea arruinándolas o, al menos, causando un grave efecto de memoria en las posteriores ejecuciones de LC-MS. Además de esto, la mayoría de los polímeros se ionizan más fácilmente que los péptidos, por lo que incluso pequeñas cantidades pueden ser perjudiciales para el experimento. Los polímeros observados con mayor frecuencia son diversas formas de PEG, que están presentes en algunos plásticos, pero también en jabones, cremas de manos (¡use guantes!) y detergentes. No siempre es fácil rastrear la fuente de una contaminación de polímeros, problemas Evite el uso de Parafilm.

NO deben estar presentes detergentes en las muestras que se enviarán para la EM, especialmente CHAPS, NP-40 y Triton X-100,

## **Recomendaciones.**

1. Complete el formulario de solicitud y discuta su pregunta antes de enviar muestras.
2. Póngase en contacto con el personal del LUP en cualquier momento para analizar la preparación, procesamiento y envío de la muestra.
3. Bríndenos toda la información que pueda sobre su muestra (proteína).
4. Use guantes en todo momento durante el manejo de la muestra.
5. Corte las bandas de gel en una placa de vidrio limpia con un cuchillo de bisturí limpio o acuda a nuestro laboratorio para que podamos apoyarlo
6. Envíe la secuencia de proteínas si cuenta con ella (formato FASTA).
7. No envíe las muestras en fin de semana
8. No incube geles en el microondas para acelerar la tinción de coomassie
9. No use acetatos para escanear geles
10. No use detergentes para experimentos de EM de proteínas intactas
11. No use > 5% de glicerol para experimentos de MS de proteínas intactas