

**PROTOCOLO.**  
**DESALADO DE PÉPTIDOS O PROTEÍNAS CON CONCENTRACIONES > 1mg**

Soluciones y materiales

- Ácido fórmico (AF)
- Cartucho Sep-Pak C18, C4, C8 1 cc Vac Cartridge (Waters)
- Agua Milli Q o grado LC-MS
- Acetonitrilo grado LC-MS
- Tubos plásticos de bajo pegado de 1.5 mL (Protein LoBind) de Eppendorf AG (Hamburg, Germany) (para la elución de péptidos).
- Tubos eppendorf de 2.0 mL (para lavados).
- Concentrador SpeedVac Savant SPD1010 (Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA).
- Solución A - Agua Milli-Q, 0.1 % ácido fórmico (AF)
- Solución B - acetonitrilo:agua, 0.1% AF (50:50)
- Solución C - acetonitrilo:agua, 0.1% AF (80:20)
- Solución D – acetonitrilo

**PROCEDIMIENTO**

1. Reconstituir la muestra en 0.5 mL de la solución A (Agua Milli-Q, 0.1 % ácido fórmico) y centrifugar a máxima velocidad 1-3 min.
2. Equilibrar el cartucho. Agregar 1 mL de la solución D (ACN 100%) al cartucho y desechar eluido (repetir este paso 2 veces más)
3. Agregar 1 mL de la solución A al cartucho desechar eluido (repetir este paso 2 veces mas).

4. Cargar la muestra en la columna. La muestra deberá eluirse lentamente del cartucho. No permitir que se formen burbujas y entren en la región de la resina. Repetir este paso.
5. Lavar la columna con 1 mL de la solución A y coleccionar el eluido en un tubo nuevo y etiquetarlo como LAVADO (repetir este paso, recuperando en el mismo tubo).
6. Colocar un tubo nuevo de 1.5 mL y etiquetarlo (elución de péptidos) y agregar 300 uL de la solución B (ACN 50%) y recuperar el eluido.
7. Agregar 200 uL de la solución C (ACN 80%). Repetir este paso.
8. Agregar 200 uL de ACN 100%
9. Secar al vacío y realizar ensayo de cuantificación a través del método de BCA
10. Guardar a -20 hasta su posterior análisis