

Preparação de amostra para MALDI-TOF (English - see next page)

Numa análise MALDI-TOF-MS as amostras são previamente dissolvidas e dispersas numa matriz (geralmente um ácido orgânico), colocadas numa placa MALDI que após evaporação do solvente, é introduzida na fonte MALDI onde os cristais amostra-matriz são irradiados por um feixe laser.

A concentração da amostra a ser entregue depende do tipo de analito, tendo já em linha de conta as diluições necessárias com a matriz. Assim:

1- Para polímeros, compostos orgânicos e complexos a quantidade de amostra necessária é de cerca de 1 mg. A amostra será dissolvida no solvente indicado pelo requerente, de preferência que seja miscível com o solvente da matriz.

2- Para péptidos e proteínas em solução, a concentração depende do peso molecular. Para proteínas com massa inferior a 10 kDa são necessários cerca de 10 a 20 pmol/ μ l. Para proteínas com massas superiores a 10 kDa a concentração a ser entregue deve ser de 100 a 200 pmol/ μ l. As proteínas (ou a mistura de péptidos) podem também ser enviadas liofilizadas.

3- As amostras de proteínas provenientes de eletroforese, separadas em poliacrilamida e tingida com azul de *Coomassie* ou com prata (prata compatível com espetrometria de massa – por favor contacte-nos), podem ser entregues no próprio gel hidratado. No caso das bandas separadas, a banda/mancha proteica deve ser recortada com o mínimo de gel possível e colocada num tubo *ependorf* recoberto com água ultrapura tipo I. É fundamental enviar um *scanner* ou fotocópia da imagem do gel juntamente com as amostras. Recomenda-se fortemente o uso de luvas sem pó para a manipulação de amostra destinadas à identificação por PMF, de forma a evitar a contaminação com queratinas.

Reagentes compatíveis com a espetrometria de massa tipo MALDI-TOF

Utilizar sempre reagentes com grau de pureza HPLC e água ultrapura tipo I.

A) Os compostos que não interferem são: ácido trifluoracético, ácido fórmico, beta-mercaptoetanol, DTT, solventes orgânicos voláteis, ácido clorídrico, hidróxido de amónia, ácido acético.

B) Compostos de concentrações inferiores a 50 mM que não interferem: HEPES, MOPS, Tris, NH_4OAc , octilglucosídeo.

C) A evitar os seguintes compostos: glicerol, azida sódica, DMSO, SDS, fosfatos, cloreto de sódio, 2M ureia, 2M guanidina.

Sample preparation guidelines for MALDI-TOF

In MALDI-TOF-MS analysis samples are first dissolved and dispersed in a matrix (usually an organic acid), placed on a MALDI plate and, after evaporation of the solvent, the sample is introduced into the MALDI source where the sample-matrix crystals are irradiated by a laser beam.

The concentration of the sample to be delivered depends on the type of analyte, taking already into account the dilutions required with the matrix. Thus:

1 - For polymers, organic compounds and complexes the amount of sample needed is about 1 mg. The sample is dissolved in the solvent indicated by the applicant, which is preferably miscible with the solvent matrix.

2 - For peptides and proteins in solution, the concentration depends on molecular weight. For proteins with a mass below 10 kDa are needed about 10 to 20 pmol/ μ l. For proteins with masses exceeding 10 kDa the quantity to be delivered must be 100 to 200 pmol/ml. The proteins (or a mixture of peptides) may also be delivered lyophilized.

3 - Samples of protein from electrophoresis separated on polyacrylamide and stained with *Coomassie* blue or silver (silver compatible with mass spectrometry – please, contact the technician), can be delivered on the same gel hydrated. In the case of separate bands, the band/protein stain should be trimmed to the minimum possible gel and placed in eppendorf tube covered with type I water. It is essential to send a copy or a scanner image of the gel along with samples. It is strongly recommended the use of powder-free gloves for sample manipulation for identification by PMF, in order to avoid contamination with keratins.

Reagents compatible with MALDI-TOF/MS:

Always use reagents with HPLC purity and type I water.

- A) The compounds that do not interfere with the MALDI-TOF are: trifluoroacetic acid, formic acid, beta-mercaptoethanol, DTT, volatile organic solvents, chloridric acid, ammonium hydroxide, acetic acid.
- B) Compounds with concentrations below 50 mM do not interfere with mass spectrometry: HEPES, MOPS, Tris, NH₄OAc, octilglucoside.
- C) C) To avoid the following compounds: glycerol, sodium azide, DMSO, SDS, phosphates, sodium chloride, 2M urea, 2M guanidine.