

RECOMENDACIONES PARA MINIMIZAR LA CONTAMINACIÓN EN PROTEÓMICA POR ESPECTROMETRÍA DE MASA

Contacto: UEM IBR CONICET UNR <uem_ibr@ibr-conicet.gov.ar>

Version agosto 2021

La contaminación puede provenir de cualquiera de los reactivos químicos de laboratorio comunes que se utilizan en el laboratorio, de la manera que se manipulan las muestras y del material y equipamiento utilizado. Aquí algunas recomendaciones:

Los dos problemas más relevantes son el Polietilenglicol (PEG) y las queratinas.

El PEG se encuentra muy distribuido, normalmente se encuentra fuertemente ionizado y puede generar mucha señal. Tienen una repetición 44 Da. Su fragmentación puede generar múltiples polímeros. Se utiliza en muchos casos como conservante de enzimas pero también se encuentran en muchos detergentes, incluidos los jabones para lavar platos, jabones y productos cosméticos. Triton X-100, Tween, NP-40 son detergentes también deben evitarse. PEG también es utilizado en toallitas húmedas. Hay que tener cuidado al utilizar estas toallitas para limpiarse las manos o limpiar las mesadas.}

Si estos detergentes se utilizan para muestras de proteínas, la mejor forma de eliminarlos es mediante SDS-PAGE (ver protocolo específico).

Otras cuestiones a tener en cuenta:

No deje el material en la pileta. El material de vidrio utilizado anteriormente para preparar soluciones puede estar contaminado con PEG si se ha dejado en una pileta donde se lavan las manos, aunque después haya sido lavado.

Separare el material de vidrio libre de proteínas y aquel que no se contamina con proteínas, y solo se utiliza para soluciones, se enjuague luego se ser usado sin enviarlo a una vuelta de lavado.,

Nunca utilizar detergente para lavar platos en el laboratorio.

Utilice solo solventes de grado HPLC

No almacene solventes orgánicos en tubos de plástico.

Utilice botellas de vidrio nuevas para soluciones.

Utilice tubos de microcentrífuga de marcas reconocidas.

Utilice pipetas/tips desechables. Las pipetas que se han utilizado para pipetear soluciones con PEG o proteínas no deben ser reutilizadas, aún después de ser lavadas

Evite las superficies siliconizadas o los artículos de plástico. Estos tratamientos generan polisiloxanos que generan polímeros con repeticiones de 76 Da.

LA QUERATINAS son proteínas contaminantes muy comunes. Proviene de la piel y el cabello y está presente en cantidad el polvo del laboratorio. Si hay otras proteínas de uso en cantidad en el laboratorio puede ser fuente de contaminación, como medio de cultivos, extractos en polvo, etc.

Cuide el lugar de trabajo. Cualquier superficie del laboratorio, incluidos material de vidrio, reactivos, productos químicos expuestos a la atmósfera del laboratorio durante más de unos minutos se contaminará con suficiente queratina para ser detectada por nuestro sistema de detección

Mantenga todo el material limpio cubierto con papel de aluminio, o en bolsas de plástico selladas o las botellas con tapas. Cualquier cosa que se deje secar al lado de la pila del laboratorio donde la gente se higieniza sus manos está contaminada con queratina.

Recomendaciones para preparación de muestras y SDS - PAGE (ver el protocolo detallado provisto por la UEM IBR):

Utilice agua ultrapura (es decir, sin partículas, químicamente limpia, resistividad de 18 megaohm/cm o menos). Esto reducirá la cantidad de impurezas en el agua. Agua ultrapura puede ser comprada o obtenida por un proceso de purificación que debe incluir todos los pasos siguientes: Ósmosis inversa (para eliminar la mayoría de los contaminantes), Intercambio de iones (para eliminar los iones restantes), Filtración de carbón (para eliminar cualquier resto orgánico), Un filtro de membrana de 0,2 µm de grado farmacéutico (para eliminar los restos partículas). Puede incluir también un paso de Esterilización UV (para matar bacterias). Los equipos del tipo Milli-Q cumplen con estas especificaciones.

Use y limpie correctamente el material de vidrio. Para limpiar el material de vidrio de laboratorio:

- Primero, enjuague con solvente orgánico y luego con agua.
- A continuación, enjuague con el solvente que utilizará.
- Si se requiere una limpieza más agresiva (y no puede reemplazarse por uno nuevo), utilice el siguiente procedimiento: someta a ultrasonidos el elemento a limpiar con ácido fórmico o nítrico al 10%, luego agua, luego metanol o acetonitrilo, luego agua. Repite dos veces más.

Lave el material de vidrio por separado de otros recipientes. Almacene el material de vidrio utilizado de otros de uso común.

Si el material de vidrio se contamina con crecimiento microbiano, si es posible descártelo. Caso contrario, páselo por autoclave. Lávelo luego con detergente especial y por sonicación ácido fórmico o nítrico, como se detalla más arriba.

Utilice soluciones nuevas cada vez. Si prepara una solución de siembra fraccíonela en tubos limpios y nuevos. Deseche el resto luego de cada experimento.

Utilice equipos de electroforesis limpios. Los equipos de electroforesis son una fuente común de contaminación de queratina. Preferiblemente separe su equipo y utilícelo solo para eso NUNCA deje el equipo en la pileta luego de utilizarlo. Límpielo inmediatamente y tápelos.

Siempre use guantes y cámbielos con frecuencia. Si contesta el teléfono o tome un bolígrafo con los guantes puestos, sus guantes ahora están contaminados.

Trabaje en una campana de flujo laminar. Esto disminuye el polvo y la queratina, pero no soluciona el problema del material que ya está contaminado.

Mantenga aislado sus geles. Durante la tinción de geles manténgalo cubierto con una tapa o con papel de aluminio nuevo. Utilice bandejas de tinción exclusivas. Si tiene dudas límpielas con una solución de ácido nítrico diluido y enjuague muy bien.

Mantenga las cajas de Tips de pipetas automáticas siempre cerradas cuando no estén en uso, así como todos los frascos de reactivos y viales de muestras. No comparta material. Es preferible no utilizar tips y material esterilizadas en autoclave, ya que los plásticos pueden contaminarse si se autoclavan junto a otro material. Las autoclaves son equipos altamente contaminados con péptidos.

Evite para trabajar ambientes con corrientes de aire y tráfico de personas. No hable mientras prepara las muestras.

Tenga especial cuidado en equipos concentradores. Los liofilizadores y concentradores rotatorios de uso común son fuente de contaminación.

Evite los plásticos al lisar las células, evite los plásticos si se requiere una ruptura vigorosa; esto conducirá a la contaminación de polímeros.

Mantenga una esterilidad óptima al cultivar material para análisis o aislar tejidos o células.

Controle donde guarda los tubos en los congeladores. No ponga sus tubos en cajas con muestras proteicas o stock de enzimas o estándares.