

## Odsalanie i zateżnienie próbki z użyciem metody ZIP TIP



### Przygotowanie próbki

- Próbkę stałą (лиофилizat, krystaliczną, oleistą) należy rozpuścić w 30-60  $\mu\text{L}$  wody z dodatkiem 0.1-0.5 % TFA. Jeśli zaistnieje taka potrzeba, należy pH końcowego roztworu doprowadzić do wartości , 4.0 przez dodatek 2.5% roztworu TFA w wodzie.
- Próbkę w postaci roztworu należy przygotować przez dodatek 10% roztworu TFA w wodzie tak aby uzyskać końcowe stężenie TFA na poziomie 0.5%.

Tabela 1 zawiera opis roztworów potrzebnych do przeprowadzenia procedury odsalania z zastosowaniem tipsów z fazą C18.

| Roztwory               | ZipTip <sub>C18</sub>                 |
|------------------------|---------------------------------------|
| Rozpuszczenie próbki   | 0.5% TFA w MilliQ, pH < 4.0           |
| Roztwór przygotowawczy | 100% acetonitryl (ACN)                |
| Roztwór równowagujący  | 0.5% TFA w MilliQ                     |
| Roztwór myjący         | 0.5% TFA w MilliQ                     |
| Roztwór eluujący       | 0.1% TFA/ 50% ACN*, 0.1% FA/50% ACN** |

\* do analiz MALDI-TOF, \*\* do analiz ESI LC-MS

### Protokół postępowania:

#### **Nawilżanie i równowagowanie ZipTip:**

1. Zaciągnij do tipsa i wypuść 10 razy 100% acetonitryl (roztwór usuwamy)
2. Zaciągnij do tipsa i wypuść 10 razy 0.1% TFA w wodzie (roztwór usuwamy)

#### **Wiązanie próbki:**

3. Zaciągnij do tipsa i wypuść 10-20 roztwór zawierający próbkę (próbka pozostaje w jednym eppendorfie, nie wylewamy!!!)
4. Zaciągnij do tipsa i wypuść 10 razy 0.1% TFA w wodzie w celu usunięcia pozostałych soli, detergentów (roztwór usuwamy).

#### **Elucja próbki:**

5. Wyeluuj próbkę do oddzielnego czystego eppendorfa, w którym znajduje się 15  $\mu\text{L}$  0.1% TFA/ 50% ACN (do analizy MALDI-TOF) lub 15  $\mu\text{L}$  of 0.1% FA/ 50% ACN (do analizy ESI-LC-MS).
6. Procedurę zaciągania i wypuszczania próbki powtórz 15 razy.
7. W razie potrzeby całą procedurę powtórz 3-4 razy pomijając punkt 1. Elucję w tym przypadku prowadzimy do tego samego roztworu elucyjnego, opisanego w punkcie 5 (nie zwiększamy objętości!!!).