

SCHEDA LABORATORIO SCIENTIFICO n. 32

BIOCHIMICA DELLE PROTEINE E SPETTROMETRIA DI MASSA - PROTEIN BIOCHEMISTRY AND MASS SPECTROMETRY

Settore Scientifico-Disciplinare di riferimento: BIOS-07/A

Responsabile: ANTIMO DI MARO E ANGELA CHAMBERY

RADoR: ANTIMO DI MARO, ANGELA CHAMBERY, ROSITA RUSSO

Tipologia: CHIMICO

Gruppi afferenti: Biochimica delle proteine, proteomica e spettrometria di massa

LOCALIZZAZIONE E DESCRIZIONE

- Riportare: piano, corpo, (locale)
- dimensioni
- n. postazioni di lavoro

ATTIVITÀ SVOLTE NEL LABORATORIO

1. Separazione di proteine e /o peptidi mediante RP-HPLC
2. Preparazione di solventi per HPLC e analisi di spettrometria di massa
3. Analisi della composizione amminoacidica di matrici alimentari
4. Analisi proteomica di miscele complesse

RELAZIONE SINTETICA DESCRITTIVA DELLE ATTIVITÀ SVOLTE E DELLE MODALITÀ OPERATIVE

1. Separazione di proteine e /o peptidi mediante RP-HPLC

Prima di essere sottoposti a separazione cromatografica mediante RP-HPLC, i campioni vengono centrifugati, filtrati e iniettati manualmente allo strumento mediante l'uso di micro-siringhe in vetro. Le proteine e/o peptidi purificati ottenuti dopo la corsa cromatografica vengono raccolti in eppendorf, liofilizzati e conservati per ulteriori analisi.

PRIMA DELL'UTILIZZO DELL'HPLC:

- Al primo utilizzo leggere attentamente le istruzioni di sicurezza fornite dal costruttore
- Indossare i DPI necessari (guanti di protezione, occhiali di protezione, camice da laboratorio)
- Assicurarsi che tutti i liquidi di scarto del processo cromatografico vengano convogliati in apposite taniche di raccolta
- Filtrare i solventi prima del loro utilizzo
- Centrifugare e filtrare il campione prima dell'analisi
- Assicurare un adeguato ricambio d'aria

DURANTE L'UTILIZZO:

- Accertarsi del corretto avvio della procedura di separazione
- Non intervenire di propria iniziativa sui componenti della strumentazione e non manomettere parti di essa
- Segnalare tempestivamente eventuali malfunzionamenti o guasti al Responsabile delle Attività (RADoR)

DOPO L'UTILIZZO:

- Procedere alla pulizia e al riordino del proprio banco di lavoro
- Svuotare la tanica di raccolta degli scarti quando presenti liquidi per una frazione compresa fra $\frac{1}{2}$ e $\frac{3}{4}$ dell'intero volume del contenitore
- Smaltire i rifiuti solidi e/o liquidi prodotti, seguendo le procedure indicate dal RADoR

2. Preparazione di solventi per HPLC e spettrometri di massa

Per la preparazione dei solventi, al primo utilizzo, l'operatore deve leggere la scheda di sicurezza del solvente da utilizzare. Dopodiché l'operatore deve indossare gli appositi DPI (guanti di protezione, occhiali protettivi e camice da laboratorio). Per la preparazione del solvente, l'operatore deve accendere la cappa chimica e operare sempre sotto cappa tutte le procedure di preparazione del solvente desiderato (ad esempio: diluizione, acidificazione e filtraggio). Al termine dell'attività, l'operatore deve pulire la postazione di lavoro, lavare la vetreria e smaltire gli eventuali rifiuti prodotti in accordo con le procedure indicate dal RAdoR

3. Analisi della composizione aminoacidica di matrici alimentari

Dopo le fasi di estrazione, i campioni vengono risospesi in opportuni volumi di tampone pH 2.2, centrifugati e filtrati in appositi contenitori che verranno a loro volta posizionati in auto-campionatore per le successive analisi

PRIMA DELL'UTILIZZO DELL'ANALIZZATORE DI AMMINOACIDI:

- Al primo utilizzo leggere attentamente le istruzioni di sicurezza fornite dal costruttore
- Indossare i DPI necessari (guanti di protezione, camice da laboratorio)
- Aggiungere i buffer e il reagente necessario nelle apposite bottiglie, con aspiratore acceso
- Assicurarsi che i contenitori dei buffer e del reagente siano chiusi ermeticamente
- Assicurarsi che tutti i liquidi di scarto del processo cromatografico vengano convogliati in apposite taniche di raccolta
- Centrifugare e filtrare il campione prima dell'analisi
- Assicurare un adeguato ricambio d'aria

DURANTE L'UTILIZZO:

- Accertarsi del corretto avvio della procedura di separazione
- Non intervenire di propria iniziativa sui componenti della strumentazione e non manomettere parti di essa
- Segnalare tempestivamente eventuali malfunzionamenti o guasti al Responsabile delle Attività (RAdoR)

DOPO L'UTILIZZO:

- Procedere alla pulizia e al riordino del proprio banco di lavoro
- Svuotare la tanica di raccolta degli scarti quando presenti liquidi per una frazione compresa fra $\frac{1}{2}$ e $\frac{3}{4}$ dell'intero volume del contenitore
- Smaltire i rifiuti solidi e/o liquidi prodotti, seguendo le procedure indicate dal RAdoR

4. Analisi proteomica di miscele complesse

Dopo le fasi di preparazione di miscele peptidiche, i campioni vengono risospesi in opportuni volumi di acqua contenente TFA 0.1%, centrifugati e inseriti in apposite vials che verranno posizionate in auto-campionatore o depositati su micropiastre in acciaio

PRIMA DELL'UTILIZZO DEGLI SPETTROMETRI DI MASSA:

- Al primo utilizzo leggere attentamente le istruzioni di sicurezza fornite dalle ditte costruttrici
- Indossare i DPI necessari (guanti di protezione, camice da laboratorio)
- Aggiungere i solventi necessari nelle apposite bottiglie
- Assicurarsi che i flussi di gas, laddove richiesti per il funzionamento dello spettrometro di massa, siano adeguati
- Assicurarsi che gli eventuali liquidi di scarto delle analisi di spettrometria di massa vengano convogliati in apposite taniche di raccolta

- Centrifugare il campione prima dell'analisi

DURANTE L'UTILIZZO:

- Accertarsi del corretto avvio della procedura analitica e controllare che i voltaggi e/o l'energia del laser siano correttamente applicati in sorgente
- Non intervenire di propria iniziativa sui componenti della strumentazione e non manomettere parti di essa
- Segnalare tempestivamente eventuali malfunzionamenti o guasti al Responsabile delle Attività (RADoR)

DOPO L'UTILIZZO:

- Procedere allo spegnimento dei voltaggi e/o del laser in sorgente
- Procedere alla pulizia e al riordino del proprio banco di lavoro
- Svuotare la tanica di raccolta degli scarti quando presenti liquidi per una frazione compresa fra $\frac{1}{2}$ e $\frac{3}{4}$ dell'intero volume del contenitore
- Smaltire i rifiuti solidi e/o liquidi prodotti, seguendo le procedure indicate da RADoR

Lista delle attrezzature presenti:

- piastra riscaldante/agitante (n. 2)
- centrifuga per eppendorf
- vortex
- basculante
- spettrofotometro monoraggio
- pompa peristaltica
- pompa a membrana da vuoto
- frigorifero + 4 °C
- congelatore -20 °C (n.2)
- alimentatore per corse elettroforetiche (n. 2)
- bagnetto termostato
- sistema FPLC con rilevatore UV-Vis (n.2)
- sistema RP-HPLC con rilevatore UV-Vis (n.2)
- bagnetto sonicatore
- sistema Savant per la concentrazione sottovuoto di campioni
- analizzatore di amminoacidi Biochrom 30
- sequenziatore di proteine
- raccogliore di frazioni (n.2)
- spettrometro di massa Orbitrap Q-EXACTIVE, UPLC
- spettrometro di massa Synapt G2-Si HDMS, UPLC
- spettrometro di massa Xevo TQD, UPLC
- spettrometro di massa MALDI-TOF
- Mass Prep Station
- generatori di azoto (n. 4)
- pompe rotative (n. 5)

Lista dei Dispositivi di Protezione Generale (DPG)

- cappa chimica
- armadio per liquidi infiammabili

Lista dei Dispositivi di Protezione Individuali (DPI) ad uso personale degli operatori:

- occhiali di protezione
- guanti in nitrile e in lattice
- camice da laboratorio

Categorie ISI WEB di riferimento

Biochemistry and Molecular Biology

Biochemical Research Methods

Food Science and Technology

Categorie ERC di riferimento

LS1_2 Biochemistry

LS2_8 Proteomics

[SCHEDE DI SICUREZZA](#)