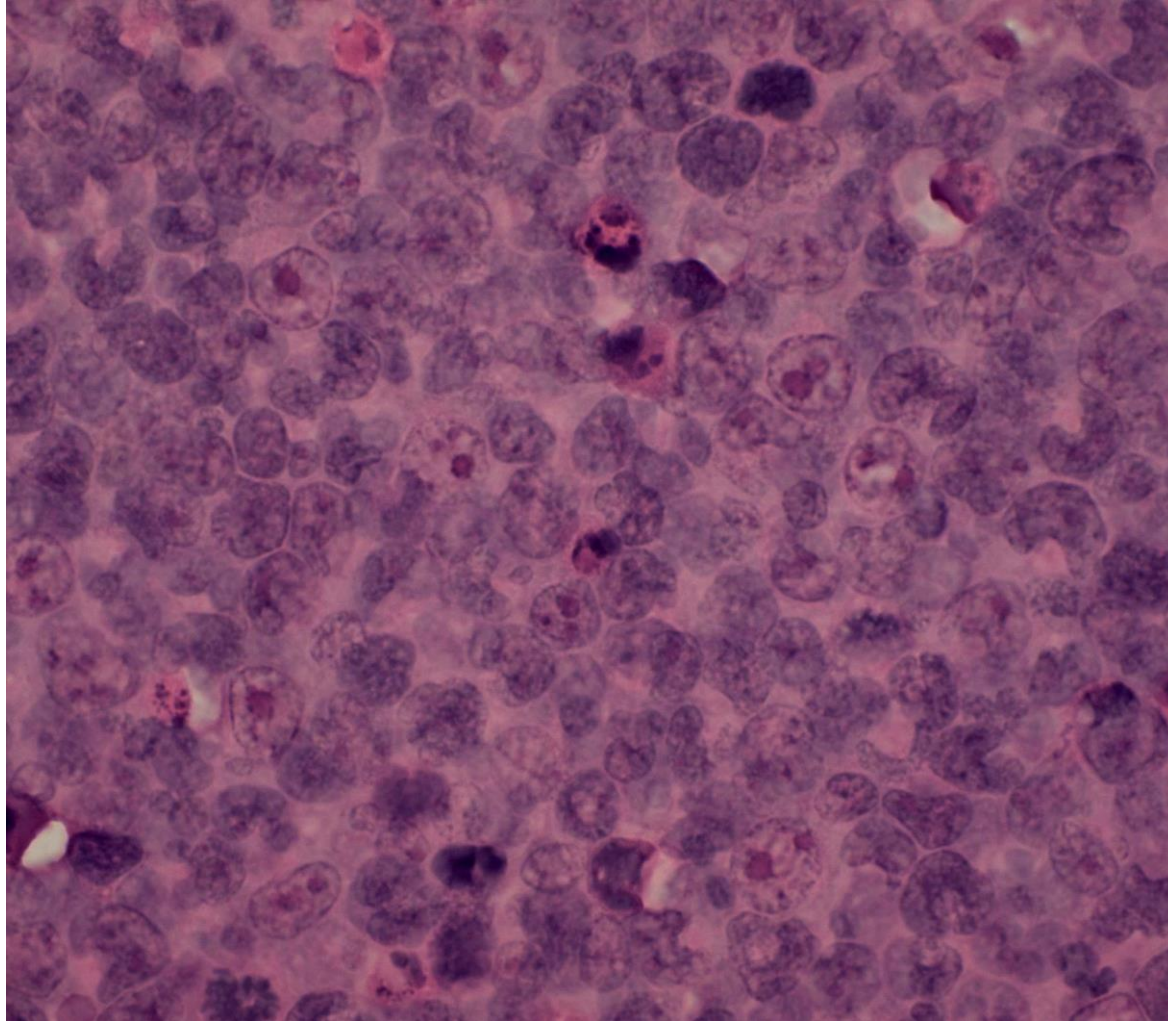


A)



B)

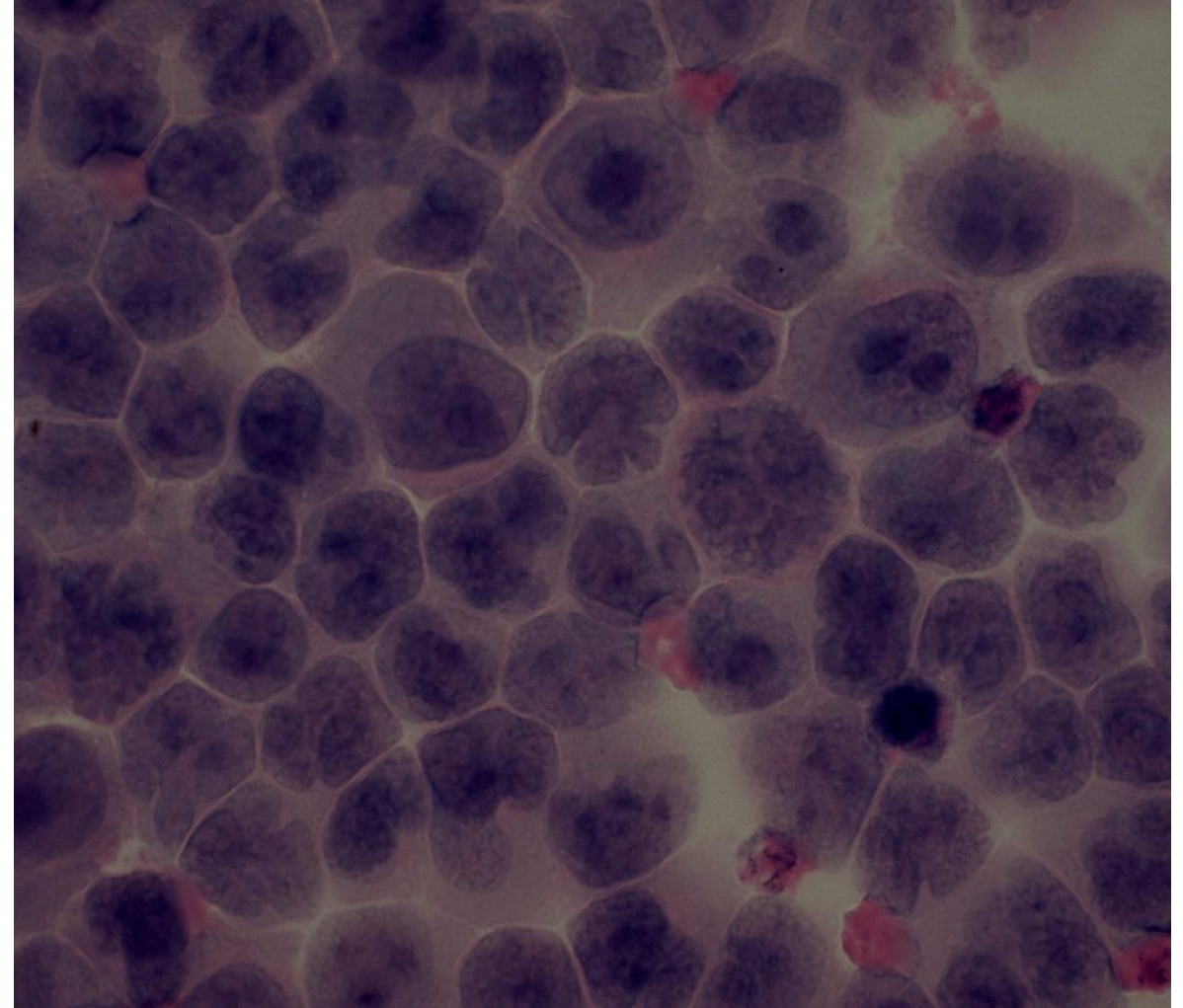
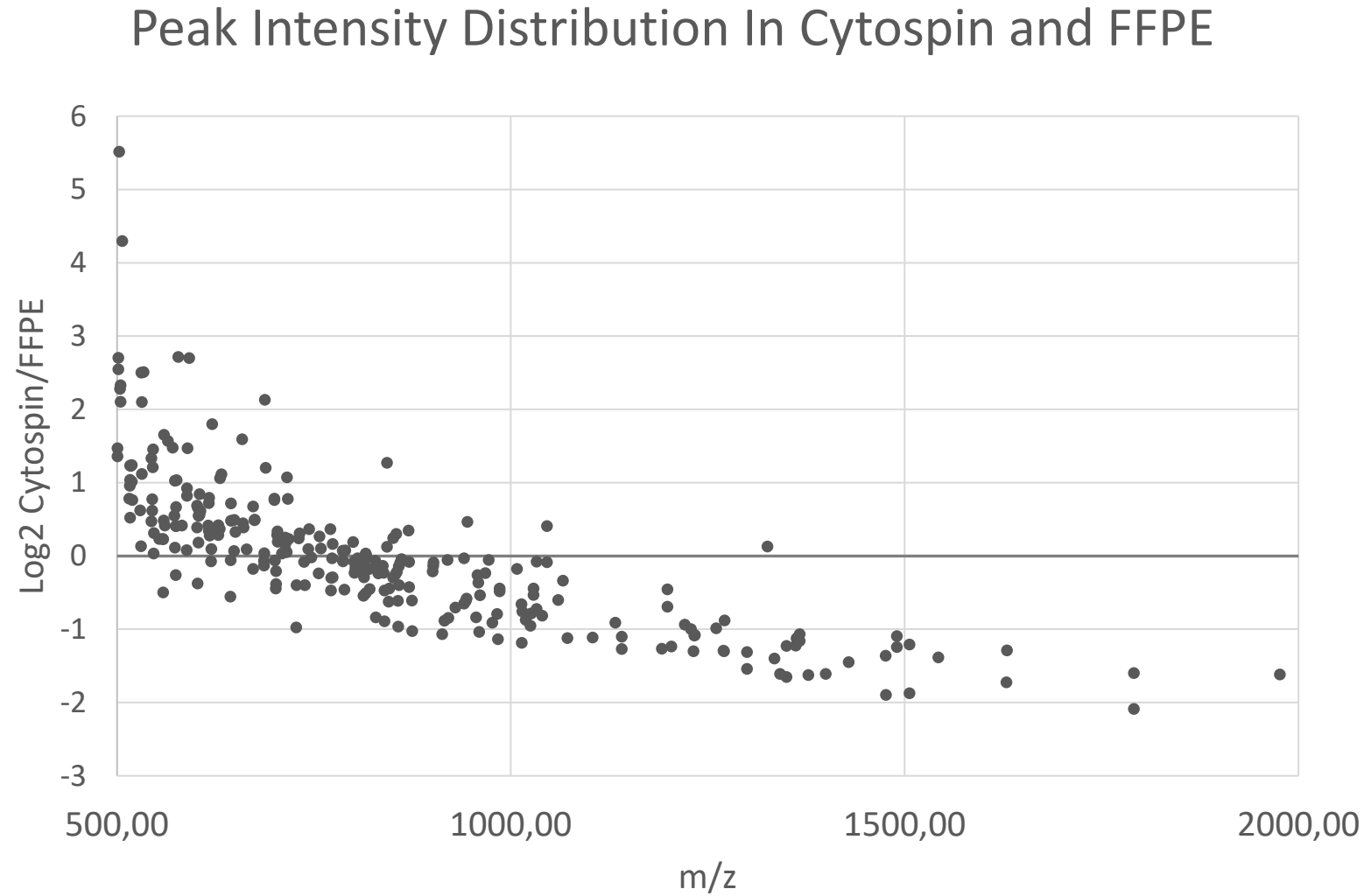
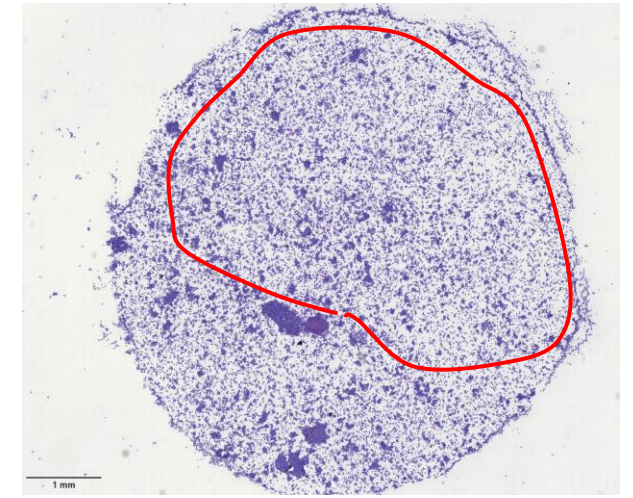


Figure S1. HE stained cells are represented for comparison between cells embedded in paraffin A) and cells centrifuged with cytopsin procedure B). 100x magnification.

A)



B)



C)

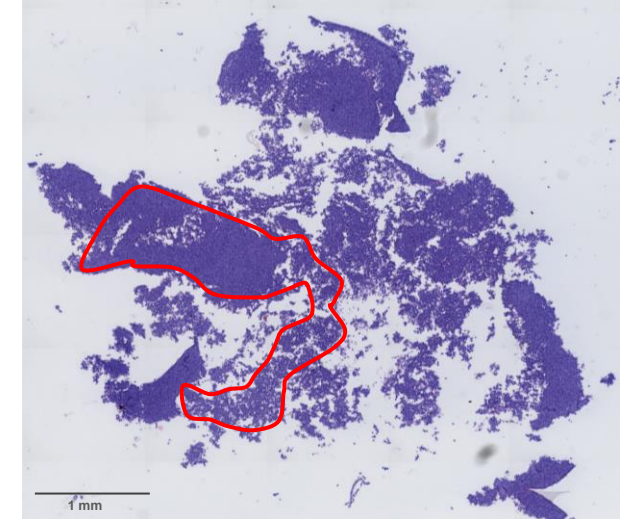
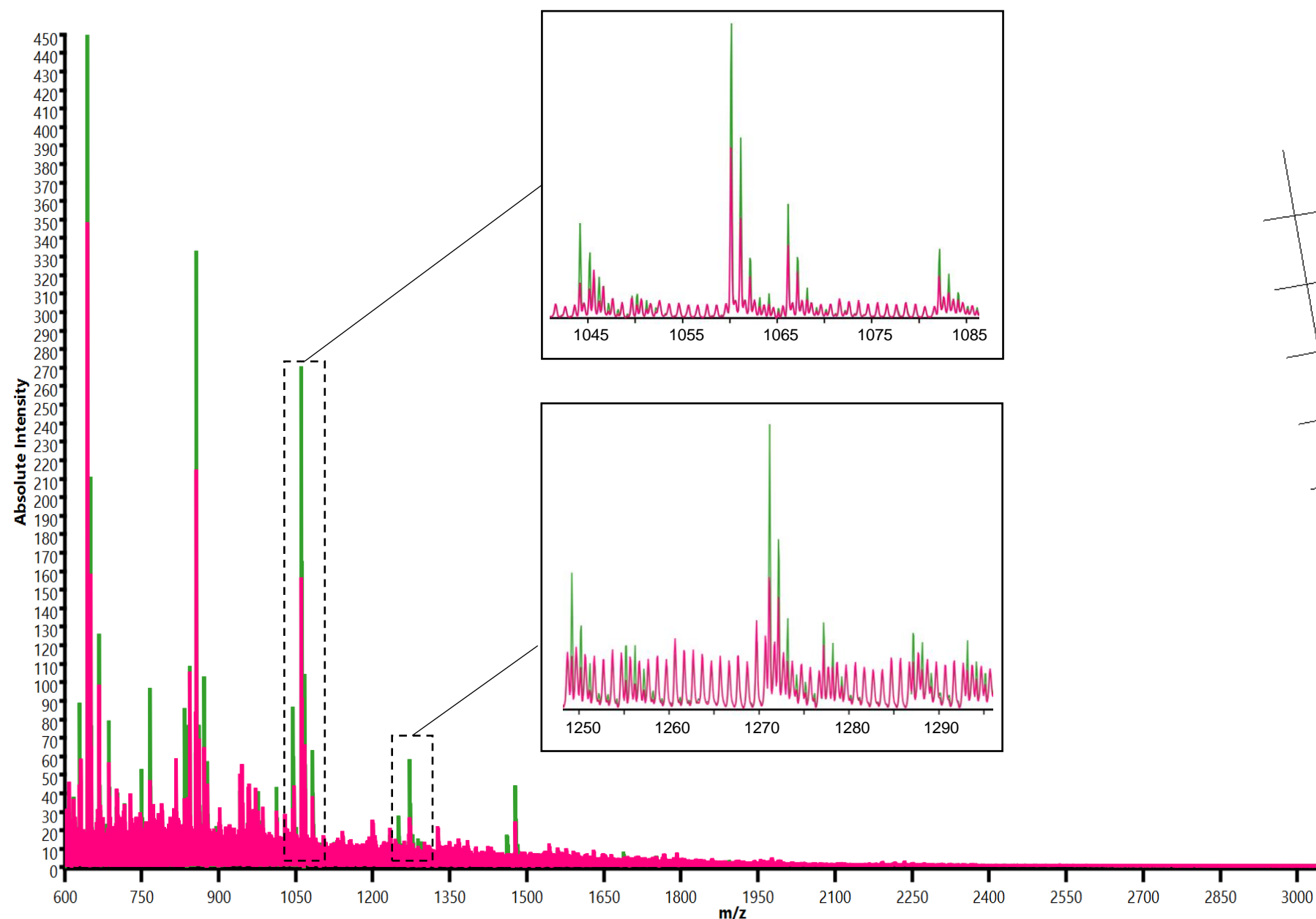


Figure S2. Peak intensity distribution in cytospin and FFPE samples through the  $m/z$  range 500-2000. A) Plot of  $\log_2$  cytospin/FFPE intensity (y-axis) vs. the mass range  $m/z$  500-2000 (x-axis) showing the peak height distribution (points in dark gray) in the  $m/z$  range considered, observed in the mean of 69 spectra from each cytospin and FFPE samples. B) Hematoxylin & Eosin staining of a cytospin sample showing a layer of sparsely packed cells. C) Hematoxylin & Eosin staining of a FFPE sample showing a layer of cells densely packed. Red lines in B) and C) indicate cell areas where the 69 spectra were randomly chosen.



A)



B)

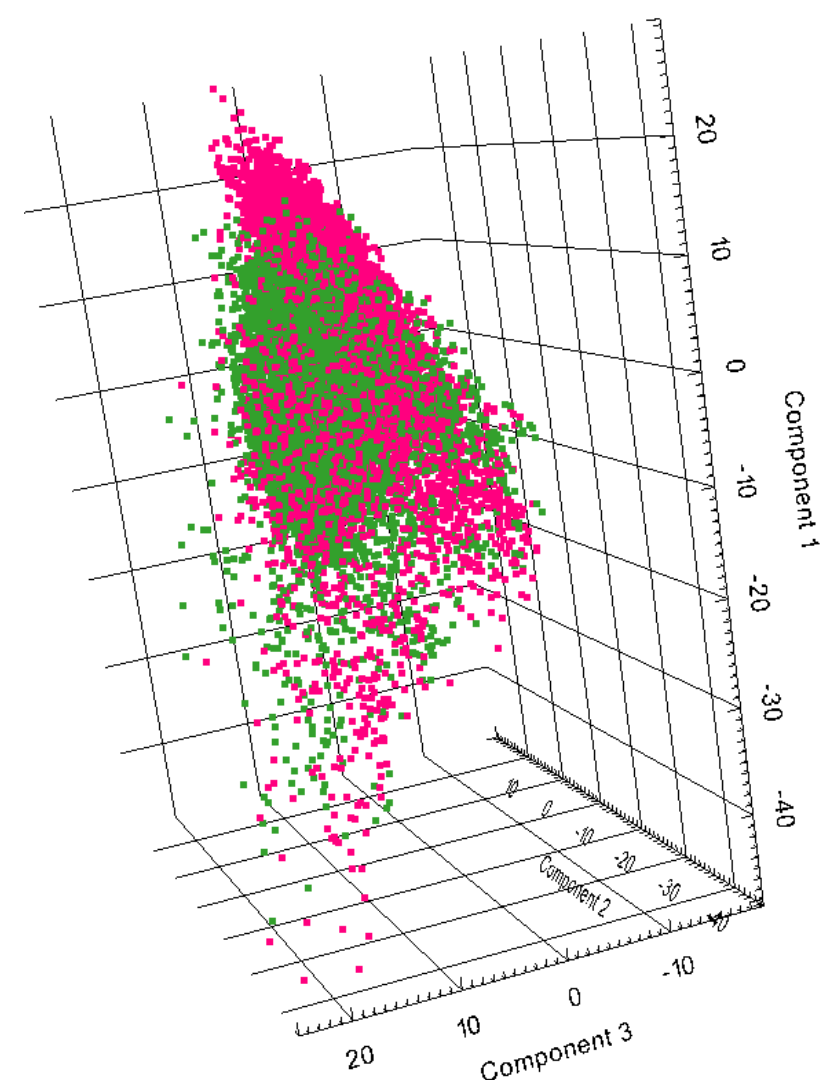


Figure S3: Peptide profiles and principal component analysis (PCA) obtained from two FFPE cell blocks prepared with two automatic processing system. A) Average mass spectrum overlay between FFPE tissue prepared with Sakura Xpress (green) and Sakura VIP (magenta) system. Mass spectra comparison shows similar peptide profile, with several mass intensities higher in the Sakura Xpress compared the Sakura VIP profile. Insets show enlarged  $m/z$  areas where many peak intensity differences between Sakura Xpress and Sakura VIP procedures are visible. B) PCA shows a scores plot between spectra acquired from FFPE tissue processed with Sakura Xpress (green) and Sakura VIP (magenta) system. No cluster segregation is observed between the two types of procedures. Each mark in the plot corresponds to a spectrum in the dataset.

**Table S1.** Sample paraffin processing protocol

<b>Reagent</b>	<b>Time (min)</b>	<b>Temperature (°C)</b>	<b>Pressure</b>
Formalin	2	40	Atm
Ethanol 70%	3	45	Atm
Ethanol 70%	3	45	Atm
Isopropanol/Ethanol 80/20	2	45	Atm
Isopropanol/Ethanol 80/20	10	45	Atm
Isopropanol 100%	2	45	Atm
Isopropanol 100%	10	50	Atm
Isopropanol 100%	0	50	Atm
Paraffin	5	63	Vacuum
Paraffin	5	63	Vacuum
Paraffin	10	63	Vacuum
Paraffin	15	63	Vacuum

**Table S2.** Comparison of peptide ions (m/z) intensity between Cytospin and FFPE dataset.

m/z	Mean Intensity Cytospin	Mean Intensity FFPE	log2 Cytospin/ FFPE	Total number of m/z with Log2 Intensity Cytospin /FFPE > 0	Total number of m/z with Log2 Intensity Cytospin /FFPE < 0
500,5	6255,051163	2259,316667	1,469135191	124	145
500,6	5452	2123,933333	1,360047079		
501,5	17138,1	2633,033333	2,702409485		
501,6	14486,62609	2476,1	2,548580147		
502,6	87177,5439	1904,5	5,516472365		
503,6	16691,375	3439,4	2,278873991		
504,5	9968,523529	1984,2	2,328822387		
504,6	10160,81364	2364,7	2,10328686		
506,6	55555,493	2825,1	4,297555723		
515,4	12519,75897	7277,9875	0,78259531		
516,3	5829,775	2999,2	0,958862473		
516,4	5265,06	3661,875	0,523867427		
516,5	7321,336842	3567,435	1,037219958		
516,6	7802,84	3323,883333	1,231129572		
517,6	4961,806667	2114,8	1,230344291		
518,5	5718,031884	2419,86	1,240595081		
518,6	5446,803704	2698,4	1,013305652		
519,5	5637,74	3327,2	0,760808355		
529,4	4178,433333	2713,085714	0,623027491		
530,4	5184,7	4724,926667	0,133968575		
530,6	19335,79	3418,772222	2,499723499		
531,5	7068,7	3254,466667	1,119023777		
531,6	9734,607778	2271,2	2,099668098		
533,6	10673,79899	1874,75	2,509303619		
543,4	5203,591304	2067,8	1,331411002		
543,5	4109,1	2961,28	0,472601532		

544,5	4261,007143	2776,35	0,618005018		
544,6	5027,304255	2943,436364	0,772283567		
545,5	4953,1	2141,133333	1,20995711		
545,6	5647,671277	2060,2	1,454871721		
546,3	3530,3	3449,75	0,033298972		
546,6	3618,6	2914,425	0,312220365		
553,4	2902,4	2473,425	0,230736207		
558,3	3475,9	2959	0,232276881		
558,4	3665,9	5175,96	-0,497659036		
558,6	4465	3817,836842	0,225904726		
559,3	4799,5	3431,3	0,48412885		
559,6	9243,932	2936,5	1,654409009		
560,6	3864	2899,666667	0,41420803		
564,6	7148,25	2411,3	1,567778938		
570,6	7217,68	2594,133333	1,476282549		
572,6	4539,428571	3102,9	0,548893498		
573,4	3425,3	3163,4	0,114754359		
573,6	5994,206	2946,025	1,024798992		
574,4	3292,3	2485,15	0,405762869		
574,6	2721,2	3262,75	-0,261845455		
574,7	3545,6	2230,9	0,66840394		
575,3	5312,45	4000,9	0,409052788		
575,6	5253,947917	2567,666667	1,032943974		
577,6	14155,19293	2154,6	2,715839449		
582,3	8243,707071	6175,366667	0,416768441		
588,4	3264	3093,866667	0,077230034		
588,6	4985,7	2629,966667	0,922751561		
588,7	4231,45	2397,9	0,819380624		
589,6	4962,039506	1792	1,469362584		
591,6	17187,64235	2647,575	2,698628204		
601,6	4749,706667	2951,7	0,686292319		

601,7	3878,266667	2963,683333	0,3880207		
602,4	3586,2	4650,8	-0,375022952		
602,6	4415,25	2799,15	0,657506329		
603,4	4005,5	3535,328571	0,180138039		
603,6	4511,4	3080,246154	0,550529561		
603,7	3768,1	2574,114286	0,549761145		
604,6	4695,646809	2615,7	0,844126813		
604,7	4191,5	2836,85	0,56317676		
605,7	4076,857143	2665,9	0,612834739		
615,6	3835,066667	2873,857143	0,416263309		
616,4	3922,233333	3091,766667	0,34324392		
616,6	4830,66	2934,655556	0,719029132		
616,7	5434,302105	3134,857143	0,79369507		
617,7	3299,5	2721,18	0,278015027		
619,4	4409,8375	4638,8	-0,073026152		
619,7	4692	4394,371429	0,094546197		
620,6	6931,4	1990,7	1,799870954		
628,6	4123,5	3388,13125	0,283379644		
628,7	4659,675	3488,614286	0,417575238		
630,4	5919,173684	4578,333333	0,370573285		
630,7	8242,131	3954,058824	1,05968306		
632,6	3953,4	1826,3	1,114170161		
644	6010,452941	8840,5	-0,556654253		
644,1	5790,6	6033,509091	-0,059284476		
644,4	4466,9	3202	0,48030065		
644,7	4509,014103	2745,9	0,715532936		
648,4	3522,8	3359,766667	0,068361529		
648,7	4242,823256	3021,316667	0,489847179		
650,1	6204,330303	4948,816667	0,326191897		
658,7	6829,604211	2265,35	1,592068008		
659,7	3952,090909	2901,5	0,445817204		

660,7	3977,785714	3041	0,387419743		
664,4	5068,374713	4764,38	0,089234704		
672,5	3084,05	3488,7	-0,177863388		
672,7	4054,425	2542,333333	0,673344126		
674,4	4127,833333	2941,1	0,489028883		
674,7	3798,26	2697,5	0,493715705		
686,4	4072,966667	4461,7	-0,131513504		
686,7	3752,6	3924,930769	-0,064776689		
686,8	3637,233333	3545	0,037055852		
687,7	11245,20455	2569,575	2,129708237		
688,7	4651,85	2022,7	1,201522217		
699,7	5418,225	3193,416667	0,762719502		
699,8	5432,619277	3157,53	0,782851504		
700,5	3292,78	3439,35	-0,062829812		
701,5	3944,85	5365,935714	-0,443859327		
701,7	4504,268966	5198,795652	-0,20688447		
701,8	4378,946296	5716,43	-0,384530686		
703,4	4558,202564	3744,6	0,283653421		
703,7	4483,522222	3551,706667	0,336120113		
703,8	4365,212281	3814,2	0,19467132		
709,4	4507,017647	4405,85	0,03275272		
713,4	3553,878261	3359,7	0,081061847		
713,7	3900,2	3280,51	0,249627988		
713,8	3603,475	3192,75	0,174589245		
715,5	5326,863158	5133,876923	0,05323751		
715,8	8812,683	4192,154545	1,071889408		
716,7	3881,5	2266,225	0,776323183		
717,8	3998,482609	3406,35	0,231225934		
727,5	3305,9	6509,923077	-0,977597411		
727,8	4573,047253	6034,7	-0,400126226		
730,8	3764	3188,8	0,239253013		



731,7	3617,1	2918,833333	0,309441649		
737,4	4160,233333	4408,1	-0,083492506		
738,4	3590,4	4737,35	-0,399935683		
742,8	3797,35	3561,388889	0,092552997		
743,8	4602,544048	3577	0,36368141		
746,5	3917,5	3978,5	-0,022291324		
755,8	3428,04	4045,1	-0,238791425		
756,8	3924,71875	3266,742857	0,264736375		
758,8	3862,438889	3595,976923	0,103128345		
770,8	3725,99	2893,3	0,364907881		
771,5	3517,028571	4870,222222	-0,469630547		
771,8	3187,575	3924,317647	-0,299982535		
772,8	3956,203226	4045,875	-0,03233521		
773,5	3003,371429	3675,314286	-0,291284719		
773,8	3904,55	3492,345455	0,160960013		
786,5	3379,831579	3219,966667	0,069905604		
786,8	3845,425	4043,673333	-0,072523399		
786,9	3448,8	3602,15	-0,062763791		
788,5	3903,590909	5369,4	-0,459959016		
789,5	3412,955556	3236,4	0,0766317		
799,8	3639,2	3187	0,191422321		
800,8	3511,25	3709,7	-0,079317803		
801,5	2850	3340,4	-0,229058951		
802,5	3844,142857	4307,05	-0,164038121		
802,9	3877,8	4039,8	-0,059045473		
805,5	3704,1	3785,333333	-0,031297301		
806,5	3137,833333	3641,066667	-0,214592431		
812,5	4652,976768	5090,366667	-0,129615596		
812,9	3115,1	4547,025	-0,545644459		
813,5	3177	3894,1	-0,293624843		
814,9	3234,033333	3341,45	-0,047139738		

815,5	3823,385185	3733,45	0,034341141		
815,8	2557,8	3641,1	-0,509470903		
815,9	3407,7	3892,875	-0,192037688		
816,5	9617,904	9570,08	0,007191541		
819,5	3329,7	3777,1	-0,181886781		
820,5	3955,5	5412,6	-0,452461703		
827,9	3393,9	3555,75	-0,067209837		
828,5	2680,5	4791,825	-0,838073086		
831,5	3902,130303	4599,25	-0,237136666		
831,9	3836,3	4385,7	-0,193091585		
837,5	4249,647191	4665,5	-0,13468863		
838,5	3555,7	4177,3	-0,23243715		
839,5	3733,1	5176,2	-0,471519207		
839,6	2225,5	4132,771429	-0,892980074		
842,5	16122,01667	6683,25	1,270410471		
842,6	15229,51875	13973,91111	0,124134485		
844,9	2468,2	3809,6	-0,626180224		
845,5	3514,9	4778,6	-0,443104365		
850,5	3773,98	3191,5	0,24185213		
850,6	3170,2	3893,066667	-0,296333191		
853,5	3841,8	4586	-0,255453939		
854,5	5751	4668	0,301008277		
855,1	6124,93	7128,26	-0,218856603		
856,6	3614,05	5523,4	-0,611940144		
856,9	2443,9	4764,8	-0,963230405		
857,6	3121,042857	3442	-0,141218929		
857,9	3339,4	4405,688889	-0,399778709		
859,5	3808,7	4065,7	-0,09420511		
861,1	4249,7	4377,9	-0,042878		
869,9	3447,075	2712,5	0,345749551		
870,6	5156,895918	5451,583333	-0,080172373		

870,9	3512,9	4716,253333	-0,424978706		
874,5	3234,24	4931,8	-0,608687556		
874,6	2093	4260,333333	-1,025394001		
900,6	4129,636842	4778,62	-0,21057913		
901,5	6011,996429	6609,1	-0,136609673		
901,6	6084,713636	6468,9	-0,088331044		
912,6	2029,9	4253,3	-1,06717396		
915,6	2824,56	5217,45	-0,885318723		
919,5	3133,3	3256,6	-0,05568362		
920,5	2727,633333	4904,7	-0,846515175		
929,6	2992,9	4875,775	-0,704087476		
940,5	5432,563514	5561,25	-0,033776057		
940,6	5123,461538	8044,1	-0,650812156		
942,6	3011,9	4619,15	-0,616953525		
943,6	3886,812963	5820,175	-0,582474847		
944,6	14449,563	10483	0,462974219		
955,6	2842,513636	5086,3	-0,839449287		
957,6	5994,13	7182,875	-0,261011036		
958,6	3281,3	4229,033333	-0,36606043		
959,6	2720,277778	5585,9	-1,038035768		
960,6	3318	4812,32	-0,536418693		
967,6	4781,72766	5622,133333	-0,233585704		
971,6	5666,575	5883,15	-0,054111818		
976,5	3464,227778	6516,075	-0,911469417		
982,6	2795,69	4843,45	-0,792830652		
983,6	2204,6	4841,8	-1,135026569		
985,6	4449,481522	6056,3	-0,444799436		
985,7	5205,5	7275,136364	-0,482937546		
1007,6	3016,85	3414,9	-0,178800366		
1013,5	3051,673913	4823,8	-0,660569282		
1013,6	1897	4317,85	-1,186593447		

1014,5	2286,95	3872,6	-0,759877669		
1018,6	3264,4	5981,3	-0,873641232		
1024,7	2515,35	4866,04	-0,951989021		
1025,7	2407,45	4145,3	-0,78397068		
1028,6	3396,587805	4913,3	-0,532606181		
1028,7	3838,346939	5217,4375	-0,442856294		
1032,6	4692,956322	4947,95	-0,076333889		
1032,7	3959,518182	6531,58	-0,722107139		
1039,6	2982,085	5246,6	-0,815061423		
1045,6	6955,560606	5238	0,409150738		
1045,7	6285,5	6676,316667	-0,087024872		
1060,1	3278,035294	4979,7	-0,603227443		
1066,1	3696,090476	4669,833333	-0,337370988		
1071,6	2315,757143	5035,133333	-1,120546019		
1103,7	2389,233333	5167,55	-1,112932688		
1132,6	2567,268571	4824,066667	-0,910015615		
1140,6	2255,3	4840	-1,101687694		
1140,7	2101,9	5068,566667	-1,269883794		
1191,7	2255,5	5427,8	-1,266920276		
1198,7	4702,45	7597,7	-0,692150143		
1198,8	6169,01625	8455,8	-0,454900807		
1203,7	2308,554839	5440,8	-1,236828794		
1220,7	2022,02	3871,1	-0,936946309		
1228,7	1945,9	3886,4	-0,997996823		
1231,7	2368,420833	5832,35	-1,300151849		
1232,7	2352,802222	4996,9	-1,086653295		
1233,7	2131,075	4497,9	-1,077670219		
1260,7	2329,4	4620,8	-0,98818425		
1269,8	2309,907143	5658,2	-1,292508315		
1270,7	1905,25	4691	-1,299915185		
1271,1	2153,55	3968,7	-0,881949691		

1299,7	1616,6	4700	-1,539698004		
1299,8	1919,2	4769,7	-1,313393465		
1325,8	6568,983	6009,325	0,128467083		
1334,7	2009,990909	5304,45	-1,400014195		
1341,8	1639,8	5005,4	-1,609965499		
1349,7	1802,033333	4219,8	-1,227548925		
1349,8	1882,6	5922	-1,65335799		
1361,7	1984,23	4636,7	-1,224519122		
1362,8	1958,6	4270,7	-1,124649768		
1366,6	2335,2	4896,4	-1,068175305		
1366,7	2313,992308	5163,3	-1,157909356		
1377,7	2080,421875	6413,4	-1,624213277		
1399,8	1852,866667	5657,1	-1,610303606		
1428,8	1909,821429	5217,6	-1,449948596		
1475,9	1915,30625	4924,5	-1,362402159		
1476	1338,8	4980	-1,895205286		
1489,9	2041,357895	4359,7	-1,094699723		
1490	2091,104167	4952,3	-1,243833782		
1505,9	2273,626744	5251,6	-1,207761604		
1506	1041,5	3814,1	-1,87267983		
1542,8	1994,196552	5201,666667	-1,38316634		
1628,9	1523,809091	5036,6	-1,724767991		
1629,9	1357,2	3317,8	-1,289593587		
1790,9	1582,181818	4789,9	-1,598080139		
1791	1548,028571	6583,45	-2,088411715		
1976,1	1336,090909	4105	-1,619364048		

\* Number of spectra used for each dataset = 69.