

## PLATAFORMA PROTEÒMICA

PE/IdISPa/PT-PROT-1.002\_LAS-v01

### PROCEDIMIENTO DE MANEJO DE LA CÁMARA IMAGEQUANT LAS4000

Revisión nº: **1**

Fecha de emisión:

*Copia nº:*

Realizado:	Revisado:	Aprobado:
Fdo.	Fdo.	Fdo.
Fecha:	Fecha:	Fecha:

## **ÍNDICE**

- 1. OBJETIVO**
- 2. ALCANCE**
- 3. DEFINICIONES**
- 4. PROCEDIMIENTO**
  - 4.1. Descripción equipo*
  - 4.2. Adquisición*
  - 4.3. Análisis de las muestras*
  - 4.4. Limpieza del equipo*
- 5. REFERENCIAS**
- 6. ANEXOS**

## 1. OBJETIVO

El objetivo de este documento es definir el procedimiento de utilización de la cámara ImageQuant LAS 4000 para todos los usuarios del equipamiento de proteómica autorizados del Instituto de Investigación Sanitaria de Palma (IdISPa).

## 2. ALCANCE

Este procedimiento es de aplicación para personal de laboratorio experto en el manejo de este aparato y que cumplan los criterios según los puntos 7.2 y 7.3. (Uso y formación de procedimiento descripción de la plataforma). En resumen, debe haber recibido formación específica por parte del técnico de soporte de la plataforma.

## 3. DEFINICIONES

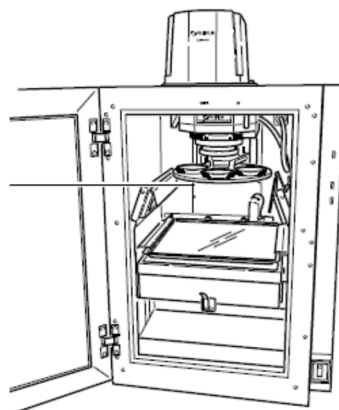
Quimioluminiscencia:

## 4. PROCEDIMIENTO

### 4.1. Descripción equipo

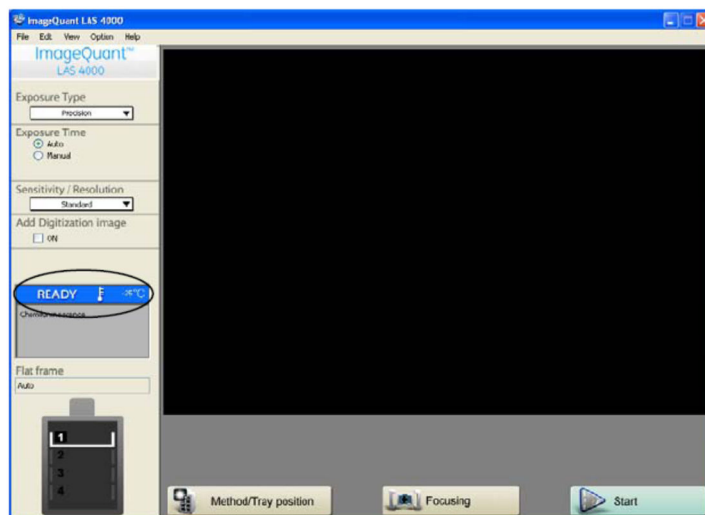
El equipo ImageQuant LAS 4000 es una cámara tipo CCD capaz de producir imágenes a partir de geles, membranas o films. Sus aplicaciones incluyen ensayos de quimioluminiscencia en Western blots y otras muestras, y fluorescencia (trans, p.ej: Bromuro de etidio), así como digitalización de tinciones colorimétricas.

Imágenes del Sistema:



## 4.2. Adquisició

Encender el equipo (botón encendido delantero) y el software “ImageQuant LAS 4000 Control Software”, aparecerá la siguiente pantalla:

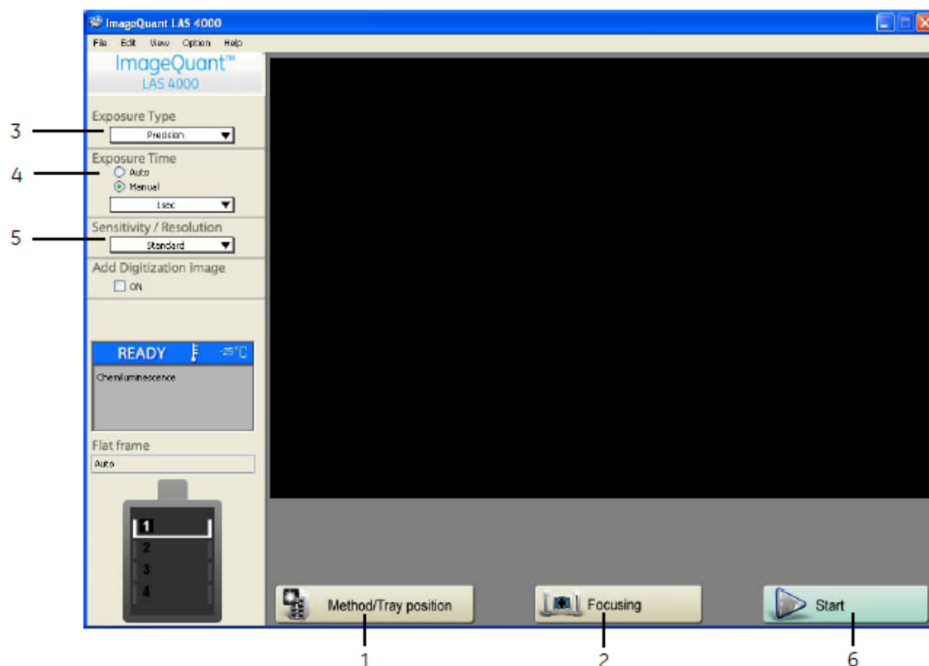


Hay que esperar a que la temperatura de la cámara baje y aparezca el icono “READY”.

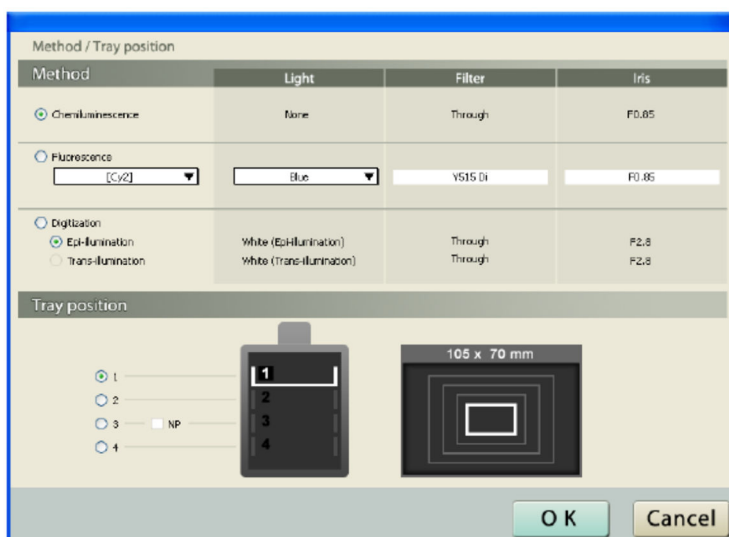
Centraremos la membrana o muestra en la bandeja “Tray” correspondiente, según el siguiente esquema:

Detection	Sample type	Tray
Chemiluminescence Bioluminescence	Membrane	Epi tray
	Titer plate	NP tray
Fluorescence	Gel (UV Trans illumination)	UV trans tray
	Gel (Epi illumination)	Epi tray
	Membrane	Epi tray
Digitization	Membrane	Epi tray
	Gel (Coomassie, silver stain)	White trans tray

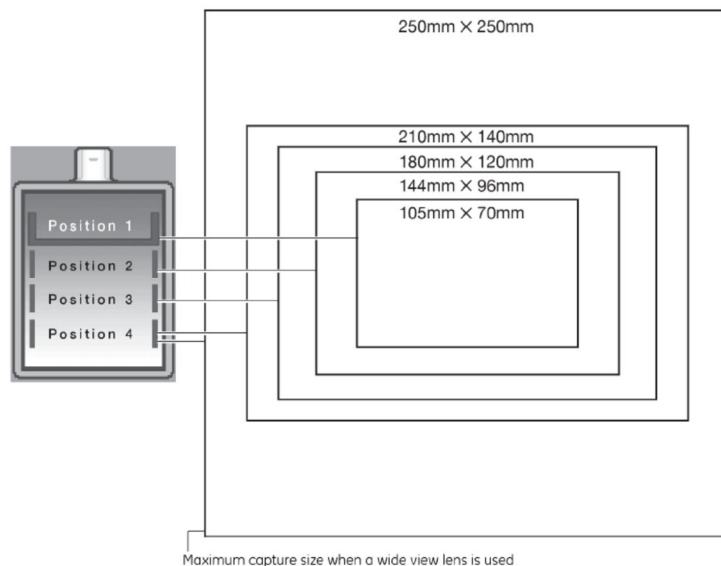
Primero seleccionaremos el método que queramos usar y la posición de la bandeja, en "Method/Tray position":



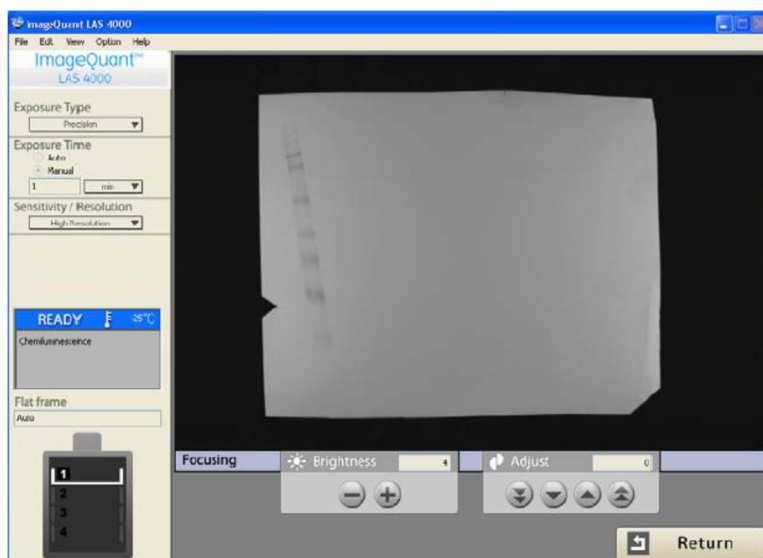
Nos dejará seleccionar entre: quimioluminiscencia, fluorescencia (seleccionaremos el fluorocromo que vamos a adquirir) y digitalización.



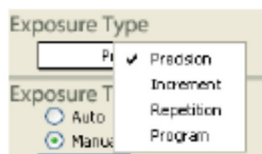
La posición de la bandeja (Tray position) se elegirá lo más arriba posible dependiendo del área que queramos escanear, ya que así conseguiremos mejor resolución:



En  **Focusing**, ajustaremos el enfoque de la imagen:



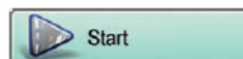
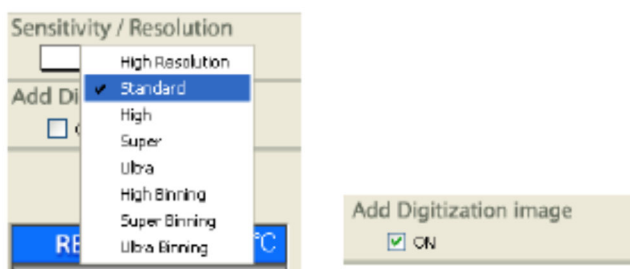
En “Exposure Type” seleccionaremos si queremos una única imagen (Precision), o si incrementamos el tiempo de exposición, en diferentes intervalos:




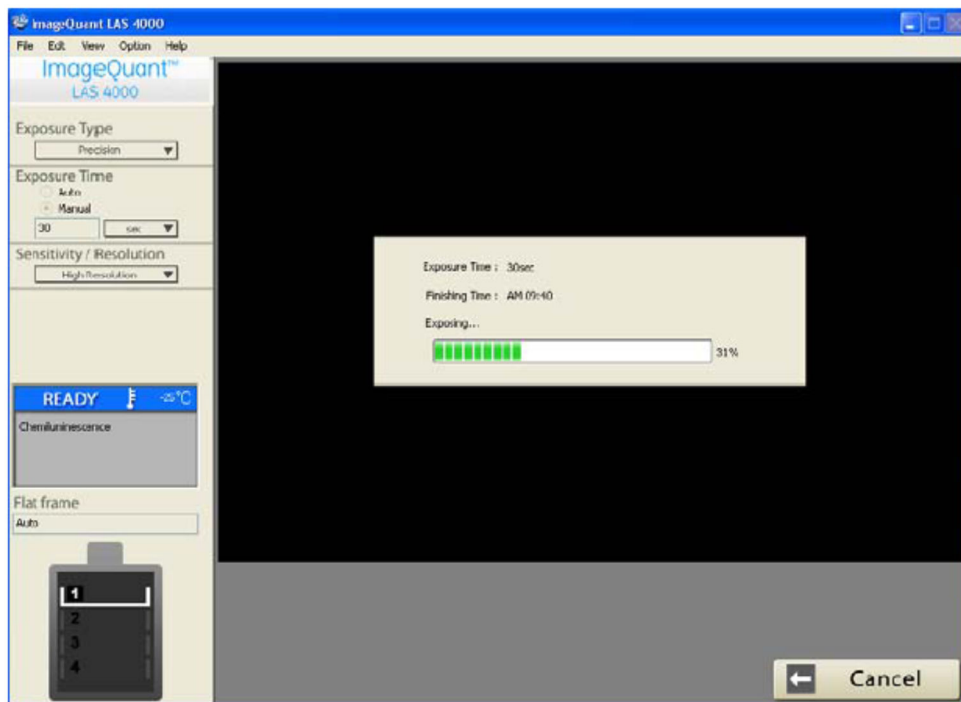
Si seleccionamos Auto en “Exposure Time” nos calculará automáticamente el tiempo de exposición, también podemos elegir manual y seleccionar uno de los tiempos:



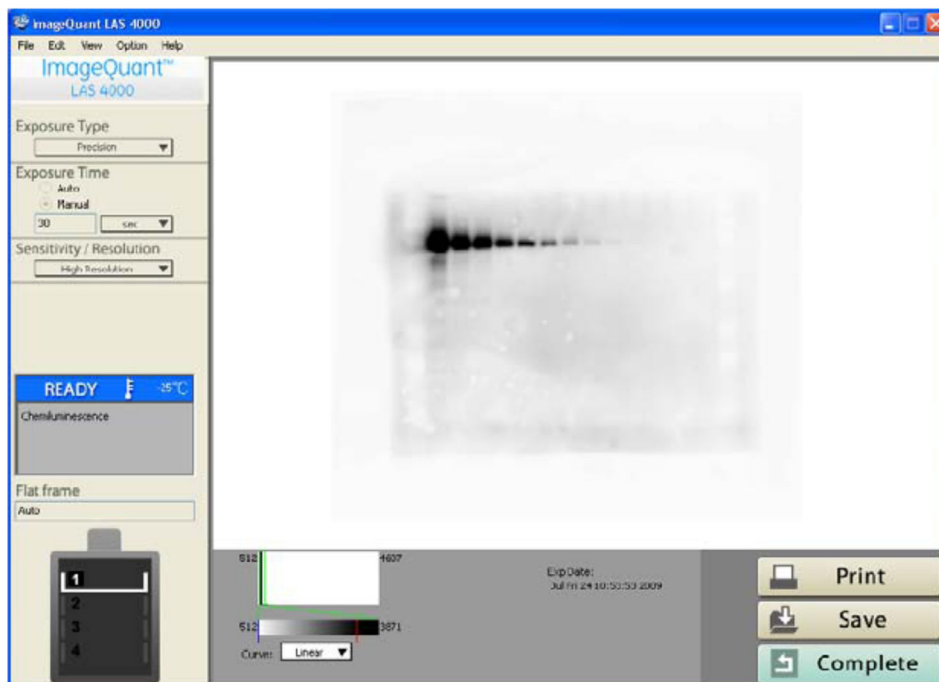
En Sensitivity /Resolution, seleccionaremos “Standard”, preferentemente. En quimioluminiscencia podemos aumentar la sensibilidad usando el modo “High”, “Super”... “High Resolution” no es recomendable para quimioluminiscencia. Clicaremos en “Add Digitization image” cuando tengamos marcadores de peso molecular que queramos visualizar superpuestos a imágenes de quimioluminiscencia:



Una vez tengamos todas las condiciones clicaremos en  para que empiece la adquisición. Veremos una imagen como la siguiente:

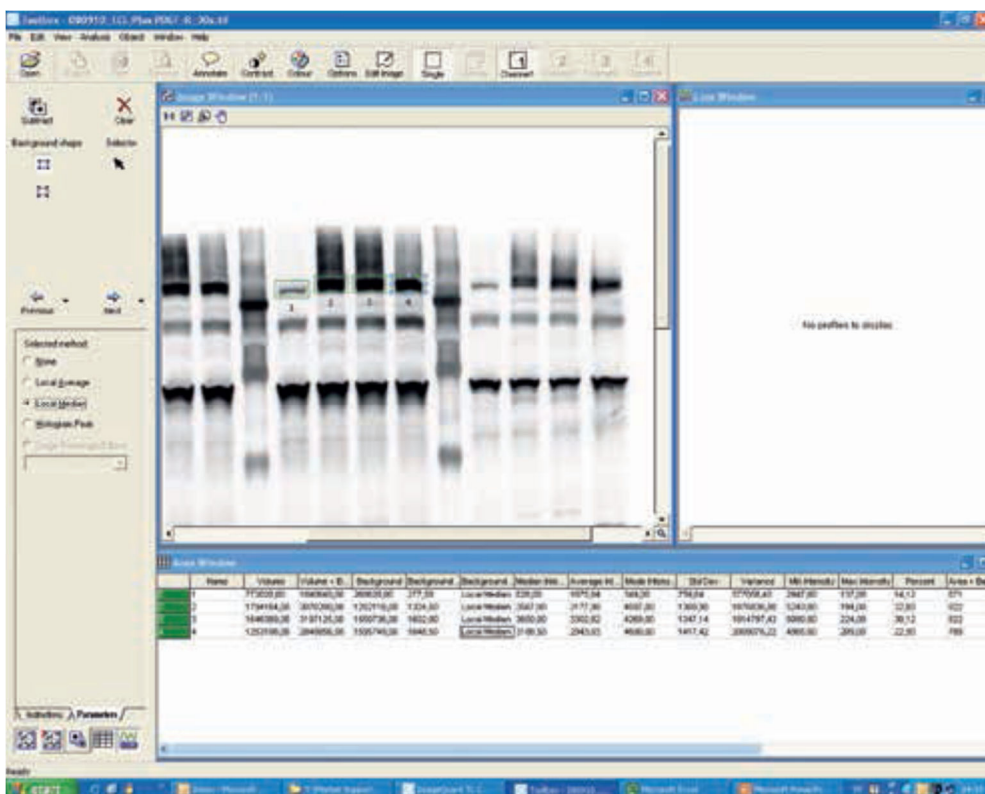


Una vez adquirida, veremos una imagen como esta, que podremos modificar, guardar, imprimir, o volver a adquirir (cambiando condiciones) si no estamos satisfechos:



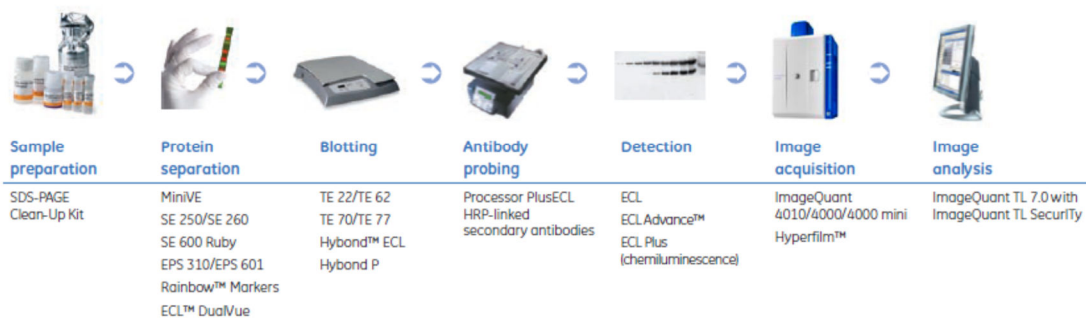
### 4.3. Análisis de las muestras

El análisis de los resultados podemos realizarlo bien en el mismo ordenador o en la "Workstation" de proteómica usando el programa "ImageQuant TL" (Western blot, dot blots, user-defined...). Donde podemos cuantificar las bandas, restar background, comparar muestras, etc:



El esquema de proceso de un Western blot usando revelado quimioluminiscente sería aproximadamente como en este esquema:

#### Western blotting



#### **4.4. Limpieza del equipo**

Una vez acabado el escaneado, se limpiará la bandeja con agua o Etanol y se dejará el equipo preparado para el próximo uso.

### **5. REFERENCIAS**

Para la elaboración de este procedimiento se han tenido en cuenta los criterios definidos desde las siguientes fuentes:

- Getting Started with ImageQuant LAS 4000. Original instructions (GE Healthcare Life Sciences)
- ImageQuant LAS 4000 User Manual (GE Healthcare Life Sciences)
- ImageQuant LAS 4010 / 4000 / 4000 mini. Quick start guide (GE Healthcare Life Sciences)
- Seminario especialista aplicaciones (GE Healthcare Life Sciences)
- Manual de calidad IdISPa

### **6. ANEXOS**



