

PLATAFORMA PROTEÒMICA

PE/IdISPa/PT-PROT-1.004_LUM-v01

PROCEDIMIENTO DE MANEJO DEL EQUIPO LUMINEX MAGPIX

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. Uso del equipo

4.2.1. Encendido y limpieza

4.2.2. Calibración y verificación

4.2.3. Creación protocolos y batches

4.2.4. Apagado

4.3. Análisis de datos

4.4. Ajuste de la altura de la "Sample Probe" y limpiezas especiales.

5. REFERENCIAS

6. ANEXOS

1. OBJETIVO

El objetivo de este documento es definir el procedimiento de utilización del equipo Luminex Magpix 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

Ensayo multiplex: Tecnología multiparamétrica que posibilita el análisis simultáneo de hasta 50 analitos distintos (dependiendo del aparato utilizado) de una misma muestra en un solo pocillo. Ello supone una elevada productividad, reduciendo drásticamente el tiempo requerido, el volumen de muestra necesario y los costes.

4. PROCEDIMIENTO

4.1. Descripción equipo

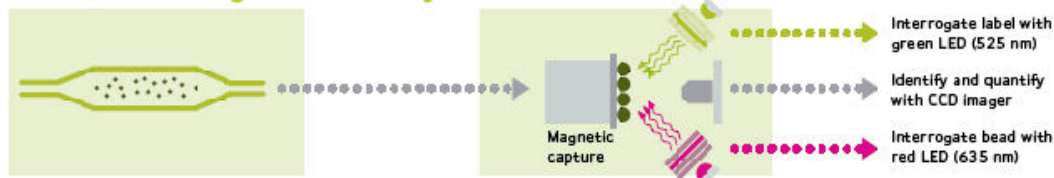
La tecnología usada por el equipo permite el análisis de múltiples proteínas en una muestra biológica. Se basa en el inmunoensayo ELISA de captura, pero en este caso se realizan la captura en la superficie de "Beads" o microesferas marcadas con diferentes fluorocromos.



El sistema disponible en la plataforma de proteómica (Luminex MAGPIX), se basa en el uso de LEDs (de 525 y 645 nm) para iluminar las beads, capturadas

mediante un imán. La fluorescencia de las beads se lee gracias a una cámara CCD, lo que abarata los costes y aumenta la sensibilidad del aparato.

MAGPIX LED/Image-Based Analysis



4.2. Uso del equipo

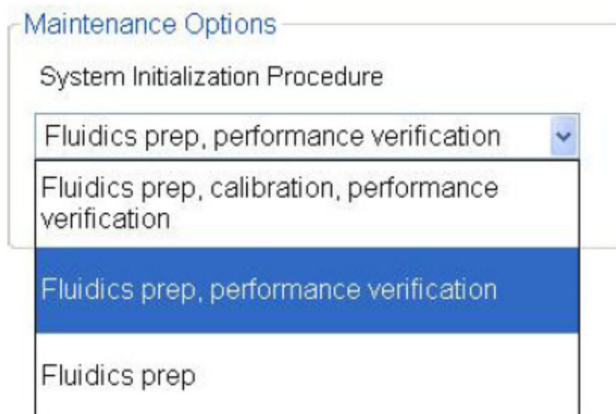
4.2.1. Encendido y limpieza

Primero nos aseguraremos que disponemos de suficiente "Drive Fluid" y que el tanque de desechos está vacío (puerta delantera inferior del MAGPIX). El aparato se enciende con el botón en la parte delantera. Encenderemos también el ordenador y abriremos el programa xPonent. No hace falta entrar nombre de usuario, pero es conveniente si queremos localizar más fácilmente nuestras muestras. Una vez haya conexión entre el ordenador y el sistema, nos aparecerá el icono correspondiente en la esquina inferior izquierda, donde también nos señala si hace falta realizar la calibración y/o verificación.

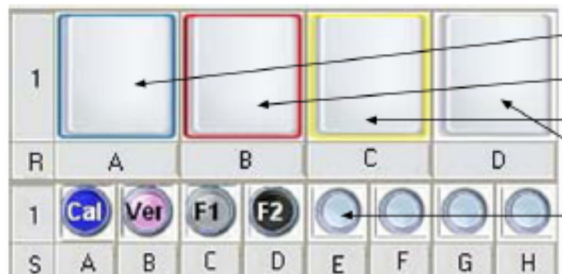


4.2.2. Calibración y verificación

Para inicializar el sistema, iremos a la pestaña "Auto Maint", seleccionaremos la rutina que necesitamos realizar:



Nos aseguraremos que el lote de los kits de calibración y verificación son los mismos que figuran en el sistema y añadiremos el número de gotas correcto a los pocillos correspondientes. También llenaremos los reservorios RA, RB y RC, con Etanol o agua destilada, según nos aparezca en pantalla y verificaremos que el RD está vacío. Clicaremos en “Retract” y “Run”.



4.2.3. Creación protocolos y batches

En la página “Protocols”, clicaremos en “Create New Protocol”, se abrirá la pantalla “Settings”. Entraremos el nombre, descripción, etc.

En “Acquisition Settings” seleccionaremos “Quantitative” si procederemos a cuantificar los analitos (necesitaremos entrar una curva estándar) o “Qualitative”, si no queremos cuantificar. Es mejor no seleccionar controles y ponerlos como si fueran muestras. Clicaremos “Next”.

En la pantalla “Analytes”, seleccionaremos las beads que tenemos en nuestro Assay, en el panel entraremos nombre del analito, la unidades, el número de beads que queremos adquirir, etc.

 <p>Institut d'Investigació Sanitària de Palma</p> <p>IdISPa</p>	<h2>NOM PROCEDIMENT</h2>	<p>PE/IdISPa/PT-PROT-1.004_ LUM-v01</p>
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------	---------------------------------------------

En la pantalla “Analysis Settings” seleccionaremos el tipo de análisis que queremos realizar (una vez adquirido se puede volver a analizar con el xPonent o el Milliplet Analyst).

Clicamos “Next”, donde aparecerá el “Plate Layout”, aquí deberemos marcar cada pocillo que vayamos a adquirir como “Unknown”, standard, background... También, marcaremos si vamos a adquirir duplicados y los comandos “Pre Batch” y “Post Batch”. Una vez tengamos el protocolo configurado, clicaremos en “Save” para guardarlo.

Cuando vayamos a pasar nuestras muestras, crearemos un “New batch from an existing protocol”, una vez abierto el nuevo Batch, podemos modificar standards, o añadir muestras en el “Plate Layout” según nos interese, también se pueden añadir más placas. Clicaremos “Next” y “Run Batch” si vamos a correr ya las muestras.

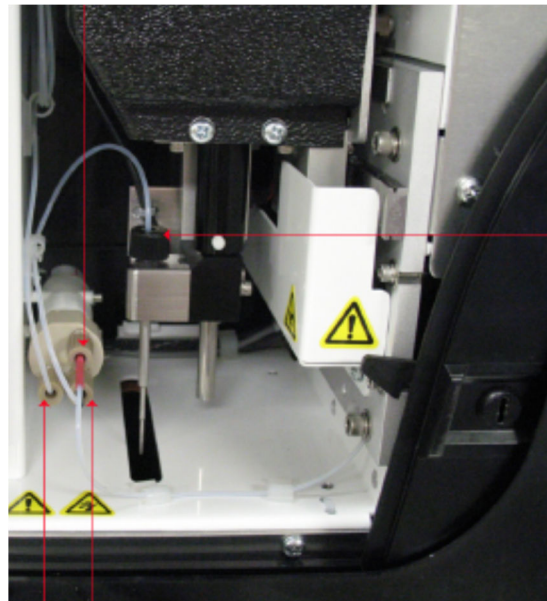
Nos irán apareciendo los resultados de nuestras muestras, así como se vayan adquiriendo.

4.2.4. Apagado

Una vez hayamos acabado toda la adquisición realizaremos el “Daily shutdown routine” para evitar la obstrucción y/o cristalización en el inyector. Para ello, seleccionaremos en “Auto Maint”, la opción “System Shutdown”. Llenamos el depósito RA1 con agua destilada, RC1 con lejía diluida 10% y verificaremos que el RD1 está vacío. Clicamos “Retract” y “Run”. Si el aparato va a estar varias semanas sin usar, es conveniente usar la rutina “Prepare for Storage”, que hace una limpieza más intensa, llenando los depósitos correspondientes.

4.3. Ajuste de la altura de la “Sample Probe” y limpiezas especiales.

En caso que tengamos obstrucciones o que haga bastante tiempo que no se usa el sistema, habrá que desmontar la jeringa (abriendo compartimento a la derecha del aparato) y con una jeringuilla y un tubo flexible, limpiar con lejía y agua, siempre desde la punta hasta la base:



Posteriorment harem el ajust de la altura de la jeringa, seleccionant la pestanya corresponent. Seleccionarem el pocillo D6 en la placa de la imatge, en los "Strip Wells", el SD1 y en la secció "Reservoir", el RB1. En una placa de 96 pocillos igual a la que vam a usar, pondrem dos discos d'alineament en el pocillo D6, la col·locarem en el aparat, junt amb un "Strip Well" vaci:



Seleccionarem el nom d'ajuste corresponent al tipus de placa que estem usant. Clicarem "Retract" i "Auto Adjust Height". Una vegada hagi acabat, sacarem la placa i guardarem els discos d'alineament.

Después de limpiar la jeringa es importante realizar una rutina de limpieza tipo “Revive after Storage (Luminex)” que también es recomendable si el Luminex ha estado sin usar varias semanas. Para ello debemos seleccionarla en “Maintenance>Cmds & Routines”. Llenamos el reservorio RB1 con Etanol 70% y vaciamos el RD1 y clicamos en “Run”. Después deberemos correr la rutina “System Initialization” incluyendo calibración y verificación.

5. REFERENCIAS

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

- “MAGPIX User Quick Guide 4.2.” (Luminex)
- “xPonent for MAGPIX 4.2. Software User Manual” (Luminex)
- Seminario especialista aplicaciones (Millipore)
- Manual de calidad IdISPa

6. ANEXOS

