



Institut
d'Investigació Sanitària
de Palma

PLATAFORMA PROTEÓMICA

PE/IdISBa/1004-PTPROT

PROCEDIMIENTO DE MANEJO DEL ESCÁNER ODYSSEY® M

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. Escaneado

4.2.1 LI-COR Acquisition Software y Empiria Studio

4.2.2 Image Studio

4.3. Limpieza del equipo

5. REFERENCIAS

6. ANEXOS

1. OBJETIVO

El objetivo de este documento es definir el procedimiento de utilización del escáner ODYSSEY® M para todos los usuarios del equipamiento de proteómica autorizados de la Fundació Institut d'Investigació Sanitària Illes Balears (IdISBa).

2. ALCANCE

Este procedimiento es de aplicación para personal de laboratorio experto en el manejo de este aparato y que cumplan los criterios de uso y formación específica por parte del técnico de soporte de la plataforma.

3. DEFINICIONES

Láser: Dispositivo que emite luz a través de un proceso de amplificación óptica basado en la emisión estimulada de radiación electromagnética. Los láseres se utilizan en diversas aplicaciones, incluyendo la detección de fluorescencia y la imagenología.

Fluorocromo o **marcador fluorescente:** molécula capaz de absorber luz a una longitud de onda específica y luego emitirla a una longitud de onda mayor (menor energía), lo que se conoce como fluorescencia. Estas moléculas se utilizan ampliamente en biología, química y medicina para etiquetar, visualizar y rastrear estructuras o componentes específicos en células, tejidos o materiales.

Fluorescencia: Fenómeno en el que una sustancia absorbe luz a una longitud de onda específica y luego re-emite luz a una longitud de onda más larga. Esta propiedad se utiliza en técnicas de imagen para visualizar estructuras específicas dentro de una muestra.

Visible: Parte del espectro electromagnético que es perceptible para el ojo humano, generalmente en el rango de 400 a 700 nanómetros. Los láseres visibles son comúnmente utilizados en aplicaciones de imagen y visualización.

Infrarrojo: Parte del espectro electromagnético que se encuentra entre las longitudes de onda de la luz visible y las microondas. Los láseres infrarrojos son utilizados en aplicaciones como la espectroscopía y la imagenología médica.

Electroforesis: Método utilizado para separar moléculas, como proteínas o ácidos nucleicos, en función de su tamaño y carga eléctrica. Es un paso crucial en la técnica de Western blot.

Western Blot: Técnica utilizada para detectar proteínas específicas en una muestra. Implica la separación de proteínas por electroforesis, transferencia a una membrana y detección mediante anticuerpos.

In-Cell Western: Un ensayo que combina la técnica de Western blot con la imagenología en células, permitiendo la cuantificación de proteínas en células adherentes mediante el uso de anticuerpos y detección de fluorescencia.

4. PROCEDIMIENTO

4.1. Descripción equipo

El sistema dispone de:

- 4 láseres de estado sólido (488, 520, 700 y 800 nm)
- >6 órdenes de magnitud de rango dinámico en una sola adquisición
- Resolución de 5, 10, 20, 50 o 100 μm
- Hasta 19 canales en total:
 - Fluorescencia en infrarrojo cercano y visible, quimioluminiscencia, epi, trans y RGB real

Imagen del Equipo:



4.2. Escaneado

Para proceder al escaneado primero nos aseguraremos que el área de escaneado está limpia. Humedezca un paño de microfibra limpio y sin pelusa, o

papel, con agua destilada, con líquido *limpiador de lentes* o con una solución suave de etanol, como mucho al 70%, si es necesario. Evite el uso de productos de limpieza fuertes o abrasivos.

4.2.1 Con el software LI-COR Acquisition Software y Empiria Studio:

Enciende el LI-COR Odyssey M (botón encendido delantero) y verifica que esté conectado unos 30 minutos antes de su uso.

... Si no lo has hecho ya:

- Inicia sesión para crear una Carpeta de Datos que almacene datos internos de Empiria Studio.
- Evita colocar la Carpeta de Datos en unidades de red o carpetas sincronizadas en la nube para prevenir la pérdida de datos (el equipo no está conectado a Internet).
- Utiliza el Explorador de Archivos de Windows para crear una carpeta principal para las Carpetas de Datos de Análisis.
- Dentro de la carpeta principal, cree Carpetas de Datos individuales para una mejor organización.
- Selecciona la Carpeta de Datos adecuada en Empiria Studio para su proyecto.

4.2.1.1 Pasos para la adquisición:

1. Preparación del equipo y la muestra:
 - Prepara tu muestra (por ejemplo, un Western blot, gel o placa) y colócala en el soporte adecuado:
 - Usa el "Plate Alignment Guide" (guía de alineación de placas, ref. 926-18972) para placas.



- Usa el "Slide Holder" (soporte de portaobjetos, ref. 926-18971) para portaobjetos.



- Si es un gel o membrana, colócalo directamente en la superficie de escaneo sin soporte ("No Holder").



- Asegúrate de que la muestra esté alineada correctamente para obtener resultados consistentes.

2. Inicio del software:

- Abre el "LI-COR Acquisition Software" desde el escritorio o el menú de aplicaciones.



 <p>Institut d'Investigació Sanitària de Palma</p> <p>IdISPà</p>	<h2>NOM PROCEDIMENT</h2>	<p>PE/IdISPà/PT-PROT-1.003_ ODY -v01</p>
---	--------------------------	--

- El software detectará automáticamente el Odyssey M si está conectado correctamente.

3. Configuración del escaneo:

- En la interfaz principal, selecciona el tipo de soporte:
 - "No Holder": Para geles o membranas.
 - "Plate Holder": Para placas de pocillos.
 - "Slide Holder": Para portaobjetos.
- Define el área de escaneo dibujando un rectángulo en la pantalla sobre la región de interés.
- Selecciona los canales de imagen (hasta 6 disponibles en el Odyssey M):
 - Canales fluorescentes (NIR: 700 nm, 800 nm; Visible: 488 nm, 520 nm, etc.).
 - RGB para imágenes en color verdadero.
 - Luminiscencia (si aplica).
- Ajusta la resolución (5 µm para máxima calidad) y la intensidad (ajústalas según la señal esperada).

4. Ejecución del escaneo:

- Haz clic en "Scan" para iniciar la adquisición. El Odyssey M utiliza un sistema de escaneo confocal en línea que captura datos rápidamente (en minutos).
- Una vez finalizado, previsualiza la imagen en la pantalla para verificar la calidad.

5. Guardado y exportación:

- Guarda la imagen en el formato nativo del software.
- Exporta los datos para análisis seleccionando "Export for Analysis" y guardando como archivo ZIP ("LI-COR Zip Files"). Este archivo será compatible con Empiria Studio e Image Studio.

4.2.1.2 Análisis con Empiria Studio:



Empiria Studio está diseñado para un análisis guiado y reproducible, ideal para Western blots cuantitativos, ensayos en placas y más.

Pasos para el análisis:

- Instalación y configuración inicial (si no se ha hecho previamente):
 - Si no está ya instalado, descarga e instala Empiria Studio desde www.licor.com/EmpiriaStudioDownload (disponible para Windows y macOS).
 - Inicia sesión con tu cuenta de LI-COR. Crea una carpeta de datos ("Data Folder") en tu disco local (no en red ni nube).
- Importación de imágenes:
 - En la página principal, ve a "Image Gallery".
 - Selecciona "Import LI-COR Zip Files" y carga el archivo ZIP exportado desde LI-COR Acquisition Software.
- Creación de un proyecto:
 - Desde la página principal, haz clic en "Project" y crea un nuevo proyecto.
 - Abre el proyecto y selecciona "Create New Experiment".
 - Elige el tipo de ensayo (por ejemplo, "Quantitative Western Blot" o "Multiwell Plate").
- Análisis de la imagen:
 - Carga la imagen importada en el experimento.
 - Usa las herramientas guiadas para identificar carriles, bandas o pozos. Empiria Studio aplica automáticamente el "Adaptive Background Subtraction" para reducir variabilidad.
 - Cuantifica la intensidad de las bandas o señales y realiza análisis estadísticos (como %CV) directamente en el software.

 <p>Institut d'Investigació Sanitària de Palma</p> <p>IdISPa</p>	<h2>NOM PROCEDIMENT</h2>	<p>PE/IdISPa/PT-PROT-1.003_ ODY -v01</p>
---	--------------------------	--

- Cada encabezado de columna en la Tabla de Análisis proporciona información resumida sobre los cálculos de cuantificación.
- Después de completar el flujo de trabajo del Experimento, los resultados están disponibles en la página de Revisión e informes.
- Exporta los resultados como "Experiment File" (para compartir con otros usuarios de Empiria) o "Report Images" (imágenes individuales para publicaciones) en formatos TIFF o PNG, pero evite usar estas últimas para análisis.
- Las opciones de exportación incluyen Informes en PDF, Archivos de Experimento (como archivos CSV o de hoja de cálculo) y Todas las Imágenes del Informe.
- Elige una carpeta principal para las exportaciones y nombra una nueva carpeta para un almacenamiento organizado.

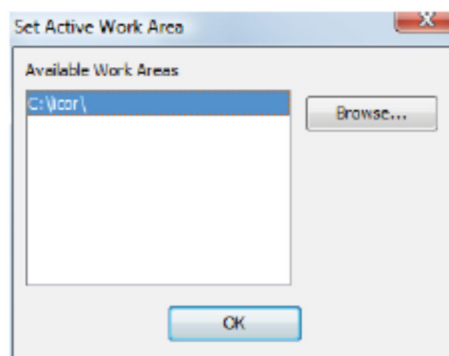
4.2.2 Con el software Image Studio:

Image Studio ofrece más flexibilidad para análisis manual, no es tan cerrado como los anteriores, y es compatible con una amplia gama de imágenes del Odyssey M.

Si no está ya instalado se puede descargar desde www.licor.com (sección "Image Studio Software").

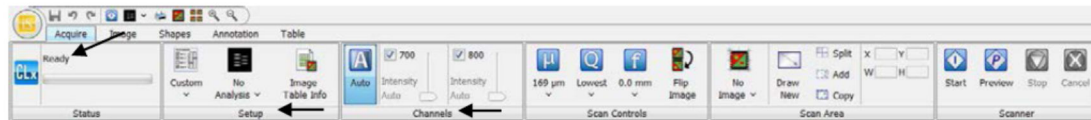
Encender el equipo (botón encendido delantero) unos 30 minutos antes de su uso.

Abrir el software "Image Studio" y seleccionar el "Work Area" que vayamos a usar.

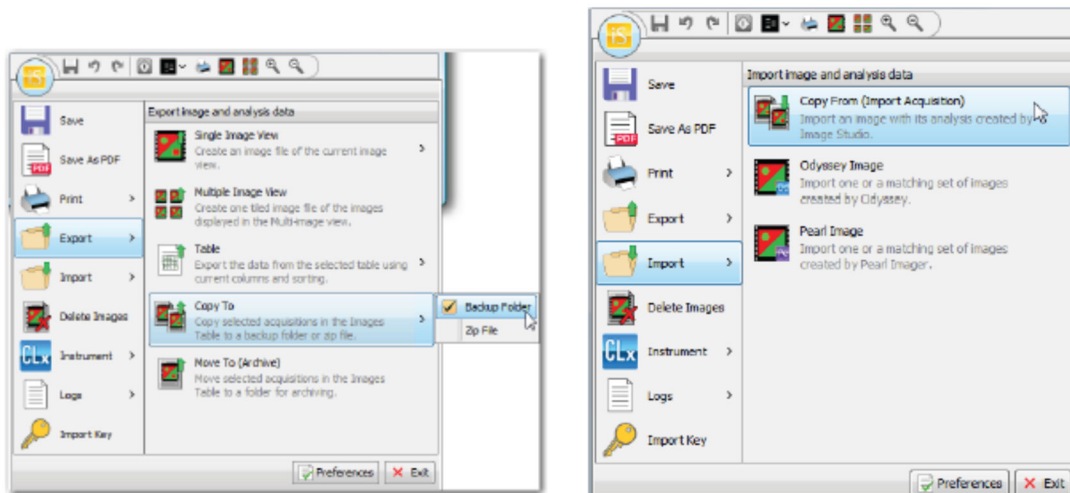


Prepara tu muestra (por ejemplo, un Western blot, gel o placa) y colócala en el soporte adecuado como se ha indicado en el punto **4.2.1.1**

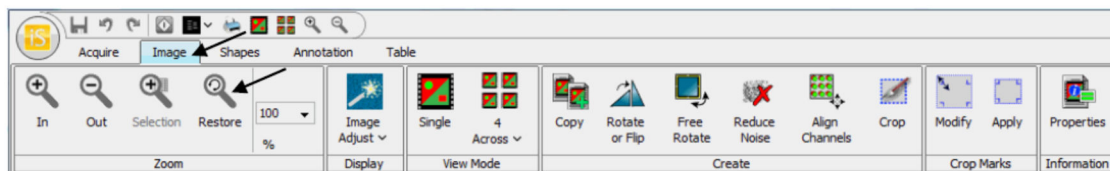
4.2.2.1 Nueva adquisición de imagen: en el menú “Acquire”, seleccionaremos los canales a escanear, la resolución, el tipo de análisis a aplicar, etc. Clicaremos “Peviw” (para obtener un primer borrador de imagen) o “Start” para proceder al escaneado:



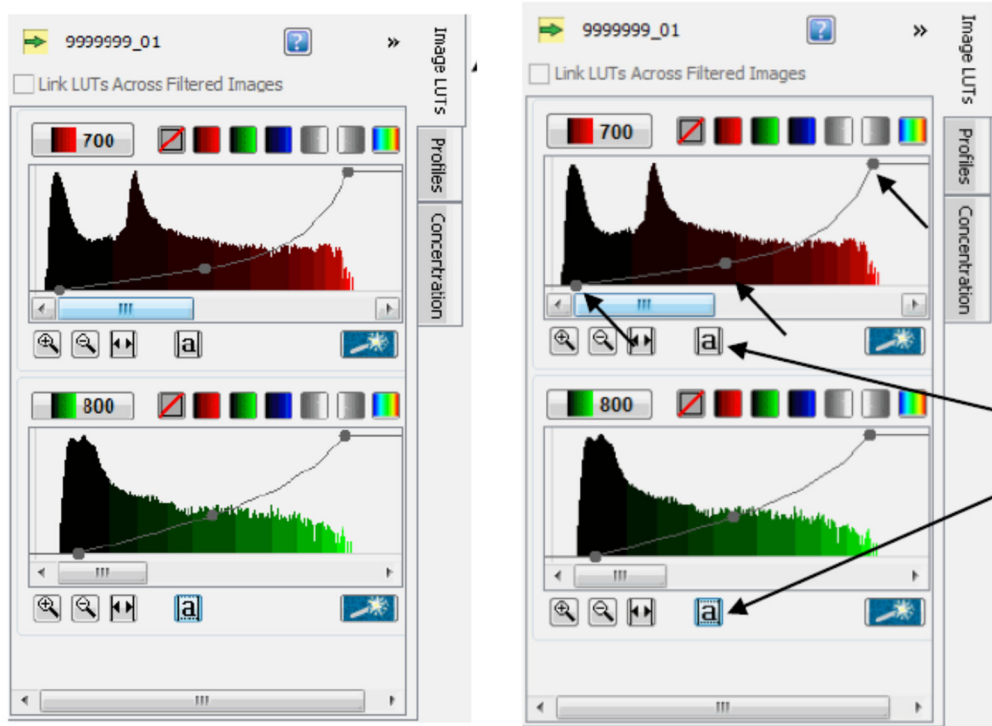
Una vez escaneada la membrana o gel, aparecerá la imagen en la pantalla, podremos exportarla, importar otra imagen o bien analizarla en el menú “Image”:



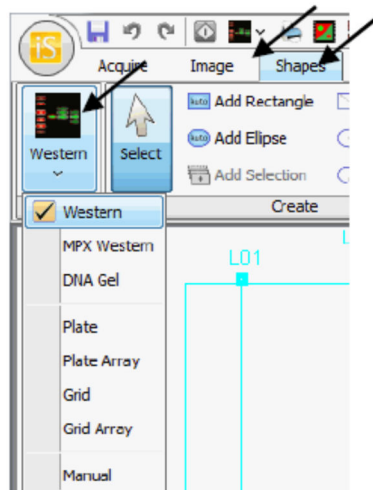
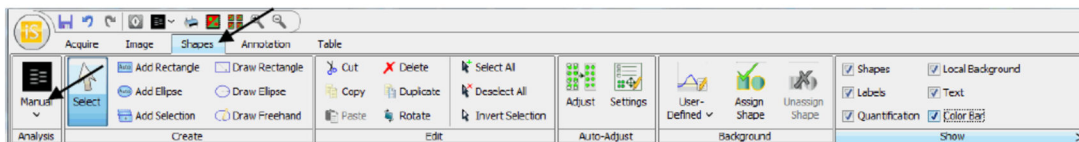
Menú adquisición:



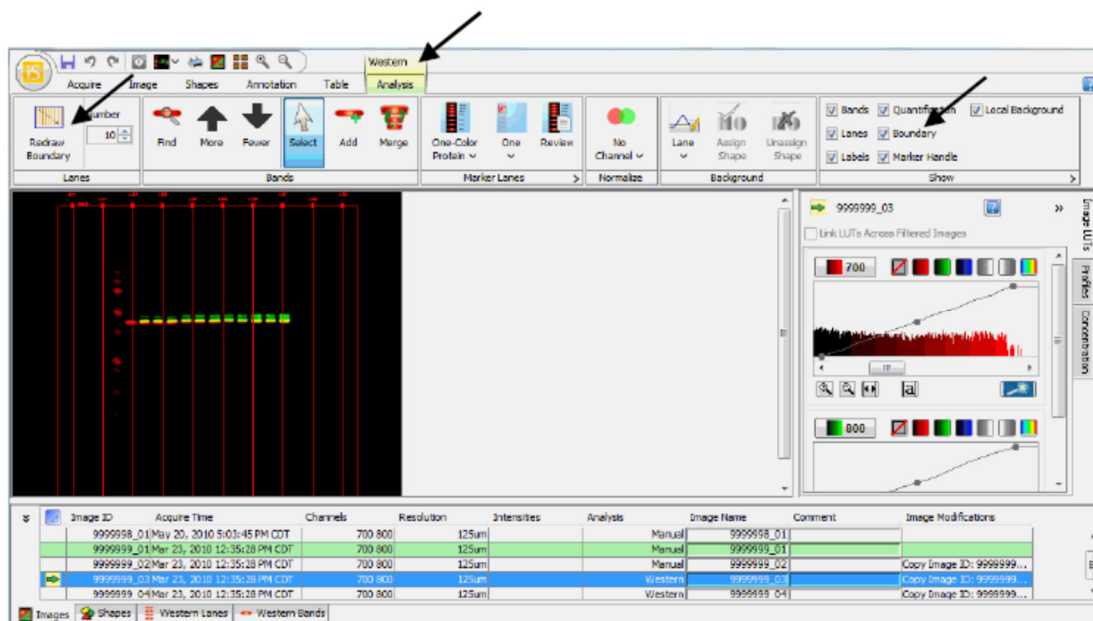
Para ajustar la apariencia de la imagen, seleccionaremos el icono “Image LUTs” en la esquina superior derecha, donde podremos cambiar la intensidad, contraste, autoajustar, etc. para cada uno de los canales:



En el menú “Shapes” disponemos de diferentes modos de análisis, manual o automático:



Aquí se ve como ejemplo el análisis de un “Western blot”



4.2.2.2 Importación de imágenes obtenidas con el LI-COR Acquisition Software:

- En la pestaña "Import", selecciona "LI-COR Zip Files" y carga el archivo ZIP exportado desde LI-COR Acquisition Software.
2. Ajuste de visualización:
 - Usa la pestaña "Display" para ajustar brillo, contraste y colores de los canales (por ejemplo, rojo para 700 nm, verde para 800 nm).
 - Si es una imagen RGB, visualízala como un solo canal sin dividir en componentes.
 3. Cuantificación:
 - En la pestaña "Analysis", dibuja regiones de interés (ROI) alrededor de bandas o pozos.
 - Cuantifica la intensidad de la señal. Nota que no incluye sustracción de fondo por carriles como Empiria, pero puedes ajustar manualmente.
 4. Exportación:
 - Exporta las imágenes ajustadas o los datos cuantificados desde la pestaña "Export" para publicaciones o análisis adicionales.

 <p>Institut d'Investigació Sanitària de Palma</p> <p>IdISPa</p>	<h2>NOM PROCEDIMENT</h2>	<p>PE/IdISPa/PT-PROT-1.003_ ODY -v01</p>
---	--------------------------	--

4.3. Limpieza del equipo

1. **Usar un paño de microfibra:** Humedece un paño de microfibra limpio y sin pelusa, o papel, con agua destilada, con líquido *limpiador de lentes* o con una solución suave de etanol, como mucho al 70%, si es necesario. Evita el uso de productos de limpieza fuertes o abrasivos.
2. **Limpieza suave:** Pasa el paño suavemente sobre el cristal en una sola dirección para retirar polvo, manchas o residuos sin rayar la superficie. Asegúrate de no aplicar demasiada presión.
3. **Evitar líquidos excesivos:** No rocíes directamente líquidos sobre el cristal, ya que el exceso de humedad puede filtrarse en el equipo. Humedece solo el paño o papel.
4. **Secado:** Use otra parte del paño seco o papel para retirar cualquier exceso de humedad, pasando nuevamente de forma suave y en una sola dirección.
5. **Inspección final:** Revise que no queden residuos ni huellas en el área de escaneo antes de cerrar el equipo.

5. REFERENCIAS

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

- Image Studio Quick Scan Guide (LICOR)
- Odyssey M Operator's Manual (LICOR)
- Odyssey M Tutorial Guide (LICOR)
- Seminario especialista aplicaciones (LICOR)
- Enlaces a Empiria Studio:
 - o https://bio.licor.com/bio/help/empiria_studio/
 - o <https://www.licorbio.com/empiria-studio/resources>
 - o <https://www.licorbio.com/empiria-studio/download-empiria>
- Enlaces a Image Studio:
 - o <https://www.licorbio.com/support/answer-portal/software/image-studio.html>
 - o <https://www.licorbio.com/image-studio/resources>

- <https://www.licorbio.com/support/contents/software/image-studio/whats-new.html?Highlight=Image%20Studio%E2%84%A2%20Software%20PDF>
- Manual de calidad IdISBa

