

PLATAFORMA PROTEÒMICA

PE/IdISPa/PT-PROT-1.007_SYN-v01

PROCEDIMIENTO DE MANEJO DEL LECTOR DE PLACAS SYNERGY H1

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. *Lectura*

4.3. *Mantenimiento y Limpieza del equipo*

5. REFERENCIAS

6. ANEXOS

1. OBJETIVO

El objetivo de este documento es definir el procedimiento de utilización del lector de placas multimodal Synergy H1 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

Fluorocromo o marcador fluorescente:

4. PROCEDIMIENTO

4.1. Descripción equipo

El Sistema Synergy H1 es un lector de placas multimodal híbrido, el sistema puede detectar intensidad de fluorescencia, "time-resolved fluorescence (TRF)", luminiscencia y absorbancia UV-visible. Puede realizar las lecturas usando un cubo de filtro o un monocromador. El sistema de filtros puede realizar lecturas de fluorescencia y luminiscencia. El sistema de monocromador, que tiene puede realizar la lectura por la parte superior e inferior se puede usar para absorbancia, fluorescencia, y luminiscencia. El monocromador permite seleccionar longitudes de onda entre 230 y 999nm en incrementos de 1nm. También disponemos de inyector automático y de la placa "Take 3" que permite hacer lecturas en volúmenes de solo 2 µl.

Imagen del sistema con inyector:



4.2. Lectura

Componentes del sistema:

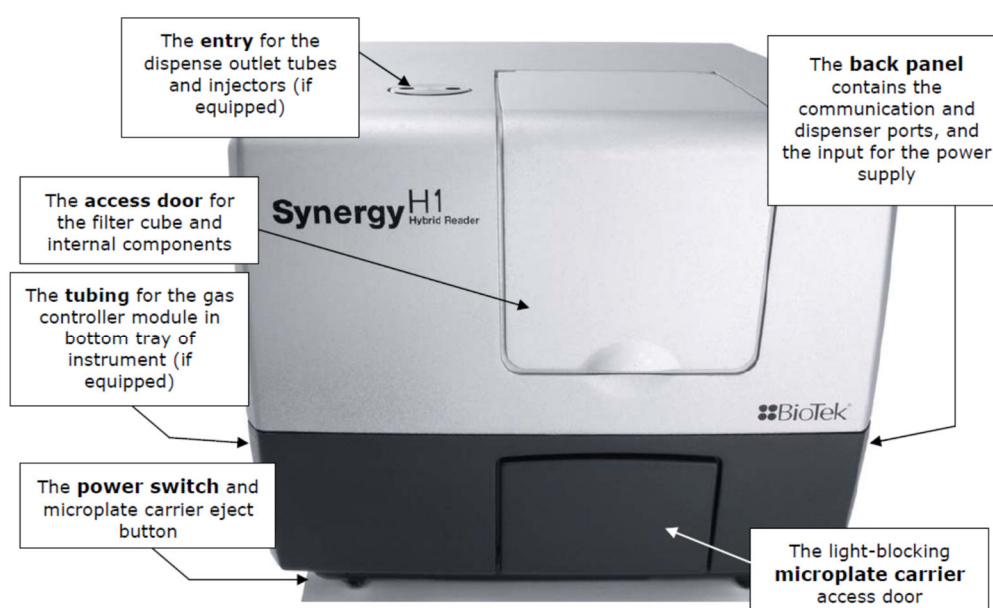
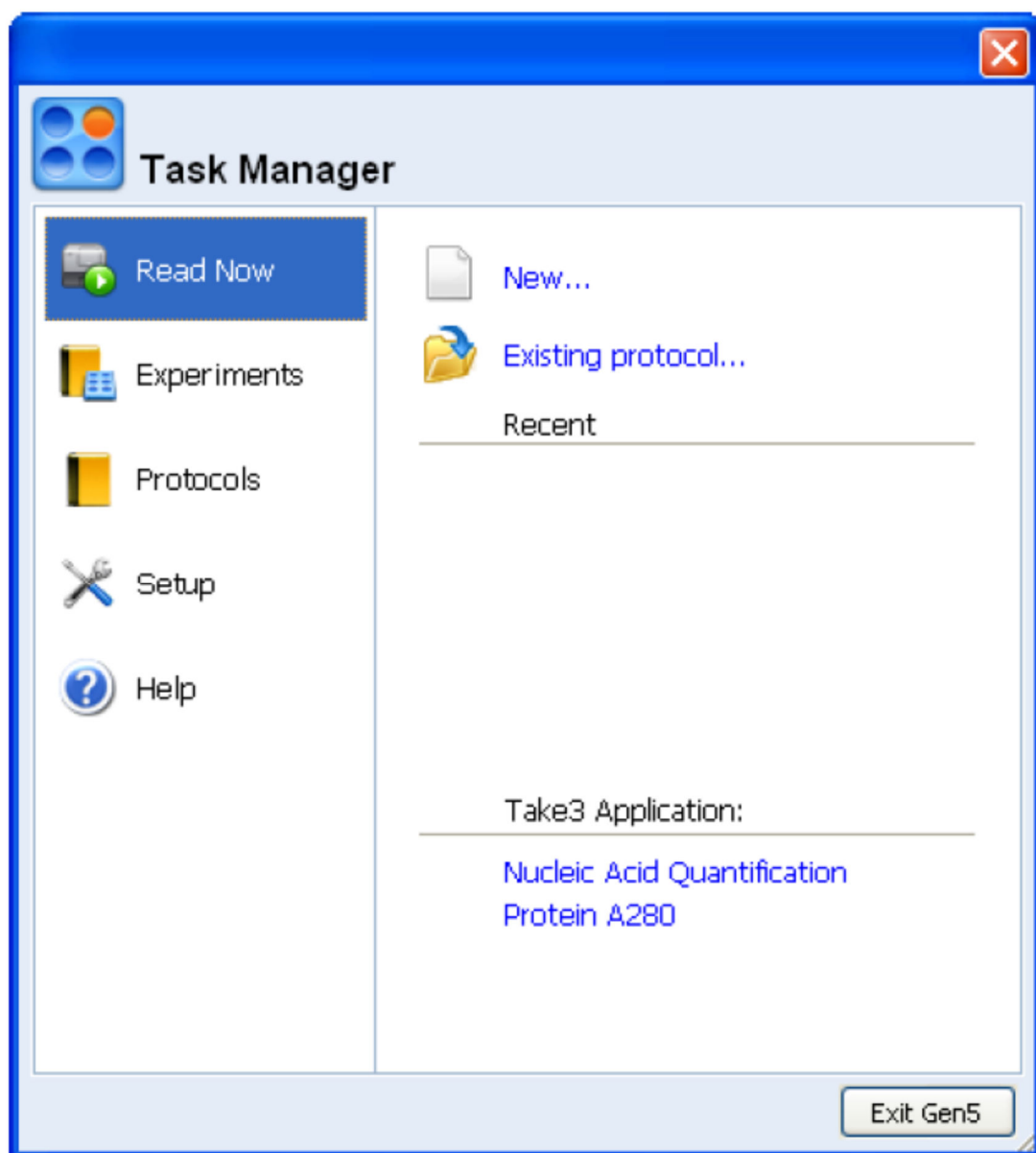


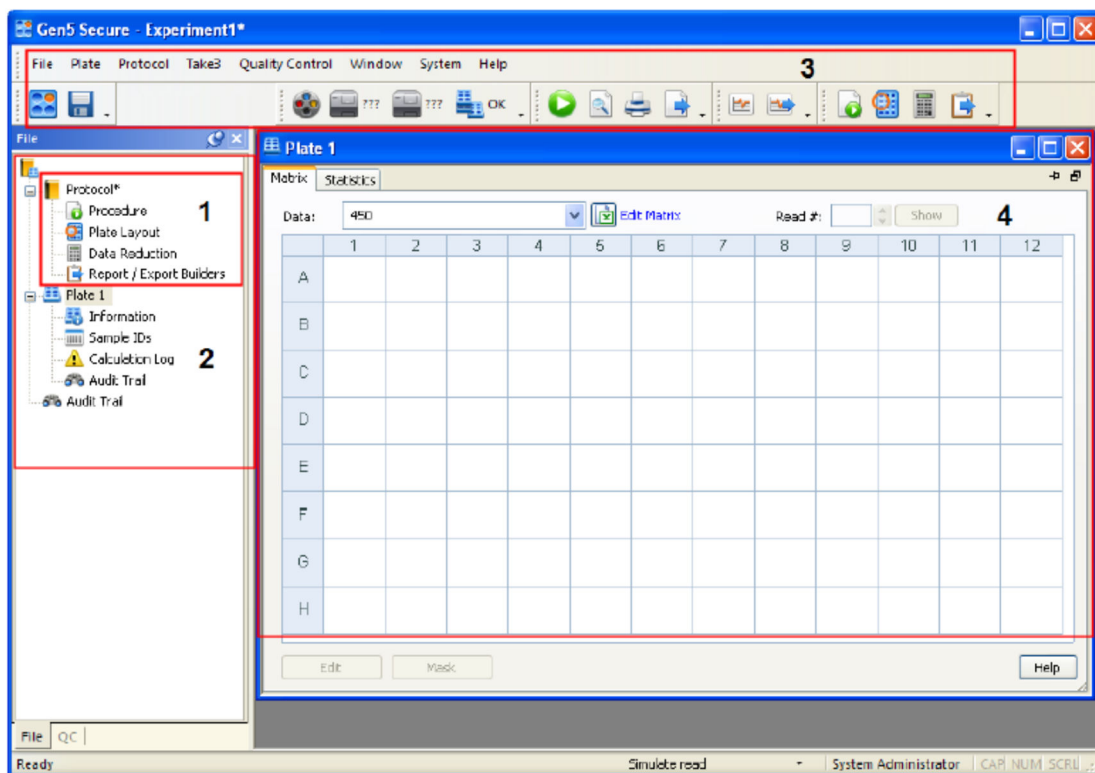
Figure 1: External components

 <p>Institut d'Investigació Sanitària de Palma</p> <p>IdISPa</p>	<h2>NOM PROCEDIMENT</h2>	PE/IdISPa/PT-PROT-1.007_ SYN -v01
---	--------------------------	--------------------------------------

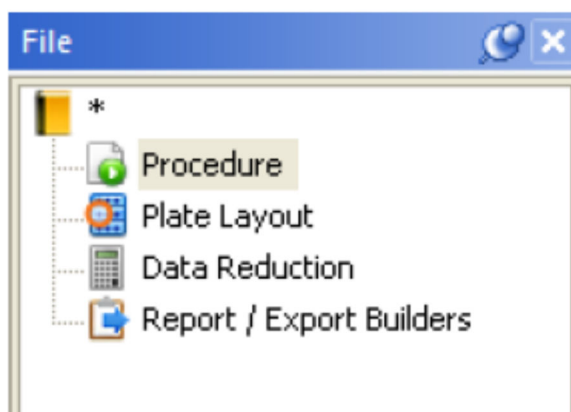
Encender el equipo (botón encendido delantero). Abrir el software “Gen5”, se nos abrirá el “Task Manager”:




Desde aquí tenemos acceso rápido a los experimentos y protocolos. También podemos cerrar la ventana e ir a la pantalla principal del “Gen5”:



En la parte correspondiente a protocolo, podemos definir los procesos a aplicar, el mapa de la placa y análisis. En el protocolo definiremos las condiciones necesarias para leer una placa (absorbancia, fluorescencia, luminiscencia, longitudes de onda,...) y la distribución (Plate Layout) y tipo de análisis que queremos realizar.



Una vez tengamos definido el protocolo, podemos colocar la placa en la bandeja y seleccionar  para realizar la lectura. Después podemos exportar las lecturas, analizar los datos, etc.

4.3. *Mantenimiento y Limpieza del equipo*

Calibración absorbancia: mediante el “System test” podemos comprobar el funcionamiento del equipo (System > Diagnostics > Run System Test).

También se puede usar un test para comprobar la alineación, precisión, linealidad y repetitividad mediante una placa comercial (BioTek’s Absorbance Test Plate (PN 7260522)) una solución comercial como: BioTek QC Check Solution No. 1 (PN 7120779, 25 mL; PN 7120782, 125 mL) o bien una solución preparada por nosotros (0.092 g de “FD&C Yellow No. 5 dye powder” y 0.5 mL de Tween 20 en 1L de agua).

Si usamos una placa comercial, se seleccionará: “System > Diagnostics > Test Plates > Run” y “Perform Peak Wavelength Test”, después de seleccionar nuestras opciones, clicaremos “Start test” y al acabar, comprobaremos que cumple las especificaciones.

En el caso de usar una solución, leeremos (5 veces en cada sentido) las siguientes diluciones de la solución concentrada, para comprobar que los parámetros son correctos:

Tube Number:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Volume of Original Concentrated Solution (mL)	20	18	16	14	12	10	8	6	4	2
Volume of 0.05% Tween Solution (mL)	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18
Absorbance expected if original solution is 2.0 at 200 µL	2.0	1.8	1.6	1.4	1.2	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2

Limpieza: Purgar el inyector con agua destilada después del uso (también es conveniente antes de usarlo) Iremos a System > Instrument Control > Synergy H1. Seleccionamos “Dispenser 1” y volumen “5000 µL”. Clicar en “Prime”. Repetimos para “Dispenser 2” y también “Purge”.

Limpieza del exterior del equipo y superficies expuestas como el soporte de la placa con un trapo húmedo (agua). Vigilar periódicamente que los filtros y espejos estén limpios.



5. REFERENCIAS

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

- "Gen5. Getting started guide" (Biotek Instruments)
- "Synergy H1. Operator's manual" (Biotek)
- Seminario especialista aplicaciones (IZASA)
- Manual de calidad IdISPa

6. ANEXOS

