FMUSP	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO - POP	INCOR HEFMEN CIÈNCIA E HUMANISMO
Data: 01/07/2018		Nº: 021
Próxima revisão:	LABORATÓRIO DE METABOLISMO E LÍPIDES	Versão: 04
01/07/2019		Página 1

POP: Fotodocumentador de imagens de alta resolução

Equipamento: Fotodocumentador

Modelo: Amersham Imager 600

Marca: GE

A. Objetivo

O fotodocumentador *Amersham Imager 600* tem como objetivo identificar e quantificar a expressão protéica e de DNA em amostras celulares e teciduais.

B. Abrangência

Biólogos, Biomédicos, Farmacêuticos e Técnicos de Laboratório.

C. Definição

O Amersham Imager 600 é um fotodocumentador de imagens de alta resolução e sensibilidade para quimioluminescência, colorimétrico e fluorescência para amostras de proteínas e DNA em géis e membranas.

Elaborado por: Maria Carolina Guido	Aprovado por:	
	Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão	
Revisado por: Priscila Oliveira de Carvalho		

FMUSP	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO - POP	CIÈNCIA E HUMANISMO
Data: 01/07/2018		Nº: 021
Próxima revisão:	LABORATÓRIO DE METABOLISMO E LÍPIDES	Versão: 04
01/07/2019		Página 2

D. Observações importantes

A Figura 1 e a Tabela 1 demonstram, respectivamente, a imagem e a descrição do fotodocumentador Amersham Imager 600.



Figura 1. Imagem do fotodocumentador Amersham Imager 600.

Elaborado por: Maria Carolina Guido	Aprovado por: Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão
Revisado por: Priscila Oliveira de Carvalho	

FMUSP	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO - POP	INCOR HEFMEN CIÈNCIA E HUMANISMO
Data: 01/07/2018		Nº: 021
Próxima revisão:	LABORATÓRIO DE METABOLISMO E LÍPIDES	Versão: 04
01/07/2019		Página 3

Tabela 1. Descrição e dados do fotodocumentador Amersham Imager

Weight	40.1 kg
Voltage Variation	±10%
Sample Size	160 × 220 mm
Power Max.	250 W
Pixel Correction	Dark frame correction, flat frame correction, and distortion correction
Operation	Fully automated (auto exposure, no focus or other adjustment or calibration needed)
Operating Temperature	18°C to 28°C
Light Source	White Epi light: 470 to 635 nm
Lens Model	FUJINON Lens f/0.85 43 mm
Interface	USB 2.0 and Ethernet port
Input Voltage	100 to 240 V
Image Resolution Max.	2816 × 2048, 5.8 Mpixel
Image Output	Gray scale 16 bit tif, Color image jpg, Gray scale jpg
Humidity	20% to 70% (no dew condensation)
Frequency	50/60 Hz
Exposure Time	1/10 s to 1 hour
Dynamic Range	16-bit, 4.8 orders of magnitude
Cooling type	Two-stage thermoelectric module with air circulation CCD Operating temperature -25°C
Cooling down Time	< 5 min
CCD Resolution	2048 × 1536, 3.2 Mpixel
CCD Model	Peltier cooled Fujifilm™ Super CCD Pixel area 15.6 × 23.4 mm

E. Operacionalização

600.

- 1) Ligue o fotodocumentador no botão lateral e frontal do equipamento.
- 2) Ligue o IPAD e coloque-o na base do fotodocumentador.
- 3) Digite a senha do IPAD 5694 e abra o aplicativo Al600.
- 4) Em usuário e senha digite Al600user.
- 5) Confirme iniciar a sessão e conectar.

El	aborado por: Maria Carolina Guido	Aprovado por: Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão
R	evisado por: Priscila Oliveira de Carvalho	

FMUSP	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO - POP	INCOR HEMIST CIÈNCIA E HUMANISMO
Data: 01/07/2018		Nº: 021
Próxima revisão:	LABORATÓRIO DE METABOLISMO E LÍPIDES	Versão: 04
01/07/2019		Página 4

- 6) Verifique no canto inferior esquerdo do aparelho a disponibilidade da câmera. Se estiver verde está pronto para uso ou se estiver laranja, aguarde.
- 7) Haverá três métodos de aquisição de imagem: a) Quimioluminescência; b) Colorimétrico; c) Fluorescência (Figura 2). Selecione o de interesse.

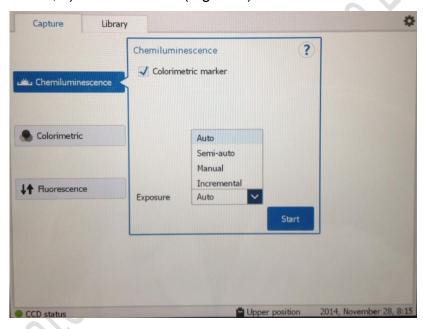


Figura 2. Tela principal representativa dos métodos de aquisição do fotodocumentador Amersham Imager 600.

a) <u>Quimioluminescência</u>: usar a bandeja preta tanto na altura superior ou inferior do aparelho dependendo do tamanho de sua membrana ou gel. Caso tenha imagens com marcador colorimétrico, use o filtro branco (white insert). Os métodos de aquisição de imagem são: automático, incremental, semi-automático e manual.

Elaborado por: Maria Carolina Guido	Aprovado por: Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão
Revisado por: Priscila Oliveira de Carvalho	

FMUSP	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO - POP	INCOR HEMANS CIÈNCIA E HUMANISMO
Data: 01/07/2018		Nº: 021
Próxima revisão:	LABORATÓRIO DE METABOLISMO E LÍPIDES	Versão: 04
01/07/2019		Página 5

- **Automático**: o aparelho calcula o tempo de exposição, normalmente o tempo é bem curto (segundos a minutos). Esse deve ser o primeiro a ser utilizado.
- **Incremental**: usado para bandas com baixa expressão proteica (bandas difíceis de serem adiquiridas) e necessitam alto tempo de exposição. O aparelho sobrepõe imagens de acordo com o tempo de exposição pré-determinado.
- Semi-automático: usado para membranas com diferentes anticorpos e/ou diferentes expressões protéicas. Determinar a região com a banda de interesse que o equipamento calcula o tempo de exposição e adquire a imagem.
- **Manual**: o operador é que determina o tempo de exposição da membrana.
- b) <u>Colorimétrico</u>: usado para corante como prata, coomassie blue e outros. Os métodos de aquisição são: epi-iluminação e trans-iluminação. Em ambos, o tempo de exposição é automático e deve usar o filtro branco (white insert) para proteção da ultravioleta.
 - Epi-iluminação: utilizado apenas para a digitalização das imagens.
 - **Trans-iluminação**: utilizado para a digitalização e quantificação das imagens.
- c) <u>Fluorescência</u>: se for membrana usar a bandeja preta na parte inferior e se for gel, normalmente com brometo de etídeo, usar a bandeja transparente com o "gel shift". Os métodos de aquisição são: automático e manual.

Elaborado por: Maria Carolina Guido	Aprovado por:
	Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão
Revisado por: Priscila Oliveira de Carvalho	

FMUSP	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO - POP	INCOR HERMAN CIÈNCEA E HUMANISMO
Data: 01/07/2018		Nº: 021
Próxima revisão:	LABORATÓRIO DE METABOLISMO E LÍPIDES	Versão: 04
01/07/2019		Página 6

- **Automático**: o aparelho calcula o tempo de exposição. Esse deve ser o primeiro a ser utilizado.
- **Manual**: o operador é que determina o tempo de exposição da membrana ou gel.
- 8) Após a aquisição das imagens salvar em pen drive que deve ser inserido na parte superior esquerda do equipamento.
- 9) Para análise das imagens abrir os arquivos salvos na pasta Al600 images
- 10) Abrir o programa do computador IQTL (Figura 3).
- 11) Use "1D gel analises", clique em "restart" e abra a imagem.
- 12) Caso queira apenas uma parte da imagem ou se for necessário dar zoom em uma parte específica, clique em "edit", corte a parte desejada e salve.
- 13) Reabra a imagem salva.
- 14) Clique em "automático" e em "lane criation". É possível determinar e/ou deletar as bandas de interesse.
- 15) Clique em "grimaces" para desenhar o formato das bandas e aperte "next" e "detect".
- 16) Clique em "normalize", "edit" e exporte os dados para o excel.
- 17) Os dados aparecerão em densitometria óptica (DO).
- 18) Normalize a DO da proteína ou do DNA de interesse pelo "scramble" ou normalizador e compare os grupos.
- 19) Também há possibilidade de analisar as bandas pelo programa Image J, para isso as imagens devem estar salvas em jpeg.
- 20) Após o uso do equipamento, feche todos os programas e desligue o IPAD e o fotodocumentador.

Elaborado por: Maria Carolina Guido	Aprovado por:
	Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão
Revisado por: Priscila Oliveira de Carvalho	

FMUSP	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO - POP	CIÈNCIA E HUMANISMO
Data: 01/07/2018		Nº: 021
Próxima revisão:	LABORATÓRIO DE METABOLISMO E LÍPIDES	Versão: 04
01/07/2019		Página 7

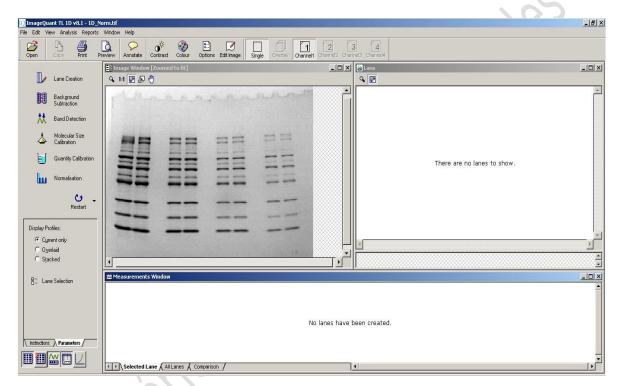


Figura 3. Programa IQTL para quantificação das imagens obtidas no fotodocumentador Amersham Imager 600.

F. Dados complementares

Para maiores informações sobre a instrução e uso do fotodocumentador Amersahm Imager 600 acessar o site:

https://www.gelifesciences.com/gehcls_images/GELS/Related%20Content/Files/1394704642268/litdoc29064517_20140314050039.pdf

Elaborado por: Maria Carolina Guido	Aprovado por:
	Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão
Revisado por: Priscila Oliveira de Carvalho	

FMUSP	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO - POP	CIÈNCIA E HUMANISMO
Data: 01/07/2018	LABORATÓRIO DE METABOLISMO E LÍPIDES	Nº: 021
Próxima revisão:		Versão: 04
01/07/2019		Página 8

Para maiores informações sobre princípios e métodos de Western blot acessar o site:

__images/Gi ,__20140713230 https://www.gelifesciences.com/gehcls_images/GELS/Related%20Content

Elaborado por: Maria Carolina Guido	Aprovado por:
	Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão
Revisado por: Priscila Oliveira de Carvalho	