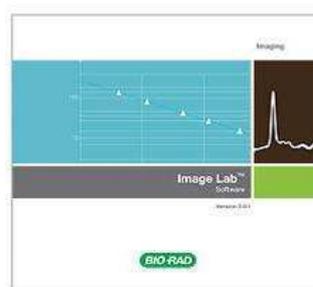


# Guía de optimización de la captura de imagen quimioluminiscente con los equipos ChemiDoc XRS+ / ChemiDoc MP y el software Image Lab



Elaboró:

Dr. Jean Alberto Castillo Badillo.  
Dr. José Luis Maravillas Montero.

Febrero 2015

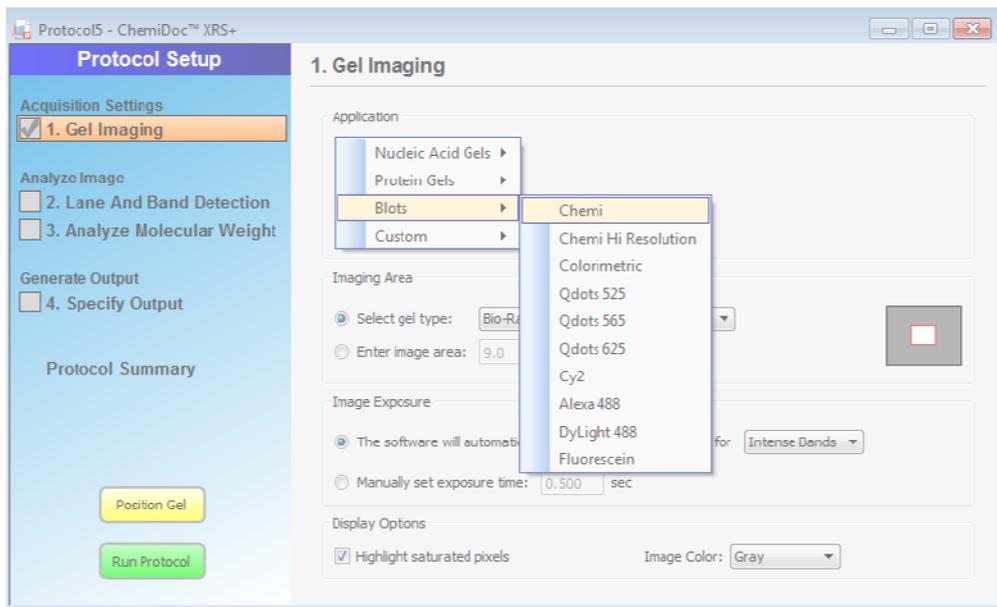


1. Encender primero el equipo Chemidoc MP
2. Encender la computadora
3. Colocar su muestra, Gel o membrana en la charola.
4. Esperar 5 min en lo que se calienta la cámara del equipo.
5. Inicie el software **Image Lab** dando doble click en el ícono.

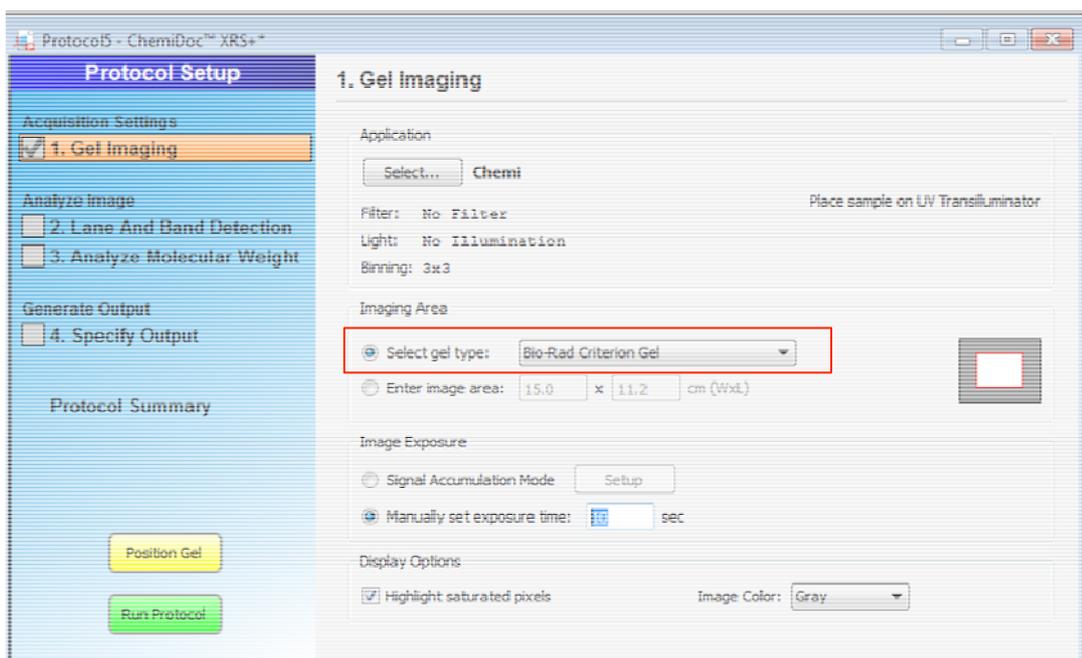


6. En la pantalla de inicio seleccione **New Single Channel** o **New Multichannel**, según sea el caso.
7. En la pantalla **Protocol Setup** de click aplicación abrirá un menú con las opciones para leer geles de que contengan ácidos nucleicos proteínas o si es el caso hacer un blot, también permite hacer una captura personalizada mediante el menú custom. Al escoger la opción a analizar nos despliega una lista de opciones de fluoróforos donde podemos elegir según sea nuestro caso.

**Protocol Setup > Select > Blots > Chemi.**



8. Seleccione un tamaño aproximado de la membrana a fotodocumentar.



9. El siguiente paso es determinar el tiempo adecuado para la captura de la imagen. El objetivo es exponer la muestra lo suficiente para visualizar bandas débiles, sin llegar a saturar la imagen de las bandas intensas.

**NOTA:** La cámara de los sistemas ChemiDoc tiene una capacidad máxima de 65,000 unidades de intensidad de píxeles, el sobrepasar este valor tiene como resultado la saturación de la señal. La saturación impide realizar una cuantificación adecuada de la muestra, por esta razón es muy importante determinar el tiempo de captura óptimo para obtener la mejor imagen sin llegar a la saturación.

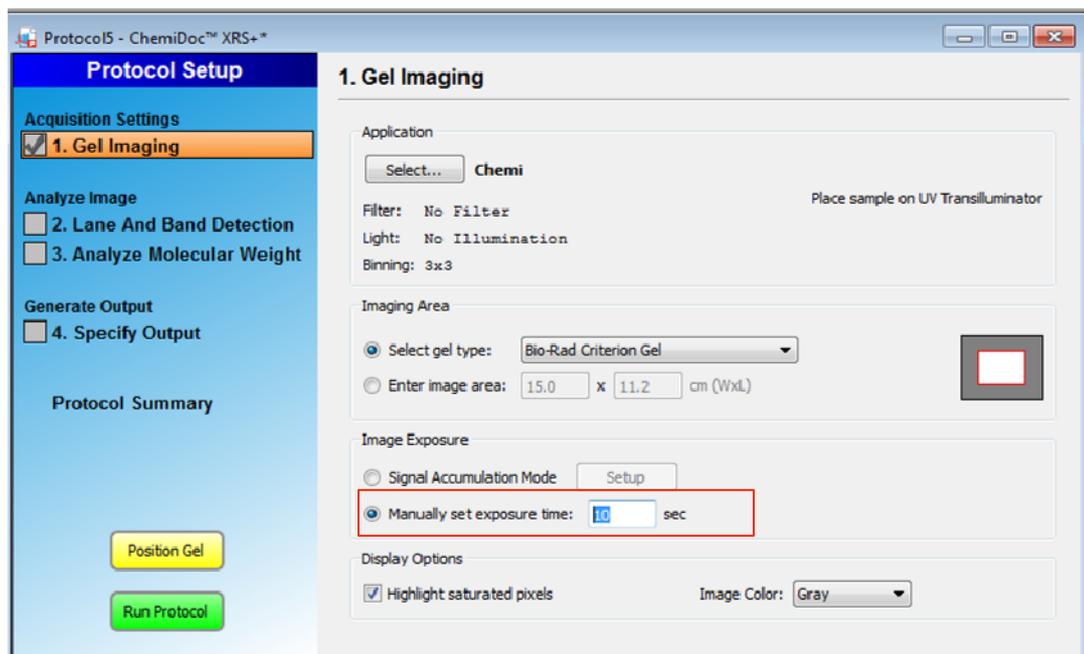
10. Para obtener el tiempo de captura adecuado se pueden seguir los siguientes pasos:

- Tome una imagen con un tiempo corto de exposición, por ejemplo 10s (para tener una intensidad de píxeles inicial)
- Determine la intensidad de píxeles relativa de su muestra
- Estime el tiempo aproximado de exposición mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Tiempo para llegar a saturación} = \left( \frac{65,000}{\text{Intensidad en 10s}} \right) \cdot 10s$$

- Utilice el modo de captura de acumulación de señal (**Signal Accumulation Mode**) para obtener la mejor imagen posible.

11. Para un “tiempo corto de exposición” considere 10 s. Así que seleccione la opción **Manually set exposure time** y teclee 10 (**Paso a**)

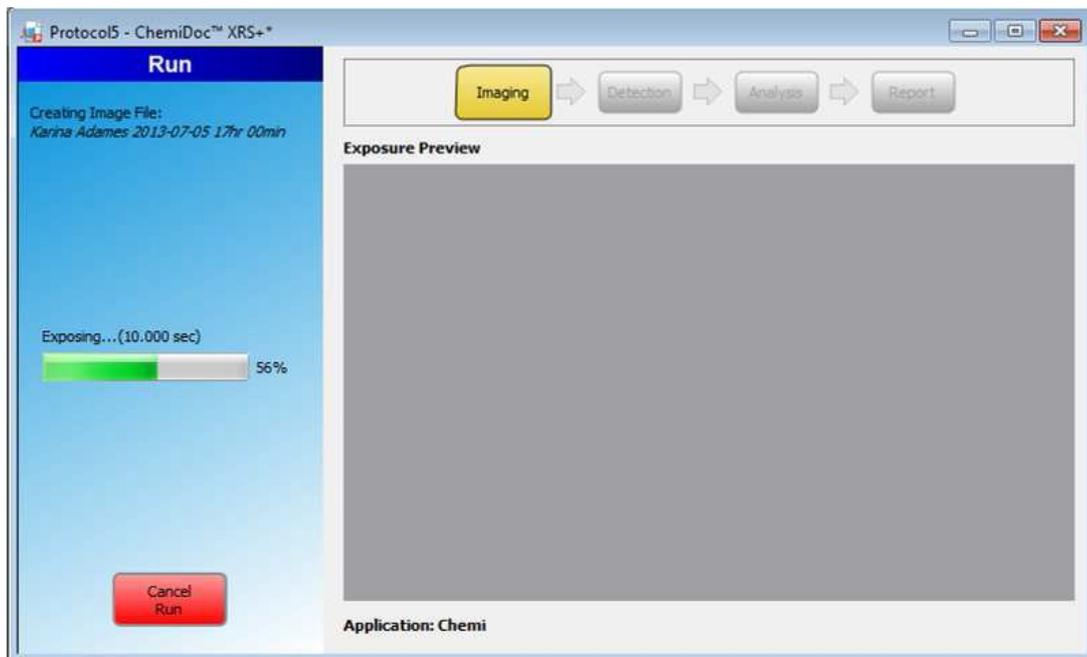


**NOTA:** Verifique que la casilla **Highlight saturated pixels** se encuentra seleccionada.

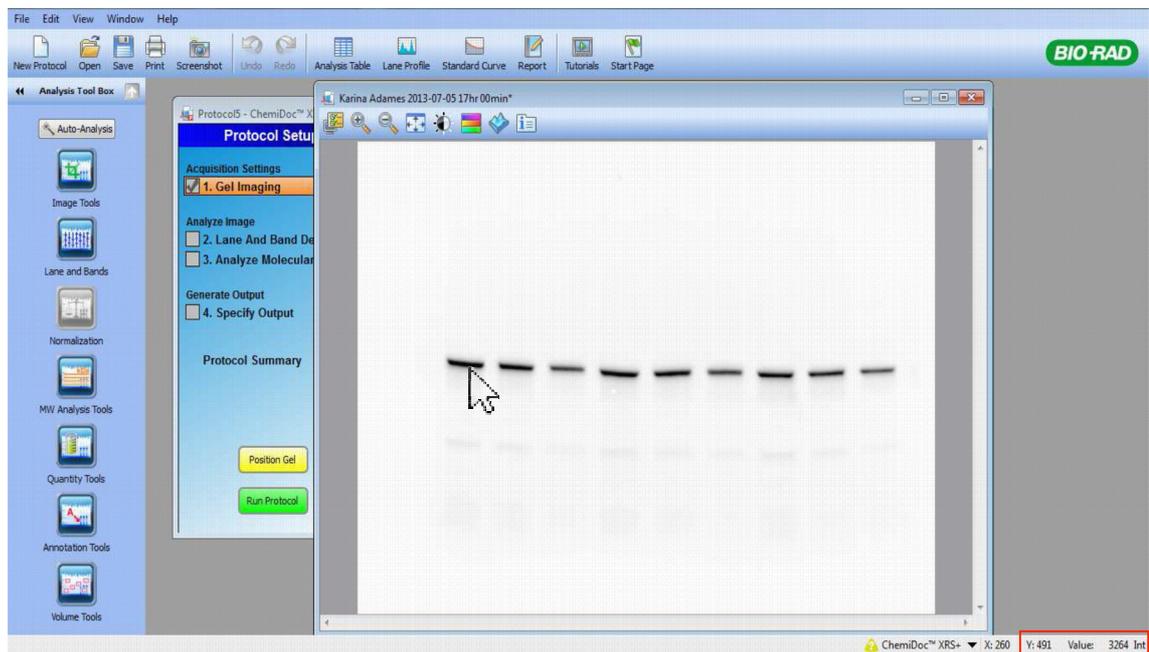
12. De click en **Position Gel** para verificar que la membrana está centrada y con nivel de zoom adecuado. Una vez verificado lo anterior de click en **Run Protocol**



13. Aparecerá la pantalla de avance:



14. Para determinar la intensidad de pixeles relativa de su muestra (**Paso b**), coloque el cursor sobre la banda más intensa de la imagen



15. Observe el valor de intensidad de pixeles que aparece en la parte inferior derecha de su pantalla.

ChemiDoc™ XRS+ X: 260 Y: 491 Value: 3264 Int

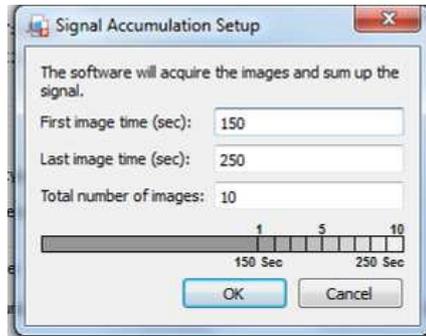
**NOTA:** Si la imagen presenta puntos rojos en alguna de las bandas significa que se llegó al nivel de saturación de pixeles de la cámara. En este caso, tome otra imagen con menor tiempo de exposición.

16. En este ejemplo, el valor es 3,264 en 10 segundos. Sustituyendo en la fórmula del paso 6.

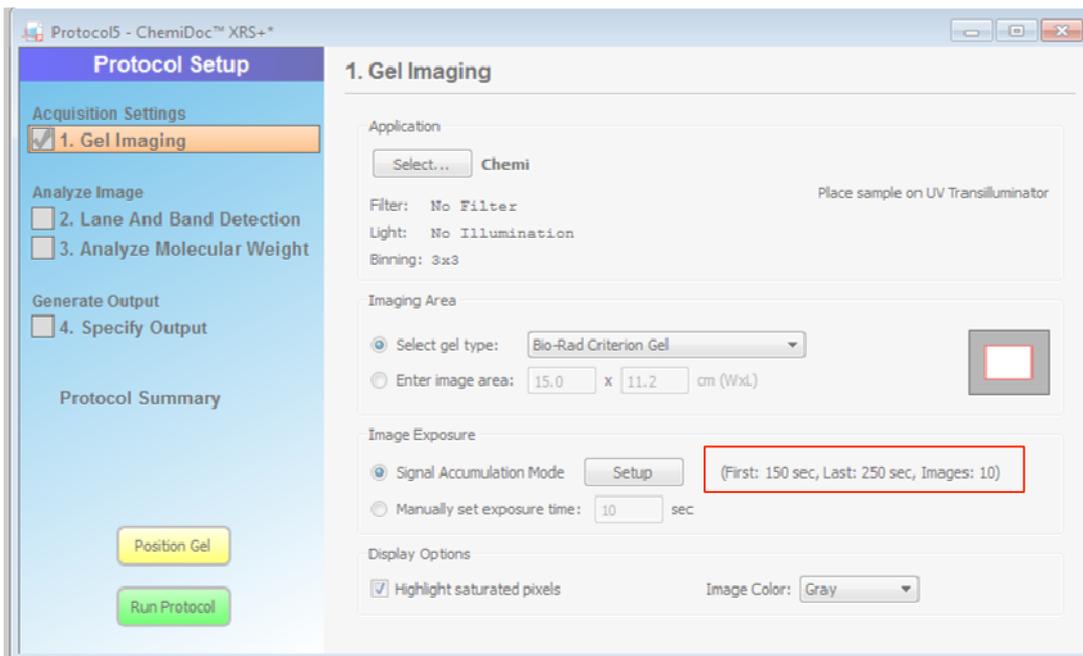
$$\text{Tiempo para llegar a saturación} = \left( \frac{65,000}{3,264} \right) \times 10s = 200s$$

17. El resultado es 200 s (**Paso c**). Utilice este valor como parámetro de referencia en el **Signal Accumulation Mode**
18. Vaya nuevamente a la pantalla **Protocol Setup** y repita los pasos 3 y 4 de esta guía.
19. En la opción **Image Exposure** seleccione **Signal Accumulation Mode (Paso d)**

20. En este ejemplo, el tiempo aproximado al cual se llega a la saturación de la imagen es 200s, así que se estableció un rango de captura de imagen que incluyera 200s. Se determinó que la primera toma de la imagen fuera a los 150s, y que la última toma de imagen fuera a los 250 s. En ese intervalo se seleccionó que el software tomara 10 imágenes (este valor se ajusta de acuerdo a la necesidad del usuario).



21. De click en **OK** para aceptar los valores

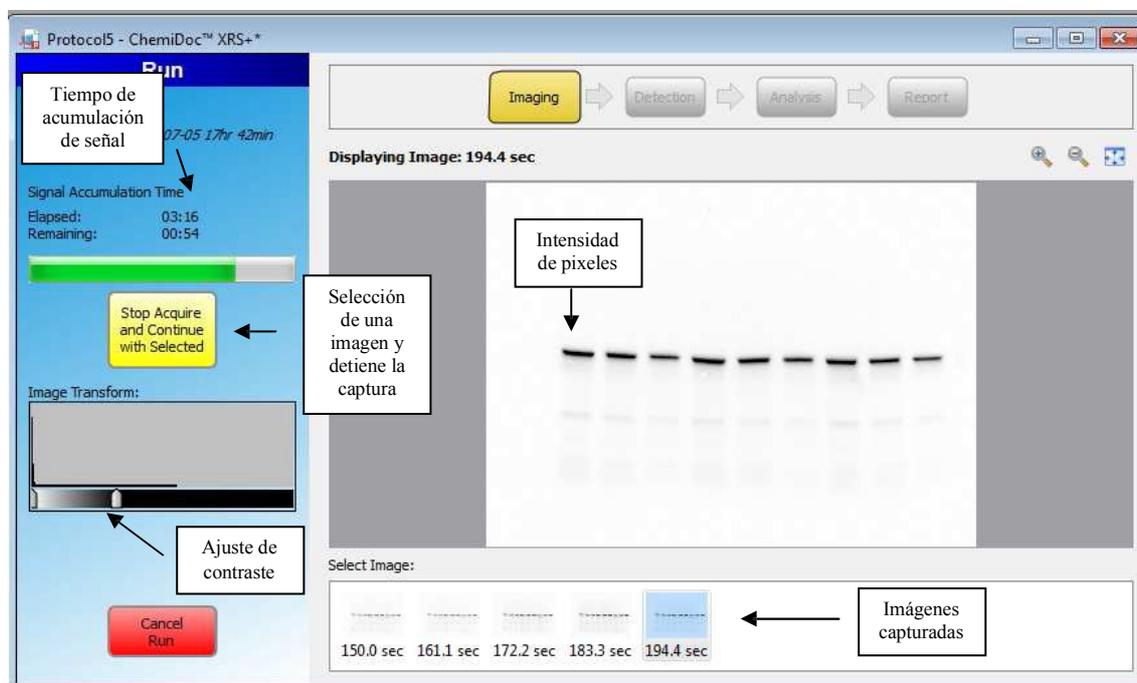


22. De click en **Run Protocol**

**NOTA:** Verifique que la casilla **Highlight saturated pixels** se encuentra seleccionada.

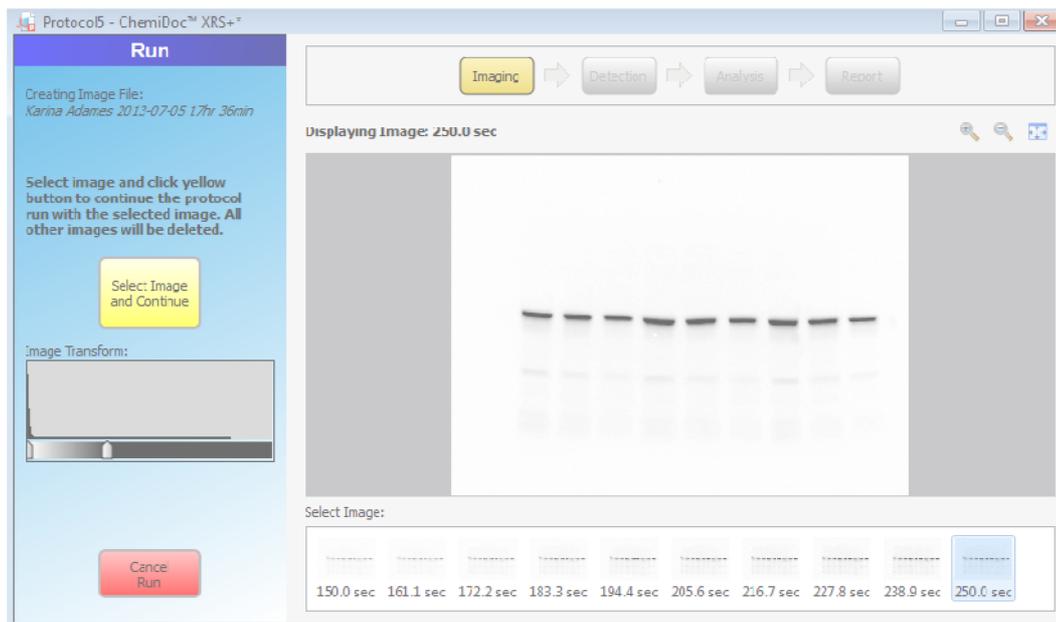
23. Aparecerá la pantalla de avance en la cual usted puede:

- Verificar el tiempo de acumulación de señal
- Observar las imágenes que se obtienen durante el periodo de tiempo establecido
- Seleccionar alguna de las imágenes y si coloca el cursor sobre una banda, monitorear el valor de intensidad de píxeles
- Ajustar el contraste de las imágenes. Con click derecho se activa la opción **Autotransform**
- Si considera que una imagen es la adecuada, seleccionarla y detener la captura de imágenes.



**NOTA:** Todas las opciones anteriores se encuentran activas mientras transcurre el tiempo de acumulación de señal y se capturan las imágenes.

24. Cuando se completa el tiempo establecido para acumulación de señal (en este ejemplo 250s), se muestran todas las imágenes capturadas y se activa el botón **Select Image and Continue**

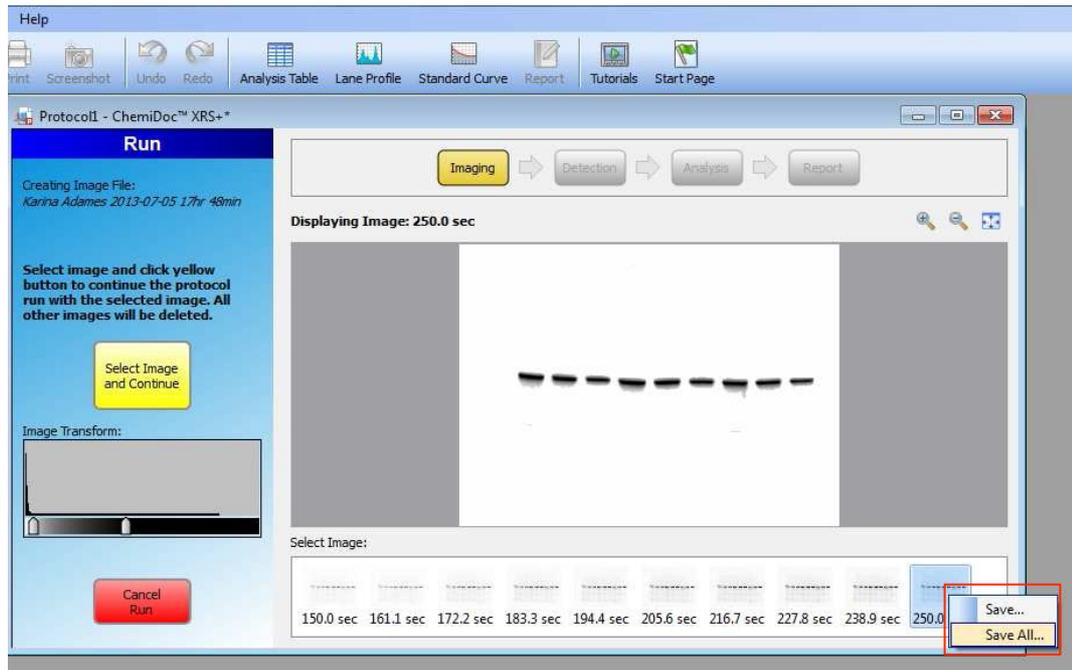


NOTA: Si presiona **Cancel Run**, se perderán todas las imágenes capturadas

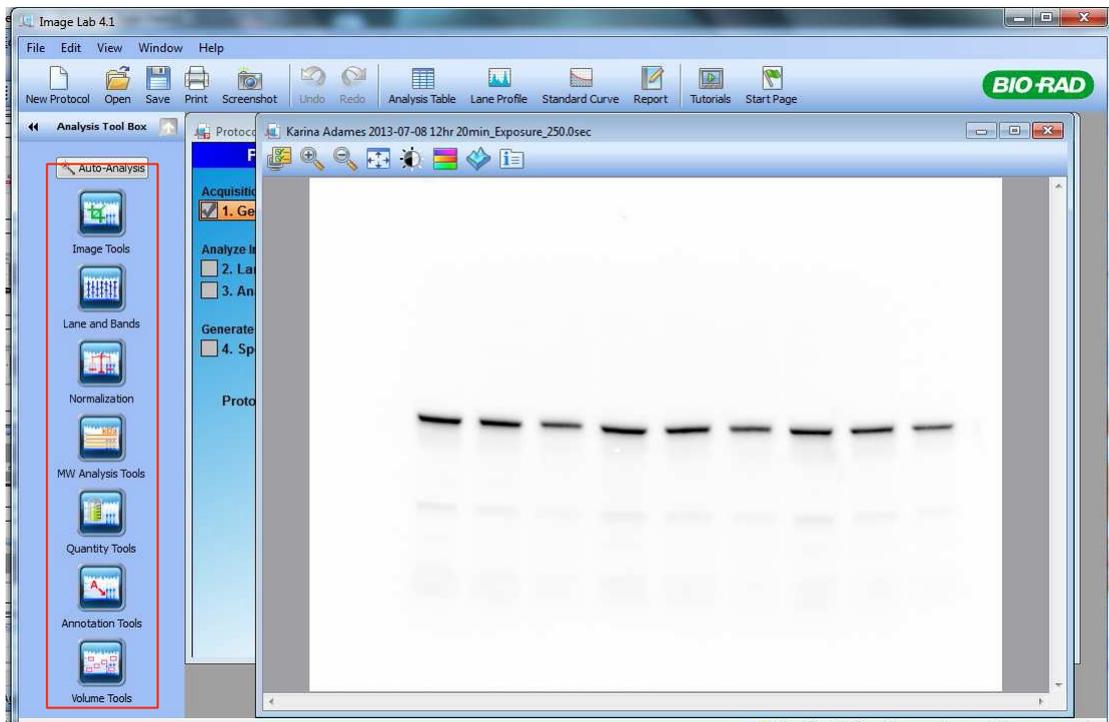
25. En este punto se tienen dos opciones:

- a. Seleccionar una sola imagen, que no presente zonas saturadas (puntos rojos) y presionar **Select Image and Continue**. En este proceso sólo se conservará la imagen seleccionada, el resto se eliminará
- b. Dar click derecho sobre alguna de las imágenes pequeñas y seleccionar **Save** para guardar esa imagen o **Save All** para guardar todas las imágenes tomadas. Las imágenes se guardaran con el tiempo de exposición indicado en el nombre del archivo

NOTA: Con la opción **Save**, puede guardar sólo las imágenes de interés, dando click derecho y guardando cada imagen a la vez.



26. Una vez seleccionada o guardada la imagen, puede comenzar el análisis con las opciones que aparecen a la izquierda de su pantalla.



27. Puede guardar el protocolo para utilizarlo en posteriores optimizaciones