

Quimioluminiscencia y Fluorescencia para el análisis de imágenes

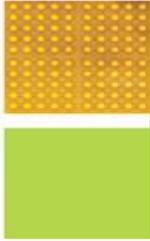


M en C Jorge Aguilar Rios
Especialista de producto
Bio-Rad México

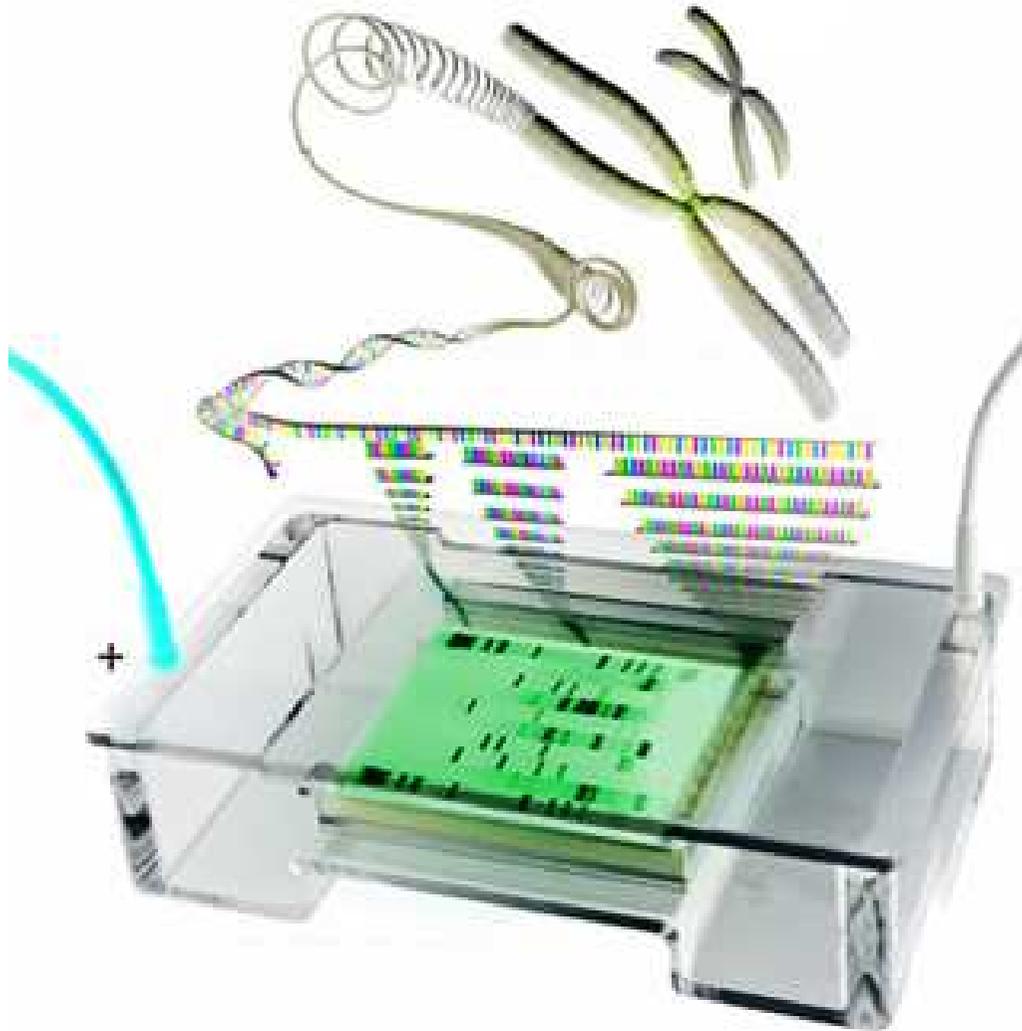


ChemiDoc™ MP Imaging System

BIO-RAD



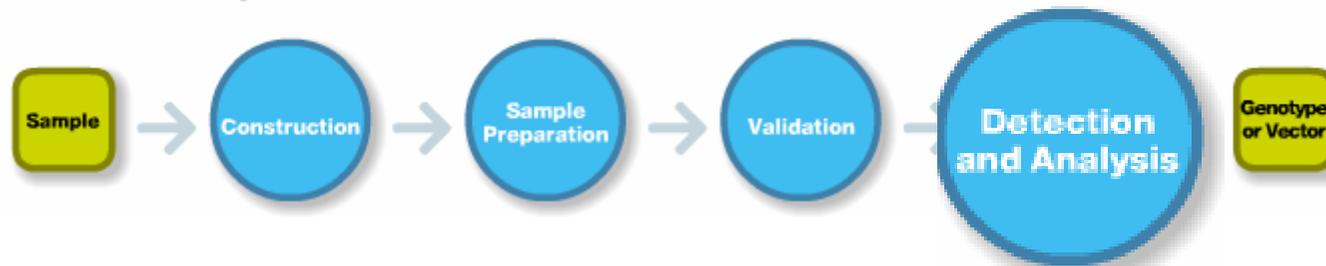
Análisis de biomoléculas



- DNA
- RNA
- Proteínas

Diagramas de trabajo

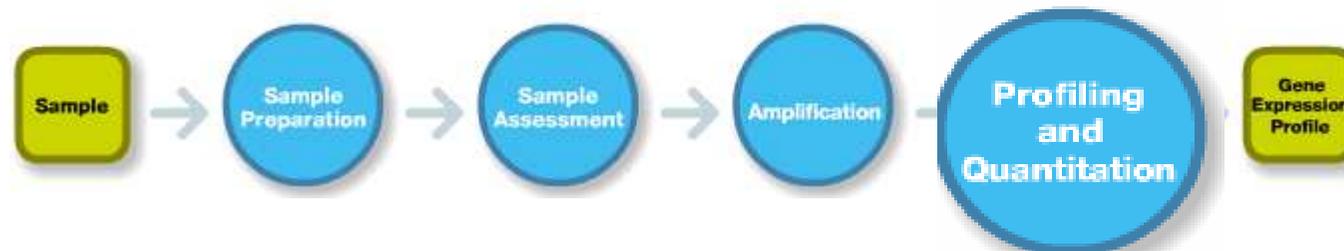
DNA Analysis



Gene Modulation



Gene Expression

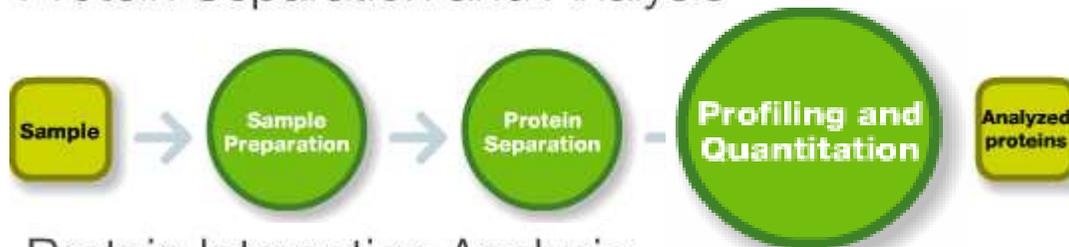


Diagramas de trabajo

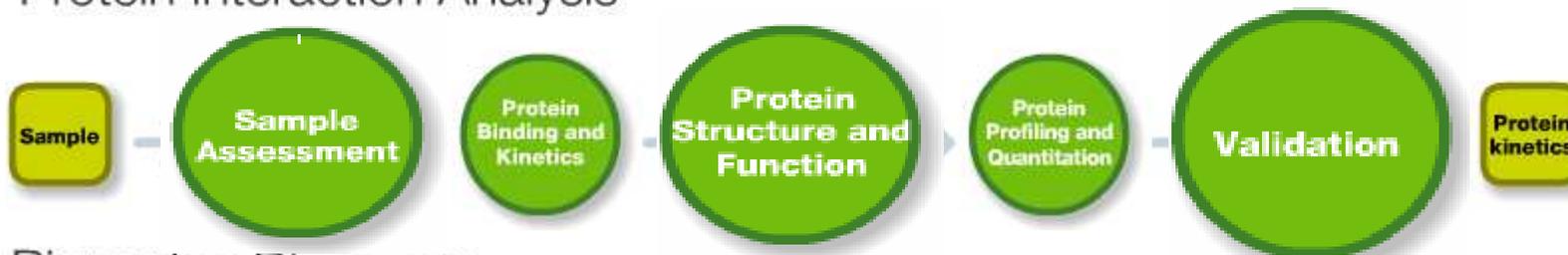
Protein Purification



Protein Separation and Analysis

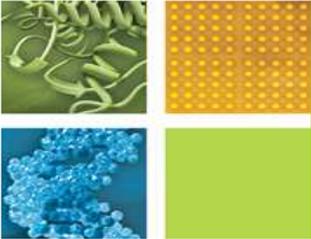


Protein Interaction Analysis



Biomarker Discovery





Fotodocumentadores



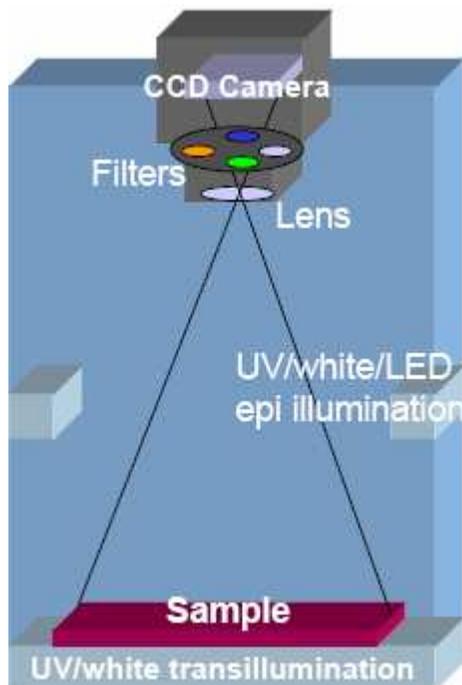
Equipo que permite la digitalización de todo tipo de geles de ADN, proteínas y transferencias blot.

Detección de fotones de luz para la documentación de la muestra y análisis.

Fotodocumentadores

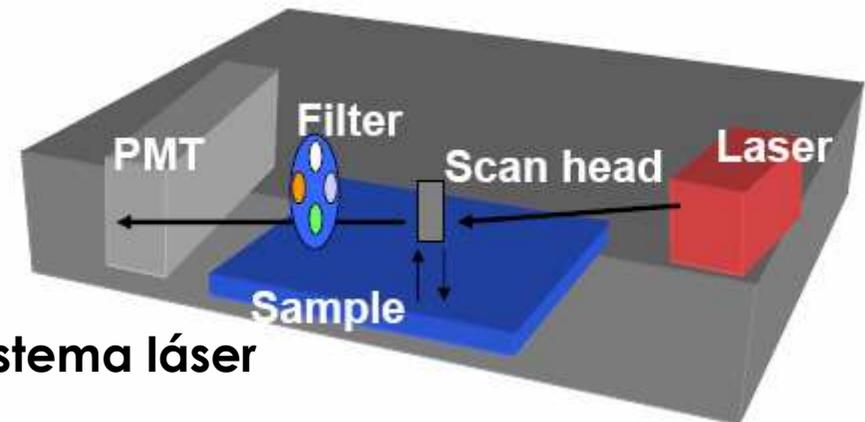
La señal que detecta el fotodocumentador, se debe sencillamente al tipo de detector que posee el equipo.

Así que una de las principales características de los fotodocumentadores es su sistema de detección.



Cámara CCD

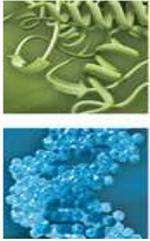
- GelDoc XR
- ChemiDoc XRS
- ChemiDoc MP
- GS800



Sistema láser

- Pharos FX
- Pharos FX Plus
- Personal Molecular Imager

BIO-RAD

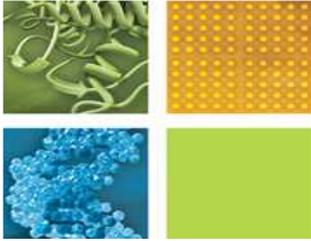


Cámara CCD

En la fotografía digital, la luz es registrada en diminutos puntos llamados pixeles que son parte de una pieza llamada "Dispositivo de Carga Acoplada" o CCD. Mientras mas pixeles contenga el CCD, la imagen será mas nítida y se podrán realizar copias de mayor tamaño.



BIO-RAD



Cámara CCD

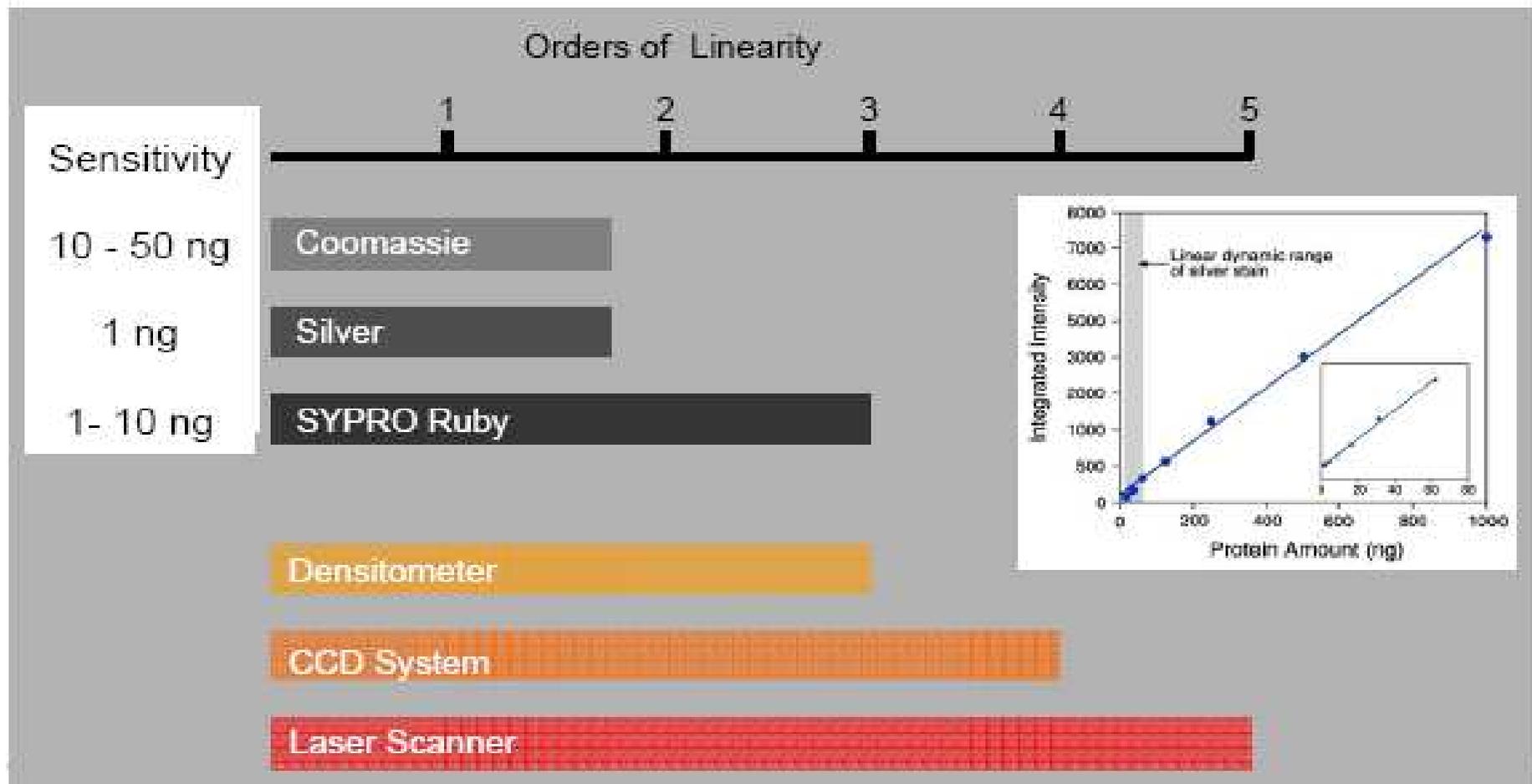
Ventajas de la cámara CCD

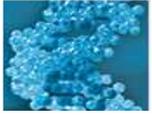
- Más rápida que la adquisición láser (campo completo en un solo tiempo)
- Mayor eficiencia cuántica para la detección de luz

Ventajas del sistema láser

- Excitación de longitud de onda específica
 - Mejor proporción entre señal/ruido
 - Fluoróforos pueden ser distinguidos por su longitud de onda de excitación

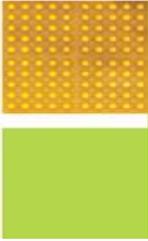
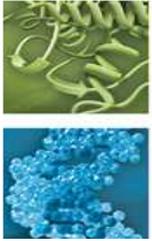
Rango dinámico





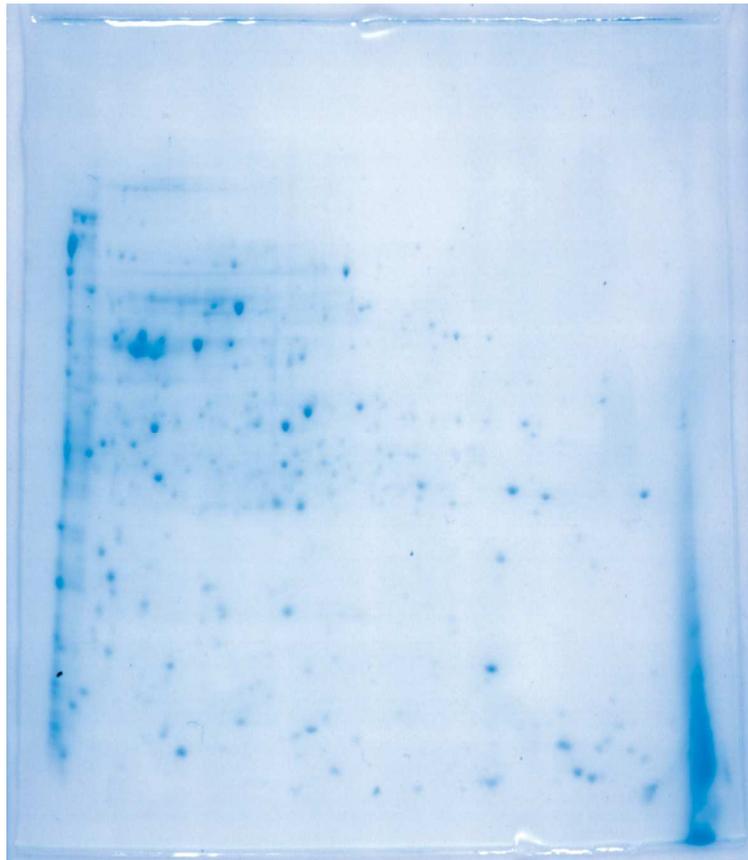
Tinción de geles

La tinción es un elemento muy importante del análisis ya que permite ver la muestra en el gel



Variedad de tinciones

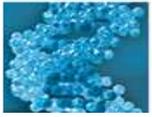
Colorimétricas



**Bio-Safe™ Coomassie stain
(visible)**

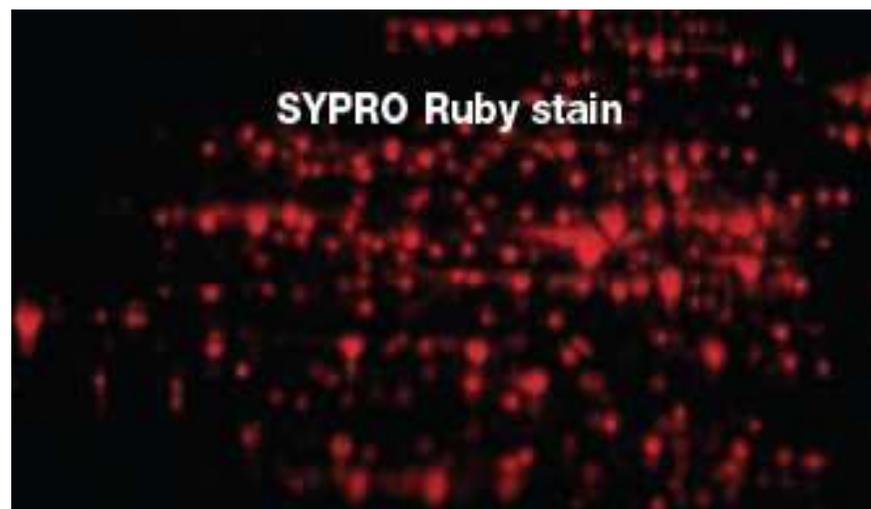
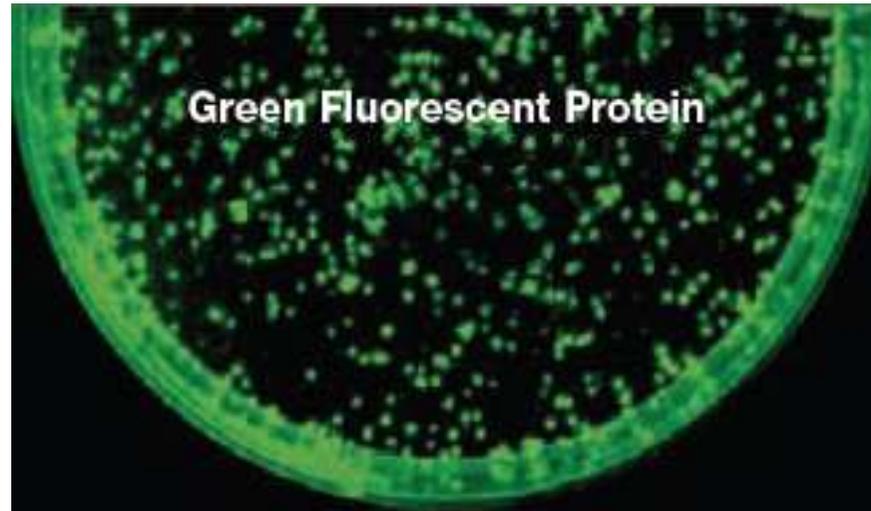


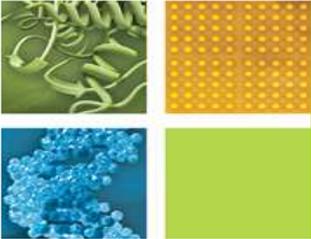
**Bio-Rad silver stain
(visible)**



Variedad de tinciones

Tinciones fluorescentes





Sensibilidad

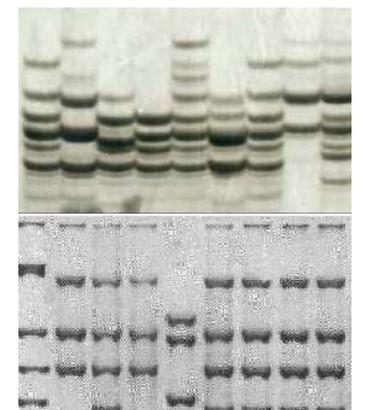
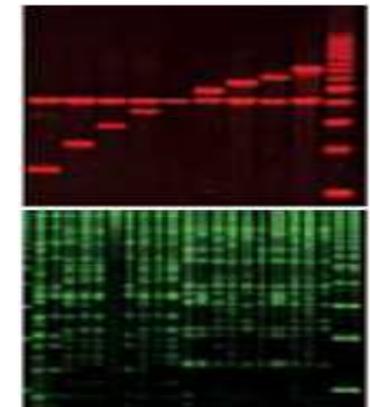
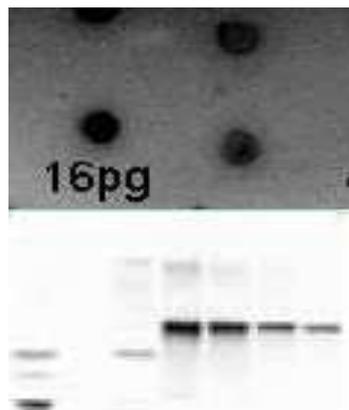
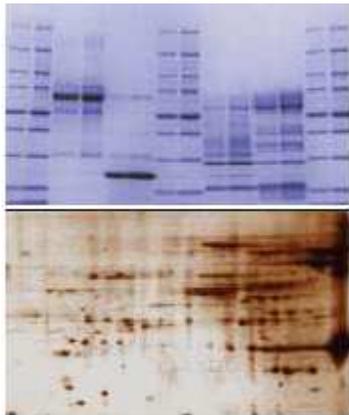
Gel Stain	Sensitivity	Process Time/ Steps
SYPRO Ruby protein gel stain	1 ng	3 hr/ 2 steps
Dodeca Silver Stain	1 ng	2 hr/ 7steps
Sliver Stain Plus stain	1 ng	1.5 hr/ 3 steps
Bio-Safe Coomassie Stain	10 ng	2.5 hr/ 3 steps
Coomassie Blue R-250	40 ng	2.5 hr/ 2 steps

A qué se refiere “sensibilidad” de un colorante?

A la detección de bajas concentraciones de muestra

Fotodocumentadores

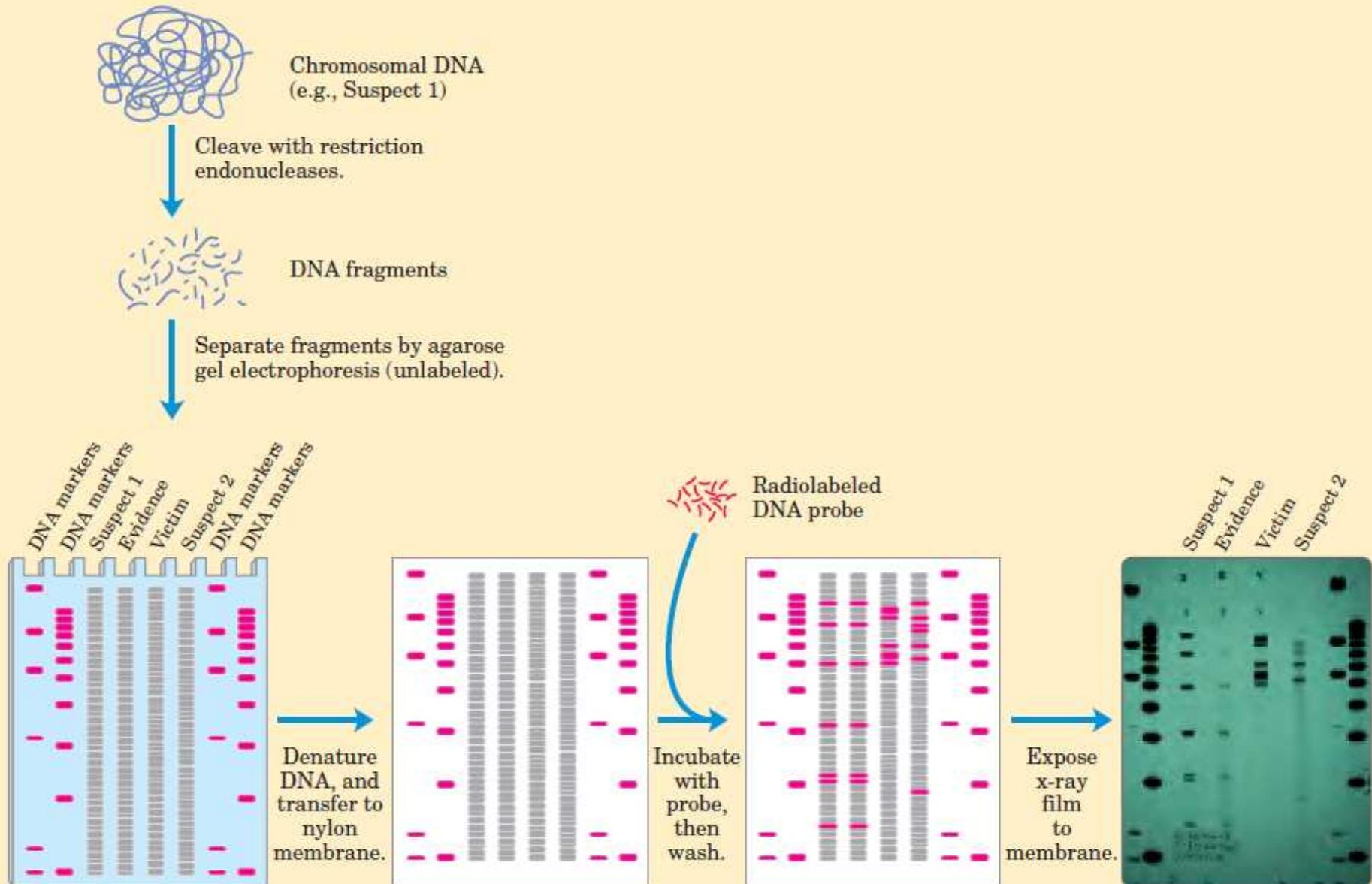
Método de detección

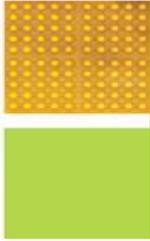
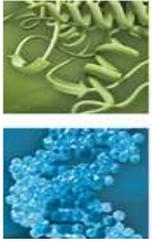


Modelo de fotodocumentador	Método de detección			
	Colorimétrico	Fluorescente	Quimioluminiscente	Isotópico
PharosFX Plus system	•	•	—	•
PharosFX system	•	•	—	—
Personal Molecular Imager (PMI) system	—	—	—	•
ChemiDoc XRS system	•	•	•	—
ChemiDoc MP system	•	•	•	—
Gel Doc XR system	•	•	—	—
GS-800 calibrated densitometer	•	—	—	—

BIO-RAD

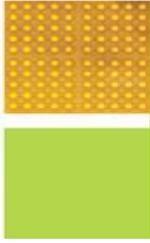
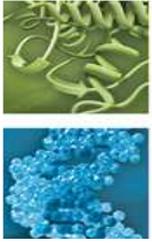
Análisis Southern Blot





Tecnología de vanguardia

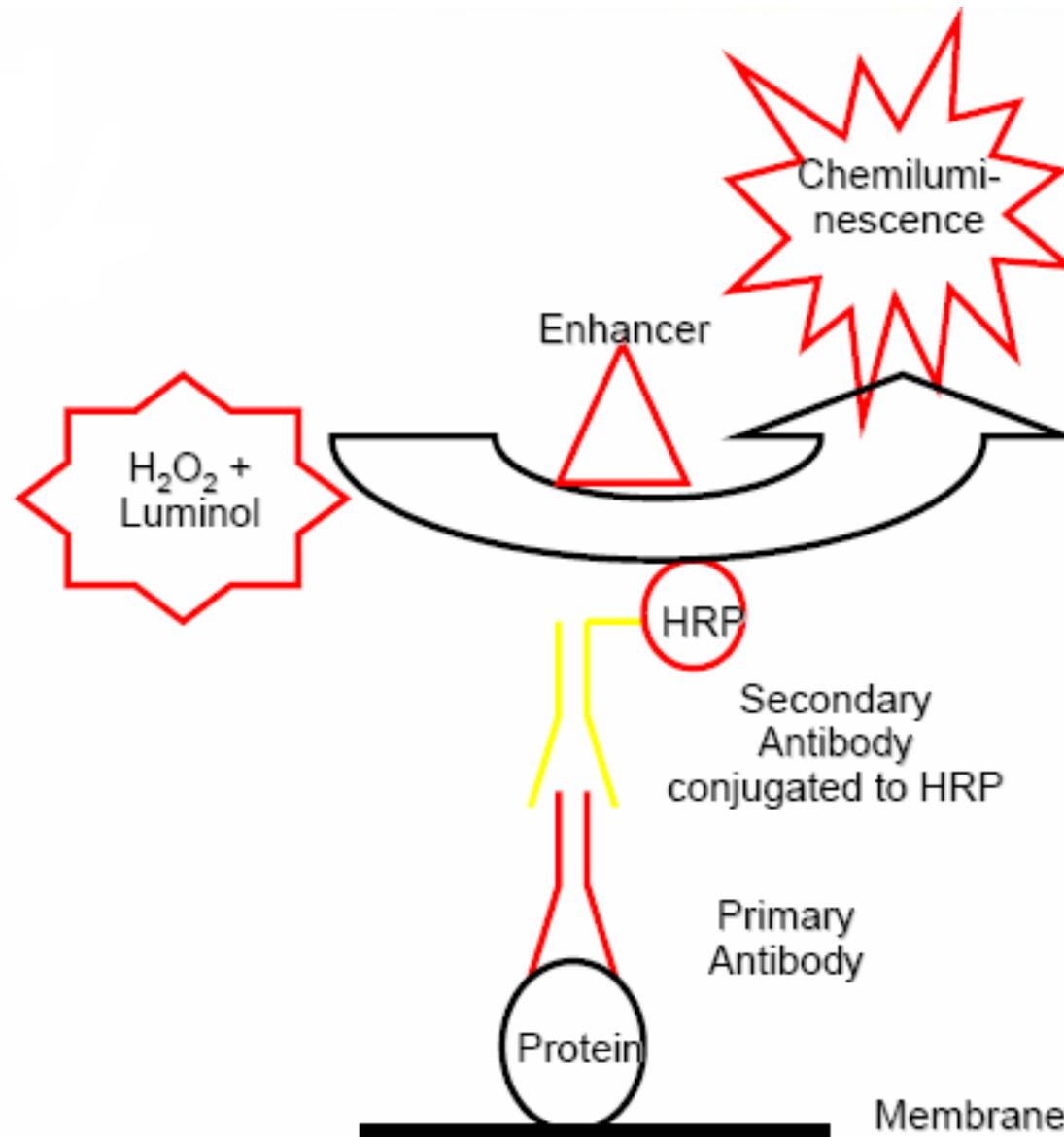
Se han desarrollado metodologías para el uso de inmunoensayos por quimioluminiscencia desplazando aquellas metodologías con isótopos radiactivos, haciendo hincapié que cada vez son más sencillas las determinaciones inmunológicas con esta tecnología de vanguardia, es un método de lectura que se basa en el principio de emisión luminosa a través de una reacción (Enzima-Sustrato).



Tecnología de vanguardia

Este sistema posee una gran rapidez (5 a 20 min.), especificidad y sensibilidad ya que con este método se puede determinar una reacción antígeno-anticuerpo aunque su concentración sea del orden de los picogramos, con un mínimo de desnaturalización.

Quimioluminiscencia



ChemiDoc MP de Bio-Rad



Imágenes de fluorescencia múltiplex. LED's multicolor optimizados para imágenes western blot cuantitativa

Transiluminador de luz UV, blanca y azul



Cámara CCD superenfriada con enfoque automático para todos los niveles de zoom. Sensibilidad y calidad de imagen sin precedentes.

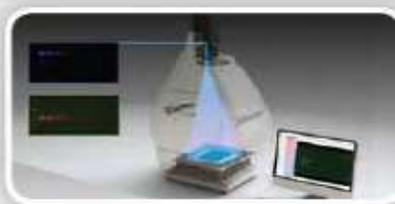
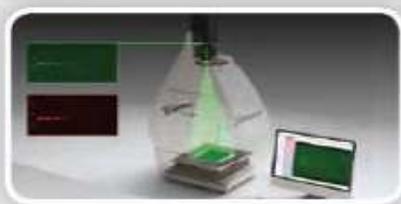
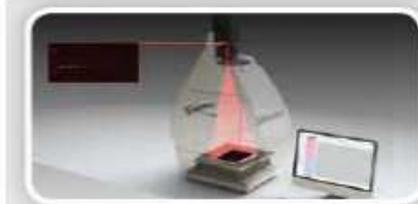
6 posiciones automatizadas de filtros

Teclado touch para posicionamiento del gel y escisión de bandas

Go to www.bio-rad.com/chemidocmp to see the complete ChemiDoc MP video.

Gran flexibilidad de aplicaciones

Trans UV	Epi Blue	Epi Green	Epi Red	Trans White	No Light
Ethidium Bromide	Coomassie Fluor Orange	Flamingo	Cy 5	Coomassie	Chemiluminescence
SYBR Green	Alexa 488	Krypton	Cy 5.5	Silver	
SYBR Safe	Dylight 488	Pro Q Diamond	Alexa 647		
SYBR Gold	Pro Q Emerald 488	Cy3	Alexa 680		
Gel Green	Q Dot 525	Alexa 546	Dylight 649		
Gel Red	Q Dot 605	Dylight 549	Dylight 680		
Fluorescein	Q Dot 625	Rhodamine	IRDye 680		
OliGreen	Q Dot 705				
PicoGreen					
GelStar					
Stain Free					
Oriole					
SYPRO Ruby					
Pro Q Emerald 300					



Sensibilidad superior: Film

Fig. 1. Sensitivity comparison of the ChemiDoc MP system versus X-ray film using blots of serial dilution of transferrin. A, the ChemiDoc imager delivers superior dynamic range and comparable limit of detection to film. B, a 10-second exposure on film reveals a more limited dynamic range than the ChemiDoc MP system. Saturated pixels are highlighted in red.

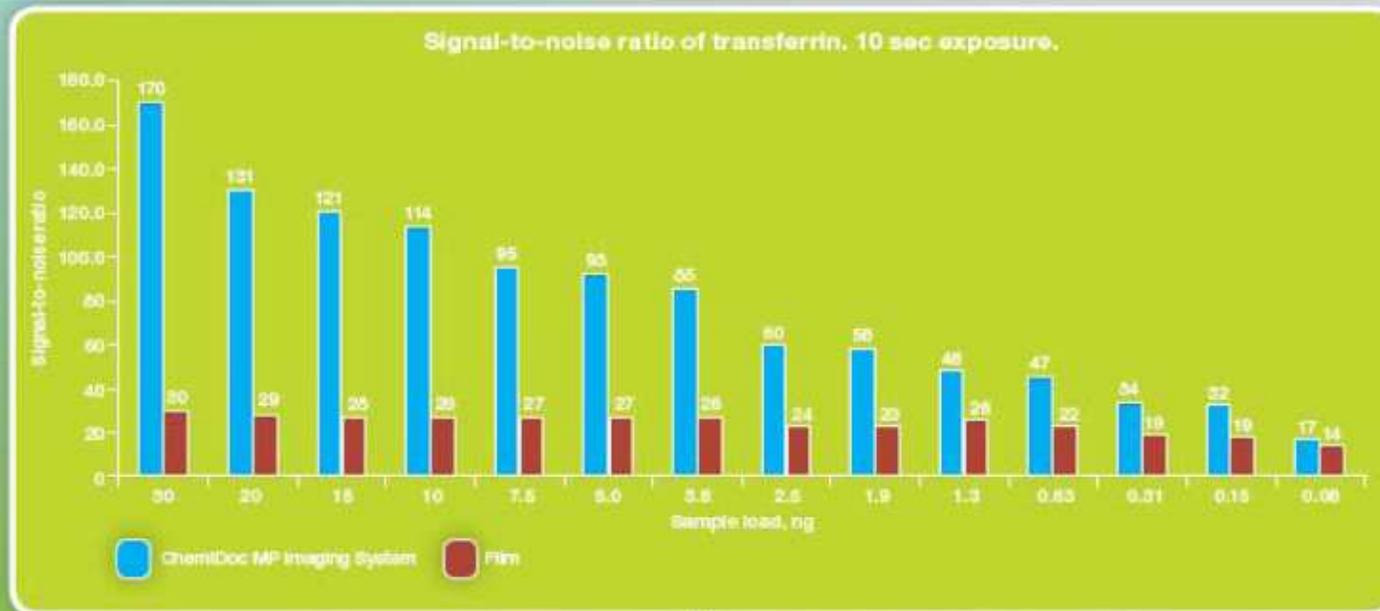
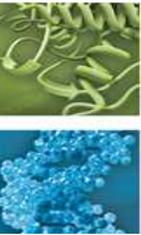


Fig. 1A

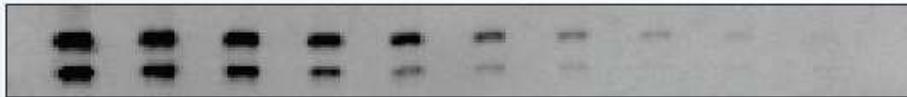
Fig. 1B



Barato



X-ray film (300 sec exposure)



ChemiDoc XRS+ system (60 sec exposure)

Cost of Using X-ray Film

	Annual \$
Film Processor (5-7K)	\$6,000
Film Processor Maintenance/Service*	4,700
X-ray Film (\$1-5, approx \$2.50 per exposure)**	6,000
	\$16,700

* M.K. Khoury et al., Acquisition of chemiluminescent signals from immunoblots with a digital single-lens reflex camera, *Anal. Biochem.* (2009), doi:10.1016/j.ab.2009.09.041

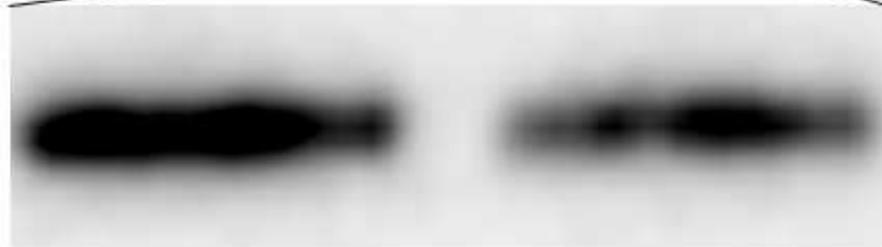
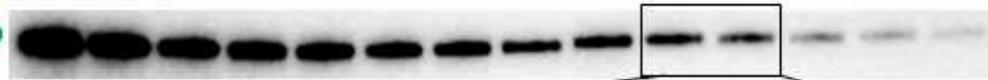
** Data above assumes 5 labs at 10 blots per week with avg. of 4 exposures per blot.





Calidad excepcional de la imagen

ChemiDoc MP



Fluorchem M

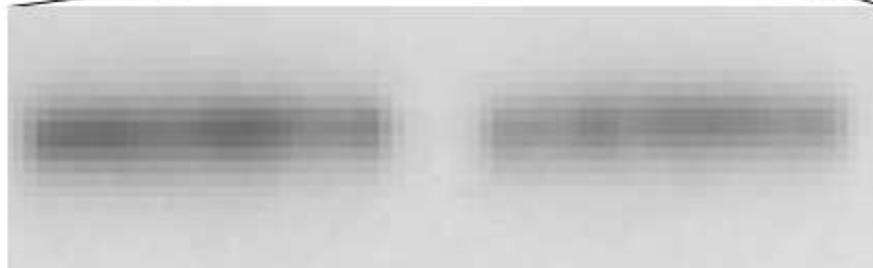
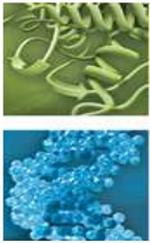
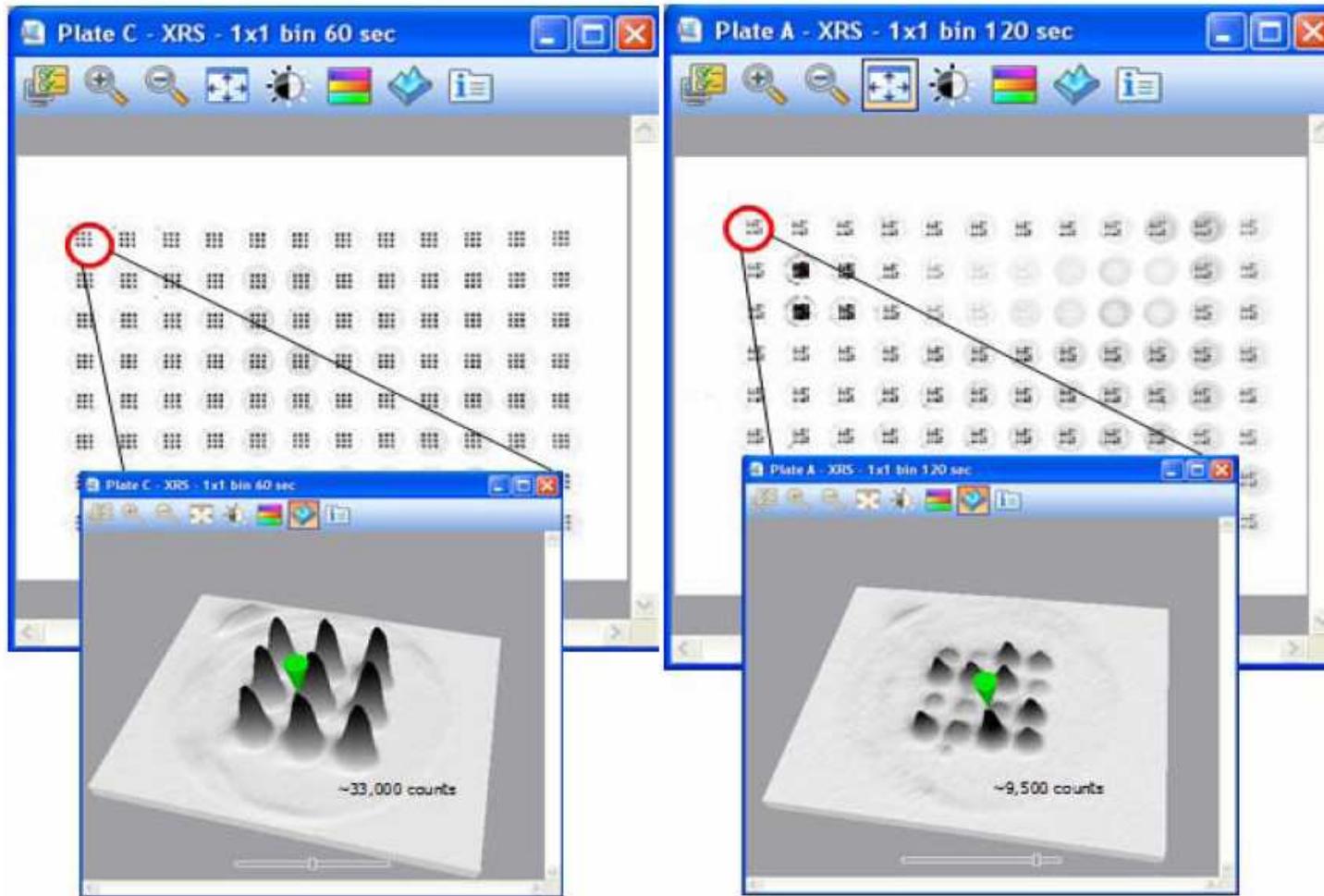


Fig 4. Superior chemi sensitivity on blot. Same blot imaged on Fluorchem M and MP. Equivalent exposure times show far inferior sensitivity with Fluorchem M. Note pixilation on zoomed Fluorchem M image.



Calidad excepcional de la imagen

Quansys Chemiluminescent ELISA Arrays:



•9 distinct capture antibodies bound to each well of a 96-well plate.

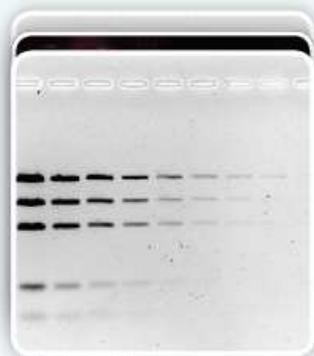
•16 distinct capture antibodies bound to each well of a 96-well plate.



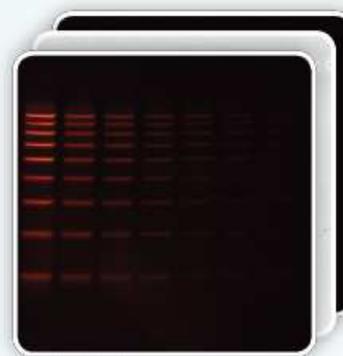
Versatiliidad de aplicaciones



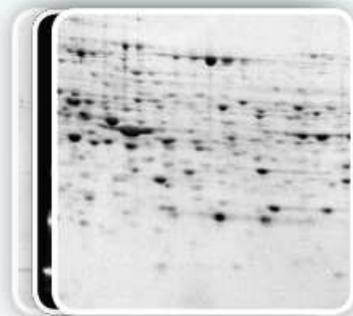
DIGE Criterion™ gel



EtBr-stained wide
mini ReadyAgarose™ gel



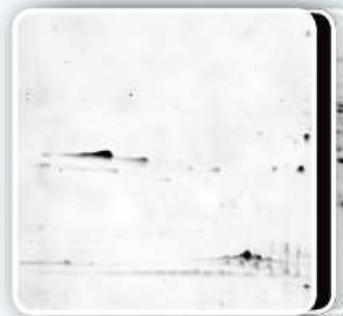
GelRed-stained
mini ReadyAgarose gel



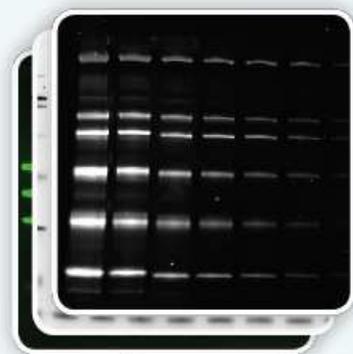
Silver-stained 2-D Criterion gel



Coomassie-stained
Mini-PROTEAN® TGX™ gel



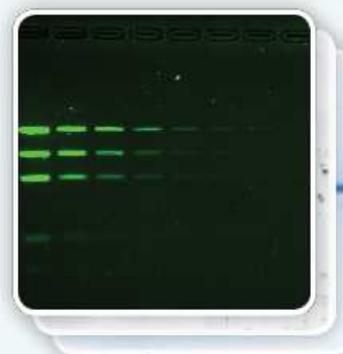
SYPRO Ruby-stained
large-format 2-D gel



Flamingo™-stained
Mini-PROTEAN TGX gel



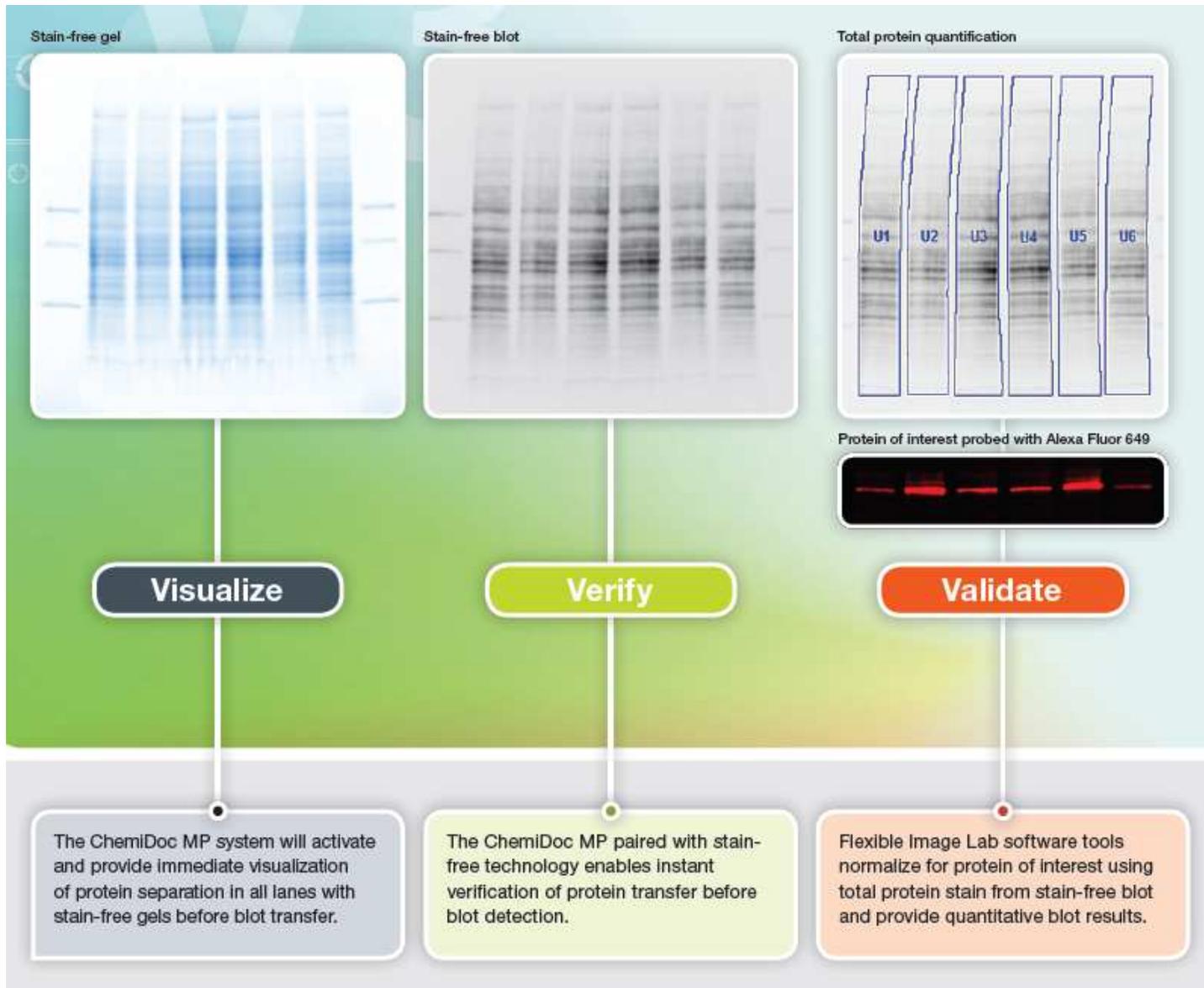
Criterion Stain Free™ TGX gel



SYBR® Green-stained wide mini
ReadyAgarose gel

BIO-RAD

Stain-free activado



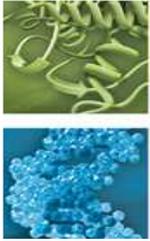
Fácil de usar



Image Lab 4.0



BIO-RAD



Software amigable

- Software de nueva generación, intuitivo y muy amigable
- Permite protocolos completamente automatizados para Gel Doc XR+, ChemiDoc XRS+ y ChemiDoc MP
- No requiere licencia HASP
 - No es protegido por password
- Fácil de usar e intuitivo
 - Resultados más rápidos comparados con Quantity One
 - Análisis más confiables
 - Protocolo automatizado para fotodocumentación y análisis
 - Flat fielding con placa de referencia
 - Calibración de foco
 - Funciones „undo/redo“



Image Lab v. 4.0: amigable

Un canal o
múltiples canales

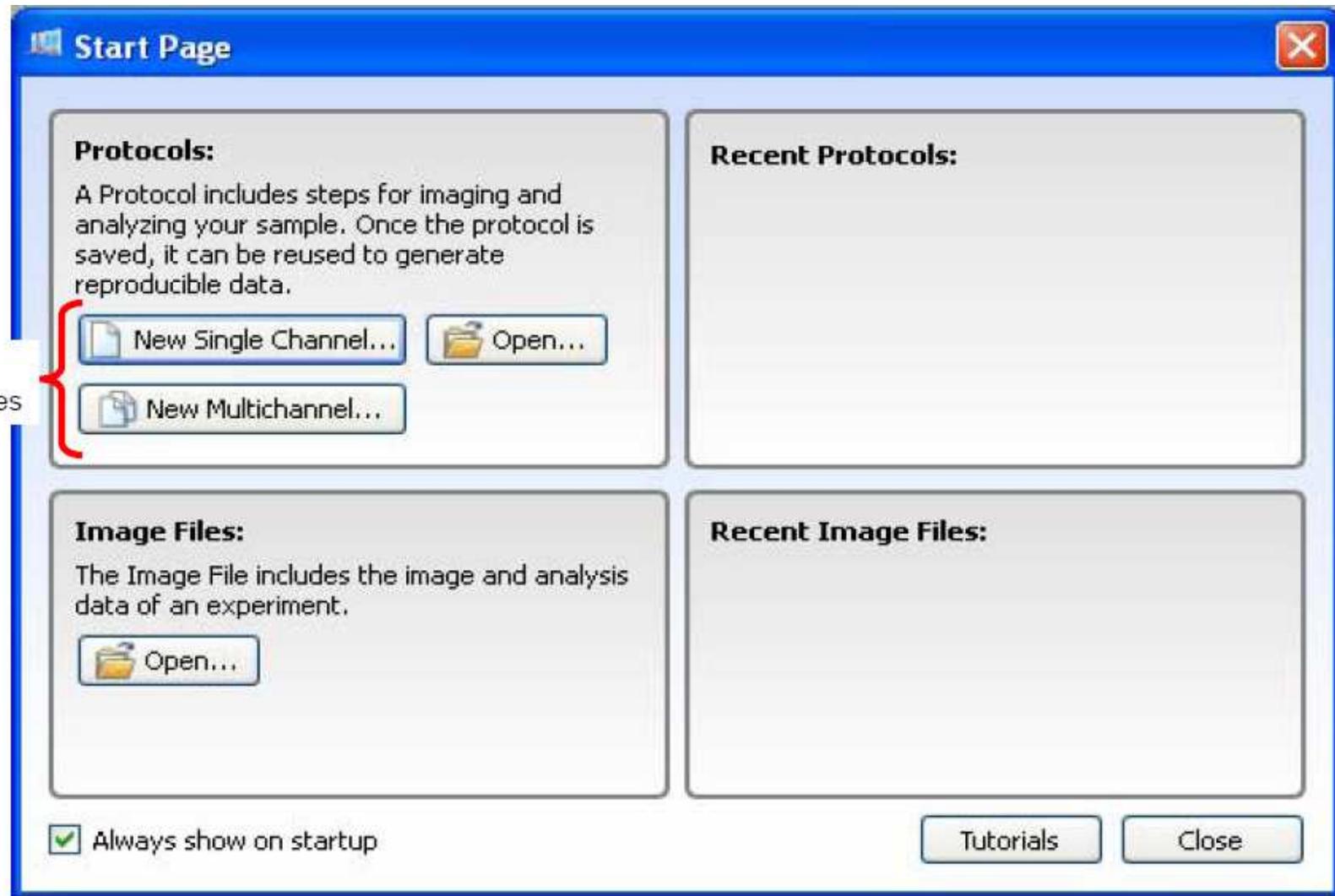


Image Lab v. 4.0: Un canal

The screenshot displays the 'Protocol Setup' window for 'Protocol1 - ChemiDoc™ MP'. The '1. Gel Imaging' step is selected and highlighted in orange. The interface is divided into several sections:

- Acquisition Settings:** '1. Gel Imaging' is checked.
- Analyze Image:** '2. Lane And Band Detection' and '3. Analyze Molecular Weight' are unchecked.
- Generate Output:** '4. Specify Output' is unchecked.
- Protocol Summary:** Includes 'Position Gel' and 'Run Protocol' buttons.
- 1. Gel Imaging Configuration:**
 - Application:** A dropdown menu is open, showing options: Nucleic Acid Gels, Protein Gels, Blots (selected), and Custom. A secondary list is visible for 'Blots', including: Chemi, Chemi Hi Sensitivity, Chemi Hi Resolution, Stain Free Blot, Colorimetric, Cy2, Cy3, Cy5, Cy5.5, Alexa 488, Alexa 546, Alexa 647, Alexa 680, DyLight 488, DyLight 549, DyLight 650, DyLight 680, IRDye 680, SYPRO Ruby, Rhodamine, Fluorescein, and Qdots 525.
 - Light:** A dropdown menu is set to 'Chemi'.
 - Imaging Area:** 'Select gel type:' is set to 'Bio-...' and 'Enter image area:' is '9.0'.
 - Image Exposure:** 'The software will autom...' is selected.
 - Display Options:** 'Highlight saturated pixel' is checked.
 - Other settings:** 'Intense Bands' is selected for 'e time for' and 'Gray' is selected for 'e Color'.

Image Lab v. 4.0: Multi-canal

Protocol2 - ChemiDoc™ MP

Protocol Setup

Acquisition Settings

1. Gel Imaging

Generate Output

2. Specify Output

Protocol Summary

Position Gel

Run Protocol

1. Gel Imaging

Configure at least two channels:

Channel 1 Channel 2 Channel 3

Configure... Configure... Configure...

Imaging Area

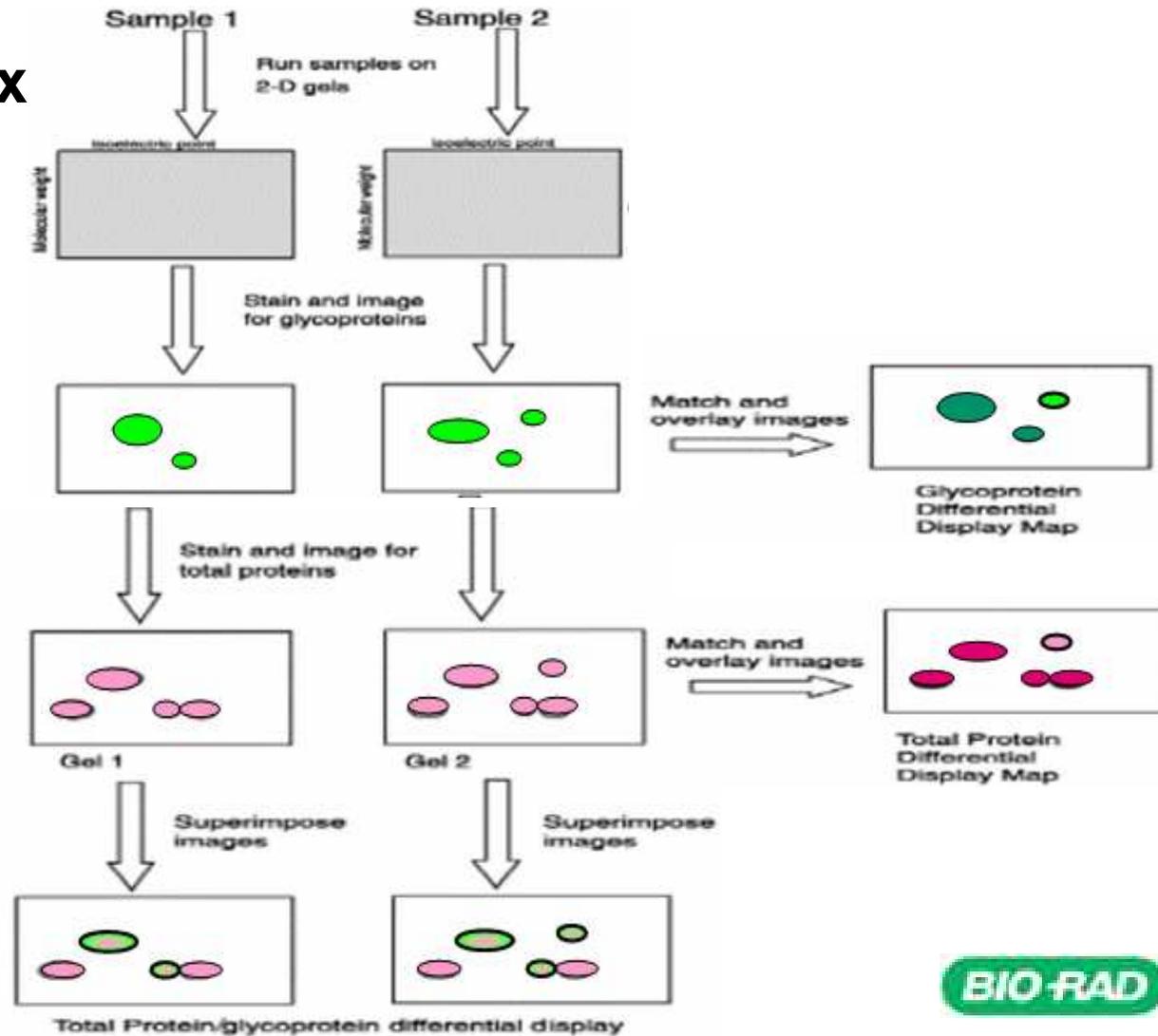
Select gel type: Bio-Rad Ready Gel

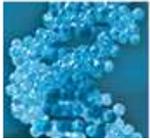
Enter image area: 9.0 x 6.7 cm (WxL)



APLICACIONES: Proteómica Múltiplex

Proteómica Múltiplex



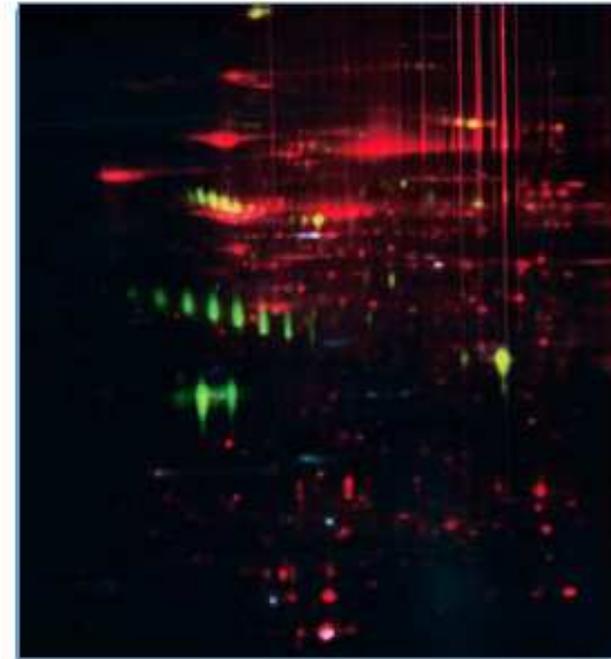
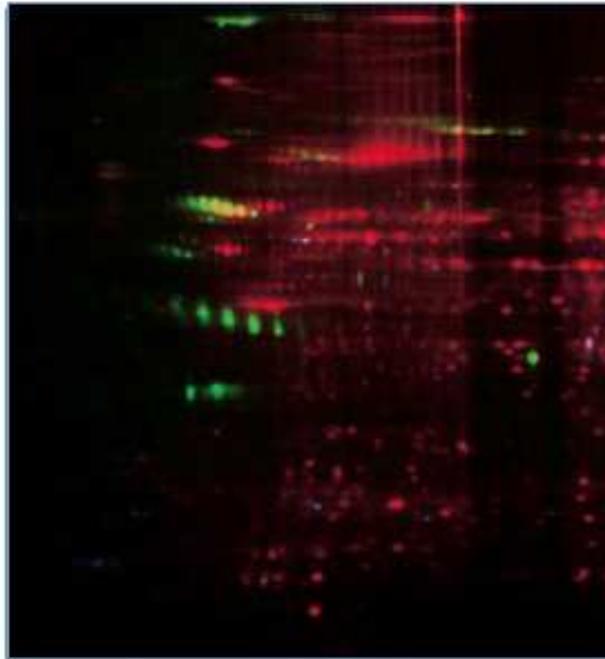


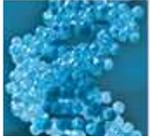
Aplicaciones Múltiplex

Comparative total protein expression

Phosphoproteomics

Glycoproteomics





APLICACIONES: Proteómica Múltiple



ProQ Diamond

Rojo proteína total
Azul Fosfoproteína

BIO-RAD

Image Lab v. 4.0: Multi-canal

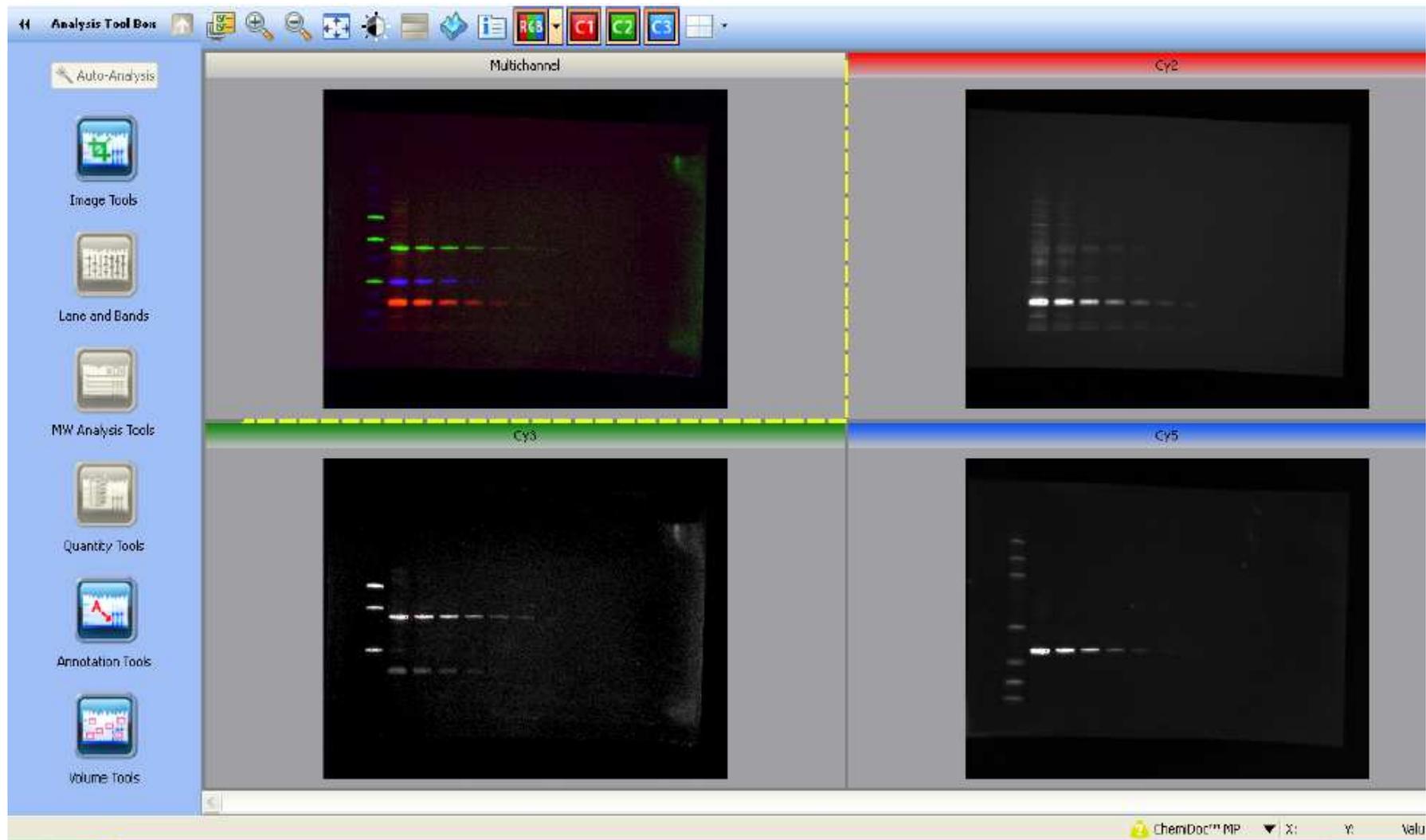
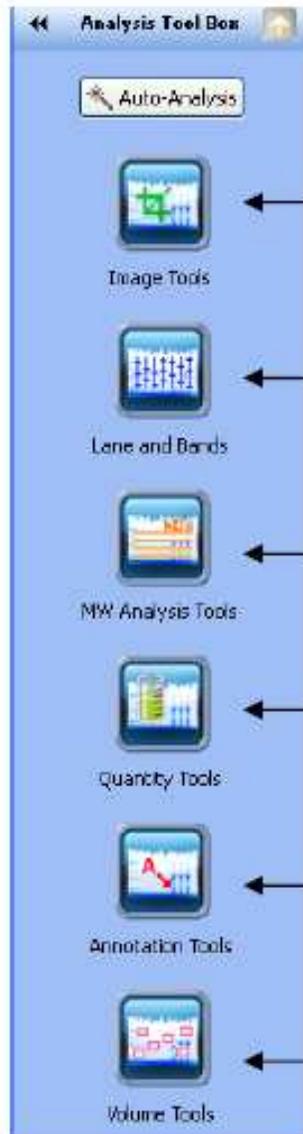


Image Lab v. 4.0: Análisis



← Permite modificar la imagen (brillo, contraste, visor 3-D, zoom, etc)

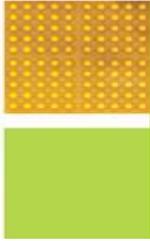
← Permite re-definir los parámetros para detección de carriles y bandas

← Permite re-definir los parámetros del análisis de pesos moleculares

← Permite hacer análisis de cuantificación de bandas (ver paso 16)

← Permite escribir letreros sobre la imagen

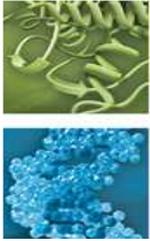
← Permite hacer análisis de volumen de bandas



APLICACIONES

Aplicaciones muy variadas en Biología Molecular:

Revelado directo por quimioluminiscencia de Southern, Northern y Western. Adquisición de imágenes y análisis de geles de ADN, ARN y proteínas. Análisis de volumen, pesos moleculares, recuento de colonias, filogenia (Quantity One), VNTR, dot blots, microplacas, macroarrays de ADN, etc.



Adquisición y análisis de Imágenes

ChemiDoc MP

M en C Jorge Aguilar Rios
Especialista de productos
Bio-Rad México

jorge_aguilar@bio-rad.co

