

Condiciones de recepción de Solicitudes de Ensayo y Muestras

La entrada de muestra se gestiona mediante un formulario de ensayo que pasa a introducirse en el registro de entrada adjudicándole un número de orden.

Las peticiones se irán ejecutando de acuerdo al número de orden.

Se admitirán todas solicitudes de un mismo usuario/proyecto para un mismo equipo de forma consecutiva.

Los ensayos para un mismo equipo de un mismo usuario/proyecto no podrán superar las dos semanas de ocupación alternando usuarios/proyectos cada dos meses para poder volver a utilizar la equipación.¹

Es necesario rellenar dicha solicitud de ensayo para todo análisis que no se realice en autoservicio (para los análisis en autoservicio se realizará reserva del correspondiente equipo mediante la aplicación *Recursos de Investigación* que aparece en la página de intranet del Hospital. Ver apartado “Equipos en régimen de autoservicio”). Con objeto de obtener los resultados en el menor tiempo posible se recomienda no incorporar en una misma solicitud muestras para las que se soliciten ensayos diferentes.

El usuario debe rellenar **todos** los campos de la solicitud de ensayo que conozca, con objeto de obtener el mejor resultado posible.

Las muestras deben cumplir los siguientes requisitos:

La muestra se entregará preferentemente sin disolver e indicando la cantidad que se aporta, puesto que para algunos ensayos la concentración es crítica.

En caso de que la muestra se entregue en disolución, es necesario indicar en la solicitud la composición exacta del disolvente.

La preparación de la muestra es determinante para obtener un buen resultado; y es diferente según el tipo de análisis que se solicite.

Los disolventes volátiles son los más adecuados para realizar un ensayo por espectrometría de masas.

¹ En el caso de los análisis por MRM, cada grupo podrá realizar solicitudes por un máximo de 2 semanas de uso (equipo y personal incluidos) cada dos meses. Será posible realizar dos (o más) solicitudes de ensayo diferentes (tanto de optimización como de análisis cuantitativo) de forma consecutiva, siempre que la suma de todas no supere las dos semanas de duración. La limitación de dos semanas cada dos meses debe tenerse en cuenta a la hora de realizar la(s) solicitud(es) y no implica que deban ser consecutivas (podrán serlo o no, en función de las indicaciones del usuario al realizar la solicitud).

En el caso de la electroforesis bidimensional, es conveniente evitar la presencia de elementos que puedan interferir en el proceso de isoelectroenfoque, como sales, lípidos, etc. Es aconsejable tener el extracto proteico en un intervalo de concentración entre 1 y 10mg/ml. En cualquier caso, se recomienda consultar con el servicio antes de enviar las muestras.

Cuando la muestra sea inestable o bio-peligrosa es necesario ponerse en contacto con el laboratorio para establecer las condiciones del análisis de la misma.

Es importante tener especial cuidado con la limpieza del material utilizado durante todo el proceso de obtención de la muestra para su posterior análisis por espectrometría de masas, ya que se deben evitar las contaminaciones de la muestra con otras proteínas, fundamentalmente las queratinas que se encuentran en pelo, piel, etc. La presencia de estas proteínas contaminantes en la muestra puede dificultar o incluso llegar a impedir la identificación de las proteínas propias de nuestra muestra.

Equipos en régimen de autoservicio

Equipos de purificación y separación de proteínas y ácidos nucleicos:

Experion

ÄktaPrime

Equipos de electroforesis:

IPGphor3 (isoelectroenfoque), Ettan DALT Six (SDS-PAGE 24cm), Hoeffer SE-600 (SDS-PAGE 16cm).

Análisis de imagen de geles DIGE

Typhoon (Consultar con el personal técnico)

DeCyder (Programa de análisis de expresión diferencial)

Equipo para estudios de interacciones proteína-proteína o proteína –metabolito:

Prote On (Consultar con el personal técnico)

A la hora de utilizar estos equipos, el usuario deberá realizar una reserva mediante la aplicación *Recursos de Investigación* que aparece en la página de intranet del Hospital.

<http://aplicacioneshnp.sescam.jclm.es/recursosinvest/day.php?day=17&month=10&year=2018>

Para la utilización en modo autoservicio de los equipos de electroforesis (isoelectroenfoque, geles 2D), el usuario deberá ponerse en contacto con el personal del laboratorio que le formalizará la reserva (día/hora). La manipulación del material propiedad del servicio deberá realizarse siempre dentro del laboratorio y en ningún caso podrá llevarse a otros laboratorios. Los reactivos y material fungible necesarios para el uso de dicha instrumentación los deberá aportar el usuario. Los cristales de baja fluorescencia de la Unidad sólo podrán utilizarse en autoservicio para experimentos DIGE.

Para la utilización de cualquier equipo en autoservicio, los usuarios deberán recibir una formación práctica y tener el visto bueno del personal del servicio, que llevará un registro de los usuarios autorizados a utilizar cada equipo. El tiempo necesario para impartir la formación práctica mínima será determinado por el personal del servicio en función de la técnica y de la evolución mostrada por cada usuario. Para recibir la formación práctica mínima, será necesario reservar horas de asistencia de personal (mediante comunicación con el personal técnico). El personal del servicio podrá suspender la autorización cuando detecte un uso inadecuado del material por parte de algún usuario.

Todos los equipos que no están incluidos en este apartado no podrán utilizarse en autoservicio, debiendo rellenar una solicitud para que el personal del servicio realice el análisis solicitado, o reservar la correspondiente asistencia de personal en el caso de la adquisición de imágenes fluorescentes.

Cuando exista reserva para utilizar equipos en autoservicio, los usuarios podrán acceder al laboratorio de proteómica fuera del horario del personal, solicitando el acceso de entrada en el control de celadores. Sólo podrán hacerlo cuando exista reserva y cuando dicha reserva no implique la necesidad de asistencia técnica.

Condiciones de entrega de Resultados y Muestras

Según las opciones que se hayan indicado al rellenar la solicitud de ensayo se entregarán los resultados del siguiente modo:

Los resultados se entregarán en formato electrónico. El usuario recibirá un correo electrónico donde se le indicará la ruta de acceso a sus datos y el código asignado. Los datos se almacenarán en una carpeta perteneciente a cada grupo, e irán etiquetados con el ID de la muestra.

En el caso de MS, los resultados contendrán un gráfico denominado **espectro de masas** en formato .pdf, donde se representan en el eje de abscisas la relación **masa/carga** de los iones detectados y en el eje de ordenadas la abundancia ó intensidad de estos iones. En determinadas ocasiones es posible entregar el fichero electrónico de datos, siempre y cuando el usuario disponga de un programa adecuado para manipularlo.

En las identificaciones de proteínas se acompañará del informe del motor/es de búsqueda utilizado/s.

Si el usuario quisiera poseer el listado de masas para realizar él manualmente las búsquedas en otro software libres en la red, deberá indicarlo en la solicitud de ensayo.

En los análisis cuantitativos mediante espectrometría de masas (SRM/MRM) se entregará un archivo Excel con las áreas de los picos cromatográficos de las transiciones monitorizadas (con una hoja de cálculo por carrera) y otro con los parámetros de adquisición para cada transición monitorizada.

En los análisis de expresión diferencial en gel (DIGE) realizados con el software DeCyder, se entregarán dos carpetas, una con los parámetros de la detección de spots realizada en el módulo de análisis diferencial in-gel (Differential In-gel Analysis, "DIA") y otra con los resultados obtenidos en el módulo de análisis de variaciones biológicas (Biological Variation Analysis, "BVA"). La carpeta "DIA" contendrá un archivo pdf para cada gel incluido en el experimento, con los parámetros de la detección de spots. La carpeta "BVA" contendrá dos archivos Excel con tres hojas de cálculo cada uno (la primera con una tabla descriptiva del experimento realizado, la segunda con los datos normalizados de cada spot en cada gel y la última con los análisis estadísticos realizados para cada spot). Uno de los archivos Excel contendrá los datos para todos los spots analizados y el otro, a modo de resumen, contendrá sólo la información relativa a los spots de interés (incluirá en el nombre del archivo las siglas "POI", Protein Of Interest). Además, se incluirán tres archivos pdf, uno con las imágenes de los geles standard (Cy2), otro con la imagen del gel master con los números de los spots de interés señalados y un tercero con las tablas del módulo BVA.

Todos los análisis proteómicos se entregarán con el correspondiente informe MIAPE, donde se incluye la información mínima sobre el experimento proteómico.

Cuando se solicite una interpretación o asesoramiento de los resultados se entregará un informe de ensayo adjunto a los resultados anteriormente descritos, una hoja adicional a modo de carátula donde se recogen los datos relativos a la identificación de la solicitud de ensayo, referencia de las muestras, tipos, métodos y referencias de los ensayos.

La/s muestra/s después de ser analizadas, permanecerán almacenadas en el laboratorio durante un mes. Transcurrido ese tiempo sin ninguna indicación por parte del usuario, el personal del laboratorio las gestionará como residuos

Comunicación con el Laboratorio

Los usuarios pueden ponerse en contacto con el laboratorio para solicitar información, en la extensión 47823 o mediante correo electrónico: unidadproteomica.hnp@sescam.jccm.es

Horario del Servicio

El Servicio estará disponible para atención al usuario de lunes a jueves en horario de 9h a 17h y viernes de 9h a 15h, salvo circunstancias excepcionales. Si fuera necesario utilizarlo fuera de este horario, se deberá consultar con el personal del servicio con suficiente antelación.