

Anche tu utilizzi lastre (X-Ray Film) in Chemiluminescenza?

Con ALLIANCE UVItec di Eppendorf Italia risparmi tempo e materiale di consumo, ottieni immagini quantificabili e ci guadagni anche in salute.

Dimentica la sviluppatrice o peggio, lo sviluppo manuale, lo stress della camera oscura con i suoi antipatici prodotti chimici, adesso in poche mosse, direttamente sul bancone di lavoro, sarai in grado di:

1. Velocizzare il tuo protocollo;
2. Ottenere risultati quantitativi affidabili;
3. Elaborare i dati per pubblicazioni e poster con grafici e immagini tridimensionali di sicura efficacia (con il software di analisi in dotazione).

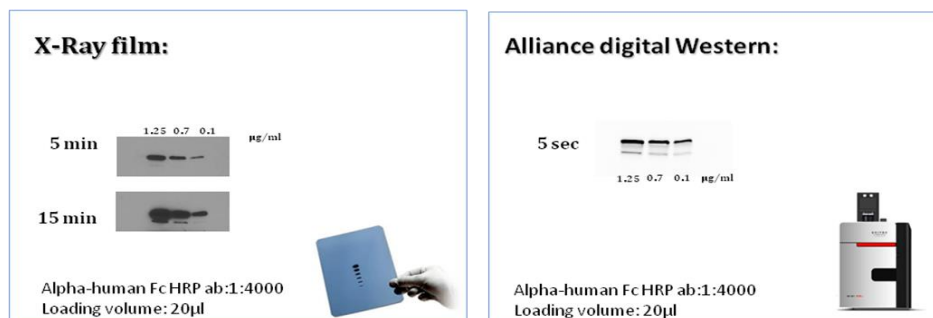
Se lavori con proteine e ti occupi di Western Blot con rivelazione in chemiluminescenza, è probabile tu sia costretto a sviluppare le tue lastre con una sviluppatrice o nel peggiore dei casi, manualmente in camera oscura perdendo molto tempo e non sempre con soddisfazione. E non trascuriamo il rischio di respirare reagenti di sviluppo e fissaggio che non gioveranno di sicuro alla tua salute.

Le lastre hanno diversi svantaggi:

- Mancanza di linearità;
- Mancanza di Quantificazione;
- Elevato *background*;
- Sovra-saturazione delle bande intense per poter vedere le bande deboli;
- Hanno un costo non indifferente e occupano spazio;
- Necessitano di camera oscura;
- Sei a contatto con soluzioni chimiche;
- E' un processo non immediato per non dire lento!

Ma tutto questo adesso può cambiare !!!

ALLIANCE UVItec, distribuito da Eppendorf Srl, ti risolverà tutti questi problemi e ti farà risparmiare tempo e denaro. Inoltre potrai quantificare le tue bande e pubblicare dati attendibili al 100%.



Ma come scegliere lo strumento giusto?

Non tutti i sistemi di *Imaging* sono uguali ed è importante conoscere i parametri tecnici che determinano il livello di prestazioni di un sistema di acquisizione immagini in chemiluminescenza.

Quali sono in % questi parametri in ordine d'importanza?

- 30 % è la risoluzione nativa della videocamera e la grandezza del sensore
- 30 % è l'apertura del diaframma e l'obiettivo con lente fissa o zoom
- 20 % è il raffreddamento *on chip*
- 20 % è la distanza dell'obiettivo (e sensore) dal campione (membrana)
- Ma anche l'Efficienza Quantica (QE), la funzione Image Dynamic e un sistema di esposizione automatica efficiente

Non staremo qui a farti un trattato di....Fisica ma ti diamo solo alcune nozioni essenziali:

Sensore CCD più grande ➡ dimensione pixel maggiore ➡ più dati

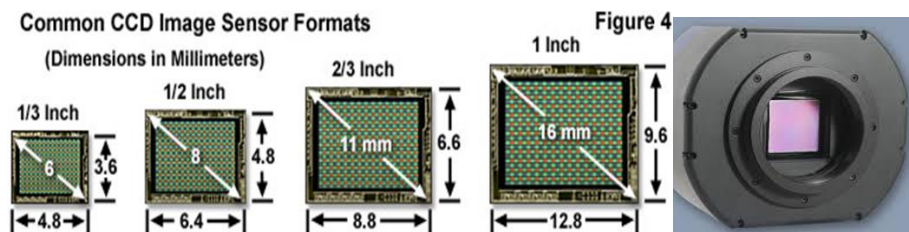
Apertura diaframma più grande ➡ più luce catturata ➡ migliore sensibilità

30 % è la risoluzione nativa della videocamera e la grandezza del sensore

Devi sempre domandare se la risoluzione della videocamera è nativa (cioè del sensore CCD) o dell'immagine. La risoluzione dell'immagine può variare tramite interpolazione software: la qualità dei dati acquisiti dipende sempre dalla grandezza del sensore CCD (no CMOS!) e del pixel utilizzato, mai dalla risoluzione dell'immagine.

Richiedi sempre al tuo fornitore il valore della risoluzione del CCD, non dell'immagine!

ALLIANCE possiede 9,0 megapixel di risoluzione nativa della videocamera con 9,0 e 18,0 megapixel di risoluzione immagine.



L'efficienza quantica (QE) del sensore è un altro parametro a cui prestare attenzione. Indica, in valore percentuale, la misura della efficienza di conversione o utilizzazione della luce di una determinata lunghezza d'onda da parte del sensore. **Il sensore di ALLIANCE ha la migliore QE per chemiluminescenza (>73 % a 430 nm) presente sul mercato.**

20 % è il raffreddamento *on chip*

Tempi lunghi di esposizione creano calore e interferenza con il segnale che si desidera catturare; questo è il motivo per cui le videocamere dei sistemi per chemiluminescenza hanno i sensori CCD raffreddati.

La domanda che devi porre è: Raffreddamento assoluto o raffreddamento regolato?

Ricorda che il miglior raffreddamento è il raffreddamento ad aria Peltier regolato a stadi. Più stadi hai, maggior raffreddamento ottieni. Maggior raffreddamento significa minore rumore di fondo e maggiore rilevamento del segnale anche il più debole, nonostante si lavori con lunghi tempi di esposizione. **ALLIANCE ha un Raffreddamento regolato a -60°C/-71°C con Peltier a 3 o 4 stadi.**

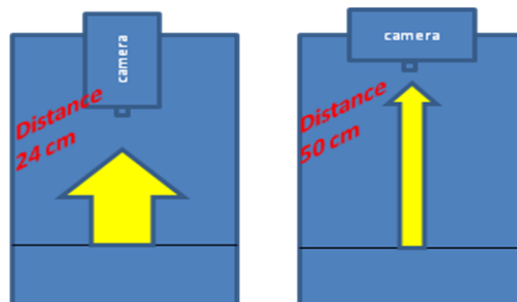
20 % è la distanza dell'obiettivo (e sensore) dal campione (membrana)

Più la lente frontale dell'obiettivo (e sensore) della videocamera è vicina al campione più luce può ricevere.

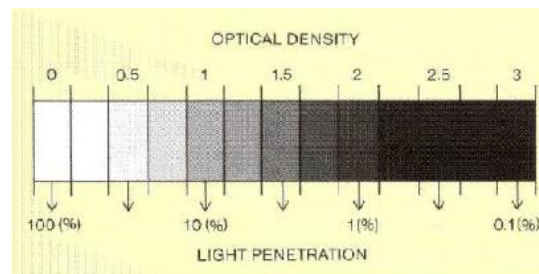
Ogni singolo centimetro di distanza in più significa il 4 % in meno di luce.

Molti concorrenti hanno una distanza abituale di 50 centimetri e alcuni utilizzano la tecnologia a specchio (luce riflessa) che è ancora peggio!

ALLIANCE presenta la distanza tra obiettivo e campione più corta del mercato (24 cm).



La densità ottica determina il *Dynamic Range* del sensore: rappresenta l'ampiezza della scala per la misurazione in contemporanea del segnale più forte e del segnale più debole.



Se la scala è più grande (4,8 OD per esempio, invece di 4,0 OD) è possibile posticipare la saturazione per visualizzare le bande più deboli di interesse e quindi quantificarle contemporaneamente ai segnali più forti.

ALLIANCE presenta un *Range* dinamico di 4,8 OD (16 bit, 65536 livelli di grigio).

30 % è l'apertura del diaframma e l'obiettivo con lente fissa o zoom

Obiettivi con zoom sono utilizzati per sistemi di acquisizione in fluorescenza UV perché la luce è forte (luce di eccitazione viene da UV) e richiede poca sensibilità.

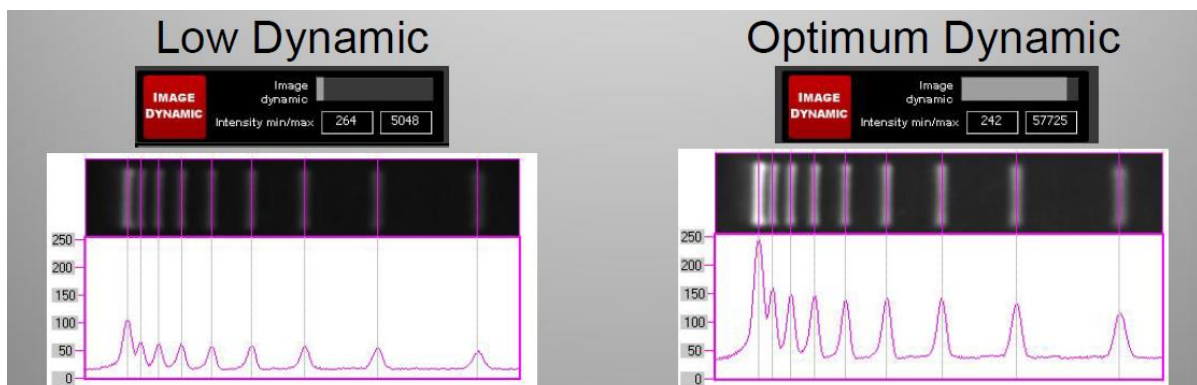
Svantaggi dell'obiettivo con zoom in chemiluminescenza:

- Lo Zoom presenta diverse lenti che la luce deve attraversare per arrivare al sensore: si ha perdita di fotoni e quindi di segnale;
- Ricordati che l'obiettivo con un'unica lente fissa permette il passaggio diretto di più luce offrendo una sensibilità impareggiabile, necessaria in chemiluminescenza;
- l'obiettivo con zoom di solito ha un diaframma con apertura limitata (F/1.2) e un sensore di piccole dimensioni (2/3 pollici) che non è sufficiente per la sensibilità richiesta in chemiluminescenza.

Una differenza di apertura di F/0.5 significa 40 % di differenza in sensibilità!

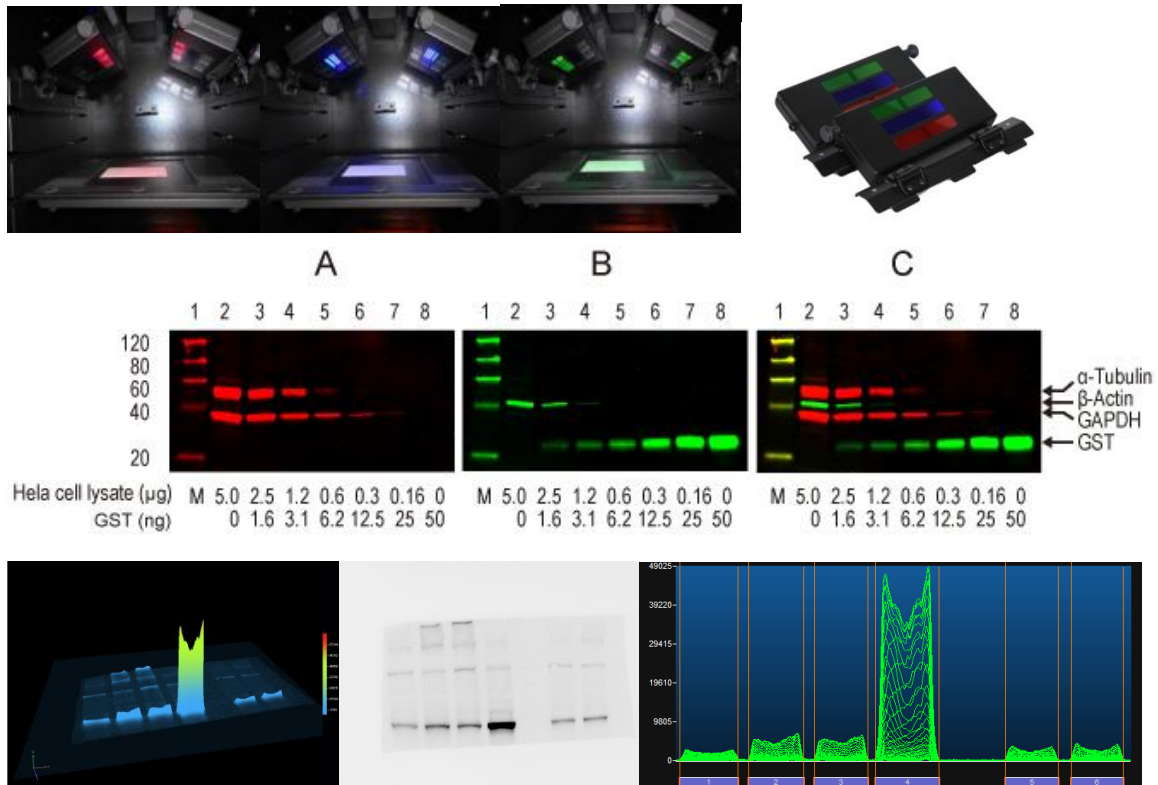
Una così piccola differenza tra un diaframma F/0.90 e F/0.95 ha quindi una enorme conseguenza sulla sensibilità del sistema. **Alliance presenta un diaframma con apertura F/0.90.**

Chiudiamo dicendo che ti tornerà utile la funzione **software di Dinamica dell'Immagine (*Image Dynamic Technology*)** che insieme al sistema di Acquisizione Automatica ti permetterà di acquisire immagini con la densità/scala ottimale per la tua membrana con il pieno controllo della saturazione in modo da poter analizzare quantitativamente i tuoi blot in tutta tranquillità e affidabilità.



Ma non finisce qui!

La Chemiluminescenza permette la determinazione quantitativa di una singola proteina. Con la Fluorescenza è possibile l'analisi quantitativa e contemporanea di molteplici proteine (*Multiplexing*) e con un segnale più stabile. I sistemi **ALLIANCE** sono modulari e possono essere aggiornati con il modulo con tecnologia Net Led CHROMA-RGB per *multiplexing* (Rosso, Verde e Blu), Net Led CHROMA-IR (Infrarosso) ed epi-UV (254 o 312nm).



Il software di analisi in dotazione con ALLIANCE UVitec ti permette di elaborare i dati per pubblicazioni e poster con grafici e immagini tridimensionali di sicura efficacia. La **funzione Image Dynamic Technology**, come detto in precedenza, mostra in diretta i valori della scala di grigi dell'immagine in acquisizione con i segnali di saturazione visibili direttamente su monitor PC per un'acquisizione immagine ottimale e immediata (per analisi quantitativa). La **funzione Image Display Technology** invece, permette di migliorare l'immagine acquisita dal punto di vista estetico senza modificare/alterare il dato quantitativo originale.

Il software di acquisizione immagini genera file GLP (*Good Laboratory Practice*) integrati nel file TIFF dell'immagine acquisita: prova della autenticità dei dati, impossibilità di manipolare/falsificare l'immagine originale. Il software è multilicenza e Installabile liberamente su n postazioni PC per Windows 7, 8 e 10.

Per maggiori informazioni, richieste di dimostrazione e di eventuali offerte, contatta:

Fabio Campanini, PhD
Product Manager, Eppendorf Italia
Tel. 02-55404555
Cell. 393-9328576
Email: campanini.f@eppendorf.it

I sistemi per acquisizione immagine serie ALLIANCE sono prodotti da UVITEC Ltd, UK e distribuiti in esclusiva in Italia da Eppendorf S.r.l. di Milano.