


0.ÍNDICE

0. ÍNDICE 1
 1. OBJETO..... 2
 2. ALCANCE 2
 3. RESPONSABILIDADES Y COMPETENCIAS 2
 4. METODOLOGÍA 3
 5. DOCUMENTOS DE REFERENCIA..... 6
 6. ANEXOS 6
 7. HOJA DE CONTROL DE MODIFICACIONES..... 8

	Elaborado	Revisado y Aprobado
Cargo :	RESPONSABLE DE SERVICIO	RESPONSABLE DE SERVICIO
Nombre :	Mónica Martín Belinchón	Mónica Martín Belinchón
Firma:		
Fecha :	02/04/2024	02/04/2024

1.OBJETO

Descripción del funcionamiento general del Servicio de Microscopía Óptica y Confocal (SEMOC) del Instituto de Investigaciones Biomédicas Sols-Morreale (IIBM), detalle de los equipos integrados en el mismo y normas básicas de uso para facilitar el acceso de todos los usuarios al servicio.

2.ALCANCE

Documento dirigido a toda persona usuaria del SEMOC, incluyendo investigadores, técnicos, becarios o personal contratado adscrito al centro.
Cualquier persona externa, no perteneciente al IIBM, deberá ponerse en contacto con el Responsable del Servicio previamente al uso o visita de cualquiera de las instalaciones y/o equipos del mismo, y leer esta guía antes de trabajar de manera autónoma en cualquiera de los equipos del servicio.

3.RESPONSABILIDADES Y COMPETENCIAS

♦ El técnico del servicio llevará a cabo el mantenimiento general de los equipos (protocolos de limpieza, revisión de lámparas y LED, filtros, etc), la gestión de los residuos y de las reparaciones, así como el pedido de accesorios, reactivos y compuestos necesarios para microscopía.

♦ El Servicio pondrá a disposición de los usuarios aceite de inmersión, servilletas y etanol para el correcto uso de los equipos.

♦ Son responsabilidades del usuario: el trato cuidadoso de los equipos. Una vez finalizada la sesión de trabajo el usuario debe dejar apagados los microscopios, con los objetivos limpios de aceite de inmersión y las fundas colocadas. Las responsabilidades por negligencia o mal uso de los equipos recaerán sobre el usuario y/o director del grupo o proyecto de investigación.

♦ Si no se tiene conocimiento sobre el funcionamiento de un equipo, se debe contactar con el SEMOC y solicitar el entrenamiento básico previo a la utilización de los equipos, Se solicitará la formación enviando un correo electrónico a microscopia@ib.uam.es, o llamando por teléfono (ext. 443879/443874/443866) o en persona. Si un usuario ya conoce el funcionamiento, pero requiere de apoyo técnico durante una sesión de trabajo se solicitará por las vías detalladas anteriormente.

♦ Cualquier duda, problema o fallo de funcionamiento de los equipos debe ser comunicado con la mayor brevedad posible al responsable del servicio, bien vía telefónica o bien mediante correo electrónico. Igualmente se hará constar cualquier circunstancia no habitual ocurrida durante la sesión de trabajo en el cuaderno de registro situado junto a cada equipo en el apartado de observaciones.

♦ Está terminantemente prohibido comer y beber en el área de microscopía.

♦ Se deben emplear guantes siempre que se trabaje con productos citotóxicos en aquellos equipos destinados a tal fin. Una vez finalizado el trabajo se limpiará toda el área con el producto correspondiente. Para ello se impregnará una servilleta con dicho producto y se frotará por el toda el área en el que se ha trabajado (microscopio, teclado y ratón).

4. METODOLOGÍA

ACCESO AL SERVICIO

Para que una persona nueva tenga acceso al SEMOC el investigador que la tenga a su cargo tendrá que comunicar por escrito (vía e-mail: microscopia@iib.uam.es) al responsable del servicio el interés de que esta persona pueda acceder a las dependencias del SEMOC. El responsable del servicio, o en su ausencia el técnico del servicio, se encargará de solicitar el alta de dicha persona al personal del servicio de Tecnologías de la información (TI) encargado de esta tarea.

FORMACIÓN

La primera vez que un usuario va a usar el servicio si desconoce el funcionamiento de los equipos, debe ponerse en contacto con el personal del SEMOC para que le enseñe a usar el microscopio que necesite. **Es importante que le enseñe directamente el personal del servicio** ya que es quien mejor conoce las capacidades del equipo y su manejo.

El usuario debe conocer las normas del servicio previamente al uso de cualquier equipo del servicio, y para ello le remitimos al enlace web donde figura este documento (PE-SEMOC-07) (<https://www.iib.uam.es/portal/web/microscopia/normas>).

Al finalizar la sesión deberá dejar constancia de que ha entendido tanto el funcionamiento del servicio como el manejo del equipo correspondiente firmando en el registro FOR-SEMOC-20.

Si un usuario asegura que posee los conocimientos para trabajar con un equipo del SEMOC aunque no haya recibido ninguna formación por parte del servicio deberá firmar igualmente en el registro FOR-SEMOC-20 haciéndose responsable de su buen uso.

RESERVAS

- ♦ La reserva de microscopios adscritos al servicio se realizará a través de la intranet del centro, en el enlace <https://www.iib.uam.es/reserva>

Las reservas vía web pueden ser anuladas si por cualquier motivo el personal investigador no puede usar el equipo, aunque desde el servicio recomendamos que se anulen con la mayor anticipación posible (mínimo 1 hora) para que otro usuario interesado pueda usar el equipo que ha quedado libre.

Los usuarios externos deberán contactar con el personal del servicio por teléfono o por correo electrónico para que puedan realizar la reserva del equipo necesario. Antes del inicio de la sesión deberán rellenar la solicitud de uso de los microscopios (FOR-SEMOC-04) consignando los datos de facturación.

- ♦ Tanto al principio como al finalizar su sesión de trabajo el usuario se apuntará en el cuaderno de registro de los microscopios (FOR-SEMOC-01, FOR-SEMOC-09 o FOR-SEMOC-13). En todos los equipos se permite la reserva por un mínimo 30 minutos y un máximo de 2 horas seguidas a un mismo usuario.
- ♦ Tanto al principio como al finalizar su sesión de trabajo el usuario se apuntará en el cuaderno de registro de los microscopios, situado junto al equipo correspondiente (FOR-SEMOC-01, FOR-SEMOC-09 o FOR-SEMOC-13).
- ♦ Debido a la elevada demanda por ciertos microscopios, se establece en 10 el número máximo de horas de reserva de equipo, por semana y grupo de investigación en los **microscopios de fluorescencia**. En los **microscopios confocal** el máximo de horas de reserva semanal por usuario es de 4, y de 12 horas totales por semana y grupo de investigación. Si hay horas libres a lo largo de la semana podrían reservarse un número mayor de horas, pero si otro usuario las necesitase deberá cedérselas.
- ♦ En el microscopio **Cell observer** por la realización de experimentos a largo plazo, las reservas no tienen límite de horas estipuladas, pero sí número de experimentos. En momentos de alta demanda,

si no hay horas libres, los usuarios se podrán reservar con antelación para la realización de 1 experimento a la semana. Si hubiera horas libres podrán realizar los experimentos que necesiten.

- ◆ En cuanto a los objetivos 2x (Nikon) y 4x (Zeiss), a disposición del usuario, estos se reservarán a través de página de reservas y se pedirán al responsable del Servicio.
- ◆ En el caso del microscopio Axiophot y Nikon E400, el usuario tiene la obligación, si nadie le avisa de lo contrario, de apagar la lámpara de fluorescencia, una vez que haya concluido su hora de reserva*. El siguiente usuario deberá aguardar un mínimo de 30 minutos antes de volver a encenderla.
- ◆ Para el uso del incubador IBIDI del microscopio Confocal LSM710 Ziess será necesario avisar (personalmente, detallándolo en la reserva-web, vía telefónica o por correo electrónico) al personal del SEMOC que se encargará de colocarlo antes de la sesión y lo desmontará tras su uso.

RECOMENDACIONES

*si se prevé que se puede perjudicar al siguiente usuario al apagarla, se debe consultar la lista de reservas y contactar con él para saber si se la dejas encendida. Si no lo encuentras mejor apaga la lámpara por si no después no baja.

*para asegurarnos el uso de la lámpara en nuestra hora de reserva, contactar con el usuario anterior y avisarle de que no la apague, si no, tendrá que esperar 30 minutos

ARCHIVOS

- ◆ Los archivos de la estación de análisis del servicio y de los ordenadores de los microscopios de fluorescencia son responsabilidad de los usuarios. Al finalizar cada sesión no deben quedar archivos guardados en el ordenador, se deben guardar en la carpeta de temporales o en la carpeta permanente personal. situadas ambas en el dominio externo smb.iib.uam.es.
- ◆ Cada cierto tiempo está estipulado un borrado general de archivos. En este caso o en caso de necesidad de memoria de manera puntual, se avisará por e-mail con una semana de antelación del borrado de los archivos del equipo en cuestión.
- ◆ Las imágenes adquiridas en los equipos que se usan con personal técnico, ambos Confocales y Cell Observer, serán almacenadas por el servicio durante los tres años posteriores a su realización.

REGISTROS

Todos los equipos del SEMOC constan de un cuaderno de registro donde el usuario debe especificar:

*para los microscopios de fluorescencia (Axiophot, Nikon 90i, Nikon E400 y DMIL): NOMBRE, LABORATORIO Y EXTENSIÓN, FECHA, HORA Y USO O NO DE FLUORESCENCIA. Existe un espacio para OBSERVACIONES donde reflejar cualquier incidencia si fuera necesario. (FOR-SEMOC-01).

*para el ordenador de análisis de imagen: NOMBRE, LABORATORIO Y EXTENSIÓN, FECHA, HORA y OBSERVACIONES, si las hubiere. (FOR-SEMOC-03).

*para el microscopio Cell Observer y ambos Confocales (FOR-SEMOC-13 y FOR-SEMOC-09) el registro lo rellenará el personal del SEMOC, con excepción de los usuarios autónomos de los microscopios Confocal que lo harán ellos mismos.

Es obligatorio rellenar estos registros, ya que nos sirve para controlar los encendidos de las lámparas de fluorescencia y LED, el uso de cada equipo y los posibles fallos que puedan tener.

COBRO

El cobro por el uso de los equipos se efectuará mensualmente y en función del tiempo que se apunte en los cuadernos de registro. Los precios de cada equipo se encuentran expuestos en la web del servicio. <https://www.iib.uam.es/portal/web/microscopia/tarifas>

NORMAS BÁSICAS DE USO DE LOS MICROSCOPIOS DE FLUORESCENCIA

1. Los usuarios manipularán los equipos de acuerdo con los manuales de uso básico de los microscopios, elaborados a tal efecto por el Servicio de Microscopía Óptica y Confocal y que se encuentran impresos y disponibles junto a cada equipo. (PE-SEMOC-02, PE-SEMOC-03-2, PE-SEMOC-05, PE-SEMOC-13, PE-SEMOC -14).

Tras el traslado del microscopio Axiovert 135TV a la sala de cultivos de la primera planta del edificio antiguo del IIBM (septiembre 2018) no se formará a los usuarios específicamente. Se dispone en la sala de un poster explicativo para el uso del microscopio y del software para la adquisición de imágenes. Si un usuario requiere de apoyo técnico se solicitará por las vías pertinentes.

2. Existen dos objetivos (2x y 4x) a disposición de los usuarios en. Se reservarán a través de la intranet del centro, en el enlace: <https://www.iib.uam.es/reserva>. Su solicitud se realizará dentro del horario del servicio a la persona responsable. La pérdida o deterioro del objetivo será responsabilidad del investigador y/o usuario a su cargo que hizo la petición de préstamo.

3. Los objetivos 4x, 10x y 20x, son objetivos SECOS, no se usan con aceite de inmersión en ningún microscopio. Los usuarios deben procurar no mancharlos al girar el revolver sobre una muestra con aceite. Si esto ocurriera es necesario limpiarlos cuidadosamente con etanol 90%. Si se deja el aceite en la lente, al secar, formará una película rígida adherida a la misma, más difícil de limpiar y con el consiguiente riesgo de rallar la lente.

4. Los objetivos 40x de los microscopios Nikon (Eclipse 90i del IIBM y Eclipse E400 del Dpto.de Bioquímica) son también objetivos secos, no se usan con aceite.

5. Los objetivos 40x (sólo de los microscopios Zeiss y Leica), 63x y 100x se usan con aceite de inmersión. Tras usar aceite hay que limpiar los objetivos y platina con las servilletas humedecidas en etanol 96% que se encuentran junto a cada equipo.

6. Los objetivos del microscopio DMIL son TODOS SECOS.

Los microscopios de fluorescencia de los que dispone el SEMOC para desarrollar sus funciones son:

En la sala de microscopía


♦ **Microscopio Axiophot (Zeiss)** Microscopio de luz transmitida y epifluorescencia. Consta de filtros para DAPI, FITC y Rojo. Está acoplado a una cámara DP70 (Olympus) con el sistema de captura de imágenes DP Controller. Los objetivos son Plan-NEOFLUAR (10x, 20x, 40x, 63x 100x). Disponemos de un objetivo ACHROPLAN 4x que se podrá colocar previa solicitud del usuario.

Microscopio invertido DMIL LED FLUO de Leica de luz transmitida y epifluorescencia. Tiene un sistema de iluminación de LED (CoolLed p300) y filtros para FITC y Rojo. Se encuentra acoplado a una cámara monocroma de Nikon (Ds-2MBWc) controlada por el programa NIS Elements F. 3.0. Los objetivos son (5x, 10x, 20x y 40x). Todos ellos son de contraste de fases. El equipo cuenta además con adaptador para observar con la técnica IMC (similar al DIC), que para usar tendréis que solicitar al servicio.

♦ **Microscopio ECLIPSE 90i (Nikon)** Microscopio motorizado, de luz transmitida y epifluorescencia, con filtros para DAPI, FITC, TexasRed, mCherry y Alexa633. Tiene un sistema de iluminación de LED (CoolLed p300). Tiene acopladas dos cámaras digitales Nikon, una refrigerada monocroma (DS-Qi1Mc) y otra a color para luz visible (DS-Fi1). El software utilizado para la captura y análisis de imágenes es el NisElements 3.01. Este equipo consta de los siguientes objetivos fijos: Plan-APO (4x, 20x, 40x, 60x, 100x) y Plan-Fluor 10x. En el servicio disponemos de un objetivo Plan- ACHROMAT 2x que se podrá utilizar a petición del usuario.

♦ **Microscopio Cell Observer**

Este sistema de observación *in vivo* de Zeiss está formado por un microscopio Observer.Z1, invertido de luz transmitida y epifluorescencia, acoplado a un sistema de incubación con condiciones de temperatura, CO₂ y humedad reguladas. Está acoplado a una cámara monocroma de alta resolución Prime BSI Express (Photometrics). Los objetivos de los que dispone son: ACHROPLAN 4x y Plan-APOCHROMAT (10x/0.45 DIC, 20x/0.8 Oil, 40x/1.3 Oil DIC, 63x/1.40 Oil DIC). Posee de un sistema de iluminación de fluorescencia Colibri7 con las líneas LED 385, 475, 555, 590 y 630 nm, y una doble corredera de filtros de fluorescencia. El programa utilizado por el sistema es el ZEN 3.5 con los módulos de procesamiento de imagen:

	PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO Guía para usuarios del SEMOC	PE-SEMOC-07 Rev. nº: 09 Fecha: 02/04/2024 Pág. 6 de 8
---	--	--

"Deconvolucion" y "Direct Processing". Este equipo permite el estudio de procesos dinámicos en células o tejidos vivos. Este microscopio se usa en todos los casos con la ayuda del personal del servicio.

En la sala del microscopio Confocal

◆ Microscopio confocal espectral LSM710 (Zeiss)

Microscopio confocal espectral LSM710 (Zeiss). Está compuesto por un microscopio invertido de luz transmitida y epifluorescencia Observer.Z1 acoplado a un sistema confocal espectral con 6 líneas de láser (405, 458, 488, 514, 561, 633). Tiene un sistema de iluminación de Leds (CoolLed p300). Los objetivos disponibles son Plan-APOCHROMAT (10x 25x, 40x, 63x). El programa de adquisición y análisis de imagen que maneja es el Zen 2.3 SP1. De manera general este equipo lo maneja el personal del servicio, pero en casos concretos tras seguir el proceso de autorización de usuarios autónomos (PE-SEMOC-09) los usuarios podrán usar el equipo sin la presencia del técnico del SEMOC.

◆ Microscopio confocal espectral Stellaris 8 TauSTED (Leica)

Microscopio confocal espectral que mediante la técnica de STED permite estudiar estructuras subcelulares con mayor detalle que el que se alcanza con un microscopio confocal estándar. Está compuesto por un microscopio invertido de luz transmitida y epifluorescencia DMI8 acoplado a un sistema confocal espectral con un láser 405nm, un láser blanco (485-680nm) y laser de depleción 775nm. Los objetivos disponibles son Plan-APOCHROMAT (10x/0.40, 20x/0.75 multi-inmersión DIC, 40x/1.3 Oil DIC, 63x/1.40 Oil DIC, 100x/1.4 Oil STED White). Los detectores espectrales híbridos son: dos (HyDS) y uno HyDX. Posee un módulo de superresolución por Lighting y otro por STED. También dispone del sistema de herramientas TauSense. El programa de adquisición y análisis de imagen que maneja es el LasX. Este microscopio lo maneja el personal técnico del servicio.

En la sala B-10 del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UAM

Este microscopio se encuentra situado en la sala B-10 por lo que el usuario solicitará la llave en recepción del IIB o del Departamento, y se apuntará igualmente en el cuaderno registro microscopios **FOR-SEMOC-01**

◆ Microscopio ECLIPSE E400 (Nikon)

Microscopio de luz transmitida y epifluorescencia. Tiene filtros para DAPI, FITC y TexasRed. Los objetivos disponibles son 10x, 20x, 40x, Plan-Apo 60x y Plan-Fluor 100x de Nikon. La cámara acoplada es DFC345FX de Leica que utiliza el software LAS X.

En la sala de cultivos de la primera planta del edificio antiguo del IIBm

◆ **Microscopio Axiovert 135TV** de luz transmitida y epifluorescencia. Tiene filtros para DAPI, FITC y Rojo. Los objetivos son ACHROSTIGMAT (10x, 20x, 32x) de Zeiss y 40x de Nikon. La cámara acoplada es la DP500 que utiliza para la captura de imágenes el software ViewFinder de Olympus.

5.DOCUMENTACIÓN DE REFERENCIA

- ◆ [Leica: Leica Fluorescence Center](#)
- ◆ [Nikon: Concepts in fluorescence microscopy](#)
- ◆ [MICROSCOPY FROM THE VERY BEGINNING \(CARL ZEISS MICROIMAGING GMBH\)](#)
- ◆ Catálogo Nikon Eclipse 90i. Características técnicas: [Eclipse90i80i](#)
- ◆ <http://www.nikoninstruments.eu/>
- ◆ Zeiss Iberia <https://www.zeiss.es/corporate/home.html>

6.ANEXOS

- PE-SEMOC-02** Uso Microscopio Zeiss Axiophot
- PE-SEMOC-03-2** Guía rápida del Microscopio Nikon 90i
- PE-SEMOC-05** Uso Microscopio Nikon Eclipse E400
- PE-SEMOC-08** Uso Microscopio Cell Observer

PE-SEMOC-09 Autorización de usuarios autónomos para el microscopio confocal LSM710 Zeiss
PE-SEMOC-13 Manejo del microscopio DMIL LED FLUO
PE-SEMOC-14 Técnica IMC en DMIL LED FLUO
PE-SEMOC-18 Manual usuarios AI y II del Confocal LSM710 Zeiss
PE-SEMOC-24 Uso del Microscopio Stellaris 8 TauSTED Leica

FOR-SEMOC-01 Cuaderno de registro microscopia de fluorescencia
FOR-SEMOC-03 Cuaderno de registro estación de trabajo SEMOC
FOR-SEMOC-04 Solicitud de uso microscopios
FOR-SEMOC-09 Cuaderno de registro Microscopio Confocal
FOR-SEMOC-13 Cuaderno de registro del Cell Observer

7.HOJA DE CONTROL DE MODIFICACIONES

Rev. / Edic.	Fecha	Apdo. modificado	Descripción de la modificación
01	05/08/2011	Encabezamiento y metodología	Se incluye el equipo confocal y el cell observer. Se incluye el apartado de cobro dentro de la metodología. Se modifica el número del procedimiento.
02	26/09/2011	Metodología	Se incluye la explicación de que este documento de entregará a los usuarios como copia no controlada.
03	05/02/2013	Metodología	Se elimina la alusión al sistema de "dominio" en el que estaban antes conectados los equipos y se incluye el número de horas máximas de reserva del confocal.
04	11/04/2016	Metodología	Incluimos los cambios realizados en los equipos y el microscopio nuevo
05	04/01/2019	Normas básicas uso microscopios fluorescencia	Axiovert 135TV formación y localización
06	14/02/2020	Microscopio Confocal	Nuevo software microscopio Confocal
07	02/06/2020	Acceso al servicio	La petición de alta en el servicio se enviará a TI
08	25/01/2022	Varios	Extesiones de teléfono. Reserva incubador microscopio confocal. Y localización microscopio Nikon E400 junto con la actualización de las características Confocal y Cell Observer
09	02/04/2024	Encabezado/Varios	Cambio de logos. Nuevo microscopio confocal Leica