

# Guía de usuario para el Millicell<sup>®</sup>-ERS

## **Aviso**

La información de este documento está sujeta a cambios sin previo aviso y, no se debe interpretar como un compromiso por parte de Millipore Corporation. Millipore Corporation no asume ninguna responsabilidad por los errores que puedan aparecer en este documento. Este manual se considera completo y exacto en el momento de su publicación. En ningún caso Millipore Corporation será responsable por daños, incidentales o consiguientes relacionados con este manual o resultantes de su uso.

COPYRIGHT 1999, MILLIPORE CORPORATION. IMPRESO EN LOS ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA RESERVADOS TODOS LOS DERECHOS. ESTE LIBRO NI PARTES DEL MISMO PODRÁN REPRODUCIRSE EN NINGUN FORMATO SIN EL CONSENTIMIENTO POR ESCRITO DE LOS EDITORES.

Millipore, Millicell y Milli-Q son marcas comerciales registradas de Millipore Corporation.

P17304, Rev. B, 07/04

# **índice**

Introducción.....	3
Ventajas de una fuente de corriente alterna CA sobre una de corriente continua CC.....	3
<b>El Millicell-ERS y sus componentes .....</b>	<b>3</b>
Aparato de medida.....	3
Electrodos .....	3
<b>Comprobación del Sistema .....</b>	<b>3</b>
Comprobación del aparato de medida .....	4
Equilibrado de los electrodos .....	4
Comprobación de los electrodos.....	5
Comprobación de la desviación del voltaje .....	5
Ejemplo de una aplicación .....	5
Esterilización de los electrodos .....	6
Medición del voltaje y de la resistencia celular.....	7
Medición de la resistencia celular .....	7
Medición del voltaje.....	7
<b>Mantenimiento del Sistema .....</b>	<b>8</b>
Almacenamiento .....	8
Lijado .....	8
Sustitución de pilas .....	8
Solución de problemas .....	9
Especificaciones .....	11
Información para pedidos.....	12
Servicio técnico .....	13
Garantía .....	13

# **Millicell-ERS**

## **Introducción**

El Millicell-ERS (Sistema de resistencia eléctrica) mide con precisión el potencial y la resistencia de las membranas de células epiteliales en un cultivo celular. Este dispositivo mide de manera cualitativa el estado de la monocapa celular y, cuantitativamente, la confluencia celular.

Una pequeña cantidad de plata/cloruro de plata (Ag/AgCl) en cada extremo del electrodo permite medir el voltaje. Dado el tamaño reducido de los electrodos, el usuario puede medir el voltaje transepitelial y la resistencia de células cultivadas sobre membranas microporosas.

### **Ventajas de una fuente CA sobre una CC**

Millicell-ERS utiliza corriente alterna (CA) para medir la resistencia de membranas. El uso de una fuente aislada de CA presenta varias ventajas sobre el empleo de la tradicional corriente continua (CC):

- El voltaje de la membrana o la desviación del voltaje de los electrodos no afectan a las mediciones de la resistencia.
- La carga neta de valor cero en las células elimina los efectos adversos de la CC sobre la membrana celular.
- No se produce deposición electroquímica de metales procedentes del electrodo.
- La capacitancia de la membrana no afecta a las lecturas de resistencia. Una vez que se normaliza el Millicell-ERS, se puede emplear para medir cuantitativamente la confluencia celular.

## **El Millicell-ERS y sus componentes**

El Millicell-ERS consta de un aparato de medida y de unos electrodos

### **Aparato de medida**

El aparato de medida tiene unas dimensiones de 20 cm × 10 cm × 5 cm y necesita 6 pilas de 1,5-V y una de 9-V.

### **Electrodos**

Los electrodos están conectados a un cable con una salida de tipo telefónico en su extremo, la cual se conecta durante su uso a una toma ubicada en la parte frontal del aparato de medida.

## **Comprobación del Sistema**

Para asegurarnos del funcionamiento adecuado del Millicell-ERS, es preciso comprobar el aparato de medida y los electrodos.

Para ello deben realizarse cuatro procedimientos:

- Comprobación del aparato de medida
- Equilibrado de los electrodos
- Comprobación de los electrodos, y
- Comprobación de la desviación del voltaje

En los siguientes epígrafes se describen estos procedimientos con más detalle.

### Comprobación del aparato de medida

1. Cambie el botón MODE a “R” (resistencia).
2. Encienda el botón POWER.
3. Pulse el botón TEST.  
**NOTA:** no pulse el botón TEST al realizar mediciones, porque podría obtener medidas de resistencia falsas.
4. Si el botón RANGE está en la posición:  
**2000  $\Omega$**  , el aparato de medida debería registrar  $1000 \Omega \pm 1 \Omega$   
**20K  $\Omega$**  , el aparato de medida debería registrar  $1K \Omega$   
**NOTA:** Si el aparato no muestra estos valores consulte la sección “Solución de problemas” de este manual.
5. Vea la próxima sección, “Equilibrado de los electrodos.”

### Equilibrado de los electrodos

Para equilibrar los electrodos, utilice una solución electrolita similar a la que emplea para realizar las mediciones.

Puede también emplear una solución salina tamponada con fosfato (PBS), cloruro de sodio (NaCl) 0,15 M , ó cloruro potásico (KCl) 0,1 M.

Si los electrodos ...	Sumérjalos en solución durante...
nunca han sido probados para desviación del voltaje	24 horas
se han almacenado en seco	24 horas
se han almacenado en una solución	2 horas

Vaya a la siguiente sección: “Comprobación de los electrodos”.

### Comprobación de los electrodos

1. Inserte la toma tipo telefónico del extremo del cable flexible del electrodo en el puerto del electrodo del aparato de medida.
2. Sumerja las puntas de los electrodos en una solución electrolita similar al medio que vaya a utilizar para el cultivo celular o en una de las soluciones enumeradas en “equilibrado de los electrodos”.
3. Cambie el botón MODE a “V” (voltaje).
4. Pulse el botón POWER. El aparato de medida podría indicar una lectura de 0,1 ó 0,2 debido a la asimetría de los electrodos sensores del voltaje.
5. Ajuste el potenciómetro con un destornillador hasta que el aparato de medida muestre una lectura de 0,0.
6. Cambie el botón MODE a “R”.
7. Ajuste el  $\Omega$  del potenciómetro con un destornillador hasta que el aparato de medida muestre una lectura de 0,0.
8. Si el potenciómetro aún no registra cero, consulte la sección “Solución de problemas”. Si registra cero, consulte “Comprobación de la desviación del voltaje”.

### Comprobación de la desviación del voltaje

1. Inserte el cable del electrodo en el puerto para electrodos del Millicell-ERS.
2. Sumerja los electrodos en una solución electrolita similar al medio que vaya a utilizar para el cultivo celular o en una de las enumeradas en “equilibrado de los electrodos”.
3. Cambie el botón MODE a “V”.
4. Pulse el botón POWER.
5. Ajuste el potenciómetro con un destornillador hasta que registre 0,0.
6. Sólo se pueden detectar desviaciones de voltaje si se realizan varias mediciones en el transcurso de un periodo de tiempo.
7. Si el aparato de medida no registra cero, consulte “Solución de problemas”.
8. Si registra cero, la comprobación se da por finalizada.

## Ejemplo de una aplicación

A continuación presentamos como ejemplo una típica aplicación del Millicell-ERS. No se trata de un protocolo experimental técnicamente completo.

### Día 1

1. Determinación de la confluencia de la línea celular. En este experimento, resultó ser  $85 \Omega \text{ cm}^2$ .
2. Se siembran las células en 22 de las 24 unidades Millicell-CM de 12-mm para cultivo en placa de pocillo. Dejar las 2 unidades restantes de Millicell en blanco.

### Día 2

Se permite el crecimiento de las células.

### Día 3

Se permite crecimiento de las células.

**NOTA:** Las células deben alcanzar confluencia.

#### Día 4

1. Esterilizar los electrodos
2. Asegurarse de que las muestras estén a temperatura ambiente.
3. Medir la resistencia de los dos pocillos en blanco (es decir las Millicell-CMs sin células).
4. Medir la resistencia celular en los 22 pocillos con muestra (es decir, las unidades Millicell-CMs con monocapas de células).
5. Medir la resistencia de los dos pocillos en blanco (Millicell-CMs sin células).
6. Realizar un promedio de las medidas de resistencia de los dos blancos para obtener un valor. Por ejemplo:

$$R_{\text{blanco}} = 180 \Omega$$

7. Sustraer dicha resistencia de la medición de resistencia de los pocillos con muestra. Supongamos que la lectura de la muestra es  $320 \Omega$ . Entonces:

$$R_{\text{muestra}} - R_{\text{blanco}} = R_{\text{monocapa celular}}$$

$$320 \Omega - 180 \Omega = 140 \Omega$$

En este ejemplo, la resistencia de la monocapa celular es de  $140 \Omega$ . No obstante, es necesario corregir los valores para el área cubierta por la monocapa celular.

8. Para corregir el área cubierta por la monocapa celular, calcule el producto de la resistencia y el área. Multiplique el área del diámetro útil de la membrana de las unidades Millicell por la resistencia obtenida en los experimentos:

$$140 \Omega \times 0,6 \text{ cm}^2 = 84 \Omega \text{ cm}^2$$

**NOTA:** una unidad Millicell con un diámetro de 12 mm posee un diámetro útil de membrana de  $0,6 \text{ cm}^2$ .

Este valor,  $84 \Omega \text{ cm}^2$ , es independiente del área de la membrana empleada.

## Esterilización de los electrodos

Esterilice los electrodos del Millicell-ERS justo antes de su uso, si los cultivos vuelven a la incubadora.

Realice este procedimiento en una campana de flujo laminar.

1. Sumerja los electrodos en un 70% de etanol durante 15 minutos y permita que se sequen al aire durante 15 segundos.
2. Introduzca los electrodos en una solución electrolita estéril similar al medio de cultivo celular empleado y permita que se equilibren durante 15 minutos.
3. Encienda el botón POWER.
4. Ajuste el sistema al potenciómetro con un destornillador hasta que la lectura de voltaje sea de 0,0.
5. Lea la siguiente sección, "Medición del voltaje y la resistencia celular."

## Medición del voltaje y de la resistencia celular

Prepare la campana de flujo laminar con:

- Un Millicell-ERS
- Unidades Millicell para placas de cultivo sin células
- Unidades Millicell para placas de cultivo con células
- Una solución de etanol al 70%
- Un destornillador

### Medición de la resistencia celular

La principal aplicación del Millicell-ERS es la medición de la resistencia eléctrica en células. Para lograrlo siga los siguientes pasos.

1. Apague el botón POWER cuando el sistema no esté en uso. Utilice una técnica aséptica para garantizar la esterilidad del cultivo.
2. Cambie el botón MODE a "R".
3. Encienda el botón POWER.
4. Pulse el botón MEASURE. El aparato de medida debería indicar una lectura de resistencia estable para la solución.
5. Anote la resistencia.

**PRECAUCIONES:** No exponga los electrodos a ningún tipo de llama ya que podrían fundirse.

6. Apague el botón POWER cuando el sistema no esté en uso.

### Medición del voltaje

El Millicell-ERS realiza lecturas de voltaje únicamente en unos cuantos tipos de células que generan altos voltajes (por ejemplo, no funcionará con células MDCK). Siga los siguientes pasos.

1. Sumerja los electrodos de tal manera que el más corto se encuentre en el interior de la unidad Millicell y el más largo en el pocillo externo. El electrodo más corto no debe entrar en contacto con las células que crecen sobre la membrana.

**PRECAUCIONES:** si los electrodos no están sumergidos en la solución, el Millicell-ERS emitirá un tono de alerta indicando que la resistencia en el paso de corriente es muy elevada. No pulse el botón "R" si los electrodos están fuera de la solución o correrá el riesgo de dañar el aparato de medida.

2. Sumerja el extremo metálico de las puntas de los electrodos totalmente en la solución o no obtendrá mediciones de resistencia exactas.
3. Cambie el botón MODE a "V". Antes de medir el voltaje, las muestras deben estar a temperatura ambiente.
4. Encienda el botón POWER. El aparato de medida debería indicar una lectura de voltaje estable en milivoltios.
5. Anote el voltaje.

**PRECAUCIONES:** no exponga los electrodos a ningún tipo de llama ya que podrían fundirse.

## Mantenimiento del sistema

Esta sección describe cuidados y mantenimiento del sistema.

### Almacenamiento

- Cuando se guarden los electrodos durante mucho tiempo, debe hacerse en seco.
- No deje que los electrodos se sequen sin antes aclararlos con agua Milli-Q o similar para eliminar sales y proteínas.
- Cuando guarde los electrodos en solución durante poco tiempo, asegúrese de que el cable del electrodo está conectado al puerto de electrodos del aparato de medida Millicell-ERS para permitir el circuito interno y se mantenga la simetría de los electrodos.

### Lijado

Si las puntas de los electrodos están muy sucias, líjelas de manera ligera y breve. Utilice sólo papel de lija fino o mediano.

### Sustitución de pilas

Sustituya las pilas cada seis meses o cuando el indicador del aparato de medida indique LO BAT (bajo en pilas). Utilice seis pilas alcalinas de 1,5 voltios (AA) y una de 9 voltios. También puede emplear pilas de zinc /carbono, en cuyo caso deberá sustituirlas cada tres meses. Para ahorrar energía, apague el instrumento cuando no esté en uso. Para sustituir las pilas:

1. Destornille la parte inferior de la carcasa del instrumento. Retire el panel frontal de la misma.
2. Sustituya todas las pilas teniendo en cuenta los signos de polaridad.
3. Vuelva a colocar el panel frontal en su sitio.
4. Compruebe el Millicell-ERS como se indica en la sección "Comprobación del sistema."

## Solución de problemas

<b>Problema</b>	<b>Causa</b>	<b>Medidas a tomar</b>
Suena el tono de alarma	Sobrecarga del aparato de medida	Mida la resistencia con los electrodos totalmente sumergidos en la solución. Deje que el aparato de medida se recupere durante 30 segundos.
Desviación en las medidas	Sobrecarga del aparato de medida	Mida la resistencia con los electrodos totalmente sumergidos en la solución. Deje que el aparato de medida se recupere durante 30 segundos.
	Electrodos desequilibrados	Equilibre los electrodos
Respuesta lenta	Sobrecarga del aparato de medida	Asegúrese de que los electrodos están bien mojados y la solución está a temperatura ambiente. Mida la resistencia con los electrodos totalmente sumergidos en la solución. Asegúrese de que no hay burbujas debajo de la unidad Millicell para cultivo en placas.
	Electrodos desequilibrados	Deje que el aparato de medida se recupere durante 30 segundos. Equilibre los electrodos
	Puntas de los electrodos sucias	Aclare los electrodos con agua destilada antes de que se sequen. Lije levemente las puntas de los mismos con papel de lija fino o mediano.
La lectura no es cero	Varias	Asegúrese de que los electrodos estén bien mojados, la solución está a temperatura ambiente y no hay burbujas debajo de la unidad Millicell para cultivo en placas.
	Electrodos desequilibrados	Equilibre los electrodos
	Bajo en pilas	Sustituya las pilas
	Puntas de los electrodos sucias	Lije levemente las puntas de los electrodos con papel de lija fino o mediano.
	El sistema no funciona bien	Llame a Millipore para pedir asistencia técnica.

<b>Problema</b>	<b>Causa</b>	<b>Medidas a tomar</b>
La lectura no es de cero durante la prueba funcional de los electrodos	Los electrodos no están totalmente sumergidos en la solución	Sumerja los electrodos totalmente en la solución
	Electrodos desequilibrados	Equilibre los electrodos
	Bajo en pilas	Sustituya las pilas
El aparato de medida no registra 1000 $\Omega$ en el rango 2000 $\Omega$ ó 1K $\Omega$ en el rango 20K $\Omega$ durante la prueba funcional del aparato de medida	Bajo en pilas	Sustituya las pilas
	Puntas de los electrodos sucias	Lije levemente las puntas de los electrodos con papel de lija fino o mediano.
	El sistema no funciona bien	Llame a Millipore para solicitar asistencia técnica.
Lectura errática del aparato de medida	El conector o cable del electrodo está roto o suelto	Utilice un nuevo par de electrodos.
	Bajo en pilas	Sustituya las pilas
	El sistema no funciona bien	Llame a Millipore para solicitar asistencia técnica.

## Especificaciones

Esta sección le ofrece las especificaciones del Millicell-ERS y de las unidades de Millicell 30 mm y 12 mm para cultivos celulares en placas de pocillos.

### Millicell-ERS

Rango del voltaje de la membrana	$\pm 199,9$ mV
Rango de la resistencia	0–1999 $\Omega$ ó 0–19,99K $\Omega$
Corriente CA de onda cuadrada	$\pm 20$ $\mu$ A ó $\pm 2$ $\mu$ A a 12,5 Hz
Alimentación	Seis pilas alcalinas de 1,5 voltios (AA) y una de 9 voltios

### Unidad Millicell para cultivo de tejidos en placa de pocillos, 30mm Millicell

Altura (con base):	13 mm
Diámetro Diámetro externo de la base Diámetro externo superior Diámetro interno superior	31,5 mm 30 mm 27 mm
Diámetro de la membrana	30 mm
Área útil de la membrana:	4,2 cm <sup>2</sup>

### Unidad Millicell para cultivo de tejidos en placa, 12 mm Millicell

Altura (con base):	10,5 mm
Diámetro Diámetro externo de la base Diámetro externo superior Diámetro interno superior	13 mm 12 mm 10 mm
Diámetro de la membrana	12 mm
Área útil de membrana:	0,6 cm <sup>2</sup>

## Información para pedidos

Esta sección incluye la información necesaria para adquirir los productos Millicell.

### Millicell-ERS

Millicell-ERS	MERS 000 01
Electrodos de recambio, 1 par.	MERS STX 01
Electrodos de recambio, 1 par (antiguos).	SE3S 646 V2

### Millicell-CM (50/pq)

Membrana transparente Biopore de 0,4 µm, 12 mm	PICM 012 50
Membrana transparente Biopore de 0,4 µm, 30 mm	PICM 030 500

### Millicell-HA (50/pq)

Membrana HAFT de 0,45 µm, 12 mm	PICM 012 50
Membrana HAFT de 0,45 µm, 30 mm	PIHA 030 50

### Millicell-CM (50/pq)

Membrana Isopore de policarbonato de 0,4 µm, 12 mm	PIHT 012 50
Membrana Isopore de policarbonato de 3,0 µm, 12 mm	PITT 012 50
Membrana Isopore de policarbonato de 0,4 µm, 30 mm	PIHT 030 50
Membrana Isopore de policarbonato de 3,0 µm, 30 mm	PITT 030 50

### Millicell-CM (50/pq)

Membrana Isopore de policarbonato de 0,4 µm, 12 mm	PIHP 012 50
Membrana Isopore de policarbonato de 3,0 µm, 12 mm	PITP 012 50
Membrana Isopore de policarbonato de 12,0 µm, 12 mm	PIXP 012 50
Membrana Isopore de policarbonato de 0,4 µm, 30 mm	PIHP 030 50
Membrana Isopore de policarbonato de 3,0 µm, 30 mm	PITP 030 50
Membrana Isopore de policarbonato de 12,0 µm, 30 mm	PIXP 030 50

## Servicio técnico

Para obtener más información, póngase en contacto con su oficina de Millipore más próxima. En los EE.UU., llame al **1-800-MILLIPORE** (1-800-645-5476). Fuera de los Estados Unidos, consulte el catálogo Millipore para obtener el número de teléfono de la oficina más cercana a usted. También puede visitar nuestro sitio Web: <http://www.millipore.com> o póngase en contacto con el Servicio Técnico de Millipore mediante correo electrónico ([tech\\_service@millipore.com](mailto:tech_service@millipore.com)).

## Garantía

Millipore Corporation ("Millipore") garantiza que sus productos cumplen las correspondientes especificaciones publicadas siempre que se utilicen de acuerdo con las correspondientes instrucciones, por un periodo de un año a partir de la fecha de expedición. **MILLIPORE NO OFRECE NINGUNA OTRA GARANTÍA, EXPLÍCITA NI IMPLÍCITA. NI GARANTIZA LA COMERCIALIZACIÓN NI LA ADECUACIÓN DE SUS PRODUCTOS PARA UN FIN PARTICULAR.**

Esta garantía y los datos, características y descripciones de los productos Millipore que aparecen en los catálogos y otra literatura impresa publicada por Millipore no pueden ser alterados más que por un escrito firmado por la dirección de Millipore. Por tanto, cualquier recomendación, verbal o escrita, que esté en contradicción con la garantía o con las publicaciones citadas, no está autorizada, y en caso de existir, no debe ser tenida en cuenta.

En la aplicación de esta garantía, la única obligación de Millipore es la reparación o reposición, a su libre elección, del producto o la parte de él dentro del periodo de garantía siempre que la existencia de dicho defecto le sea comunicada inmediatamente por el cliente. Si después de realizar las acciones razonables, Millipore no pudiera reparar o reponer el producto o parte del él, entonces Millipore devolvería al cliente el dinero pagado por el producto o parte de él. **MILLIPORE NO SE RESPONSABILIZA DE LOS DAÑOS CONSECUTIVOS, INCIDENTALES O ESPECIALES, NI DE CUALQUIER OTRO PERJUICIO INDIRECTO RESULTANTE DE LAS PÉRDIDAS ECONÓMICAS O LOS DAÑOS A LA PROPIEDAD OCASIONADOS A CUALQUIER CLIENTE POR LA UTILIZACIÓN DE SUS PRODUCTOS.**