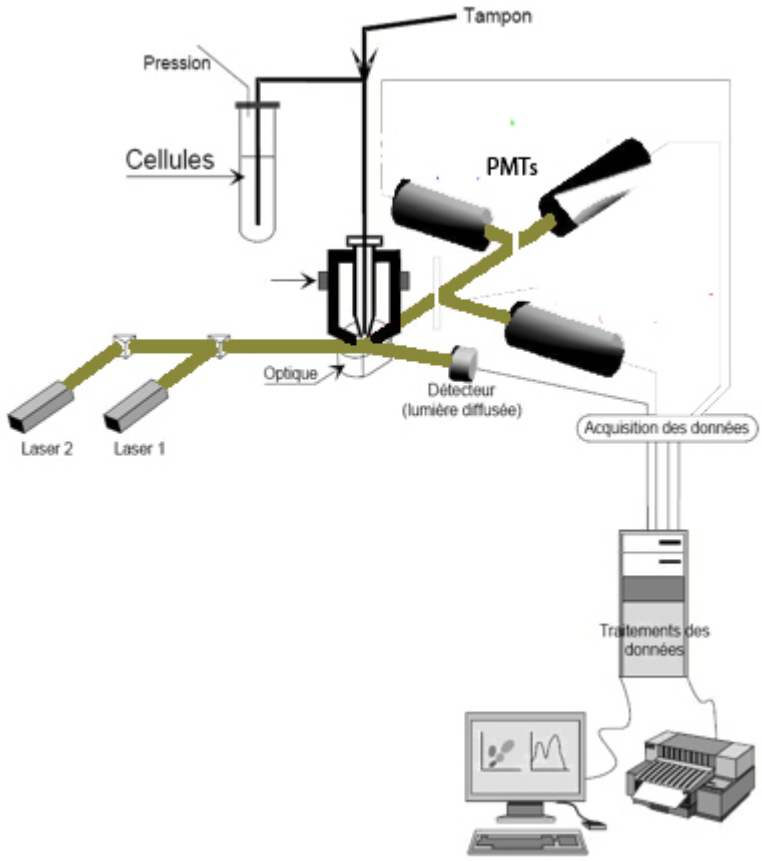
PLATEFORME D'INGÉNIERIE CELLULAIRE ET ANALYSES DES PROTÉINES

ytomètre de flux

Accueil > Équipements > *Cytomètre de flux*

DEFINITION



Cette technique consiste à faire défiler très rapidement (plusieurs milliers/seconde) les unes derrière les autres, des cellules en suspension monocellulaire devant un faisceau laser.

Pour chaque cellule, sont mesurées très précisément : la fluorescence émise à diverses longueurs d'ondes (de 3 à 9 signaux de fluorescence analysés simultanément suivant les appareils) et la lumière diffusée, recueillie dans 2 directions différentes (l'une peut être corrélée avec la taille et la seconde avec la réfringence et la granulosité de la cellule).

L'appareil peut ainsi analyser les cellules selon plusieurs paramètres et définir des "sous populations" homogènes pour les regrouper selon des critères choisis. Pour chaque sous population on peut calculer l'effectif, le pourcentage qu'il représente par rapport à la population totale, la moyenne de chacun des paramètres, les écarts standards, etc... On peut également voir si deux paramètres sont liés entre eux (coefficient de corrélation...).

Le système acquis sur la plateforme est un cytomètre analyseur BD FACS Canto II.
Il est équipé de trois lasers à 488nm, 633nm et 407nm. Il permet l'analyse simultanée de 8 fluorescences.

APPLICATIONS

Selon la spécificité des réactifs fluorescents utilisés pour colorer les cellules, on a accès à l'étude quantitative de nombreuses caractéristiques : présence d'un antigène, quantité d'ADN ou d'ARN, activité enzymatique, viabilité, etc... Tous ces critères peuvent être mis en corrélation. L'avantage de cette technique est de réaliser des analyses précises sur des critères très différents et très nombreux, de séparer les cellules (y compris clonage et tri de populations très rares) avec une très grande pureté en condition stérile, de ne pas abimer les cellules.

Par contre, les cellules doivent être impérativement mises en suspension. Leur nombre, pour envisager une analyse, doit être de quelques centaines de milliers au minimum. De plus, on ne possède pas d'image des cellules analysées (seulement une quantification en unités arbitraires de chaque paramètre mesuré); on ne peut donc localiser le signal mesuré dans la cellule. Enfin, chaque cellule n'étant analysée qu'à un unique instant donné, on ne peut faire de véritable étude cinétique portant sur une même cellule.

Les applications sont très diverses en raison de la grande variété des réactifs utilisables :
• étude des marquages immunofluorescents,
•étude du cycle cellulaire et ses différentes phases sur des cellules vivantes (Hoescht) ou perméabilisées (iodure de propidium ou iodure de propidium/BrdU) ainsi que le cycle cellulaire de microorganismes comme les levures ou les bactéries,
•étude de l'apoptose des cellules,
•quantification de l'ADN (étude du cycle et de la ploïdie cellulaire...),
•caryotype en flux (analyse et tri de chromosomes),
•activité enzymatique,
•étude des flux ioniques, étude du flux calcique, mesure du pH intracellulaire,
•typage lymphocytaire, ...

Caractéristiques du Cytomètre de flux