

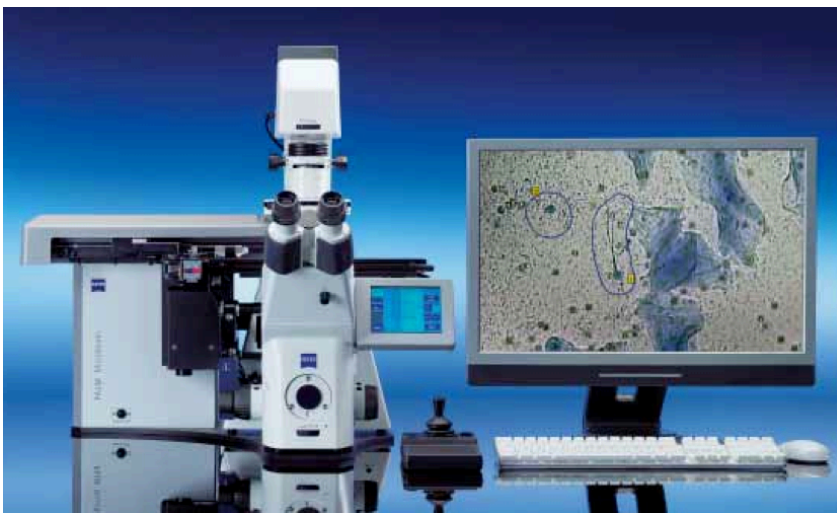


PLATEFORME D'INGÉNIERIE CELLULAIRE ET ANALYSES DES
PROTÉINES

ARACTÉRISTIQUES DU SYSTÈME PALM® MICROBEAM

[Accueil](#) > [Équipements](#) > [Microdissection laser](#)

MICRODISSECTEUR LASER PALM MICROBEAM, ZEISS



GÉNÉRALITÉS

Les techniques de microdissection ont pour but d'isoler, sous un contrôle morphologique, des cellules ou des groupes de cellules pour effectuer des études de biologie moléculaire. En effet, la complexité des tissus a rendu les résultats des techniques biologiques « classiques » souvent d'interprétation difficile : les tissus analysés pour le contenu en protéines ou en ARN ou en ADN l'étaient de façon globale.

L'ensemble des cellules constituant un tissu était broyé quel que soit leur type tissulaire (tissus épithéliaux, tissu conjonctif de soutien, vaisseaux, nerfs etc....) mélangeant ainsi tous les extraits cytosoliques. Les techniques de microdissection se sont toujours voulues comme une alternative aux méthodes globales permettant, grâce à un contrôle morphologique, une hyper-sélection des cellules à analyser.

DESCRIPTION DÉTAILLÉE

Le système PALM® Microbeam utilise une technologie brevetée de microdissection sans contact et catapultage par pression laser permettant la collecte des échantillons sans contaminations.

La découpe est réalisée par le faisceau d'un laser pulsé (355 nm) est concentré au travers d'un objectif à forte ouverture numérique en un point focal < 1m.

La concentration du faisceau laser permet la découpe des échantillons d'intérêt par mouvement de la platine de microscope, de manière à conserver l'angle optimum de découpe du laser à 90°C par rapport à l'échantillon.

En utilisant un objectif x100 à immersion, une taille de spot laser de 600 nm peut être atteinte, autorisant par exemple la découpe de noyaux ou de chromosomes en plaque métaphasique. La découpe préliminaire de la région d'intérêt permet d'isoler physiquement l'échantillon de toute contamination provenant du tissu environnant.

La fonction spécifique consiste dans la récupération des échantillons sans contact par catapultage laser. L'énergie du laser est utilisée pour propulser l'échantillon contre la gravité dans un tube collecteur. Pour ce faire, le spot laser est défocalisé automatiquement par logiciel de manière à libérer l'énergie dans un plan différent de l'échantillon.

Ce procédé permet donc d'isoler les échantillons d'intérêt sans contamination et sans dommage aux molécules d'intérêt. La combinaison de la découpe suivie du catapultage autorise aussi bien l'extraction de larges zones de tissus que l'isolement de cellules uniques.

Par ailleurs, le système autorise un certain degré d'humidité des préparations, permettant de travailler à la fois sur des préparations fixées et des préparations vivantes (cultures cellulaires par exemple). Le système permet également de travailler, suivant les échantillons, aussi bien sur lames avec membranes que sur lames de verre standard.

Microscope inversé Axio Observer Z1

Le système est basé sur un microscope inversé AXIO OBSERVER Z1 entièrement motorisé. Cette configuration est particulièrement adaptée pour les travaux de routine, pour les travaux en fluorescence ainsi que pour les applications sur cellules vivantes.

L'écran TFT permet le contrôle complet du microscope motorisé et donne en permanence les informations complètes du système.

Microdissecteur Laser PALM® MB IV

Le système PALM Microbeam est équipé d'un laser pulsé à l'état solide avec les caractéristiques suivantes :

- laser UV refroidi, compacte et robuste, avec une longueur d'onde de 355 nm,
- laser contrôlé par le logiciel Robosoft ou manuellement avec une pédale,
- énergie des pulses < 90J et durée de pulse < 2nsec,
- fréquence de pulse maximale de 100 pulses par seconde,
- diamètre de focalisation laser < 1m à partir de l'objectif x40.

C'est un laser solide de type 3-Nd :YAG (355 nm), qui est garantie jusqu'à 20 millions de pulse. C'est un laser de haute précision qui permet une découpe rapide sous le principe de l'ablation à froid. La cadence de découpe du laser a été fixée à 100 Hz.

La découpe de l'échantillon est gérée à la fois par le laser et par la platine, le laser étant fixe.

L'échantillon est tout d'abord découpé par le laser, puis après une défocalisation du laser, l'échantillon est catapulté dans l'élément collecteur.

Le catapultage, réalisé par une impulsion d'énergie, est un système actif qui est parfaitement maîtrisé et garanti que l'échantillon est bien envoyé dans le système collecteur. Le système est compatible avec l'utilisation de lames standards sans membrane, de lames avec membranes et de lames « frame slide » ne comprenant qu'une membrane sans support de verre.