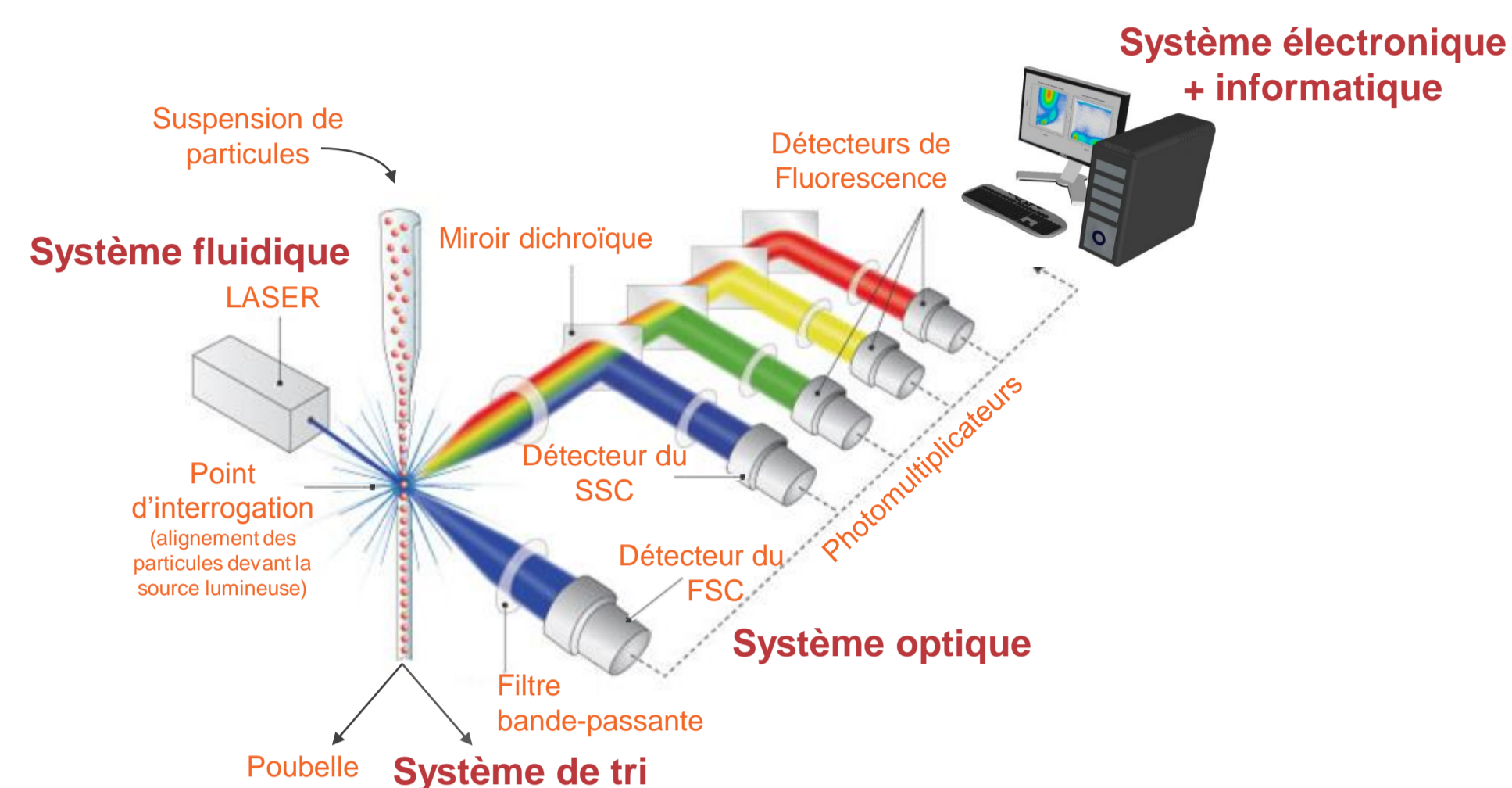


Qu'est-ce que la Cytométrie en Flux (CMF) ?

La CMF est une technique rapide et précise de caractérisation individuelle des cellules en suspension ou de particules isolées entraînées par un flux liquide jusqu'à une source d'excitation lumineuse. Elle permet également le tri cellulaire haute vitesse, qui correspond à une séparation physique de différentes sous-populations à partir d'une population hétérogène.

Principe de fonctionnement d'un cytomètre en flux



Qu'est-ce que URCA Cyt ?

URCA Cyt est le Plateau technique de cytométrie en flux de la Plateforme Technologique Santé de l'URCA. Ce plateau est ouvert à l'ensemble des équipes de recherche de l'URCA et aux équipes externes publiques et privées.

Différents types de prestations sont proposées :

- Analyse multiparamétrique : possibilité de formation des utilisateurs et mise à disposition des cytomètres analyseurs
- Tri haute vitesse : les tris sont effectués uniquement par le personnel du plateau
- Aide et conseils pour la conception des protocoles d'analyse et l'exploitation des résultats

L'accès et le fonctionnement du plateau sont soumis à des règles définies par une charte dans le respect des BPL et des règles d'utilisation des appareils.

Un comité de pilotage constitué d'experts scientifiques et techniques se réunit régulièrement pour définir les règles de cette structure.

Instruments disponibles et caractéristiques

Analyseurs

Analyseur-Trieur



LASER	Longueur d'onde d'excitation	Filtre	Fluorochromes Liste non exhaustive	BD FACSCalibur	BD LSRFortessa	BD FACSAria II
Violet	405/407 nm	450/50	BV421, Horizon V450, Dapi, Pacific Blue	-	•	-
		450/40	AmCyan, V500, BV510, Pacific Orange	-	•	-
		525/50		-	•	-
		530/30		-	•	-
Bleu	488 nm	610/20	BV605, Qdot605	-	•	-
		530/30	FITC, AlexaFluor488, GFP, CFSE	•	•	•
		576/26	PE, IP	-	-	-
		585/42		-	-	-
		610/20	PE-Texas Red, PE-CF594, IP	-	-	-
		710/50		-	-	-
		695/40	PerCP-Cy5.5, PerCP, 7AAD	-	-	-
		670LP		-	-	-
Jaune-Vert	561 nm	780/60	PE-Cy7	-	-	-
		585/15	PE, DsRed, tdTomato	-	•	-
		610/20	PE-Texas Red, IP, mCherry, ECD	-	•	-
		670/30	PE-Cy5, 7AAD	-	•	-
		710/50	PE-Cy5.5	-	•	-
Rouge	640/633 nm	780/60	PE-Cy7	-	•	-
		670/14	APC, AlexaFluor647, APC-AlexaFluor750	-	•	-
		661/20		-	•	-
		661/16		-	•	-
		730/45	AlexaFluor700, APC-R700	-	•	-
		780/60	APC-Cy7, APC-H7	-	•	-

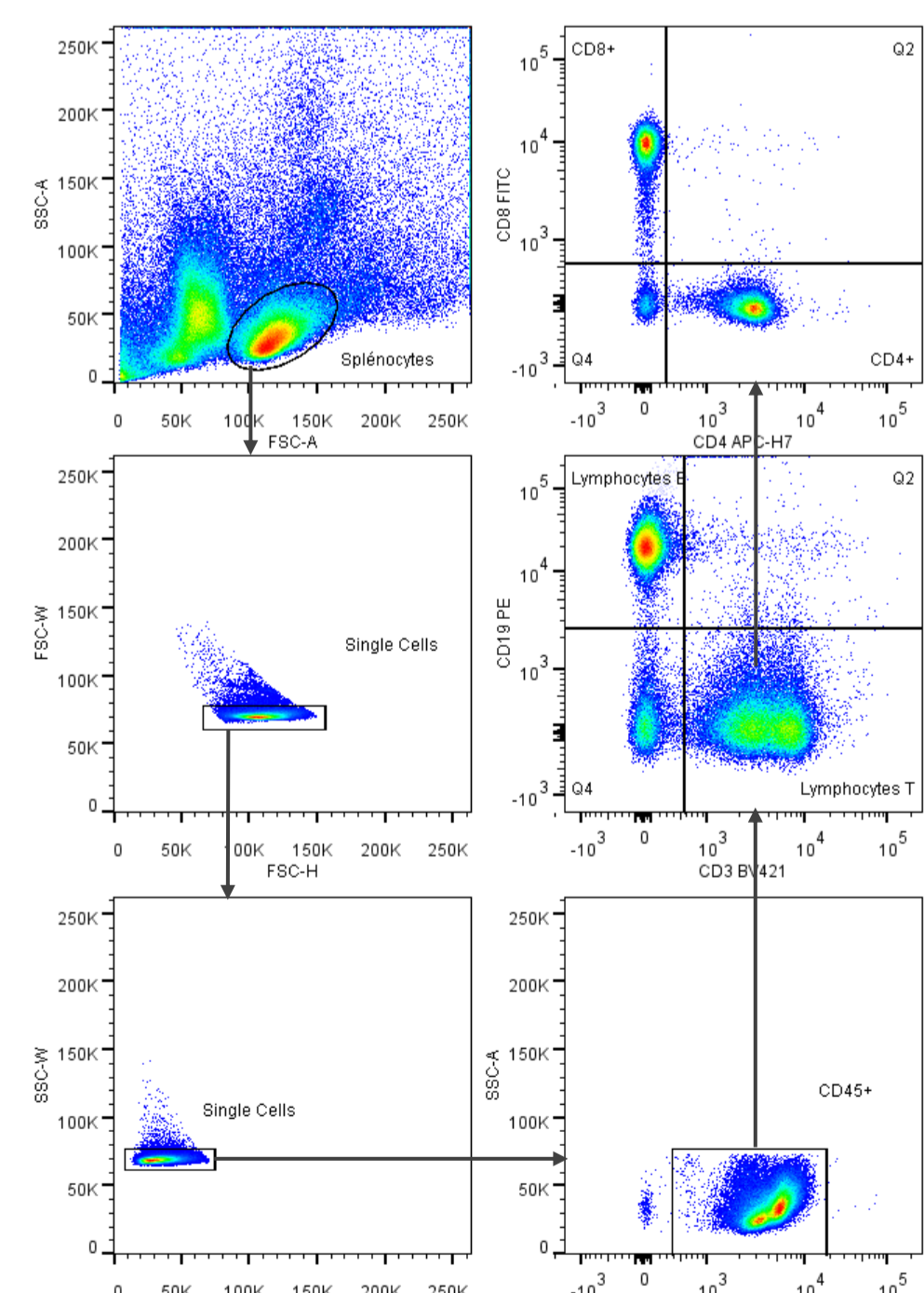
	BD FACSCalibur	BD LSRFortessa	BD FACSAria II
* Configuration modulable et upgradable	2 LASER 4 détecteurs de fluo	4 LASER 13 détecteurs de fluo *	3 LASER 9 détecteurs de fluo *
Logiciel d'acquisition	CellQuest	FACSDiva	FACSDiva
Standardisation des analyses automatisées	-	+	+
Tri	-	-	Jusqu'à 4 populations Modes enrichissement, pureté, clonage Tri sur tubes (1,5-15 mL), lame, plaque (6-384 puits)

Le plateau dispose d'un poste d'analyse dédié aux traitements des données (BD FACSDiva, FlowJo, ModFit, FCAPArray).

Applications

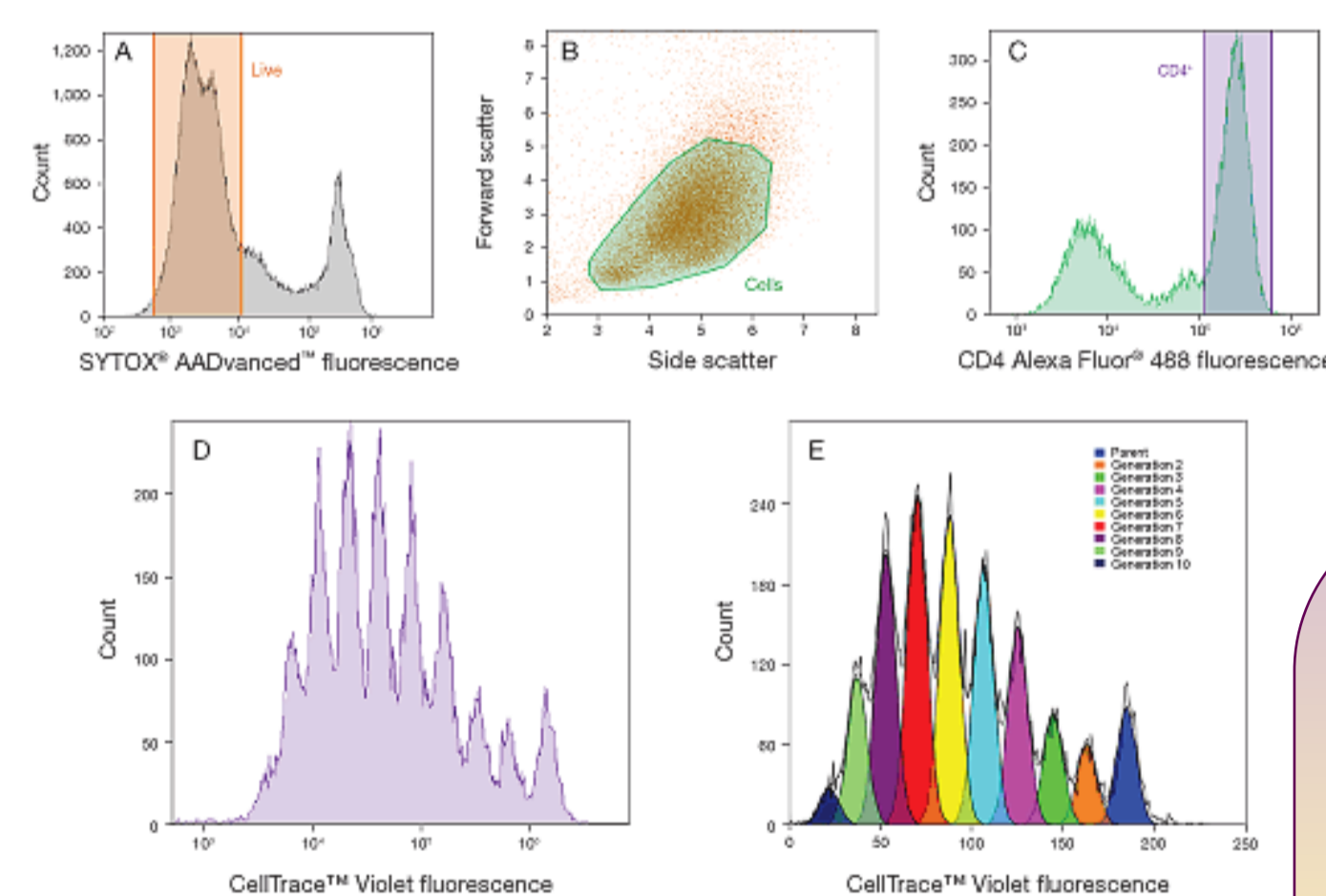
La CMF constitue un outil particulièrement puissant pour la biologie cellulaire car elle permet une analyse qualitative et quantitative de la cellule. Elle permet 1/ de déterminer de nombreuses caractéristiques physiques et biochimiques d'une suspension cellulaire : activation, maturation, prolifération, ou mort cellulaire... , 2/ de séparer des informations concernant des cellules différentes présentes dans la même suspension voire de trier ou de séparer physiquement ces cellules. Par ailleurs, les applications de la CMF sont en constantes évolutions et concernent aussi bien la recherche fondamentale, la recherche clinique que la recherche au niveau industriel. La CMF se développe dans des domaines très variés : hématologie, immunologie, cancérologie, pharmacologie, génétique, microbiologie, biologie végétale, toxicologie, océanologie, œnologie, cosmétologie, agro-alimentaire...).

Phénotypage



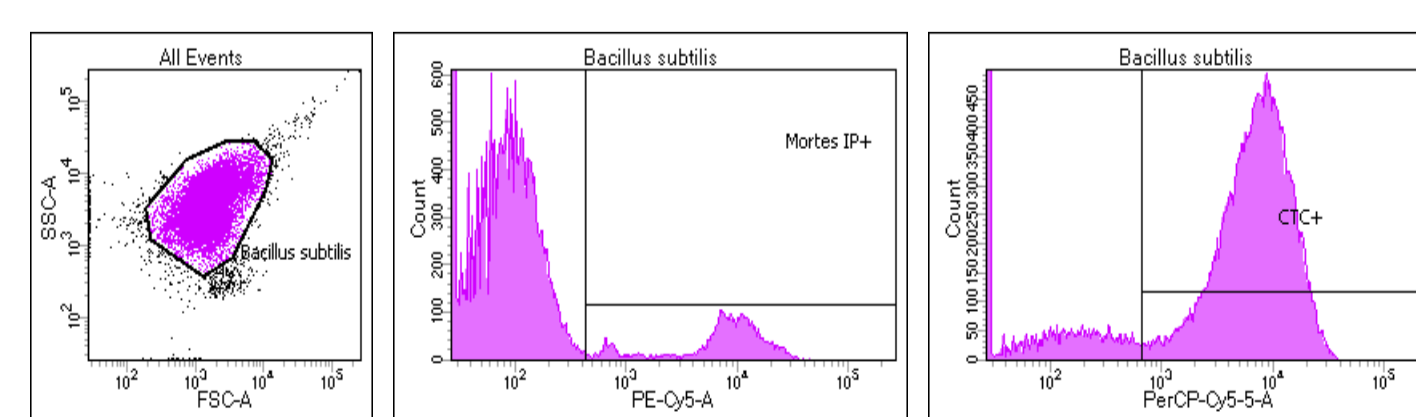
Immunophénotypage multiparamétrique de splénoctytes de souris

Prolifération



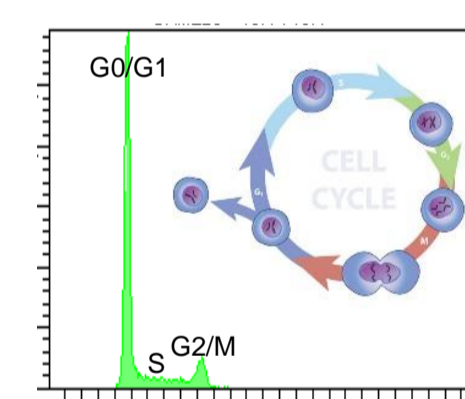
Analyse multiparamétrique de la prolifération de lymphocytes humains après stimulation
<http://www.lifetechnologies.com/fr>

Viabilité/Vitalité

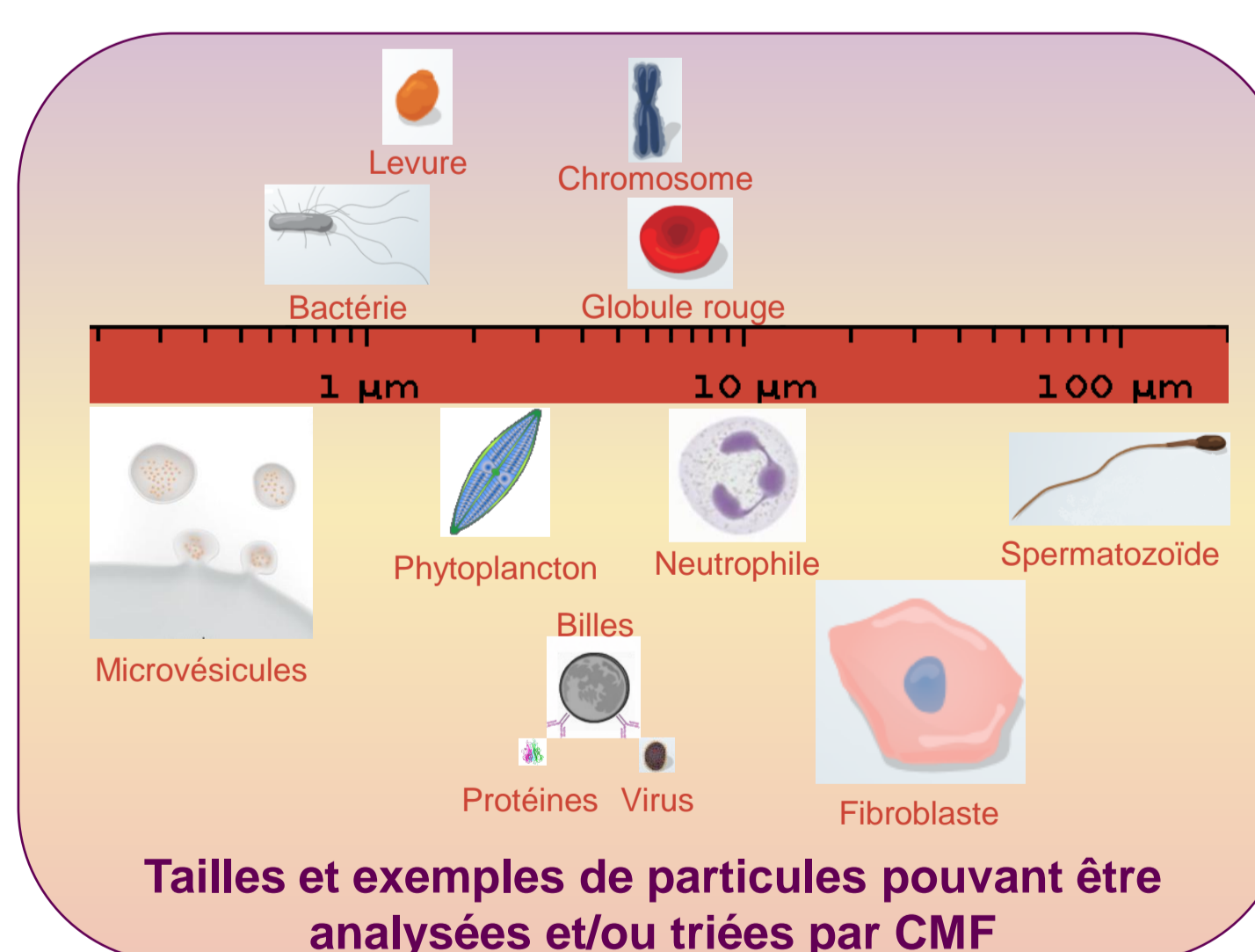


Analyse de la viabilité (iodure de propidium) et de la vitalité (5-cyano-2,3-ditolyl tetrazolium chloride) sur culture fraîche de *Bacillus subtilis*

Cycle cellulaire

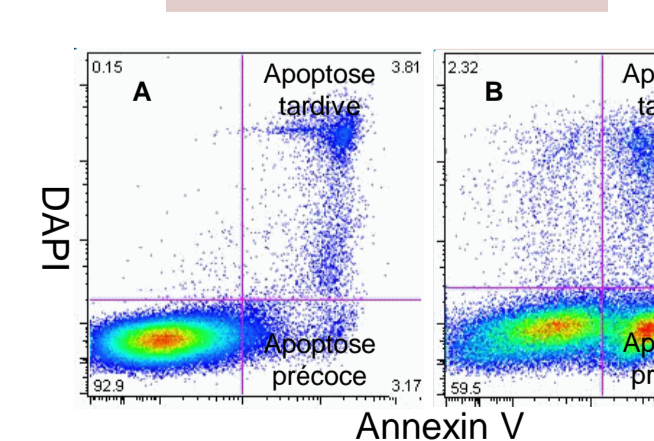


Analyse des phases du cycle cellulaire par marquage de l'ADN (IP)



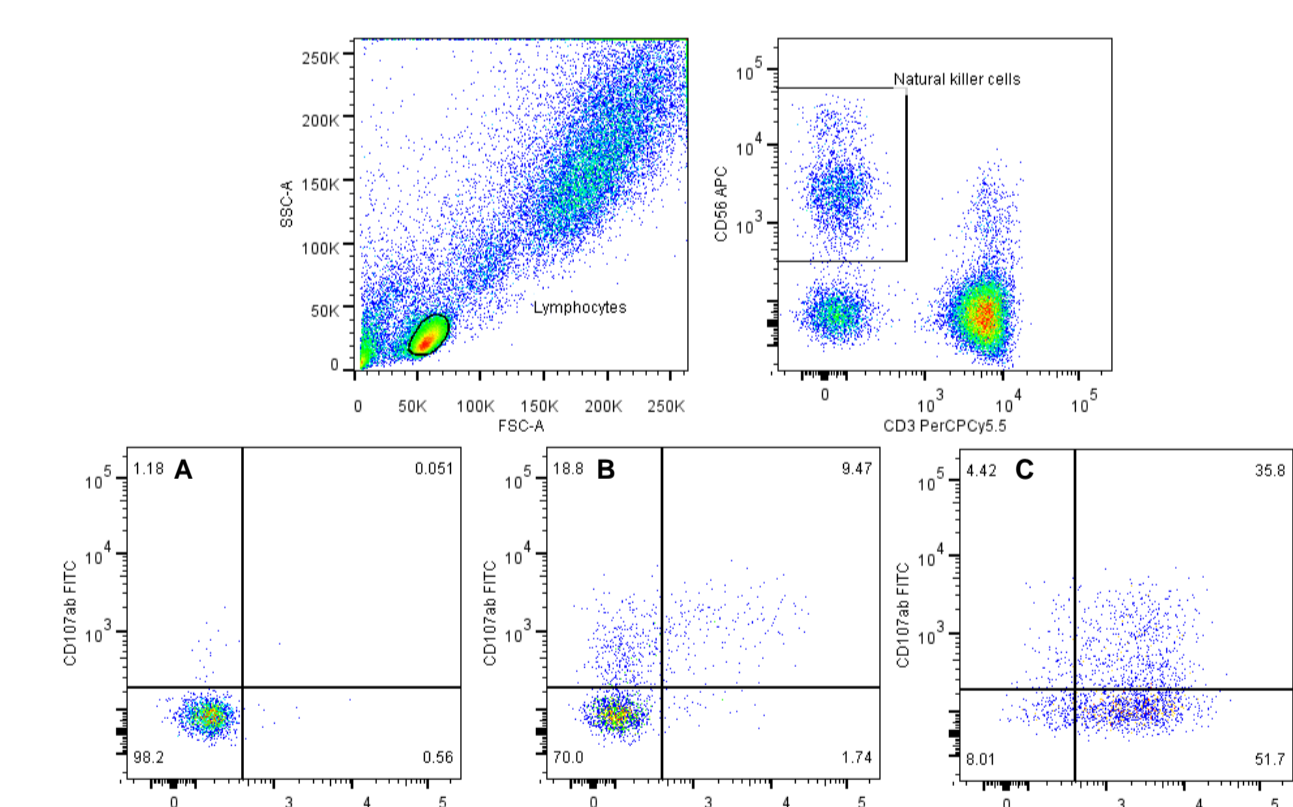
Tailles et exemples de particules pouvant être analysées et/ou triées par CMF

Apoptose



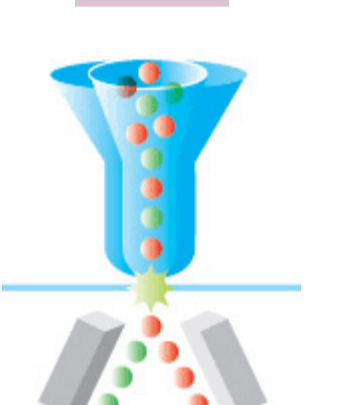
Analyse de l'apoptose sur une lignée cellulaire de lymphocytes. (A) Absence de staurosporine, (B) présence de staurosporine

Marquage intracellulaire

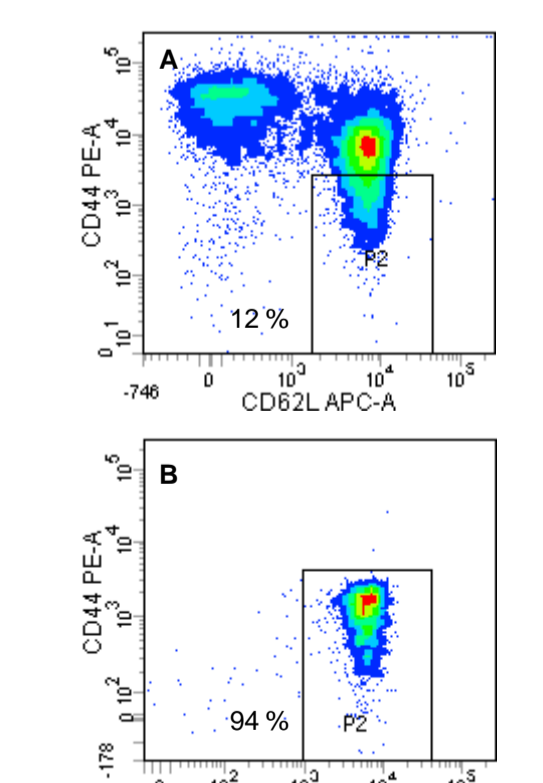


Analyse fonctionnelle de cellules NK. (A) absence de stimulation, (B) en présence de cellules cibles K562, (C) après stimulation PMA/Ionomycine

Tri

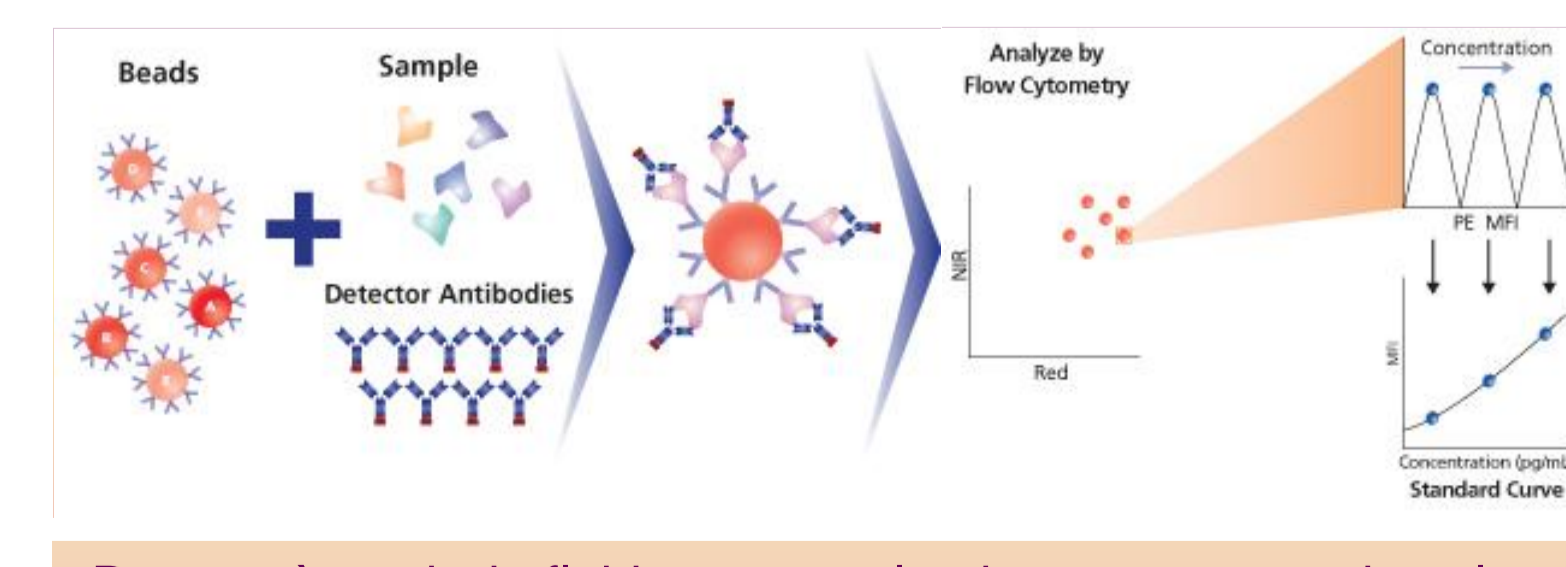


Remise en culture
Biologie moléculaire
Analyse
macroscopique/microscopique



Enrichissement de cellules T CD4+ naives. (A) Avant tri, (B) Après tri.

Quantification de protéines solubles



Dosage à partir de fluides corporels, de surnageants de culture ou de lysats cellulaires
<http://www.bdbiosciences.com>