

Qu'est ce que la Cytométrie en Flux ?

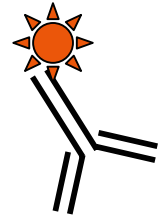
- ⊗ Mesures simultanées des différentes caractéristiques d'une cellule.
- ⊗ Mesures effectuées pendant que les cellules défilent dans une chambre d'analyse, à une vitesse de 50 à 100.000 cellules par seconde.

Quelles informations un Cytomètre en Flux peut-il nous donner sur une cellule ?

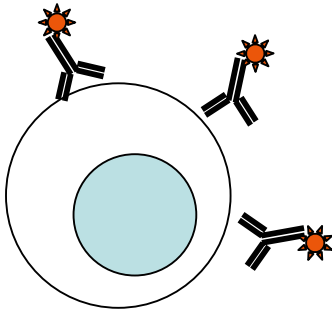
- ⊗ Sa taille relative (Forward Scatter - FSC)
- ⊗ Sa granularité relative ou complexité interne (Side Scatter - SSC)
- ⊗ Son intensité relative de fluorescence
(FL1, FL2, FL3 et FL4 voire FL5, FL6, ...)

Immunofluorescence

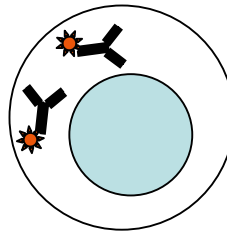
Anticorps ou molécules couplées à des fluorochromes /
molécules fluorescentes pour mettre en évidence la
présence/absence de marqueurs



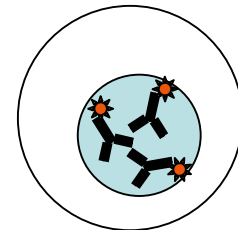
Marquage
extracellulaire



Marquage
intracellulaire

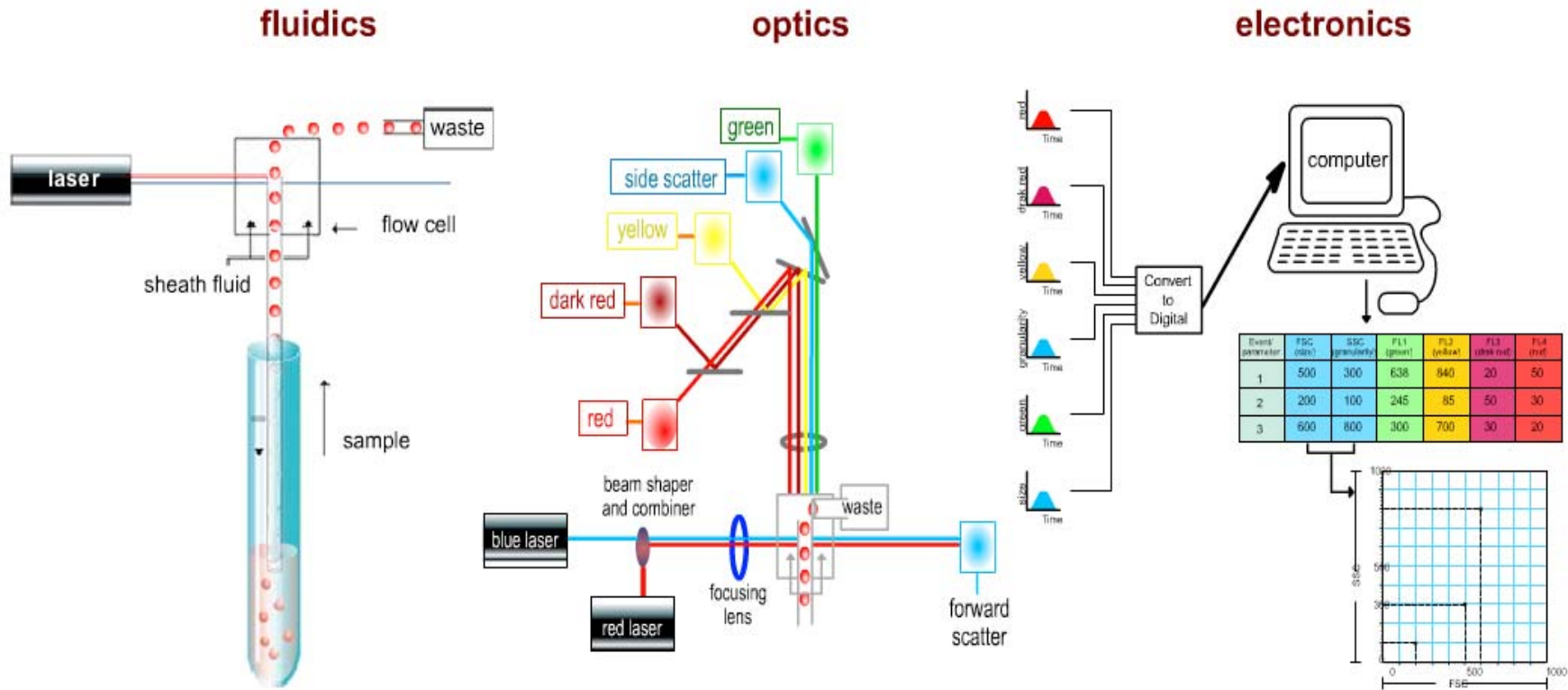


Marquage
intranucléaire



Cytomètre en flux: 3 composants

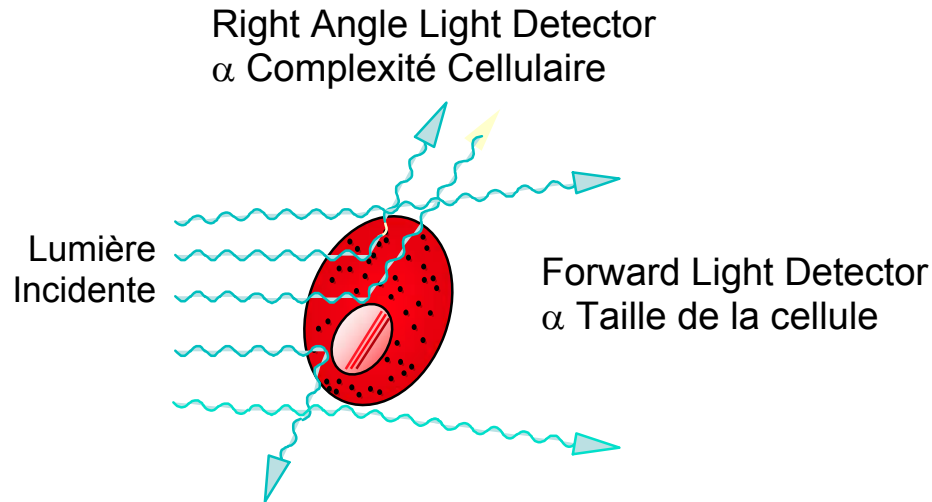
A flow cytometer is composed of three main systems: fluidics, optics, and electronics.



Appareils

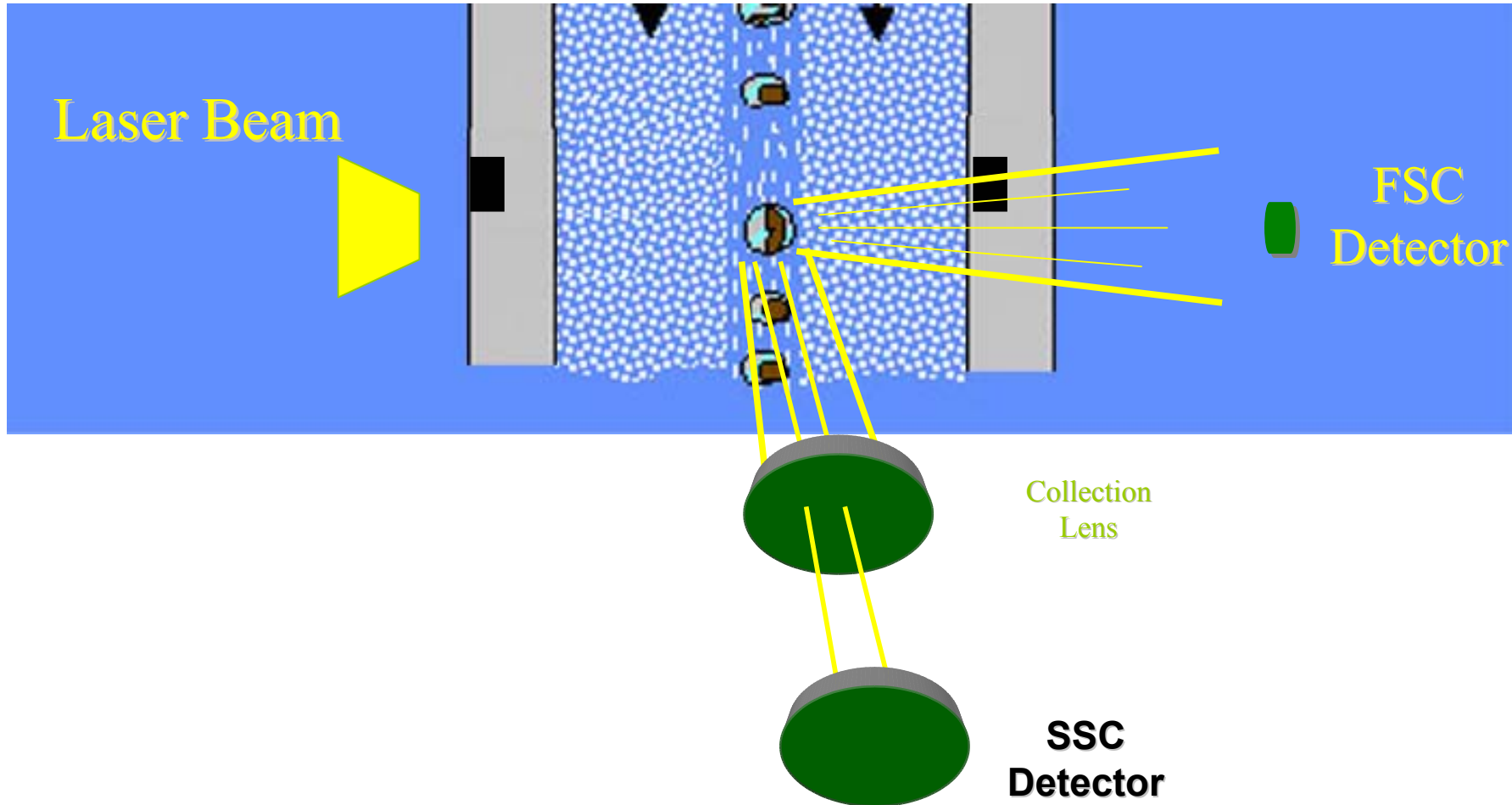
- FACS: **Fluorescence** Activated Cell Sorter
- Appareils:
 - BD Biosciences:
 - FACScan (Analyseur, 1988, 3 couleurs)
 - FACStar (Trieur, 1988)
 - FACScalibur (Analyseur, 1998, 4 couleurs)
 - FACS Canto (Analyseur, 2005, 5 couleurs)
 - FACS LSR2 (Analyseur, 2005, 9-11 couleurs)
 - FACS Aria (Trieur, 2004, 9 couleurs)

FSC et SSC ?

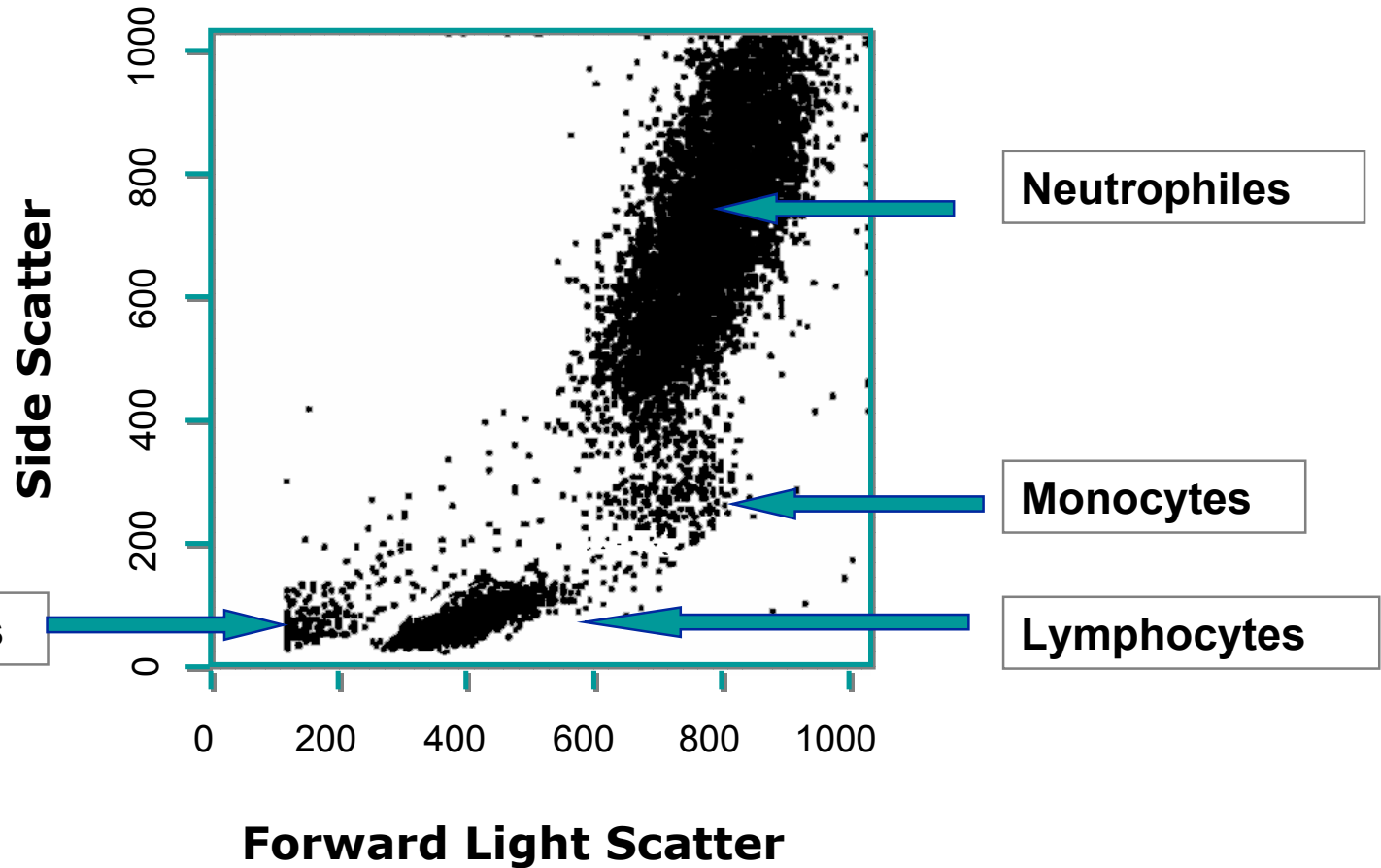


- **Forward Scatter**—lumière diffractée aux petits angles
 - ◆ proportionnelle à la taille de la cellule et à d'autres facteurs
 - ◆ Détectée dans l'axe de la lumière incidente
- **Side Scatter**—lumière diffractée aux grands angles
 - ◆ proportionnelle à la granularité de la cellule, à sa complexité
 - ◆ Détectée à 90° par rapport à l'axe de la lumière incidente

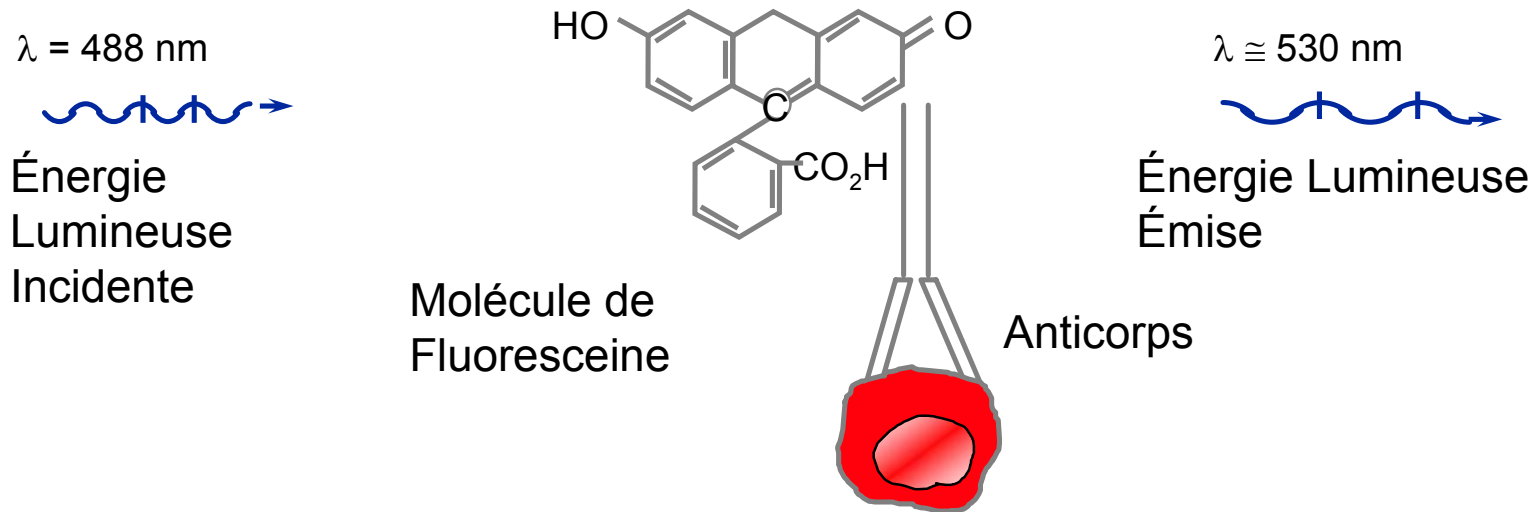
Détecteurs FSC/SSC



Sang Total Lysé



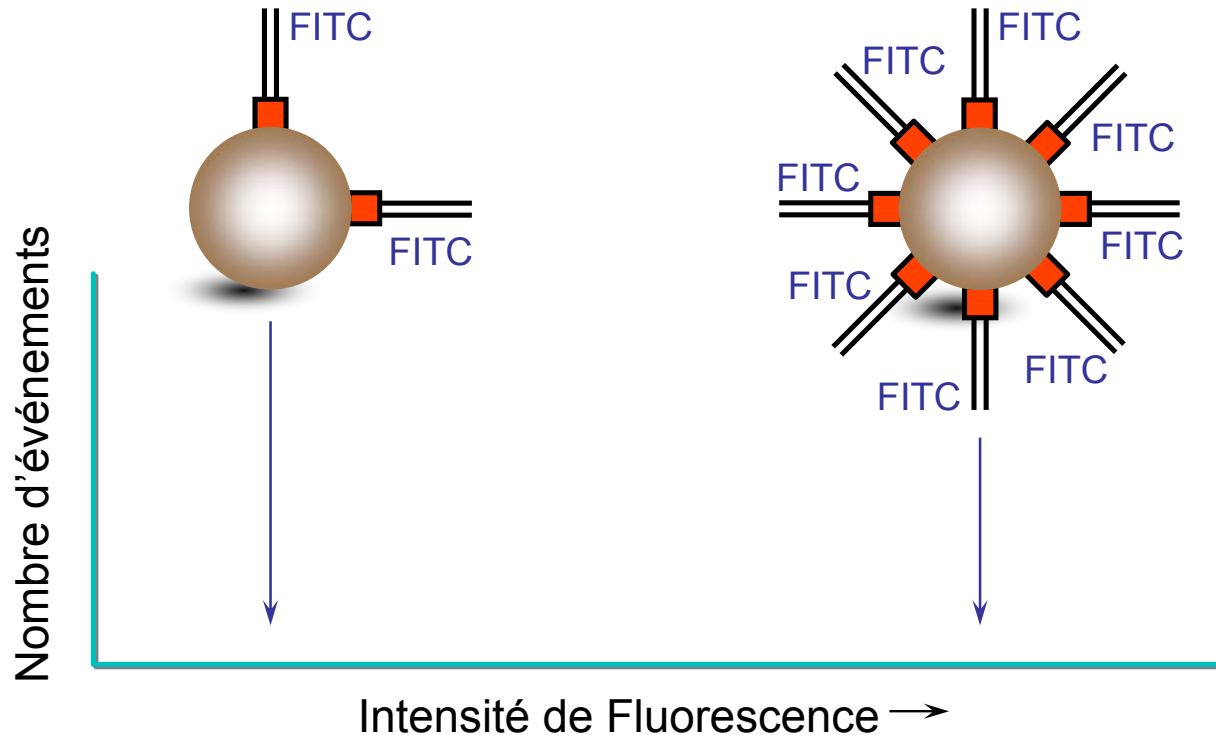
Qu'est ce que la fluorescence?



- Le fluorochrome absorbe l'énergie provenant du Laser
- Le fluorochrome libère l'énergie absorbée par émission de photons de longueur d'onde supérieure appelée fluorescence.

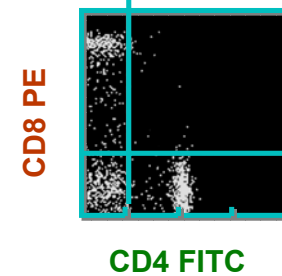
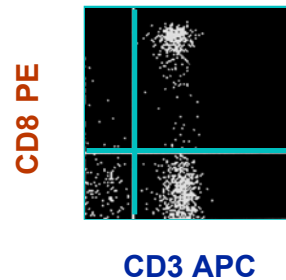
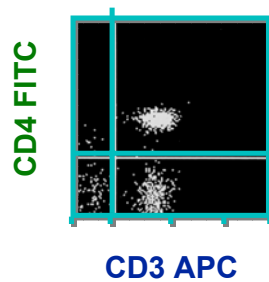
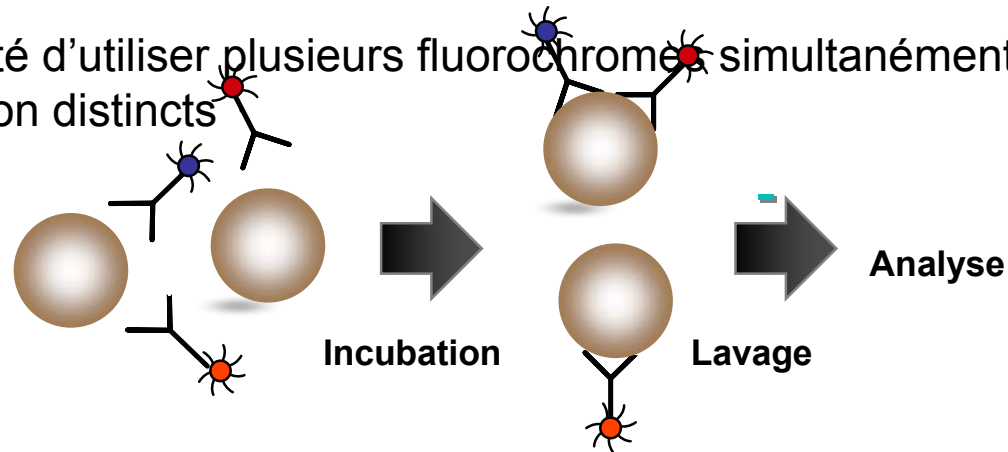
Fluorescence

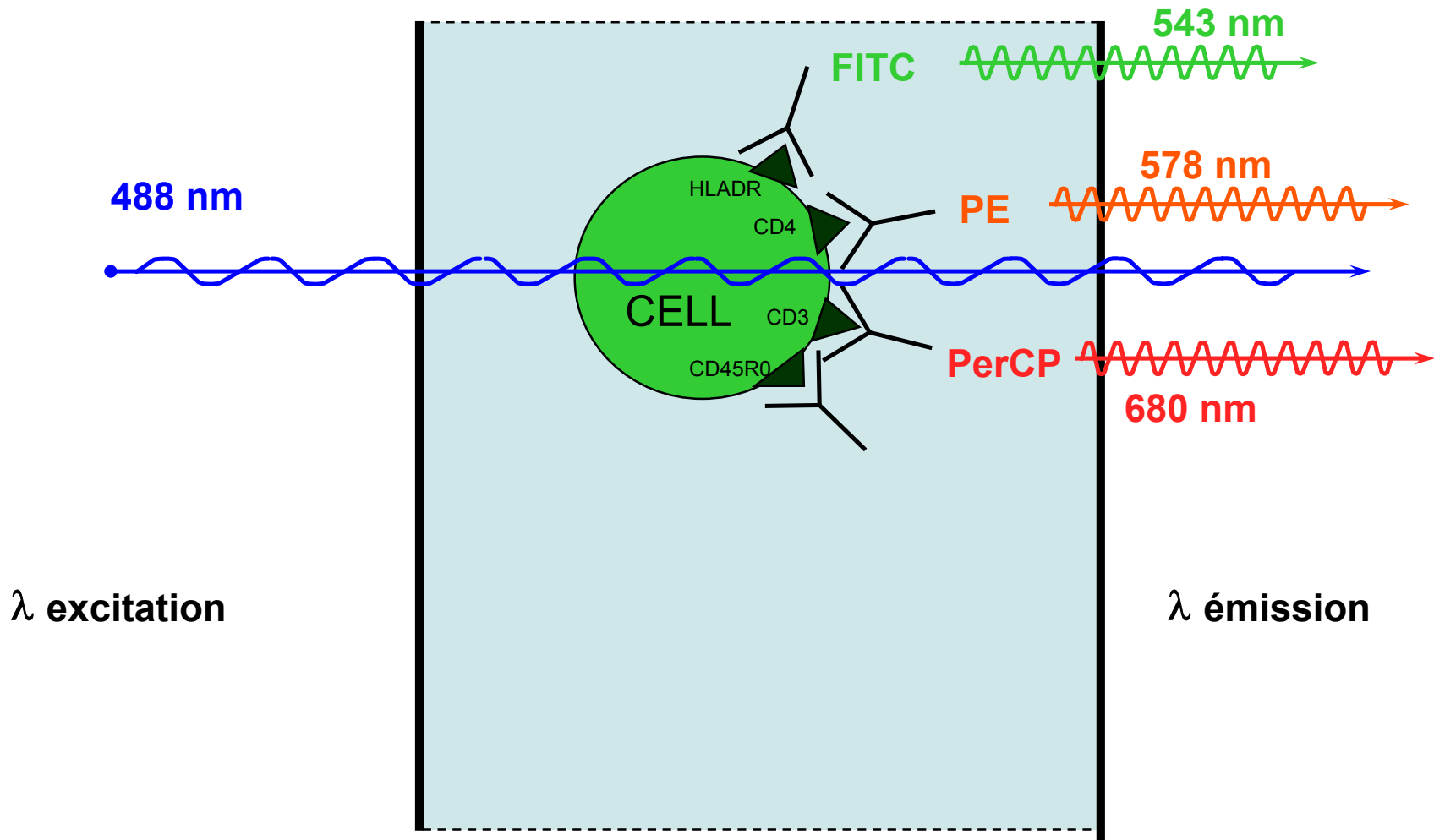
Intensité de fluorescence émise $\propto$ Nombre de sites de fixation
(QB)



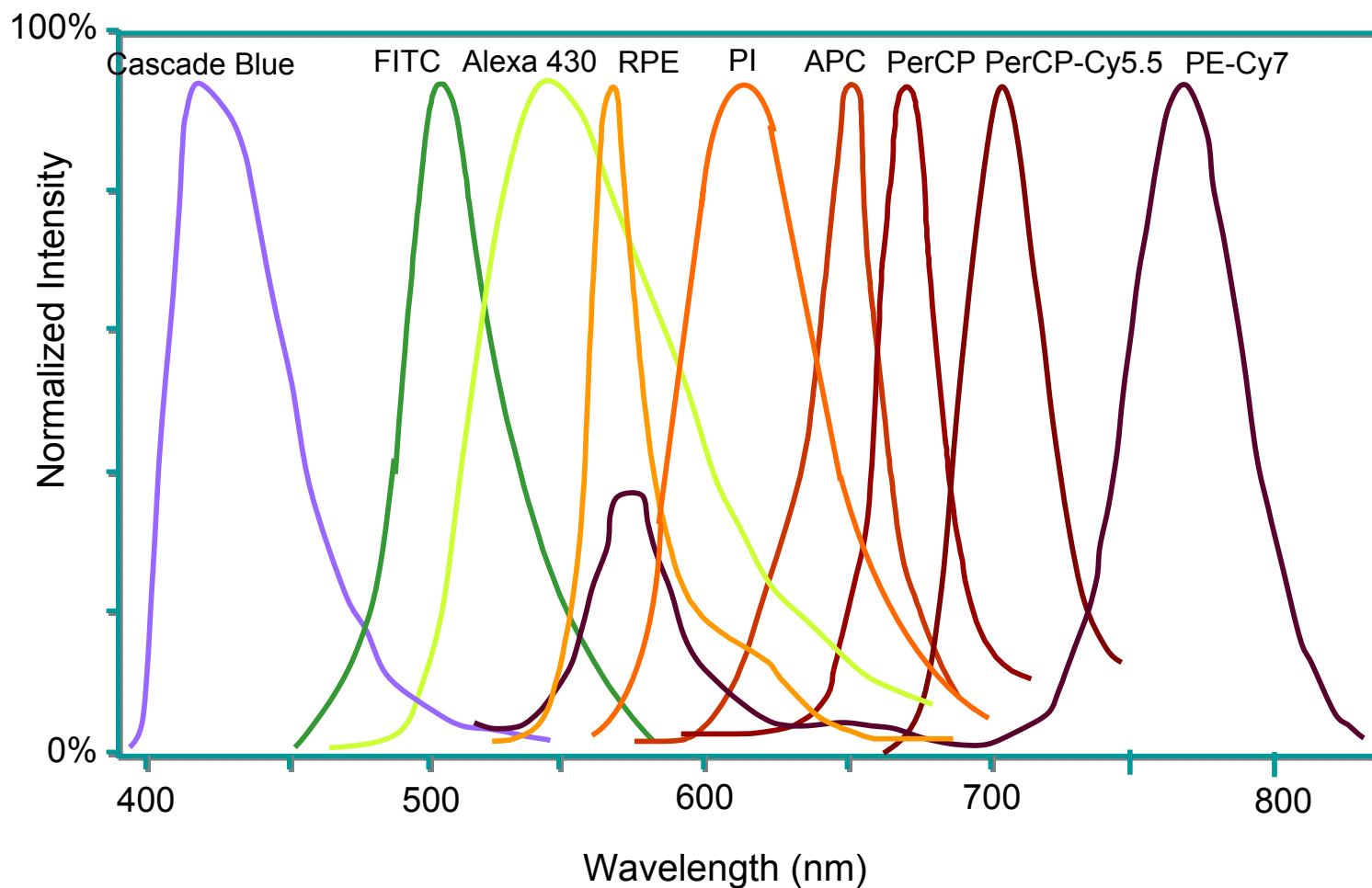
Marquage multicolore

- Possibilité d'utiliser plusieurs fluorochromes simultanément si spectres d'émission distincts





Spectres d'émission



Analyse des phenotypes

Morphologie des cellules du sang

