

CYTOMETRIE EN FLUX

SCIENCES EN TETE BIOLOGIE-ANNEE 2020-2021

Cette technique sert à caractériser, à quantifier et parfois à trier une population de cellules en suspension. Le principe est de créer un flux cellulaire qui passera à travers un rayon laser. Par de principe d'optique la lumière sera analysée via différents détecteurs puis l'ensemble des informations recueillis sera traité par ordinateur et générera un ensemble de donnée sous forme de graphique.

1. DESCRIPTION DE LA METHODE :

A- caractérisation et quantification

Tout d'abord, l'échantillon en suspension est mis en mouvement via une pompe à air ce qui va créer un flux cellulaire dans une colonne. Au bout celle-ci, il y a une buse c'est-à-dire un espace où le diamètre de la colonne est très faible afin que les cellules soient filtrées une par une. Puis elles passeront à travers un rayon laser. Là il y a trois types de détecteur :

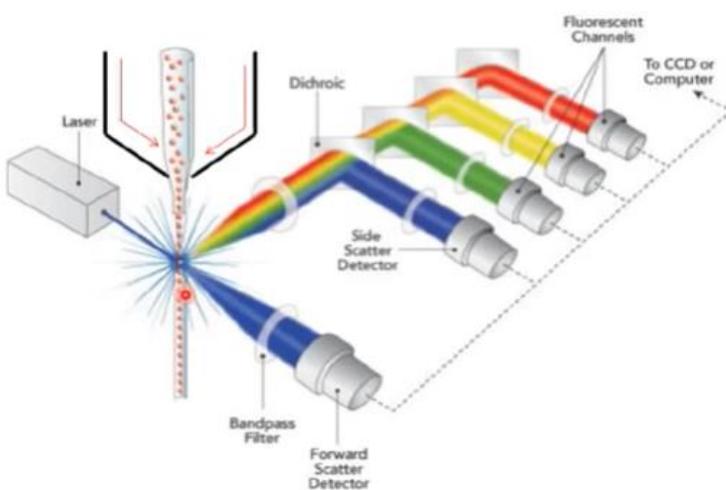


Figure 1 : schéma présentant le mécanisme de la cytométrie en flux sans triage [1]

- **FSC** : il est placé juste en face du rayon lumineux, il détecte le cône de lumière diffracté ainsi via un ordinateur on obtient une caractéristique qui est proportionnelle à la taille et la viabilité cellulaire. Plus la caractéristique FS est élevée plus la cellule est grande.

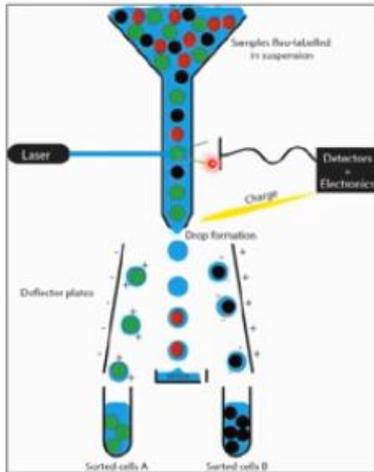
- **SSC** : il peut y en avoir plusieurs. Ils sont placés le plus souvent perpendiculairement au faisceau lumineux, ils évaluent la lumière dispersée. Ainsi ils caractérisent l'abondance des granulations c'est-à-dire la complexité de la cellule.

- **FIC** : la lumière transmise par le passage de la cellule passe à travers divers

filtres. Il détecte l'intensité de la fluorescence émise par des protéines spécifiquement marquées. Ainsi il peut s'avoir si la cellule possède la protéine d'intérêt et en quelle quantité.

B- Trier des cellules (FACS)

Certains cytomètres ont la capacité de trier les cellules de l'échantillon par le biais d'une analyse informatique (option à spécifier dans un programme). Tout d'abord les cellules sont isolées une par une dans des gouttelettes de liquide par action mécanique (vibration). Ensuite, l'ordinateur va charger les gouttelettes selon le critère qu'elle possède. Par exemple, si la cellule contient une protéine d'intérêt en grande quantité (détecté par fluorescence via le capteur FIC) l'ordinateur charge



la gouttelette positivement tandis que celles qui contiennent peu de protéine seront chargées négativement. Enfin ces gouttelettes chargées seront attirées sur une plaque de charge opposé et celles neutres seront jetées.

Figure 2 : schéma présentant le mécanisme de triage réalisé par la cytométrie en flux FACS [2]

2. LES APPLICATIONS

Dans le domaine de l'hématologie cette technique est très répandue pour le diagnostic des cellules malignes du sang. Elles sont repérées par l'analyse cytométrique du contenu anormal de la cellule (ADN). Elle est aussi utile pour l'études fondamentale du système immunitaire. Dans le domaine de l'océanographie et de la microbiologie, la cyrtométrie en flux est très utile pour dénombrer des populations d'algues fluorescente ou des contaminants en agro-alimentaire. De plus, elle est utilisée pour évaluer la présence de protéine membranaire ou pour analysé la transfection d'une protéine dans des cellules.

AVANTAGES ET INCONVENIENTS [3]

Avantages	Inconvénients
Analyse multiparamétrique	Trop grand volume d'information (parfois superflu pour analyse simple)
Meilleure approche statistique (évaluation d'un grand nombre de cellule)	Obligation d'avoir des cellules en suspension
Précise met en évidence la moindre anomalie cellulaire	Plus lent et plus couteuse que certaines techniques alternatives d'analyses

EN SAVOIR PLUS ET SOURCE

[1] Biomedical and biological sciences. « the principle of flow cytometry, 2018 https://www.youtube.com/channel/UCO5MYspi_UwWq1Pm5-7VZvA

[2] Biomedical and Biological sciences. « the principle of flow cymetry and FACS , 2018, <https://youtu.be/7bCZx5xPwt0>

[3] Cours de médecine 1 ère année. « CYTOLOGIE Cytométrie en flux », 2017, <https://youtu.be/sTGwuC-qik4>

[4] https://fr.wikipedia.org/wiki/Cytom%C3%A9trie_en_flux#Principales_applications