

Université de Bourgogne

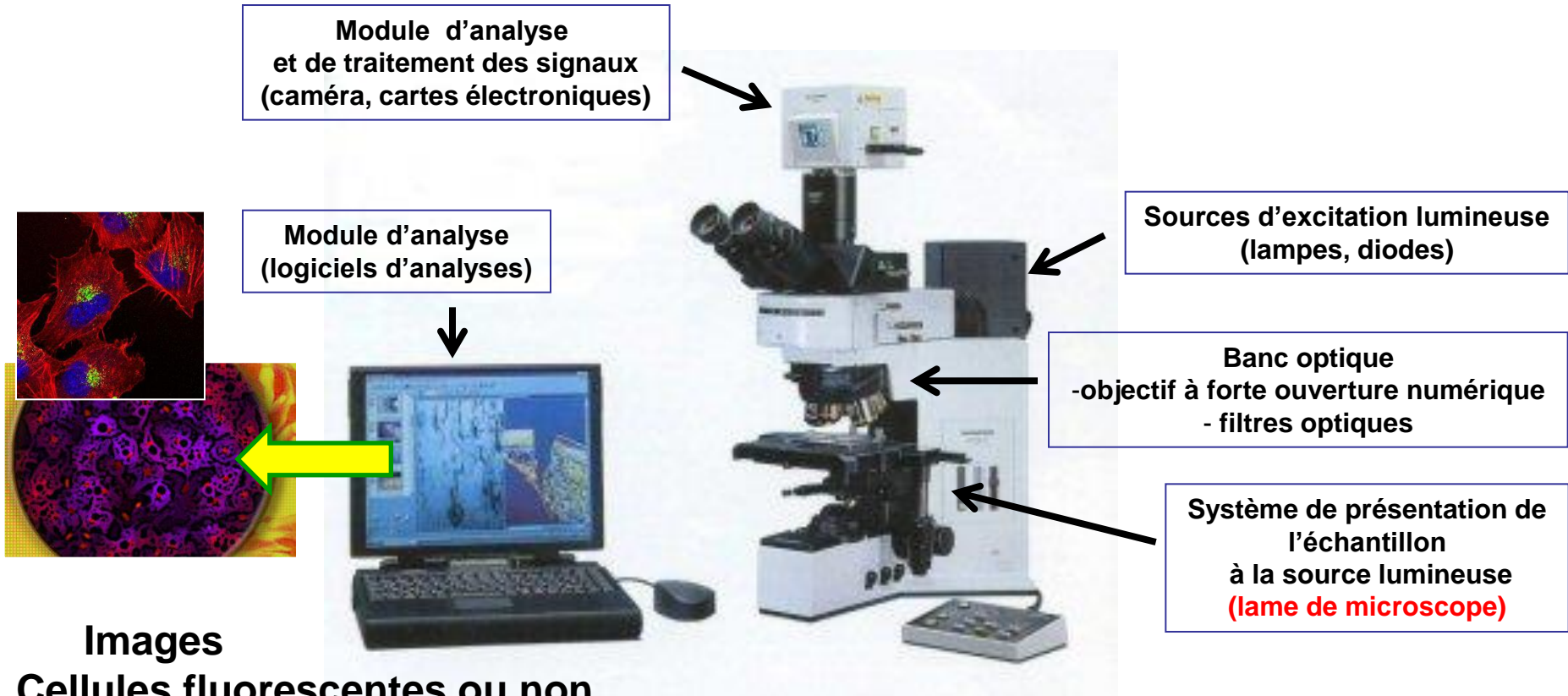
# LA CELLULE VUE PAR LE CYTOMETRISTE

Gérard LIZARD

Université de Bourgogne / Laboratoire Bio-peroxIL

(Biochimie du Peroxysome, Inflammation et Métabolisme Lipidique, EA 7270) / Inserm, Dijon, France

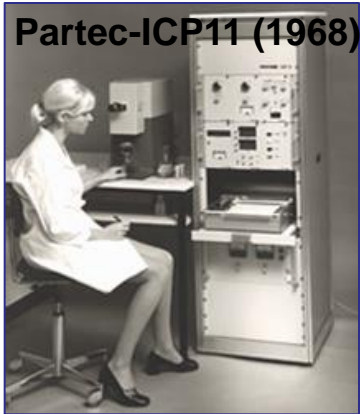
# La cellule vue par le microscopiste



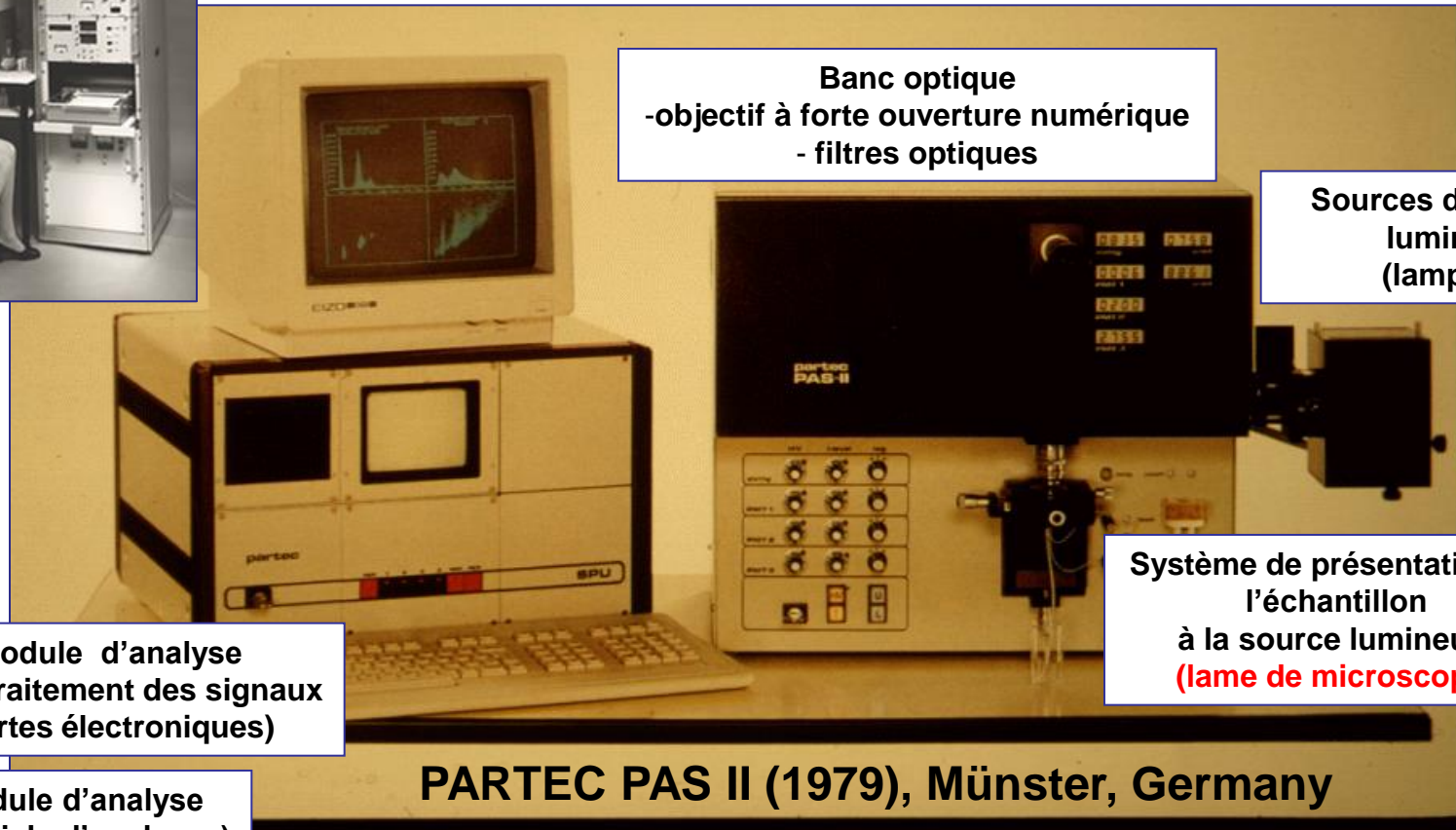
**Images**  
**Cellules fluorescentes ou non**  
**Tissus**

- **intérêt**: bien adapté pour les cellules adhérentes (morphologie, architecture cellulaire...)
- **limite**: non adapté à la quantification de la fluorescence cellule par cellule

# Du microscope au cytomètre en flux



Partec-ICP11 (1968)



Banc optique  
-objectif à forte ouverture numérique  
- filtres optiques

Sources d'excitation  
lumineuse  
(lampe UV)

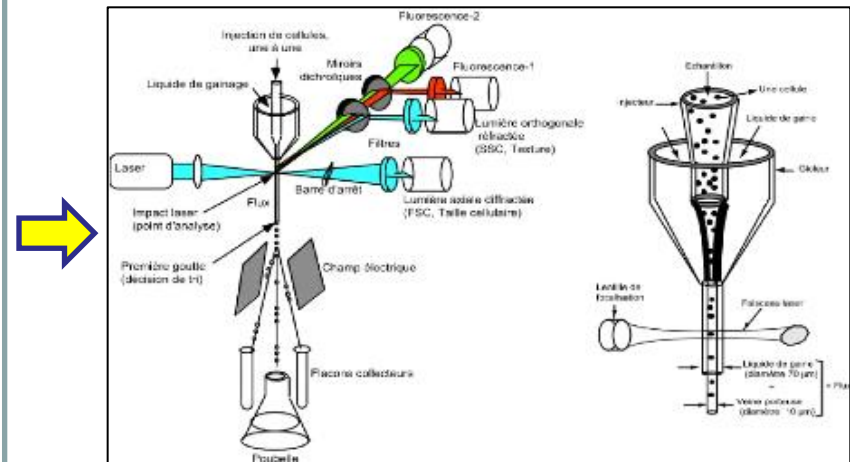
Système de présentation de  
l'échantillon  
à la source lumineuse  
(**lame de microscope**)

Module d'analyse  
et de traitement des signaux  
(cartes électroniques)

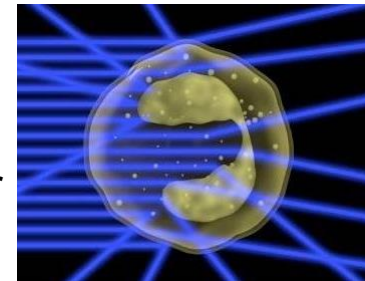
Module d'analyse  
(logiciels d'analyses)

PARTEC PAS II (1979), Münster, Germany

# La cellule vue par les cytomètres actuels

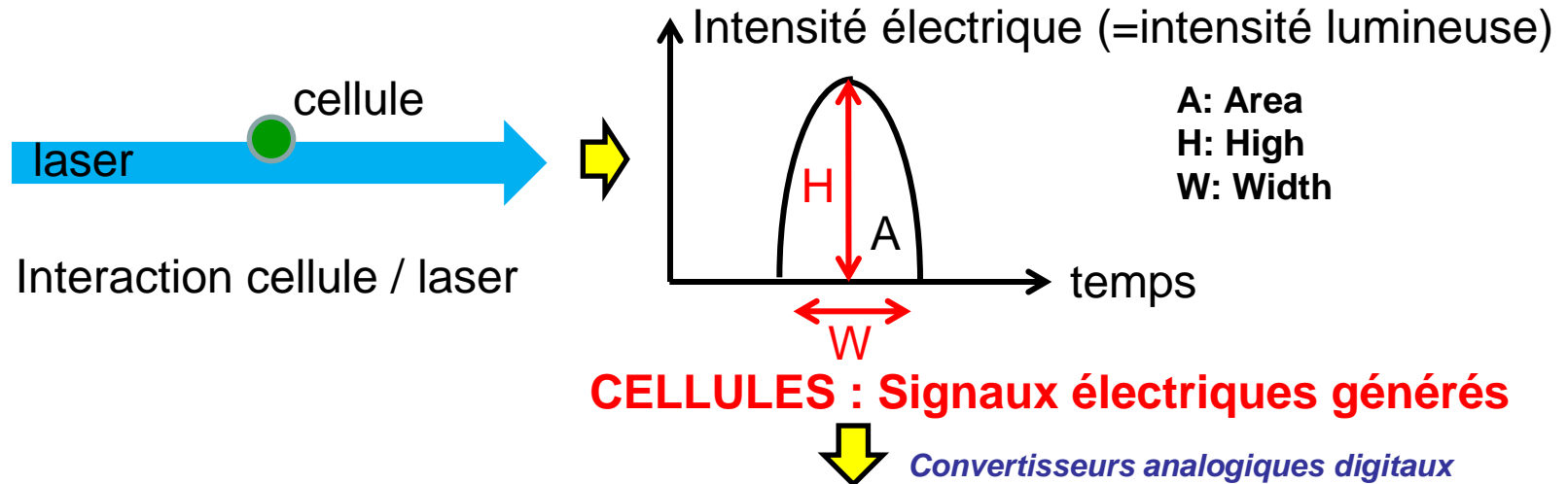


Cellules  
+  
Interaction laser



Photomultiplicateurs (photons/électrons);  
intensité lumineuse / intensité électrique  
**Signaux électriques**

# La cellule révélée au cytométriste : c'est quoi?



## 1 Cellule = 1 ensemble de valeurs

FSC (A, H, W) – Forward scatter (diffraction aux petits angles; taille)

SSC (A, H, W) – Side scatter (diffraction à 90°; granularité)

FL1 (A, H, W)

FL2 (A, H, W)

FL3 (A, H, W)

FL4 (A, H, W)

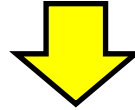
.....

Paramètre / Temps (flux ioniques)

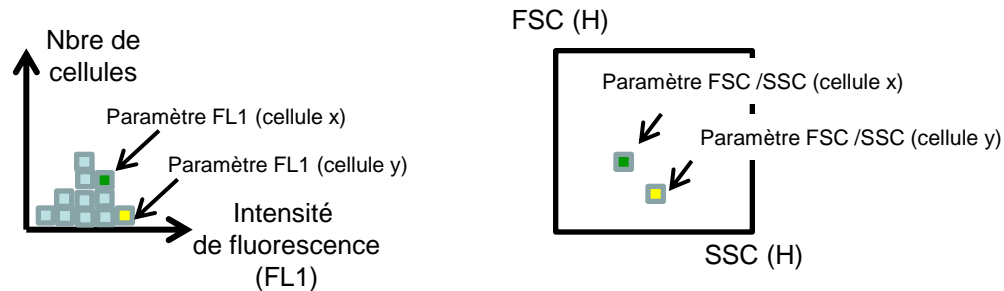
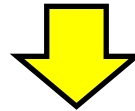
Fluorescences: (**valeurs arbitraires**) conditionnées par les jeux de filtres

# Cellules et populations cellulaires vues par le cytométriste : c'est quoi?

Paramètres FSC, SSC, FL1, FL2, FL3 .... (combinés ou non)



Répartition (fonction de répartition) sur échelle linéaire ou logarithmique



## Morphologie cellulaire

FSC (A, H, W) – Forward scatter (diffraction aux petits angles; taille)

SSC (A, H, W) – Side scatter (diffraction à 90°; granularité)

## Constituants cellulaires (ADN/ARN; protéines; lipides; sucres....)

FL1 (A, H, W)

FL2 (A, H, W)

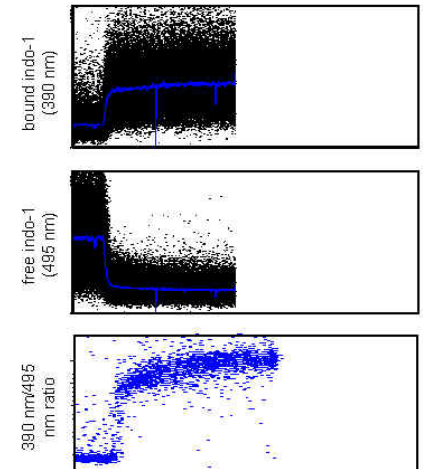
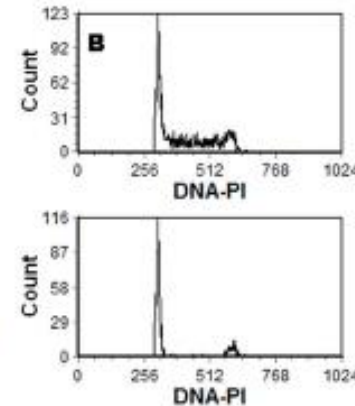
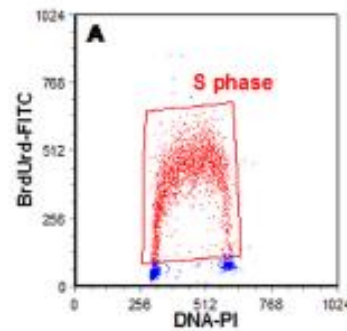
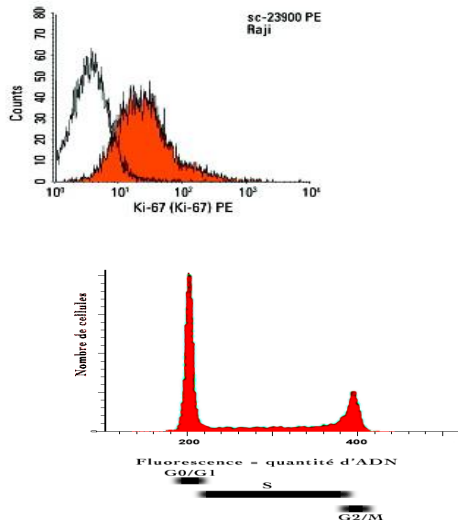
FL3 (A, H, W)

FL4 (A, H, W)

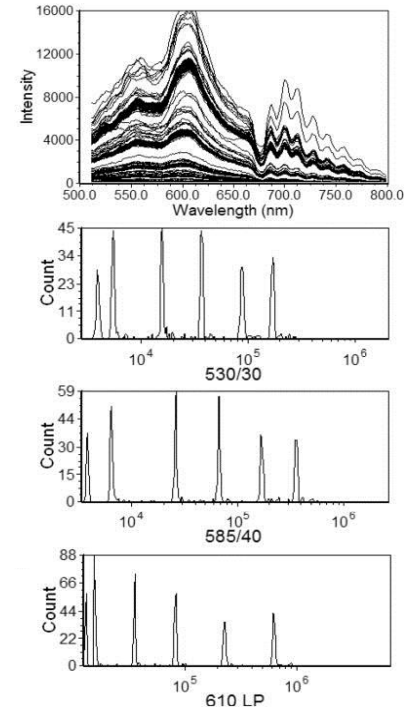
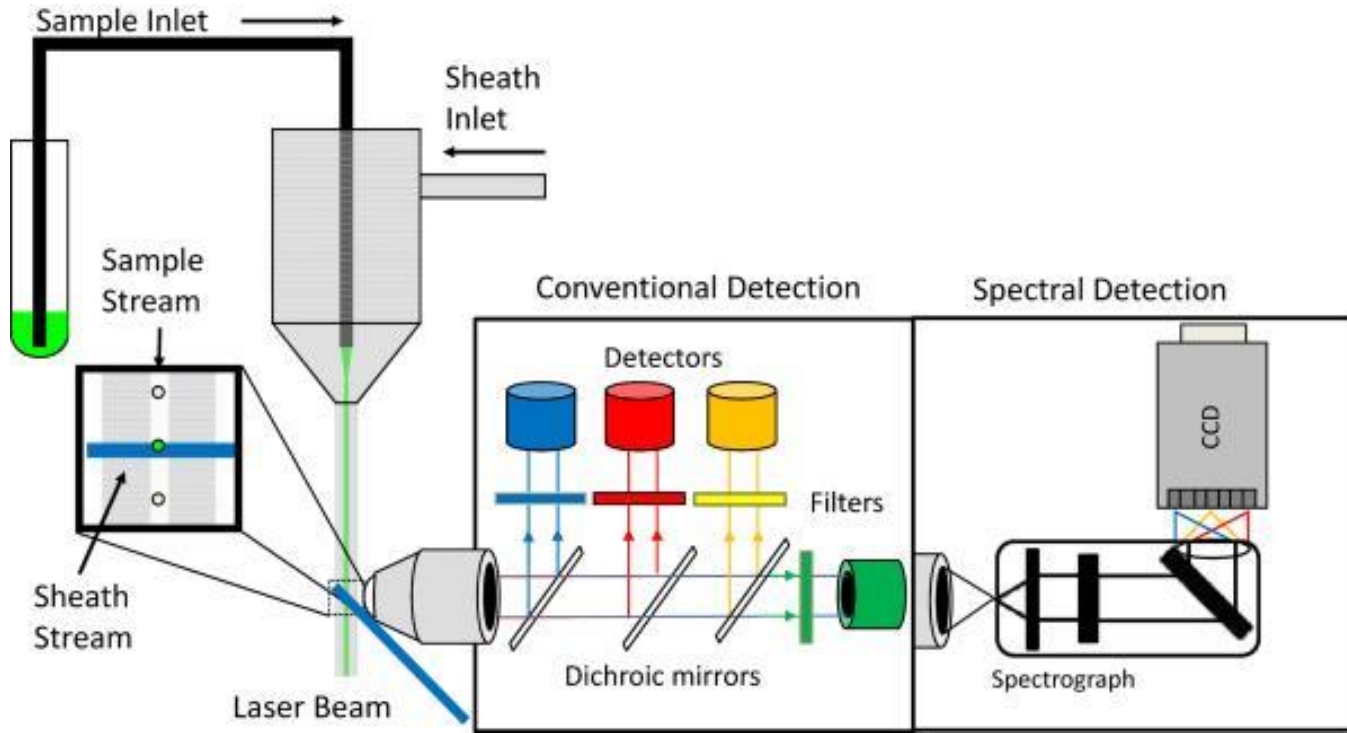
.....

# Populations cellulaires vues par le cytométriste : cellules analysées, paramètres mesurés et représentations graphiques

- Procaryotes: bactéries
- Eucaryotes: cellules animales et végétales
- Cellules mortes (fixées) ou vivantes
- Morphologie (approximative: FSC et SSC)
- Fonctions/métabolisme (mitochondries, lysosomes, peroxyosomes)
- Flux ioniques
- Contenu en ADN/prolifération cellulaire
- Antigénicités (Interactions cellulaires - FRET - DuoLink)



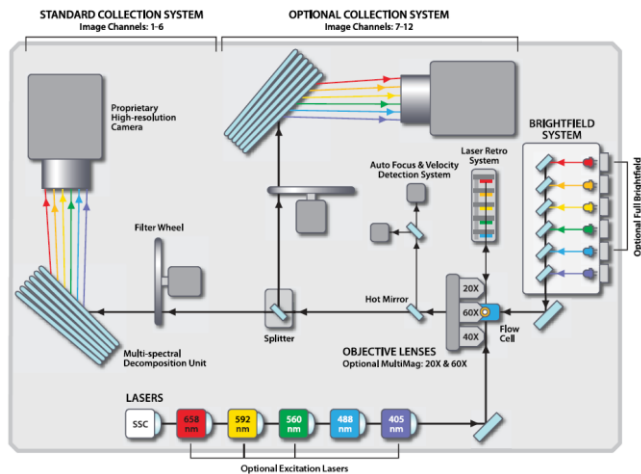
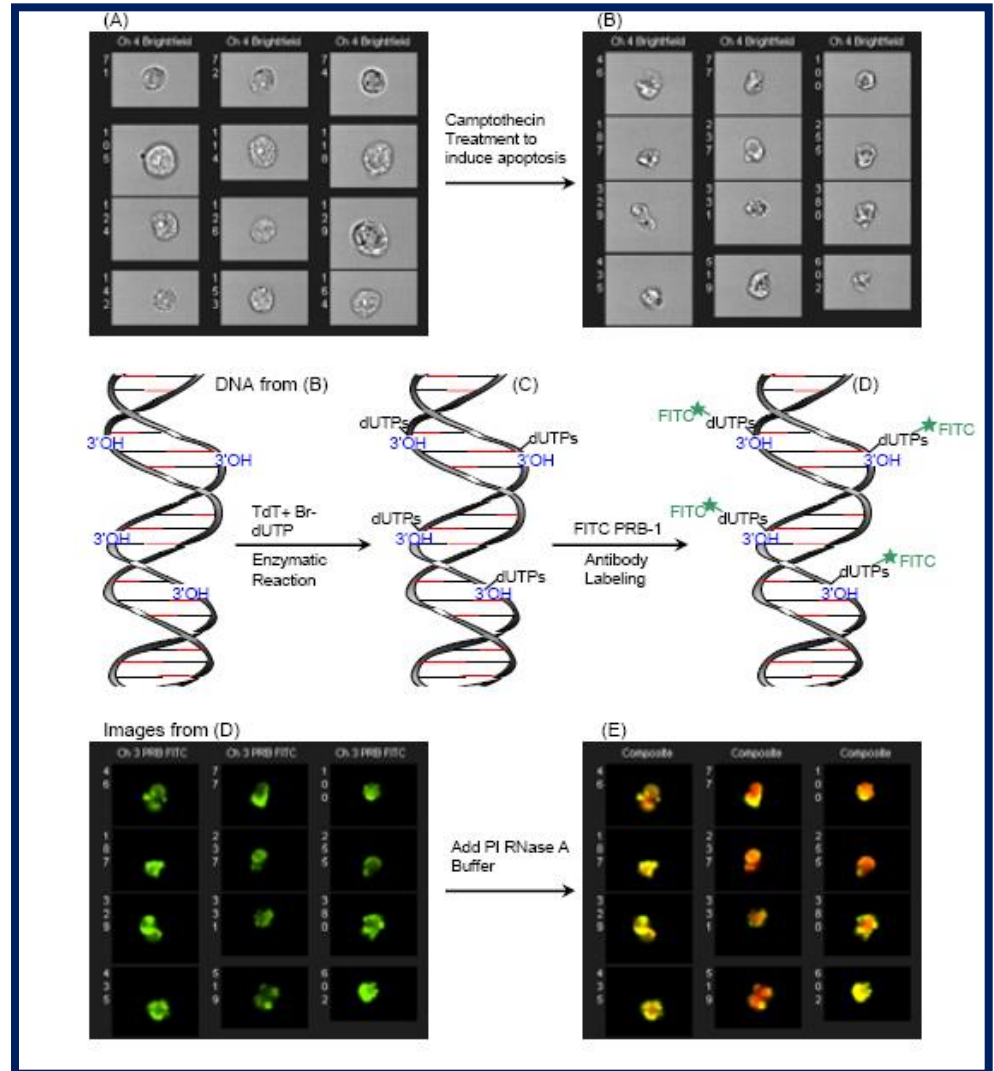
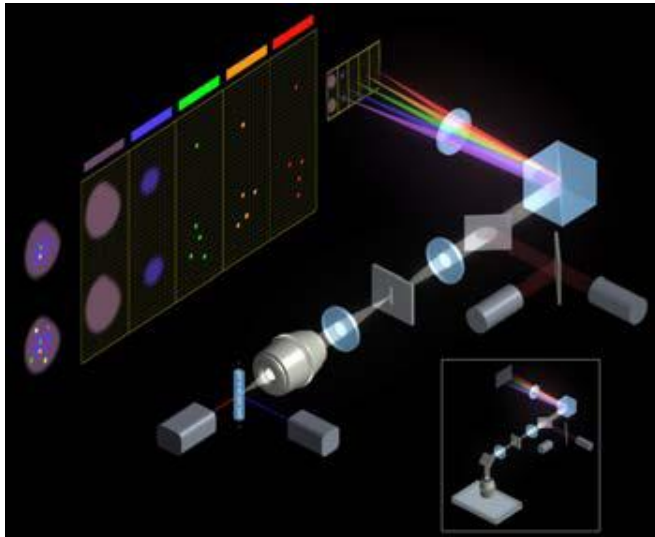
# Cytométrie spectrale



Nolan JP, Condello D. Spectral flow cytometry. Curr Protoc Cytom. 2013 Jan;Chapter 1:Unit1.27.



# Amnis technology : cytométrie spectrale + imagerie



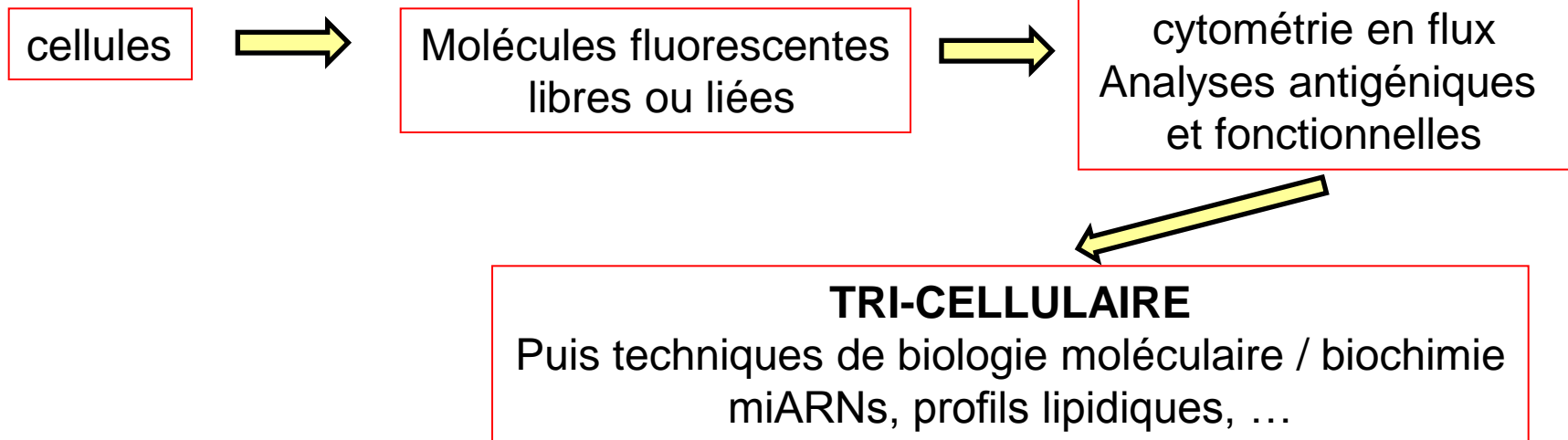
<http://www.amnis.com>

Henery S et al. *Apoptosis* 2008, 13: 1054-1063

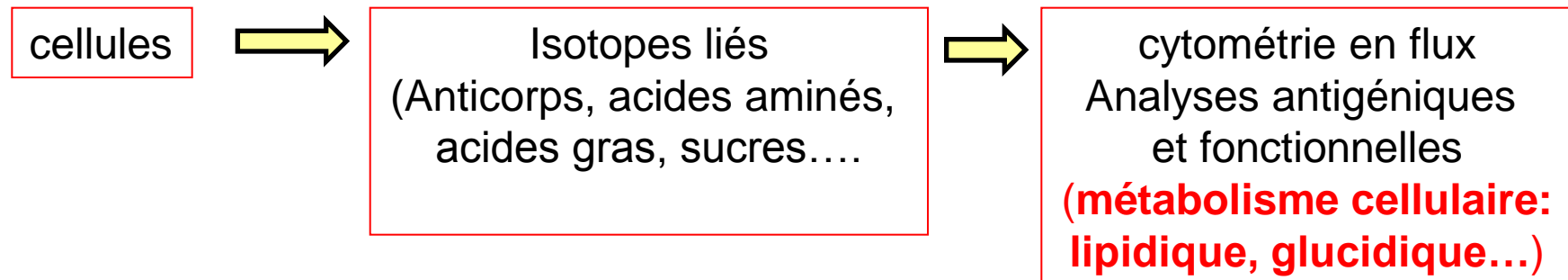
Gérard Lizard, EA7270,  
Université de Bourgogne / INSERM

# Cellules et cytométrie : signaux de diffraction et de fluorescence et ....nouvelles approches

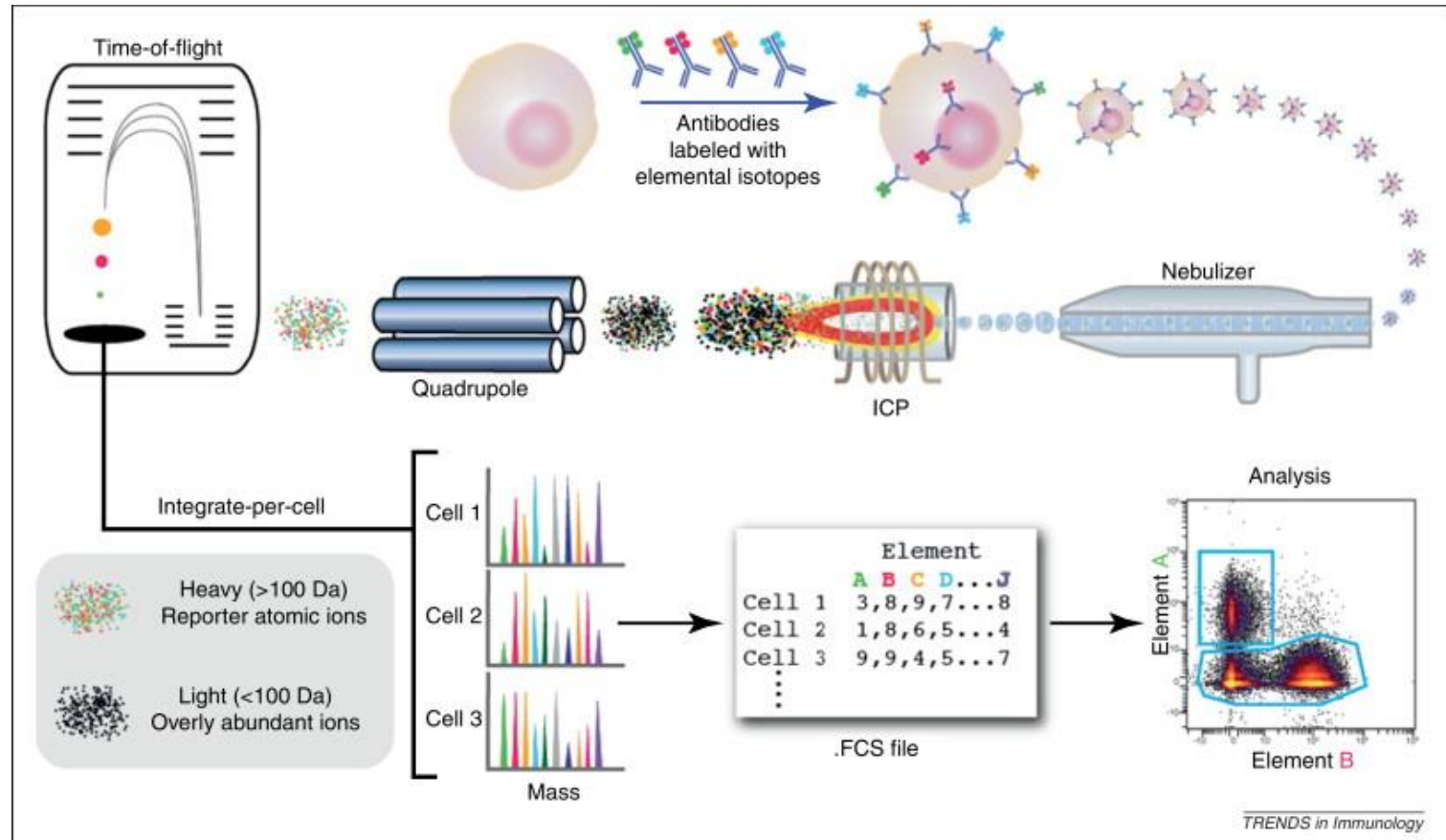
## Concept actuel: cytométrie en flux (fluorescence)



## Nouveau concept: cytométrie en flux (spectrométrie de masse; spectrométrie isotopique)



# Cytométrie de masse



Bendall SC, Nolan GP, Roederer M, Chattopadhyay PK. A deep profiler's guide to cytometry. Trends Immunol. 2012; 33(7): 323-332.

# La cellule vue par le cytométriste : un concept en perpétuel évolution

---

