

UNIDAD CITOMETRÍA DE FLUJO Y SORTER

MISIÓN

Dar soporte a los estudios de investigación orientados al conocimiento a nivel celular y subcelular dentro de las patologías humanas, a través del estudio de marcadores celulares. Tendrá como aplicación el descubrimiento, identificación y seguimiento de marcadores celulares, facilitando además, la separación de las diferentes poblaciones celulares identificadas.

DESCRIPCIÓN

Es un Servicio de Apoyo a la Investigación (*SAI*), en el cual, a través de la técnica de citometría de flujo, en una suspensión celular se pueden discriminar simultáneamente hasta 10 parámetros diferentes gracias a las características ópticas de los marcadores fluorescentes empleados. La citometría de flujo permite obtener información detallada de las características estructurales y funcionales de las células o partículas a estudio. La aplicación del Separador Celular (Sorter) permite separar poblaciones celulares, hasta 6, atendiendo a las características analizadas por citometría de flujo.

Las aplicaciones más frecuentes son el conteo celular, el inmunofenotipado, estudio de citocinas, análisis de viabilidad celular, estudio de micropartículas (>0.3um de tamaño) y otras características intracelulares susceptibles de seguimiento mediante marcajes fluorescentes. Es importante remarcar que esta técnica realiza las mediciones célula a célula, más allá de las medidas descriptivas poblacionales. La identificación de marcadores celulares es de aplicación en la investigación, diagnóstico, seguimiento y tratamiento de muy diversas patologías, por lo que la Citometría de Flujo y Separación Celular es una tecnología implicada en la investigación traslacional.

Este servicio está dirigido a todos los grupos de investigación del Instituto y a centros de investigación, empresas y otras instituciones que lo soliciten.

Además, se realiza un asesoramiento personalizado para el tratamiento de la muestra dependiendo de la aplicación de interés (citómetro de flujo analizador o separador).

SERVICIOS OFERTADOS

CITOMETRÍA DE FLUJO ANALIZADOR

- Asesoramiento y optimización de protocolos de estudio o diseño de experimentos.
- Análisis de la viabilidad celular a través del marcaje por ioduro de propidio, anexina V o 7-AAD.
- Análisis del ciclo celular por ioduro de propidio.
- Análisis de la eficiencia de transfección.
- Fenotipaje diferentes marcadores linfocitarios en superficie o intracelular.
- Cuantificación de citocinas solubles en plasma, suero, o sobrenadantes de cultivo a través de un ensayo multiplex (hasta 11 citocinas en 25ul de muestra).
- Análisis de citocinas intracelulares.
- Análisis del movimiento del calcio intracelular por marcaje con Fluo-4.
- Análisis de la activación de la apoptosis a través de la vía de la caspasa-3.
- Análisis de la apoptosis mediante técnica de TUNEL.
- Detección de micropartículas a partir de 0.3um, en el sobrenadante de cultivos, plasma, etc...

SEPARADOR CELULAR POR CITOMETRÍA DE FLUJO

- Clonaje
- Separación de subpoblaciones
- Separación de células vivas para cultivo celular.
- Separación de células fijadas para posterior análisis genético.

SOPORTE AL INVESTIGADOR

- Formación a demanda y estudio de necesidades de los investigadores.

-Asesoramiento personalizado sobre abordaje experimental, fluorocromos, marcadores

disponibles.

-Procedimientos normalizados para el mejor procesamiento posible de las muestras.

-Análisis mediante diversas aplicaciones informáticas.

TECNOLOGIA

CITÓMETRO DE FLUJO 10 COLORES modelo Gallios (Beckman Coulter)

-Detección de 10 colores. Tres láseres (azul-488nm, rojo-638nm y violeta-405nm), controlados desde el ordenador, con sistema de encendido y estabilización rápida.

-Tubos fotomultiplicadores de última generación, con una alta sensibilidad para el rango del rojo y con excelente linealidad en todo el rango.

CITÓMETRO DE FLUJO SEPARADOR modelo MoFlo Astrios, (Beckman-Coulter)

-Integración en cabina de seguridad biológica tipo II.

-Sistema de evacuación de aerosoles y de agitación de la muestra.

-Temperatura controlada de la muestra (enfriamiento o calentamiento).

-Posibilidad de hasta 6 láseres de estado sólido (640nm, 592 nm, 561 nm, 532 nm, 488nm, 405 nm) y 7 pinholes. En la actualidad cuenta con 2 láseres (488nm y 640nm).

-Según la aplicación la velocidad de adquisición puede ser de hasta 100.000cel/seg; autorreconocimiento por fotomultiplicadores (PMT) y PODs que posibilita diferentes configuraciones según el objetivo.

-Diversos sistemas de recogida: placas multipocillo, tubos de propileno, etc.

MICROSCOPIO DE FLUORESCENCIA modelo Eclipse 50i con sistema óptico de Nikon CFI60.

INSTALACIÓN

El SAI *Citometría de Flujo y Sorter* está ubicado en el edificio de Medicina y Cirugía Experimental, pabellón prefabricado del IiSGM. La habitación cuenta con las condiciones propias de red eléctrica, climatización y temperatura adecuados para cumplir con los requisitos de calidad propios de los servicios ofertados.

PERSONAS

Dra. M^a Ángeles Muñoz Fernández como responsable de la Unidad.

Dra. Laura Díaz como responsable técnico.

CONTACTO

CONTACTO

Dra. M^a Ángeles Muñoz-Fernández, responsable científico.

Tfno: 91 586 8565, e-mail: mmunoz.hgugm@salud.madrid.org

Dr. Laura Díaz, responsable técnico.

Tfno: 91 4269258, e-mail: lauradiaz@gmail.com

Edificio Medicina y Cirugía Experimental. Pabellón prefabricado. Planta 1.