

## **UNIDAD CITOMETRÍA DE FLUJO Y SORTER**

### **MISIÓN**

La Unidad de Citometría de Flujo y Sorter es un Servicio de Apoyo a la Investigación (SAI) del IISGM. La Unidad tiene como misión dar soporte en citometría de flujo a los investigadores, tanto del IISGM como a externos o empresas privadas. La Unidad ofrece un soporte científico-técnico a los investigadores que abarca desde el asesoramiento del diseño experimental, interpretación de los datos, al uso de softwares informáticos para el análisis multiparamétricos. Esto va a permitir el descubrimiento, identificación y seguimiento de marcadores celulares, facilitando además, la separación de las diferentes poblaciones celulares identificadas.

### **DESCRIPCIÓN**

La citometría de flujo es una técnica analítica/cuantitativa por la cual se pueden medir múltiples características en las células o partículas de interés contenidas en un fluido, a través del marcaje con anticuerpos o sondas fluorescentes. La interacción con un láser/es tendrá como resultado una dispersión de luz y fluorescencia que se va a traducir en la obtención de 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 en condiciones de esterilidad atendiendo a las características analizadas por citometría de flujo.

A través de esta técnica se pueden realizar múltiples aplicaciones a la vez en un volumen de muestra reducido. Es importante remarcar que esta técnica realiza las mediciones partícula a partícula, 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.

La Unidad de Citometría de Flujo está certificada desde el año 2016 según las directrices del Sistema de Gestión de Calidad (ISO 9001:2008) y desde el año 2019 cumple los requerimientos de la actualización de la norma (ISO 9001:2015).

### **SERVICIOS OFERTADOS**

#### **CITOMETRÍA DE FLUJO ANALIZADOR**

- Fenotipaje diferentes marcadores linfocitarios en superficie o intracelular.
- Análisis de la viabilidad celular a través del marcaje por yoduro de propidio, anexina V o 7-AAD.
- Análisis del ciclo celular por yoduro de propidio.
- Análisis de la eficiencia de transfección.

- 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 varios marcadores. Ej: Caspasa-3.
- Análisis de la fragmentación del DNA mediante técnica de TUNEL.
- Detección de micropartículas y exosomas en el sobrenadante de cultivos, plasma, sueros.

#### **SEPARADOR CELULAR POR CITOMETRÍA DE FLUJO**

- Clonaje.
- Separación de poblaciones celulares de interés.
- Separación de células vivas para cultivo celular.
- Separación de células fijadas para posterior análisis genético.

#### **SOPORTE AL INVESTIGADOR**

- Asesoramiento y optimización de protocolos de estudio o diseño de experimentos.
- 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.

Tarifas disponibles en [www.iisgm.com](http://www.iisgm.com) (Servicios de Apoyo a la Investigación).

#### **TECNOLOGÍA**

##### **CITÓMETRO DE FLUJO 10 COLORES, 12 parámetros. Modelo Gallios (Beckman Coulter)**

- Detección de 10 colores, 12 parámetros. 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.
- Posibilidad de análisis de eventos raros debido a la gran velocidad de adquisición como a la posibilidad de volumen de muestra adquirida.

##### **CITÓMETRO DE FLUJO DE 14 COLORES, 16 PARÁMETROS. Modelo MAQsquant 16 (Miltenyi Biotec)**

- Detección de 14 colores, 16 parámetros. Tres láseres: azul-488nm (6 detectores), rojo-640nm (3 detectores) y violeta-405nm(5 detectores).

- Posibilidad de seleccionar el FSC con el láser violeta para aumentar la resolución frente a partícula pequeño.
- Adquisición de la muestra en varios contenedores: tubos, eppendorf y placas de 96 pocillos (posibilidad de refrigeración).
- Adquisición de volúmenes pequeños.

**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.

**CONTACTO**

**Responsable de la Unidad:** Dra. Laura Díaz Muñoz.

Tfno. 91 47 92 58

e-mail: [lauradiaz@gmail.com](mailto:lauradiaz@gmail.com)/[laura.diaz@iisgm.com](mailto:laura.diaz@iisgm.com)

Pabellón de Medicina y Cirugía Experimental (planta 1ª)

Hospital General Universitario Gregorio Marañón

C/ Doctor Esquerdo, 46; Madrid 28007

Página web con el procedimiento de reservas: [umce.hggm.es](http://umce.hggm.es)