

ANÁLISIS MULTIPARAMÉTRICO DE POBLACIONES CELULARES:

Los citómetros analizadores permiten el estudio de poblaciones celulares alineadas mediante una corriente de flujo laminar de modo que pueden exponerse a la excitación de uno o varios láseres de forma individual. El análisis puede realizarse atendiendo a sus características morfológicas (tamaño y complejidad interna de la célula) y a la fluorescencia emitida cuando la célula lleva incorporado uno o varios fluorocromos. Para que los fluorocromos puedan detectarse deben cumplir dos requisitos: excitarse a la longitud de onda del láser de excitación y emitir en una longitud de onda detectable por los fotomultiplicadores. De este modo, en un citómetro FACScan pueden analizarse hasta tres marcadores fluorescentes simultáneamente para una misma célula, mientras que en un citómetro FACScalibur los parámetros fluorescentes analizables simultáneamente para cada muestra ascienden a cuatro.

De este modo, en el siguiente cuadro se resumen algunos fluorocromos apropiados para cada detector:

FACScan	
Detector	Fluorocromos
FL1	FITC, Alexa 488, GFP
FL2	PE, PI
FL3	7AAD, PerCP, PE-CY5, PerCP-CY 5.5

FACScalibur	
Detector	Fluorocromos
FL1	FITC, Alexa 488, GFP
FL2	PE, PI
FL3	7AAD, PerCP, PE-CY5, PerCP-CY 5.5
FL4	APC, Alexa 647

Cell population multi-parameter analysis:

Analyzer cytometers allow to the study cell population suspensions, aligning them by a laminar flow, so they can be exposed to the laser beam in an individualized way. The analysis can be performed attending to its morphological characteristics (size and internal complexity) and studying the emitted fluorescence when the cell carries one or more fluorophores. To detect the fluorophores they must fulfill two requirements: they must be excited at the laser wavelength and they must emit in a wavelength detectable by the photomultipliers. Accordingly, in a FACScan flow cytometer, it is possible to analyze up to three fluorescent markers simultaneously while in a FACScalibur it is possible to analyze up to four fluorescent markers simultaneously.

The next table summarizes some fluorophores suitable for each detector:

FACScan	
Detector	Fluorophore
FL1	FITC, Alexa 488, GFP
FL2	PE, PI
FL3	7AAD, PerCP, PE-CY5, PerCP-CY 5.5

FACScalibur	
Detector	Fluorophore
FL1	FITC, Alexa 488, GFP
FL2	PE, PI
FL3	7AAD, PerCP, PE-CY5, PerCP-CY 5.5
FL4	APC, Alexa 647