

AISLAMIENTO DE SUSPENSIONES CELULARES POR CITOMETRÍA DE FLUJO

La separación celular por citometría de flujo es una técnica de separación física de partículas en base a la expresión diferencial de uno o varios parámetros analizables por técnicas de citometría de flujo analítica. Las células individuales son "interrogadas" por el láser como en un citómetro analizador pero el sorter posee una boquilla, el nozzle, por donde sale el fluido que arrastra la muestra que está acoplada a un cristal piezoeléctrico que la hace vibrar con una frecuencia y amplitud determinada. Esta vibración interrumpe el flujo continuo de la muestra y hace que se formen gotas de un tamaño prácticamente constante y con una distancia fija entre gota y gota. Una vez formada, la gota puede tener una sola célula o no tener ninguna.

Nada más salir del AQUÍ FALTA ALGO (antes de que se formen las gotas), cada célula es analizada y en función de la fluorescencia que presenta, se le asigna un tipo de carga (positiva, negativa, o ninguna). Como cada gota que se forme contiene una única célula, habrá gotas con carga positiva, gotas con carga negativa y gotas sin carga. Mientras están cayendo, las gotas pasan entre dos placas cargadas que establecen un campo eléctrico entre ellas. El voltaje que se establece entre las placas hace que la trayectoria de caída de las gotas cargadas se desvíe hacia la placa que tenga polaridad opuesta, de modo que cada tipo de gota se recoge en un tubo distinto.

Los Sorters se caracterizan en base a tres parámetros:

- ✓ Recuperación: porcentaje de partículas sorteadas recogidas en el colector, del total de partículas activadas por el Sorter.
- ✓ Pureza: porcentaje de partículas sorteadas recogidas que cumplen los criterios de selección, en función del total sorteado.
- ✓ Rendimiento: porcentaje de partículas recogidas que cumplen los criterios de selección, en función de las partículas teóricas que los cumplirían.

Los distintos ajustes permiten, optimizar la pureza de la población separada, la recuperación celular de la población separada o separar números exactos de células en placas multipocillo. Las poblaciones aisladas pueden ser utilizadas posteriormente para ensayos bioquímicos, moleculares o de diferenciación celular.

CELL SORTING BY FLOW CYTOMETRY

Cell separation by flow cytometry (Cell Sorting) is a technique of physical separation of particles based on the differential expression of one or several parameters that can be analyzed by analytical flow cytometry techniques. The individual cells are "interrogated" by the laser as in a cytometer analyzer but the sorter has a nozzle where the fluid that drags the sample, coupled to a piezoelectric crystal that makes it to vibrate with a frequency and amplitude determined. This vibration interrupts the continuous flow of the sample and causes drops of a practically constant size to form and with a fixed distance between drop and drop. Once formed, the drop may have only one cell or none at all.

As soon as you leave nozzle (before the drops form), each cell is analyzed and depending on the fluorescence it presents, it is assigned a type of charge (positive, negative, or none). As each drop that forms afterwards contains a single cell, there will be drops with positive charge, negatively charged drops and drops without charge

While they are falling, the drops pass between two charged plates that establish an electric field between them. The voltage that is established between the plates causes the drop path of the charged droplets to be diverted to the plate that has opposite polarity, so that each type of drop is collected in a different tube. The Sorters are characterized according to the following parameters by:

- ✓ Recovery: percentage of collected particles collected in the collector, from the total of particles activated by the Sorter.
- ✓ Purity: percentage of collected particles collected that meet the selected criteria, based on the total lot drawn.
- ✓ Performance: percentage of collected particles that meet the selected criteria, depending on the theoretical particles that would accomplish them.

The different adjustments allow to optimize the purity of the separated population, the cellular recovery of the separated population or to separate precise numbers of cells in multi-well plates. Isolated populations can be used later for biochemical, molecular or cell differentiation assays.