

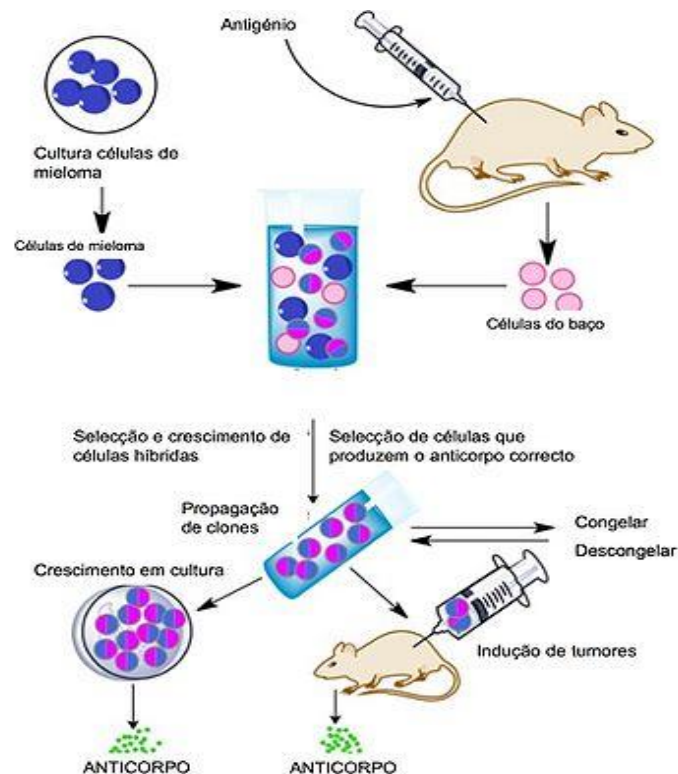
Citometria de fluxo

Práticas de biomedicina II

prof: Archangelo Padreca Fernandes

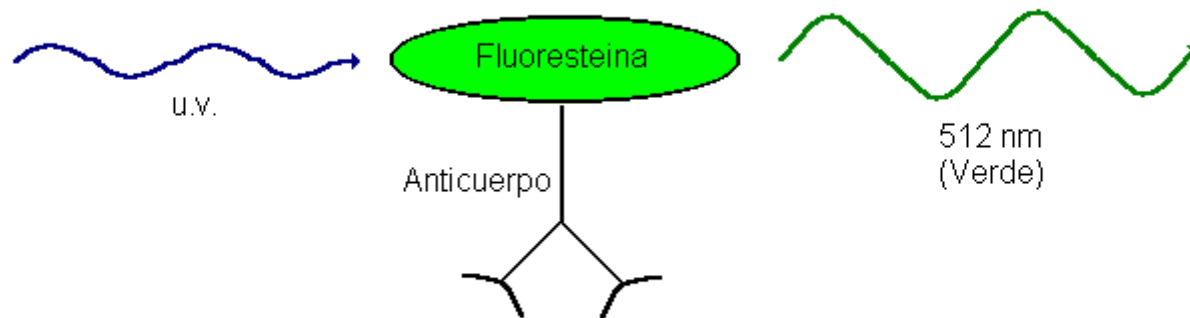
Introdução

- Através de pesquisas em laboratório, antígenos são colocados estrategicamente em corpos de certos seres vivos para a criação de anticorpos para serem analisados.



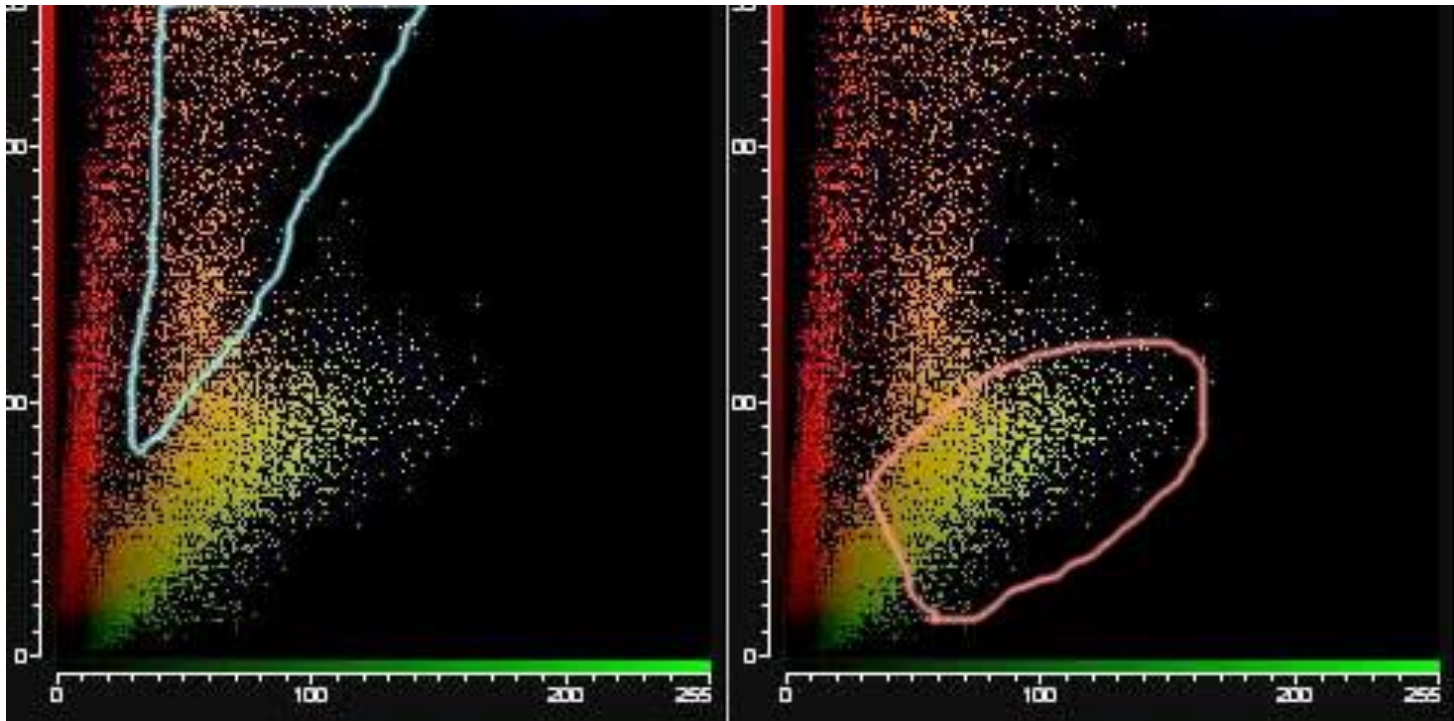
Fluorocromos

- São substâncias químicas que se ligam a anticorpos presentes na membrana plasmática que emitem luz após um determinado estímulo (e refletem).



Fluorocromos

- São específicos (para cada anticorpo).



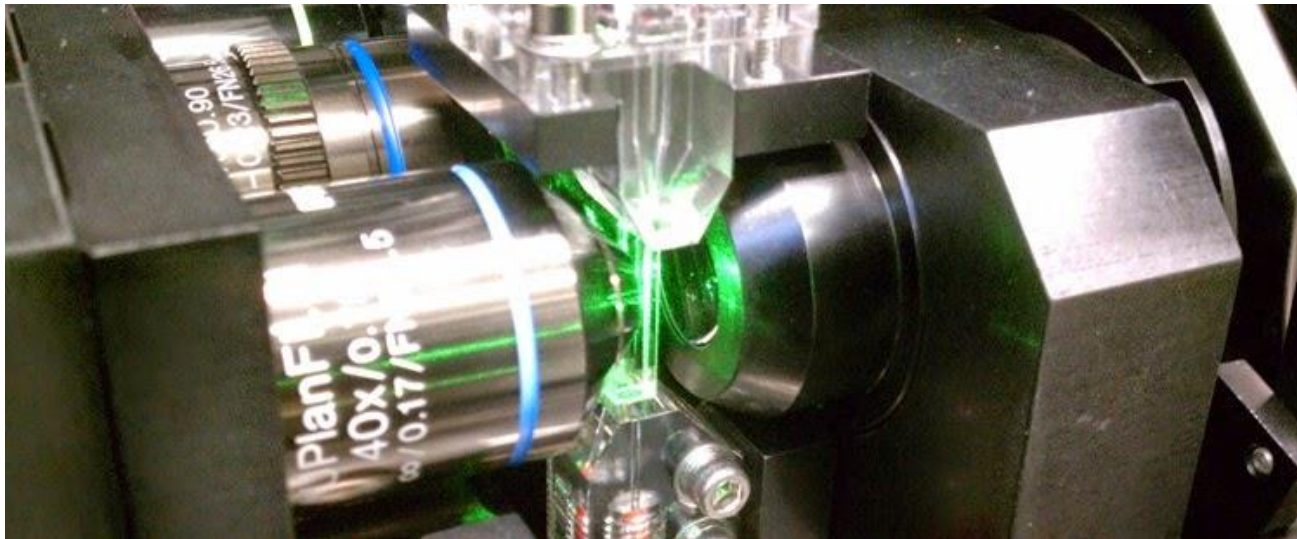
O que é?

- O citômetro de fluxo é um aparelho utilizado para a análise de emissão de fluorescência da célula (por meio de anticorpos).



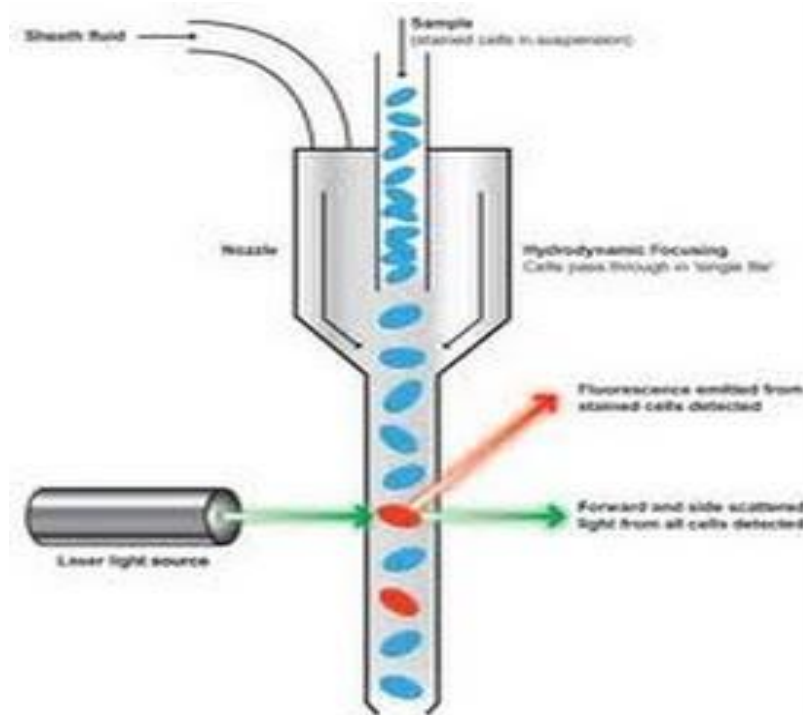
Citômetro de fluxo

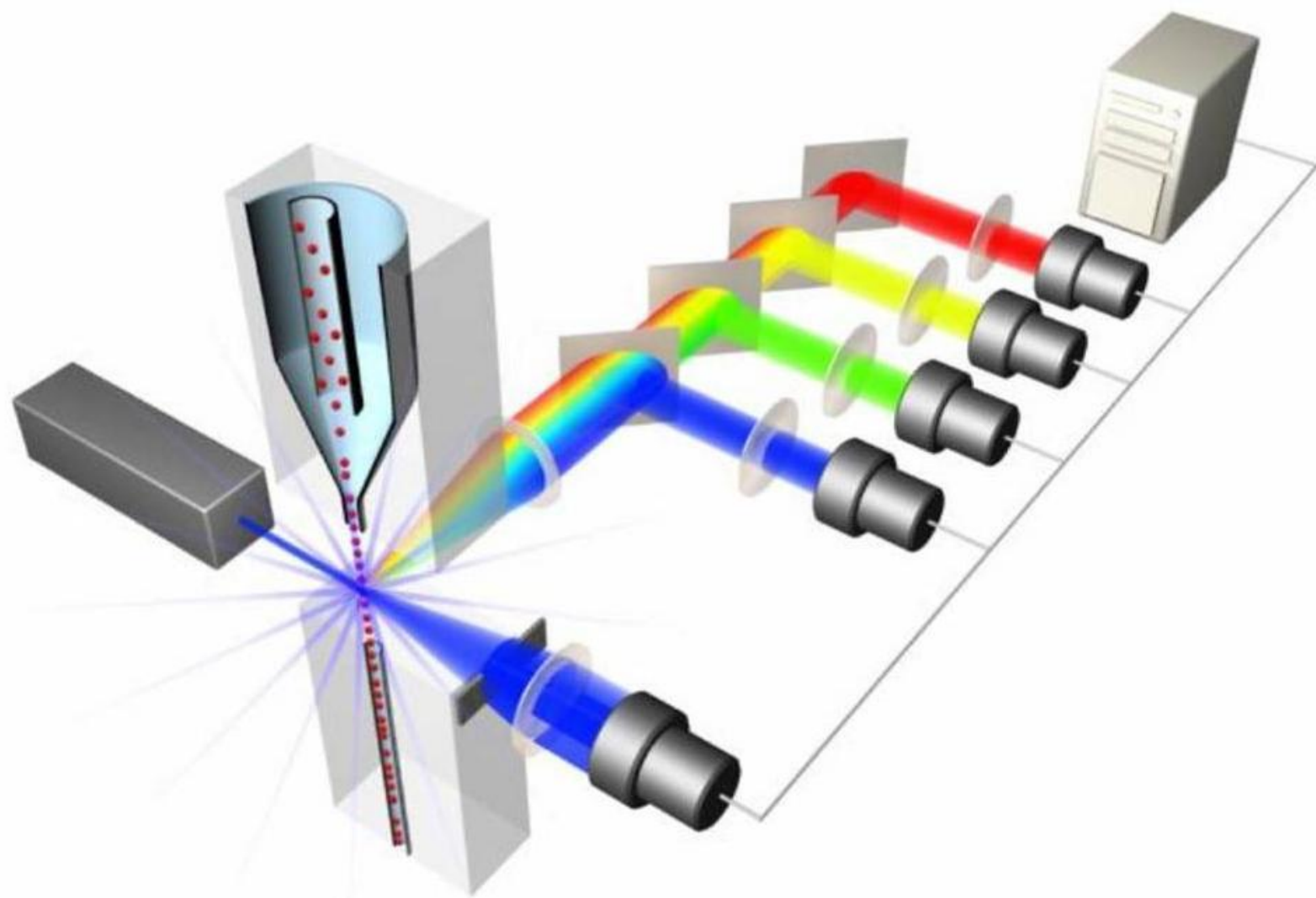
- Mede as propriedades de dispersão de luz pelas células e a emissão de luz de anticorpos monoclonais (criados e clonados em laboratório).



Metodologia

- As células uma vez em suspensão líquida são interceptadas por um feixe de luz (laser).

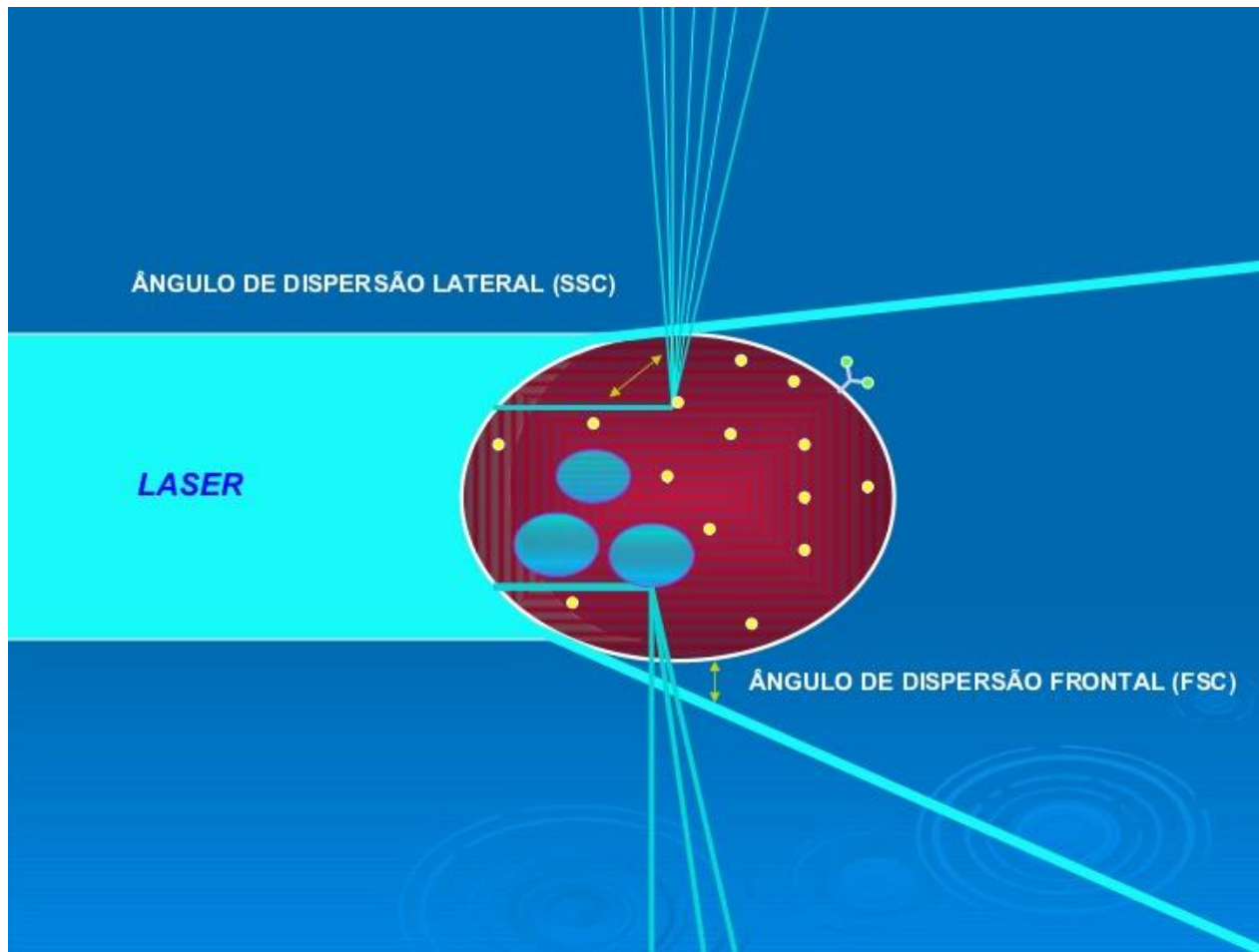




1. Ângulos de dispersão

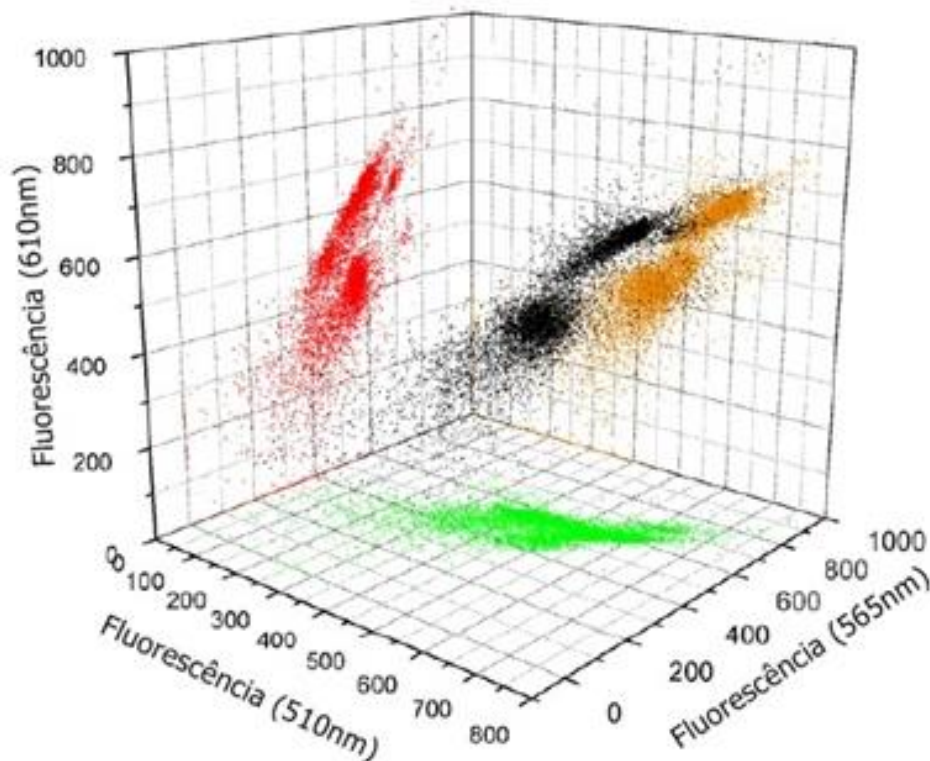
- Um número de detectores são apontados ao local onde passa o feixe de luz capaz de detectar a estrutura e tamanho da célula.
- FSC – ângulo de dispersão frontal (detecta o tamanho celular).
- SSC – ângulo de dispersão lateral (detecta a composição celular).

FSC x SSC



2. Luz e coloração

Cada partícula que passa pelo feixe de luz dispersa uma luz diferente, diferenciando os tipos celulares.



Importante saber

- As células são contadas a partir de detectores FSC e SSC.
- As células são separadas a partir da atração de placas por diferença de polaridade.
- A técnica possui inúmeras vantagens.
- Importante para o estudo do câncer.
- Grande numero de células analisadas com rapidez.
- Mede parâmetros em células individuais.

Gráfico

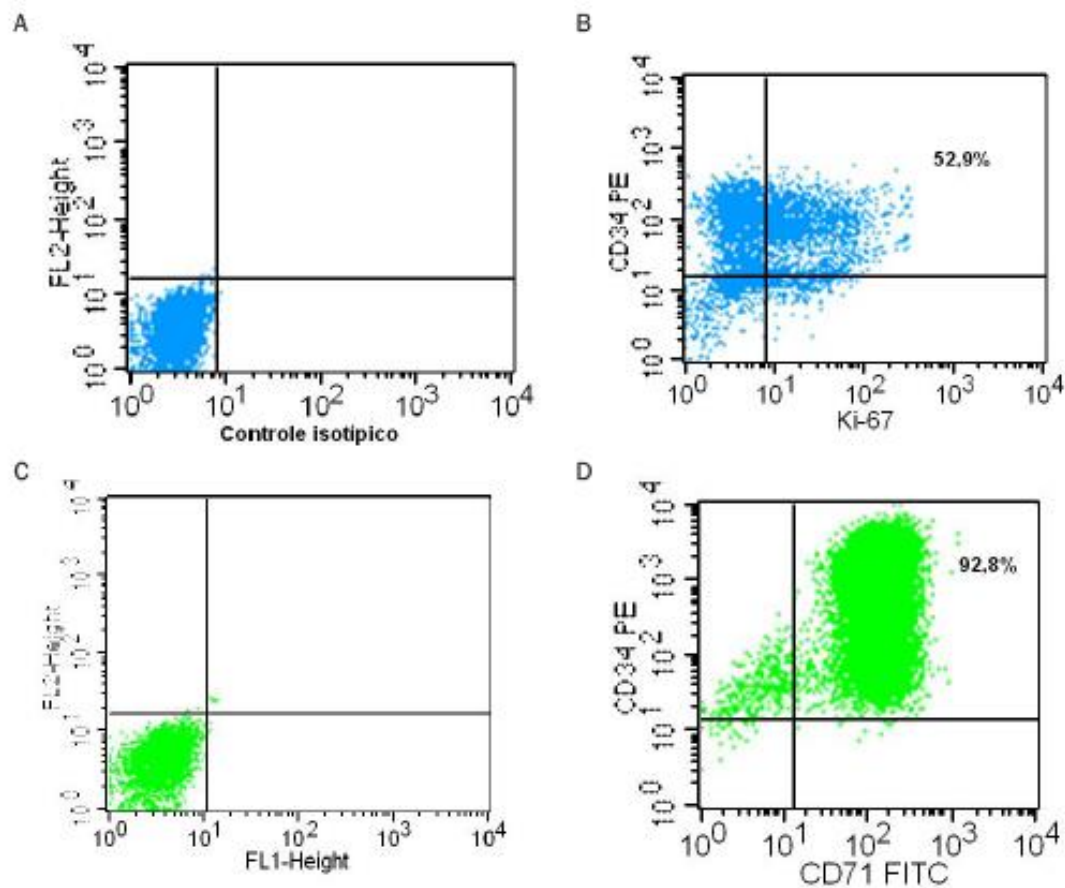


Figura 1. Análise do marcador Ki-67 e CD71 por citometria de fluxo: a) *Dot plot* do controle isotópico do Ki-67. (b) *Dot plot* da dupla marcação do anticorpo anti-Ki-67 versus anticorpo anti-CD34. (c) *Dot plot* do controle do anticorpo anti-CD71. (d) *Dot plot* da dupla marcação do anticorpo anti-CD71 versus anticorpo anti-CD34

Gráficos

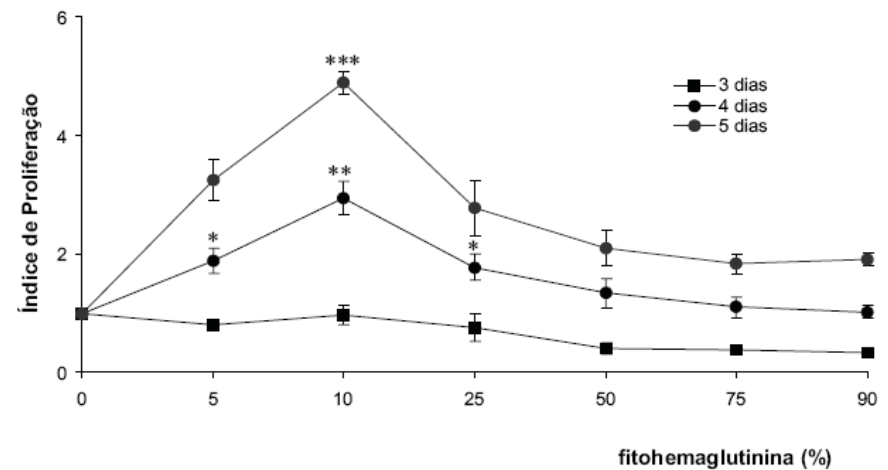
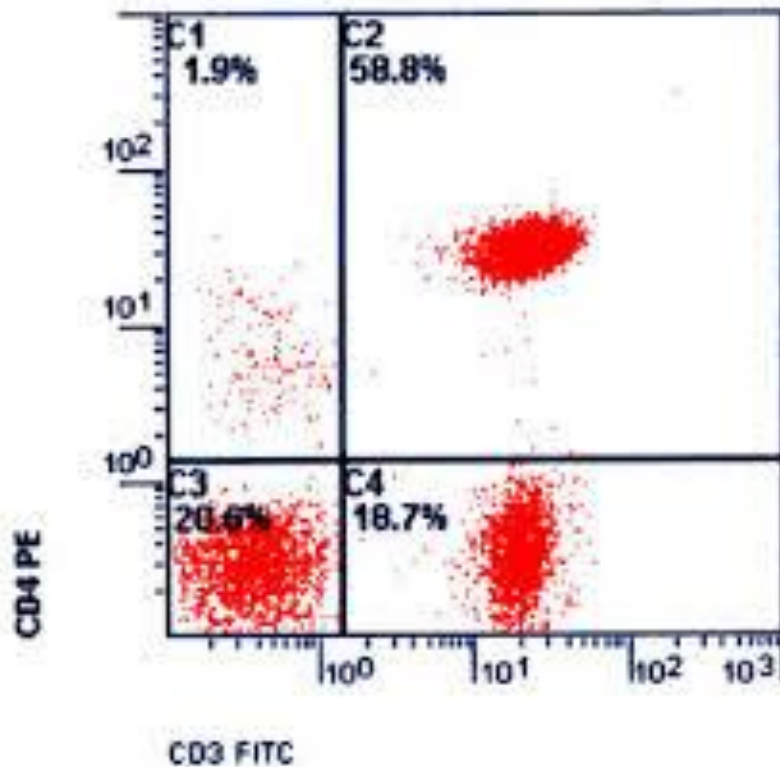
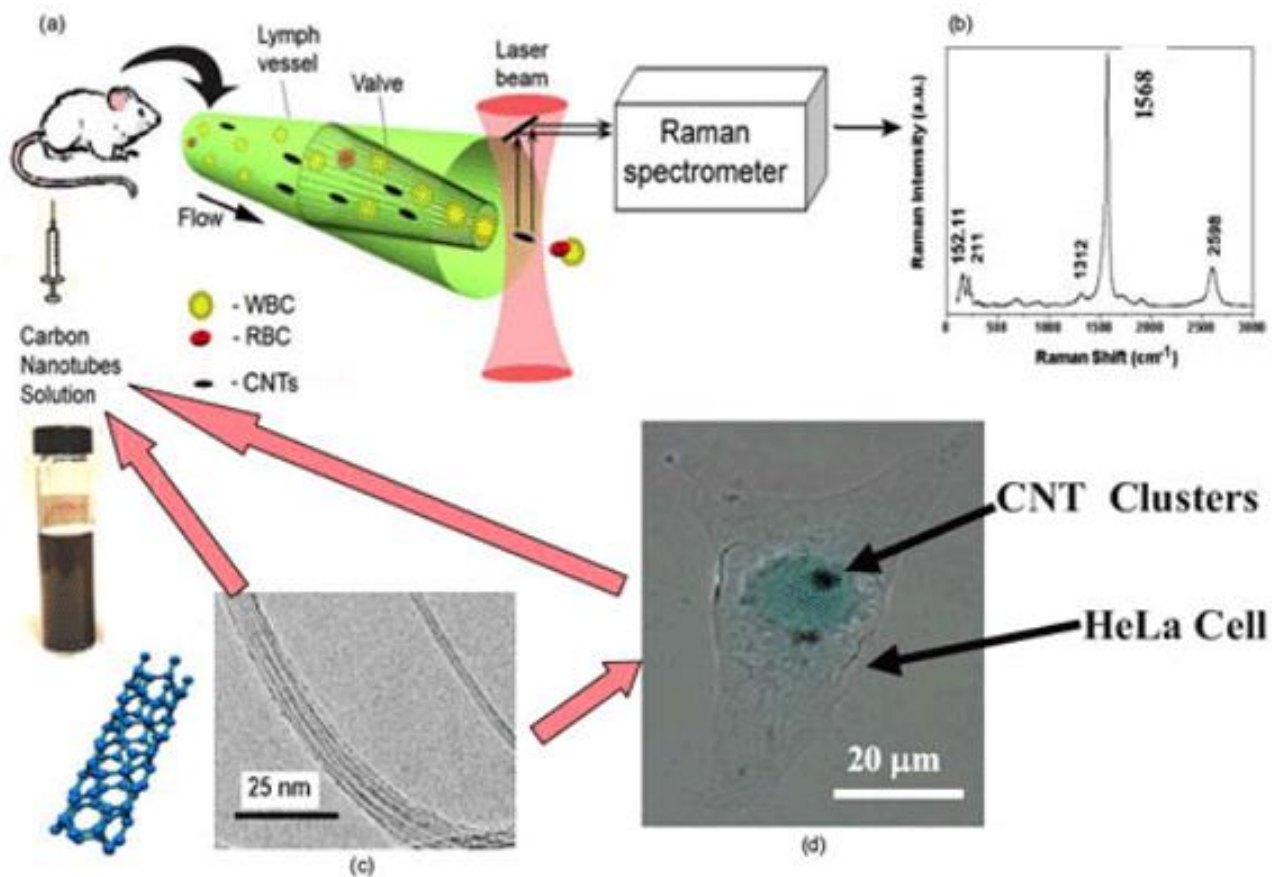


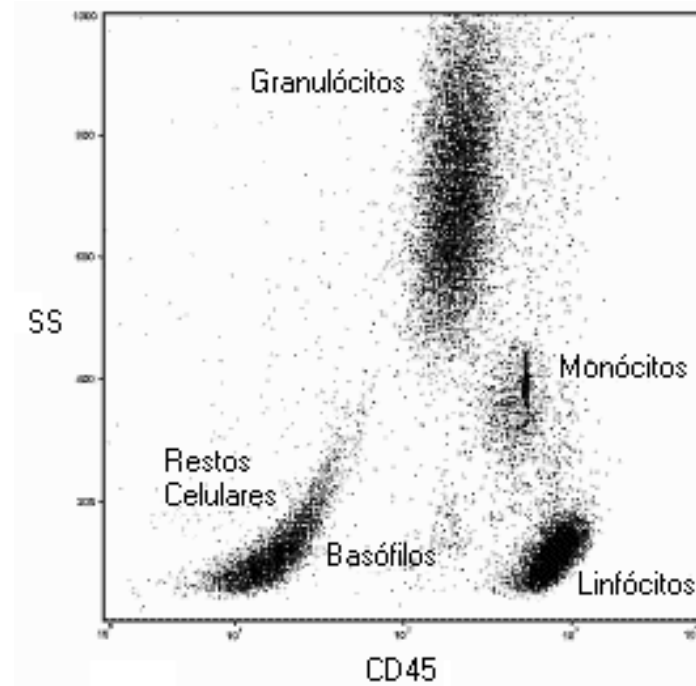
Figura 4. Efeito da concentração da fitohemaglutinina sobre a proliferação de linfócitos humanos. Células mononucleares obtidas de sangue periférico de voluntários saudáveis, após isolamento em gradiente de densidade, foram tratadas com proporções crescentes do meio de cultura Meio para Cariótipo enriquecido com fitohemaglutinina como indicado e incubadas a 37 °C por 3 a 5 dias, em atmosfera de CO₂. Os pontos representam a relação média \pm EPM do número de eventos detectados por citometria de fluxo entre as culturas estimuladas por fitohemaglutinina em relação à fração não estimulada. * P<0,01; ** P<0,001; *** P<0,00001 em relação ao controle não estimulado.

Metodologia



Aplicações

Fenotipagem de leucócitos, de células tumorais, análise de DNA, diagnostico e classificação de leucemias, de linfomas, contagem de reticulócitos...



METODOLOGIA

Gráfico de análise de leucócitos (com fluorescência)

