



Arrayscan

Microscope inversé pour acquérir automatiquement des images en microplaques, relié à un logiciel d'analyse et de comptage de données cellulaires, comme par exemple :

- _ % cellules marquées (% vertes, % rouge, % vertes et rouges...)
- _ Intensité des marquages nucléaires, cytoplasmique ou dans une zone définie
- _ Morphologie cellulaire: aire, longueur fibres, longueurs neurites, nombre de neurites par cellules...)
- _ Analyse de spots : nombre, aire, intensité, colocalisation

Informations techniques

- Microscope inversé à épifluorescence
- 3 objectifs Zeiss: x5, x10, x20
- Marquages compatibles: **Hoechst (386), FITC/GFP (488), TRITC/RFP (555), Texas Red/Alexa 594 (570) and Cyanine 5 (647).**
- Supports compatibles : plaque de 6 puits à 384 puits, tout type de marques, à fond transparent en plastique ou verre.

Avantages

- Gain de temps dans la prise des images et la réalisation des analyses, permettant d'augmenter le nombre de cellules et le nombre de puits analysés. Les deux pouvant être réalisés simultanément.
- Reproductibilité dans l'acquisition des images et l'analyse (seuil de comptage fixe, non influencé par l'expérimentateur).
- Spécificité de l'analyse sur une population cellulaire et/ou un compartiment cellulaire.
- Précision de l'analyse : 5 canaux et plus de 60 paramètres analysables simultanément
- Compatible avec le criblage haut débit : plaques 96 ou 384 puits

Exemples d'analyse

Acquisition d'images

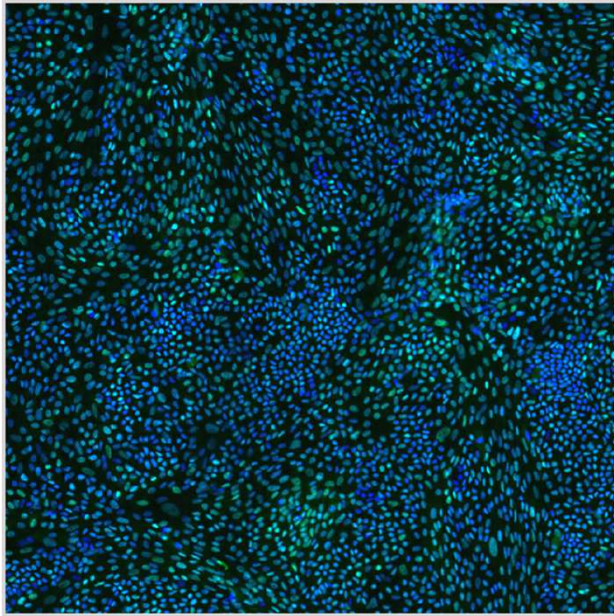


Figure 1: Cellules de RPE (Retinal Pigment Epithelium) Objectif x10

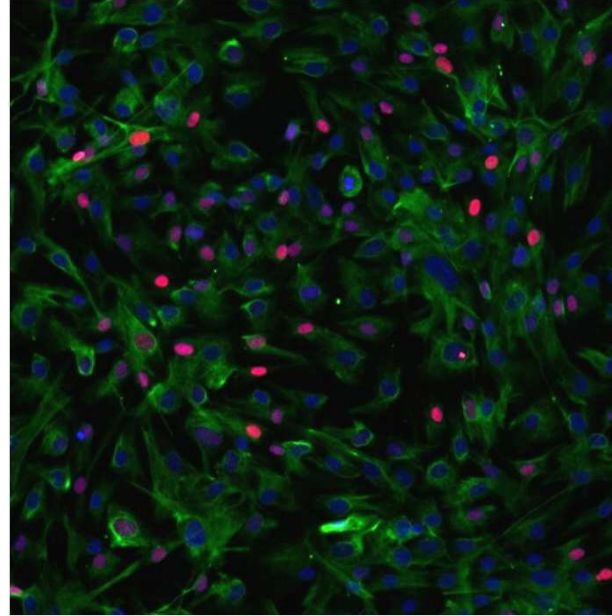


Figure 2: Cellules NSC (Neural Stem Cell) Objectif x20

Données : Sacha Reichman, équipe 2 IDV

Comptage cellulaire

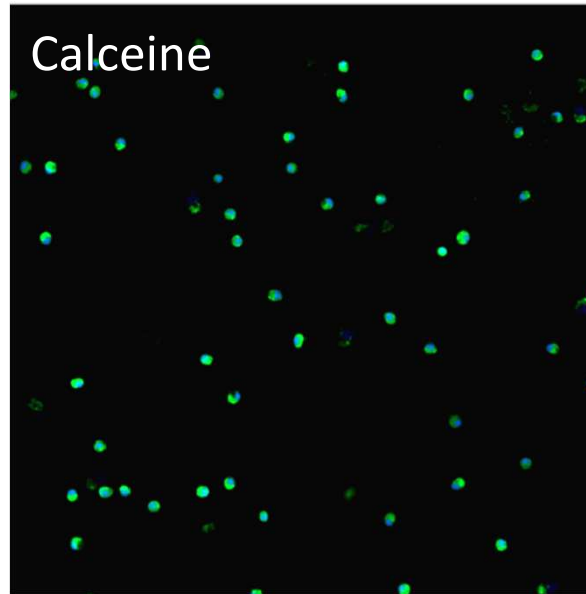


Figure 3: Cellules Ganglionnaires

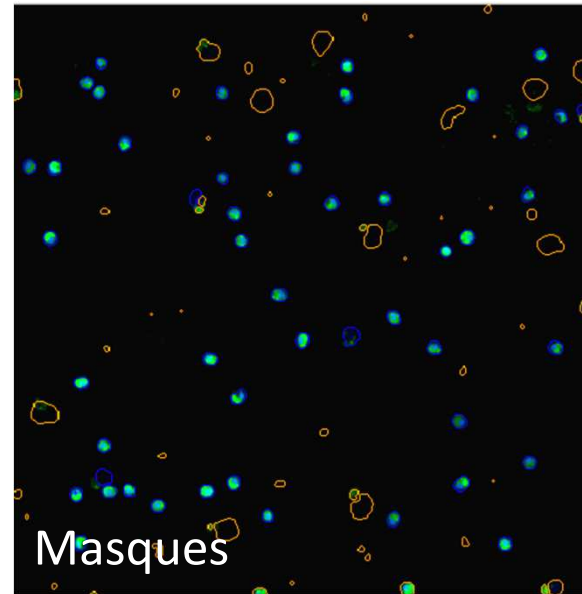


Figure 4 : masques de comptage

Données : Valérie Fradot, équipe S8 IDV

Exemple de BioApplication :

Target Activation pour le comptage de cellules vivantes ou fixées.

Discrimination possible pour le comptage par la taille, l'intensité de marquage ou encore par la forme des cellules. Sur la figure 4 les cellules entourées en orange ne sont pas comptées.

Vérification de transfection cellulaire

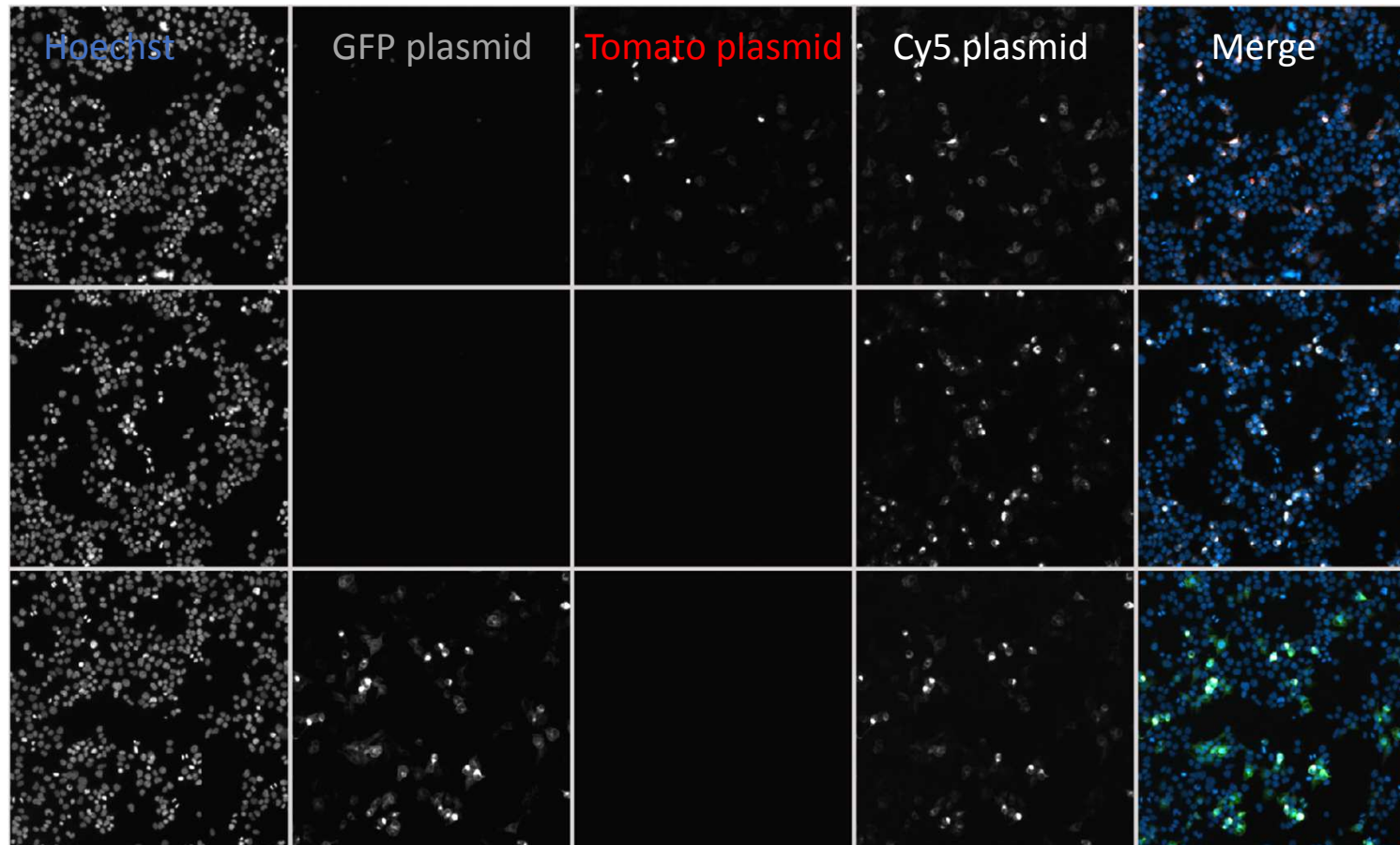


Figure 5 : cellules HEK avec transfection viral

Données : Céline Winckler, équipe 15 IDV

Il est possible de comparer différentes conditions de transfection cellulaires avec un comptage rapide sur le logiciel de l'Arrayscan (5 à 10 minutes de scan)

Etude d'expression protéique

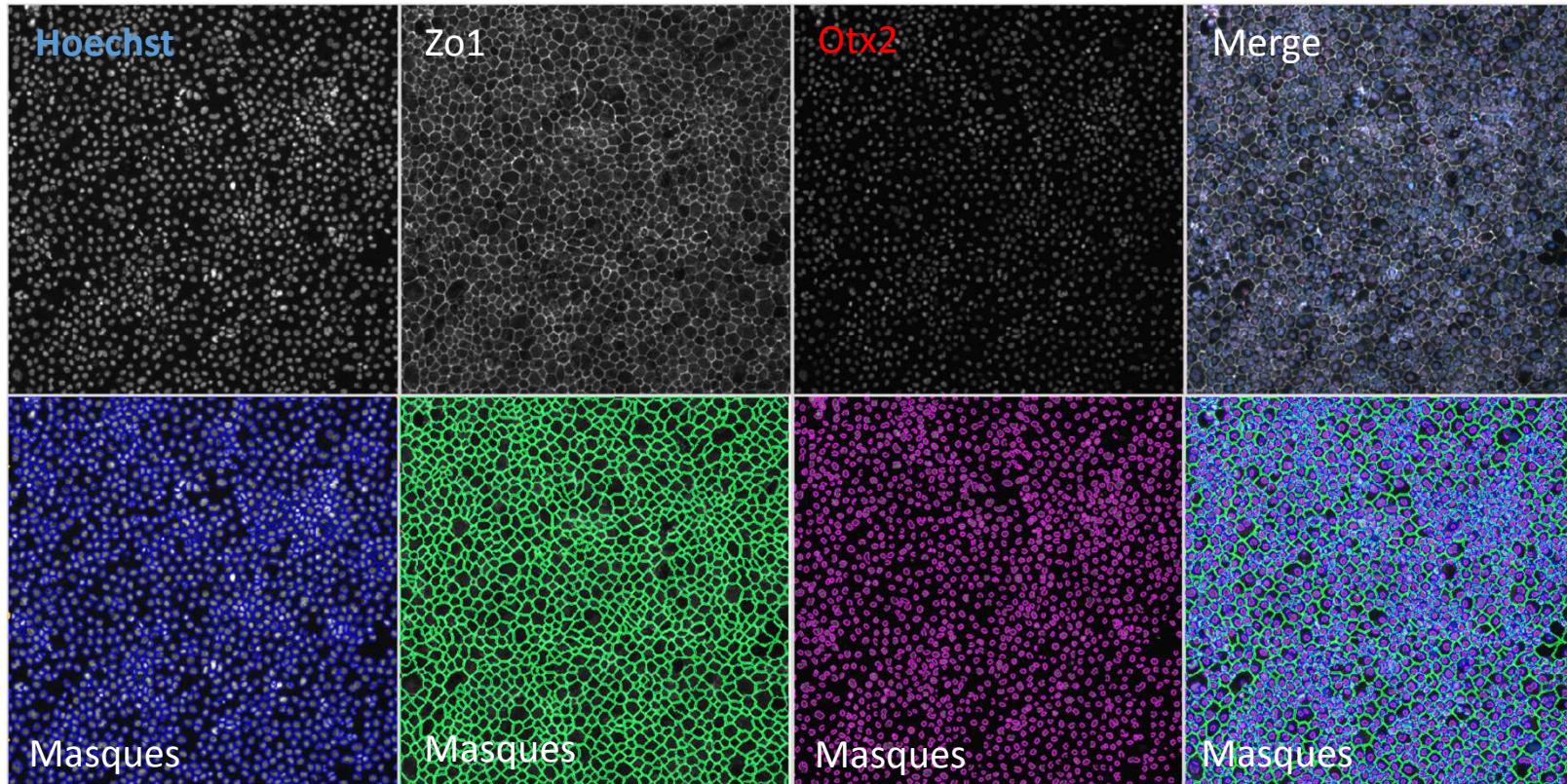


Figure 6 : Cellules de RPE

Données: Sara Touhami, Equipe 14 IDV

Le logiciel permet une analyse protéique parmi les différents compartiments cellulaires (noyaux, cytoplasme) et peut comparer les intensités de fluorescence de cellules ayant subies différentes conditions de traitements.

Visualisation de différenciation cellulaire

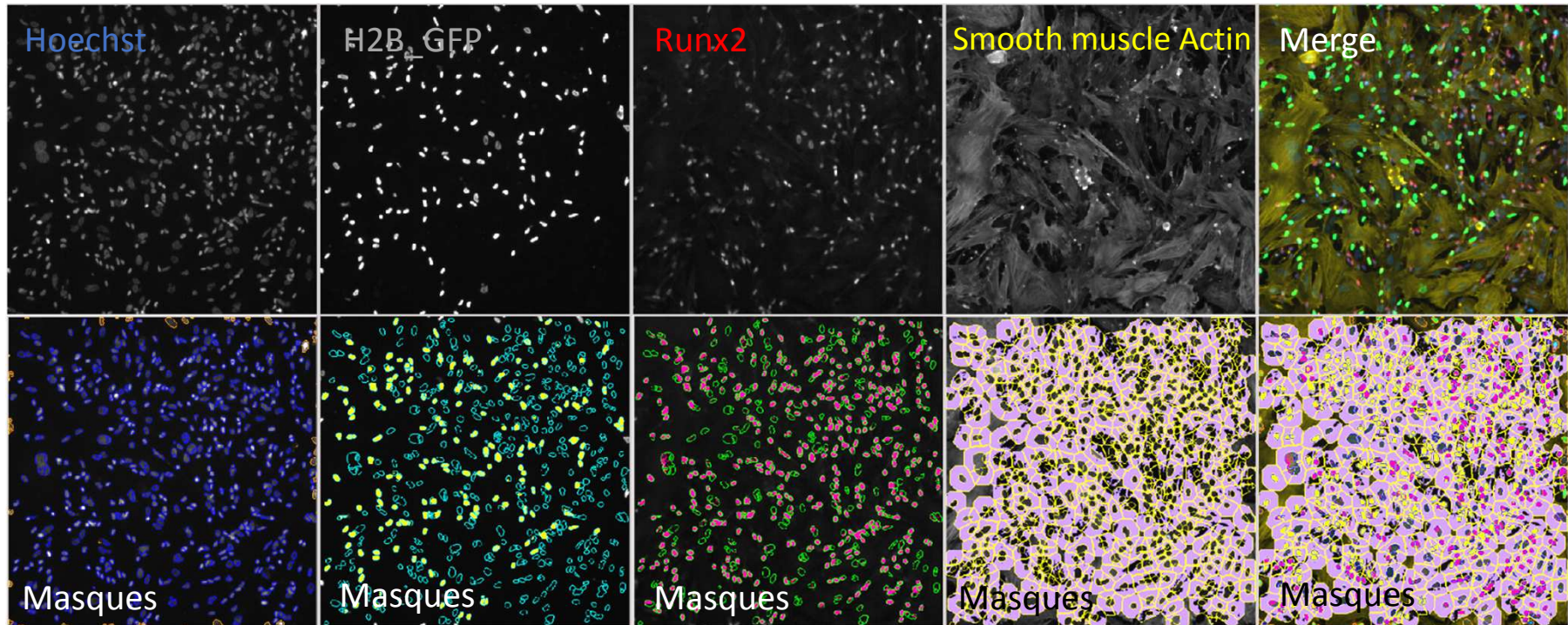


Figure 7 : Crête neurale de caille

Données : Barbara Da-Fonseca, équipe 1 IDV

Des marquages spécifiques et des seuillages précis permettent de différencier plusieurs populations de cellules apparaissant au cours de la différenciation cellulaire. Pour un marquage cytoplasmique, il est possible de définir une zone de recherche autour du noyau.

Détection de spots

Figure 8 : Monocytes humains

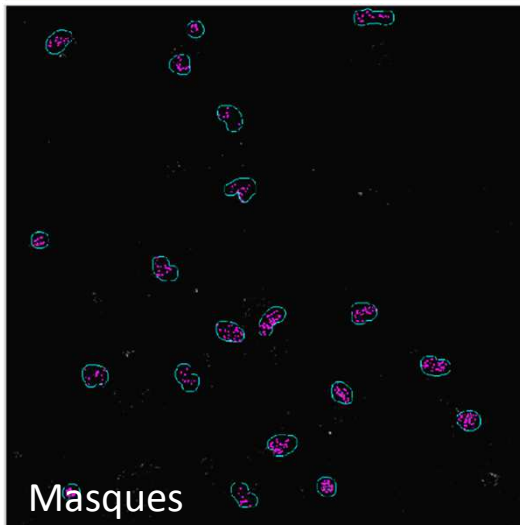
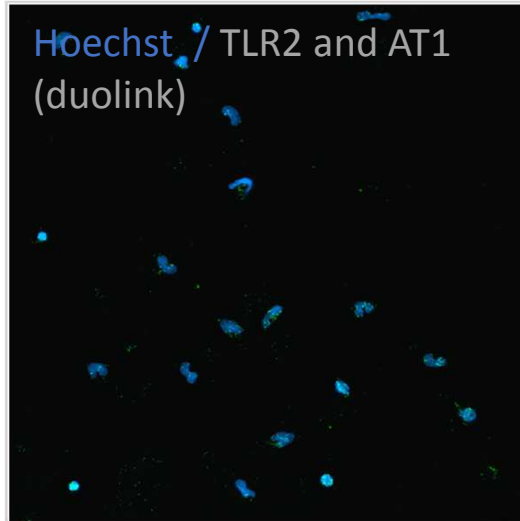
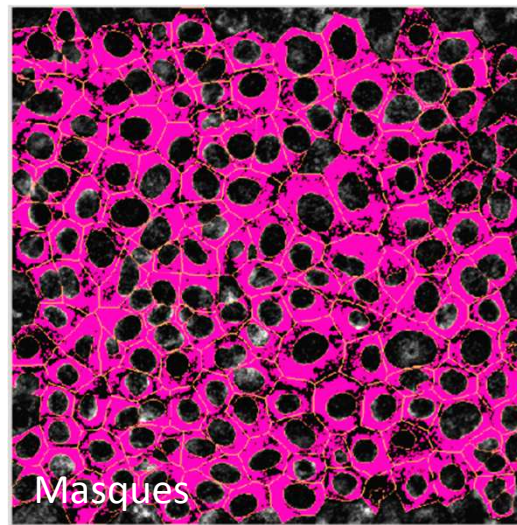
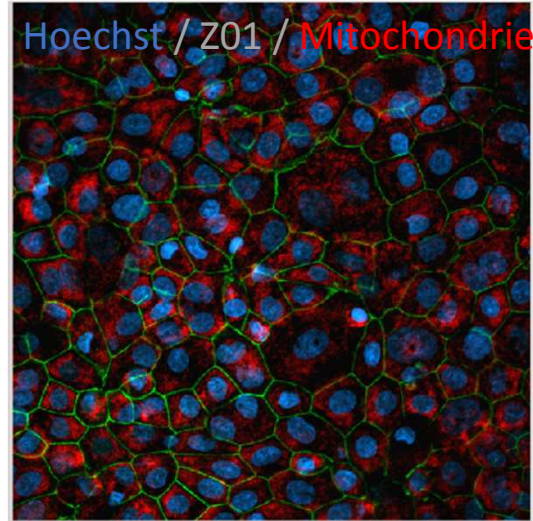


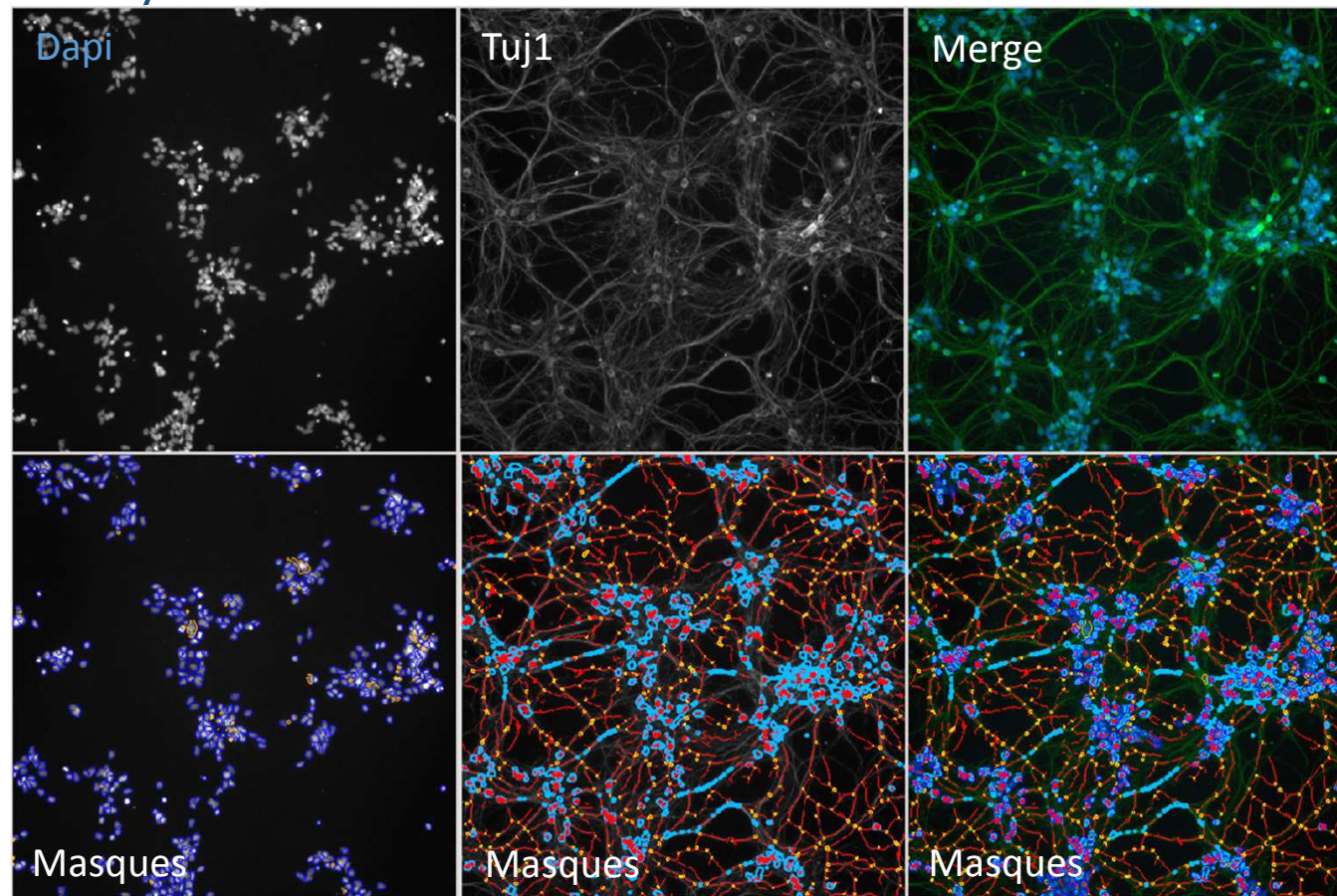
Figure 9 : Cellules de RPE



Pour la détection de spots, une taille de spots et une zone de recherche sont définies pour le comptage. (Figure 8)

Par contre, pour des spots plus diffus, une région d'intérêt est choisie et un seuil est appliqué afin d'obtenir la surface recouverte pour le marquage. (Figure 9)

Analyse neuronale



Données : Oriane
Rabesandratana,
équipe 2 IDV

Figure 10 Cellules dissociées issues de cellules IPS humaines dérivées en structures 3D neuro-rétiniennes
La bioapplication Neuronal Profiling détecte les neurones, les corps cellulaires, les neurites , ainsi que les spots présents au niveau des neurites et/ou des corps cellulaires. L'utilisation de différents masques permet de réaliser une détection spécifiques de ces spots, ainsi que de données morphologiques telles que le nombre de neurites par neurones, leur longueur, ainsi que le nombre de croisements de branches entre deux neurites.

Analyse morphologique

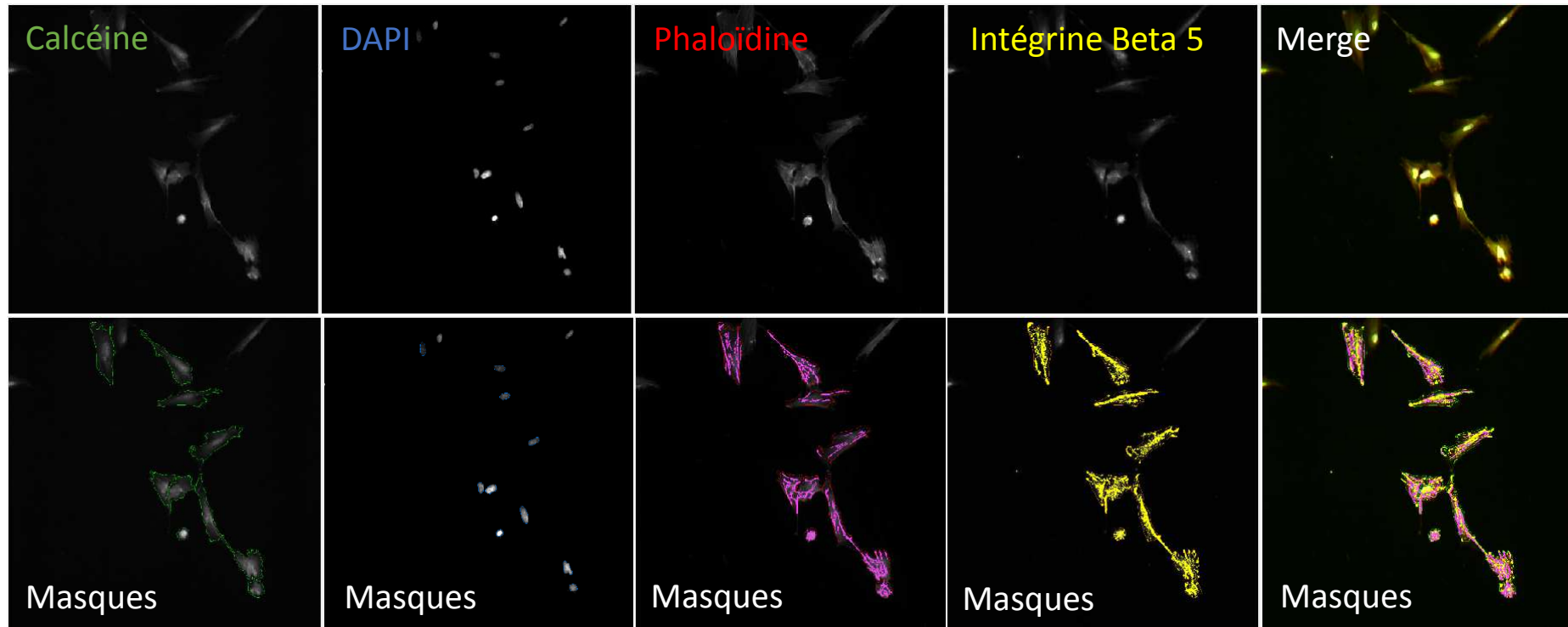


Figure 11 Cellules HTM (Human trabeculaire Meshwork)

Données : Agathe Alviset, équipe 8 IDV

La bioapplication Morphometry détecte les cellules via un marquage cytoplasmique. Les organites (noyaux ou mitochondries) sont ensuite comptabilisés via un second marquage. Dans ces deux compartiments des analyses de fibres et de spots peuvent être réalisés.

Dans l'exemple ci-dessus, les cellules sont repérées par un marquage calcéine. Le DAPI permet d'identifier les noyaux. La longueur et le nombre de fibres présents dans le cytoplasme sont analysés avec un marquage phaloïdine et une analyse de spots est réalisée avec un marquage intégrine bêta 5.