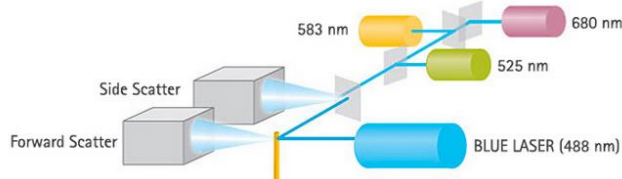


## Cytomètre en flux

**Références :** Guava « EasyCyte 5 Single sample flow », Cyttek

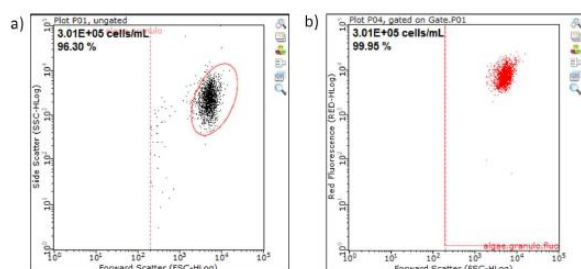
**Principe :** C'est une technique qui permet la mesure simultanée de plusieurs propriétés physiques d'une cellule. La cellule qui circule dans un micro-capillaire grâce à un flux de liquide est soumise au faisceau lumineux d'un laser (488 nm) et la lumière diffusée est mesurée et renseigne la taille de la cellule (FSC, Forward Scatter) et les propriétés/structure intracellulaires (SSC, Side Scatter). D'autres propriétés peuvent être obtenues par l'analyse de la fluorescence émise à la suite du marquage spécifique de certaines structures cellulaires (membrane, ADN, ...) et fonctions cellulaires (exemple, activité enzymatique par le FDA, Fluorescein Diacetate). Les signaux optiques émis sont ensuite séparés par des filtres optiques, collectés par des photomultiplicateurs, amplifiés, numérisés et stockés par ordinateur.

**Objectifs :** 1) Détermination de la concentration cellulaire, 2) Evaluation des propriétés des cellules (viabilité, perméabilité membranaire, ...)



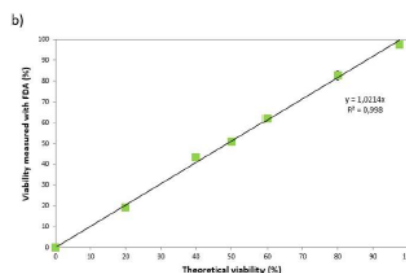
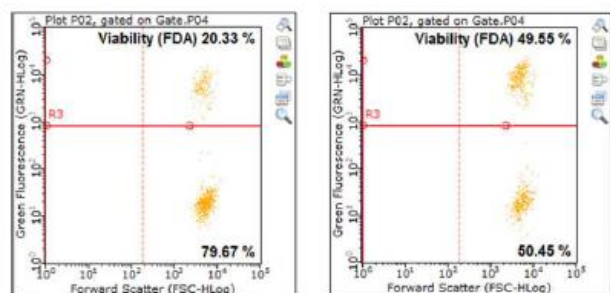
Guava EasyCyte 5 Single Sample Flow (à gauche) et configuration optique (à droite) : Laser 488 nm et détecteurs de fluorescence (525, 583 et 680 nm) ; Le trait jaune représente le micro capillaire où les cellules circulent en face du laser.

### Deux exemples d'application :



### Mesure de la concentration en microalgues (*C. reinhardtii*)

a) chaque particule détectée est placée sur le graphique selon ses coordonnées FSC/SSC. Les cellules de microalgues présentant des valeurs FSC/SSC similaires sont ainsi regroupées dans un nuage dense de points. La ligne verticale rouge, seuil FSC, permet de sélectionner les cellules des autres particules (débris, ...); b) Le signal fluorescent obtenu à 680 nm, associé à l'autofluorescence de la chlorophylle, permet de confirmer la détection des cellules.



**Mesure de la viabilité cellulaire d'échantillons de *C. reinhardtii*.** a) Fluorescence moyenne associée au FDA de deux échantillons présentant des taux de cellules viables différents (20% et 50% de viabilité théorique); b) validation de la méthode développée en cytométrie de flux pour déterminer le taux de viabilité d'échantillon de microalgues de *C. reinhardtii*.

-Fanesi, A., Lavayssière, M., Breton, C., Bernard, O., Briandet, R., & Lopes, F. (2021). Shear stress affects the architecture and cohesion of *Chlorella vulgaris* biofilms. *Scientific reports*, 11(1), 4002.

-Li, S. F., Fanesi, A., Martin, T., & Lopes, F. (2021). Biomass production and physiology of *Chlorella vulgaris* during the early stages of immobilized state are affected by light intensity and inoculum cell density. *Algal Research*, 59, 102453.

-Gao, Y., Bernard, O., Fanesi, A., Perré, P., & Lopes, F. (2023). The impact of light/dark regimes on structure and physiology of *Chlorella vulgaris* biofilms. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1250866.