

INSTITUTO ANTOFAGASTA
UNIDAD DE CITOMETRIA DE FLUJO

CODIGO DEL PROYECTO DEL EQUIPO: **EQM120137**

NOMBRE COORDINADOR RESPONSABLE: **DR. PATRICIO MORALES RETAMAL**

NOMBRE DEL EQUIPO: **CLASIFICADOR DE CELULAS ACTIVADO POR FLUORESCENCIA – CITOMETRO DE FLUJO BD FASCJazz.**

HISTORIA

La Citometría de Flujo, es una técnica de análisis que se utiliza para medir múltiples parámetros en una sola célula. Esto permite caracterizar poblaciones celulares que cumplen funciones específicas en un proceso biológico. Junto a la citometría de flujo se desarrolló la tecnología para separar células vivas en base a los parámetros medidos por el citómetro de flujo. Esto, constituye una poderosa herramienta para el estudio de diversas poblaciones celulares y está disponible en el mercado hace más de 20 años.

El Citómetro de Flujo de marca BD FACSJazz fue adjudicado en Noviembre del 2012 e instalado en la Unidad de Citometría del Instituto Antofagasta de la Universidad de Antofagasta el 11 de Septiembre del 2013. La puesta en marcha se inició el 01 de Noviembre del 2013 y estuvo funcional en todas sus capacidades en Octubre del 2014, por lo que se considera esta fecha, como el inicio de la puesta en marcha del proyecto **FONDEQUIP EQM120137**.

Actualmente, la Unidad de Citometría de Flujo viene prestando asistencia técnica y científica a todos los investigadores de la Universidad de Antofagasta que requieran del **uso de la citometría o el *sorting* de poblaciones celulares**.

FICHA TECNICA DEL EQUIPO

Citometro de Flujo Cell Sorter BD FACSJazz de la marca **BECTON DIKINSON**.

Su sistema óptico (fuente de luz) esta compuesto por 2 láseres, que están alineados de forma independiente y permite evaluar hasta 6 parámetros distintos en la célula estudiada.

- Laser azul: Argón (488nm)
- Laser rojo: HeNe (640nm)

Su sistema óptico, está compuesto por espejos **LonPass** y **filtros Bandpass**. La luz emitida desde la celda de flujo es dirigida hacia dos **detectores matrices**, conocidos como **Fotomultiplicadores (PMT)**. Este PMT está formado por un octágono que contiene 5 PMT, de las cuales 4 de ellas recoge las señales de dispersión de luz del laser azul (488nm) y 1 recoge las señales de dispersión lateral (**SSC**). Así mismo cuenta con un triángulo que contiene 2 PMT y recoge las señales de dispersión de luz del laser rojo (640nm). Por otro lado, también cuenta con un **Fotodiodo** que recoge las señales de dispersión frontal o directa (**FSC**).

Los Filtros y detección de Fluorescencia son los siguientes:

Para el laser azul (488nm), 4 detectores: (530/40), (858/29), (692/40) y (750/LP). Los Fluorocromos utilizados son: FITC, GFP, PE, PI, PerCP-Cy5.5 y PE-Cy7.

Para el laser rojo (640nm), 2 detectores: (660/20) y (750/LP). Los Fluorocromos utilizados son: APC; APC-Cy7, APC-H7.

Dentro de la **Electrónica digital**, cuenta con una adquisición de 10.000 cel/seg.

El **Software** para el procesamiento y análisis de datos es el **BD FACS Software sorter**.

Protocolos disponibles:

- Viabilidad Celular (por tinción del ADN con IP, Sybr-14, 7AAD)
- Ciclo Celular (por tinción del ADN con SYTOX, IP)
- Especies Reactivas de Oxígeno (ROS) (por tinción del ADN con DHE, SYTOX)
- Detección de Peroxinitrito mediante Dihydrorodamine 123 utilizando citometría de flujo
- Evaluación del Potencial de membrana mitocondrial mediante TMRM
- Determinación de oxidación del DNA mediante OxyDNA Assay Kit
- Determinación de la Fragmentación del DNA mediante método TUNEL

Procedimientos para el análisis de muestras:

1.- Reunión de Planificación con los investigadores interesados en desarrollar sus experimentos utilizando la técnica de la Citometría de Flujo. Se brinda al investigador toda la información que requiera tanto en el uso del equipo como en la preparación de sus muestras.

2.- Se le brinda el soporte necesario a los investigadores durante el análisis de datos para guiarlos en la búsqueda de la información que se adquiere.

3.- Se le orienta a los investigadores en la forma más adecuada de visualizar y seleccionar las poblaciones de interés, con la finalidad de que los datos obtenidos sean presentados y analizados de la forma más adecuada para la publicación de los datos.

INVESTIGADORES USUARIOS DE LA SALA DE CITOMETRIA

Actualmente contamos con usuarios de la Facultad de Ciencias de la Salud, la Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, del Instituto de Ciencias Naturales Alexander von Humboldt y del Instituto Antofagasta. El uso del equipo, ha sido definido por el proyecto de la siguiente manera:

Uso interno: al uso por personal técnico y alumnos tesistas dirigidos por investigadores de la Facultad de Ciencias de la Salud que formularon la propuesta y son los siguientes:

- PATRICIO MORALES RETAMAL
- LIDIA ZUÑIGA CONDOR
- EMILCE DIAZ LOIS
- JORGE GONZALES CORTES
- PEDRO ZAMORANO

Uso externo: al uso por personal técnico y alumnos tesistas dirigidos por investigadores que no formularon la propuesta. Entre ellos se incluye a investigadores del Instituto Antofagasta, Facultad de Ciencias de la Salud, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, del Instituto de Ciencias Naturales Alexander von Humboldt y de otras Universidades de la Zona Norte de Chile y son los siguientes:

- JOSE LUIS VEGA PIZARRO
- BENITO GÓMEZ-SILVA
- CARLOS RIQUELME
- PEDRO ECHEVESTE DE MIGUEL
- MARIA RAQUEL RODRÍGUEZ MARTÍNEZ

COSTO Y PAGO POR EL USO DEL EQUIPO

El uso del equipo tiene un costo, debido a que su funcionamiento requiere de calibración diaria y fluidos provistos por el distribuidor (BD Biosciences) y se detalla a continuación:

Costo Citometría: 1 UF la primera hora + 0,16 UF la hora adicional.

Costo Sorting: 1,5 UF la primera hora + 0,16 UF la hora adicional.

El pago por el uso del equipo consiste en que cada investigador debe contar con un proyecto vigente para realizar el pago con la reposición de insumos que requiere el equipo para su funcionamiento de acuerdo a su uso.