

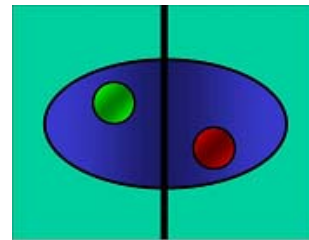
# CITÓMICA EN INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO DE MEDICAMENTOS

José Enrique O'Connor<sup>1</sup>, Alberto M. Alvarez<sup>2</sup>, Robert C. Callaghan<sup>3</sup>,  
Guadalupe Herrera<sup>1</sup>, Alicia Martínez<sup>1</sup>, Pilar Prieto<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Centro de Citometría y Citómica, Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Valencia; <sup>2</sup> Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares, Madrid; <sup>3</sup> Departamento de Patología, Universidad de Valencia; <sup>4</sup> ECVAM, EC Joint Research Center, Ispra, Italia

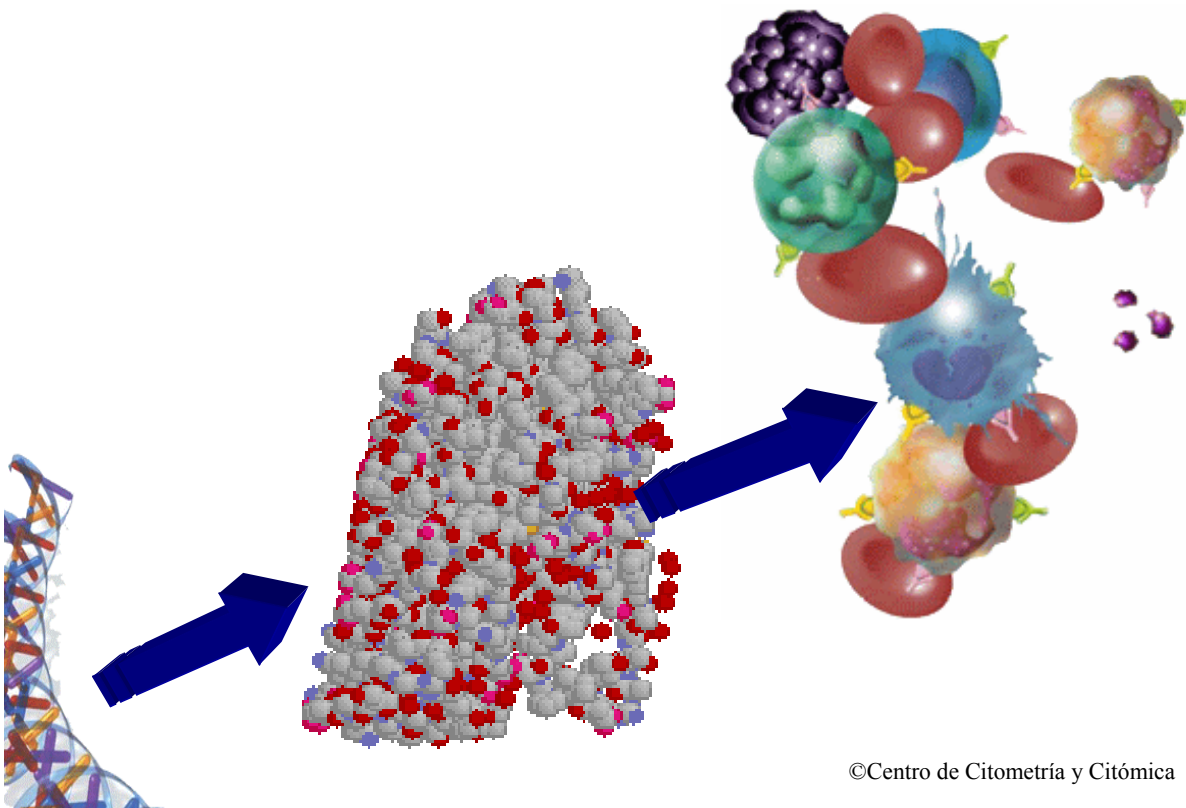


II Reunión de la Red Española de Métodos Alternativos



©Centro de Citometría y Citómica

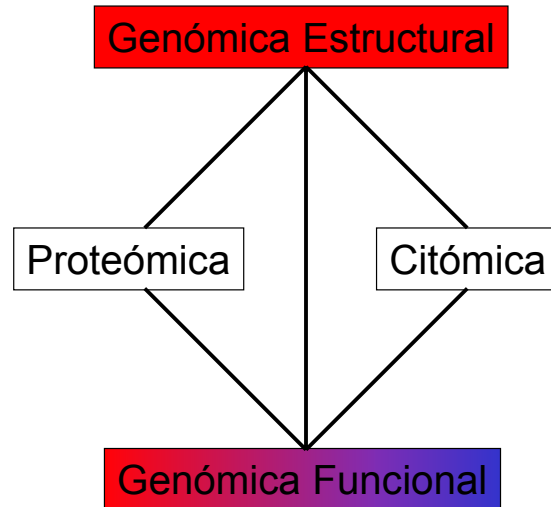
## GENOMICA, PROTEOMICA, CITOMICA



©Centro de Citometría y Citómica

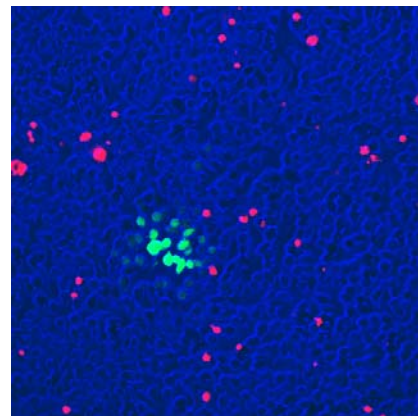
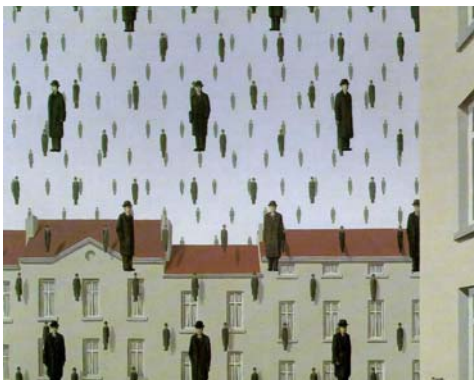


El análisis citómico determina el fenotipo molecular en cada célula individual, resultante del **genotipo** y la **exposición a factores externos**.



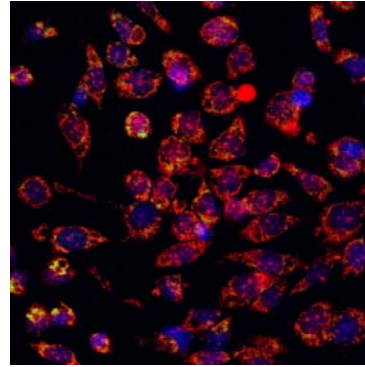
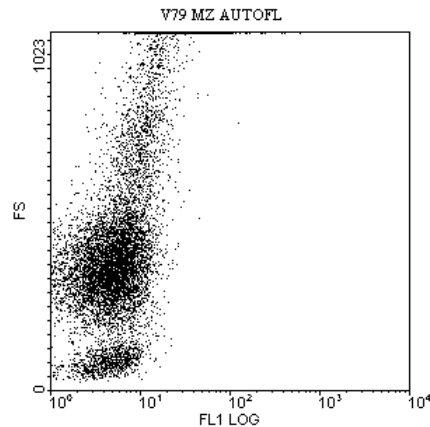
©Centro de Citometría y Citómica

La citómica aborda el problema de la interpretación de datos homogéneos, en los que los efectos pueden ser atribuidos a cambios uniformes en todas las células en lugar de en subpoblaciones determinadas.



©Centro de Citometría y Citómica

El progreso de la Citómica ha sido posible por la evolución de las tecnologías de análisis celular individual, fundamentalmente la citometría de flujo y la microscopía confocal y de barrido laser



©Centro de Citometría y Citómica

IUBMB *Life*, 51: 231-239, 2001  
Copyright © 2001 IUBMB  
1521-6543/01 \$12.00 + .00

### **Critical Review**

## **The Relevance of Flow Cytometry for Biochemical Analysis**

**José-Enrique O'Connor,<sup>1</sup> Robert C. Callaghan,<sup>2</sup> Marta Escudero,<sup>1</sup> Guadalupe Herrera,<sup>1</sup> Alicia Martínez,<sup>1</sup> María-do-Céu Monteiro,<sup>3</sup> and Hilario Montoliú<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Centro de Citometría, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Medicina, Universidad de Valencia, Valencia, Spain

<sup>2</sup>Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad de Valencia, Valencia, Spain

<sup>3</sup>Departamento de Bioquímica, Instituto Superior de Ciências da Saúde-Norte, Gândra PRD, Portugal

©Centro de Citometría y Citómica

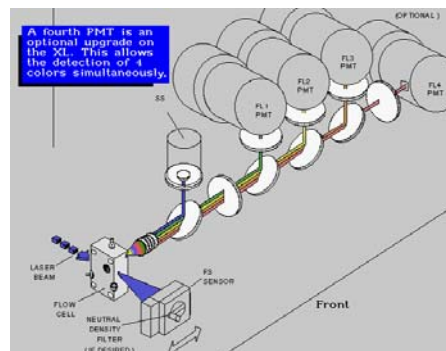
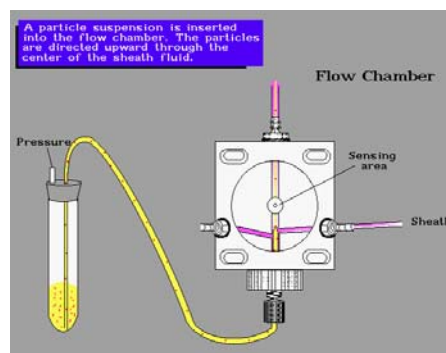
**Table 1**  
Biochemical assays by flow cytometry: samples and probes

Type of biological samples	
● Pluricellular organisms	● Isolated nuclei
● Cell spheroids	● Subcellular elements
● Hybridomas	● Chromosomes
● Cell fusions	● Liposomes
● Human cells	● Mallory bodies
● Animal cells	● Amyloid plaque fibers
● Plant protoplasts	● Membrane fractions
● Prokaryotic cells	● Viral particles
● Yeasts	● Soluble antigens <sup>1</sup>
● Microalgae	● DNA sequences <sup>1</sup>

Type of fluorochromes and fluorescent markers	
● Fluorochromes reacting with specific chemical groups	● Fluorescent pH indicators
● Fluorochrome pairs for resonance energy transfer	● Fluorescent ion chelators
● Fluorescent antibodies	● Membrane-potential sensitive distribution fluorescent dyes
● Fluorescent lectins	● Fluorogenic substrates of intracellular enzymes
● Fluorescent nucleic acid sequences	● Fluorescent macromolecules
● Fluorescent lipids	● Fluorescent synthetic particles
	● Endogenous fluorescent molecules

<sup>1</sup>Using fluorescent microspheres as capture reagents and fluorescent ligands as reporter molecules.



©Centro de Citometría y Citómica

**Table 2**  
Biochemical assays by flow cytometry: parameters

Cell surface parameters	Cytosolic parameters	Nuclear parameters	Subcellular elements
Membrane integrity	General protein	DNA content	Normal mitochondria
Membrane potential	Mitochondrial activity	RNA content	Megamitochondria
Membrane recycling	Mitochondria content	Nuclear total proteins	Cis-Golgi vesicles
Receptor expression	Cytosolic pH	Nuclear specific proteins	Trans-Golgi vesicles
Receptor interactions	Lysosomal pH	Chromatin conformation	Endosomes
Receptor modulation	Tyrosine phosphorylation	Cyclins and CDks	Phagosomes
Surface glycoconjugates	Cytosolic Ca <sup>2+</sup>	Proliferation-related antigens	Chloroplasts
Ligand binding to surface receptors	ROS and NOS	DNA synthesis	Thylakoids
Cell-cell adhesion	Enzyme activity:	DNA strand breaks	Extracellular analytes
Membrane fluidity	Oxidases	DNA oxidation	
Cholesterol content	Dehydrogenases	DNA repair	
Loss of lipid asymmetry	Esterases	Nuclear receptors	
Permeability to fluorescent probes	Proteases	Gene expression	
Membrane peroxidation	Transferases	Gene reporting	
Membrane shedding	Protein modification		
Endocytosis	Free soluble thiols		
Phagocytosis	Glutathione		
Pynocytosis	Protein thiols		
Efflux pumps	Nonpolar lipids		
Bacterial cell wall	Polar lipids		
Yeast cell wall	Cytoskeletal proteins		
	Granule content		

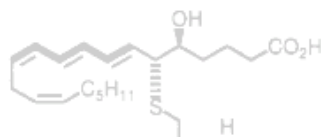
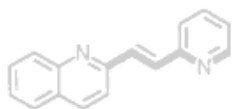
©Centro de Citometría y Citómica

**Table 3**  
Biochemical assays by flow cytometry: strategies, information, and applications

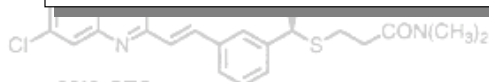
Assay strategies	Primary information	Main general applications
a) <i>According to the biological material:</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Assays using fresh cells</li> <li>• Assays using fixed cells</li> <li>• Assays using subcellular elements</li> <li>• Multiplexed assays</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Intensity of expression of multiple parameters within homogeneous cell populations</li> <li>• Heterogeneity of expression of multiple parameters in cell subpopulations</li> <li>• Correlation between different parameters in cell populations</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Identification/characterization of cells based upon multiple biochemical parameters</li> <li>• Diagnostic applications, including detection of rare pathological cells</li> <li>• Analysis of cell activation, including receptor biology and signal transduction</li> </ul>
b) <i>According to specific cell selection:</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Nongated assays</li> <li>• Gated assays</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ratio between multiple parameters in single cells</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Analysis of gene expression, including gene engineering</li> </ul>
c) <i>According to assay duration:</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Single end-point assays</li> <li>• Sequential end-point assays</li> <li>• Kinetic assays with unperturbed cells</li> <li>• Kinetic assays following cell stimulation with ligands</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Evolution of fast and/or transient dynamic parameters</li> <li>• Evolution of slow and/or sustained dynamic parameters</li> <li>• Detection and analysis of rare cells/particles</li> <li>• Correlation with parameters analyzed with other techniques following cell sorting</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Analysis of cell cycle and proliferation-related events</li> <li>• Analysis of differentiation</li> <li>• Flow cytometry</li> <li>• Analysis of cell viability and cell death, including apoptosis and necrosis</li> </ul>
d) <i>According to data analysis:</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>• On-line analysis (real time)</li> <li>• Off-line (Listmode analysis)</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Analysis of microbial biochemistry, including sensitivity to drugs</li> <li>• Control of biotechnological processes, including growth conditions and productivity</li> <li>• Environmental biochemistry</li> </ul>

©Centro de Citometría y Citómica

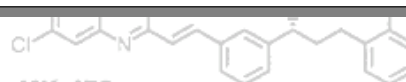
## CITOMETRIA EN INVESTIGACIÓN FARMACO-TOXICOLOGICA



El análisis citómico se integra en las estrategias esenciales en el análisis de la interacción xenobiótico-célula en investigación básica, el desarrollo industrial y la evaluación de efectos terapéuticos y tóxicos de productos químicos y biológicos.



**MK-679**  
verlukast  
 $pA_2 = 8.8$



**MK-476**  
montelukast sodium  
 $pA_2 = 9.3$ , p.o.  $ED_{50} = 0.03$  mg/kg

©Centro de Citometría y Citómica

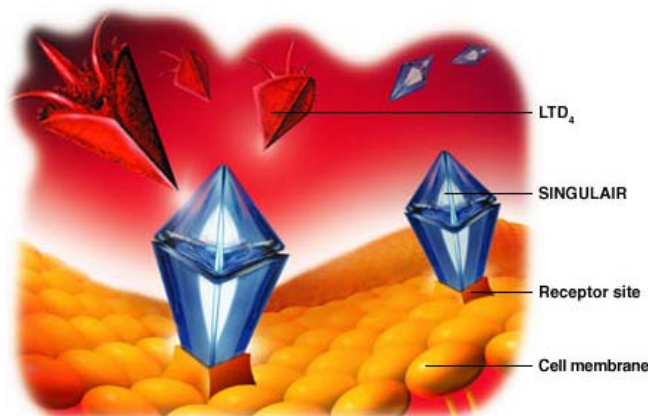
## CITOMETRIA EN INVESTIGACIÓN FARMACO-TOXICOLOGICA: APLICACIONES GENERALES

- Identificación y selección de subpoblaciones celulares específicas
- Identificación de células diana/susceptibles a xenobióticos
- Análisis multiplexado de analitos solubles
- Screening de alto rendimiento y de alto contenido
- Caracterización de mecanismos de acción de fármacos/xenobióticos
- Detección y cuantificación de toxicidad

©Centro de Citometría y Citómica

## CITOMETRIA EN INVESTIGACIÓN FARMACO-TOXICOLOGICA

La citometría de flujo puede ser aplicada en todas las etapas de la interacción entre un fármaco/xenobiótico y sus células diana, específicas o inespecíficas.



©Centro de Citometría y Citómica

## CITOMETRIA EN INVESTIGACIÓN FARMACO-TOXICOLOGICA: ESTUDIO DE LA INTERACCION FARMACO/CELULA

- Detección y cuantificación de receptores de superficie
- Detección y cuantificación de receptores intracelulares
- Detección de respuestas mediadas por receptores de fármacos
- Análisis del transporte y difusión de solutos a través de membrana
- Análisis del metabolismo intracelular de xenobióticos
- Análisis de los efectos intracelulares de fármacos y xenobióticos
- Detección y cuantificación de alteración metabólica y muerte celular

©Centro de Citometría y Citómica

## DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE RECEPTORES DE SUPERFICIE

- Identificación de subpoblaciones celulares específicas:
  - Tipo salvaje
  - Transfectantes y Knock-outs
- Identificación de dianas potenciales para la acción de fármacos que actúan a través de receptores
- Selección de poblaciones modelo para:
  - Interacción fármaco-receptor
  - Unión e internalización de ligandos

©Centro de Citometría y Citómica

## DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE RECEPTORES INTRACELULARES

- De relevancia práctica, sobre todo, en el estudio de los receptores nucleares de esteroides
- Identificación de subpoblaciones celulares tumorales dependientes de hormona
- Monitorización terapéutica en distintos tipos de tumores

©Centro de Citometría y Citómica

## DETECCIÓN DE RESPUESTAS MEDIADAS POR RECEPTORES

- Permite el análisis funcional de receptores:
  - Detección de respuestas rápidas de movilización de  $\text{Ca}^{2+}$
  - Modificaciones funcionales intracelulares
  - Fenómenos proliferativos inducidos por la activación de receptores

©Centro de Citometría y Citómica

## DETECCIÓN DE RESPUESTAS MEDIADAS POR RECEPTORES

La mayoría de dianas moleculares de fármacos son:

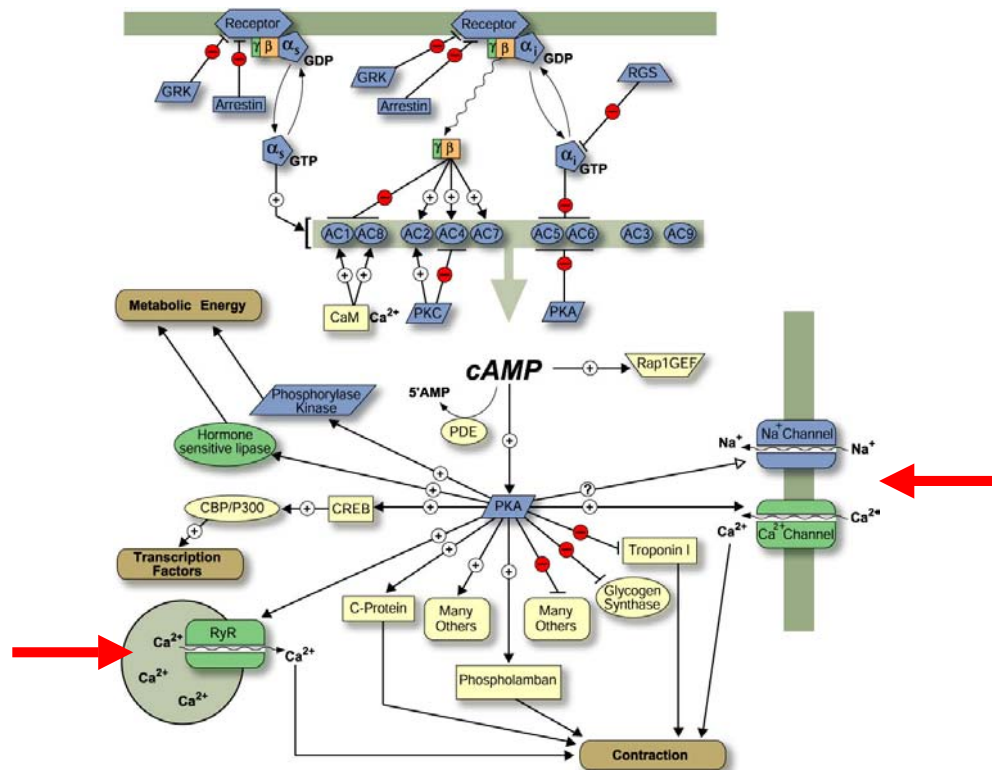
- **Receptores de 7 dominios transmembrana acoplados a proteínas G (~ 5000)**
- Receptores nucleares (~>150)
- Canales iónicos (~ 1000)
- Enzimas (indeterminado)

Si se consideran los 100 fármacos “top” :

- 18 se unen a GPCR
- 10 se unen a receptores nucleares
- 16 se unen a canales iónicos
- La mayor parte de los restantes inhiben enzimas

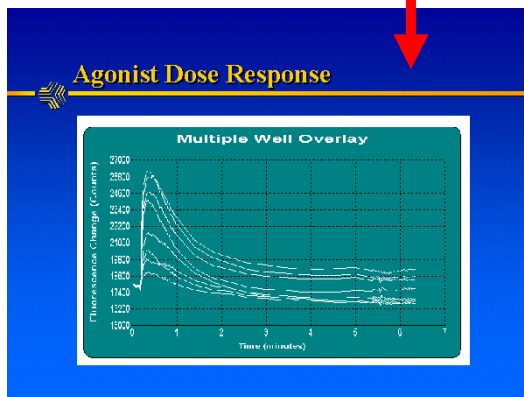
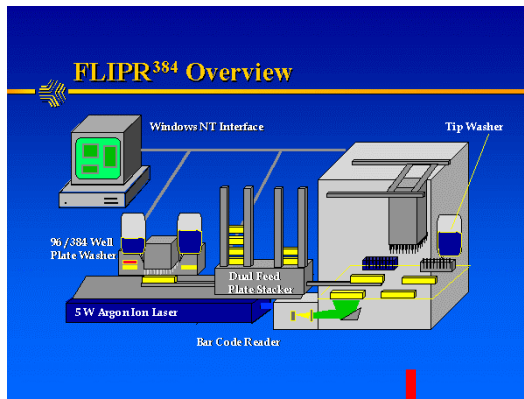
©Centro de Citometría y Citómica

## TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES POR RECEPTORES DE TIPO GPCR



©Centro de Citometría y Citómica

## TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES POR RECEPTORES DE TIPO GPCR

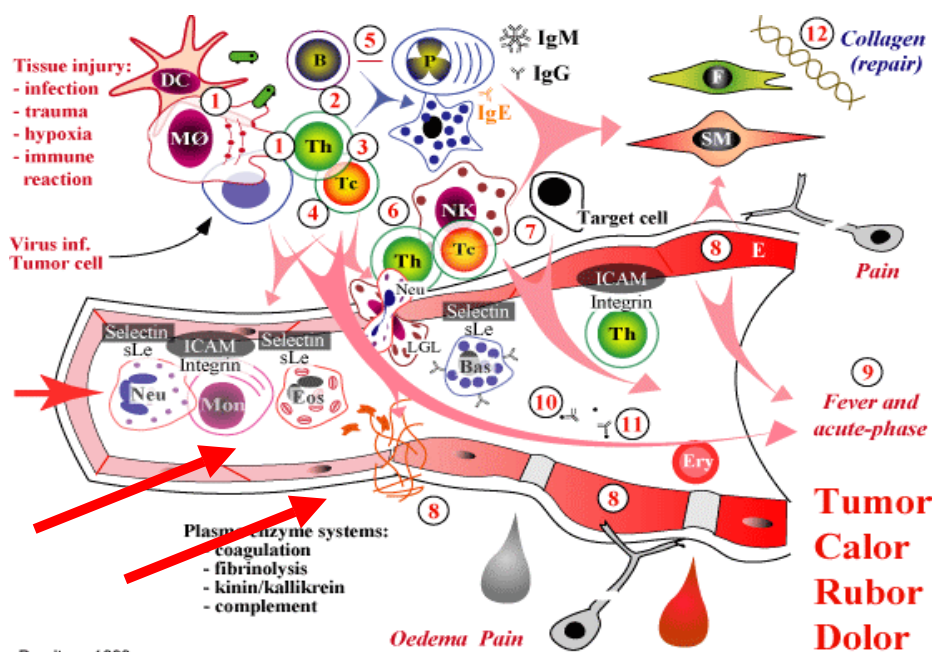


### HTS mediante FLIPR

Medida cinética de Ca<sup>2+</sup> intracelular  
 Robotizado  
 1024 wells/seg  
 Miles de análisis por día

©Centro de Citometría y Citómica

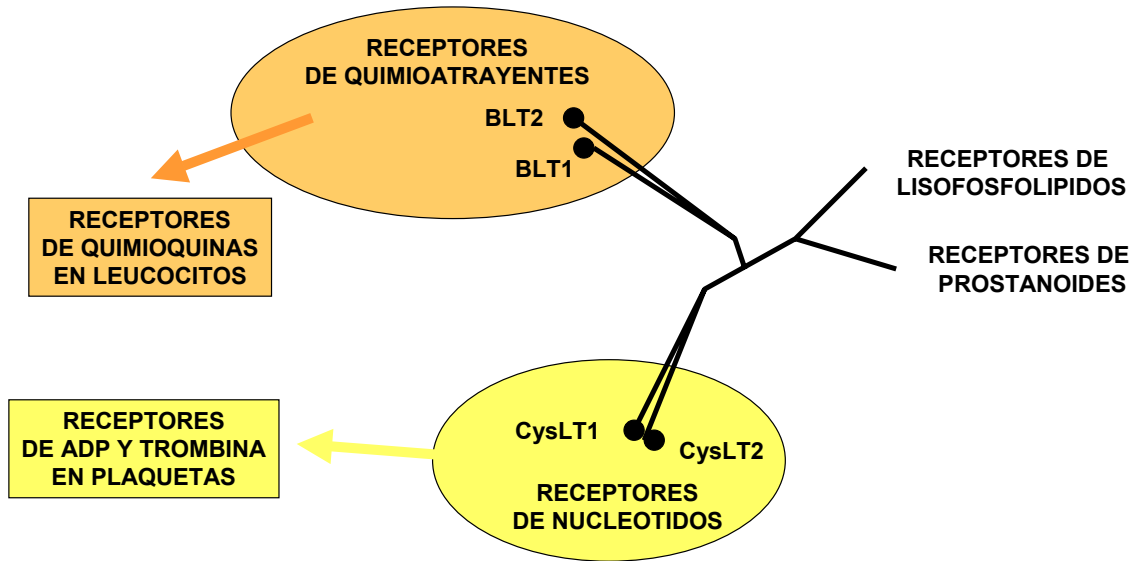
## ANÁLISIS CITOMÉTRICO DE RECEPTORES RELACIONADOS CON LA INFLAMACIÓN



Bendtsen 1999

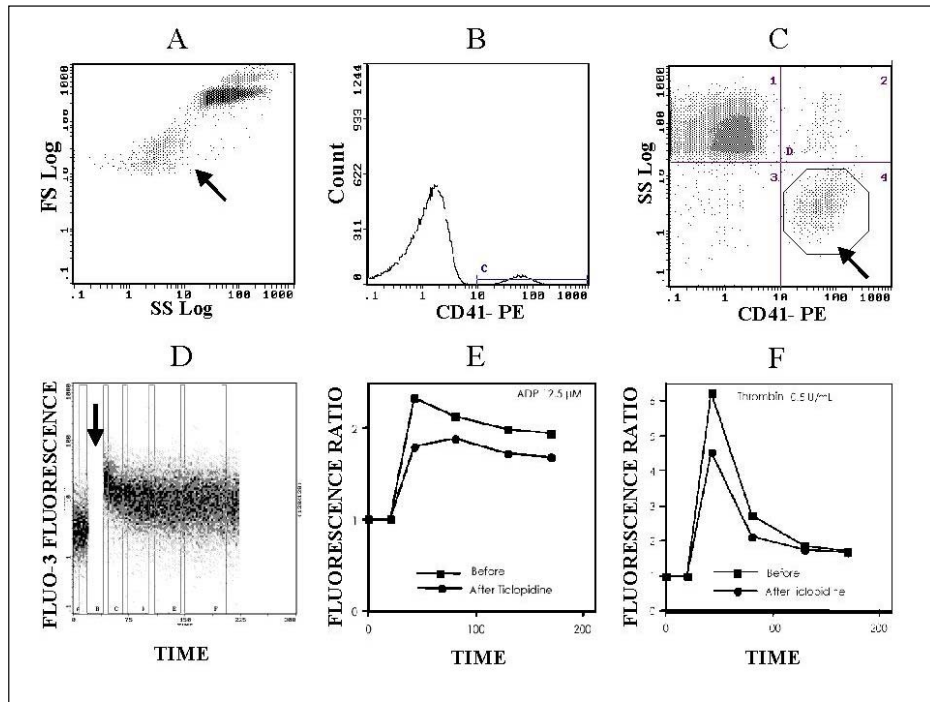
©Centro de Citometría y Citómica

# FILOGENIA DE GPCR IMPLICADOS EN INFLAMACIÓN



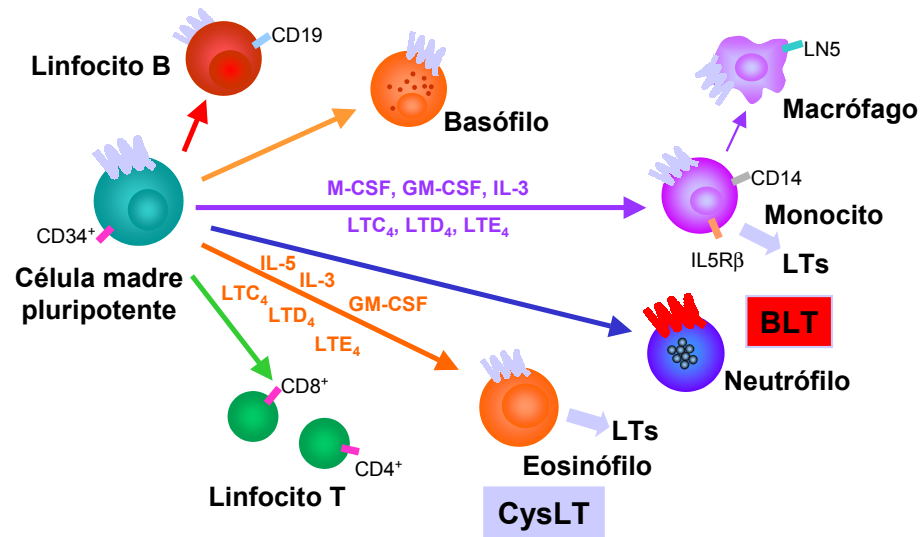
©Centro de Citometría y Citómica

## ANALISIS CITOMETRICO DE ACTIVACION DE PLAQUETAS EN SANGRE ENTERA



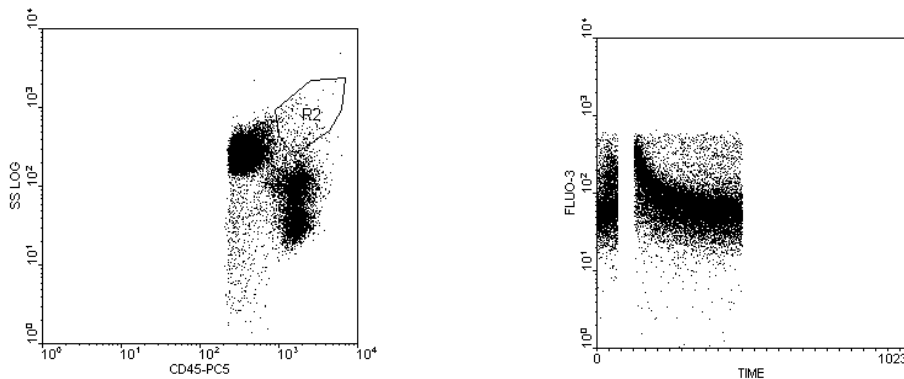
©Centro de Citometría y Citómica

# EXPRESIÓN DE LOS RECEPTORES DE LEUCOTRIENOS EN CÉLULAS INFLAMATORIAS

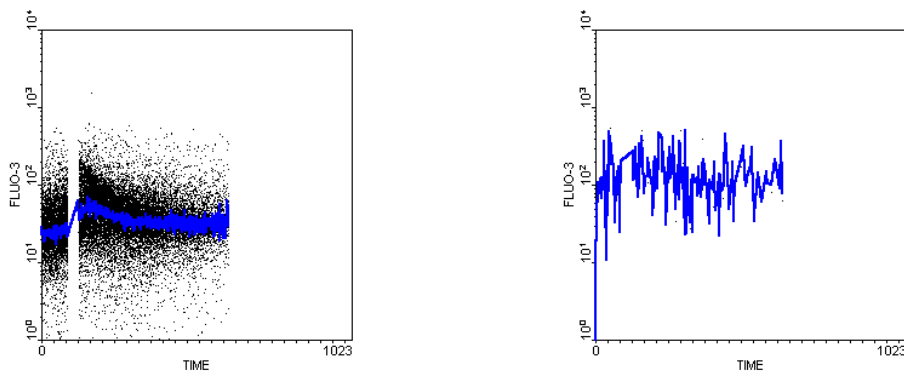


©Centro de Citometría y Citómica

## SANGRE ENTERA ESTIMULADA CON LTB4 5 nM

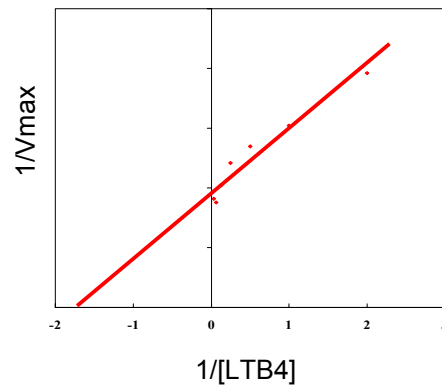
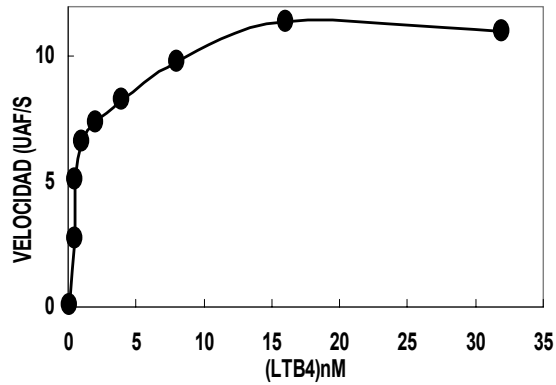


## SANGRE ENTERA ESTIMULADA CON LTE4 0.9μM



y Citómica

## PARAMETROS CINETICO DE LA RESPUESTA A LTB4 EN PMN DE SANGRE ENTERA



©Centro de Citometría y Citómica

## TRANSPORTE Y DIFUSIÓN DE SOLUTOS A TRAVÉS DE MEMBRANA

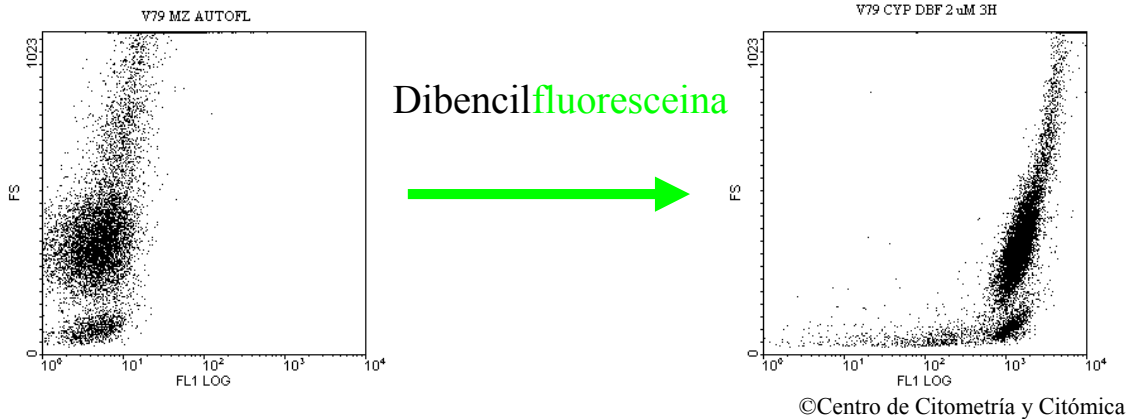
- Caracterización de fármacos de bajo peso molecular o de proteínas bioactivas que no actúan a través de receptores específicos y son transportadas o internalizadas a través de la membrana plasmática.
- Estudio de los fenómenos de extrusión o difusión pasiva de solutos:
  - Caracterización funcional de bombas de expulsión de fármacos
  - Fenotipo MDR en la terapia antitumoral o antiinfecciosa

©Centro de Citometría y Citómica

## ANÁLISIS DEL METABOLISMO INTRACELULAR DE XENOBIÓTICOS

Biotransformación de xenobióticos:

- Actividad de isoformas de CYP450
- Formación de aductos con el glutatión

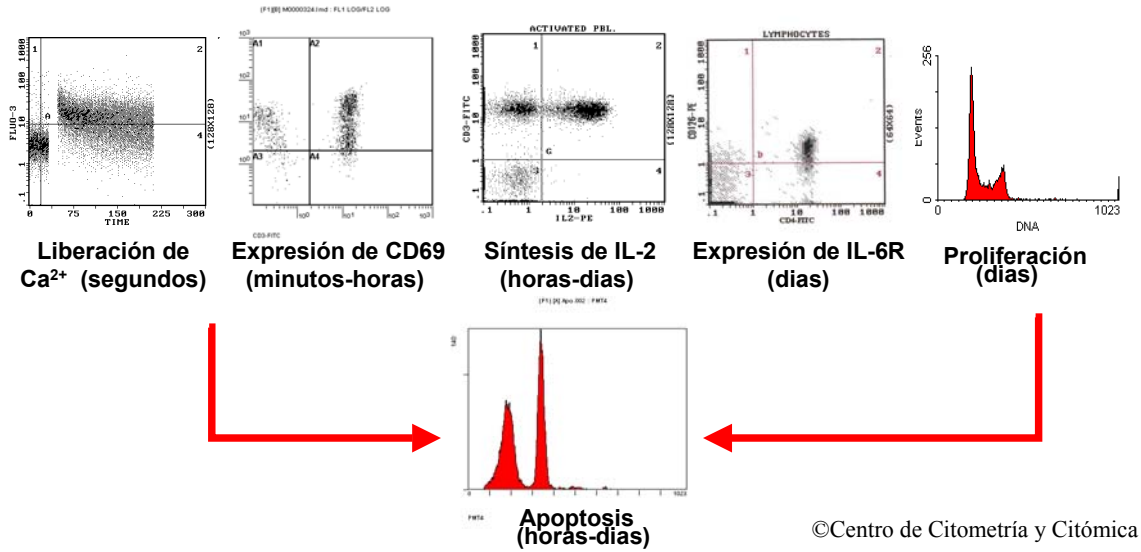


## ANÁLISIS DE LOS EFECTOS CELULARES DE XENOBIÓTICOS

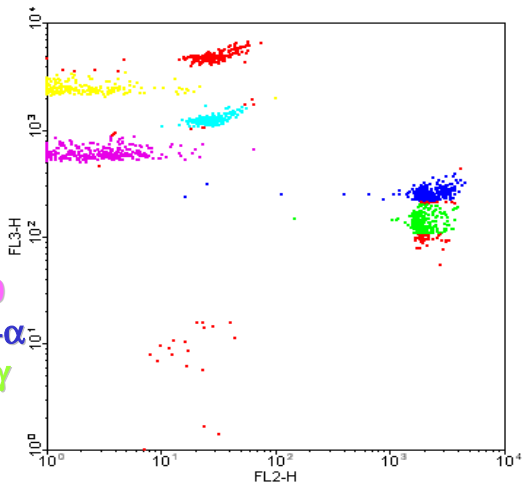
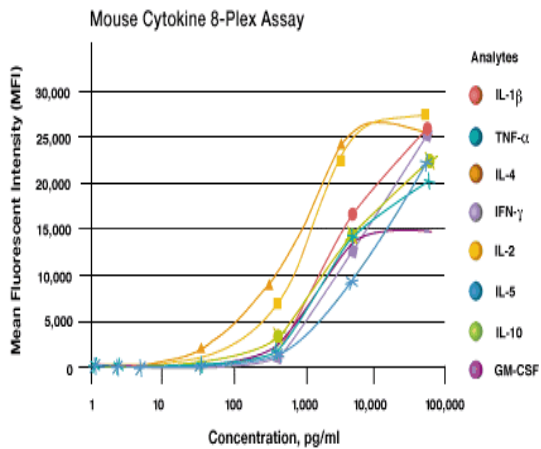
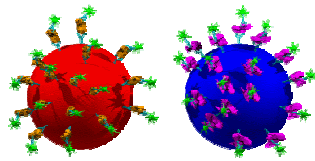
La citometría de flujo multiparamétrica es, **probablemente**, la disciplina analítica potencialmente más poderosa para el estudio de los efectos biológicos inducidos por fármacos y xenobióticos en células diana o, en general, en poblaciones celulares susceptibles

## ANÁLISIS DE LOS EFECTOS CELULARES DE XENOBIÓTICOS

La sensibilidad y resolución temporal de la citometría, y el elevado número de parámetros, proporcionan una visión integradora de la función celular (análisis de alto contenido).



## ANÁLISIS MULTIPLEXADO: MULTIPLES ANALITOS EN UN SOLO TUBO



# LA CITOMETRIA COMO METODO ALTERNATIVO EN TOXICOLOGIA IN VITRO

An evaluation of the reproducibility and transferability of flow cytometric and confocal microscopic endpoints in an in vitro nephrotoxicity and in vitro metabolism models.

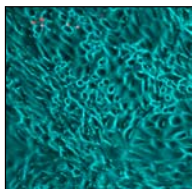
An European Contract sponsored by the European Center for the Validation of Alternative Methods (ECVAM), Institute for Health and Consumer Protection, Commission of the European Communities (15348-1999-10FIED ISP ES)

©Centro de Citometría y Citómica

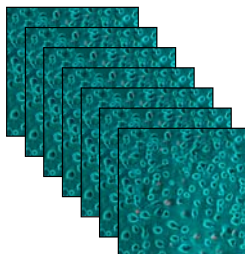
# LA CITOMETRIA COMO METODO ALTERNATIVO EN TOXICOLOGIA IN VITRO



**3 Rs:** Replacement, Reduction and Refinement



**REPLACEMENT**  
Tejidos específicos



**REDUCTION**

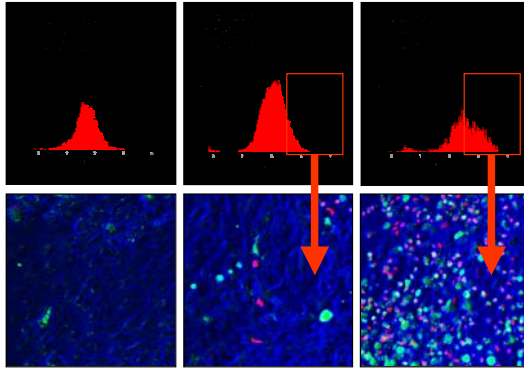
**Amplios paneles de screening**

©Centro de Citometría y Citómica

# LA CITOMETRIA COMO METODO ALTERNATIVO EN TOXICOLOGIA IN VITRO

## “REFINEMENT”

### Citometría de Flujo y Microscopía Confocal



- Múltiples “endpoints”
- Cuantitativas
- No-invasivas
- Similar fundamento biológico
- Información Complementaria :
  - Descripción poblacional
  - Descripción celular
  - Correlación de parámetros
  - Descripción topológica

### Ensayos Multiparamétricos

©Centro de Citometría y Citómica

# LA CITOMETRIA COMO METODO ALTERNATIVO EN TOXICOLOGIA IN VITRO

## CULTIVOS DE CELULAS DE TUBULO RENAL

### TUBULO RENAL PROXIMAL

- OK
- LLC-PK1

### TUBULO RENAL DISTAL

- MDCK

## CITOMETRIA DE FLUJO

## MICROSCOPIA CONFOCAL



**ANALISIS MULTIPARAMETRICO DE  
MARCADORES DE NEFROTOXICIDAD:  
NEFROTOXINAS ESTANDARD : CADMIO, CICLOSPORINA A, CIS-PLATINO  
CONTROLES POSITIVOS APROPIADOS**

©Centro de Citometría y Citómica

# LA CITOMETRIA COMO METODO ALTERNATIVO EN TOXICOLOGIA IN VITRO

## CULTIVOS DE CELULAS V79



FALSAS TRANSFECTADAS

TRANSFECTADAS ESTABLES  
CON EL GEN CYP 2D6

**CITOMETRIA DE FLUJO**

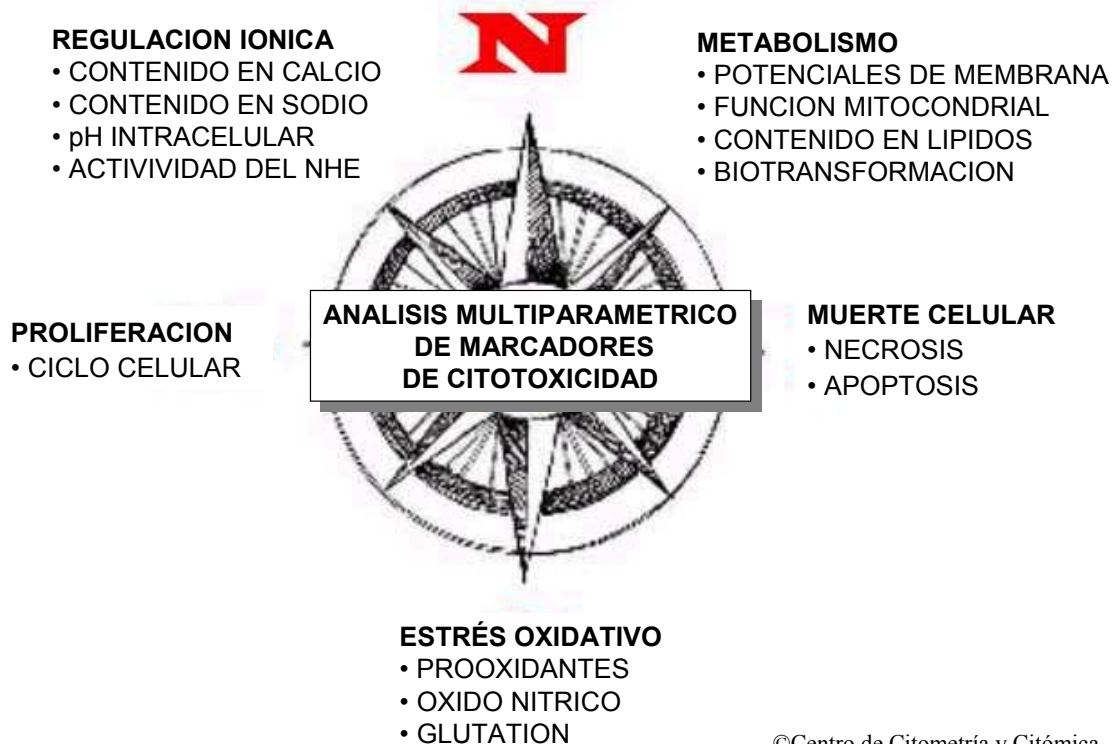
**MICROSCOPIA CONFOCAL**



**ANALISIS MULTIPARAMETRICO DE  
MARCADORES DE CITOTOXICIDAD DEPENDIENTE DE 2D6:  
SUSTRATOS DE CYP 2D6 : IMIPRAMINA, MIANSERINA  
CONTROLES POSITIVOS APROPIADOS**

©Centro de Citometría y Citómica

# LA CITOMETRIA COMO METODO ALTERNATIVO EN TOXICOLOGIA IN VITRO



©Centro de Citometría y Citómica

# LA CITOMETRIA COMO METODO ALTERNATIVO EN TOXICOLOGIA IN VITRO



## APLICABILIDAD DE LOS RESULTADOS

- Hay una serie de marcadores de citotoxicidad:
  - Dependientes de concentración
  - Dependientes de tiempo
- Recomendados para un "Primary Toxicity Cytometry Panel"
  - Viabilidad: Necrosis/apoptosis con Annexina/PI
  - Potenciales de membrana : PMM (Rh123); PMP (DiBAC)
  - Homeostasis iónica : Ca<sup>2+</sup> con Fluo-3/Fura Red
  - Estrés oxidativo : Peroxidos (DCDHF); Superóxido (HE)
  - Perfil de lípidos : Nile Red

## APLICABILIDAD DE LOS RESULTADOS

- Modelos de Exposición a Xenobióticos:
  - Establecimiento inicial de la letalidad
  - Exposición a concentraciones sub-letales:
    - Toxicidad aguda: 5 horas
    - Toxicidad retrasada: 5 horas (pulso)+ 48 horas (caza)
    - Toxicidad sostenida: 48 horas
- Modelos celulares:
  - Líneas primarias/establecidas:
    - Neuronal/Glial
    - Hepatocitos/Hepatoma
    - Nefronas/ Túbulos Renales
    - Células Hematopoyéticas

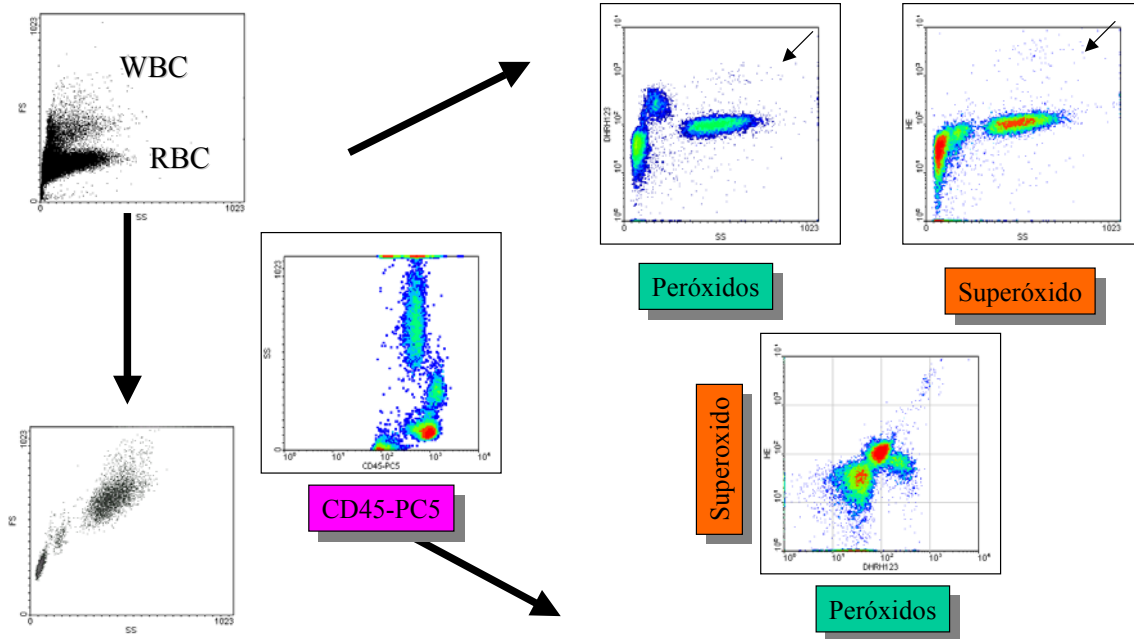
©Centro de Citometría y Citómica

## ANÁLISIS DE LOS EFECTOS CELULARES DE XENOBIÓTICOS

- Carácter no invasivo de la citometría de flujo
- Fácil accesibilidad a tipos celulares de relevancia:
  - Leucocitos de sangre periférica
  - Espermatozoides
  - Seres unicelulares en su propio entorno
- Monitorización fenotípica de los efectos de fármacos y xenobióticos sobre el organismo entero:
  - Biomarcadores de exposición y de efecto.

©Centro de Citometría y Citómica

## ANÁLISIS DE ESTRÉS OXIDATIVO EN LEUCOCITOS DE SANGRE ENTERA



©Centro de Citometría y Citómica

## UTILIDAD DE MODELOS BACTERIANOS

© 2002 Wiley-Liss, Inc.

Cytometry 49:62-69 (2002)

### Assessment of *Escherichia coli* B With Enhanced Permeability to Fluorochromes for Flow Cytometric Assays of Bacterial Cell Function

Guadalupe Herrera,<sup>1</sup> Alicia Martínez,<sup>2</sup> Manuel Blanco,<sup>2</sup> and José-Enrique O'Connor<sup>1\*</sup>

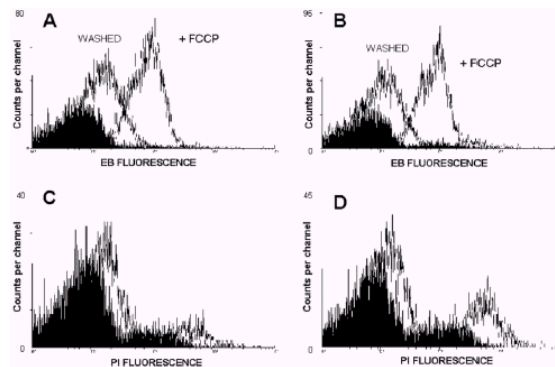
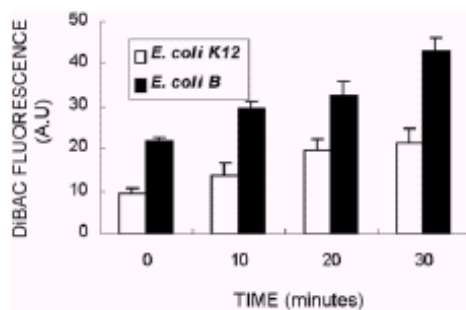
<sup>1</sup>Centro de Citometría, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Valencia, Valencia, Spain

<sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Citológicas, Fundación Valenciana de Investigaciones Biomédicas, Valencia, Spain

Received 13 June 2002; Revision Received 12 July 2002; Accepted 16 July 2002

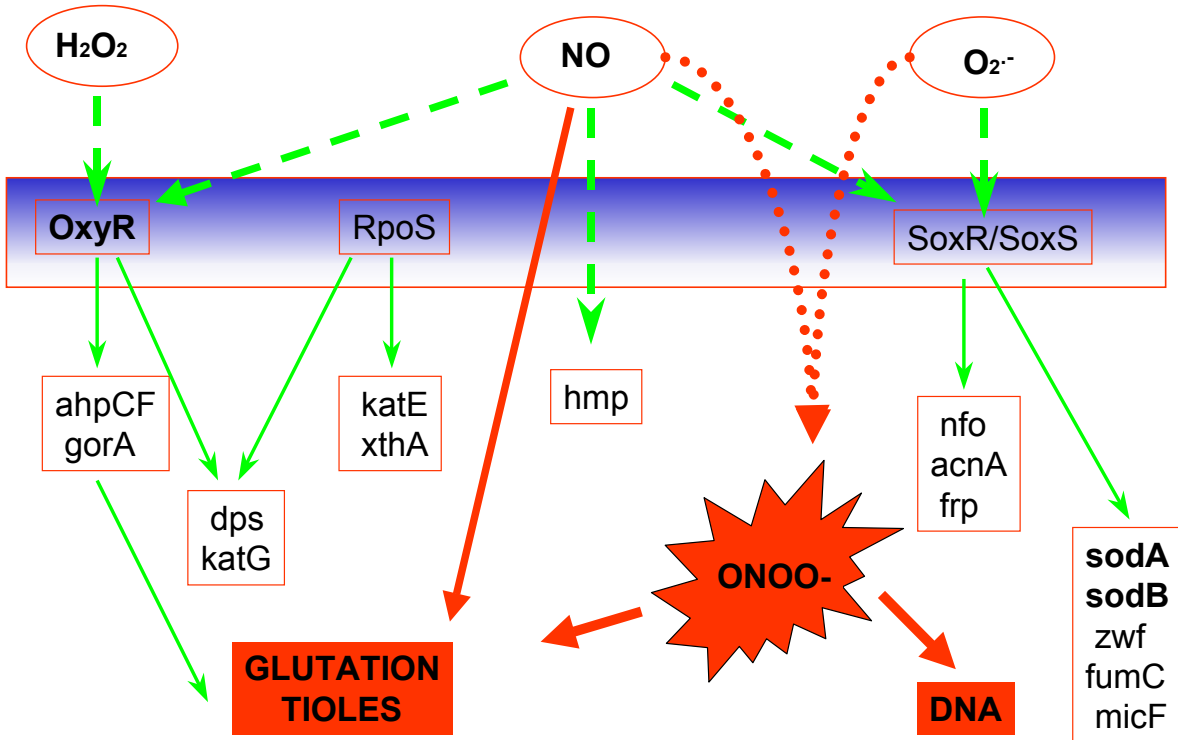
FLOW CYTOMETRY OF *E. COLI* B

67



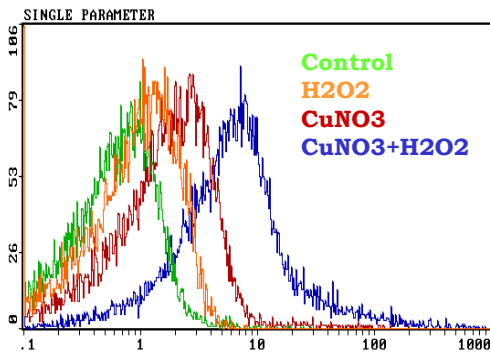
©Centro de Citometría y Citómica

# GENOMICA Y CITOMICA CON CEPAS WP2 DE *E. Coli*

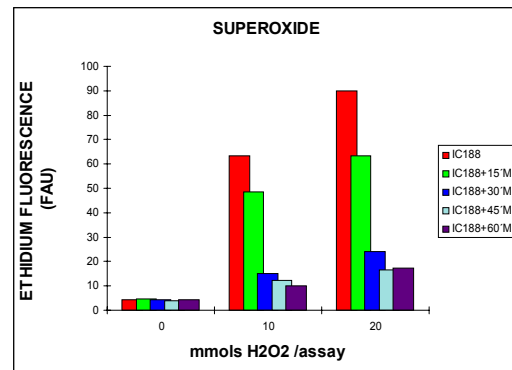
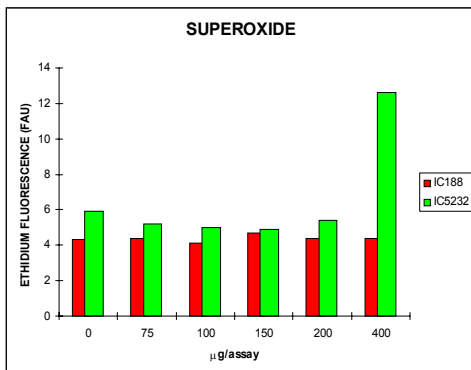
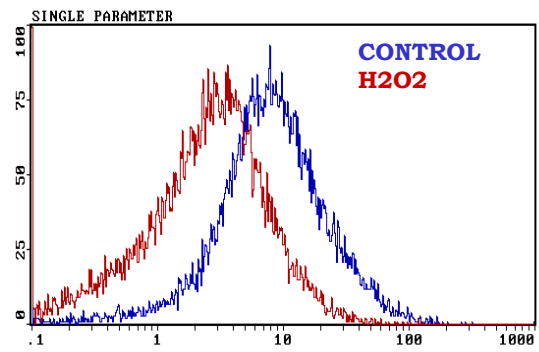


©Centro de Citometría y Citómica

## ACTIVIDAD OXIDATIVA INTRACELULAR



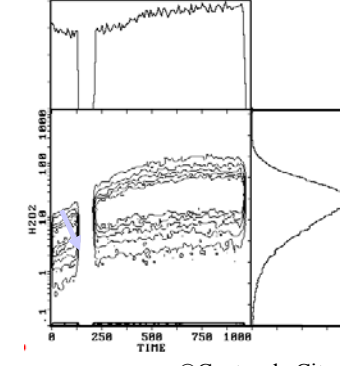
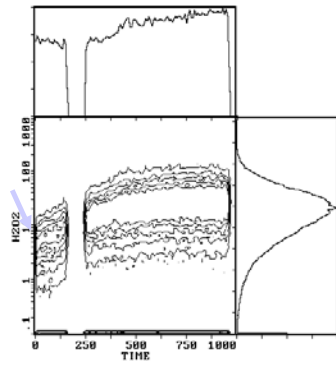
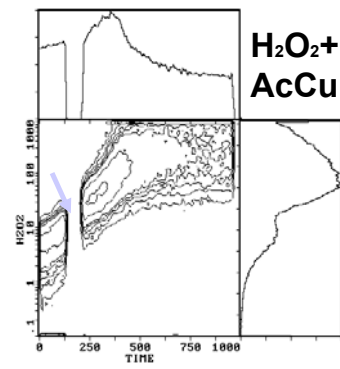
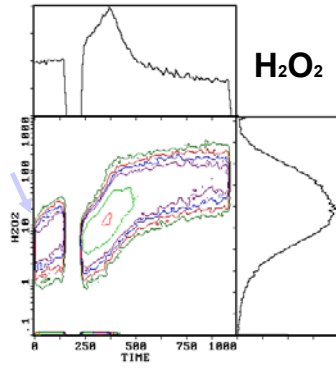
## GLUTATION INTRACELULAR



©Centro de Citometría y Citómica

## ACTIVIDAD OXIDATIVA INTRACELULAR

$\Delta$  OxyR  
 WILD TYPE  
 ACTIVIDAD OXIDATIVA INTRACELULAR

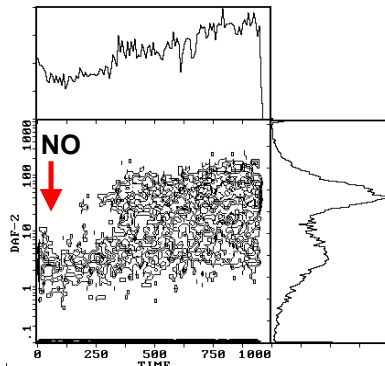
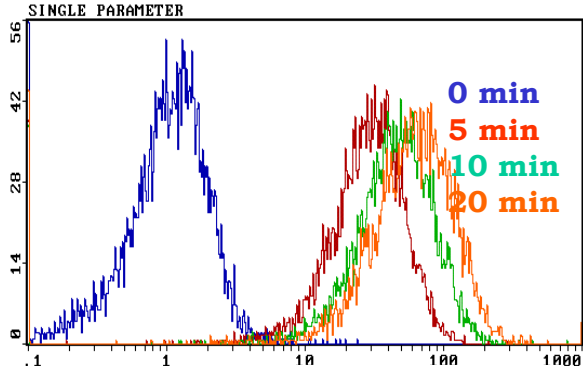
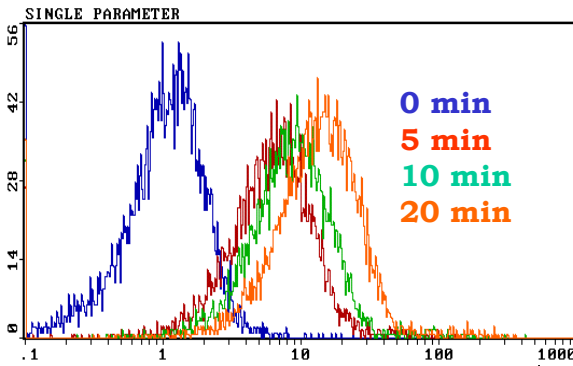


©Centro de Citometría y Citómica

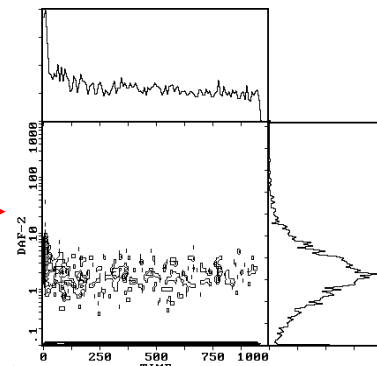
## DETECCION DE NO Y ONOO<sup>-</sup> EN E. COLI

DADOR DE NO DE VIDA MEDIA LARGA

DADOR DE NO DE VIDA MEDIA CORTA



→



©Centro de Citometría y Citómica

# DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE MUERTE CELULAR

La resolución temporal de la citometría, junto con el elevado número de parámetros permite:

- Detección y cuantificación de la apoptosis
- Estudio de los mecanismos moleculares implicados en:
  - Inducción
  - Ejecución
  - Inhibición
- Distinción de la necrosis.

©Centro de Citometría y Citómica

## ANÁLISIS CITOMÉTRICO DE LA APOPTOSIS

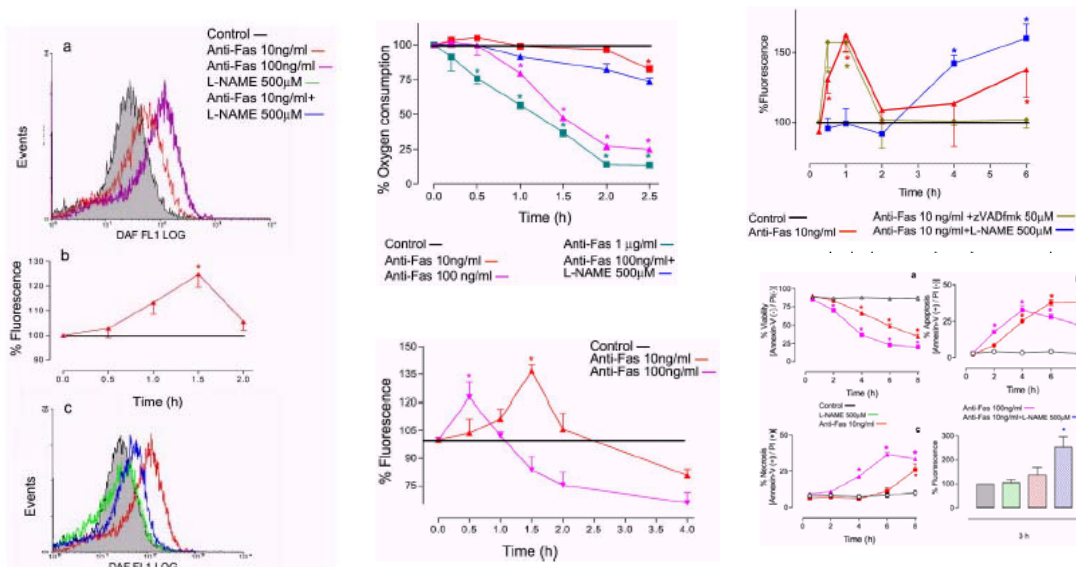
### Inhibition of mitochondrial respiration by endogenous nitric oxide: A critical step in Fas signaling

Belen Beltrán\*, Marisol Quintero\*, Eugenia Garcia-Zaragoza†, Enrique O'Connor†, Juan V. Esplugues\*, and Salvador Moncada†‡

\*Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares, C/Sinesio Delgado, 6 - Pab.5 28029 Madrid, Spain; †Departamento de Farmacología, ‡Departamento de Bioquímica, Universidad de Valencia, Blasco Ibañez no. 15, 4610 Valencia, Spain; and †The Wolfson Institute for Biomedical Research, University College London, Gower Street, London WC1E 6BT, United Kingdom

Contributed by Salvador

8902-8907 | PNAS | June 25, 2002 | vol. 99 | no. 13



©Centro de Citometría y Citómica

## AUTOMATIZACION Y HTS EN CITOMETRIA DE FLUJO



COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES

Brussels, 27.2.2001  
COM(2001) 88 final

### WHITE PAPER

#### Strategy for a future Chemicals Policy

(presented by the Commission)



©Centro de Citometría y Citómica

## AUTOMATIZACION Y HTS EN CITOMETRIA DE FLUJO



- SISTEMAS DE RUTINA AUTOMATIZADOS:
- Preparación automatizada de muestras: Prep-Plus/CellPrep
- Sistemas pre-alineados: EPICS XL; Cytomics FC500
- Cargador de carrusel 32 tubos: EPICS XL; Cytomics FC500
- Muestreador de placas multiwell: Cytomics FC500
- Generación automática de hojas XL e informes
- AUTO-ESTANDARDIZACION:
- Calibración: FlowCheck/FlowSet/CytoComp
- Algoritmos de auto-ajuste: System II software/Expo 32 ADC
- Inmunofenotipo multicolor automatizado: TetraOne/FlowCount

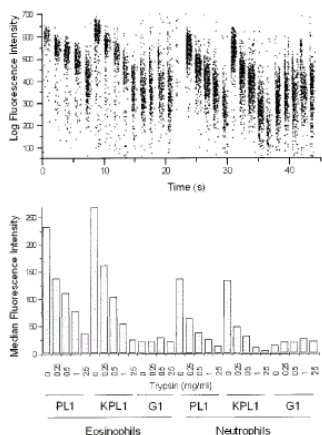
©Centro de Citometría y Citómica

### High-Throughput Flow Cytometry: Validation in Microvolume Bioassays

Sergio Ramirez, Charity T. Aiken, Brett Andrzejewski, Larry A. Sklar, and Bruce S. Edwards\*

Cancer Research and Treatment Center, Department of Pathology, University of New Mexico Health Sciences Center, Albuquerque, New Mexico

Received 20 June 2002; Revision Received 7 November 2002; Accepted 7 January 2002



Cytometry Part A 53A:55-65 (2003)

- Sistema en fase de desarrollo
- 1.2 seg/muestra
- Volumen de muestra: hasta 10  $\mu$ L
- Muestreo automático de microplacas
- Compatible con software HTS

©Centro de Citometría y Citómica

Clinical Cell Analysis

Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents

## Predictive medicine by cytomics: potential and challenges

G. VALET

Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried, Germany

**ABSTRACT:** Predictive medicine by cytomics represents a new concept which provides disease course predictions for individual patients. The predictive information is derived from the molecular cell phenotypes as they are determined by patient's genotype and exposure to external or internal influences. The predictions are dynamic because they are therapy dependent. They may provide a therapeutic lead time for preventive therapy or for the diminution of disease associated irreversible tissue damage.

Multiparametric data from cytometry, multiple clinical chemistry assays, chip or bead arrays serve as input for an algorithmic data sieving procedure (<http://www.biochem.mpg.de/valet/classif1.html>). Data sieving enriches the discriminatory parameters in form of standardized data masks for predictive or diagnostic disease classification in the individual patient (<http://www.biochem.mpg.de/valet/cellclas.html>). Besides predictive and diagnostic utility, the data patterns can be used in a bottom-up approach for the development of scientific hypotheses on disease inducing mechanisms in complex inflammatory, infectious, allergic, malignant or degenerative diseases. (J Biol Regul Homeost Agents 2002; 16: 164-7)

**KEY WORDS:** Predictive medicine, Clinical cytomics, Cytome, Medical bioinformatics, Data pattern classification, Data sieving, Data mining

©Centro de Citometría y Citómica