

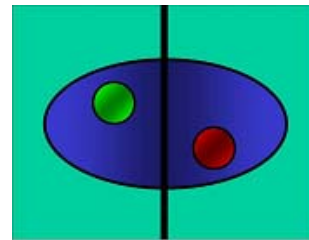
CITÓMICA EN INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO DE MEDICAMENTOS

José Enrique O'Connor¹, Alberto M. Alvarez², Robert C. Callaghan³,
Guadalupe Herrera¹, Alicia Martínez¹, Pilar Prieto⁴

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

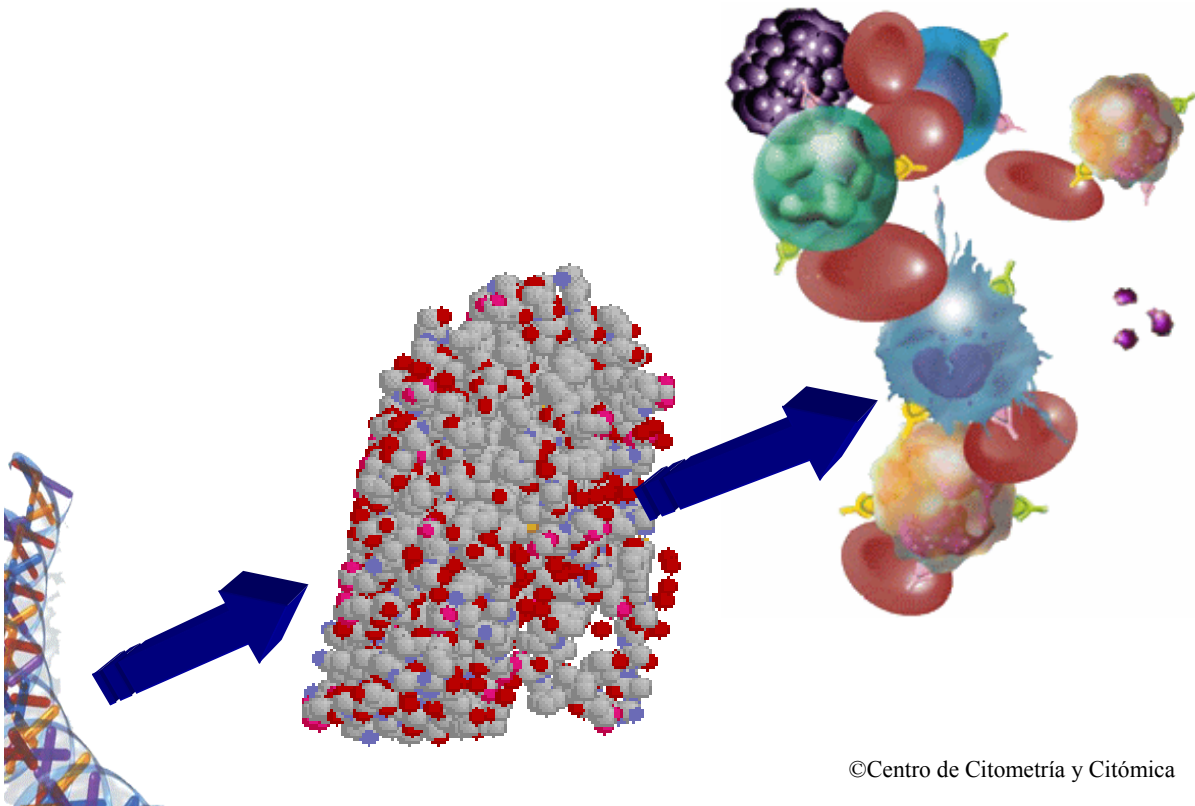


II Reunión de la Red Española de Métodos Alternativos



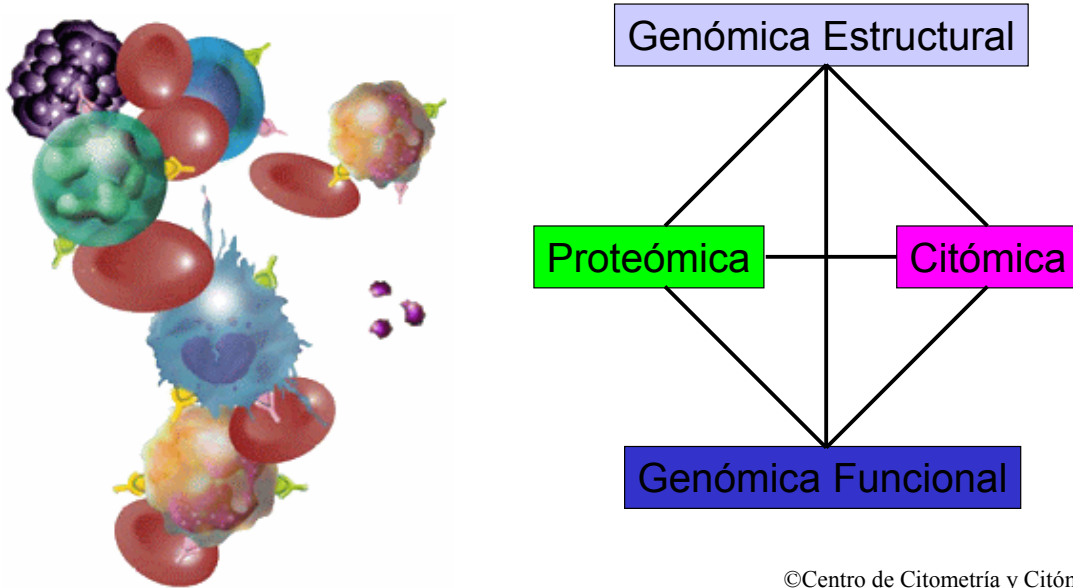
©Centro de Citometría y Citómica

GENOMICA, PROTEOMICA, CITOMICA



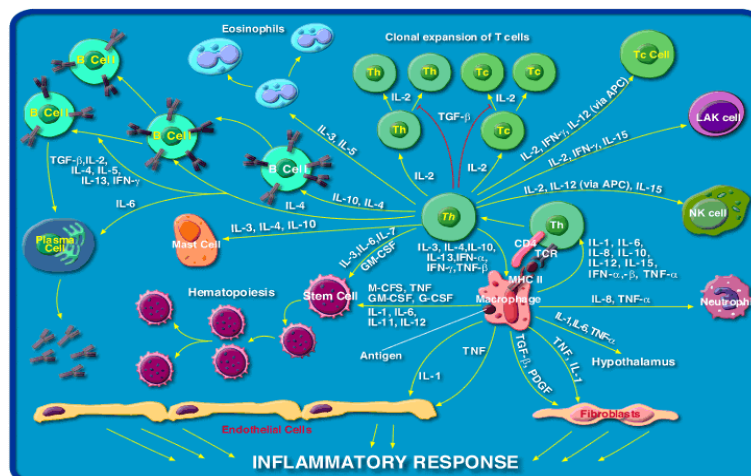
©Centro de Citometría y Citómica

La citómica, o citometría de sistemas complejos, es una disciplina que se orienta a la investigación molecular en células individuales y que permite acceder a múltiples características bioquímicas de los sistemas celulares heterogéneos



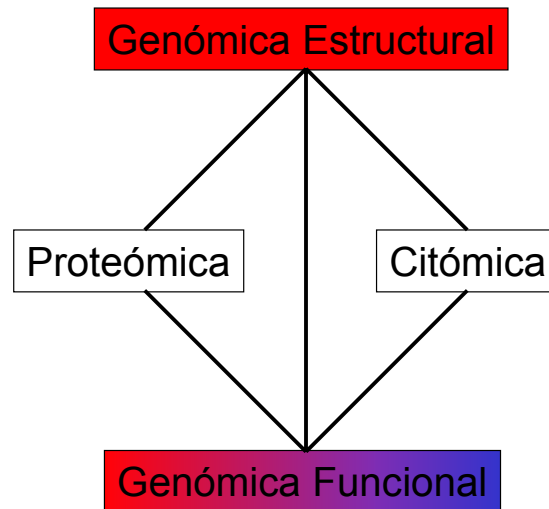
©Centro de Citometría y Citómica

Los citomas están compuestos por varios tipos de células individuales, que forman las unidades de órganos, sistemas y organismos.



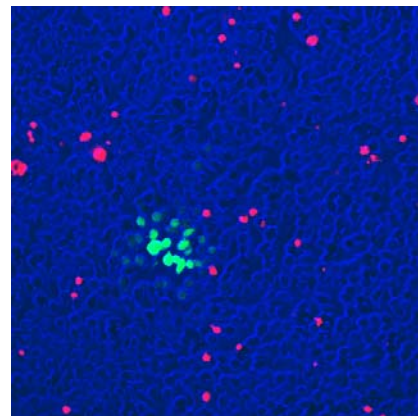
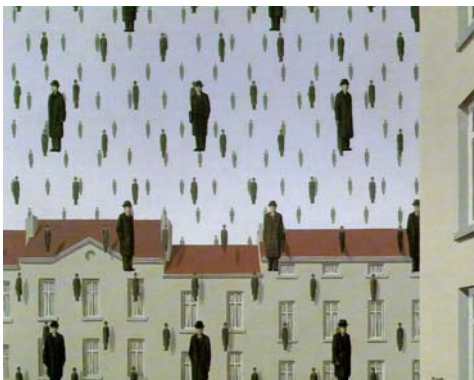
©Centro de Citometría y Citómica

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



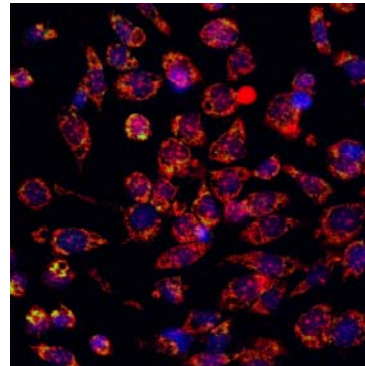
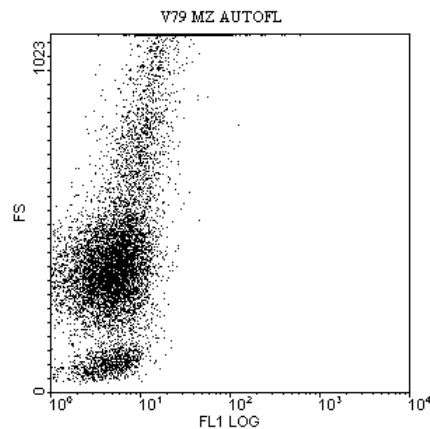
©Centro de Citometría y Citómica

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,¹ Robert C. Callaghan,² Marta Escudero,¹ Guadalupe Herrera,¹ Alicia Martínez,¹ María-do-Céu Monteiro,³ and Hilario Montoliu¹

¹Centro de Citometría, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Medicina, Universidad de Valencia, Valencia, Spain

²Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad de Valencia, Valencia, Spain

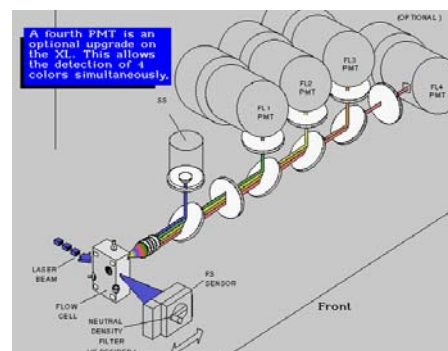
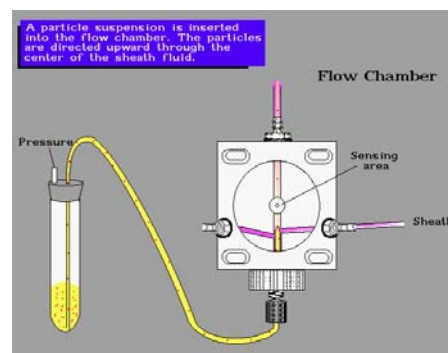
³Departamento de Bioquímica, Instituto Superior de Ciências da Saúde-Norte, Gândra PRD, Portugal

©Centro de Citometría y Citómica

Table 1
Biochemical assays by flow cytometry: samples and probes

Type of biological samples	
• Pluricellular organisms • Cell spheroids • Hybridomas • Cell fusions • Human cells • Animal cells • Plant protoplasts • Prokaryotic cells • Yeasts • Microalgae	• Isolated nuclei • Subcellular elements • Chromosomes • Liposomes • Mallory bodies • Amyloid plaque fibers • Membrane fractions • Viral particles • Soluble antigens¹ • DNA sequences¹
Type of fluorochromes and fluorescent markers	
• Fluorochromes reacting with specific chemical groups • Fluorochrome pairs for resonance energy transfer • Fluorescent antibodies • Fluorescent lectins • Fluorescent nucleic acid sequences • Fluorescent lipids	• Fluorescent pH indicators • Fluorescent ion chelators • Membrane-potential sensitive distribution fluorescent dyes • Fluorogenic substrates of intracellular enzymes • Fluorescent macromolecules • Fluorescent synthetic particles • Endogenous fluorescent molecules

¹Using 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	<i>Cis</i> -Golgi vesicles
Receptor expression	Cytosolic pH	Nuclear specific proteins	<i>Trans</i> -Golgi vesicles
Receptor interactions	Lysosomal pH	Chromatin conformation	Endosomes
Receptor modulation	Tyrosine phosphorylation	Cyclins and CDks	Phagosomes
Surface glycoconjugates	Cytosolic Ca ²⁺	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		

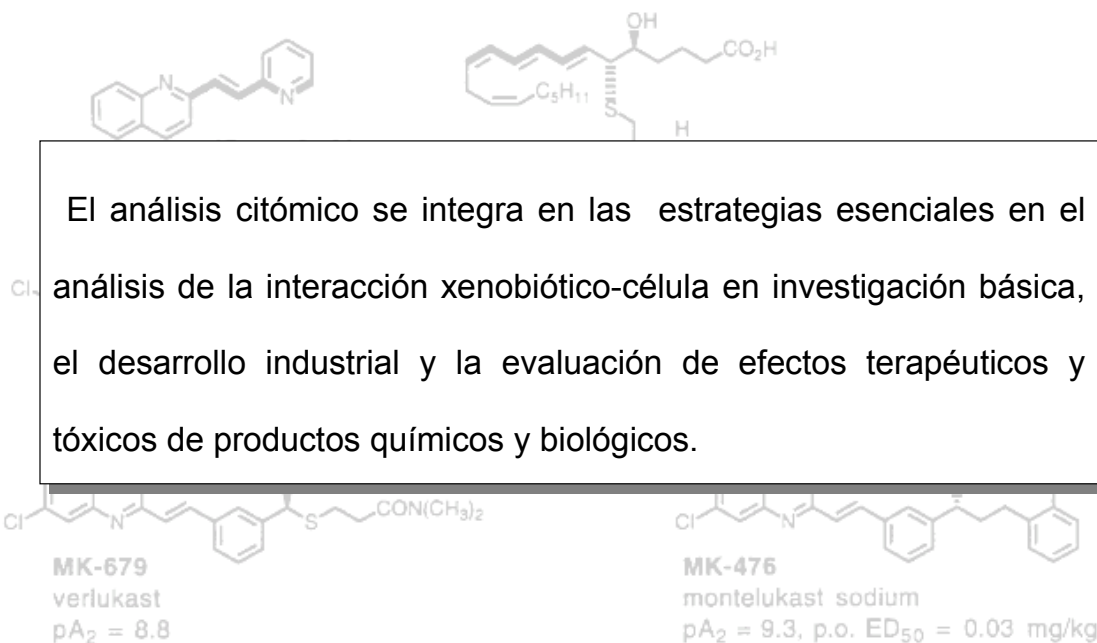
©Centro de Citometría y Citómica

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> - Assays using fresh cells - Assays using fixed cells - Assays using subcellular elements - Multiplexed assays	- Intensity of expression of multiple parameters within homogeneous cell populations - Heterogeneity of expression of multiple parameters in cell subpopulations - Correlation between different parameters in cell populations - Ratio between multiple parameters in single cells - Evolution of fast and/or transient dynamic parameters - Evolution of slow and/or sustained dynamic parameters - Detection and analysis of rare cells/particles - Correlation with parameters analyzed with other techniques following cell sorting	- Identification/characterization of cells based upon multiple biochemical parameters - Diagnostic applications, including detection of rare pathological cells - Analysis of cell activation, including receptor biology and signal transduction - Analysis of gene expression, including gene engineering - Analysis of cell cycle and proliferation-related events - Analysis of differentiation - Flow cytometry - Analysis of cell viability and cell death, including apoptosis and necrosis - Analysis of microbial biochemistry, including sensitivity to drugs - Control of biotechnological processes, including growth conditions and productivity - Environmental biochemistry
b) <i>According to specific cell selection:</i> - Nongated assays - Gated assays		
c) <i>According to assay duration:</i> - Single end-point assays - Sequential end-point assays - Kinetic assays with unperturbed cells - Kinetic assays following cell stimulation with ligands		
d) <i>According to data analysis:</i> - On-line analysis (real time) - Off-line (Listmode analysis)		

©Centro de Citometría y Citómica

CITOMETRIA EN INVESTIGACIÓN FARMACO-TOXICOLOGICA



©Centro de Citometría y Citómica

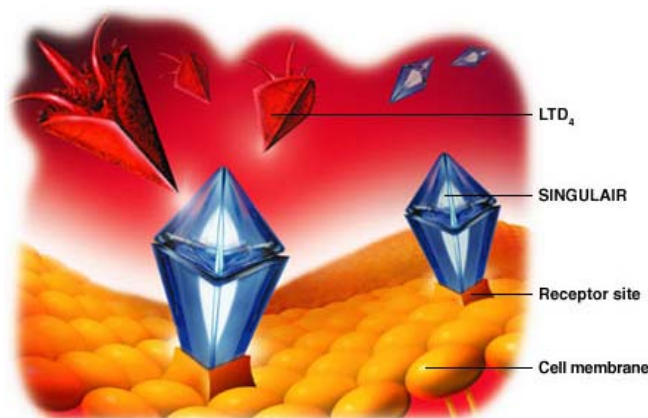
CITOMETRIA EN INVESTIGACIÓN FARMACO-TOXICOLOGICA: APLICACIONES GENERALES

- 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 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:

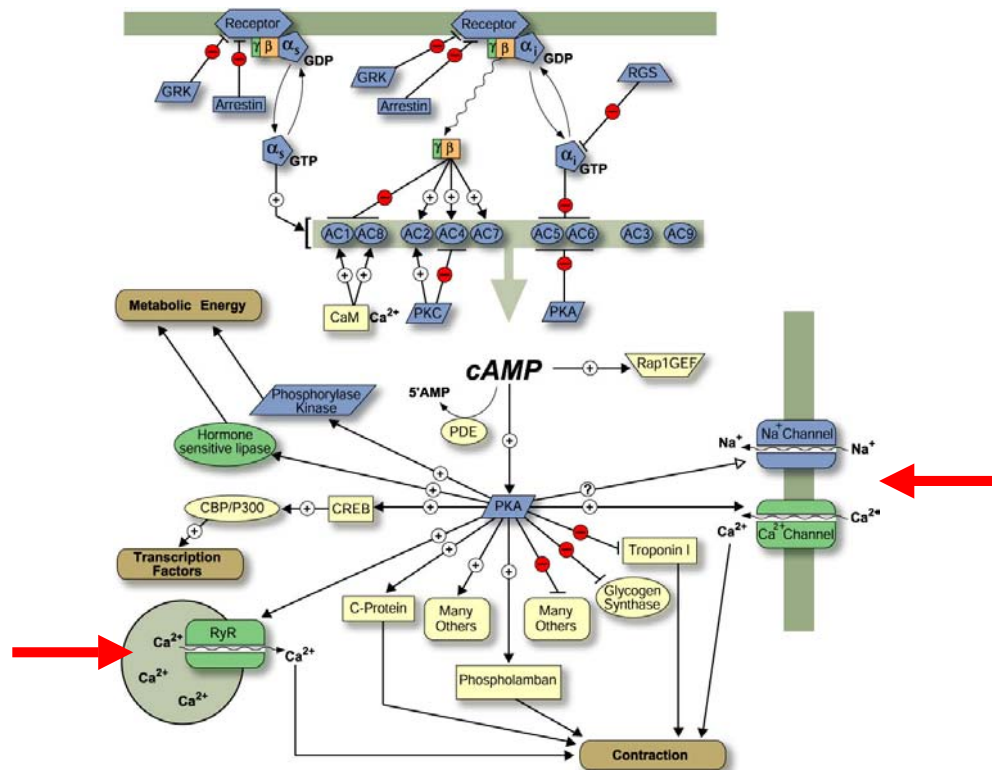
- **Receptores de 7 dominios transmembrana acoplados a proteínas G (~ 5000)**
- Receptores nucleares (~>150)
- Canales iónicos (~ 1000)
- Enzimas (indeterminado)

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

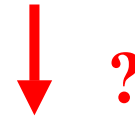
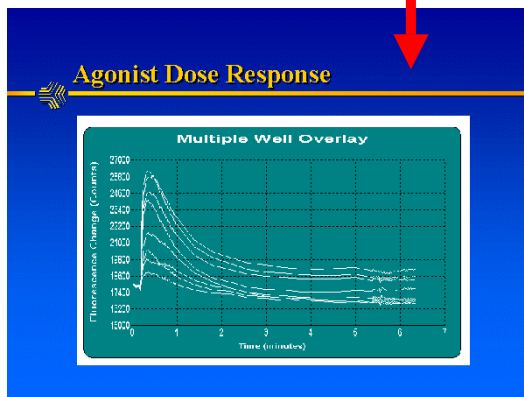
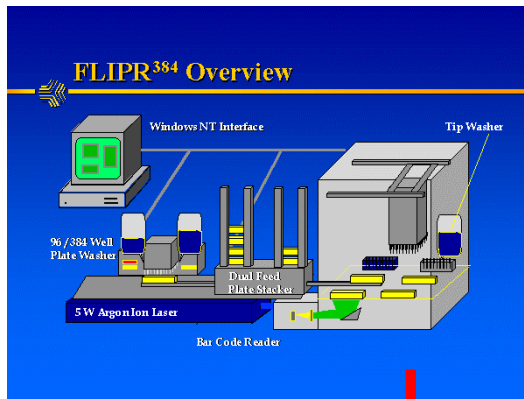
©Centro de Citometría y Citómica

TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES POR RECEPTORES DE TIPO GPCR



©Centro de Citometría y Citómica

TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES POR RECEPTORES DE TIPO GPCR

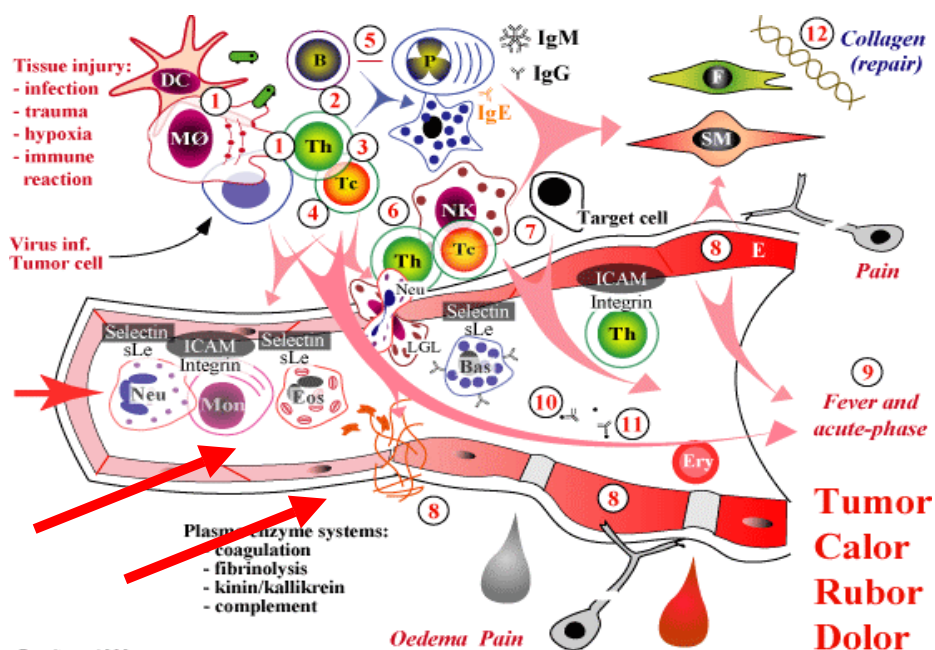


HTS mediante FLIPR

Medida cinética de Ca^{2+} intracelular
 Robotizado
 1024 wells/seg
 Miles de análisis por día

©Centro de Citometría y Citómica

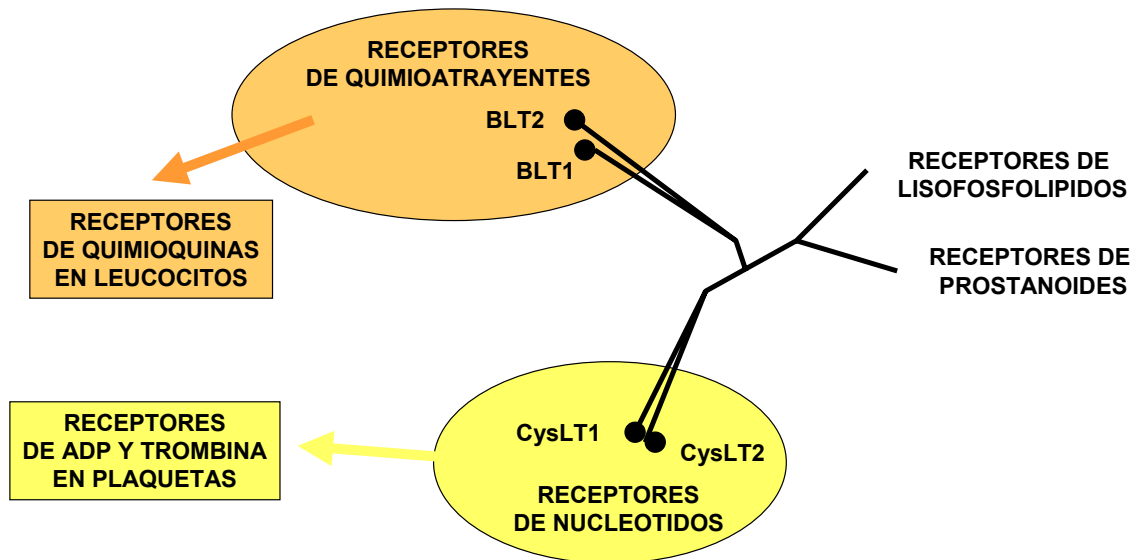
ANÁLISIS CITOMÉTRICO DE RECEPTORES RELACIONADOS CON LA INFLAMACIÓN



Bendtsen 1999

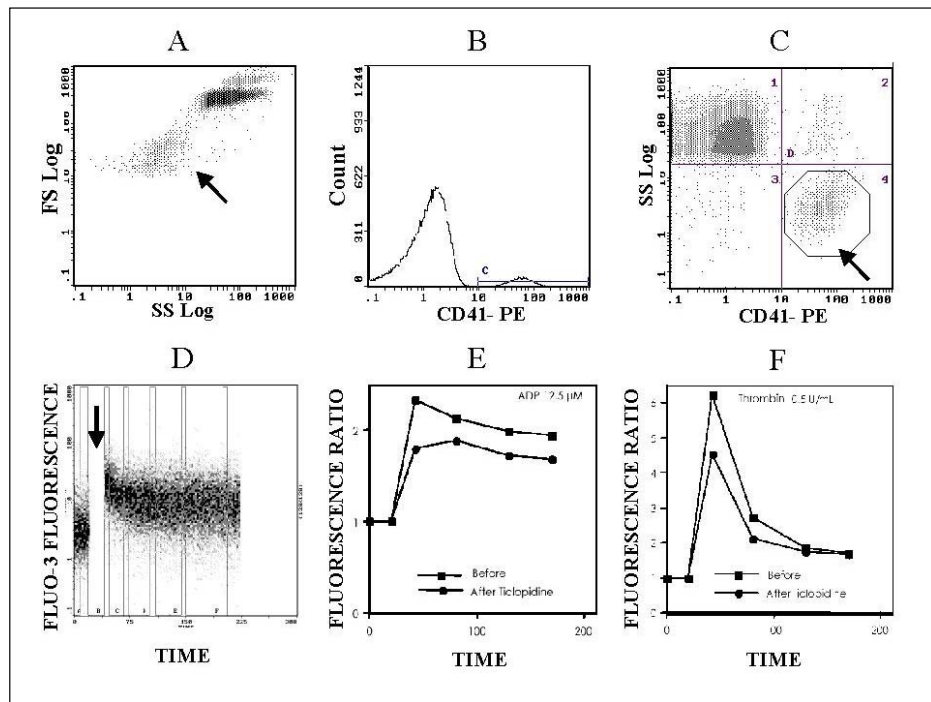
©Centro de Citometría y Citómica

FILOGENIA DE GPCR IMPLICADOS EN INFLAMACIÓN



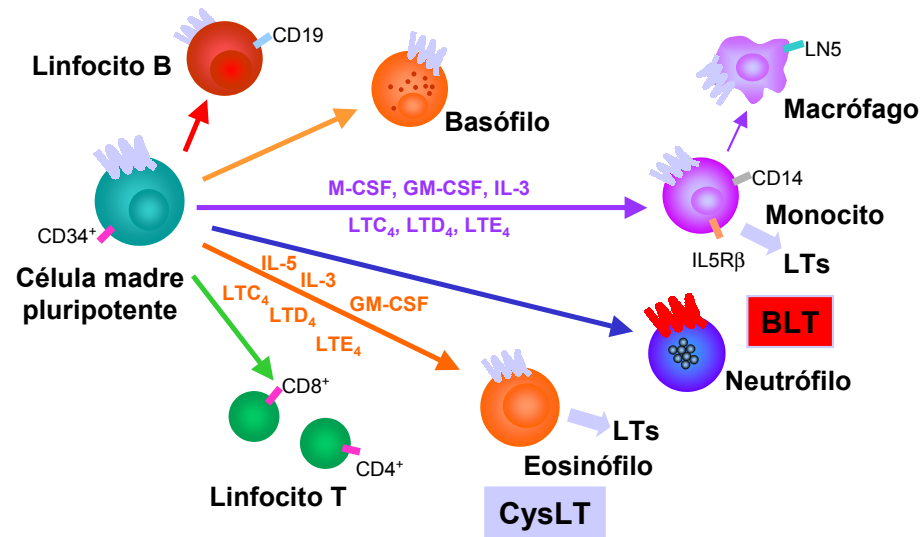
©Centro de Citometría y Citómica

ANALISIS CITOMETRICO DE ACTIVACION DE PLAQUETAS EN SANGRE ENTERA



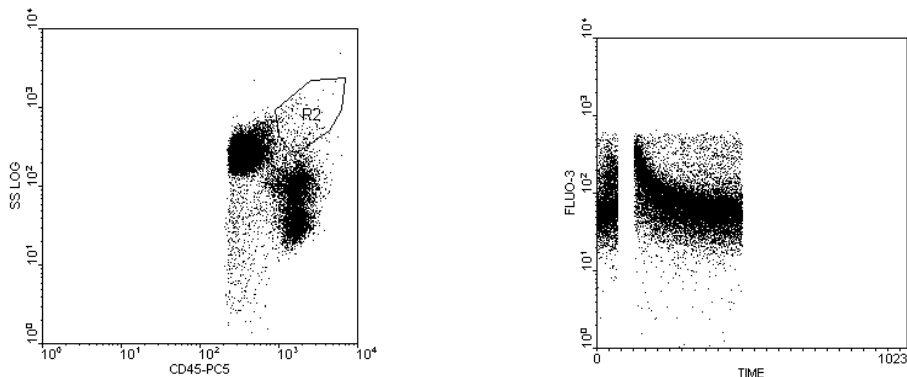
©Centro de Citometría y Citómica

EXPRESIÓN DE LOS RECEPTORES DE LEUCOTRIENOS EN CÉLULAS INFLAMATORIAS

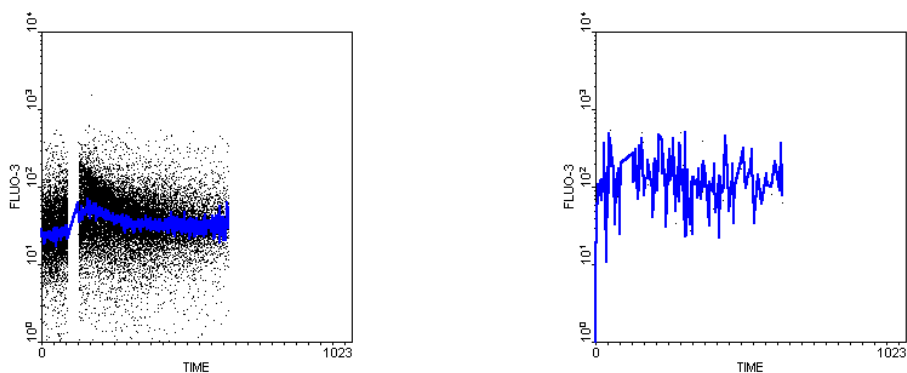


©Centro de Citometría y Citómica

SANGRE ENTERA ESTIMULADA CON LTB4 5 nM

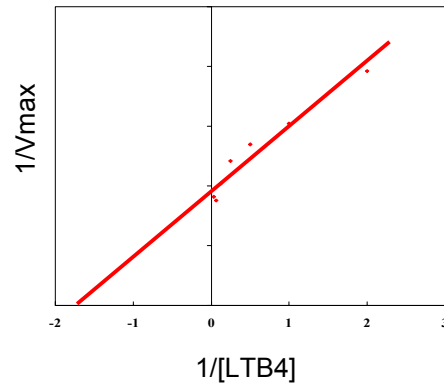
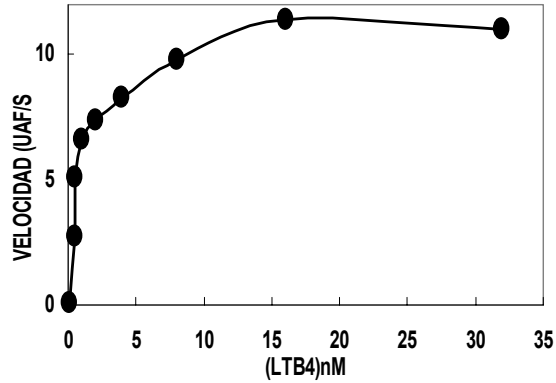


SANGRE ENTERA ESTIMULADA CON LTE4 0.9μM



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

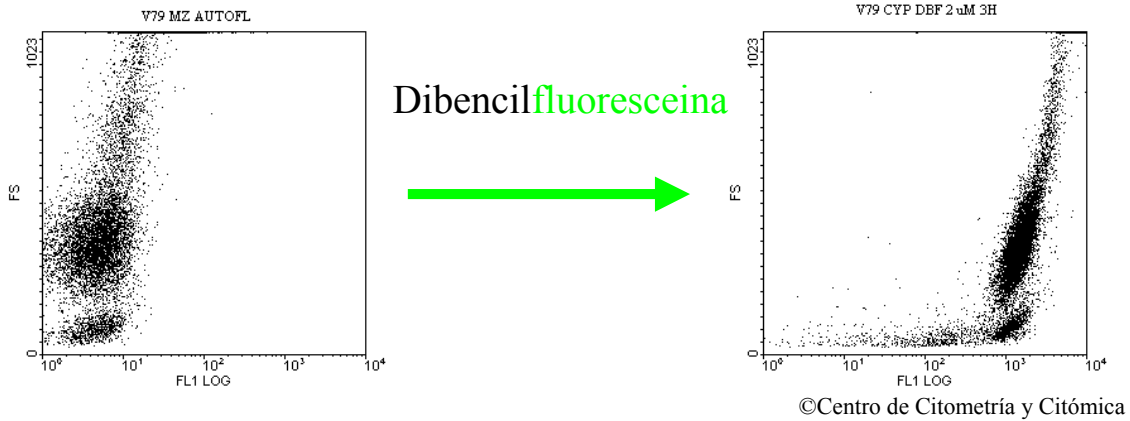
- Caracterización de fármacos de bajo peso molecular o de proteínas bioactivas que no actúan a través de receptores específicos y son transportadas o internalizadas a través de la membrana plasmática.
- Estudio de los fenómenos de extrusión o difusión pasiva de solutos:
 - Caracterización funcional de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

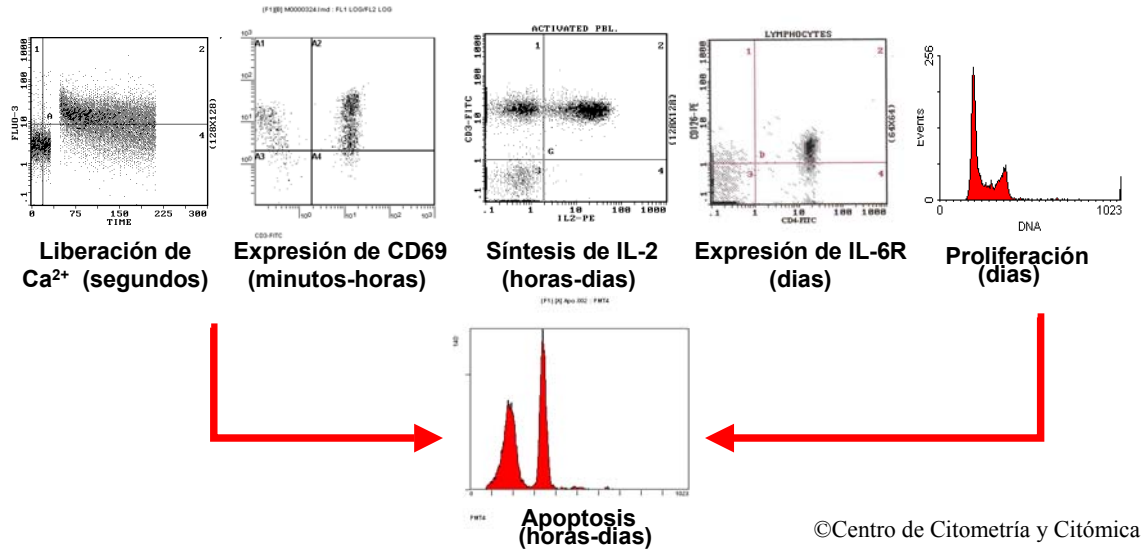


ANÁLISIS DE LOS EFECTOS CELULARES DE XENOBIÓTICOS

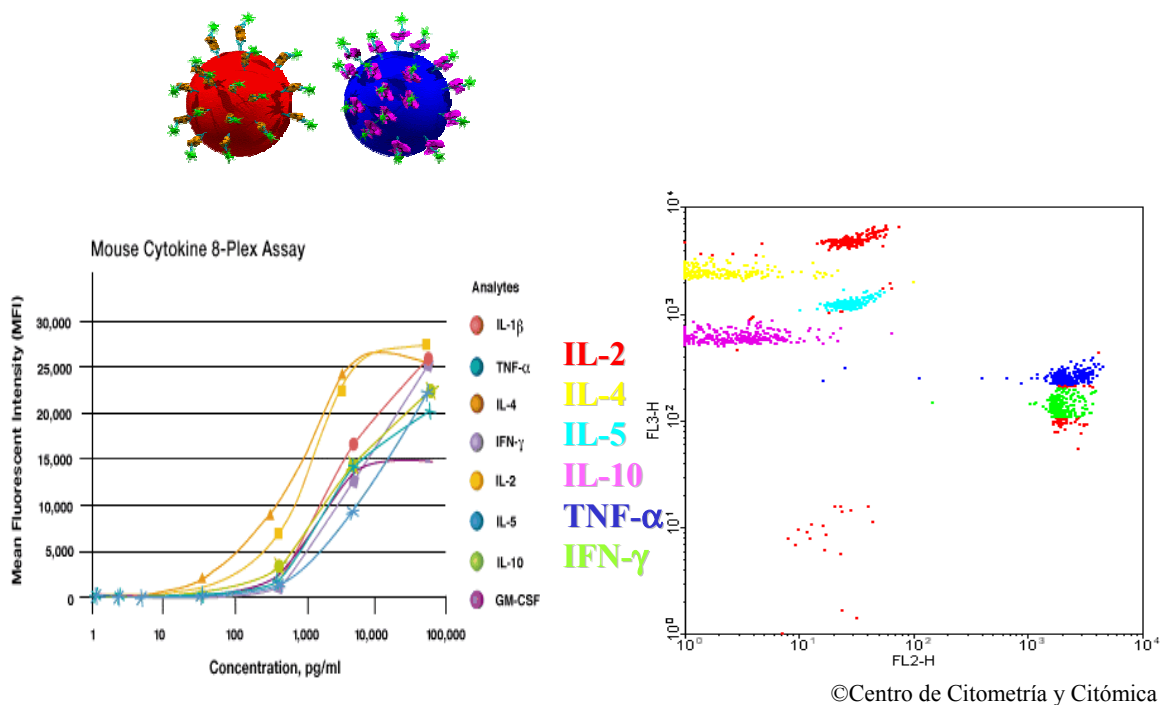
La citometría de flujo multiparamétrica es, **probablemente**, la disciplina analítica potencialmente más poderosa para el estudio de los efectos biológicos inducidos por fármacos y xenobióticos en células diana o, en general, en poblaciones celulares susceptibles

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: MÚLTIPLES ANALITOS EN UN SOLO TUBO



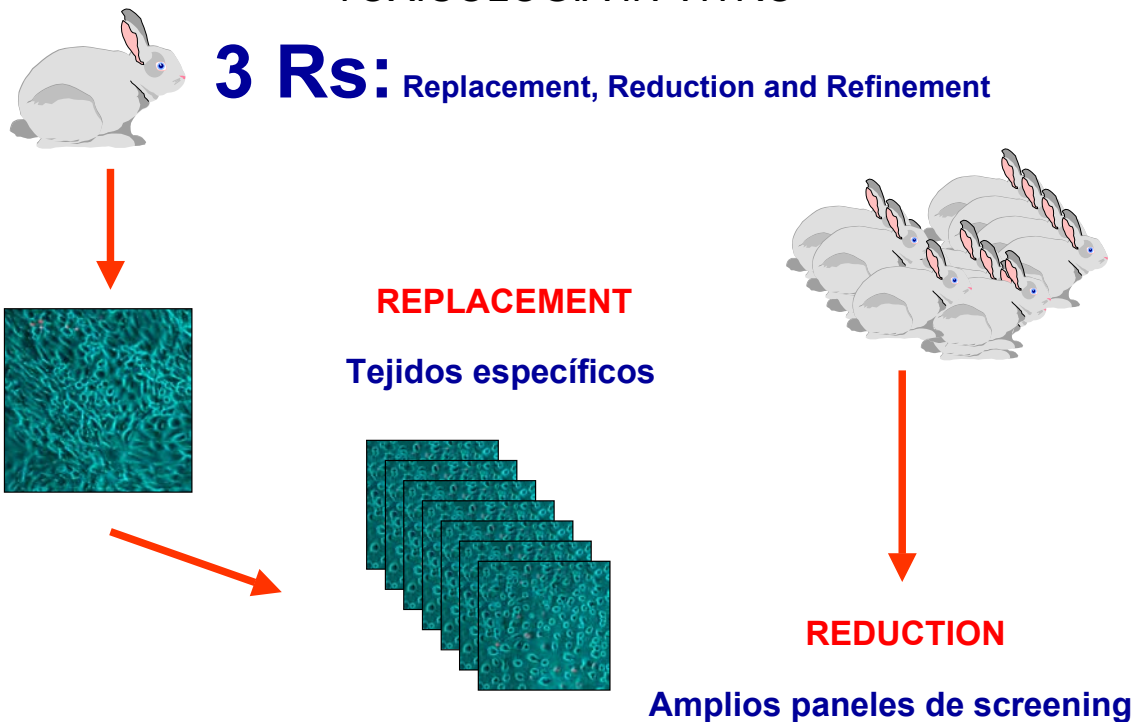
LA CITOMETRIA COMO METODO ALTERNATIVO EN TOXICOLOGIA IN VITRO

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

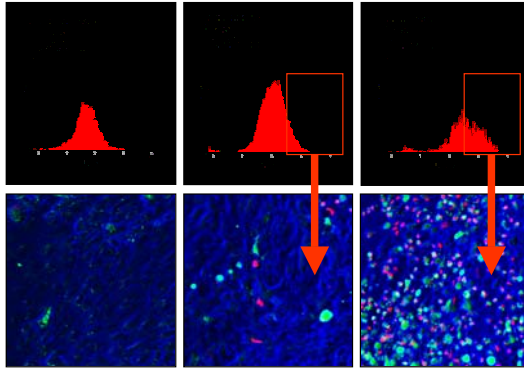


©Centro de Citometría y Citómica

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 ESTANDAR : 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^{2+} 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

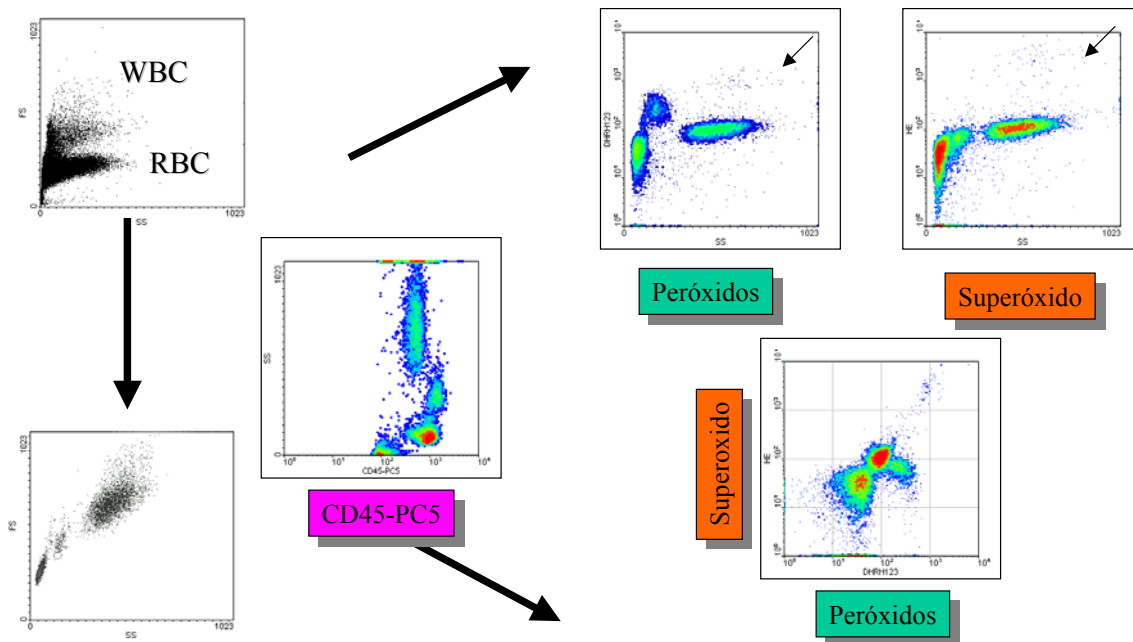
©Centro de Citometría y Citómica

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,¹ Alicia Martinez,² Manuel Blanco,² and José-Enrique O'Connor^{1*}

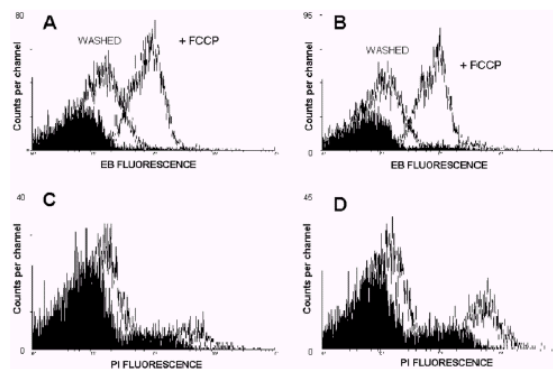
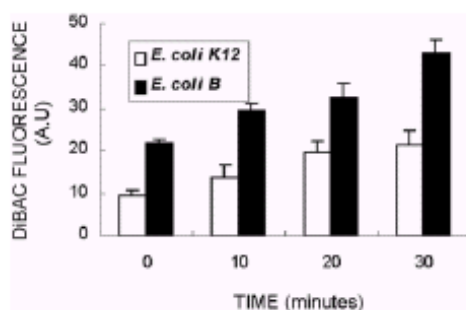
¹Centro de Citometría, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Valencia, Valencia, Spain

²Instituto de Investigaciones Citológicas, Fundación Valenciana de Investigaciones Biotómicas, Valencia, Spain

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

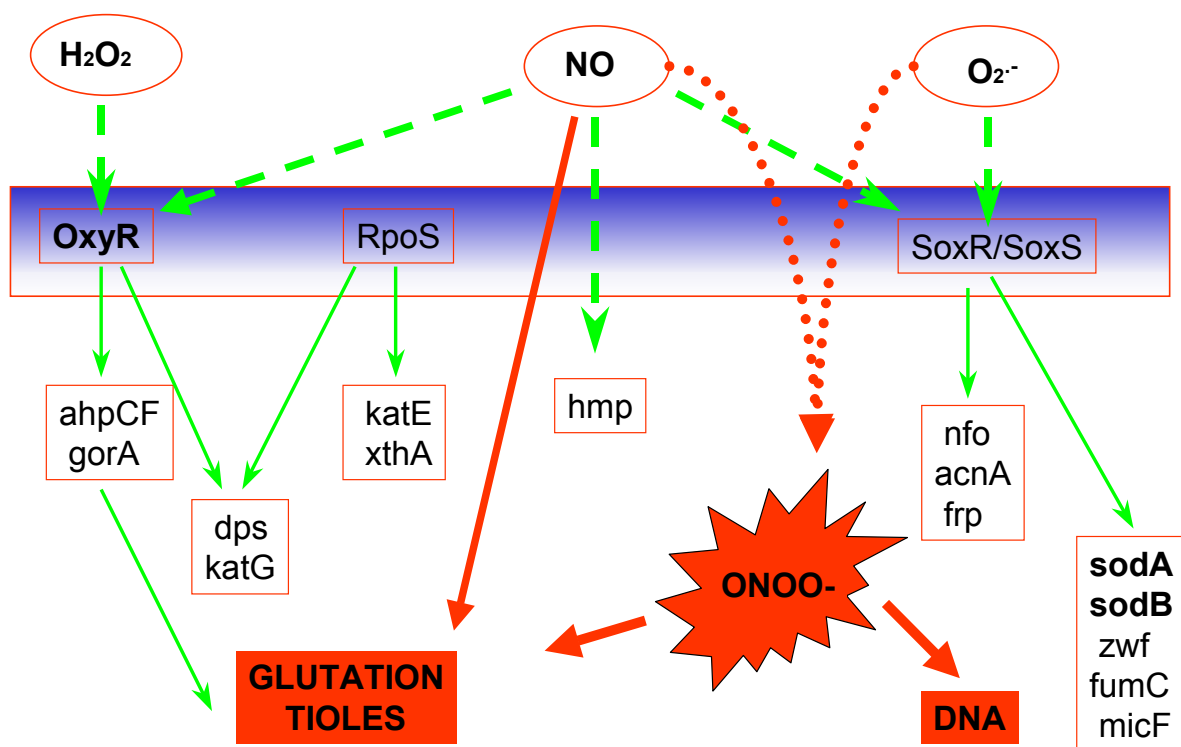
FLOW CYTOMETRY OF *E. COLI* B

67



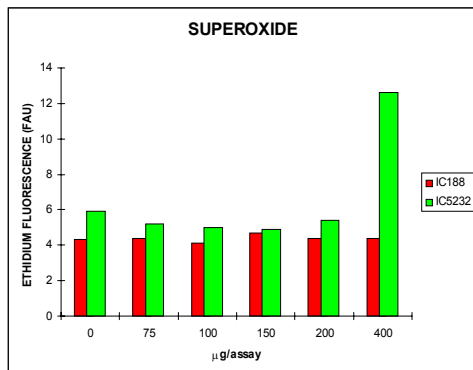
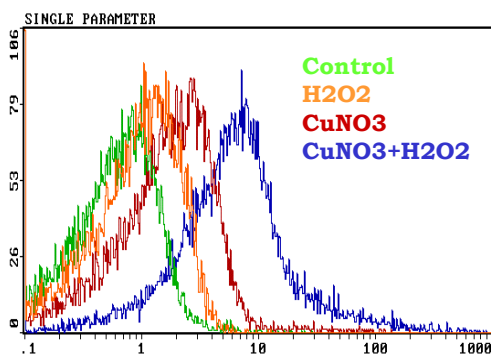
©Centro de Citometría y Citómica

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

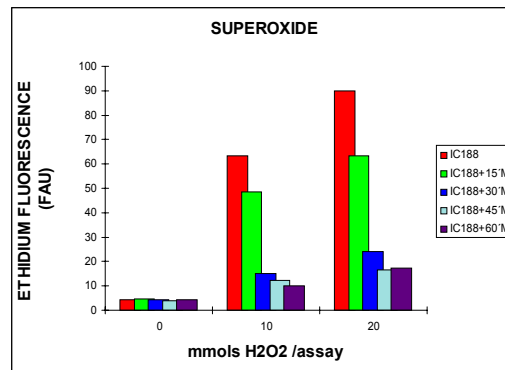
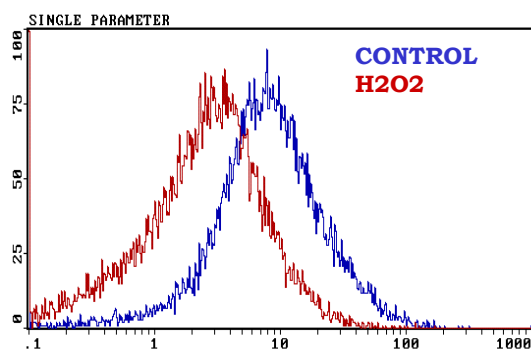


©Centro de Citometría y Citómica

ACTIVIDAD OXIDATIVA INTRACELULAR



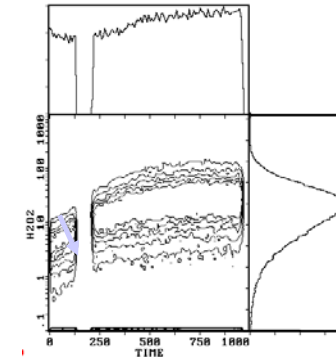
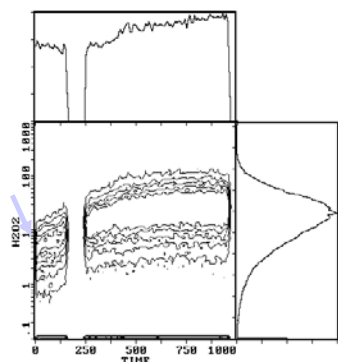
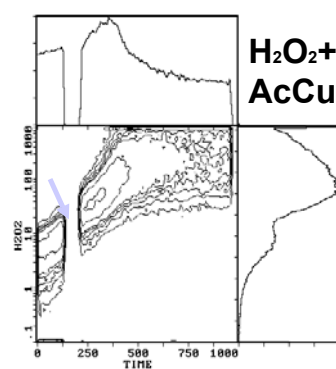
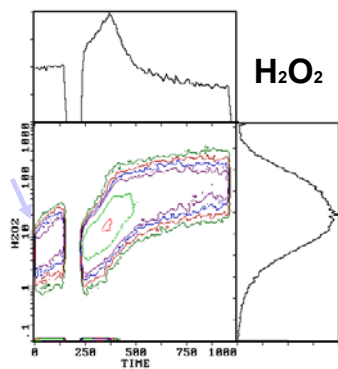
GLUTATION INTRACELULAR



©Centro de Citometría y Citómica

ACTIVIDAD OXIDATIVA INTRACELULAR

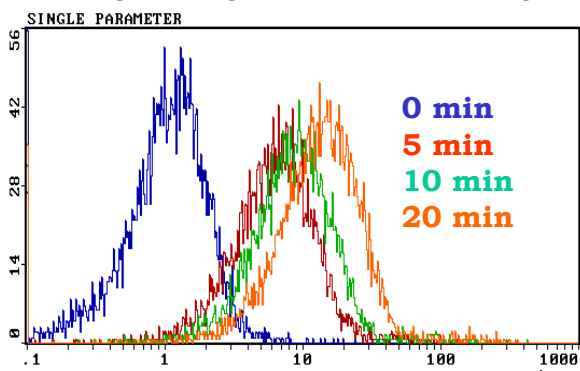
Δ OxyR
WILD TYPE
ACTIVIDAD OXIDATIVA INTRACELULAR



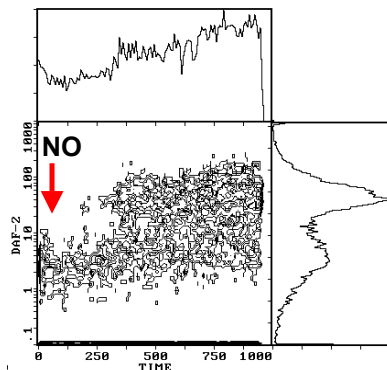
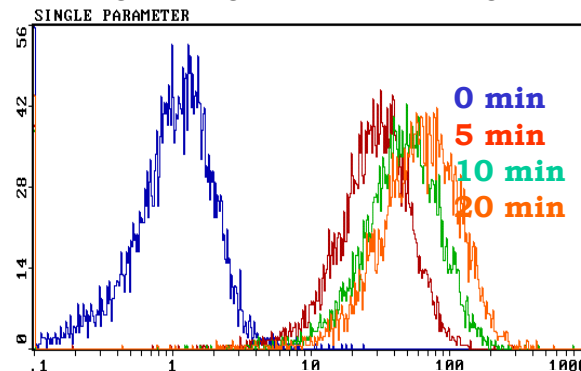
©Centro de Citometría y Citómica

DETECCION DE NO Y ONOO⁻ EN E. COLI

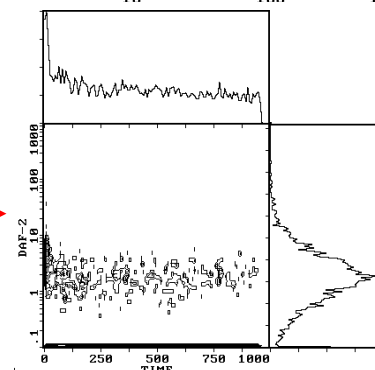
DADOR DE NO DE VIDA MEDIA LARGA



DADOR DE NO DE VIDA MEDIA CORTA



O₂⁻



©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

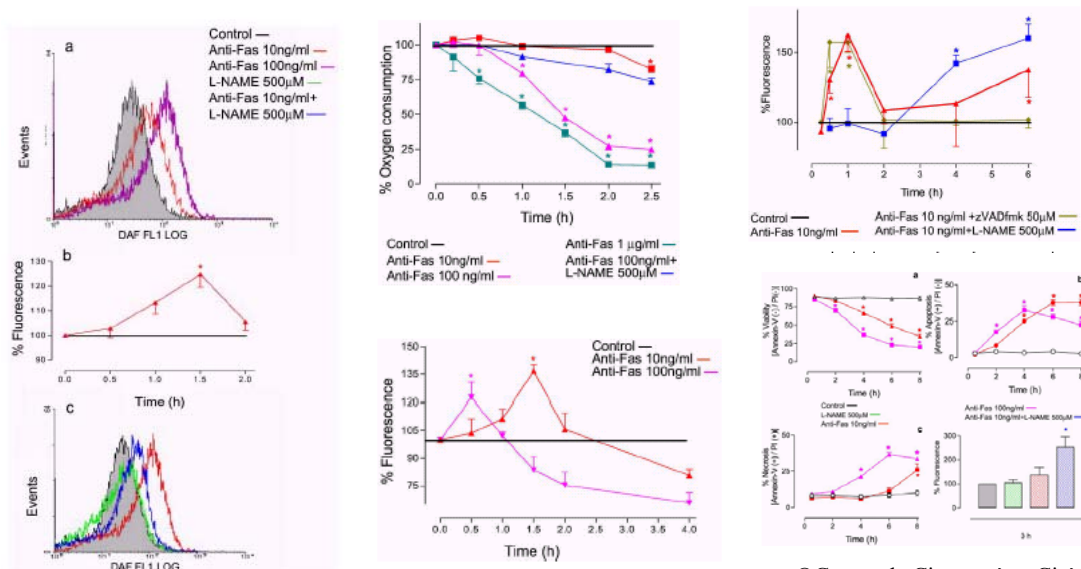
Inhibition of mitochondrial respiration by endogenous nitric oxide: A critical step in Fas signaling

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

*Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares, C/Sinestro Delgado, 6 - Pab.5 28029 Madrid, Spain; †Departamento de Farmacología, ‡Departamento de Bioquímica, Universidad de Valencia, Blasco Ibañez no. 15, 46100 Valencia, Spain; and §The Wolfson Institute for Biomedical Research, University College London, Gower Street, London WC1E 6BT, United Kingdom

Contributed by Salvador

8892-8897 | 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

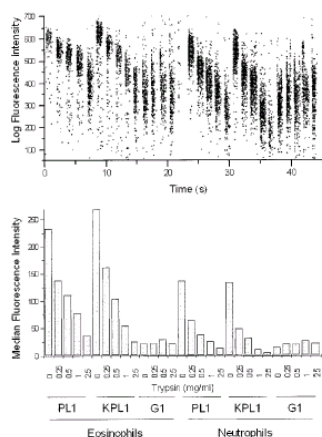
©Centro de Citometría y Citómica

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 μ 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