

pMedGR

Κέντρο Νέων Βιοτεχνολογιών και Ιατρικής Ακριβείας ΚεΝεΒΙΑ
Ερευνητική Υποδομή pMedGR



Μονάδα Κυτταρομετρίας μάζας (CyTOF)

Ελένη-Κυριακή Βέτσικα, PhD

1^η Επιστημονική Ημερίδα

Πέμπτη, 27 Φεβρουαρίου 2020

Αμφιθέατρο Φυσιολογίας «Γ. Κοτζιάς», Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ

www.precisionmedicine.gr

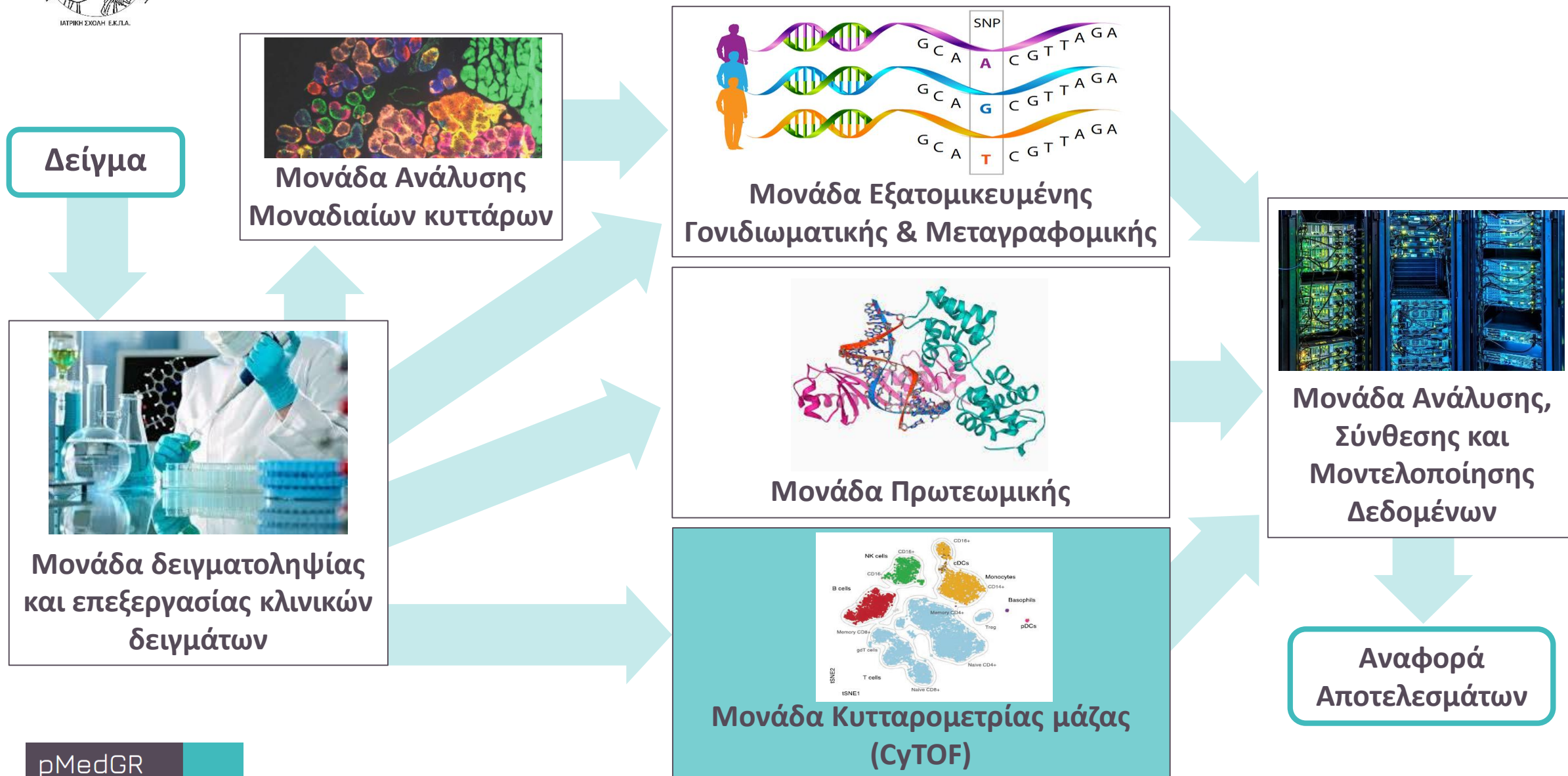


ΕΠΑνεΚ 2014-2020
ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΙΚΟΤΗΤΑ • ΕΠΙΧΕΙΡΗΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ • ΚΑΙΝΟΤΟΜΙΑ



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

pMedGR: Λειτουργικές Μονάδες – Ροή Εργασίας



Τι είναι η κυτταρομετρία μάζας;

➤ Σύντηξη δύο τεχνολογιών:



Κυτταρομετρία Ροής

Flow **C**ytometer



Φασματομετρία Μάζας

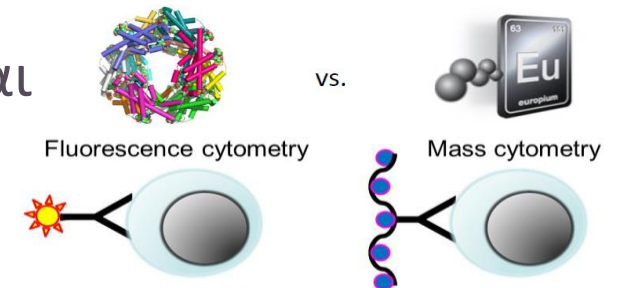
TOF-MS



Κυτταρομετρία Μάζας

CyTOF

➤ Αντί των φθοριοχρώματων, τα αντισώματα σημαίνονται με σταθερά ισότοπα μετάλλων (Lanthanides)



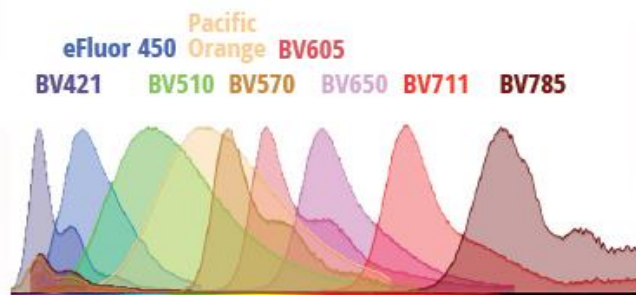
Helios, ένα 3^{ης} γενιάς CyTOF σύστημα

Κανάλια:	135
Ανάλυση:	1 Da
Μέγιστη / μέση τιμή:	2,000/500 events/sec
Εισαγωγή δείγματος:	Σωληνάριο ή αυτόματη δειγματοληψία
Ανάκτηση κυττάρων:	70%
Βαθμονόμηση:	Αυτόματο



Γιατί κυτταρομετρία μάζας;

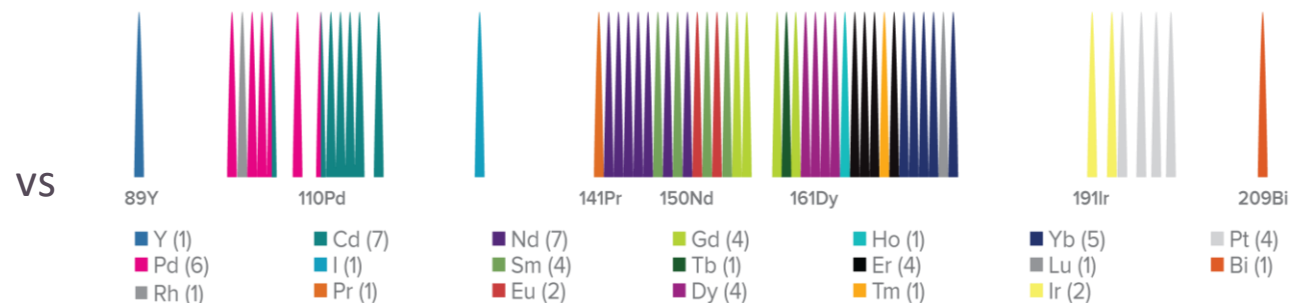
Αλληλοεπικάλυψη φθοριοχρώματα | Υψηλά μεταβλητές εντάσεις σήματος | Αυτοφθορισμός



20-Color Panel Violet Laser Dyes
Emission Spectra

Δύσκολο > 20 φθοριοχρώματα ταυτόχρονα ανά δείγμα

Ξεχωριστά και διακριτά σήματα | Μικρές μεταβλητές εντάσεις σήματος | Δεν υπάρχει αυτοφθορισμός

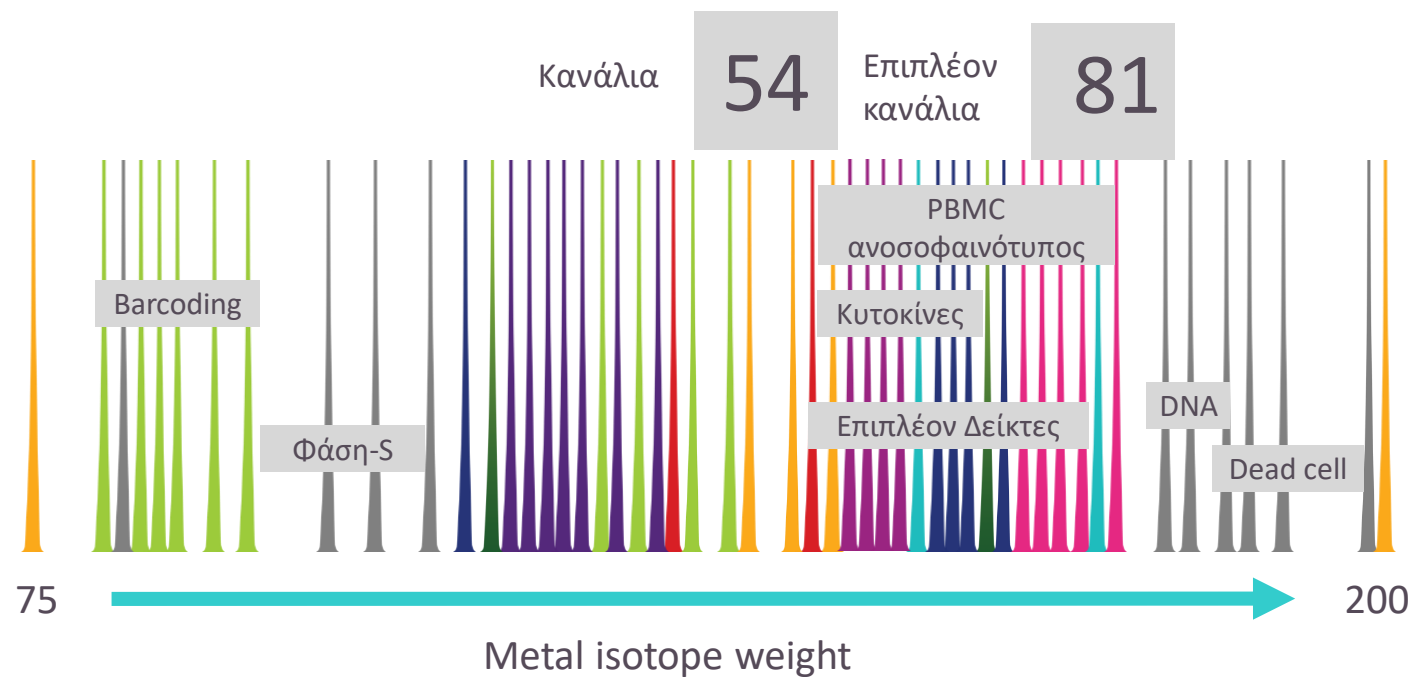


> 40 παράμετροι μπορούν να μετρηθούν ταυτόχρονα ανά δείγμα

Futamura et al. (2015), *Cytometry A*; Mazza et al. (2018), *Cytometry A*

- Ταυτόχρονη μέτρηση πρωτεϊνών και RNA σε επίπεδο του ενός κυττάρου
- Ακριβές κυτταρικό προφίλ (φαινότυπος και λειτουργία)
- Ταυτόχρονη παρακολούθηση πολλαπλών πληθυσμών κυττάρων σε ένα δείγμα

Πολλοί δείκτες, ένα σωληνάριο

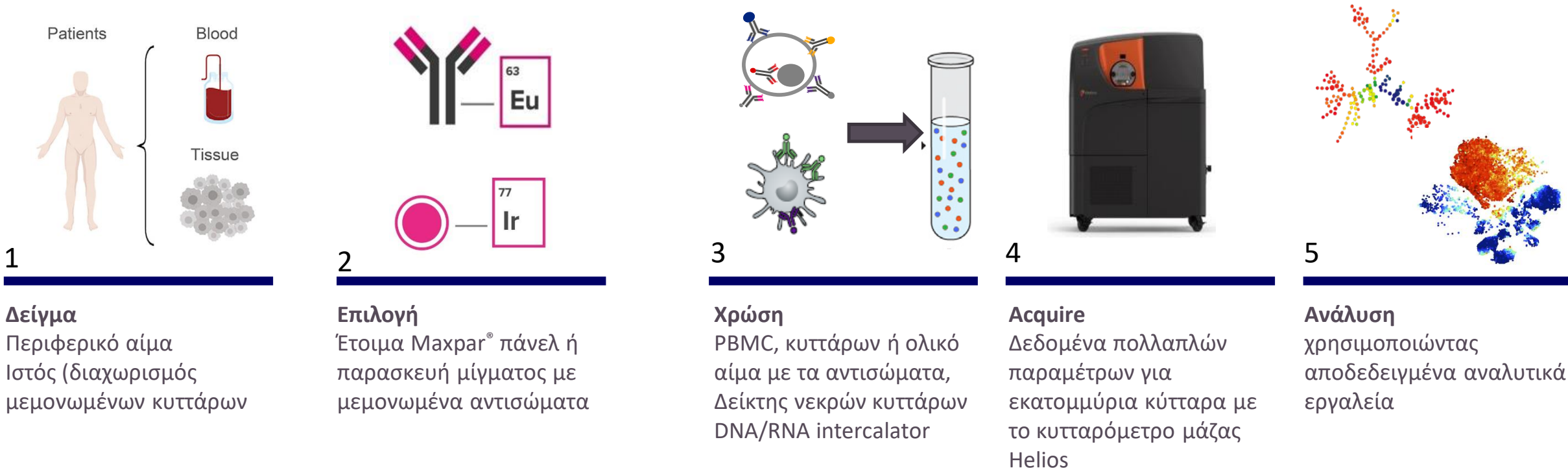


135 ανεξάρτητα κανάλια ανίχνευσης
επιτρέπουν την ταυτόχρονη μέτρηση ≥ 40
παραμέτρων



Ανίχνευση **νέων** κυτταρικών τύπων κυττάρων
και των λειτουργιών τους που δεν γνωρίζαμε
ότι υπήρχαν

Η ροή εργασίας του Helios

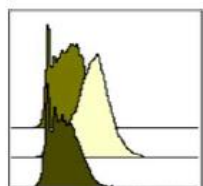


➤ Επιλογή: **Barcode**
χρώση μέχρι και 20
δειγμάτων, το καθένα με
ένα μοναδικό 3ψήφιο
κωδικό Pd.

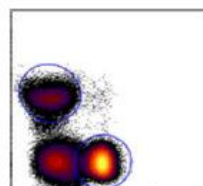
Ανάλυση & Οπτικοποίηση

Ολοκληρωμένη σειρά εργαλείων

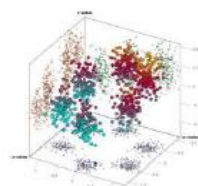
Plot raw data



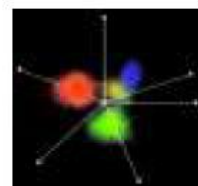
Histogram



Biaxial plot



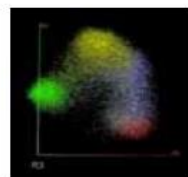
3D plot



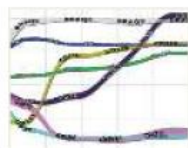
Radar



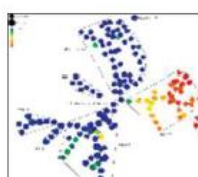
Reduce dimensionality



PCA



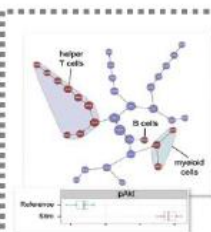
GemStone™



SPADE



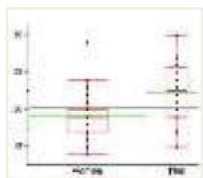
viSNE



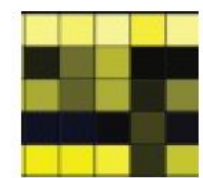
Citrus



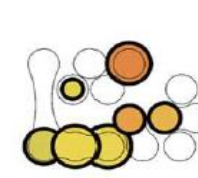
Summarize statistics



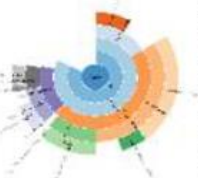
Box plot



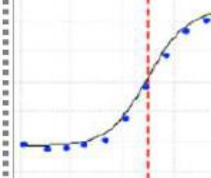
Heat map



Network



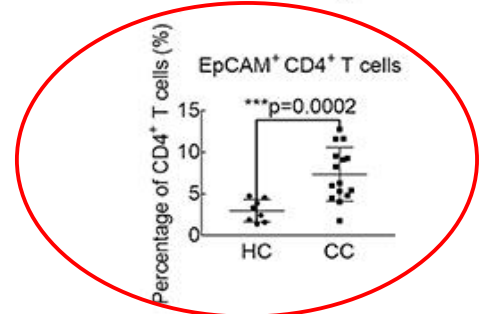
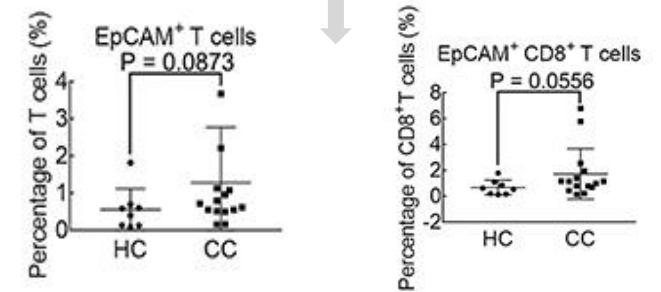
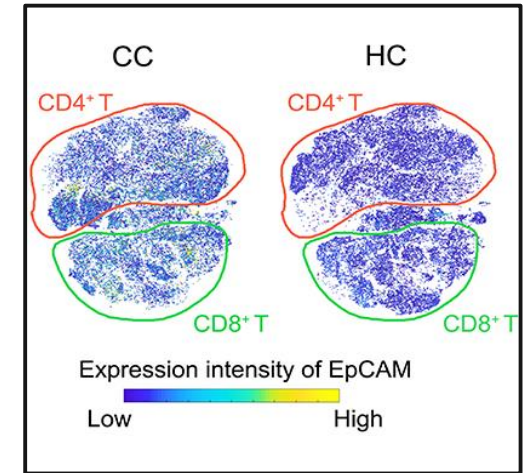
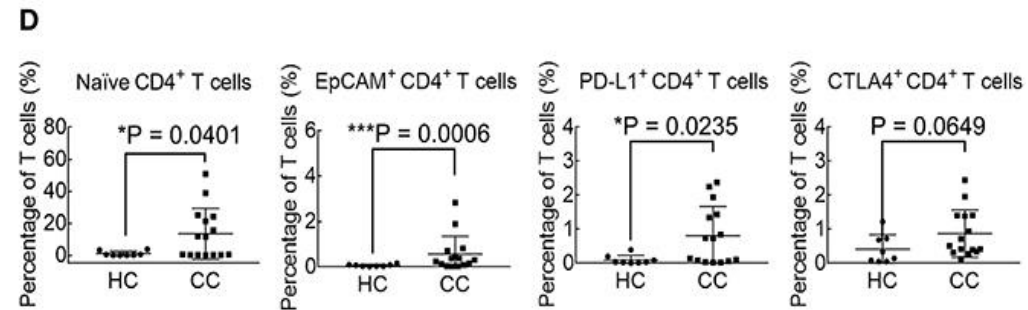
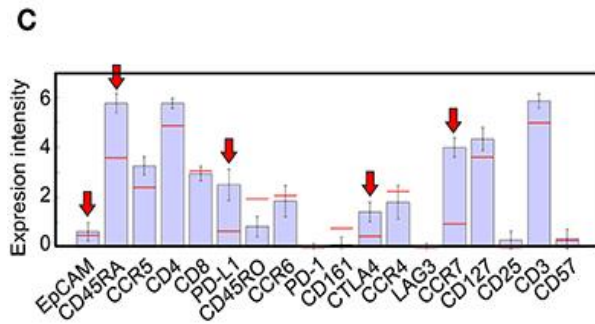
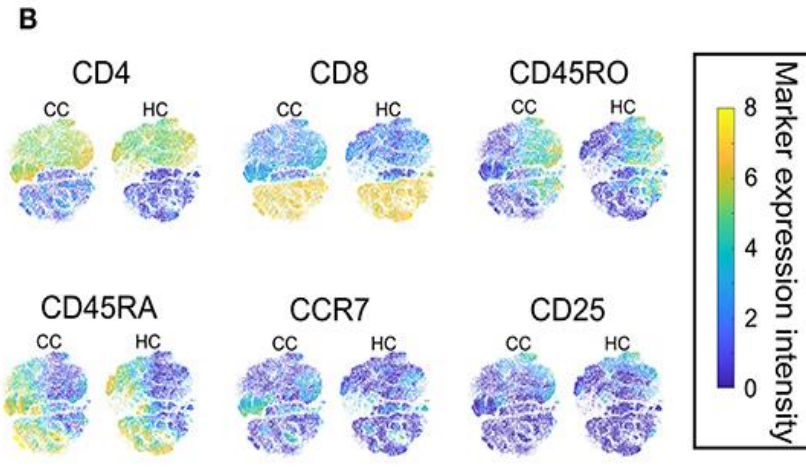
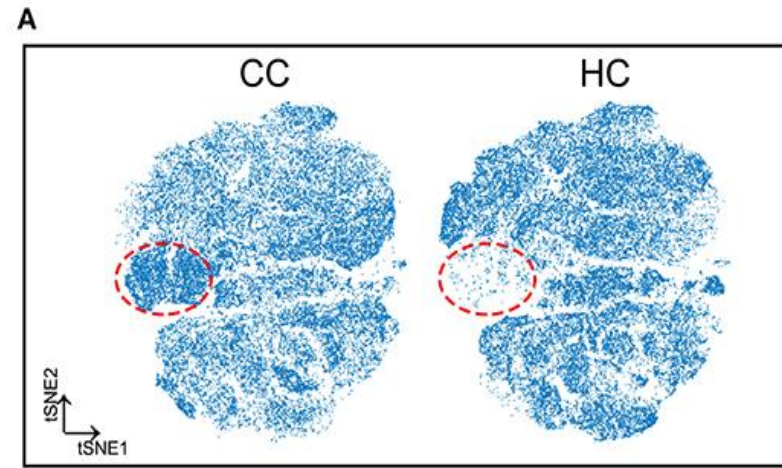
Sunburst



Dose curve

EpCAM⁺ CD4⁺ T κύτταρα ως βιοδείκτης του καρκίνου του παχέος εντέρου

30 αντισώματα σε ένα σωληνάριο με PBMCs ασθενών με PBMCs φυσιολογικών δοτών



CyTOF έρευνα/κλινικές μελέτες

Εφαρμογές

Φαινότυπος

Ανοσολογική παρακολούθηση

Σηματοδότηση και μεταγραφή

Διάγνωση

Κυτοκίνες και αυξητικοί παράγοντες

Ανακάλυψη βιοδεικτών (ασθένειας ή ανταπόκριση στη θεραπεία)

Κυτταρικός θάνατος και απόπτωση

Ανάλυση των αναστολέων σημείων ελέγχου

Κυτταρικός κύκλος και πολλαπλασιασμός

Ανάλυση μικροπεριβάλλοντος όγκου / ιστού

Τομείς έρευνας



Μονάδα κυτταρομετρίας μάζας

Κυτταρομετρητής μάζας **Helios** για Εκτενές Προφίλ Δειγμάτων μεταφραστικής και κλινικής έρευνας σε επίπεδο μοναδιαίου κυττάρου

Υπηρεσίες:

1. Φαινοτυπικός και λειτουργικός προσδιορισμός
2. Ανίχνευση πρωτεϊνών σηματοδότησης και μεταγραφικής
3. Παραγωγή κυτοκίνης
4. Κυτταρικός θάνατος και απόπτωση
5. Κυτταρικός κύκλος και ανάλυση πολλαπλασιασμού
6. TCR ανάλυση
7. Ανακάλυψη βιολογικών δεικτών (ασθένειας ή ανταπόκριση στη θεραπεία)
8. Ανάλυση σημείων ελέγχου
9. Ανάλυση μικροπεριβάλλοντος όγκου / ιστού
10. Ανοσολογική παρακολούθηση



Μονάδα κυτταρομετρίας μάζας



Κέλυ Βέτσικα, PhD

T: 210 7462603

ekvetsika@med.uoa.gr



Σοφία Γραμμενούδη, PhD

T: 210 9656310 εσ. 218

grammenoudi@fleming.gr