

---

# LA CYTOMETRIE EN FLUX

---

Guide pratique  
de la préparation à l'analyse  
des cellules

---



Philippe MÉTÉZEAU  
Roger MIGLIERINA  
Marie-Hélène RATINAUD

---

**PULIM**

Presses de l'Université de Limoges

COLORANT	FONCTION, CONSTITUANT	$\lambda$ EXC.	$\lambda$ EM.	REFERENCES
----------	--------------------------	----------------	---------------	------------

*Constituants cellulaires: Ac. nucléiques*

Auramine O	ADN (Feulgen) ARN	450	550	CIHALIKOVA J. et col. (1985) Acta Histochem. 76 (2), 151-6
Acridine orange	ADN (intercalation) ARN (electrostatique)	492 "	527 630	DARZYNKIEWICZ Z. et col. (1980) Cytometry 1 (2), 98-108
Acridine	ADN (Feulgen) ARN	444	550	TANKE H.J. et col. (1980) J. Histochem. Cytochem. 28 (9), 1007-13
7 amino actinomycine D	ADN (bases G-C)	478	660	ZELENIN A. et col. (1984) Cytometry 5, 348-354
Bromure d'éthidium	ADN (intercalation) ARN	370, 530	622	VINDELOV L.L. (1977) Virchows Arch. B Cell Pathol. 24, 227-42
Chromomycine A3	ADN (bases G-C)	420	560	JENSEN R.H. (1977) J. Histochem. Cytochem. 25, 573-89
DEQT	ADN ARN	520	540	VAN BOCKSTAELE D. et col. (1989) Cytometry 10 (2), 214-6
DIOC,(3)	ARN	482	510	JAKOBSEN A. (1983) Cytometry 4 (2), 161-5
DAPI	ADN (bases A-T)	357	451	ULRICH I. et col. (1988) Plant. Sci. 55, 151-8
DIPI	ADN (bases A-T)	357	451	OTTO F. et col. (1985) Stain Technology 60 (1), 7-11
EK4	ADN	568	610	LATT S. et col. (1984) Cytometry 5 (4), 339-47
Hoechst 33258	ADN (bases A-T)	365	502	LATT S. et col. (1975) Chromosoma 52, 297-316
Hoechst 33342	ADN (bases A-T)	365	502	ARNDT- JOVIN D. et col. (1977) J. Histochem. Cytochem. 25, 585-8
Iodure de propidium	ADN (intercalation) ARN	370, 560 "	631	KRISHAN A. (1975) J. Cell Biol. 66, 188-93
LL 585	ADN (bases A-T) ARN	569	600	LATT S. et col. (1984) Cytometry 5 (4), 339-47

COLORANT	FONCTION, CONSTITUANT	$\lambda$ EXC.	$\lambda$ EM.	REFERENCES
----------	--------------------------	----------------	---------------	------------

*Constituants cellulaires: Ac. nucléiques*

LD 700 (Rhodamine 700)	ADN (bases G-C)	660	670	SHAPIRO H.M. et col. (1986) Cytometry 7 (1), 107-10
LDS 751	ADN	488	670	TERSTAPPEN L. et col. (1988) Cytometry 9 (5), 477-84
Mithramycine	ADN (bases G-C)	433	570	HAMILTON V.T. et col. (1980) J. Histochem. Cytochem. 28, 1125-8
Nuclear yellow	ADN	400	530	CURTIS S.K. et col. (1983) Histochemistry 78, 503-11
Olivomycine	ADN (bases G-C)	420	560	CRISSMAN H.A. et col. (1978) Stain Technology 53 (6), 321-30
Oxazine 750	ADN	690	700	SHAPIRO H.M. et col. (1986) Cytometry 7 (1), 107-10
Pyronine Y	ADN ARN	545	566	SHAPIRO H.M. (1981) Cytometry 2 (3), 143-50
Rhodamine 800	ADN (bases G-C)	705	715	SHAPIRO H.M. et col. (1986) Cytometry 7 (1), 107-10
Thiazole orange	ADN ARN	509	533	LEE L.G. et col. (1986) Cytometry 7 (6), 508-17
Thioflavine	ADN ARN	422	487	SAGE B.H. et col. (1983) Cytometry 4 (3), 222-27
VL772	ADN	510	560	LATT S. et col. (1984) Cytometry 5 (4), 339-47

*Constituants cellulaires: Protéines*

Allophycocyanine	Protéines	642	660	FUCHS H.J. et col. (1988) Amer. Rev. Resp. Dis. 138 (5), 1124-8
AMCA (Amino Methyl Coumarin Acetic Acid)	Protéines	360	450	KHALFAN R. et col. (1986) Histochem. J. 18, 497-9
ANSA (Aniline Naphta- lene Sulfonic Acid)	Protéines	405	495	FREEMAN D.A. et col. (1975) Stain technology 50 (4), 279-84
Brillant sulfaflavine	Protéines	420	530	FREEMAN D.A. et col. (1975) Stain Technology 50 (4), 279-84

COLORANT	FONCTION, CONSTITUANT	$\lambda$ EXC.	$\lambda$ EM.	REFERENCES
<i>Constituants cellulaires: Protéines</i>				
Benzoxazinone	Protéines	506	615	MONSIGNY M. et col. (1989) Biol. Cell 67 (2), 193-200
CY 5.8. ITC (Cyanine)	Protéines	647	663	MUJUMDAR R. et col. (1989) Cytometry 10 (1), 11-9
DANSYL (Dimethyl Amino Naphtalene Sulfonyl chloride)	Protéines	325	495	WOO S.Y. et col. (1988) Intern. J. Rad. Oncol. Biol. Phys. 14 (2), 361-5
FITC (Isothiocyanate de Fluorescéine)	Protéines	490	543	CRISSMAN H.A. et col. (1985) J. Cell Biol. 101, 141-7
Fluorescamine	Protéines	380	490	PARRY G. et col. (1982) Cytometry 3 (2), 97-103
Hematoporphyrine	Protéines	365	640	TAKAHAMA M. et col. (1988) J. Histochem. Cytochem. 36, 1061-7
Per C (Peridin Chlorophyll A)	Protéines	493	675	AFAR B.C. (1991) J. Clin. Immunol. 11, 254-61
Phycocyanine R	Protéines	618	650	LOKEN M. et col. (1987) Cytometry 8 (1), 96-100,
Phycoérythrine B	Protéines	543-562	572	Mc CARTHY K.F. et col. (1988) Toxicol. Letters 43, 219-33
Phycoerythrine R	Protéines	495-565	578	CHAPPLE M.R. et col. (1988) J. Immunol. Methods 111 (2), 209-18
Princeton red	Protéines	488	585	CODER D. et col. (1988) Cytometry S2, 63
Rhodamine 640	Protéines	590	625	CRISSMAN H.A. et col. (1982) Cytometry 3, 93-90
XRITC (Rhodamine $\beta$ isothiocyanate)	Protéines	560	590	SEGAL D.M. et col. (1987) Methods Enzymol. 150, 478-92
Sulforhodamine 101	Protéines	570	610	STHÖR M. et col. (1978) Stain Technol. 53, 205-12
Texas red	Protéines	579	604	TITUS J.A. et col. (1982) J. Immunol. Methods 50, 193-204

COLORANT	FONCTION, CONSTITUANT	$\lambda$ EXC.	$\lambda$ EM.	REFERENCES
<i>Constituants cellulaires: Lipides</i>				
3,3' Di I carbocyanine	Lipides (LDL)	520	571	JAAKKOLA O. et col. (1988) Atherosclerosis 69, 257-68
DPH (Diphenyl hexatriène)	Lipides (fluidité membranaire)	351	435	FOX M.H. et col. (1987) Cytometry 8 (1), 20-5
Filipin	Cholestérol	350	510	MULLER C. et col. (1984) Cytometry 9 (1), 42-54
Merocyanine 540	Lipides (mb. plasmiques)	504	572	BELLOC F. et col. (1988) Cytometry 9 (1), 19-24
PLTG	Lipides	449	520	TERTO V.V. et col. (1985) Biochem. Biophys. Acta 128, 1196-202
Perinenoyl-TG	Lipides (mb. plasmiques.)	449	520	TERTO V.V. et col. (1989) J. Immunol. Methods 118, 139-43
Pyrene dodeca- canoid acid	Lipides (fluidité mb) (neutres et phospho L.)	360	450	FIBAC E. et col. (1988) Cytometry 9 (6), 525-8
Rhodaminyl -TG	Lipides (mb. plasmiques)	558	595	TERTO V.V. et col. (1989) J. Immunol. Methods 118, 139-43
Rouge Nile	Lipides (neutres et phospho L.)	470	520	BONILLA E. et col. (1987) J. Histochem. Cytochem. 35 (5), 619-21
S-bimanylthiol- cholesterol	Cholestérol	389	459	KNIGHT C.G. et col. (1986) Biochem. Biophys. Acta 860, 159-6
PKH-3	mb. plasmiques (tracking)	595	620	SLEZAK S. et col. (1989) Blood 74 (6), 2172-7
10 N dodeca hexyl acridine orange	mb. plasmiques (tracking)	492	520	SLEZAK S.E. et col. (1989) Blood 74 (6), 2172-7
Nonyl acridine orange	Cardiolipide (mb. mitochondriales)	489	527	RATINAUD M.H. et col. (1988) Cytometry 9 (3), 206-12

### *Constituants cellulaires: Cytosquelette*

NBD-Phalloidin	Actine	436	515	DOWNEY G.P. et col. (1989) Biochem. Biophys. Res. Commun. 160 (1), 18-24
----------------	--------	-----	-----	--

*Il existe bien entendu des anticorps fluorescents contre les différents constituants du cytosquelette.*

COLORANT	FONCTION, CONSTITUANT	$\lambda$ EXC.	$\lambda$ EM.	REFERENCES
----------	--------------------------	----------------	---------------	------------

*Constituants & fonctions cellulaires: Thiols*

CMFDA	Thiol	492	520	POOT M. et col. (1991) Cytometry 12 (2), 184-187
CMEDA	Thiol	514	580	POOT M. et col. (1991) Cytometry 12 (2), 184-187
Dibromobimane	Thiol	400	475	DURAND R. E. et col. (1983) Radiation Research 95, 456-70
Di dansylcystine	Thiol	335	525	DURAND R. E. et col. (1983) Radiation Research 95, 456-70
Fluorescein-5- maleimide	Thiol	470	520	DURAND R. E. et col. (1983) Radiation Research 95, 456-70
3-4- maleimidyl phenyl-4- methyl-7 -diethyl- aminocoumarin	Thiol	395	475	DURAND R. E. et col. (1983) Radiation Research 95, 456-70
Monobromobimane	GSH	360	470, 510	POOT M. et col. (1986) Biochem. Biophys. Acta 883, 580-4
Monochlorobimane	GSH (glutathion-S-transférase)	360	420	RICE G. et col. (1987) Cancer Res. 46, 6105-10
Mercury orange	GSH	488	630	O' CONNOR J. et col. (1988) Cytometry 9 (6), 529-32
OPT (O-Phthalal-dehyde)	GSH	350	420, 500	TREUMER J. et col. (1986) Exp. Cell Res. 163, 518-24

*Fonctions cellulaires: Activités lysosomales*

Acridine Orange	Activité lysosomale (cellules vivantes)	492	620	KOPONEN M. et col. (1985) Cell. Immunol. 93, 486-96
4 methyl lumbelliferyl N Acetyl derivative	Activité lysosomale	340	430	LUYTEN G. et col. (1985) J. Histochem. Histochem. 33 (9), 965-8

COLORANT	FONCTION, CONSTITUANT	λ EXC.	λ EM.	REFERENCES
CTC (5-cyan-2,3-ditolyl-tetrazolium chloride)	Glucose 6-Phosphate Déshydrogénase	450	≈610	SEVERIN E. et col. (1992) Cytometry 13, 322-326.
Diethoxy-fluorescéine	Cytochrome P450 (oxydase)	490	543	MILLER A. (1983) Anal. Biochem. 133, 46-57
Dihydro-rhodamine 123	NADPH oxydase	498	527	ROTHER G. et col. (1988) Naturwissenschaften 75, 354-5
Ethoxyfluorescéine ethyl ester	Cytochrome P1-450 (oxydase)	490	543	MILLER A. (1983) Anal. Biochem. 133, 46-57
CFDA (Carboxyfluorescéine)	Estérases	490	513	DIVE C. et col. (1988) Mole. Cell. Probes 2, 131-45
FDA (Fluorescéine Diacétate)	Estérases	490	513	SCHOLS D. et col. (1988) J. Immunol. Methods 114, 27-32
Hydroethidine	NADPH oxydase Estérases	488	615	ROTHER G. et col. (1990) J. Leuk. Biol., 47, 440-48
DCFH-DA (2' 7' Dichloro-fluorescéine Diacétate)	NADPH oxydase Estérases	490	513	BUROW S. et col. (1987) Eur. J. Biol. 43,128-33
MTT	Déshydrogénases mitochondriales	488	scatter	HUET O. et col. (1992) Cytometry, 13, 532-539
MUA (4 Methyl umbelliférone Acétate)	Estérases	360	420	DIVE C. et col. (1987 ) Cytometry 8 (6), 552-61
NBT (Nitro Bleu de Tetrazolium )	Déshydrogénases cellulaires	488	scatter	BLAIR O. et col. (1985) Cytometry 6 (1), 54-61

---

### *Fonctions cellulaires: Viabilité*

Calcofluor White	Viabilité	360	450	BERGLUND D. et al. (1987) Cytometry 8 (4), 421-6
------------------	-----------	-----	-----	---

*La plupart des fluorochromes utilisés pour analyser l'intégrité membranaire sont les colorants d'exclusion (iodure de propidium...) et/ou supravitaux (diacétate de fluorescéine...)*

---

COLORANT	FONCTION, CONSTITUANT	$\lambda$ EXC.	$\lambda$ EM.	REFERENCES
<i>Fonctions cellulaires: Potentiels membranaires</i>				
DI BAC <sub>4</sub> (3)	Potentiel plasmique	495	517	MANDLER R.N. et col. (1988) J. Neurosci. Methods 22, 203-13
DI BAC <sub>5</sub> (5)	Potentiel plasmique	517	615	MOHR C. et col. (1987) J. Immunol. 138, 1564-70
DiOC <sub>2</sub> (3)	Potentiel mitochondrial et plasmique	490	510	HAANEN C. et col. (1986) Histochemistry 85, 609-13
DiOC <sub>3</sub> (3)	Potentiel mitochondrial et plasmique	490	507	LEVENSON R. et col. (1982) Cell 28, 855-63
DiOC <sub>4</sub> (3)	Potentiel mitochondrial et plasmique	490	507	COHEN R.L. et col. (1981) Nature 290, 593-5
Pyronine Y	Potentiel mitochondrial (concen. < 3 $\mu$ M)	545	566	DARZYNKIEWICZ Z. et col. (1986) Cancer Res. 46, 5760-6
Rhodamine 123	Potentiel mitochondrial	494	523	DARZYNKIEWICZ Z. et col. (1981) Proc. Natl. Acad. USA 78 (4), 2383-7

### *Fonctions cellulaires: pH*

BCECF-AM	pH	488	530	MUSGROVE E. et col. (1986) Cytometry 7 (5), 347-55
ADB (1,4 Diaceto-2,3 di cyano benzol)	pH	360	460	COOK J.A. et col. (1988) Cytometry 9 (5), 441-7
4 M U (4 Methyl umbelliferone)	pH	350	450	GERSON D. et col. (1982) J. Cell. Physiol. 112, 1-4
SNARF-1	pH	520 488 (?)	610	VAN ERP et al. (1991) Cytometry 12 (2), 127-32
Vita Blue	pH	590	660	LEE L. et col (1989) Cytometry 10 (2), 151-64
9 Amino acridine	pH vacuolaire	399	430	BROWN S. et col. (1984) Physiol. Veget. 22 (5), 541-4



COLORANT	FONCTION, CONSTITUANT	$\lambda$ EXC.	$\lambda$ EM.	REFERENCES
<i>Fonctions cellulaires: Calcium</i>				
INDO 1-AM	Ca <sup>2+</sup>	331	405/480	VALET G. et col. (1985) Naturwissenschaften 72, S 600-1
Fluo 3-AM	Ca <sup>2+</sup>	506	526	VANDENBERGHE et col. (1990) J. Immunol. Methods 127, 197-205
QUIN 2 -AM	Ca <sup>2+</sup>	339	492	RANSOM J.T. et col. (1987) Methods Enzymol. 141 (5), 53-63

### *Autres colorants fluorescents ou non*

Cortisol- FITC	Récepteur glucocorticoïde	488	520	MARCHETTI D. et col. (1989) Cancer Res. 49, 869-9
Cristal Violet	Inhibition Fluorescence Membranaire	488	----	MIA J. et col. (1987) J. Immunol. Methods 104, 195-200
Fluorescéine di- $\beta$ -D- galactopyranoside	$\beta$ -galactosidase	488	520	NOLAN G.P. et col. (1988). Proc Natl Acad Sci USA 85: 2603-2607.
Methotrexate-FITC	Dihydrofolate reductase	488	520	ASSARAF Y. et col. (1989) Anal. Biochem. 178, 287-93
MNA-NSA	$\gamma$ Glu Trans peptidase	457	590	RUSSO S. et col. (1989) J. Histochem. Cytochem. 37, 323-30

*Ne sont pas répertoriés ici tous les ligands fluorescéinylés (anticorps, lectines, peptides ...) qui sont utilisés en CMF.*