

FICHE D'INSCRIPTION

PLATEFORME DE CYTOMETRIE DE LA PITIE-SALPETRIERE CyPS

A SAVOIR

La plateforme CyPS est ouverte à toutes les équipes de Sorbonne Université et aux équipes extérieures (public ou privé).

Avant de démarrer une activité sur la plateforme, les équipes doivent rencontrer les responsables techniques pour discuter de la faisabilité de leur(s) projet(s) et du niveau d'implication du personnel de la plateforme. Elles doivent choisir un mode d'accompagnement de leur projet (Cf- fiche accompagnement) .

Pour la cytométrie de masse, la validation du protocole de préparation des échantillons par le personnel technique est nécessaire et un test de faisabilité peut être demandé avant la planification des rendez-vous. CyPS en partenariat avec Fluidigm (Emilie Grégori) validera le panel des anticorps avant que l'équipe passe commande.





Les tarifs sont établis en fonction de l'appartenance des équipes, de leur statut, de la durée du rendez-vous, des consommables fournis et de l'autonomie de l'utilisateur. Un état de frais sera émis tous les 6 mois. Pour toute activité, les heures effectuées sont facturées et chaque heure entamée est due.

La plateforme sauvegarde les données brutes sur un serveur externe, cependant les .imd (cytométrie de masse) ne seront conservées que 3 mois. Chaque utilisateur peut demander un accès partagé à ses données afin de les récupérer. Les utilisateurs doivent faire leur propre sauvegarde. En cas de perte de données CyPS ne pourra être tenue responsable.

Selon le mode d'accompagnement choisi (Cf- fiche accompagnement), un à deux personnels de CyPS impliqués dans le projet devront être associés en co-auteur de la publication résultant de ces travaux.

En cas de non-respect de cet engagement faisant partie intégrante du mode d'accompagnement choisi, la facturation des heures d'activité sera équivalente à un tarif privé. CyPS se réserve le droit d'envoyer cette facturation à posteriori de la publication.

INFORMATIONS ADMINISTRATIVES

- *Nom :  : *Prénom :
*@ :
- *Fonction :
- *Centre de recherche :
- *SU : OUI - NON
- *Laboratoire/Unité :
- *Responsable d'équipe :  : *@ :
*Directeur de l'unité :  : *@ :
- *Gestionnaire :  : *@ :
- *Votre unité a-t-elle une carte d'accès à la plateforme : OUI - NON
- *Si oui, quel est son numéro :

PROJET *

*Titre :

*Résumé :

*Type d'échantillon :

Panel :

*Utilisation d'agents pathogènes sur la plateforme:

OUI - NON

CLAUSE DE CONFIDENTIALITE

CyPS s'engage à respecter les règles relatives à la protection des Informations Confidentielles divulguées par l'une des Parties dans le cadre des Discussions. Pour les besoins du présent projet, sont considérées comme « Informations Confidentielles » toutes informations, travaux et résultats techniques, scientifiques, soit sous la forme écrite ou orale, soit incorporés dans tout type de support tangible tel qu'un support informatique, ou toutes informations obtenues par le biais de rencontre des Parties. CyPS s'engage à prendre les mesures nécessaires à l'égard de son personnel, de ses sous-traitants et fournisseurs pour assurer, sous sa responsabilité, cette confidentialité.

HYGIENE ET SECURITE

Les utilisateurs s'engagent à fournir toutes informations relatives aux risques liés aux échantillons qu'ils apportent sur la plateforme et à remplir la fiche d'évaluation des risques liés à l'échantillon. *

Les utilisateurs s'engagent à respecter les bonnes pratiques de laboratoire et les règles d'hygiène et de sécurité de la plateforme. *

Je certifie que les informations contenues dans ce formulaire sont exactes. *

Je reconnais avoir lu et accepté la dernière charte en vigueur de la plateforme CyPS. *

(*Champs obligatoires)

Date

Signature responsable scientifique du projet

Signature ingénieur opérationnel CyPS

Signature responsable opérationnel CyPS
Catherine Blanc

Règles concernant la préparation des échantillons et de l'utilisation du cytomètre de masse

La cytométrie s'applique aux cellules ou éléments en suspension individualisés, en limitant au maximum la présence de débris cellulaires. Les règles ci-dessous sont donc à respecter scrupuleusement, toute dérogation à ces règles sera notifiée au préalable par écrit :

- Un nebulizer ou un injecteur WB sont à acheter lors du 1^{er} passage par équipe sur la plateforme
- Prendre les précautions nécessaires lors de la préparation des échantillons afin d'éviter la formation d'agrégats. Des tests préalables pour les cellules issues de tissus sont exigés afin d'évaluer la faisabilité du projet.
- Vous devrez utiliser le Staining Buffer (SB) de Fluidigm pour tout lavage de vos cellules (le PBS no Ca+ no Mg+ est aussi toléré).
- Afin de limiter au maximum les contaminations externes de vos échantillons :
 - Aucun tube autoclavé ne doit être utilisé pour les marquages
 - Utiliser autant que possible du matériel en polypropylène
 - Ne pas utiliser de seringue avec un joint noir
 - Après fixation les cellules seront centrifugées à 800G
- Afin de maximiser votre qualité de marquage et votre rendement cellulaire il vous est vivement recommandé :
 - De réaliser des manips "à blanc" en comptant les cellules à chaque étape afin d'évaluer la perte cellulaire au cours du marquage
 - De titrer tous vos anticorps (0,5, 1 et 1,5ug/3millions de cellules)
 - De prévoir des FMO si besoin, en discuter au préalable avec un ingénieur de la plateforme
 - Que les échantillons soient fixés sur une nuit après le marquage dans une solution d'iridium+PFA2% à 4°C (une fixation sur 1h à RT est tolérée si le passage au cytomètre intervient immédiatement après).
 - De congeler vos échantillons à -80°C après la fixation overnight (pas besoin de lavage)
 - Après re-suspension en CAS des billes de standardisation sont ajoutées : EQ Beads, elles sont à commander à chaque début de projet. Une filtration de votre échantillon peut être nécessaire sur des filtres de 50um avant le passage sur l'HELIOS (facturation 5€)
- Les cellules seront comptées avant le passage dans l'HELIOS (coût du comptage 5€)
- Un échantillon ayant une trop forte contamination dans un des éléments analysable après de multiples lavages, ne pourra pas être passé sur la plateforme
- Tout problème rencontré sur la plateforme sera notifié par email au responsable d'équipe et à l'utilisateur en fin de journée.

Règles concernant la préparation des échantillons et de l'utilisation du trieur

La cytométrie s'applique aux cellules ou éléments en suspension individualisés, en limitant au maximum la présence de débris cellulaires. Les règles ci-dessous sont donc à respecter pour des résultats optimums et le bon fonctionnement des appareils :

- Les préparations cellulaires à trier doivent être préparées et conditionnées **STERILEMENT**.
Toute préparation NON STERILE sera REFUSEE sur le trieur.
- Les échantillons seront (re)-filtrés sous PSM juste avant le passage sur la machine pour limiter les risques de bouchage.
- La concentration recommandée dépend du type cellulaire et oscille entre 5×10^6 cellules/ml et 20×10^6 cellules/ml.
- A chaque rendez-vous, prévoir :
 - des filtres (50 μ m ou 40 μ m en général)
 - des tubes de récolte. Soit des tubes en polystyrène Falcon 12x75 mm contenant 500 μ L de SVF soit des « eppendorfs » 1,5 ou 2 ml. Pour un meilleur rendement, nous vous recommandons de les « coater » préalablement avec du SVF. Pour cela : remplir le(s) tube(s) de SVF, laisser à 37°C 30min, jeter le SVF et remettre 500 μ L de SVF ou du milieu qui convient aux cellules). Prévoyez plus de tubes de récolte que nécessaire.
 - des tubes stériles 12x75 mm supplémentaires pour les filtrations.
 - du milieu ou tampon pour diluer l'échantillon si nécessaire.
 - **Tout ce matériel doit être STERILE.**

Tout problème rencontré sur la plateforme sera notifié à l'utilisateur lors du rendez-vous et par email au responsable d'équipe.