



Lecteurs de microplaque multi-mode : filtres, monochromateurs ou système hybride ?

Xavier Amouretti – BioTek Instruments, Inc. – www.biotek.com

Bureau de Liaison France - **Tel.** +33 (0) 3 89 20 63 29

Fax +33 (0) 3 89 20 43 79 - **Email** : levent@biotek.fr - **Web** : www.biotek.fr

Les lecteurs de microplaque multi-mode sont des outils de recherches extrêmement versatiles et de plus en plus utilisés, car ils permettent de couvrir une très large gamme d'applications. Parmi les applications les plus courantes figurent les dosages ELISA, la quantification d'ADN par absorbance (260 nm) ou fluorescence, les dosages enzymatiques par mesure cinétique, les tests quantitatifs d'expression génétique sur cellules vivantes, les tests de criblage à haut débit ; des centaines de dosages sont disponibles en microplaque, et la liste est plus longue chaque jour.

En ce qui concerne les lecteurs de microplaque, deux types de systèmes sont disponibles sur le marché : systèmes à filtres et systèmes à monochromateurs. Dans le premier cas, des filtres optiques sont utilisés pour sélectionner les longueurs d'onde d'intérêt. Dans le second cas, un système à réseau permet d'utiliser n'importe quelle longueur d'onde dans la gamme de mesure de l'appareil. Chacun de ces systèmes présente des avantages et inconvénients.

Un système optique utilisant des filtres (**Figure 1**) permet d'obtenir des niveaux de transmission lumineuse jusqu'à 80% dans le visible. En fluorescence, un tel système permet d'exciter efficacement les échantillons, et de récupérer une large portion du signal émis. Ceci est particulièrement important dans le cas d'applications où le signal est faible, telles que les mesures de polarisation de fluorescence, les mesures de fluorescence en temps résolu (TRF et TR-FRET), ou les dosages AlphaScreen®. Par ailleurs, les filtres optiques peuvent être conçus spécifiquement pour une application particulière : largeur de bande passante de quelques nanomètres à plus de 100 nanomètres, réflexion spectrale (blocage) spécifique, pente de transition adaptée, etc... Ils garantissent ainsi le plus haut niveau de performance pour les applications nécessitant la meilleure



Figure 1 : système de mesure de fluorescence à filtres. Une transmission optique de l'ordre de 80% en excitation et émission fournit une sensibilité optimale.

sensibilité. En contrepartie, chaque nouvelle application peut nécessiter l'utilisation d'un nouveau jeu de filtres, ce qui représente un coût supplémentaire, des délais potentiels de livraison pour les nouveaux jeux de filtres, ainsi que la possibilité de devoir tester plusieurs filtres afin de trouver la paire la plus appropriée. En résumé, les systèmes à filtres sont en général plus performants, et moins chers à l'achat, mais peuvent nécessiter plus de dépenses à long terme, et la gestion d'une librairie de jeux de filtres.

Par comparaison, les systèmes à double réseau (**Figure 2**) sont moins efficaces optiquement. Typiquement, seulement 15% à 20% de l'énergie initiale de la lampe à une longueur d'onde particulière atteint l'échantillon. De même, le signal est collecté avec moins d'efficacité que dans un système à filtres. Par conséquent, les systèmes à monochromateurs sont typiquement moins sensibles en fluorescence que les systèmes à filtres, pour un coût d'instrumentation supérieur (du au coût élevé des monochromateurs). Les avantages évidents d'un tel système sont que n'importe quelle longueur d'onde peut

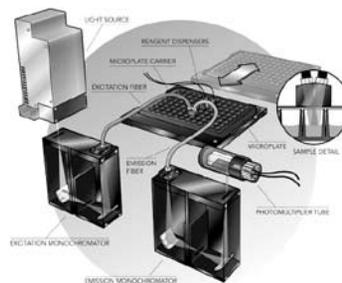


Figure 2 : Système de mesure de fluorescence à monochromateurs. Un double réseau en excitation et émission permet de sélectionner n'importe quelle longueur d'onde en incrément de 1 nanomètre.

être sélectionnée par l'intermédiaire d'un logiciel de contrôle, et qu'ils permettent de réaliser des mesures de spectre optique. Les principaux avantages sont donc une facilité d'utilisation accrue, plus de flexibilité, l'absence de coût récurrent lié à l'achat de nouveaux filtres, et la possibilité d'étudier les spectres d'émission et d'excitation de nouveaux fluorophores.

Jusqu'à présent, les laboratoires considérant l'achat d'un lecteur de microplaque multi-mode devaient choisir entre ces deux concepts. Une récente enquête réalisée par la société HTStec (www.htstec.com) portant sur les lecteurs de microplaque multi-mode montre que les deux principaux facteurs techniques déterminant le choix d'un lecteur multi-mode sont la sensibilité du système (en terme de limites de détection), et la flexibilité du système (en terme de nombre de dosages différents réalisables). Or comme discuté ci-dessus, une sensibilité optimale est un attribut des systèmes à filtres, alors que la flexibilité est un attribut des systèmes à monochromateurs. Il apparaît donc qu'il est difficile de faire



Figure 3 : Synergy 4, lecteur de microplaque multi-mode hybride.

un choix qui permette de satisfaire ces deux critères importants de manière complètement satisfaisante.

Le Synergy 4 (**Figure 3**), lecteur de microplaque hybride développé et commercialisé par BioTek Instruments, a été conçu sur la base de ces observations. Ce nouveau lecteur incorpore un système à filtre ainsi qu'un système à monochromateurs, en faisant de fait le premier lecteur hybride disponible sur le marché. Ce système hybride permet aux utilisateurs de sélectionner les éléments optiques les plus appropriés pour un dosage particulier. Dans le cas d'un dosage de routine, ou pour réaliser un spectre optique, le système à monochromateur peut être utilisé, à n'importe quelle longueur d'onde entre 250 et 800 nm. Si un dosage particulier nécessite le meilleur niveau de performance possible, un système à filtres et miroirs dichroïques est disponible. Cette combinaison est idéale pour les laboratoires effectuant une large variété de dosages en microplaque, ou pour lesquels les besoins varient de façon imprévisible au cours de l'année. Avec son système optique hybride, le Synergy 4 compense automatiquement les limitations de chacun des systèmes considérés séparément, et permet à l'utilisateur d'accéder à une gamme d'application extrêmement large.