

Citómetro espectral Cytex™ Aurora

La tecnología de detección espectral, recientemente incorporada a la citometría de flujo, permite cubrir prácticamente cualquier fluorocromo, junto con la posibilidad de recoger a lo largo de todo el espectro y realizar desmezclado de espectros por deconvolución. Todo ello permite la diferenciación de fluorocromos con espectros solapantes, lo que aumenta enormemente el número de fluorocromos que se pueden analizar y combinar de forma simultánea.

El sistema de detección de luz está basado en un array de detectores asociados a un sistema de multiplexación por división aproximada de longitud de onda (CWDM, Coarse wavelength Division Multiplexing).

ÓPTICA DE EXCITACIÓN

Cuatro láseres separados espacialmente, con zonas de interrogación secuenciales (pinholes) que permiten la excitación secuencial de los 4 láseres de manera separada en el espacio y ajuste automático del *laser delay* durante el control de calidad del equipo.

- **Una línea de 405nm: 100mW**
- **Una línea de 488nm: 50mW**
- **Una línea de 561nm: 50mW**
- **Una línea de 638nm: 80mW**

ÓPTICA DE EMISIÓN

Geometría del haz laser plana (Flat-Top laser beam) para la mejora de la detección de micropartículas (detección de resolver partículas de menos de 200 nm) y minimizar las diferencias de señal al variar el volumen de adquisición

Detección de dispersión de luz

- FSC: este detector es un semiconductor de alto rendimiento para la luz dispersada frontalmente procedente del láser 488nm (o paso de banda 488/10)
- SSC Violeta: se trata de un semiconductor de alto rendimiento Para la luz dispersada lateralmente procedente del láser 405nm (o paso de banda 405/10)
- SSC Azul: este detector es un semiconductor de alto rendimiento Para la luz dispersada lateralmente procedente del láser 488nm (o paso de banda 488/10)

Detectores de Fluorescencia

La emisión de luz por cada láser de excitación es recogida por una matriz de semiconductores de alta sensibilidad de multiplexación con hasta 16 canales y división aproximada de longitud de onda (CWDM). Este dispositivo permite una captura de espectro más eficiente para fluorocromos que emiten en el rango de 420-830 nm.

Espejos y filtros ópticos para la detección de cualquier fluorocromo excitable por uno o más de los láseres instalados (láser 405nm, 488nm, 561nm, 638nm).

- Módulo detector violeta: 16 canales entre 420 y 830 nm.
- Módulo detector azul: 14 canales habilitados entre 500 y 830 nm.
- Módulo detector amarillo-verde: 10 canales habilitados entre 570 y 830 nm.
- Módulo detector rojo: 8 canales habilitados entre 650 y 830 nm.

Violet 16			Blue 14			Red 8			YG 10		
Chan#	CW	BW	Chan#	CW	BW		CW	BW	Chan#	CW	BW
V1	428	15	B1	508	20	R1	660	17	1	571	23
V2	443	15	B2	528	21	R2	678	18	2	594	23
V3	458	15	B3	549	22	R3	697	19	3	617.5	24
V4	473	15	B4	571	23	R4	717	20	4	660	17
V5	508	20	B5	594	23	R5	738	21	5	678	18
V6	528	21	B6	618	24	R6	760	23	6	697	19
V7	549	22	B7	660	17	R7	783	23	7	720	29
V8	571	23	B8	678	18	R8	812	34	8	749.5	30
V9	594	23	B9	697	19	open	open	open	9	779.5	30
V10	618	24	B10	717	20	open	open	open	10	811.5	34
V11	664	27	B11	738	21	open	open	open	open	open	open
V12	692	28	B12	760	23	open	open	open	open	open	open
V13	720	29	B13	783	23	open	open	open	open	open	open
V14	750	30	B14	812	34	open	open	open	open	open	open
V15	780	30	open	open	open	open	open	open	open	open	open
V16	812	34	open	open	open	open	open	open	open	open	open

- Sensibilidad a la Fluorescencia:
FITC: <110 MEFL, PE: <35 MEFL, APC: <15 MEFL, Pacific Blue: <200MEFL
- Linealidad de la Fluorescencia:
FITC R2 ≥0.995 / PE R2 ≥0.995
- Resolución de dispersión hacia delante y lateral: El rendimiento está optimizado para resolver linfocitos, monocitos y granulocitos.
- Resolución de dispersión lateral capaz de resolver beads de 0.1 µm de ruido.
- Velocidad de adquisición de datos 35.000 eventos/s

Sistema de adquisición de muestra automatizado. Se trata de un sistema de micromuestreo Cytex™ Aurora (AMS), que permite la toma de muestra basada en tubos y placas multi-pocillos de 96 pocillos, incluidas placas de fondo en U, fondo en V, fondo plano y pocillos profundos (placas deep well)

Sistema de Fluidos

- **Sensor volumétrico** para la medida de volumen de muestra adquirida y calculo directo de la concentración de cantidad de células por microlitro sin necesidad de una referencia externa
- Arrastre entre tubos y pocillos menos de **0.3%**.
- Sistema de detección automática de atascos y entrada de aire
- Cargador de placa con control de temperatura.
- Caudal de flujo de muestra:
 - Bajo: 15 µL/min
 - Medio: 30 µL/min
 - Alto: 60 µL/min

- Modo de alto rendimiento de la placa: 100 μ L/min

- ✓ •Módulo de QC automático
- ✓ •Sistema de deconvolución espectral (spectral unmixing) en vivo durante la adquisición
- ✓ •Extracción automática de auto fluorescencia
- ✓ •Capacidad para la creación de librerías de espectros de referencia.
- ✓ •Generación de ficheros en formato. fcs (flow cytometry standard) y de datos crudos espectrales (raw data)
- ✓ •Optimización automática de las ganancias de todos los detectores
- ✓ •Ajuste automático de las ganancias almacenadas en el equipo asociado al sistema de QC para minimizar la variación de los datos con el tiempo.
- ✓ Software de análisis de datos **SPECTROFLO®**

Cytek Aurora 4L 16V-14B-10YG-8R Configuration

LASER (nm)	BP	SP	LP	OPTIMAL COLORS				Additional optimal fluorochrome options available on FluoroFinder.com.
405	V1	435	420	Brilliant Violet 421	Alexa Fluor 405	DyLight 405	eFluor 450	
				SuperBright 436	V450	VioBlue		
				Alexa Fluor 406	CF405M	DyLight 405	eFluor 450	
	V2	451	436	Pacific Blue	V450	VioBlue		
				Pacific Blue	CF405M	DyLight 405	eFluor 450	
	V3	466	451	V450	VioBlue			
				Brilliant Violet 480				
	V4	481	466	AmCyan	Alexa Fluor 430	Brilliant Violet 510	V500	
				VioGreen				
	V6	533	516	VioGreen	Alexa Fluor 430	AmCyan	Brilliant Violet 510	
				Cascade Yellow	Krome Orange	Pacific Green	Pacific Orange	
				Qdot 525	V500			
V7	550	533	Brilliant Violet 510	Alexa Fluor 430	CF405L	CF430		
			CF440	DyLight 405LS	V500	VioGreen		
V8	590	571	Brilliant Violet 570	Live/Dead Fix Yellow	DyLight 405LS	Qdot 585		
			SuperBright 600					
V10	625	605	Brilliant Violet 606	DyLight 405LS	eFluor 605NC	eVolve 605		
			Qdot 605	SuperBright 600				
V11	678	651	Brilliant Violet 660	eFluor 650NC	eVolve 655	Qdot 655		
			SuperBright 645					
V12	706	678	Brilliant Violet 711	Qdot 705	SuperBright 702			
			SuperBright 702					
488	V14	765	735	Brilliant Violet 760				
				Brilliant Violet 786	Qdot 800			
	V15	795	765	Qdot 800	Brilliant Violet 786	Brilliant Violet 786		
				Brilliant Violet 786				
	V16	829	795	Qdot 800	Brilliant Violet 786	Brilliant Violet 786		
				eGFP				
	B1	518	498	FITC	Alexa Fluor 488	BB515	CF488A	
				CF503R	Cy2	DyLight 488	Fluorescein	
	B2	533	516	VioBright FITC				
				eYFP				
	B4	590	571	PE				
				dsRed				
	B6	625	605	PE-Texas Red	ECD	PE-CF594	PE-Dazzle 594	
				PE-eFluor 610	PE-Vio615			
B7	669	652	BB590-P2	PE-ATTO 684				
			PerCP					
B9	707	688	PerCP-Cy5.6	BB700	PerCP-eFluor 710	PerCP-Vio700		
			PerCP-eFluor 710	PerCP-Vio700				
B10	727	707	PerCP-eFluor 710	PerCP-Vio700				
			PerCP-eFluor 710					
B12	772	749	PE-Vio770	PE-Alexa 750	PE-Cy7			
			PE-Cy7	PE-Vio770				
B13	795	772	PE-Cy7	PE-Vio770				
			BB790-P					
B14	829	795	PE	CF503R	CF568	CF570		
			PE-Dazzle 684	DyLight 594	ECD	PE-CF594		
YG1	587	567	PE	CF503R	CF568	CF570		
			PE-Dazzle 684	DyLight 594	ECD	PE-CF594		
YG2	608	588	PE-Texas Red	PE-Vio615				
			PE-Texas Red	CF583	CF583R	DyLight 594		
YG3	625	605	ECD	PE-CF594	PE-Dazzle 594	PE-eFluor 610		
			PE-Vio615					
YG4	669	652	PE-Cy6	PI				
			PE-Alexa 647	PE-Cy6.6				
YG5	687	669	PE-Alexa 647	PE-Cy6.6				
			PE-Cy6.6					
YG6	707	688	PE-Cy6.6					

Laser	540	YG7	735	706	PE-Alexa 700			
		YG8	765	735	PE-Mo770	PE-Alexa 750		
		YG9	795	765	PE-Cy7	PE-Mo770		
		YG10	829	795	Vibrant DyeCycle Ruby			
		R1	669	652	APC Cy5	Alexa Fluor 647 DyLight 633	CF540R NL 637	CF647
		R2	667	669	Alexa Fluor 680			
		R3	707	688	Alexa Fluor 680	APC-Cy5.5	DyLight 680	
		R4	727	707	Alexa Fluor 700	APC-R700		
		R5	749	728	IRFP 720			
		R6	772	749	APC-Cy7 APC-H7	APC-Alexa 750 APC-Mo770	APC-eFluor 780	APC-Fire 750
R7	795	772	APC-Fire 760 APC-Cy7	APC-Mo770 APC-eFluor 780	PE-Fire 780	APC-Alexa 750		
R8	829	795	Alexa Fluor 790					

Cytek™ Aurora Spectral Cytometer

Spectral detection technology, recently incorporated into flow cytometry, allows coverage of virtually any fluorochrome, along with the ability to collect across the entire spectrum and perform deconvolution demixing of spectra. All this allows the differentiation of fluorochromes with overlapping spectra, which greatly increases the number of fluorochromes that can be analyzed and combined simultaneously.

The light detection system is based on an array of detectors associated with a Coarse Wavelength Division Multiplexing (CWDM) system.

EXCITATION OPTICS

Four spatially separated lasers, with sequential interrogation zones (pinholes) that allow the sequential excitation of the 4 lasers separately in space and automatic adjustment of the laser delay during the quality control of the equipment.

- A 405nm line: 100mW
- A 488nm line: 50mW
- A 561nm line: 50mW
- A 638nm line: 80mW

Flat Top Beam laser beam geometry optimized for small particle detection and maximum resolution at high acquisition volumes.

EMISSION OPTICS

Quartz and fused silica cuvette coupled to a high numerical aperture lens for optimal light gathering efficiency towards the optical fibers.

Geometry of the flat laser beam (Flat-Top laser beam) for the improvement of the detection of microparticles (detection of resolving particles of less than 200 nm) and minimizing the differences in signal when varying the acquisition volume

Light scattering detection:

- FSC: This detector is a high-performance semiconductor for forward-scattered light from the 488nm laser (or 488/10 bandpass)
- Violet SSC: this is a high performance semiconductor For laterally scattered light from the 405nm laser (or 405/10 bandpass)
- SSC Blue: this detector is a high performance semiconductor For laterally scattered light from the 488nm laser (or 488/10 bandpass)

Fluorescence Detectors

The light emission from each excitation laser is collected by a highly sensitive semiconductor array with up to 16 channels and coarse wavelength division multiplexing (CWDM). This device allows more efficient spectrum capture for fluorochromes emitting in the 420-830nm range.

- Violet detector module: 16 channels between 420 and 830 nm.
- Blue detector module: 14 channels enabled between 500 and 830 nm.
- Yellow-green detector module: 10 channels enabled between 570 and 830 nm.
- Red detector module: 8 channels enabled between 650 and 830 nm.

Mirrors and optical filters for the detection of any fluorochrome excitable by one or more of the installed lasers (laser 405nm, 488nm, 561nm, 638nm).

Violet 16			Blue 14			Red 8			YG 10		
Chan#	CW	BW	Chan#	CW	BW		CW	BW	Chan#	CW	BW
V1	428	15	B1	508	20	R1	660	17	1	571	23
V2	443	15	B2	528	21	R2	678	18	2	594	23
V3	458	15	B3	549	22	R3	697	19	3	617.5	24
V4	473	15	B4	571	23	R4	717	20	4	660	17
V5	508	20	B5	594	23	R5	738	21	5	678	18
V6	528	21	B6	618	24	R6	760	23	6	697	19
V7	549	22	B7	660	17	R7	783	23	7	720	29
V8	571	23	B8	678	18	R8	812	34	8	749.5	30
V9	594	23	B9	697	19	open	open	open	9	779.5	30
V10	618	24	B10	717	20	open	open	open	10	811.5	34
V11	664	27	B11	738	21	open	open	open	open	open	open
V12	692	28	B12	760	23	open	open	open	open	open	open
V13	720	29	B13	783	23	open	open	open	open	open	open
V14	750	30	B14	812	34	open	open	open	open	open	open
V15	780	30	open	open	open	open	open	open	open	open	open
V16	812	34	open	open	open	open	open	open	open	open	open

- Sensitivity to Fluorescence:

FITC: <110 MEFL, PE: <35 MEFL, APC: <15 MEFL, Pacific Blue: <200 MEFL

- Linearity of Fluorescence:

FITC R2 ≥0.995 / PE R2 ≥0.995

- Forward and side scatter resolution: Performance is optimized for resolving lymphocytes, monocytes, and granulocytes.

- Side scatter resolution capable of resolving 0.1 μm noise beads.

- Data acquisition speed 35,000 events/s

Automated sample acquisition system. It is a Cytex™ Aurora Microsampling System (AMS), that enables tube-based sampling and 96-well multi-well plates, including U-bottom, V-bottom, flat-bottom plates and deep well plates

Fluid System

- Volumetric sensor for measuring the volume of the acquired sample and direct calculation of the concentration of the number of cells per microliter without the need for an external reference.

- Carryover between tubes and wells less than 0.3%.

- Automatic clogging and air intake detection system

- Plate charger with temperature control.

- Sample flow rate:

- Low: 15 μL/min
- Medium: 30 μL/min
- High: 60 μL/min

- ✓ High plate throughput mode: 100 μ L/min
- ✓ Automatic QC module
- ✓ Live spectral deconvolution system (spectral unmixing) during acquisition
- ✓ Automatic extraction of auto fluorescence
- ✓ Ability to create reference spectrum libraries.
- ✓ Generation of files in format. fcs (flow cytometry standard) and spectral raw data
- ✓ Automatic gain optimization of all detectors
- ✓ Automatic adjustment of the gains stored in the equipment associated with the QC system to minimize the variation of the data over time.
- ✓ SPECTROFLO[®] data analysis software