

1. HISTORIAL DE REVISIONS:

REVISIÓ	DATA	DESCRIPCIÓ DE LA REVISIÓ
1	30/05/2017	Creació del document
2	20/11/2017	Actualització del document
3	07/05/2019	Actualització del document
4	17/04/2023	Actualització del document (equip FacsCalibur-només 1 làser blau/configuració del nou equip Aurora CS)
5	11/10/2023	Actualització del document (eliminació equip FacsCalibur/configuració del nou equip Aurora Analitzador)
6	10/04/2024	Actualització del document (eliminació equip Facsaria)

2. APROVACIÓ:

REDACTAT PER	REVISAT PER	APROVAT PER
Nom: Rosa Prieto Càrrec: Cap de la UAT	Nom: Rosa Prieto Càrrec: Cap de la UAT Nom: Mònica Anglada Càrrec: Coordinadora de Qualitat, Processos i Gestió Documental	Nom: Rosa Prieto Càrrec: Cap de la UAT
Signatura:		

Aquest document descriu la configuració dels citòmetres de la UAT:

- **Citòmetre convencional:**
 - *Analitzador Fortessa.*
- **Citòmetres espectrals:**
 - *Analitzador Aurora y analitzador/separador cel·lular Aurora CS-Cell Sorter*

A cada apartat es descriu amb més detall la combinació de làsers/detectors/miralls dicroics i filtres, així com els fluorocroms recomanats per a cadascuna de les combinacions possibles.

Els fluorocroms estan col·locats de forma orientativa, es recomana comprovar l'espectre a internet. Pàgines web que s'aconsella utilitzar: <https://www.thermofisher.com/order/fluorescence-spectraviewer#!/> o <https://spectrum.cytexbio.com/>

1. CITÒMETRE ANALITZADOR CONVENCIONAL “FORTESSA”

Lasers (excitació)	Detector	Dicroic	Filtre (rang d'emissió)	Fluorocrom
405 (Violeta)	A	695 LP ¹ o 750 LP ²	710/50 ¹ o 780/60 ²	¹ BV711 ² BV786
	B	635 LP	670/30	BV650
	C	595 LP	610/20	BV605
	D	550 LP	585/42	Qdot585, SB600
	E	475 LP	525/50	Alexa430, BV510, eFluor506, Live/Dead Aqua, V500, Zombie Aqua
	F		450/50	Alexa405, BV421, DAPI, Pacific Blue, SYTOX Blue, V450
488 (Blau)	A	600 LP	695/40	BB700, PerCp, PerCp-Cy5,5
	B	505 LP	530/30	Alexa488, BB515, FITC, GFP, Live/Dead Green, VioBright-FITC, Zombie Green
561 (Groc-Verd)	A	750 LP	780/60	PE-Cy7
	B	685LP	710/50	PE-Alexa700
	C	635 LP	670/30	7-AAD, PE-Cy5
	D	600 LP	610/20	Alexa594, mCherry, PE-CF594, PE-Texas Red, PI
	E		582/15	Alexa546, DsRed, eFluor570, PE, RFP, tdTomato
633 (Vermell)	A	750 LP	780/60	APC-Cy7, APC-eFluor780, APC-H7
	B	710 LP	730/45	Alexa700, APC-Cy5,5, APC-R700, eFluor710
	C		670/14	Alexa647, APC, eFluor660

MIRALL DICROIC: LP: Longpass (de pas llarg) --> Deixa passar (transmet) longituds d'ona per sobre de la longitud d'ona indicada.

FILTRE: Bandpass (pas de banda) --> Deixa passar un determinat rang de longituds d'ona. Exemple: 695/40 = 695±20 --> per tant, el rang d'emissió serà 675-715.

***En qualsevol cas, recordeu demanar assessorament al tècnic responsable per poder dissenyar el panell adequat i per avaluar la possibilitat de canviar els filtres en cas necessari.**

^{1, 2:} Per a les configuracions, preguntar pels filtres. La configuració de l'equip per defecte és la ²750LP-780/60.

	CONFIGURACIÓN DE LOS CITÓMETROS DE LA UAT	Código: VHIR-UAT-DOC-008	Revisión: 05
		Fecha: 11/10/2023	Página: 4 de 7

Este documento describe la configuración de los citómetros de la UAT:

- **Citómetro convencional:**
 - *Analizador Fortessa*
- **Citómetros espectrales:**
 - *Analizador Aurora y analizador/separador celular Aurora CS-Cell Sorter*

En cada apartado se describe con más detalle la combinación de láseres/detectores/espejos dicroicos y filtros, así como los fluorocromos recomendados para cada una de las combinaciones posibles.

Los fluorocromos están colocados de forma orientativa, se recomienda comprobar el espectro en internet. Páginas web que se recomienda utilizar: <https://www.thermofisher.com/order/fluorescence-spectraviewer#!/> o <https://spectrum.cytekbio.com/>

1. CITÓMETRO ANALIZADOR CONVENCIONAL “FORTESSA”

Láser (excitación)	Detector	Dicroico	Filtro (rango de emisión)	Fluorocromo
405 (Violeta)	A	695 LP ¹ o 750 LP ²	710/50 ¹ o 780/60 ²	¹ BV711 ² BV786
	B	635 LP	670/30	BV650
	C	595 LP	610/20	BV605
	D	550 LP	585/42	Qdot585, SB600
	E	475 LP	525/50	Alexa430, BV510, eFluor506, Live/Dead Aqua, V500, Zombie Aqua
	F		450/50	Alexa405, BV421, DAPI, Pacific Blue, SYTOX Blue, V450
488 (Azul)	A	600 LP	695/40	BB700, PerCp, PerCp-Cy5,5
	B	505 LP	530/30	Alexa488, BB515, FITC, GFP, Live/Dead Green, VioBright-FITC, Zombie Green
561 (Amarillo-Verde)	A	750 LP	780/60	PE-Cy7
	B	685LP	710/50	PE-Alexa700
	C	635 LP	670/30	7-AAD, PE-Cy5
	D	600 LP	610/20	Alexa594, mCherry, PE-CF594, PE-Texas Red, PI
	E		582/15	Alexa546, DsRed, eFluor570, PE, RFP, tdTomato
633 (Rojo)	A	750 LP	780/60	APC-Cy7, APC-eFluor780, APC-H7
	B	710 LP	730/45	Alexa700, APC-Cy5,5, APC-R700, eFluor710
	C		670/14	Alexa647, APC, eFluor660

ESPEJO DICROICO: LP: Longpass (de paso largo) --> Deja pasar (transmite) longitudes de onda por encima de la longitud de onda indicada.

FILTRO: Bandpass (paso de banda) --> Deja pasar un determinado rango de longitudes de onda. Ejemplo: 695/40 = 695±20 --> por tanto, el rango de emisión será 675-715.

*En cualquier caso, recuerde pedir asesoramiento al técnico responsable para poder diseñar el panel adecuado y para evaluar la posibilidad de cambiar los filtros en caso necesario.

^{1, 2}: Para las configuraciones, preguntar por los filtros. La configuración del equipo por defecto es la ²750LP-780/60.

2. CITÓMETROS ESPECTRALES “AURORA ANALIZADOR” Y “AURORA CS”

Láser (excitación)	Detector	Rango de emisión														
355nm (Ultravioleta)	UV1	365-380	405nm (Violeta)													
	UV2	380-395		Láser (excitación)	Detector	Rango de emisión										
	UV3	420-435		V1		420-435										
	UV4	435-450		V2		436-451										
	UV5	450-465		V3		451-466										
	UV6	465-480		V4		466-481	Láser (excitación)	Detector	Rango de emisión							
	UV7	500-528		V5		498-518	B1		498-518							
	UV8	528-556		V6		516-533	B2		516-533							
	UV9	566-597		V7		533-550	B3		533-550	Láser (excitación)	Detector	Rango de emisión				
	UV10	597-628		V8		571-590	B4		571-590	YG1		567-587				
	UV11	650-677		V9		588-608	B5		588-608	YG2		588-608				
	UV12	677-705		V10		605-625	B6		605-625	YG3		605-625	Láser (excitación)	Detector	Rango de emisión	
	UV13	705-734		V11		651-678	B7		652-669	YG4		652-669	633nm (Rojo)	R1		652-669
	UV14	735-765		V12		678-706	B8		669-687	YG5		669-687		R2		669-687
	UV15	765-795		V13		706-735	B9		688-707	YG6		688-707		R3		688-707
	UV16	795-829		V14		735-765	B10		707-727	YG7		706-735		R4		707-727
		V15		765-795	B11		728-749	YG8		735-765	R5			728-749		
		V16		795-829	B12		749-772	YG9		765-795	R6			749-772		
					B13		772-795	YG10		795-829	R7			772-795		
					B14		795-829				R8			795-829		

This document describes the configuration of the UAT cytometers:

- **Conventional cytometers:**
 - Analyzers (Fortessa)
- **Full-spectrum cytometers:**
 - Analyzer (Aurora Analyzer) and analyzer/cell sorter (Aurora CS-Cell Sorter)

Each section describes in more detail the combination of lasers/detectors/dichroic mirrors and filters, as well as the recommended fluorochromes for each of the possible combinations.

The fluorochromes are indicated as a guideline, it is recommended to check the spectrum on the internet.

Websites that are recommended to use: <https://www.thermofisher.com/order/fluorescence-spectraviewer#!/> or <https://spectrum.cytekbio.com/>

1. CONVENTIONAL FLOW CYTOMETER “FORTESSA”

Laser (excitation)	Detector	Dichroic	Filter (emission range)	Fluorochrome
405 (Violet)	A	695 LP ¹ o 750 LP ²	710/50 ¹ o 780/60 ²	¹ BV711 ² BV786
	B	635 LP	670/30	BV650
	C	595 LP	610/20	BV605
	D	550 LP	585/42	Qdot585, SB600
	E	475 LP	525/50	Alexa430, BV510, eFluor506, Live/Dead Aqua, V500, Zombie Aqua
	F		450/50	Alexa405, BV421, DAPI, Pacific Blue, SYTOX Blue, V450
488 (Blue)	A	600 LP	695/40	BB700, PerCp, PerCp-Cy5,5
	B	505 LP	530/30	Alexa488, BB515, FITC, GFP, Live/Dead Green, VioBright-FITC, Zombie Green
561 (Yellow-Green)	A	750 LP	780/60	PE-Cy7
	B	685LP	710/50	PE-Alexa700
	C	635 LP	670/30	7-AAD, PE-Cy5
	D	600 LP	610/20	Alexa594, mCherry, PE-CF594, PE-Texas Red, PI
	E		582/15	Alexa546, DsRed, eFluor570, PE, RFP, tdTomato
633 (Red)	A	750 LP	780/60	APC-Cy7, APC-eFluor780, APC-H7
	B	710 LP	730/45	Alexa700, APC-Cy5,5, APC-R700, eFluor710
	C		670/14	Alexa647, APC, eFluor660

DICHOIC MIRROR: LP: Longpass --> Allows the pass (transmits) of wavelengths above the indicated wavelength.

FILTER: Bandpass --> Allows the pass of a certain range of wavelengths. Example: 695/40 = 695±20 --> therefore, the emission range will be 675-715.

*In any case, remember to ask the technician in charge for advice, in order to design the appropriate panel and to evaluate the possibility of changing the filters if necessary.

¹, ²: For configurations, ask for filters. The configuration set-up by default is ²750LP-780/60.

2. FULL-SPECTRUM CYTOMETERS “AURORA ANALYZER” AND “AURORA CS”

Laser (excitation)	Detector	Emission range																			
355nm (Ultraviolet)	UV1	365-380																			
	UV2	380-395	Laser (excitation)	Detector	Emission range																
	UV3	420-435	405nm (Violet)	V1	420-435																
	UV4	435-450		V2	436-451																
	UV5	450-465		V3	451-466																
	UV6	465-480		V4	466-481	Laser (excitation)	Detector	Emission range													
	UV7	500-528		V5	498-518	488nm (Blue)	B1	498-518													
	UV8	528-556		V6	516-533		B2	516-533													
	UV9	566-597		V7	533-550		B3	533-550	Laser (excitation)	Detector	Emission range										
	UV10	597-628		V8	571-590		B4	571-590	561nm (Yellow-Green)	YG1	567-587										
	UV11	650-677		V9	588-608		B5	588-608		YG2	588-608										
	UV12	677-705		V10	605-625		B6	605-625		YG3	605-625	Laser (excitation)	Detector	Emission range							
	UV13	705-734		V11	651-678		B7	652-669		YG4	652-669	633nm (Red)	R1	652-669							
	UV14	735-765		V12	678-706		B8	669-687		YG5	669-687		R2	669-687							
	UV15	765-795		V13	706-735		B9	688-707		YG6	688-707		R3	688-707							
	UV16	795-829		V14	735-765		B10	707-727		YG7	706-735		R4	707-727							
		V15		765-795	B11		728-749	YG8		735-765	R5		728-749								
		V16		795-829	B12		749-772	YG9		765-795	R6		749-772								
				B13	772-795		YG10	795-829		R7	772-795										
				B14	795-829				R8	795-829											