

## CytoFLEX LX Scheda tecnica



La serie di citometri a flusso CytoFLEX LX rappresenta l'evoluzione della famiglia CytoFLEX. Il sistema CytoFLEX LX è un portfolio di citofluorimetri che possono essere configurati a partire da un minimo di 4 laser - 14 colori ad un massimo di 6 laser - 21 colori. Questa flessibilità di scelta delle configurazioni consente di dotare un laboratorio di ricerca della combinazione di laser più adeguata alla tipologia di sperimentazione multicolore che vi si svolge.

### Ottica

Il sistema ottico del citofluorimetro da banco CytoFLEX LX è disegnato per ospitare fino a sei laser. L'allineamento del sistema è fisso e CytoFLEX LX è in grado di controllarlo automaticamente durante il Controllo Qualità (QC) giornaliero e regolare, sempre automaticamente, il parametro Time Delay per assicurare l'ottimale funzionalità dello strumento.

#### Laser a diodi

- ✦ LASER BLU: lunghezza d'onda 488 nm; Potenza di lavoro 50 mW, Dimensioni del Raggio: 5  $\mu\text{m}$  x 80  $\mu\text{m}$
- ✦ LASER ROSSO: lunghezza d'onda 638 nm; Potenza di lavoro 50 mW, Dimensioni del Raggio: 5  $\mu\text{m}$  x 80  $\mu\text{m}$
- ✦ LASER VIOLETTO: lunghezza d'onda 405 nm; Potenza di lavoro 80 mW, Dimensioni del Raggio: 5  $\mu\text{m}$  x 80  $\mu\text{m}$
- ✦ LASER GIALLO: lunghezza d'onda 561 nm; Potenza di lavoro 30 mW, Dimensioni del Raggio: 5  $\mu\text{m}$  x 80  $\mu\text{m}$
- ✦ LASER INFRARED: lunghezza d'onda 808 nm; Potenza di lavoro 60 mW, Dimensioni del raggio: 5  $\mu\text{m}$  x 80  $\mu\text{m}$
- ✦ LASER NEAR UV: lunghezza d'onda 375 nm; Potenza di lavoro 60 mW, Dimensioni del raggio: 5  $\mu\text{m}$  x 80  $\mu\text{m}$

#### Cella a flusso

Cella a flusso "Clear Focus" in fase di brevetto.  
Lente dell'obiettivo integrata alla cella a flusso.  
Apertura numerica >1.3.  
Senza necessità di allineamento.  
Dimensioni del diametro interno della cella a flusso: 420  $\mu\text{m}$  x 180  $\mu\text{m}$ .

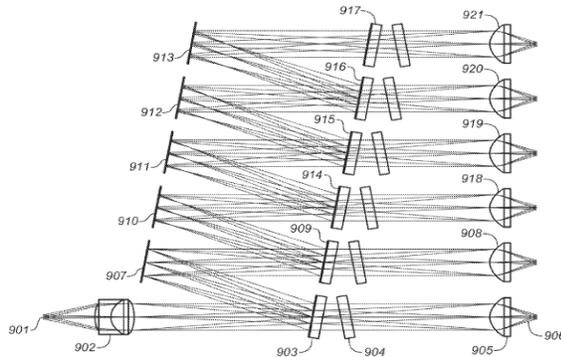
## Ottica

Forward Scatter FSC:

fotodiodo in silicio con filtro banda passante 488/8 integrato.

Fluorescenze e Side Scatter:

Luce raccolta dall'obiettivo e trasportata via fibre ottiche ad uno specifico modulo di raccolta WDM (Wavelength Division Multiplex) per ogni singola sorgente di eccitazione. Dimensioni miniaturizzate dei moduli di raccolta.



Side Scatter SSC 488 nm:

Segnale raccolto tramite modulo WDM da fotodiodi a semiconduttori, scatter proveniente da laser 488 nm. Risoluzione fino a 300 nm.

Violet Side Scatter VSSC 405 nm:

Segnale raccolto tramite modulo WDM da fotodiodi a semiconduttori, scatter proveniente da laser 405 nm. Sensibilità incrementata e risoluzione fino a 200 nm.

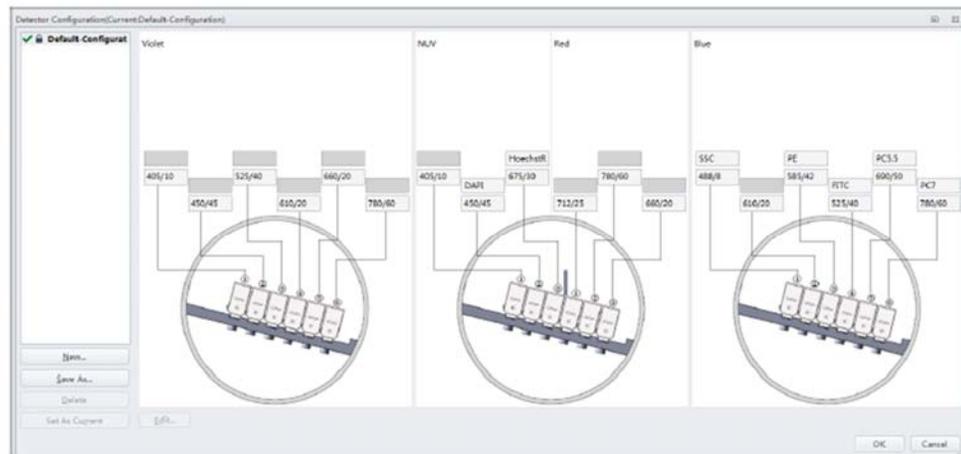
Fluorescence Detector:

Ogni modulo WDM utilizza fotodiodi a semiconduttori organizzati nel Fiber optical Array of Photo Detectors (FAPD) in attesa di brevetto. Alta sensibilità, alta stabilità, basso rumore di fondo.

Filtri

Tutti i filtri utilizzati sono banda passanti, non vengono utilizzati filtri dicroici per ridurre la perdita di segnale. Questo sistema, in attesa di brevetto, consente di ottenere oltre il 90% di efficienza di trasmissione.

I filtri sono facilmente intercambiabili.



I componenti del banco ottico, laser di eccitazione e di raccolta dei segnali sono termo controllati.

## Configurazioni disponibili:

CytoFLEX LX è configurabile installando fino a sei laser spazialmente separati. Di seguito le configurazioni attualmente disponibili.

### Con il laser near UV

PN	Laser	Fluorescenze	488nm	638nm	405nm	561 nm	Near UV 375 nm	808 nm
C00445	6	21	3	3	5	5	3	2
C00446	5	19	3	3	5	5	3	

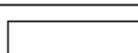
### Con il laser UV

PN	Laser	Fluorescenze	488nm	638nm	405nm	561 nm	UV 355 nm	808 nm
C11186	6	21	3	3	5	5	3	2
C11185	5	19	3	3	5	5	3	
C11184	4	14	3		5	3	3	
C11185	4	14	3	3	5		3	

## Fluorocromi utilizzabili

Laser	Fluorescent Channel	CytoFLEX Channel Names	Commonly used Fluorescent Dyes
 488 nm	 525/40 BP	FITC	FITC, Alexa Fluor™ 488, CFSE, Fluo-3
	 585/42 BP	PE	PE, PI
	 610/20 BP	ECD	ECD, PE-Texas Red®, PE-CF594, PI
	 690/50 BP	PC5.5	PC5.5, PC5, PerCP, PerCP-Cy5.5, PI, DRAQ7™
	 780/60 BP	PC7	PC7, DRAQ7™
 638 nm	 660/10 BP	APC	APC, Alexa Fluor™ 647, eFluor™ 660, Cy5
	 712/25 BP	APC-A700	APC-A700, Alexa Fluor™ 700, Cy5.5, DRAQ7™
	 780/60 BP	APC-A750	APC-A750, APC-Cy7, APC-H7, APC- eFluor™ 780, DRAQ7™
 405 nm	 450/45 BP	PB450	Pacific Blue™ dye, V450, eFluor™ 450, BV421
	 525/40 BP	KO525	Krome Orange, AmCyan, V500, BV510
	 610/20 BP	Violet610	BV605, Qdot® 605
	 660/10 BP	Violet660	BV650, Qdot® 655
	 780/60 BP	Violet780	BV785, Qdot® 800
 355 nm	 405/30 BP	UV405	BUV395
	 525/40 BP	UV525	BUV496
	 675/30 BP	UV675	Hoescht Red, BUV661
	 450/45 BP	N/A <sup>1</sup>	DAPI

## Fluorocromi utilizzabili (continua)

Laser	Fluorescent Channel	CytoFLEX Channel Names	Commonly used Fluorescent Dyes
 375 nm	 450/45 BP	NUV450	BUV395, DAPI
	 525/40 BP	NUV525	BUV496
	 675/30 BP	NUV675	Hoescht Red, BUV661
 405 nm	 450/45 BP	V450-PB	Pacific Blue™ dye, V450, eFluor™ 450, BV421
	 525/40 BP	V525-KrO	Krome Orange, AmCyan, V500, BV510
	 610/20 BP	V610	BV605, Qdot® 605
	 660/10 BP	V660	BV650, Qdot® 655
	 763/43 BP	V763	BV785, Qdot® 800
 488 nm	 525/40 BP	B525-FITC	FITC, Alexa Fluor™ 488, CFSE, Fluo-3
	 610/20 BP	B610-ECD	ECD, PE-Texas Red®, PE-CF594, PI
	 690/50 BP	B690-PC5.5	PC5.5, PC5, PerCP, PerCP-Cy5.5, PI, DRAQ7™
 561 nm	 610/20 BP	Y610-mCherry	mCherry, ECD, PE-CF594
	 763/43 BP	Y763-PC7	PC7
	 585/42 BP	Y585-PE	PE, DsRed
	 675/30 BP	Y675-PC5	PC5, mPlum
	 710/50 BP	Y710-PC5.5	PC5.5, PE-AF680

## Fluorocromi utilizzabili (continua)

Laser	Fluorescent Channel	CytoFLEX Channel Names	Commonly used Fluorescent Dyes
 638 nm	 763/43 BP	R763-APCA750	APC-A750, APC-Cy7, APC-H7, APC- eFluor™ 780, DRAQ7™
	 660/10 BP	R660-APC	APC, Alexa Fluor™ 647, eFluor™ 660, Cy5
	 712/25 BP	R712-APCA700	APC-A700, Alexa Fluor™ 700, Cy5.5
 808 nm	 840/20 BP	IR840-A790	Alexa Fluor® 790
	 885/40 BP	IR885	PromoFluor-840, IR fixable viability dye

## Trattamento del campione

Volume minimo acquisibile di campione  
10 µl

Velocità di flusso

Grazie ad una pompa peristaltica è possibile agire sulla velocità del flusso di aspirazione impostando 3 livelli predefiniti: basso, medio e alto, rispettivamente 10, 30 e 60µl/min. Inoltre è possibile scegliere la modalità custom, la quale consente di impostare la velocità del flusso fino a campionare 240µl/min.



Consumo del liquido di trasporto

In acquisizione 10 ml/minuto

Non in acquisizione (standby): 0

Provette

Supporta provette da 12 x 75 mm e micro tubi da 1.5 ml e 2 ml

Sistema di campionamento

Ci sono 2 sistemi di iniezione del campione: semi automatico e manuale

Re-sospensione del campione

Durante il processo di campionamento, i campioni vengono automaticamente miscelati per un tempo deciso dall'operatore, (impostato di default per 1 secondo).

---

**Campionatore da piastra per microtitolazione\*\***

Campionatore integrato per piastre per microtitolazione da 96 pozzetti. Pozzetti compatibili a fondo piatto, a V ed U

**Trascinamento**

Campionamento da provetta <1.0%

Campionamento da piastra per microtitolazione <0.5%

**Sicurezza Biologica**

La sonda di campionamento viene automaticamente pulita quando viene fatta l'operazione di backflush per prevenire il trascinamento.

**Fluidi**

10 l liquido di trasporto CytoFlex Sheath Fluid

4 l Tanica di scarico

250 ml FlowClean Cleaning Agent

500 ml Contrad 70 Cleaning Solution

\*\* Modulo di campionamento da piastra per microtitolazione opzionale integrato, tutti i modelli possono essere aggiornati.

---

## Trattamento del segnale

Elettronica completamente digitale

**Intervallo dinamico**

Dati acquisiti a 24 bit

**Risoluzione in canali di fluorescenza**

16.777.216 canali

**Intervallo dinamico in decadi**

7 decadi logaritmiche, elevato intervallo dinamico, modificabile dall'utilizzatore per identificare dati fuori intervallo. Questo tool permette di ampliare il intervallo di analisi ed identificare e discriminare particelle a bassa intensità dal rumore di fondo

**Velocità del campionamento digitale**

25 MHz

**Parametri**

16 differenti segnali: fino a 13 fluorescenze oltre a FS, SS e time incluso.

Area e picco dei segnali vengono acquisiti simultaneamente in modo lineare e logaritmico su tutti i canali, è inoltre possibile selezionare l'ampiezza su un canale a scelta, per un totale di 32 parametri.

---

## Caratteristiche delle prestazioni

**Risoluzione Scatter**

Blu side scatter: risolve particelle da 0.3  $\mu\text{m}$  dal rumore di fondo.

Violet side scatter: risolve particelle da 0.2  $\mu\text{m}$  dal rumore di fondo.

**Sensibilità fluorescenze\***

< 30 MESF per FITC

< 10 MESF per PE

Velocità di acquisizione  
30.000 eventi per secondo con 15 parametri

Risoluzione di Fluorescenza  
rCV <3%

Conta assoluta volumetrica  
Conta assoluta volumetrica grazie alla possibilità di campionare volume noto attraverso la particolare pompa peristaltica in attesa di brevetto.

\*MESF misurate con beads rainbow calibration particle standard di riferimento a 8 picchi Produttore Spherotech

## CytExpert software – V. 2.1



Il software gestionale del citofluorimetro CytoFLEX LX, CytExpert versione 2.1, è dotato di caratteristiche e funzionalità che soddisfano le linee guida 21 CFR parte 11 della Food and Drug Administration. Queste linee guida stabiliscono i criteri in base ai quali le registrazioni e le firme elettroniche sono considerate attendibili, affidabili ed equivalenti ai documenti cartacei.

La nuova versione del Software CytExpert presenta funzionalità che sono state progettate per facilitare la conformità dell'utente alle linee guida 21 CFR Parte 11, quando viene installato utilizzando l'opzione "Electronic Record Management".

Più specificamente, dispone delle procedure IQ/OQ per convalidare le prestazioni alle specifiche di installazione. Il QC strumentale assicura che CytoFLEX LX funziona correttamente entro i parametri specificati, consentendo di controllare l'adesione alle specifiche dell'intensità del segnale, della precisione e accuratezza.

Il nuovo software pone, inoltre, attenzione particolare alla sicurezza dei dati sperimentali: infatti, è in grado di riconoscere un'eventuale manomissione avvenuta a danno dei record registrati nel database. I record registrati e le cartelle sono conservati in formato crittografato.

Tutti gli utenti devono disporre di una password per poter accedere e utilizzare il software. Le operazioni chiave (login, log out, impostazioni degli esperimenti ecc.) e le funzionalità accessibili ai singoli utenti sono definite dagli amministratori di sistema, i quali assegnano anche differenti livelli di autorità ai differenti ruoli degli utilizzatori. Gli amministratori possono impostare password a scadenza e stabilire i criteri per bloccare o disattivare un account. Dopo tre tentativi di accesso con password errata il sistema blocca l'account.

Ancora, il software non consente l'inserimento di ID utente duplicati, quindi ciascun utente ha un identificativo univoco. Quando un documento viene firmato, la firma contiene ID utente, data, nome ed eventuali commenti. Non è più possibile apportare modifiche ad un documento quando questo è stato firmato.

Il software CytExpert permette la visualizzazione degli eventi in acquisizione e offre opzioni per l'analisi dei dati. Include una licenza di software CytExpert per raccogliere e analizzare i dati di citometria a flusso.

### Formato file

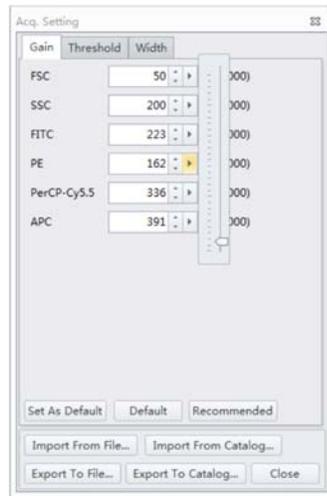
- Compatibile FCS3.0.
- Salvataggio dei dati sia compensati che scompensati.
- Salvataggio dell'esperimento per revisione del dato come visualizzato in acquisizione.

## Acquisizione

**Soglia automatica:** la funzione di "auto threshold" permette di impostare automaticamente la soglia sulla base della popolazione di interesse al fine di individuare facilmente le popolazioni che si vogliono studiare. La soglia altrimenti può essere selezionata su qualsiasi canale manualmente, oppure all'interno di un dotplot la soglia si può impostare su 2 dimensioni contemporaneamente.

**Amplificazione dei segnali:** le impostazioni di amplificazione dei segnali possono essere richiamate dai setting raccomandati ottenuti dal QC oppure dai setting di default decisi dall'operatore. Inoltre possono essere modificati dall'operatore durante l'acquisizione del campione.

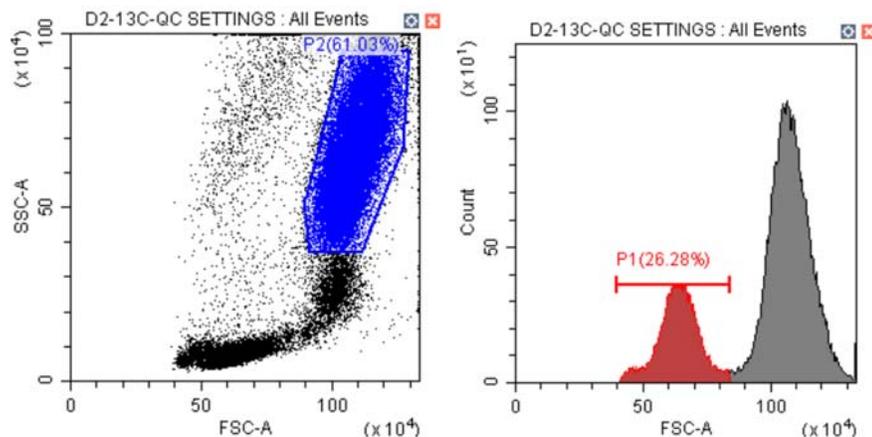
Per ogni parametro è possibile variare il gain di amplificazione da 1 a 3000 utilizzando il pulsante per il controllo del gain  oppure intervenendo manualmente



Grazie alla linearità dell'amplificazione dei segnali la matrice di compensazione si modifica automaticamente in funzione dello spostamento dei gain applicati.

## Auto-gate

E' una finestra automatica che seleziona la popolazione di interesse sulla base di un algoritmo matematico. Gli utilizzatori non hanno bisogno di regolarla se la popolazione si muove un po' fra un campione e l'altro. E' disponibile in forma di poligoni e segmenti.



## Visualizzazione

Visualizzazione del dato su 7 decadi positive.

I grafici possono essere visualizzati in modo diverso. Esiste una scala preimpostata in cui gli assi X e Y vengono visualizzati utilizzando i canali di fluorescenza da 100 a 1.000.000. Esistono funzioni di "auto" scala e "fit with sample" per evidenziare in automatico le popolazioni di interesse. Esistono inoltre le funzioni "pan" e "zoom" per spostare manualmente oppure per ingrandire gli assi e visualizzare finemente

i dati. I grafici mono e bidimensionali possono essere visualizzati cambiando l'asse da logaritmico a logaritmico-lineare per evidenziare meglio le popolazioni di interesse. La condizione di stop dell'acquisizione è disponibile sul totale degli eventi, oppure sul numero degli eventi all'interno di un gate oppure sul tempo di acquisizione.



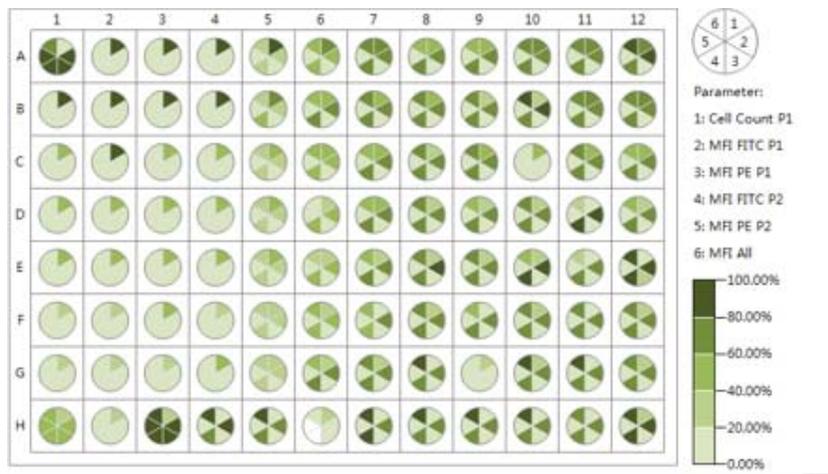
Events to Display: 1000 Events  
 Events to Record: 3,000 Events  
 in P1  
 Time to Record: 10 Sec

Visualizzazione degli eventi per colorazione dei gate, per densità, per densità e per contorni. È disponibile la funzione overlay sia tra istogrammi che tra dotplot

#### Rappresentazione grafica dei dati (heat map)

Questa funzione è dedicata alle analisi con le piastre per microtitolazione.

La mappa aiuta gli utilizzatori a visualizzare le differenze nei risultati in modo intuitivo. In ciascuna mappa possono essere analizzati fino a 6 parametri contemporaneamente e si possono utilizzare fino a 10 bande di colore, ciascuna corrispondente ad un percentile. I risultati sono visualizzati direttamente sulla mappa.



#### Gate e regioni

Le regioni possono essere: lineari orizzontali, lineari verticali, disegnabili a mano libera, poligonali, ellittiche, a quadranti e a quadranti mobili.

La funzione "combo population" consente di creare un nuovo gate combinando i gate esistenti con le funzioni booleane "and", "or", e "not".

#### Compensazione

In tempo reale o su file acquisiti la compensazione è disponibile intra ed inter laser su matrice completa.

La matrice completa di compensazione delle fluorescenze supporta sia la compensazione automatica sia la compensazione fine manuale.

La Compensation Library è un sistema unico che permette all'utilizzatore di avere un archivio di valori di compensazione per canale di fluorescenza. Tramite la library sarà possibile determinare una nuova matrice di compensazione utilizzando un pannello multicolor virtuale e/o utilizzando nuovi guadagni.

Generazione di matrice di compensazione offline.

Grazie alla linearità dei gain la matrice di compensazione si modifica automaticamente in funzione dello spostamento dei gain applicati.

#### Statistica

Parametri: popolazione analizzata "parentale", nr eventi, % totale, % sulla popolazione "parentale", conta assoluta volumetrica, conta assoluta con biglie, media, mediana, rCV, rSD, CV, SD.

Conta assoluta delle cellule, anche senza l'obbligo di utilizzare prodotti basati su sfere di riferimento grazie al campionamento di volume noto/calibrato

#### Applicazioni

Funzione di generazione di matrici di compensazione a partire da una library di singole marcature (cellule o biglie). Le matrici possono essere importate nell'esperimento coi loro setting di acquisizione oppure possono essere ricalcolate in funzione dei setting utilizzati nello specifico esperimento.

#### Analisi

CytExpert può essere utilizzato anche per la parte di analisi dei dati.

L'analisi multifile è disponibile per valutare più acquisizioni contemporaneamente nello stesso template di analisi.

In un click è possibile passare dalla visualizzazione di un file al successivo nello stesso template di analisi. Overlay su istogrammi e su dotplot.

#### Compatibilità

Totalmente compatibile con gli applicativi Microsoft Office.

Esportazione dei risultati in Excel.

#### Controllo di qualità

Applicazioni lotto specifico per il QC con aggiornamento automatico dei setting e dei grafici di Levey Jennings.

Tracciabilità dei dati per il controllo di qualità con esportazione automatica in grafici di Levey Jennings.

#### Standardizzazione

Questa opzione consente agli utenti di mettere a punto i propri valori target utilizzando le fluorosfere del controllo di qualità per eseguire la taratura dei settaggi.

La standardizzazione consente di stabilire le impostazioni specifiche per una data applicazione e assegnarle anche a futuri esperimenti.

#### Gestione dati e utilizzatori

Dati esportabili in cartelle personalizzate operatore dipendenti

#### Refertazione

Stampa delle schermate di acquisizione e di analisi in modo personalizzato in formato PDF o JPEG.

#### Controllo dei laser

Opzione che consente di accendere e spegnere i laser per ridurre l'impatto di quelli non in uso su altri canali e per incrementare la durata della loro vita.

#### Controllo degli utenti

Per la sicurezza strumentale e dei dati.

Può monitorizzare e registrare l'utilizzo dello strumento/software.

Tre modalità per l'installazione: Default, Controllo utente (User Control) e Gestione registrazione elettronica (Electronic record management)

#### Opzione CytExpert API per la connessione con l'automazione

Integra lo strumento CytoFLEX LX con i sistemi di automazione.

Consente a un software esterno di controllare gli strumenti della serie CytoFLEX ed attuare operazioni quali eseguire metodiche ed effettuare il controllo del caricatore delle piastre per microtitolazione.

#### Software opzionali.

Software di analisi Kaluza

## Workstation

(specifiche di minima)

<b>Operating system disponibili</b>	Windows® 7 Professional 64-bit Windows® 8 Professional 64-bit Windows® 10 Professional 64-bit
<b>Processor</b>	6th Generation Intel Core i7 (8MB cache 4.0 ghz)
<b>Memory</b>	8 GB RAM
<b>Storage</b>	256 GB
<b>Port</b>	1 porta GB Ethernet
<b>USB</b>	5 porte USB 2.0

Monitor 23" LCD Flat screen  
Stampante laser a colori.

## Specifiche di installazione

Prese	Potenza elettrica
Prese elettriche:	1 dedicata 100-240 VAC, 50-60 Hz, 250 VA
	3 non dedicate (PC, monitor, stampante)
Temperatura di esercizio:	15 – 30° C senza condensa
Dimensioni	
Citometro	Peso
	79.0 Kg
	83.6 Kg con piatto campionatore per piastre
	Larghezza
	73.3 cm
	Altezza
	45.1 cm
	Profondità
	60.5 cm
Contenitore delle taniche dei fluidi	
	Larghezza
	25 cm
	Altezza
	25 cm
	Profondità
	25 cm