



Cytek[®] Northern Lights[™] (NL)-CLC Manual del usuario



Derechos de propiedad intelectual

© 2020-2022, Cytek Biosciences Inc. Todos los derechos reservados. Se prohíbe la reproducción, transmisión, transcripción, almacenamiento en sistemas de recuperación o traducción a cualquier idioma o lenguaje informático de cualquier parte de este documento, en cualquier forma y por cualquier medio: electrónico, mecánico, magnético, óptico, químico, manual o de otro tipo, sin el consentimiento previo por escrito de Cytek Biosciences.

La información contenida en este manual está sujeta a cambios sin previo aviso. Cytek Biosciences se reserva el derecho de modificar sus productos o servicios en cualquier momento para incorporar los últimos avances tecnológicos. Aunque este manual se ha preparado con todas las precauciones para garantizar su exactitud, Cytek Biosciences declina toda responsabilidad por cualquier error y omisión, o por cualesquiera daños resultantes de la aplicación o utilización de esta información. Cytek Biosciences agradece a sus clientes la aportación de correcciones y sugerencias de mejora.

Marcas comerciales

Cytek, Cytek, el logotipo de Cytek, SpectroFlo, Northern Lights, "Complexity" y "Similarity" son marcas comerciales o marcas comerciales registradas de Cytek Biosciences, Inc. Todas las demás marcas de servicio, marcas comerciales y nombres comerciales que aparecen en esta guía del usuario son propiedad de sus respectivos dueños.

Información de la FCC

ADVERTENCIA: Cualquier cambio o modificación de esta unidad no aprobado expresamente por la persona responsable del cumplimiento de la normativa podría anular la autorización del usuario para utilizar el equipo.

AVISO: Este equipo se ha sometido a pruebas que garantizan el cumplimiento de los límites para dispositivos digitales de clase A, de conformidad con el artículo 15 del reglamento de la FCC. Este reglamento se ha diseñado para proporcionar una protección razonable frente a interferencias perjudiciales cuando el equipo se utiliza en un entorno comercial. Este equipo genera, utiliza y puede emitir energía de radiofrecuencia y, si no se instala y utiliza siguiendo el manual de instrucciones, puede causar interferencias adversas a las comunicaciones por radio. Es probable que el uso de este equipo en una zona residencial cause interferencias perjudiciales, en cuyo caso el usuario deberá corregir dicha interferencia por sus propios medios.

Se deben utilizar cables blindados con este equipo para garantizar el cumplimiento de los límites de la clase A de la FCC.

Este aparato digital de clase A cumple todos los requisitos de la normativa canadiense relativa a equipos causantes de interferencias.

Cet appareil numérique de la classe A respecte toutes les exigences du Règlement sur le matériel brouilleur du Canada.

Información del CDRH

Producto láser de clase I.

Información normativa

Producto láser de clase 1.

IVD  Para uso diagnóstico *in vitro*.

Representante autorizado en la Comunidad Europea

EC **REP**

Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP La Haya
Países Bajos

Historial

Revisión	Fecha	Cambio
N9-20039ES Rev. A	7/2020	Publicación inicial
N9-20039ES Rev. B	8/2021	Se añadió información sobre el nuevo cargador
N9-20039ES Rev. C	1/2022	Direcciones corregidas y símbolo de fabricación añadido. Se actualizó la tabla de números de piezas de repuesto para alinearla con las piezas y ensamblajes lanzados actualmente.

Índice

Capítulo 1: Introducción	7
Uso previsto	7
Acerca de este manual	7
Seguridad	7
Símbolos de seguridad	7
Seguridad general	8
Seguridad eléctrica	9
Seguridad biológica	9
Seguridad del láser	9
Asistencia técnica	10
Capítulo 2: Perspectiva general	11
Perspectiva general del citómetro	12
Sistema fluídico	13
Óptica	16
Generalidades del software	17
Menú Get Started (Empezar)	17
Acerca de los experimentos	18
Acerca de las hojas de trabajo	21
Acerca de los informes	23
Capítulo 3: Encendido y apagado	25
Llenado del envoltente y vaciado de los residuos	25
Llenado del envoltente	25
Vaciado de los residuos	26
Puesta en marcha del sistema	27
Apagado del sistema	28
Capítulo 4: QC & Setup (CC y configuración)	29
Daily QC (CC diario)	29
Realización de Daily QC	29
Informe de CC	32
Controles de referencia	34
Procesar controles de referencia	34
Actualizar los controles de referencia	41
Seguimiento de Levey-Jennings	41
Configuración de la ganancia	42
Intervalos de alarma	43

Capítulo 5: Adquisición	45
Datos sin procesar frente a datos deconvolucionados	45
Deconvolución y compensación	45
Configuración de un experimento	46
Perspectiva general del experimento de adquisición	46
Presentación de experimentos	46
Creación de un experimento predeterminado	55
Creación de un experimento nuevo	56
Creación de un ensayo	63
Crear nuevos ensayos	63
Capítulo 6: Biblioteca, preferencias y usuarios	67
Biblioteca	67
Microesferas de CC	67
Marcadores fluorescentes	67
Etiquetas	68
Keywords (Palabras clave)	69
Spillovers (Contaminaciones espectrales)	71
User Settings (Configuración de usuario)	72
Loader Settings (Configuración del cargador)	72
Worksheet Templates (Plantillas de hoja de trabajo)	73
Experiment Templates (Plantillas de experimentos)	73
Copia de seguridad y restauración	74
Preferencias (Preferencias)	75
Preferencias de adquisición	75
Preferencias de la hoja de trabajo	77
Preferencias de gráficos	79
Preferencias de las ventanas de adquisición	80
Preferencias de estadística	81
Preferencias de fuentes	82
Preferencias de notificaciones	83
Preferencias de almacenamiento	84
Preferencias de configuración del CC	85
Preferencias del citómetro	86
Usuarios	87
Administración de usuarios	87
Tiempo de uso	89
Función de usuario	89
Política de usuario	93
Capítulo 7: Deconvolución y compensación	95
Deconvolución espectral	95
Comprender la citometría de flujo espectral	95
Flujos de trabajo de deconvolución	96

Perspectiva general de la deconvolución	96
Deconvolución en tiempo real	98
Deconvolución posterior a la adquisición	104
Virtual Filters (Filtros virtuales)	110
Capítulo 8: Lista de trabajo	115
Crear o abrir una lista de trabajo	115
Agregar tareas	116
Controles de referencia	117
Deconvolucionar	118
Controles de referencia específicos del lote	119
Organizar las ubicaciones de las muestras en un transportador	120
Recogida de datos	120
Exportar informe	122
Capítulo 9: Cargador	127
Perspectiva general del cargador	127
Componentes del cargador automático de muestras	128
Controles y configuración de adquisición del cargador	130
Flujo de trabajo diario del cargador	132
Puesta en marcha	132
Configuración de un experimento	132
Adquisición	133
Apagado del cargador	137
Capítulo 10: Mantenimiento	139
Programa de mantenimiento	139
Mantenimiento programado	139
Mantenimiento no programado	139
SIT Flush (Purga del SIT)	140
Purge Filter (Purgar el filtro)	141
Clean Flow Cell (Limpiar la cámara de flujo)	141
Long Clean (Limpieza larga)	142
Fluidics Shutdown (Apagado del sistema fluídico)	143
Limpieza de las superficies externas	144
Inspección de los conductos fluídicos	144
Cambio del filtro del envoltorio	144
Cambio del SIT	145
Mantenimiento del cargador	149
Calibración de la plataforma y la placa del cargador	149
Limpieza de las superficies externas de la cargador	150
Conexiones del cargador	151
Desinstalación de la fuente de alimentación del cargador	151
Instrucciones de elevación y transporte del cargador	151

Capítulo 11: Resolución de problemas	153
Resolución de problemas generales	154
Resolución de problemas del cargador	157
Capítulo 12: Glosario	159
Capítulo 13: Especificaciones	163
Citómetro	163
Óptica	163
Sistema fluídico	164
Rendimiento	164
Estación de trabajo	166
Especificaciones técnicas del cargador	166
Requisitos de instalación	167
Capítulo 14: Suministros y repuestos	169
Índice alfabético	171

Introducción

Uso previsto

El sistema de citómetro de flujo Cytex Northern Lights (NL)-CLC está diseñado para usarse como dispositivo de diagnóstico únicamente en países en los que se haya obtenido la aprobación reglamentaria de las autoridades reguladoras locales. Está diseñado para su uso en aplicaciones de citometría de flujo.

Acerca de este manual

Este manual ofrece información sobre el citómetro de flujo NL-CLC, la secuencia de trabajo diaria, las funciones del software SpectroFlo[®], el mantenimiento del instrumento y las especificaciones del citómetro. También incluye consejos de resolución de problemas e información de mantenimiento.

Seguridad

Símbolos de seguridad

En la tabla siguiente se enumeran los símbolos utilizados en este manual.

Símbolo	Significado
	Precaución: peligro o práctica insegura que podría ocasionar daños materiales, pérdida de datos, lesiones leves o graves o la muerte.
	Riesgo de descarga eléctrica
	Riesgo biológico
	Radiación láser

Seguridad general

- Lea íntegramente todas las instrucciones de seguridad antes de utilizar el equipo. Guarde las instrucciones en lugar seguro.
- Siga todas las instrucciones al utilizar el instrumento.
- Si el equipo se utiliza de un modo no especificado por el fabricante, la protección que ofrece el equipo puede verse afectada.
- No ponga ningún objeto encima del instrumento.
- No bloquee ninguna abertura de ventilación.
- No coloque la unidad cerca de fuentes de calor como radiadores, rejillas de calefacción, estufas u otros dispositivos (incluidos los amplificadores) que produzcan calor.
- Utilice únicamente los aditamentos/accesorios especificados por el fabricante.
- Utilícelo solo con el carro, soporte, trípode, base o mesa especificados por el fabricante o vendidos con el equipo. Cuando utilice un carro, tenga cuidado al mover el conjunto de carro y equipo para evitar lesiones por vuelco.
- Desenchufe el instrumento cuando no se vaya a utilizar durante períodos prolongados.
- Solicite la asistencia del personal de servicio técnico cualificado para cualquier reparación o mantenimiento. Es necesario realizar mantenimiento cuando la unidad haya sufrido alguna avería, como: si se estropea el cable de alimentación o el enchufe, si la unidad se cae, si se derrama líquido sobre la unidad o caen objetos dentro de ella, si la unidad se expone a la lluvia o la humedad, o si la unidad no funciona correctamente.
- No exponga el instrumento a temperaturas fuera del intervalo de 15 a 28 °C.
- Las concentraciones de hipoclorito sódico (lejía) superiores al 10 %, así como otros agentes limpiadores, pueden dañar el instrumento. Use una solución de lejía doméstica al 10 % para limpiar, donde se indique. La solución de lejía al 10 % se prepara añadiendo 1 parte de lejía doméstica a 9 partes de agua desionizada.
 - **NOTA:** La lejía doméstica contiene un 5-7 % de hipoclorito sódico.
- Antes de encender el citómetro, inspeccione ocularmente todos los contenedores. Use el equipo EPI convencional de laboratorio, como guantes protectores, gafas y bata de laboratorio.
- Purgue el filtro del envoltente si hay burbujas de aire visibles en el mismo, o si el reservorio interno o el contenedor del envoltente están vacíos.
- Llene el contenedor del envoltente en la medida necesaria. Nunca utilice agua del grifo como solución envoltente. Nunca utilice soluciones envoltentes que contengan tensioactivos.
- No haga pasar lejía ni detergente a través del filtro del líquido envoltente. Es difícil eliminar las soluciones de limpieza del filtro del líquido envoltente.
- Revise periódicamente el citómetro para detectar fugas de líquido o conductos aplastados. Si se detectan indicios de una fuga, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Cytek de inmediato. No intente reparar el instrumento.
- Al realizar el control de calidad diario, seleccione siempre el número del lote actual de microesferas.

Seguridad eléctrica

- No ponga líquidos encima del instrumento. Cualquier vertido en las aberturas de ventilación podría provocar una descarga eléctrica o una avería del instrumento.
- No utilice este equipo cerca del agua.



ADVERTENCIA: Para reducir el riesgo de incendio o descarga eléctrica, no exponga este aparato a la lluvia ni a la humedad.

- Utilice únicamente el cable de alimentación especificado por el fabricante. El cable de alimentación de la unidad está dotado de un enchufe de tres clavijas de 10 A. No quite la clavija de tierra del enchufe bajo ninguna circunstancia. Asegúrese de que el enchufe está bien enchufado a la toma de corriente para evitar incendios. Si es necesario cambiar el cable de alimentación, la sección del conductor debe ser al menos de 1,31 mm² (calibre 16 AWG). Esto es para prevenir un incendio o descarga eléctrica.
- Utilice únicamente el fusible especificado por el fabricante. El fusible es de 250 V CA, 5 A, tamaño 5 x 20 mm.
- Evite pisar o pinzar el cable de alimentación, especialmente en el enchufe y en el punto de salida del equipo. Asegúrese de que la toma de corriente esté situada cerca del equipo para que sea fácilmente accesible.

Seguridad biológica

- Vacíe el contenedor de residuos cuando llene el contenedor del envoltorio o en la medida necesaria para evitar fugas. Tenga cuidado de no dañar el sensor de nivel de líquido del depósito de residuos.
- Las muestras biológicas pueden ser peligrosas o potencialmente mortales. Aténgase a los procedimientos de manipulación adecuados para las muestras y los reactivos. Use el equipo EPI convencional de laboratorio, como guantes protectores, gafas y bata de laboratorio.
- Cualquier superficie del instrumento en contacto con muestras biológicas puede transmitir enfermedades potencialmente mortales. Adopte las precauciones universales al limpiar el instrumento o al cambiar piezas.

Seguridad del láser

El citómetro NL-CLC es un producto de láser de clase 1 y cumple las normas 21 CFR 1040.10 y 1040.11 del Centro de Dispositivos y Salud Radiológica de la FDA de EE. UU., con excepción de las desviaciones de conformidad con el aviso de láser n.º 50 de 24 de junio de 2007. El usuario no puede acceder a ninguna radiación láser durante el funcionamiento normal del instrumento.

Los láseres se encuentran alojados por completo dentro del instrumento y no necesitan ninguna seguridad especial para el área de trabajo, excepto cuando se llevan a cabo procedimientos de mantenimiento. Solamente el personal de servicio técnico de Cytek lleva a cabo dichos procedimientos.



PRECAUCIÓN: La modificación o retirada de las cubiertas de los componentes ópticos o del blindaje del láser podrían ocasionar la exposición a radiación láser peligrosa. Para evitar lesiones en la piel y los ojos, no retire las cubiertas de los componentes ópticos ni el blindaje del láser ni intente el mantenimiento del instrumento en zonas donde estén fijadas etiquetas de advertencia de láser.

El uso de controles o ajustes o la realización de procedimientos diferentes de los especificados en este manual del usuario puede ocasionar una exposición a radiación peligrosa.

Para evitar la exposición a radiación láser:

- No desconecte ningún mecanismo de seguridad del instrumento.
- No utilice controles, realice ajustes ni lleve a cabo procedimientos diferentes de los especificados en este manual del usuario.
- No intente realizar procedimientos de mantenimiento de los láseres.

Asistencia técnica

Para obtener asistencia para el instrumento en EE. UU., llame al +1-877-922-9835 (opción 1).

Fuera de EE. UU., llame al +1-510-657-0102. En Europa, llame al +31207653440.

Envíe un correo electrónico a Cytek a technicalsupport@cytekbio.com.

Visite nuestro sitio web www.cytekbio.com, para obtener información de contacto actualizada.

Cuando contacte con Cytek, tenga disponible la siguiente información:

- Número de serie.
- Cualquier mensaje de error.
- Datos o capturas de pantalla del funcionamiento reciente del sistema.
- Versión del software SpectroFlo y versión del firmware del sistema, que se encuentran en el módulo de ayuda.

Perspectiva general

Sistema Northern Lights

El sistema Northern Lights consta del citómetro de flujo NL-CLC y una estación de trabajo informática que ejecuta el software SpectroFlo® CLC para adquisición y análisis. También se incluyen microesferas de control de calidad SpectroFlo®.

El citómetro es un instrumento compacto de sobremesa refrigerado por aire. Está equipado con hasta tres láseres, 38 canales de detección de fluorescencia y tres canales de dispersión (láser azul FSC, láser azul SSC y láser violeta SSC). Los líquidos envolvente y residual se encuentran en depósitos de 4 l, incluidos con el sistema, o en contenedores de 20 l. Los indicadores de software le avisan cuando el envolvente se está agotando o los residuos se están llenando. El sistema fluido incluye un reservorio interno para almacenar líquido envolvente, lo que permite llenar el depósito del envolvente durante el funcionamiento.

Hay disponibles cargadores de muestras opcionales de alta capacidad para automatizar el suministro y adquisición de muestras. Los cargadores son compatibles con placas de 96 pocillos. El nuevo cargador automático de muestras (ASL) ofrece compatibilidad adicional para placas de 96 pocillos profundos y gradillas de 40 tubos. Véase “Cargador” en la página 127 para obtener más información.

La estación de trabajo es un ordenador específico compatible con USB con pantalla, teclado y ratón. Ejecuta Microsoft® Windows® 10 Pro con un sistema operativo de 64 bits, que es necesario para el software SpectroFlo.



Perspectiva general del citómetro

Los láseres de estado sólido transmiten luz a través de una cámara de flujo donde las partículas en suspensión se enfocan en fila india para su interrogación por el láser. Los conjuntos de detectores semiconductores APD exclusivos de alta sensibilidad están dotados de hasta 16 canales por láser para capturar los espectros de emisión de colorantes que emiten en el intervalo de longitudes de onda de 365 a 829 nm. Las señales de fluorescencia y dispersión resultantes se recogen y se convierten en señales electrónicas. Los circuitos electrónicos integrados convierten estas señales en datos digitales que se pueden adquirir y grabar en la estación de trabajo.

El botón de encendido del citómetro se encuentra en la parte superior derecha del panel lateral izquierdo. Cuando el citómetro está encendido, el botón de encendido se ilumina.

El panel delantero se abre con bisagras hacia la izquierda para mostrar el sistema fluídico. La puerta del SIT a la derecha del panel delantero se abre para mostrar el conjunto del tubo de inyección de muestras (SIT). La cubierta superior se abre para mostrar la bancada óptica.

Parte delantera del citómetro



No ponga ningún objeto encima del instrumento.



No ponga líquidos encima del instrumento. El vertido de líquido en el citómetro podría provocar una descarga eléctrica o averías del instrumento.

Parte trasera del citómetro

Deje 20,0 cm (8 in) entre la parte trasera del citómetro y la pared para permitir una ventilación adecuada sin conducto de aire. Deje 10,0 cm (4 in) con un conducto de aire.



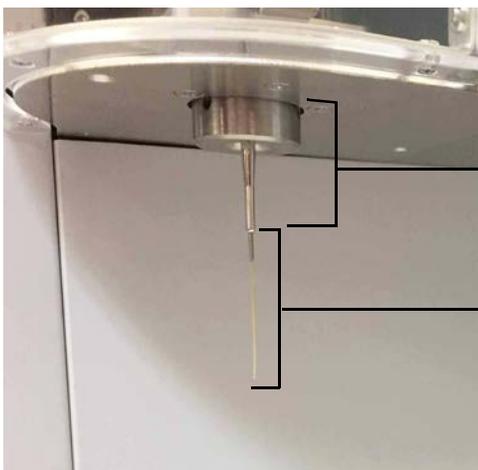
- Conexión USB a la estación de trabajo
- Interruptor de alimentación principal
- Cable de alimentación

Sistema fluídico

Puerto de inyección de muestras y tubo de inyección de muestras

La muestra, contenida en un tubo convencional de 12 x 75 mm, entra en el citómetro a través del tubo de inyección de muestras (SIT) que se encuentra dentro del puerto de inyección de muestras (SIP). El tubo de muestra de 12 x 75 mm encaja en su lugar bajo el SIP sin necesidad de un soporte de retención adicional. El SIT se extiende desde el SIP durante la adquisición y se retrae cuando el citómetro no está adquiriendo.

Al utilizar el cargador opcional, se puede utilizar una placa de 96 pocillos, una placa de 96 pocillos profundos o una gradilla de 40 tubos para el suministro de muestras en lugar de tubos de muestra individuales de 12 x 75 mm. Véase "Cargador" en la página 127 para obtener más información.



- SIP
- SIT

Contenedores de líquidos

El citómetro extrae la solución envolvente directamente de un contenedor de envolvente de 20 l o del depósito del envolvente de 4 l facilitado por Cytek. Expulsa los residuos en un contenedor vacío de 20 l o en el depósito de residuos de 4 l facilitado por Cytek.

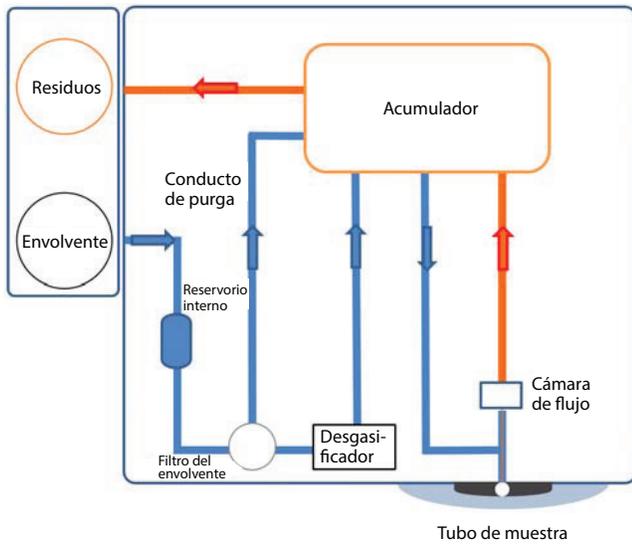
Los depósitos de líquidos incluidos se alojan en un receptáculo de sujeción situado en el lado izquierdo del citómetro. El depósito de 4 l con el conducto transparente es para la solución envolvente. El depósito de 4 l con el conducto anaranjado es para los residuos.



Flujo de líquidos

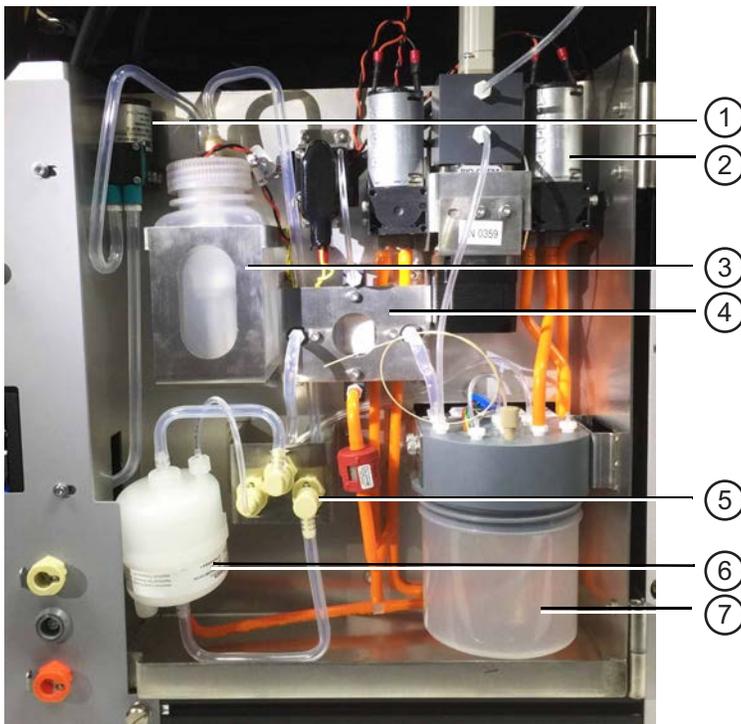
Los líquidos se impulsan mediante vacío. Un vaso acumulador es la fuente de vacío del sistema. La solución envolvente se extrae y se almacena en el reservorio interno del envolvente antes de pasar a través de un filtro del envolvente, donde se eliminan desechos y contaminantes. Antes de llegar a la cámara de flujo, la corriente de envolvente pasa a través de un desgasificador, que elimina las burbujas de aire. Después de pasar el punto de interrogación del láser, la combinación de solución envolvente y muestra circula al contenedor de residuos.

Los niveles de líquido envolvente y residuos se controlan mediante sensores. El sensor del nivel de residuos se encuentra debajo de la tapa del depósito de residuos. El sensor del nivel de envolvente se encuentra debajo de la tapa del reservorio interno del envolvente. Ambos sensores están controlados por el software.



Componentes fluidicos

En la figura siguiente se muestran los componentes fluidicos.



En la tabla siguiente se describen los componentes fluidicos.

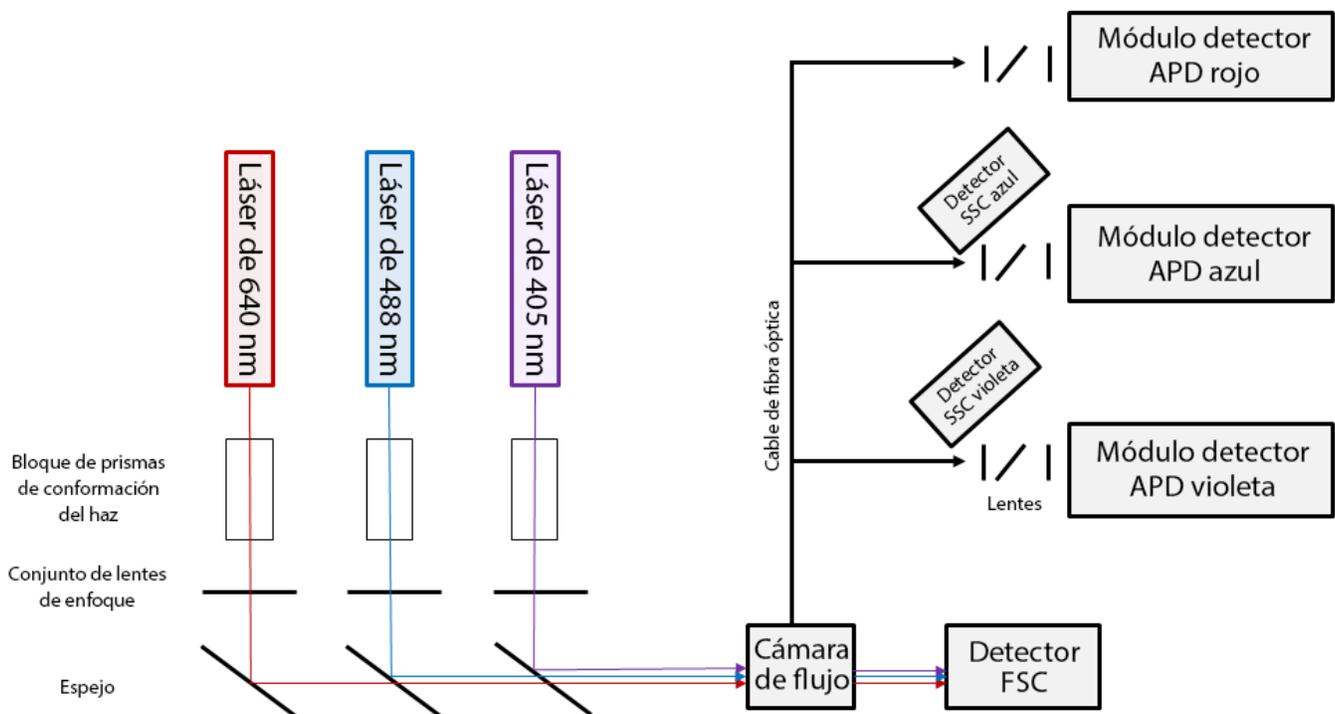
N.º	Componente	Descripción
1	Bomba del reservorio interno	Extrae el envoltente del depósito del envoltente para llenar el reservorio interno.
2	Bomba de vacío	Mantiene el vacío en el acumulador.

N.º	Componente	Descripción
3	Reservorio interno	Vaso de almacenamiento del líquido envolvente antes de que circule al filtro del envolvente.
4	Desgasificador	Elimina las burbujas de aire del líquido envolvente.
5	Conexiones rápidas del filtro del envolvente (x3)	Conexiones rápidas de entrada de líquido, salida de líquido y venteo del filtro del envolvente.
6	Filtro del envolvente	Filtra los restos y partículas del líquido envolvente.
7	Acumulador	Fuente de vacío para el sistema fluídico.

Óptica

A diferencia de los citómetros de flujo convencionales que dirigen anchos de banda concretos de luz fluorescente a detectores o tubos fotomultiplicadores (TFM) discretos, Northern Lights utiliza un conjunto de detectores multicanal de estado sólido y haz estrecho para cada láser. Cada conjunto se puede configurar con hasta 16 detectores que se utilizan para capturar una parte del espectro de emisión de cada partícula que pasa a través del haz del láser. Se utilizan los canales detectores de hasta tres láseres para capturar los espectros de emisión completos de cada partícula marcada con fluorescencia. Los algoritmos de deconvolución (separación) espectral calculan la aportación de los espectros de los fluorocromos de referencia individuales a la señal total recogida.

Para la excitación, un diseño exclusivo de láser de haz plano permite una distribución constante de la energía en toda la anchura de la corriente central de muestra.



Las configuraciones ópticas son las siguientes:

Láser	Excitación	Canales de detección	Nombres de los detectores
Violeta	405 nm	16	V1-V16
Azul	488 nm	14	B1-B14
Rojo	640 nm	8	R1-R8

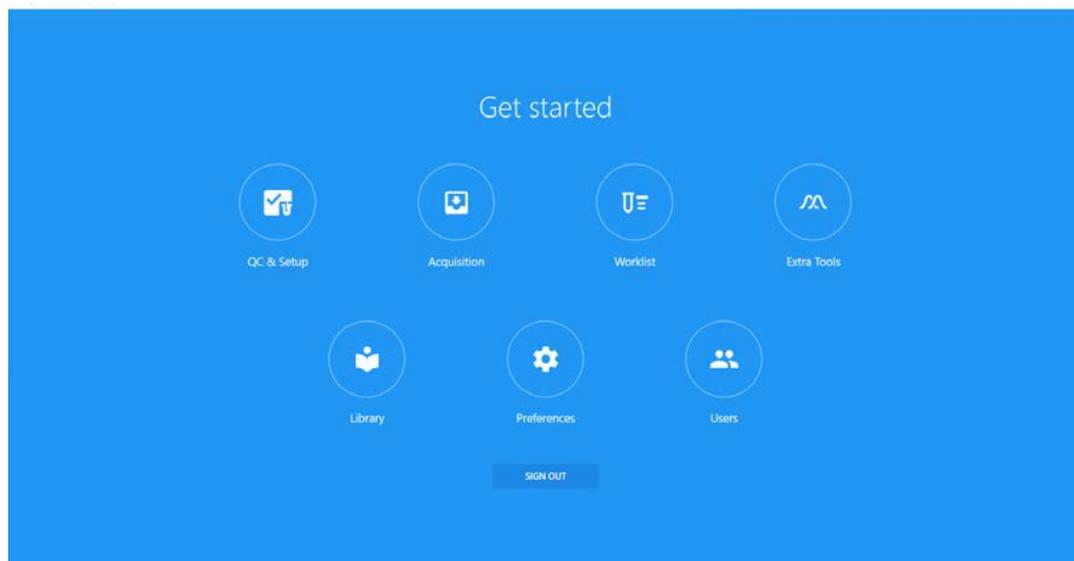
Las longitudes de onda detectadas por cada detector (canal) aumentan a lo largo del conjunto. Véase la tabla de la [página 112](#) para obtener más datos.

Generalidades del software

El software SpectroFlo® CLC permite adquirir y analizar muestras y ajustar la configuración del instrumento. Una vez que inicie sesión en el software, aparecerá el menú *Get Started* (Empezar).

Menú *Get Started* (Empezar)

El menú *Get Started* ofrece siete módulos que le permiten realizar diversas funciones. También se puede acceder a estos siete módulos en la esquina superior derecha de la pantalla de cada módulo.



En la tabla siguiente se describen las opciones del menú *Get Started*.

Módulo	Descripción
<i>QC & Setup</i> (CC y configuración)	El CC diario garantiza que el instrumento se encuentre en condiciones óptimas para su uso. Ejecute diariamente <i>SpectroFlo QC Beads</i> (Microesferas de CC SpectroFlo) para evaluar el rendimiento del sistema y ajustar la configuración para tener en cuenta la variación diaria. Los informes de Levey-Jennings realizan un seguimiento de las tendencias del rendimiento del sistema. La configuración le permite crear controles de referencia. Véase “QC & Setup (CC y configuración)” en la página 29 para obtener información.
<i>Acquisition</i> (Adquisición)	El módulo <i>Acquisition</i> le permite crear experimentos para adquirir y analizar datos. Los experimentos se pueden crear a través de un asistente guiado o a partir de plantillas previamente guardadas. Véase “Adquisición” en la página 45 para obtener información.
Módulo <i>Worklist</i> (Lista de trabajo)	La lista de trabajo se utiliza para la recogida de datos de muestras por lotes y la generación de informes de ensayos. Véase “Lista de trabajo” en la página 115 para obtener información.
<i>Extra Tools</i> (Instrumentos adicionales)	Aquí, los archivos FCS se pueden deconvolucionar o compensar empleando filtros virtuales. Véase “Deconvolución y compensación” en la página 95 para obtener información.
<i>Library</i> (Biblioteca)	La biblioteca le permite almacenar plantillas de experimentos, plantillas de hojas de trabajo, configuraciones de usuario, marcadores fluorescentes, información de microesferas de CC SpectroFlo, información de etiquetas y palabras clave. Véase “Biblioteca” en la página 67 para obtener información.
<i>Preferences</i> (Preferencias)	Las preferencias de software se pueden cambiar para personalizar el software. La predeterminación de tamaños de gráficos, fuentes, colores de las ventanas de adquisición, diseños de impresión, la opción de tabla del cuadro de estadísticas y muchos más ajustes se pueden cambiar en <i>Preferences</i> . Véase “Preferences (Preferencias)” en la página 75 para obtener información.
<i>Users</i> (Usuarios)	El módulo <i>Users</i> contiene opciones de administración de usuarios y controles administrativos. Véase “Usuarios” en la página 87 para obtener información.

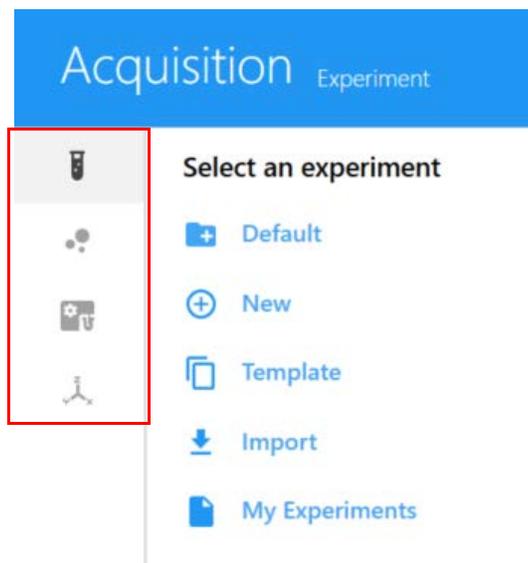
Acerca de los experimentos

El módulo *Acquisition* (Adquisición) ofrece las herramientas necesarias para adquirir datos, como los controles de adquisición utilizados para iniciar, detener y grabar datos, y los controles del instrumento utilizados para establecer el umbral y ajustar la ganancia de los detectores. Véase [“Presentación de experimentos”](#) en la [página 46](#) para obtener más información sobre estos controles. Los experimentos contienen los marcadores fluorescentes y las etiquetas utilizados en el experimento, los criterios de parada y los grupos de tubos analizados, que pueden incluir el grupo de control de referencia. Puede crear grupos para sus muestras, si lo desea, para organizar cómodamente las muestras por tipos o por perfiles de tinción, por ejemplo.

Abrir un experimento

Al hacer clic en *Acquisition* en el menú *Get Started* (Empezar), se muestra el menú *Acquisition Experiment* (Experimento de adquisición), a continuación, lo que le permite abrir un experimento predeterminado o una plantilla, crear un experimento nuevo o importar un experimento. Un asistente le guiará a través de los pasos para crear un experimento nuevo.

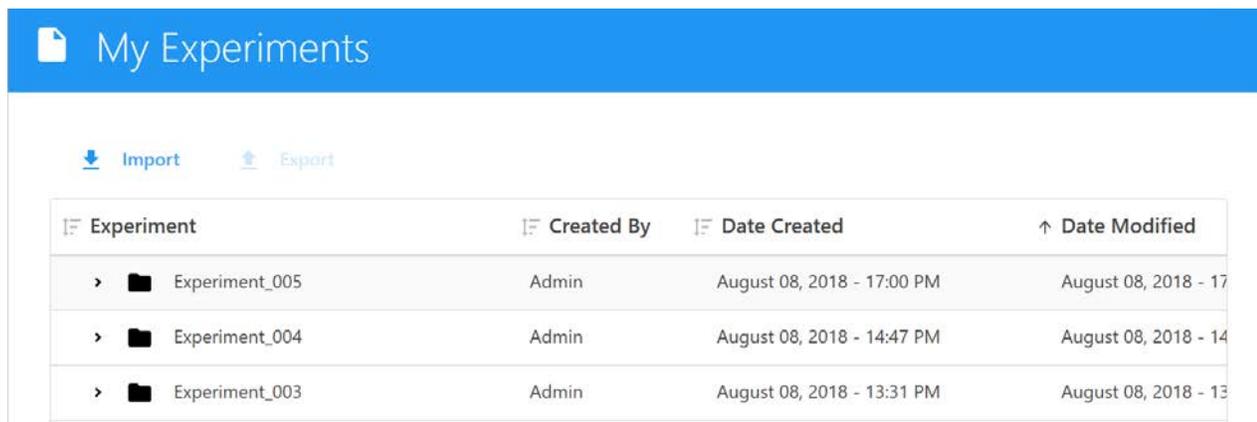
■ **NOTA:** De forma predeterminada, el menú *Acquisition* del recuadro izquierdo está contraído, y muestra solo los iconos para *Experiment*, *Worksheet*, *Cytometer* (Experimento, Hoja de trabajo, Citómetro). Para expandir el menú y mostrar las etiquetas, haga clic en las flechas (>>) de la parte inferior del recuadro.



Se pueden crear experimentos con varios métodos diferentes. La tabla siguiente describe las opciones del menú *Acquisition Experiment*:

Método	Descripción
<i>Default</i> (Predeterminado)	Abre un experimento nuevo con un grupo que contiene un tubo y un conjunto de etiquetas y marcadores fluorescentes en una plantilla predeterminada de hoja de trabajo de experimento. El usuario puede configurar el experimento predeterminado. Es la forma más rápida de iniciar la adquisición de muestras.
<i>New</i> (Nuevo)	Abre el <i>New Experiment Wizard</i> (Asistente para nuevos experimentos) para guiarle a través de la creación de un experimento.
<i>Template</i> (Plantilla)	Le permite seleccionar de una lista de plantillas de experimentos y ensayos guardadas (véase la página 20).
<i>Import</i> (Importar)	Importa un archivo ZIP de experimento que se exportó.
<i>My Experiments</i> (Mis experimentos)	Le permite seleccionar de una lista de experimentos guardados. NOTA: Los experimentos originales se pueden duplicar sin datos, lo que equivale a abrir una plantilla de experimento. Haga clic con el botón derecho del ratón en un experimento en <i>My Experiments</i> y seleccione <i>Duplicate</i> (Duplicar) (con o sin datos).

Se puede acceder a los experimentos completados a través de la opción *My Experiments* en el menú *Acquisition Experiment*. Utilice los encabezados de columna para ordenar la lista de experimentos. Por cada tubo grabado, se guardan dos archivos FCS, uno sin procesar y otro deconvolucionado. Utilice *My Experiments* para abrir experimentos que ya haya ejecutado, ya que puede que desee revisar los datos o adquirir más muestras. También puede exportar experimentos desde *My Experiments* (a continuación). Se exporta un archivo ZIP, que contiene todos los archivos de datos sin procesar, en su caso (y archivos deconvolucionados para experimentos deconvolucionados), así como las plantillas de hoja de trabajo y la plantilla del experimento.



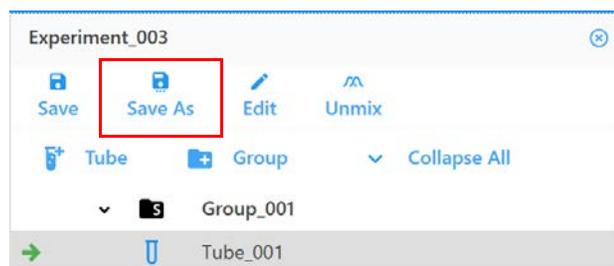
Archivos FCS

Los archivos FCS generados a partir de un experimento se almacenan de forma predeterminada en la carpeta *Export* (Exportar) o en la carpeta que usted establezca como predeterminada. Véase [“Preferencias de almacenamiento” en la página 84](#) para obtener información. Los experimentos pueden contener los siguientes tipos de archivos de datos FCS para cada tubo procesado:

- Solo archivos de datos sin procesar (para muestras adquiridas en un experimento).
- Archivos de datos sin procesar + archivos de datos deconvolucionados (para muestras adquiridas y deconvolucionadas en tiempo real durante la adquisición).
- Solo archivos de datos deconvolucionados (para muestras que se deconvolvieron después de la adquisición).

Plantillas de experimentos

Utilice la opción *Save As* (Guardar como) situada encima de la lista (jerarquía) de tubos/grupos del experimento para guardar el experimento actual como una plantilla, que se puede utilizar después para realizar experimentos similares. Las plantillas de experimentos incluyen marcadores fluorescentes utilizados en el experimento, controles de referencia, grupos/tubos, etiquetas, hojas de trabajo y criterios de parada. Las plantillas se guardan en la biblioteca. Para abrir y utilizar una plantilla, seleccione *Template* (Plantilla) en el menú *Acquisition Experiment* (Experimento de adquisición). Véase [“Experiment Templates \(Plantillas de experimentos\)” en la página 73](#) para obtener más información sobre las plantillas de experimentos.



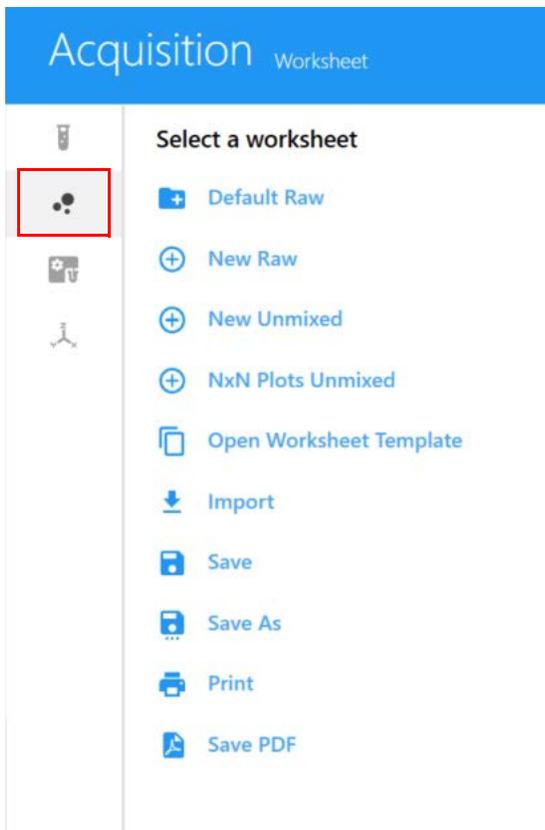
Acerca de las hojas de trabajo

Las hojas de trabajo se utilizan para visualizar los datos del experimento. Cada experimento requiere al menos una hoja de trabajo. Una hoja de trabajo le permite ver los datos en gráficos durante la adquisición, así como realizar funciones de análisis. Las hojas de trabajo contienen las herramientas necesarias para crear gráficos, ventanas de adquisición, anotaciones, estadísticas y la jerarquía de la población. Las hojas de trabajo se guardan con el experimento y se pueden guardar por separado y volver a utilizar en otros experimentos.

Hay dos tipos de hojas de trabajo disponibles: hojas de trabajo para datos sin procesar y hojas de trabajo para datos deconvolucionados. Debe seleccionar la hoja de trabajo adecuada para ver el tipo de datos correspondiente. Al visualizar datos sin procesar, los parámetros de los gráficos de una hoja de trabajo para datos sin procesar reflejan los nombres de los canales, por ejemplo, B1-A, R1-A, V1-A. Al visualizar datos deconvolucionados, los parámetros de los gráficos de una hoja de trabajo para datos deconvolucionados reflejan los marcadores fluorescentes, por ejemplo, PerCP-A.

Abrir una hoja de trabajo

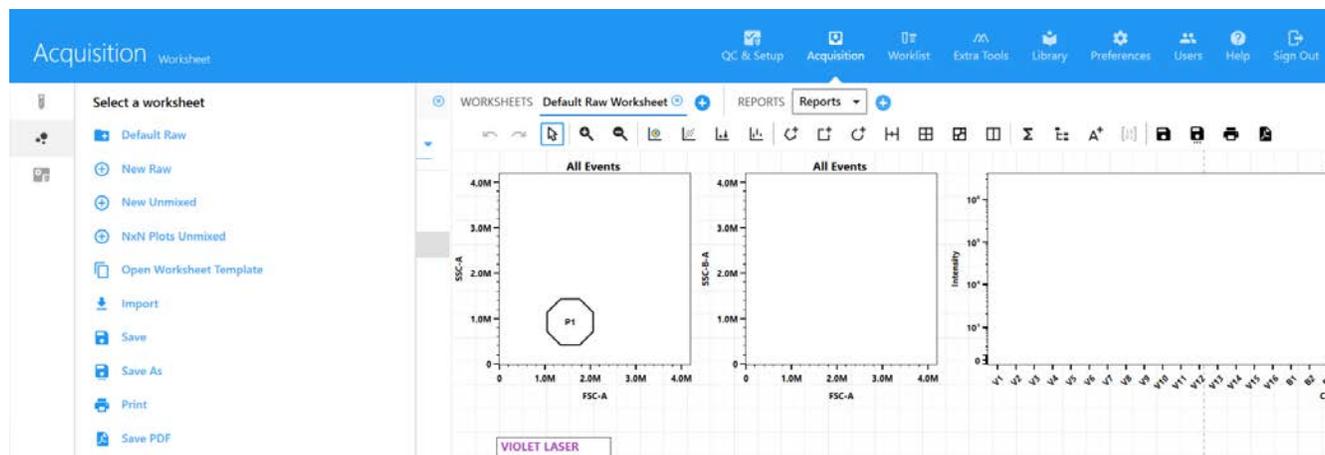
Para seleccionar una hoja de trabajo, haga clic en *Worksheet* (Hoja de trabajo) en el menú *Acquisition* (Adquisición). Aparece el menú *Select a worksheet* (Seleccionar una hoja de trabajo), a continuación. Puede abrir una nueva hoja de trabajo para datos sin procesar o deconvolucionados. Estas hojas de trabajo se abren con un solo gráfico FSC frente a SSC. Utilice la barra de herramientas de la hoja de trabajo para agregar gráficos y otros elementos. Todas las hojas de trabajo se guardan como archivos de plantilla (WHTML) y se pueden abrir mediante la opción *Open Worksheet Template* (Abrir plantilla de hoja de trabajo). También puede importar hojas de trabajo que se exportaron, así como guardar, imprimir y guardar una hoja de trabajo en formato PDF.



En la tabla siguiente se describen las opciones del menú *Acquisition Worksheet* (Adquisición - Hoja de trabajo):

Método	Descripción
<i>Default Raw</i> (Predeterminada sin procesar)	Abre una hoja de trabajo para datos predeterminados sin procesar que se puede utilizar para experimentos en los que se adquirirán controles de referencia. No sobrescriba esta hoja de trabajo. Utilice siempre <i>Save As</i> (Guardar como) para guardar esta hoja de trabajo con un nombre nuevo.
<i>New Raw</i> (Nueva sin procesar)	Abre una nueva hoja de trabajo para datos sin procesar.
<i>New Unmixed</i> (Nueva deconvolucionada)	Abre una nueva hoja de trabajo para datos deconvolucionados.
<i>NxN plots unmixed</i> (Gráficos NxN deconvolucionados)	Utiliza los marcadores fluorescentes seleccionados al configurar el experimento para crear una hoja de trabajo con varios gráficos, mostrando cada parámetro fluorescente uno frente a otro. Esta hoja de trabajo le permite buscar posibles errores de deconvolución y corregirlos en caso necesario.
<i>Open Worksheet Template</i> (Abrir plantilla de hoja de trabajo)	Permite seleccionar de una lista de plantillas de hoja de trabajo guardadas. Se ofrece una hoja de trabajo predeterminada para datos sin procesar y deconvolucionados.
<i>Import</i> (Importar)	Importa una plantilla de hoja de trabajo que se exportó.
<i>Save, Save As, Print, Save PDF</i> (Guardar, Guardar como, Imprimir, Guardar PDF)	Guarda la hoja de trabajo, guarda la hoja con un nombre nuevo, imprime la hoja de trabajo, guarda un PDF de la hoja de trabajo.

Puede tener varias hojas de trabajo abiertas a la vez. La hoja de trabajo activa que se muestra aparece con una línea azul bajo el nombre de la hoja de trabajo. Dado que puede seleccionar diferentes hojas de trabajo para diferentes grupos o tubos en un experimento, cada tubo tendrá una hoja de trabajo asociada.

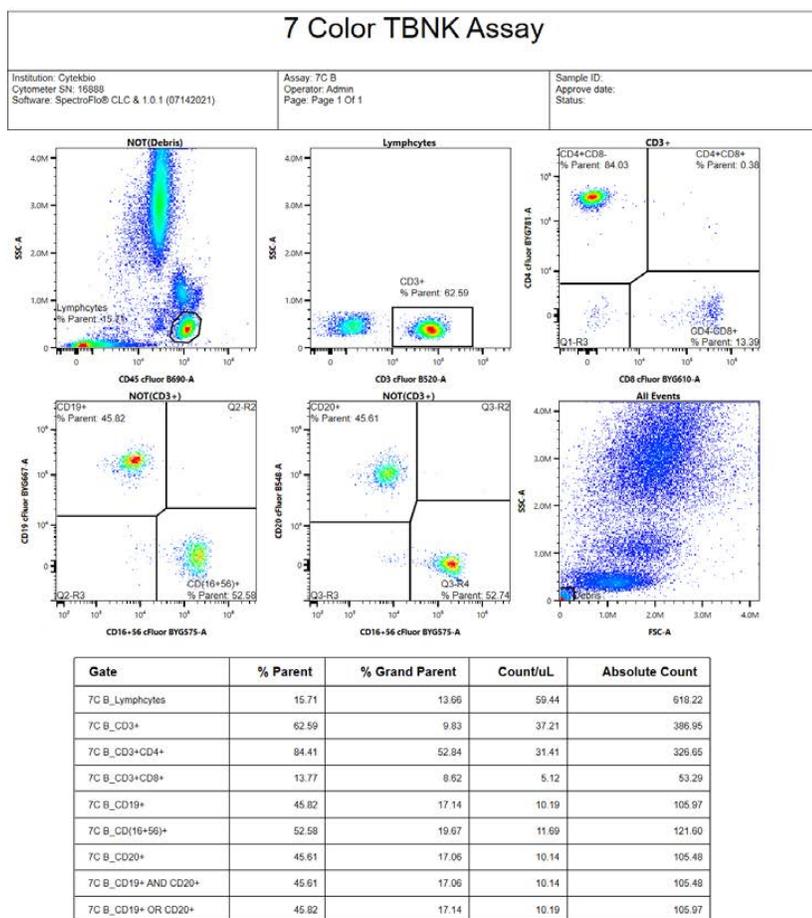


Cada usuario puede definir una hoja de trabajo predeterminada para datos sin procesar y una hoja de trabajo predeterminada para datos deconvolucionados. Abra la hoja de trabajo predeterminada y configúrela para su experimento, después seleccione *Save As* para guardar esta hoja de trabajo con un nombre nuevo. La hoja de trabajo estará disponible para seleccionar cuando cree un experimento. Puede utilizar esta hoja de trabajo, abrir una plantilla de hoja de trabajo o crear una nueva hoja de trabajo.

Todas las hojas de trabajo se guardan en la biblioteca. Véase [“Worksheet Templates \(Plantillas de hoja de trabajo\)”](#) en la página 73 para obtener más información sobre las plantillas de hoja de trabajo.

Acerca de los informes

El informe es una hoja de presentación de datos estáticos que puede mostrar los datos de uno o más tubos. Los experimentos se pueden guardar como *Assays* (Ensayos). Un ensayo debe contener al menos un informe. Para obtener más información, véase [“Crear informes”](#) en la página 63.

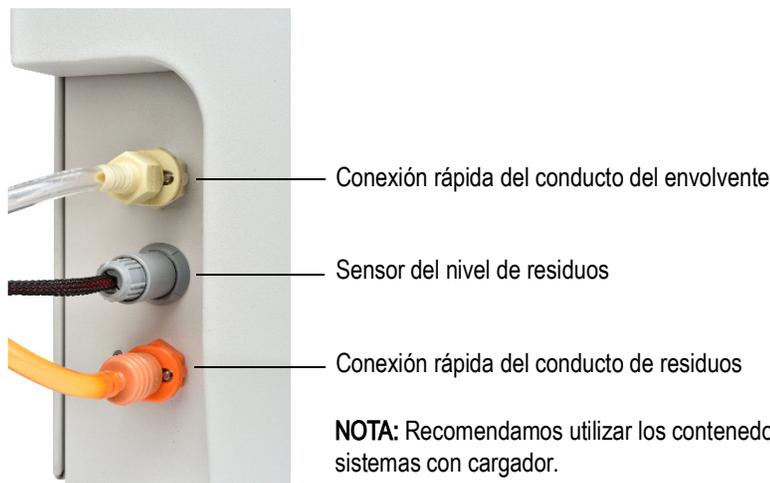


Signature:
REPORT NOT SIGNED
 Comments:

Encendido y apagado

Llenado del envoltente y vaciado de los residuos

Las conexiones rápidas codificadas por colores del envoltente y de los residuos y el conector del sensor del nivel de residuos se encuentran en la esquina inferior izquierda del panel delantero.



NOTA: Recomendamos utilizar los contenedores de 20 l en lugar de los depósitos de 4 l para sistemas con cargador.

Llenado del envoltente

Llene el contenedor del envoltente con una solución envoltente suministrada por el fabricante, agua MilliQ™, solución salina tamponada con fosfato (PBS) o agua desionizada (DI).

El envoltente se puede extraer del depósito del envoltente de 4 l suministrado o directamente de un contenedor de 20 l.

Se puede agregar solución envoltente al contenedor del envoltente mientras el instrumento está funcionando.



Antes de encender el citómetro, inspeccione ocularmente todos los contenedores para detectar fugas o grietas. Use el equipo protector de laboratorio recomendado, como guantes protectores, gafas y bata de laboratorio.



Llene el contenedor del envoltente en la medida necesaria. Utilice únicamente la solución envoltente adecuada. Nunca utilice agua del grifo ni solución envoltente a base de tensioactivos.

Llenado del envoltente en un depósito de envoltente Cytek de 4 l o en un contenedor de 20 l.

- 1 Retire la tapa con el conducto fluídico de envoltente del contenedor o la tapa del depósito del envoltente.
- 2 Añada la solución envoltente adecuada.
- 3 Vuelva a colocar la tapa con el conducto fluídico o la tapa del depósito del envoltente. No la apriete demasiado.
- 4 Si el citómetro está encendido y el software está conectado, compruebe que el indicador de envoltente del software está en verde.

Warm Up Time Left: 00:29:31



Sheath



Waste



Cytometer



Loader

Vaciado de los residuos

Los residuos se pueden expulsar en el depósito de residuos de 4 l suministrado o directamente en un contenedor vacío de 20 l.



Vacíe el contenedor de residuos cuando llene el contenedor del envoltente o en la medida necesaria para evitar fugas. El indicador de software para los residuos estará en amarillo o rojo cuando haya que vaciar el contenedor. Tenga cuidado de no dañar el sensor de nivel de líquido del depósito de residuos.



Las muestras biológicas pueden ser peligrosas o potencialmente mortales. Aténgase a los procedimientos de manipulación adecuados para las muestras y los reactivos. Use el equipo EPI convencional de laboratorio, como guantes protectores, gafas y bata de laboratorio durante este procedimiento.



Trate siempre el contenido del contenedor de residuos con lejía doméstica (10 % del volumen total). El contenedor de residuos puede contener material con riesgo biológico.

Eliminación de residuos de un depósito de residuos Cytek de 4 l o de un contenedor de 20 l.

- 1 Desconecte la conexión rápida anaranjada del conducto de residuos de la tapa del contenedor o del depósito de residuos de 4 l. Desconecte el sensor del nivel de residuos.
El conector del sensor del nivel de residuos para el contenedor está en la tapa del contenedor. El conector del sensor del nivel de residuos para el depósito de 4 l está en la parte delantera del citómetro.
- 2 Retire el tapón de residuos del contenedor de residuos o la tapa del depósito de residuos de 4 l, teniendo cuidado de no dañar el sensor del nivel de líquido.
- 3 Deseche los residuos de acuerdo con la normativa local.
- 4 Añada 2 l de lejía sin diluir al contenedor de residuos o 400 ml de lejía al depósito de residuos.
- 5 Vuelva a colocar el tapón/la tapa de residuos en el contenedor. Apriete a mano el tapón/la tapa hasta que esté completamente cerrado/a.

- 6 Vuelva a colocar el conducto de residuos y el conducto del sensor del nivel en el tapón/la tapa y en la parte delantera del citómetro.
- 7 Si el citómetro está encendido y el software está conectado, compruebe que el indicador de residuos del software está en verde.

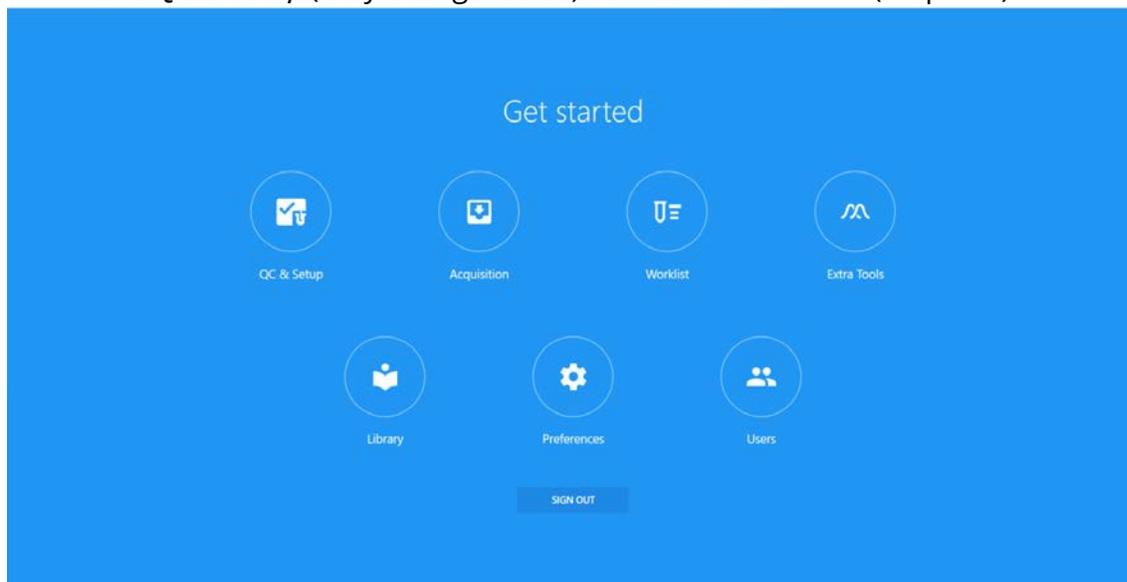
Puesta en marcha del sistema

- 1 Encienda la estación de trabajo y después encienda el citómetro.
 - **NOTA:** Asegúrese de que haya un tubo con 1 ml de agua desionizada (DI) cargado en el SIP antes de iniciar el software SpectroFlo. El tubo es necesario para la calibración de la profundidad del SIT y para purgar líquido a través de la cámara de flujo a fin de eliminar las burbujas que puedan haberse formado.
- 2 Inicie el software SpectroFlo e inicie sesión introduciendo su nombre de usuario y contraseña y haciendo clic en *SIGN IN* (Iniciar sesión).

Puede empezar a escribir su nombre de usuario para mostrar una lista de nombres que empiecen por la letra o letras que escriba.

Comienza el procedimiento de inicialización del citómetro. Los conductos fluidicos se purgan con líquido envolvente para evitar cualquier acumulación de solución salina y el sistema calibra la profundidad del SIT.

- 3 Seleccione *QC & Setup* (CC y configuración) del menú *Get started* (Empezar).



- 4 Compruebe los indicadores de estado en la esquina inferior derecha de la pantalla.
 - Asegúrese de que el indicador de *Connected* (Conectado) muestre una marca de verificación verde. Los indicadores pueden tardar unos minutos en actualizarse.

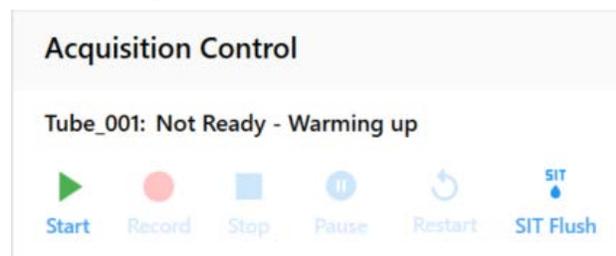
Warm Up Time Left: 00:29:31  Sheath  Waste  Cytometer  Loader

Si el indicador muestra que el instrumento no está conectado, compruebe que la conexión USB entre el citómetro y la estación de trabajo esté enchufada en los puertos adecuados. Véase “Parte trasera del citómetro” en la página 13.

- Asegúrese de que los indicadores de estado del envoltente (Sheath) y los residuos (Waste) estén en verde antes de continuar.

Indicador de líquido	Significado	Qué hacer
<i>Sheath</i> (Envoltente) amarillo	El depósito del envoltente está bajo. La adquisición continuará durante 5 minutos antes de que se vacíe el envoltente. Puede rellenar el envoltente durante este tiempo.	Llene el depósito del envoltente (véase “Llenado del envoltente” en la página 25).
<i>Sheath</i> rojo	El depósito del envoltente está vacío.	
<i>Waste</i> (Residuos) amarillo	El depósito de residuos está casi lleno.	Vacíe el depósito de residuos (véase “Vaciado de los residuos” en la página 26).
<i>Waste</i> rojo	El depósito de residuos está lleno.	

- 5 Espere 30 minutos antes de procesar muestras. Véase “Realización de Daily QC” en la página 29. Recomendamos procesar un tubo de agua desionizada durante el período de calentamiento. No puede grabar un archivo hasta que se complete el período de calentamiento de 30 minutos.



■ **NOTA:** Los administradores pueden seleccionar activar la recogida de datos durante el calentamiento del sistema en *Preferences > Cytometer* (Preferencias > Citómetro). Esto sorteas las restricciones impuestas de forma predeterminada durante el calentamiento del instrumento, como la adquisición de datos y el CC diario.

Apagado del sistema

Ejecute el procedimiento de apagado al final de cada día que utilice el instrumento.

El procedimiento de apagado enjuaga la cámara de flujo y los conductos de muestra con una solución de lejía al 10 %, agua desionizada, Contrad 70 al 25-50 % y agua desionizada. Este procedimiento dura unos 5 minutos. El SIT permanecerá extendido desde el SIP al final del apagado para evitar que el SIT se seque y se obstruya.

Para apagar el sistema:

- 1 Siga el procedimiento de apagado del sistema fluídico. Véase “Fluidics Shutdown (Apagado del sistema fluídico)” en la página 143.
- 2 Una vez finalizado el procedimiento de apagado, salga del software SpectroFlo haciendo clic en la X que hay en la esquina superior derecha de la ventana de la aplicación.
- 3 Apague el citómetro y la estación de trabajo.

QC & Setup (CC y configuración)

Daily QC (CC diario)

Ejecute *Daily QC* utilizando microesferas de CC SpectroFlo antes de adquirir muestras para asegurarse de que el citómetro funciona de forma óptima. *Daily QC* evalúa el alineamiento óptico del instrumento y la desviación del rendimiento del sistema midiendo los rCV y las ganancias necesarias para colocar las microesferas en los valores diana de cada detector. Durante el CC, se optimizan los retardos entre láseres y los factores de escala de área, y se ajusta la configuración de ganancia para tener en cuenta la variabilidad diaria del instrumento. Una vez finalizado el *Daily QC*, se genera un informe de CC. Los informes de CC se pueden revisar en la pestaña *Reports* (Informes).

El rendimiento se puede seguir y cartografiar a lo largo del tiempo en la pestaña Levey-Jennings. El software se puede configurar para que muestre una advertencia si el resultado del CC en el informe de CC supera los criterios definidos por el usuario. Véase “Intervalos de alarma” en la página 43.

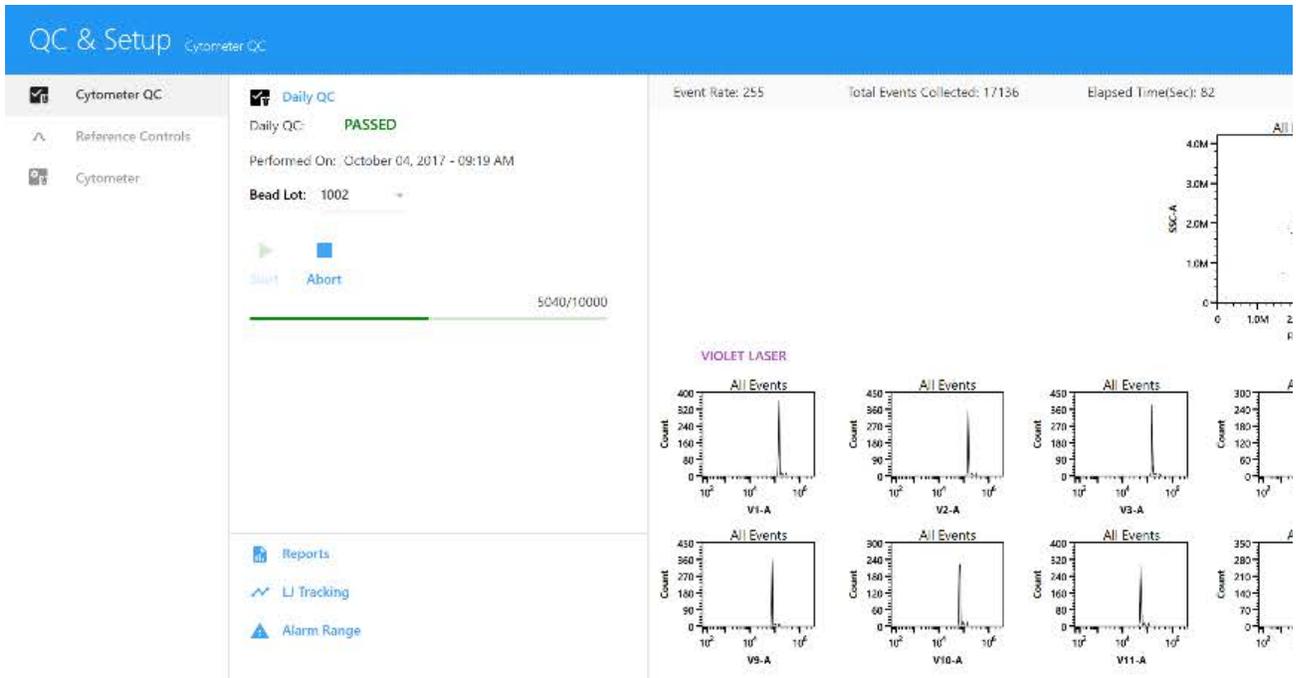
Realización de *Daily QC*

- 1 Deje pasar 30 minutos después de encender el sistema para permitir que se caliente el compartimento de óptica.
- 2 Prepare microesferas de CC SpectroFlo (1 gota de microesferas en 0,3 ml de solución envolvente o PBS).

■ **NOTA:** Prepare siempre las microesferas en la misma solución utilizada para la solución envolvente del instrumento. El diluyente de las microesferas y la solución envolvente del instrumento deben coincidir. Si utiliza agua desionizada para preparar las microesferas, estas empezarán a degradarse en pocas horas. No reutilice las microesferas preparadas en agua desionizada.

Las microesferas de CC SpectroFlo son microesferas de poliestireno de 3 μm teñidas a fondo que tienen una sola intensidad de fluorescencia. Se pueden excitar con cada láser y emitir fluorescencia en todos los canales detectores.

3 Seleccione *QC & Setup* (CC y configuración) del menú *Get started* (Empezar).



4 Seleccione el lote de microesferas actual en el menú *Bead Lot* (Lote de microesferas).

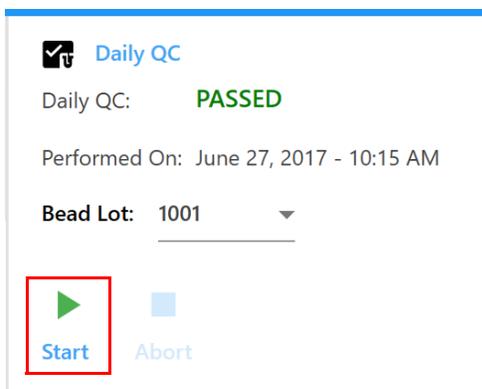
Cada vez que abra un nuevo número de lote de microesferas de CC SpectroFlo, debe importar la ID del lote de microesferas a la biblioteca para que sea accesible cuando ejecute el CC. Los archivos de lotes de microesferas se pueden descargar de la sección *Resources* (Recursos) en <http://www.cytexbio.com>.



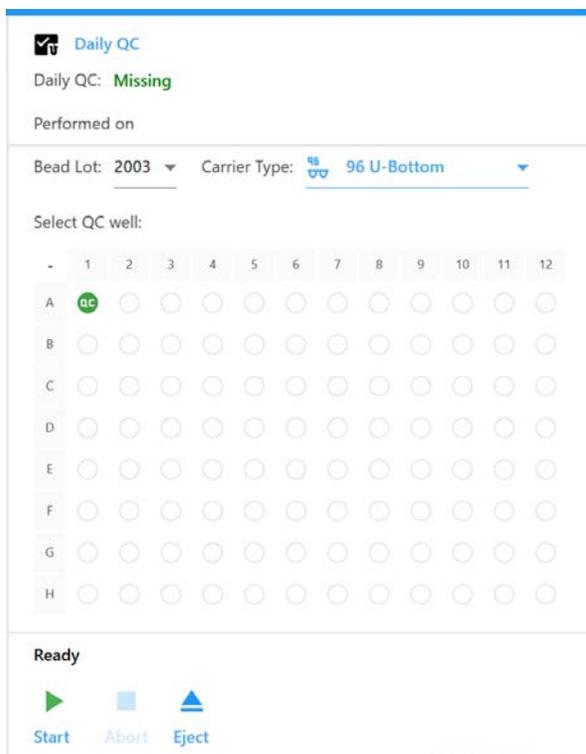
Diferentes lotes de microesferas tienen diferentes intensidades de fluorescencia. Seleccione siempre el lote de microesferas correcto al realizar el CC diario.

5 Inicie la adquisición:

- Tubo: cargue un tubo de 12 x 75 mm de microesferas en el SIP. Seleccione *Start* (Iniciar) para iniciar la adquisición.



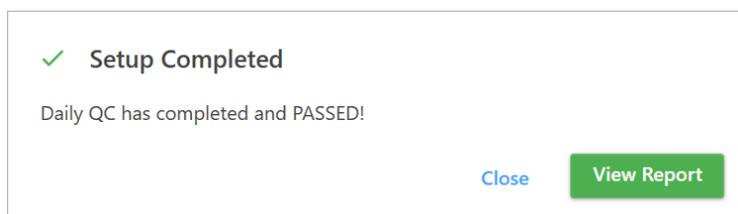
- Cargador: asegúrese de seleccionar el tipo de placa correcto (de 96 pocillos con fondo en U, en V, plano, profundos o gradilla de 40 tubos). Haga clic en la placa o el tubo de la gradilla de tubos para seleccionar el pocillo o el tubo donde se encuentran las microesferas de CC. El pocillo A1 está seleccionado por defecto, pero se puede elegir cualquier pocillo. Seleccione *Eject* (Expulsar), cargue la placa en la plataforma y después haga clic en *Load* (Cargar) seguido de *Start* (Iniciar) para iniciar la adquisición.



A medida que el instrumento empieza a adquirir las microesferas de CC, aparecen en el gráfico de dispersión. Los retardos entre láseres se configuran inicialmente en 0 y después se van optimizando. Se realizan mediciones del rendimiento y se comparan con los criterios de apto/no apto (véase “Criterios de apto/no apto” en la página 32).

El procedimiento se completa en unos 3 a 5 minutos. Una vez finalizada la adquisición, se realizan automáticamente dos enjuagues del SIT para eliminar las microesferas del conducto de muestra.

El siguiente mensaje aparece cuando el CC diario finaliza de forma satisfactoria. Para ver el informe de CC, haga clic en *View Report* (Ver informe; véase “Informe de CC” en la página 32).



Si no se supera el CC, retire el tubo o placa o y siga las instrucciones que aparecen. La solución recomendada variará en función del motivo de la prueba fallida.

Daily QC Failed

Daily QC failed to place the QC beads on scale.

Please try the following:

1. Make sure the concentration of your beads sample is appropriate (between 100 - 1000 events per second).
2. Go to Acquisition to run your beads sample in an experiment and make sure your sample is appropriate.
3. Remix your beads sample run QC again.

If the problem persists, please contact Cytek Service.

OK

Ya está listo para ejecutar controles de referencia, en su caso, o para adquirir muestras.

Informe de CC

Al finalizar el CC diario, se genera un informe de CC. El informe comprende las siguientes secciones:

- La sección de cabecera contiene el estado apto/no apto de la secuencia, el nombre del instrumento, su configuración, la fecha en que se realizó el CC diario, el usuario que lo realizó, el número de serie del instrumento, el lote de microesferas de CC SpectroFlo y su fecha de caducidad.
- La sección de resultados contiene la ganancia, el cambio de ganancia, la mediana de la intensidad de fluorescencia de las microesferas de CC, el %rCV y un indicador de apto/no apto para cada canal detector. La longitud de onda central del detector se muestra entre paréntesis junto al nombre del detector.
- La sección *Laser Settings* (Configuración del láser) contiene los retardos entre láseres para todos los láseres no primarios y los factores de escala de área para todos los láseres y para el detector FSC.

Criterios de apto/no apto

Los criterios de apto/no apto son los siguientes:

- El %rCV no debe superar el 6 % para el canal FSC.
- El %rCV no debe superar el 8 % para los canales SSC y SSC-B.
- El %rCV no debe superar el 6 % para el tercer canal de cada láser (V3, B3 y R3).
- El porcentaje de cambio de ganancia para todos los canales no debe superar el 100 % de la última secuencia de CC diario realizada por el personal de servicio técnico de Cytek.

Los informes de CC se exportan automáticamente como archivos CSV a la carpeta *Setup* (Configuración; C:\CytekbioExport\Setup). El número de informes que aparecen en la pantalla *Reports* (Informes) se puede configurar en *Preferences* (Preferencias). Véase [“Preferencias de configuración del CC” en la página 85](#) para obtener más información.

Se muestra un ejemplo de informe de CC.

Daily QC Report

Setup Status:	PASSED	Date:	October 28, 2017 - 17:03 PM
Cytometer Name:	MyCyto	User:	Admin
Configuration:	3-Lasers-V16-B14-R8	Serial Number:	R0001
QC Beads			
Lot ID:	1002	Expiration Date:	December 31, 2019

Lasers	Detector (nm)	Gain	Gain Change	Median (x1000)	% rCV	Status
Blue	FSC	174	-26	1,843.2	2.57	✓
Violet	SSC	342	9	2,087.8	4.45	✓
Violet	V1 (428)	381	55	202.2	3.96	✓
Violet	V2 (443)	212	19	205.7	3.97	✓
Violet	V3 (458)	201	17	202.5	4.11	✓
Violet	V4 (473)	153	19	244.1	3.98	✓
Violet	V5 (508)	197	13	302.0	4.04	✓
Violet	V6 (528)	248	12	243.1	4.04	✓
Violet	V7 (549)	233	13	182.7	4.01	✓
Violet	V8 (571)	256	19	123.1	3.79	✓
Violet	V9 (594)	251	14	102.5	3.80	✓
Violet	V10 (618)	381	18	91.0	3.78	✓
Violet	V11 (664)	638	46	72.6	3.73	✓
Violet	V12 (692)	974	59	60.6	3.71	✓
Violet	V13 (720)	530	36	31.5	3.75	✓
Violet	V14 (750)	531	40	21.0	3.88	✓
Violet	V15 (780)	793	75	10.8	5.96	✓
Violet	V16 (812)	461	35	4.2	7.93	✓
Blue	B1 (508)	231	2	14.1	2.62	✓
Blue	B2 (528)	242	-10	38.7	2.03	✓
Blue	B3 (549)	221	-10	94.4	1.63	✓
Blue	B4 (571)	240	-13	134.2	1.66	✓

Red	R7 (783)	895	-9	79.4	5.85	✓
Red	R8 (812)	326	0	39.3	6.11	✓

Laser Settings

Lasers	Laser Delay	Area Scaling Factor
Violet	-24.95	1.19
Blue	0.00	1.20
Red	27.50	0.85

FSC Area Scaling Factor: 1.24

Specifications

FSC	% rCV:	< 6	(Recommended)
SSC	% rCV:	< 8	(Recommended)
V3	% rCV:	< 6	(Recommended)
B3	% rCV:	< 6	(Recommended)
R3	% rCV:	< 6	(Recommended)
All Channels	% Gain Change:	< 100	(Recommended)

Controles de referencia

Los controles de referencia, obtenidos procesando muestras de tinción única y sin teñir, ofrecen los espectros de fluorescencia individuales necesarios para deconvolucionar los datos. Se pueden teñir tanto microesferas como células para su uso como controles de referencia. Estos controles se pueden adquirir en el grupo de referencia del experimento durante la adquisición o como controles de referencia en el módulo *QC & Setup* (CC y configuración). Si se adquieren controles de referencia en el módulo *QC & Setup*, se almacenan y se pueden utilizar como controles de referencia para la deconvolución en experimentos posteriores.

Un asistente le guiará a través de la grabación de controles de referencia.

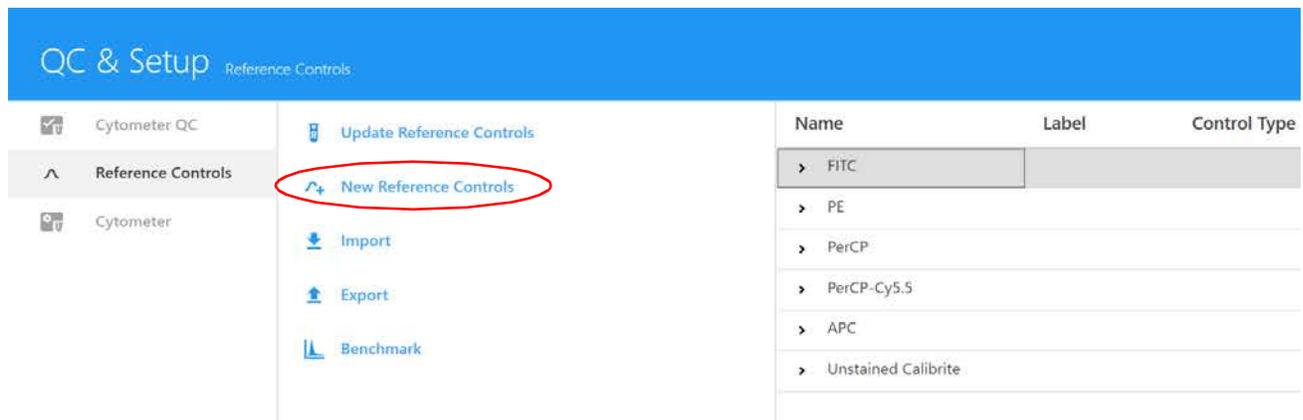
Procesar controles de referencia

Para crear controles de referencia tendrá que seleccionar los marcadores fluorescentes, elegir el tipo de control (microesferas o células) y después etiquetar los marcadores fluorescentes (por ejemplo, utilizando la nomenclatura CD). También puede agregar archivos FCS existentes al procesar controles de referencia.

Ejecute *Daily QC* (CC diario) para asegurarse de que el instrumento funciona de forma óptima antes de procesar los controles de referencia.

- 1 Seleccione *Reference Controls* (Controles de referencia) en el módulo *QC & Setup*.
- 2 Seleccione *New Reference Controls* (Nuevos controles de referencia) en la pestaña *Reference Controls*.

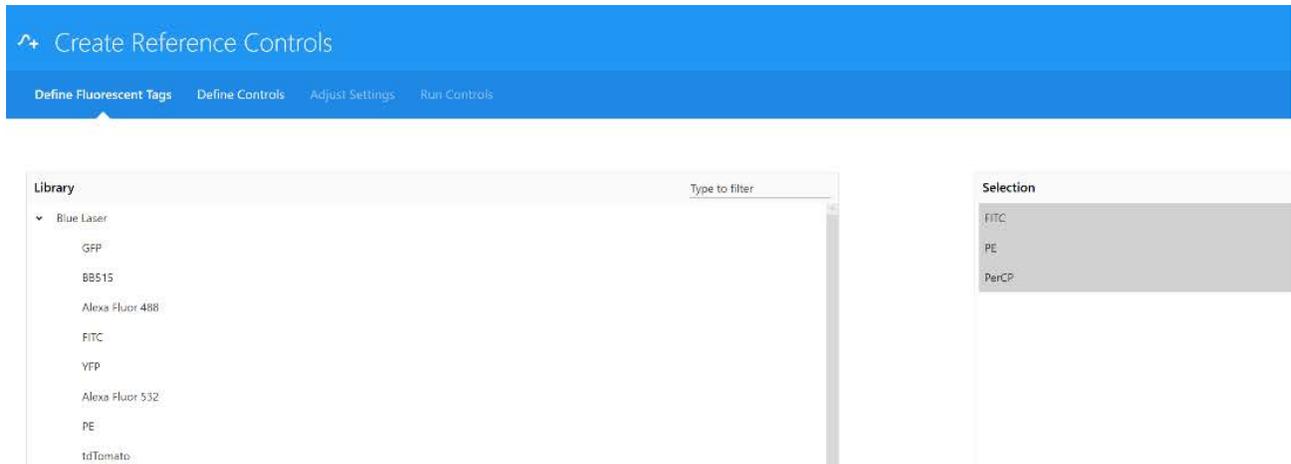
Se abre un asistente que le permite crear nuevos controles de referencia. También puede agregar archivos FCS existentes.



- 3 Seleccione los marcadores fluorescentes. El recuadro izquierdo muestra los grupos de marcadores fluorescentes que se encuentran en la biblioteca.
 - Haga clic en la flecha situada a la izquierda del nombre del grupo de marcadores fluorescentes para ver los marcadores fluorescentes del grupo. (Los grupos de marcadores fluorescentes predeterminados son *Blue Laser*, *Red Laser*, *Violet Laser*, *Fluorescent Proteins* y *Viability Dyes* [Láser azul, Láser rojo, Láser violeta, Proteínas fluorescentes y Colorantes de viabilidad] y contienen una lista de marcadores fluorescentes comúnmente utilizados excitados por su láser respectivo).

- En la lista ampliada de marcadores fluorescentes, seleccione los marcadores fluorescentes utilizados en el experimento. Una vez seleccionados, los marcadores fluorescentes aparecen en el recuadro de selección de la derecha. Puede seleccionar marcadores fluorescentes arrastrando y soltando, haciendo doble clic o utilizando el botón *Add* (Agregar). Se pueden elegir varios marcadores a la vez. Confirme los marcadores seleccionados y después haga clic en *Next* (Siguiente).

■ **NOTA:** La lista de marcadores fluorescentes se puede modificar en la biblioteca. Puede utilizar la biblioteca para agregar marcadores fluorescentes que no estén presentes en la lista predeterminada. Véase “[Marcadores fluorescentes](#)” en la [página 67](#) para obtener más información.



4 Defina el control o controles sin teñir.

Elija marcadores fluorescentes de tinción única o nuevos, separados y sin teñir para los tubos de control. Si utiliza un control que solo tiene una población positiva, necesitará un control sin teñir del mismo tipo que el teñido.

Se pueden teñir y definir como tipos de control tanto microesferas como células. Si selecciona *Use new, separate, unstained tube(s)* (Utilizar tubo[s] nuevo[s], separado[s] y sin teñir), puede agregar más tubos sin teñir, en la medida necesaria. A continuación seleccione el tubo específico sin teñir en la columna *Negative Control* (Control negativo) de la tabla *Fluorescent Tags* (Marcadores fluorescentes) que aparece a continuación.

Create Reference Controls

Define Fluorescent Tags | **Define Controls** | Adjust Settings | Run Controls

Define Unstained Control(s)

Use from Single Stained Fluorescent Tag Tubes

Use new, separate, unstained tube(s)

Name	Control Type
Negative_1	Beads

+ Add × Remove

Fluorescent Tag	Control Type	Label	Negative Control
FITC	Beads		
PE	Beads		
PerCP	Beads		

- Defina el tipo de control (microesferas o células) para cada marcador fluorescente en la tabla *Fluorescent Tags*.
- (Opcional) Introduzca etiquetas asociadas con el marcador fluorescente para su identificación y seguimiento.
- Si procede, introduzca el número o números de lote de los controles de referencia.

■ **NOTA:** Si ha seleccionado *Label/Lot Specific Unmixing* (Deconvolución específica por lotes/etiquetas) en *Acquisition Preferences* (Preferencias de adquisición; véase la [página 76](#)), el software buscará en la biblioteca y en los grupos de referencia de experimentos controles de referencia que tengan el mismo marcador fluorescente, etiqueta e información de lote para utilizar el control correspondiente para la deconvolución.

Define Unstained Control(s)

Use from Single Stained Fluorescent Tag Tubes

Use new, separate, unstained tube(s)

Name	Control Type
Unstained_1	Beads
Unstained_2	Beads

+ Add × Remove

Fluorescent Tag	Control Type	Label	Lot
FITC	Beads		
PE	Beads		
PerCP	Beads		

- 8 Una vez definidos los controles, haga clic en *Next* (Siguiente).
- 9 Cargue la muestra de control en el SIP y haga clic en *Start* (Iniciar) para obtener una vista previa de los datos de la muestra. Este paso le permite asegurarse de que todas las poblaciones de todas las muestras de control están a escala. Si es necesario, ajuste la configuración de ganancia.

Se puede ajustar la configuración de la ganancia para todos los canales de cada módulo detector de láser. Ajuste el detector mediante la función *All Channels %* (% de todos los canales). Ajuste el mismo porcentaje para todos los láseres para mantener la firma de los fluorocromos. Para guardar esta configuración personalizada, haga clic en el botón *Save* (Guardar) del panel *Instrument Control* (Control del instrumento) y cambie el nombre.

The screenshot shows the 'Instrument Control' interface. At the top, it says 'User Settings: CytekAssaySetting (Cytek)'. Below this are tabs for 'GAIN', 'THRESHOLD', 'SIGNAL', and 'LASERS'. Under 'GAIN', there are settings for FSC (50), SSC (50), and SSC-B (50). Below these are settings for three lasers: Violet, Blue, and Red. Each laser has five gain channels (V1-V5 for Violet, V6-V10 for Blue, V11-V15 for Red, and V16 for Red). The 'All Channels %' field at the bottom is highlighted with a red box and is currently set to 0.

Violet		Blue			Red				
V1	4	V2	11	V3	13	V4	13	V5	12
V6	9	V7	9	V8	5	V9	4	V10	3
V11	1	V12	0	V13	0	V14	0	V15	0
V16	0								

All Channels %:

■ **NOTA:** *CytekAssaySetting* se generó midiendo la resolución óptima de linfocitos humanos teñidos, con CD8 y CD4 marcados con diferentes fluorocromos. Esta configuración ofrece un punto de partida para la mayoría de las aplicaciones de inmunofenotipado.

La pantalla *Adjust Settings* (Ajustar configuración) permite ver los datos para garantizar que las partículas fluorescentes con tinción positiva estén a escala. Ajuste el umbral y las ganancias de FSC y SSC. La ganancia de FSC se puede ajustar de 1 a 1000. Las ganancias de SSC y del canal detector se pueden ajustar de 10 a 10 000. Si la población positiva está fuera de escala para cualquier canal detector, reduzca el ajuste de ganancia para ese módulo detector y después reduzca cada láser del instrumento en el mismo porcentaje. Esto conservará la firma del fluorocromo.

Si la población positiva no está suficientemente separada de la población negativa dentro de un canal concreto, verifique que *CytekAssaySetting* está seleccionado, ya que esta configuración permite una resolución adecuada. Si la población positiva todavía no está claramente separada de la población negativa, revise la preparación de la muestra y el procedimiento de tinción.

Una vez confirmados los ajustes de ganancia, los controles sin teñir y de referencia estarán listos para la adquisición.

■ **NOTA:** Es posible que los marcadores débiles no se separen de la población negativa, independientemente de cuánto se aumente la ganancia.



10 Obtenga una vista previa de los datos de los controles restantes haciendo clic en *Stop* (Detener) y después:

- Modo de tubos: cargando el siguiente control en el SIP y haciendo clic en *Start* (Inicio).
- Modo de placas: seleccionando el siguiente pocillo de control y hacer clic en *Start*.

11 Seleccione *Next* (Siguiente) cuando la configuración de ganancia sea satisfactoria. Proceda a procesar los controles.

12 Si está operando en el modo *Tube* (Tubo), coloque un tubo de partículas adecuadas de tinción única en el SIP.

13 Haga clic en *Record* (Grabar) para iniciar la adquisición.

Asegúrese de seguir el orden indicado en el cuadro izquierdo.

Durante la adquisición se mostrará el gráfico espectral para cada control fluorescente. Los gráficos muestran todos los canales a lo largo de todos los láseres en el eje x frente a la intensidad de fluorescencia media (IFM) del marcador fluorescente.

Si no se cumplen los criterios de adquisición en el intervalo de 15 minutos, la secuencia se detendrá.



- 14 Durante la adquisición, obtenga información espectral moviendo la ventana de adquisición poligonal en el gráfico de FSC-A frente a SSC-A para incluir la población de interés.

Mantenga pulsada la tecla Ctrl mientras ajusta la ventana de adquisición para mover las ventanas de adquisición poligonales de todos los gráficos de dispersión a la vez. La población seleccionada aparece en el histograma, que se ajusta aproximadamente al máximo canal de emisión del marcador fluorescente que se va a adquirir. El espectro de emisión de la población se muestra en el gráfico espectral.

Ajuste la ventana de adquisición positiva en el histograma. El software muestra automáticamente el espectro de emisión de las partículas positivas en el gráfico espectral. El software SpectroFlo establece la ventana de adquisición predeterminada en el máximo canal de emisión o cerca de él. La ventana de adquisición se puede seleccionar manualmente. Lo mejor es fijar la ventana de adquisición en la emisión más brillante, ya que esto puede facilitar la distinción de las poblaciones positivas y negativas y ofrece mejor visualización del espectro.

■ **NOTA:** Los resultados de la deconvolución no se ven afectados por la posición de la ventana del intervalo en el gráfico espectral.

Reajuste la ventana de adquisición positiva o negativa en el histograma, si es necesario.

- 15 Continúe grabando cada control.
- 16 Seleccione *Save* (Guardar) para guardar los controles de referencia.

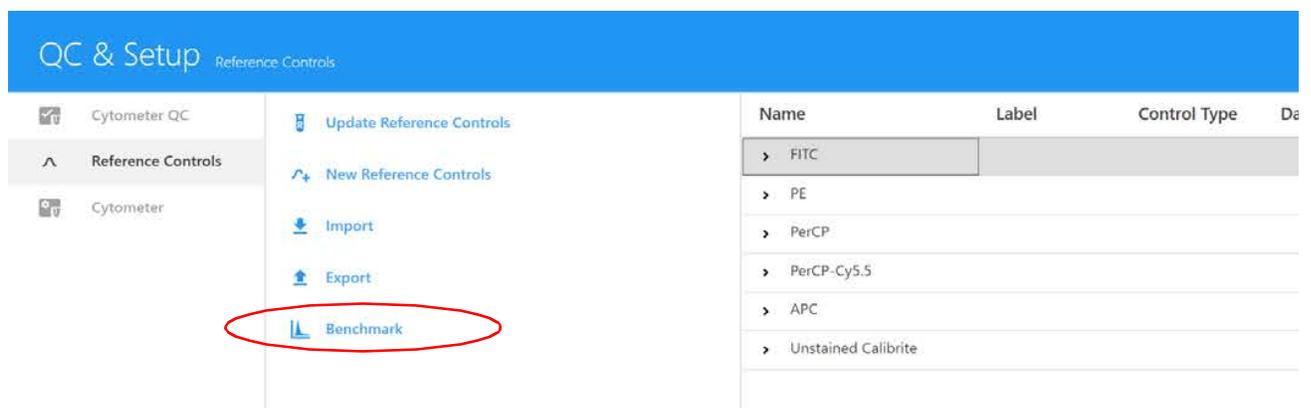
Los archivos FCS para los controles de referencia guardados se almacenan de forma predeterminada en la carpeta *Export Setup* (Configuración de exportación) o en la carpeta que establezca como predeterminada. Véase [“Preferencias de almacenamiento” en la página 84](#) para obtener información.

Establecer controles de referencia como puntos de referencia para el CC de los controles de referencia

Puede seleccionar controles de referencia para utilizarlos como puntos de referencia para el CC. Los controles de referencia que seleccione como puntos de referencia le permiten comprobar la calidad de sus controles de referencia antes de deconvolucionar. Si un control de referencia no resulta óptimo, el punto de referencia indicará si los espectros del control de referencia tienen el aspecto esperado. Si decide no designar controles de referencia como puntos de referencia, se utilizarán los controles de referencia que se ejecuten durante *QC & Setup* (CC y configuración) o durante el experimento tal cual, sin una comprobación de control de calidad.

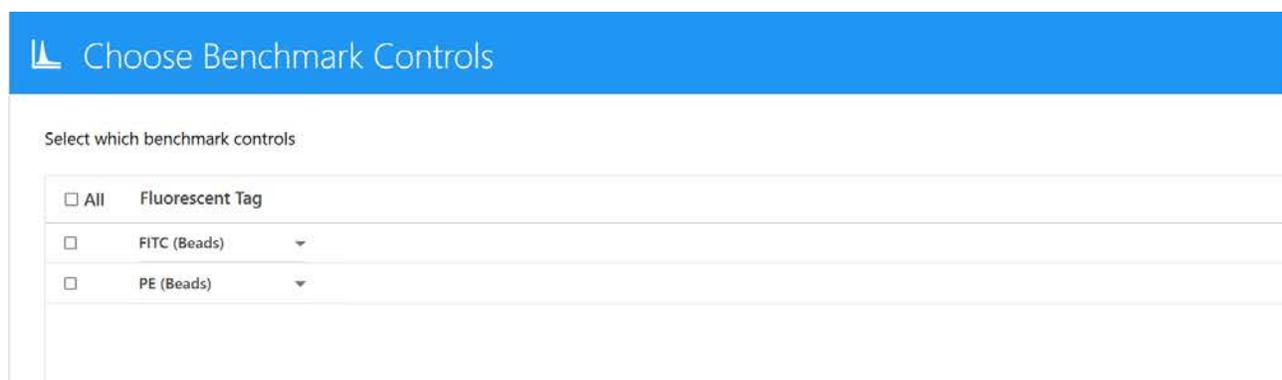
NOTA: Antes de guardar un control de referencia como punto de referencia, asegúrese de que está totalmente optimizado.

- 1 Seleccione *Reference Controls* (Controles de referencia) en el módulo *QC & Setup*.
- 2 Seleccione *Benchmark* (Punto de referencia) en la pestaña *Reference Controls* (Controles de referencia).



- 3 Seleccione los controles de referencia que serán los puntos de referencia.

Haga clic en *All* (Todos) para seleccionar todos los controles de la lista.



- 4 Haga clic en *Save* (Guardar).

Actualizar los controles de referencia

Es posible que desee actualizar los controles de referencia si se produce alguna de las siguientes situaciones:

- Se realiza un mantenimiento importante en el instrumento.
- El fluorocromo presenta signos de inestabilidad que producen cambios en su espectro de emisión.
- Los protocolos de tinción cambian, por ejemplo, se utilizan diferentes tampones o fijadores.

La pestaña *Reference Controls* (Controles de referencia) muestra los controles de referencia guardados en la biblioteca. Haga clic en la flecha situada junto al nombre del control para ver más detalles.

Para actualizar controles de referencia

- 1 Seleccione *Update Reference Controls* (Actualizar controles de referencia) en la pestaña *Reference Controls* del módulo *QC & Setup* (CC y configuración).

Se abre un asistente que le permite actualizar los controles de referencia.



- 2 Siga los pasos 3 al 11 de "Procesar controles de referencia" en la página 34.

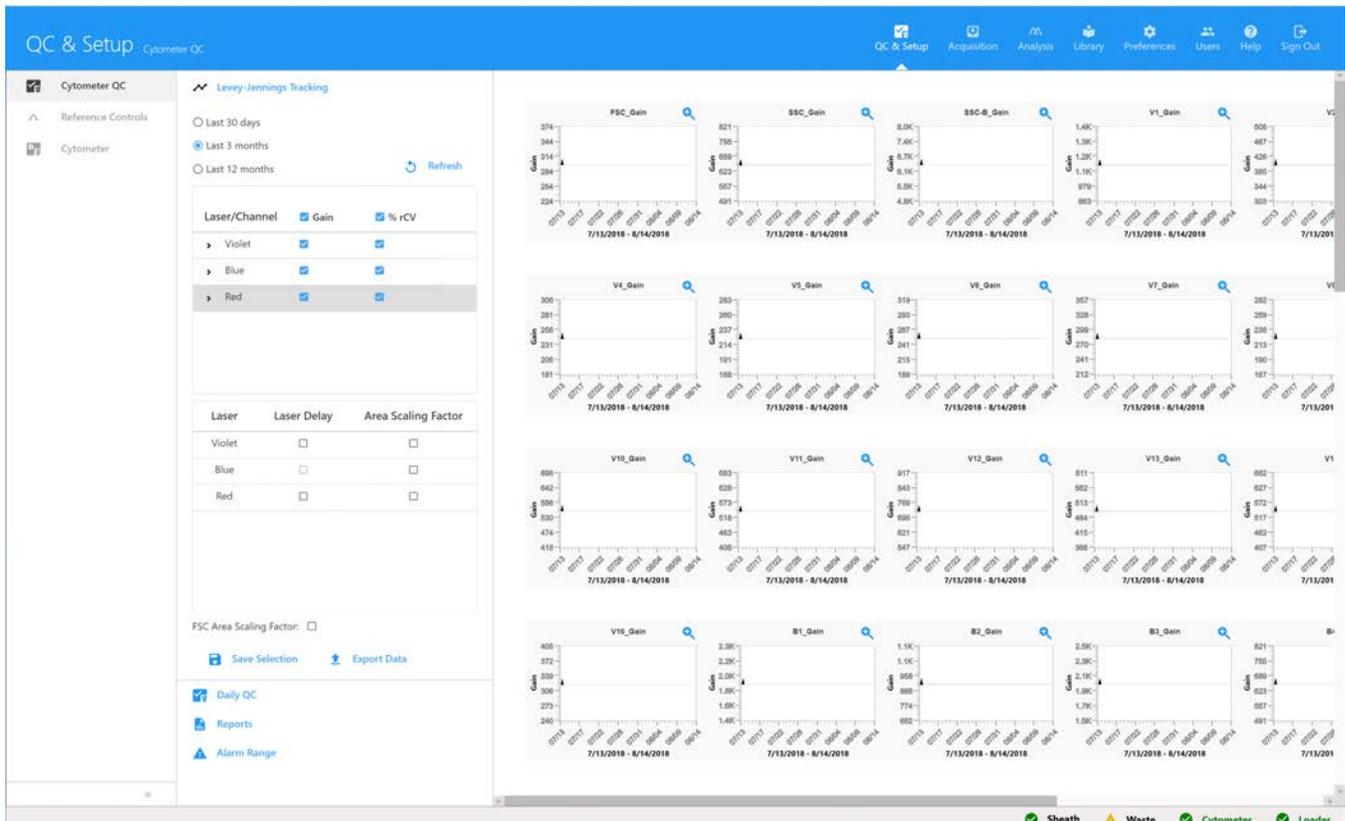
Seguimiento de Levey-Jennings

Levey-Jennings realiza un seguimiento de la ganancia y CV de todos los canales detectores y los retardos entre láseres y los factores de escala de área de cada láser a lo largo del tiempo. Esto le permite ver el rendimiento del sistema. Seleccione el parámetro o parámetros que desea seguir.

Los gráficos del informe muestran errores aleatorios o desplazamientos y tendencias de los datos de cada parámetro. Se pueden incluir en los informes datos de los últimos 30 días, 3 meses o 12 meses.

- 1 Seleccione la casilla de verificación de un parámetro para mostrar el gráfico de Levey-Jennings.
- 2 Utilice *Save Selection* (Guardar selección) para guardar la configuración de seguimiento de LJ.

- 3 Para exportar datos de Levey-Jennings a un archivo .csv, haga clic en *Export Data* (Exportar datos).

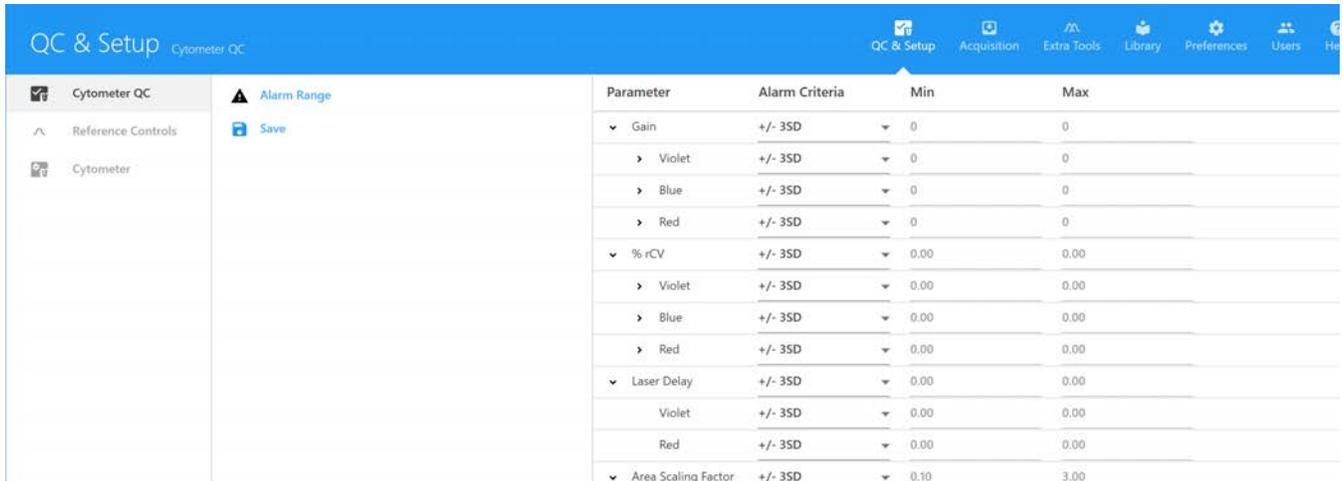


Configuración de la ganancia

La cantidad de amplificación de la señal aplicada a cada canal detector se puede modular aumentando o disminuyendo la cantidad de ganancia aplicada. Las ganancias de cada canal detector se pueden guardar y se denominan colectivamente la configuración de usuario. Los ajustes de ganancia del usuario se almacenan como una proporción frente al CC diario. Cada vez que se realiza el CC diario, la configuración de usuario se ajustará en consecuencia.

Intervalos de alarma

Puede configurar una alarma para que le avise cuando la ganancia y el %rCV superen los criterios de aceptación que defina. Esto cambia los valores atípicos (mostrados en rojo) en los gráficos LJ. Seleccione *Alarm Range* (Intervalo de alarma) en la pestaña *Cytometer QC* (CC del citómetro) y después ajuste el intervalo SD (más o menos) para detectores individuales para cada láser.



The screenshot shows the 'QC & Setup' interface for 'Cytometer QC'. The 'Alarm Range' tab is active, displaying a table with columns for 'Parameter', 'Alarm Criteria', 'Min', and 'Max'. The table lists parameters such as Gain, %rCV, Laser Delay, and Area Scaling Factor, each with sub-parameters for different lasers (Violet, Blue, Red). The 'Alarm Criteria' are set to '+/- 3SD' for all entries. The 'Min' and 'Max' values are 0 for Gain and 0.00 for %rCV and Laser Delay. The 'Area Scaling Factor' has a 'Min' of 0.10 and a 'Max' of 3.00. A 'Save' button is visible in the top left of the table area.

Parameter	Alarm Criteria	Min	Max
Gain	+/- 3SD	0	0
Violet	+/- 3SD	0	0
Blue	+/- 3SD	0	0
Red	+/- 3SD	0	0
%rCV	+/- 3SD	0.00	0.00
Violet	+/- 3SD	0.00	0.00
Blue	+/- 3SD	0.00	0.00
Red	+/- 3SD	0.00	0.00
Laser Delay	+/- 3SD	0.00	0.00
Violet	+/- 3SD	0.00	0.00
Red	+/- 3SD	0.00	0.00
Area Scaling Factor	+/- 3SD	0.10	3.00

Adquisición

Datos sin procesar frente a datos deconvolucionados

El software SpectroFlo guarda los datos de citometría de flujo en el formato FCS 3.1. Los datos se guardan tanto en formato sin procesar como deconvolucionado. Los datos sin procesar contienen toda la información de fluorescencia de cada detector (es decir, V1, V2, V3, etc.). Cada canal detector se designa por su láser de excitación y su posición en el conjunto. Por ejemplo, B3 es el tercer canal del conjunto de detectores de láser azul.

Los datos deconvolucionados contienen toda la información de fluorescencia de cada marcador fluorescente del experimento. Para deconvolucionar datos se requieren controles con tinción única (o controles de referencia) para cada uno de los marcadores fluorescentes (así como un control sin tinción). Durante la deconvolución se utiliza un algoritmo matemático para la descomposición de los componentes fluorescentes de la muestra utilizando los controles de referencia. Los parámetros de los datos deconvolucionados se mostrarán como el nombre del marcador fluorescente junto con sus etiquetas asociadas.

El módulo *Acquisition* (Adquisición) ofrece las herramientas que le permiten crear un experimento. Un experimento es un conjunto de tubos, ajustes del instrumento, criterios de adquisición (regla de parada), marcadores fluorescentes, etiquetas y hojas de trabajo diseñados para la adquisición de muestras. Véase [“Acerca de los experimentos” en la página 18](#).

Se pueden crear experimentos nuevos y guardados o acceder a ellos en la pestaña *Experiments* (Experimentos) del módulo *Acquisition*.

Deconvolución y compensación

Los archivos FCS sin procesar se pueden deconvolucionar espectralmente de las siguientes maneras:

- Grupo de referencia en el experimento: los controles de referencia recopilados como archivos FCS dentro del experimento se pueden usar para la deconvolución mediante el asistente *Unmixing* (Deconvolución) del módulo *Acquisition*.
- Controles de referencia procesados en el módulo *QC & Setup* (CC y configuración): los controles de referencia procesados en el módulo *QC & Setup* se pueden usar para la deconvolución mediante el asistente *Unmixing* del módulo *Acquisition*.
- Deconvolución desde el módulo *Extra Tools* (Herramientas adicionales): los archivos FCS recopilados de diferentes experimentos se pueden deconvolucionar en el módulo *Extra Tools*. Los archivos FCS se pueden importar y deconvolucionar en este módulo.

Los archivos FCS sin procesar también se pueden compensar con el método convencional mediante la pestaña *Virtual Filters* (Filtros virtuales) del módulo *Extra Tools*. Los canales detectores se pueden agrupar juntos para simular el análisis de los datos como si se hubieran adquirido usando un filtro. Véase [“Virtual Filters \(Filtros virtuales\)” en la página 110](#) para obtener más información.

Configuración de un experimento

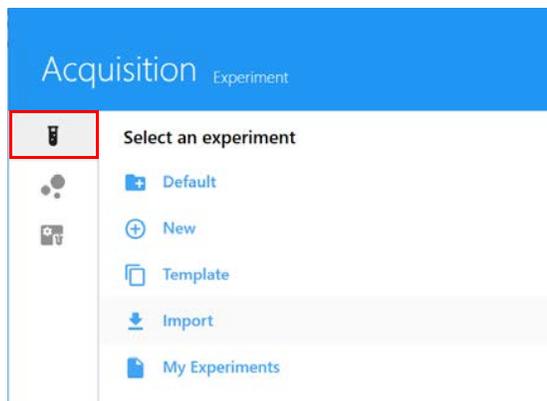
Se puede guardar un experimento como una plantilla o crearlo para uso puntual. La configuración del experimento en el software SpectroFlo implica:

- 1 (Opcional) Dar un nombre y una descripción al experimento. Se ofrece un nombre predeterminado.
- 2 Especificar los marcadores fluorescentes utilizados en el experimento.
- 3 Definir el grupo de referencia con marcadores de referencia, etiquetas y números de lote asociados, en la medida necesaria.
- 4 Agregar etiquetas y números de lote a cada uno de los marcadores fluorescentes.
- 5 Agregar palabras clave personalizadas. Las palabras clave personalizadas se pueden definir en la biblioteca.
- 6 Seleccionar una hoja de trabajo de adquisición, ya sea nueva o una plantilla.
- 7 Definir criterios de adquisición (regla de parada basada en eventos, tiempo o volumen).

Perspectiva general del experimento de adquisición

El módulo *Acquisition* (Adquisición) ofrece los elementos necesarios para recoger datos dentro del experimento.

Haga clic en el icono *Experiment* (Experimento) en el recuadro del extremo izquierdo para abrir una plantilla, el experimento predeterminado o uno nuevo utilizando el asistente.



Presentación de experimentos

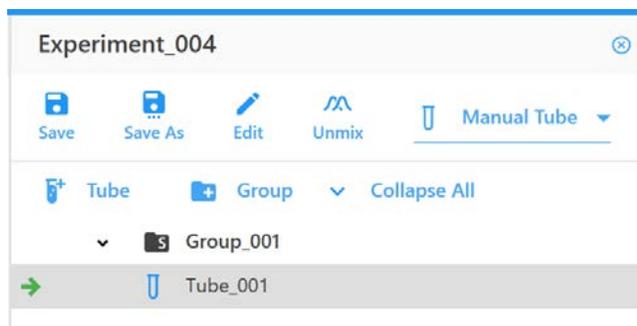
La presentación de experimentos en el módulo *Acquisition* incluye los siguientes recuadros. Para mostrar, ocultar o desacoplar (flotar) estos recuadros del cuadro de experimentos, haga clic en los iconos correspondientes en la esquina superior derecha del recuadro.

Lista y jerarquía de grupos-tubos

Las muestras se enumeran en la parte superior izquierda de la pantalla. Las muestras se pueden organizar en grupos. Utilice los iconos \oplus *Tube* (Tubo) y \oplus *Group* (Grupo) para agregar tubos y grupos. Si se procesan desde un *Loader* (Cargador), haga clic en *Add Plate or Rack* (Agregar placa o gradilla) para agregar un nuevo transportador de muestras. Haga clic en *Plate View* (Vista de placa) para mostrar una imagen gráfica del transportador en lugar de la lista de grupos.

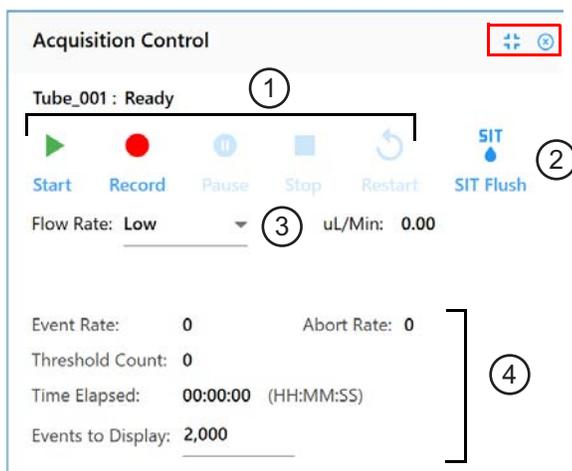
Haga clic en *Save* (Guardar) para guardar los cambios en el experimento o haga clic en *Save As* (Guardar como) para guardar una plantilla de experimento. Haga clic en *Edit* (Modificar) para modificar el experimento. Se pueden aplicar hojas de trabajo al experimento, a grupos o a tubos individuales.

Modo *Tube*



Acquisition Control (Control de adquisición)

El recuadro *Acquisition Control* permite iniciar, detener y pausar la adquisición, grabar datos y reiniciar los contadores de adquisición. Los controles de adquisición se activan cuando hay un tubo en el SIP. Para mostrar, ocultar o desacoplar (flotar) este recuadro del cuadro de experimentos, utilice los iconos de acoplar/desacoplar y ocultar de la esquina superior derecha.



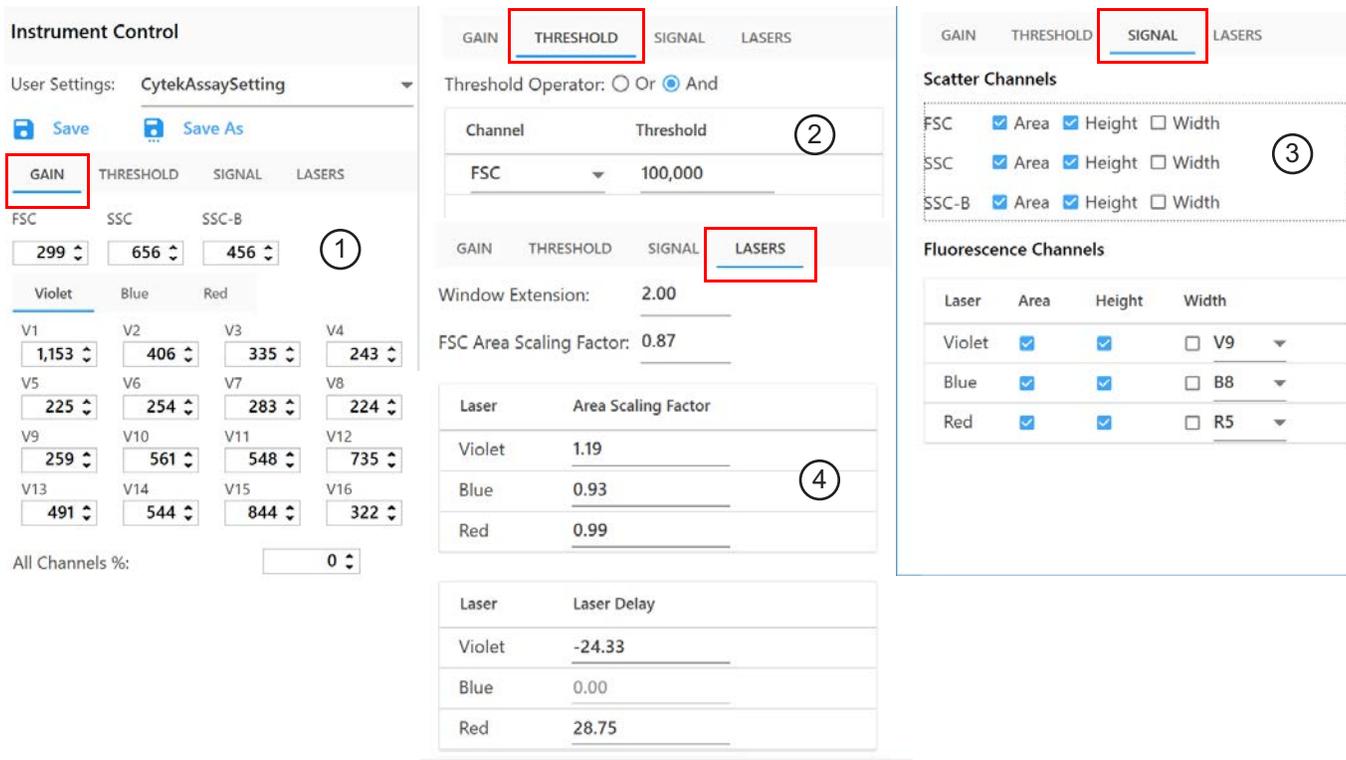
En la tabla siguiente se describen los controles del recuadro *Acquisition Control*.

N.º	Control	Descripción
1	<i>Start/Record/Pause/Stop/Restart</i> (Iniciar/Grabar/Pausar/Detener/Reiniciar)	<i>Start</i> y <i>Record</i> se activan cuando hay un tubo en el SIP. Seleccione <i>Start</i> para iniciar la adquisición. Seleccione <i>Record</i> para grabar datos. <i>Record</i> también puede iniciar la adquisición. Seleccione <i>Pause</i> para pausar la grabación. Mientras está en pausa, puede ajustar el volumen de adquisición. Seleccione <i>Record</i> de nuevo para continuar. Seleccione <i>Stop</i> para detener la adquisición. Seleccione <i>Restart</i> para reiniciar los contadores de adquisición. Se actualizan todos los eventos y resultados mostrados. <i>Stop</i> y <i>Restart</i> se activan una vez que se selecciona <i>Start</i> . <i>Stop</i> y <i>Pause</i> se activan una vez que se selecciona <i>Record</i> .
2	<i>SIT Flush</i> (Purga del SIT)	Seleccione para realizar una <i>SIT Flush</i> .
3	<i>Flow Rate</i> (Volumen de adquisición)	Seleccione <i>Low</i> (Bajo, 15 µl/min), <i>Medium</i> (Medio, 30 µl/min) o <i>High</i> (Alto, 60 µl/min). Se muestra el volumen exacto.
4	<i>Event Rate, Abort Rate, Threshold Count, Time Elapsed</i> (Tasa de eventos, Tasa de cancelación, Recuento de umbrales, Tiempo transcurrido)	Muestra los recuentos en tiempo real durante la adquisición.
5	<i>Events to Display</i> (Eventos para mostrar)	Introduzca el número de eventos que se mostrarán durante la adquisición.

Instrument Control (Control del instrumento)

El recuadro *Instrument Control* consta de las pestañas *Gain, Threshold, Signal* y *Lasers* (Ganancia, Umbral, Señal y Láseres) para su uso en el ajuste de la configuración del instrumento.

User Settings (Configuración de usuario) le permite seleccionar *CytekAssaySetting, Default* (Predeterminado) o cualquier configuración de usuario guardada para el experimento. Recomendamos usar *CytekAssaySetting* como punto de partida. Esta configuración ofrece la resolución óptima para cada canal, admite señales brillantes y minimiza la dispersión. Mientras utiliza *CytekAssaySetting*, solo tendrá que ajustar las ganancias de FSC, SSC y *Threshold*.

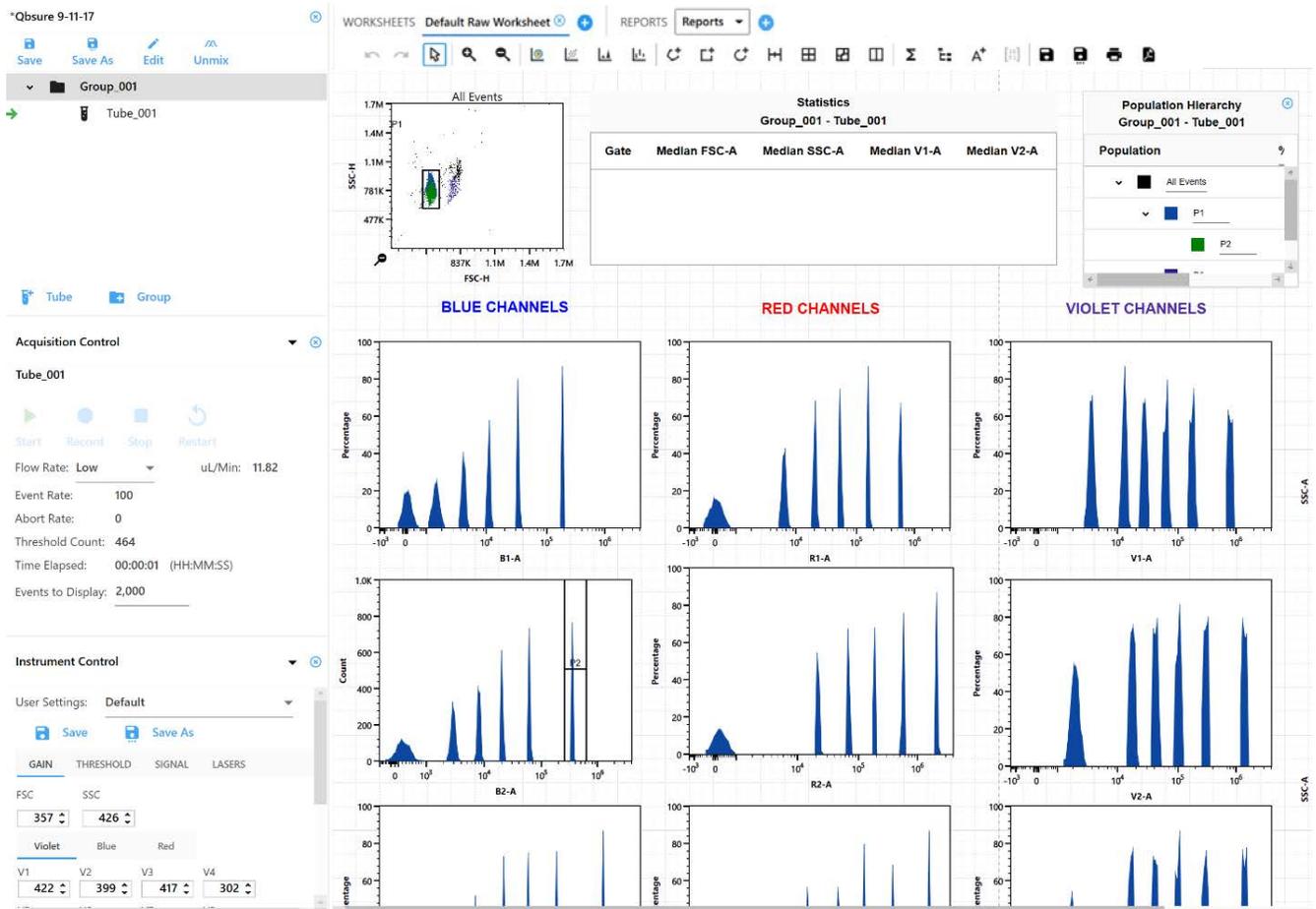


En la tabla siguiente se describen las pestañas del recuadro *Instrument Control*.

N.º	Pestaña	Descripción
1	<i>Gain</i>	Las ganancias se pueden ajustar para todos los canales detectores para todos los láseres usando los selectores de ganancia. La ganancia de FSC se puede ajustar de 1 a 1000. Las ganancias de SSC y del detector de fluorescencia se pueden ajustar de 10 a 10 000. Para cambiar el valor que aumenta la ganancia, véase “ Preferencias de adquisición ” en la página 75 . Utilice el % <i>All Channels</i> (Todos los canales) para aumentar o disminuir todas las ganancias de un láser seleccionado en el porcentaje que seleccione.
2	<i>Threshold</i>	Utilice la pestaña <i>Threshold</i> para fijar el parámetro de umbral y el valor mínimo del umbral del canal. Se pueden definir varios parámetros como umbral mediante el operador <i>AND</i> (Y) u <i>OR</i> (O). Utilice <i>OR</i> cuando haya al menos un parámetro disponible.
3	<i>Signal</i>	Utilice la pestaña <i>Signal</i> para seleccionar el área, la altura o la anchura de cada señal. El área y la altura se pueden seleccionar para todos los canales. La anchura solo se puede seleccionar para un canal por láser.
4	<i>Lasers</i>	Utilice la pestaña <i>Lasers</i> para fijar el factor de escala de área y el retardo entre láseres. Estos valores se fijan y actualizan automáticamente en todas las configuraciones de usuario al finalizar el <i>Daily QC</i> (CC diario). ■ NOTA: Si procesa células grandes y la configuración más baja de ganancia de FSC no es lo suficientemente baja como para ver las células, reduzca el factor de escala de área de FSC (por ejemplo, 0,5).

Hoja de trabajo

La hoja de trabajo permite ver los datos en gráficos y crear gráficos, estadísticas, jerarquía de la población y ventanas de adquisición. Haga clic en el icono de la hoja de trabajo en el recuadro del extremo izquierdo para seleccionar, importar, guardar e imprimir hojas de trabajo.



Barra de herramientas de la hoja de trabajo

Una barra de herramientas situada en la parte superior del área de la hoja de trabajo permite deshacer/rehacer, usar el zoom, crear gráficos, ventanas de adquisición, estadísticas, jerarquía de la población, anotaciones, y también guardar, imprimir y guardar un PDF de la hoja de trabajo. Mantenga el cursor sobre un icono para ver una descripción y un método abreviado de teclado.



Gráficos

Se pueden crear cuatro tipos de gráficos en la hoja de trabajo:

- gráficos de puntos
- gráficos en seudocolor (gráficos de densidad)
- gráficos de histograma
- gráficos espectrales

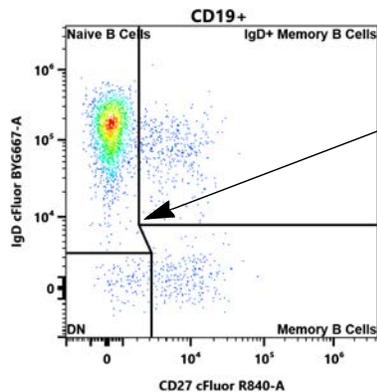
Para cambiar las propiedades de un gráfico, haga clic con el botón derecho del ratón en el gráfico y seleccione *Properties* (Propiedades). Puede seleccionar el tipo de gráfico, los parámetros, la escala, el color de fondo y las etiquetas.

Plot Properties		Density Plot Options	
General		Density Levels:	<input type="text" value="15"/>
Plot Gate:	<input type="text" value="Tube_001_All Events"/>	Miscellaneous	
Plot Type:	<input type="text" value="Pseudocolor Plot"/>	Background Color:	<input type="text"/>
Parameters		<input type="checkbox"/> Include Plate Name	
X Axis Parameter:	<input type="text" value="FSC-A"/>	<input type="checkbox"/> Include Group Name	
X Axis Scale:	<input type="text" value="Linear"/>	<input checked="" type="checkbox"/> Include Tube Name	
Y Axis Parameter:	<input type="text" value="SSC-A"/>	<input checked="" type="checkbox"/> Include Population Name	
Y Axis Scale:	<input type="text" value="Linear"/>	<input type="checkbox"/> Include Custom Title	<input type="text"/>
Layout			
Width:	<input type="text" value="300"/>	Height:	<input type="text" value="300"/>

Ventanas de adquisición

Los tipos de ventanas de adquisición son los siguientes:

- Rectángulo
- Elipse
- Polígono
- Intervalo
- Cuadrantes articulados
- Cuadrantes escalonados (seleccione y arrastre un controlador de desplazamiento para mover el segmento de cuadrante hacia arriba o hacia abajo)
- Binario



Haga clic y arrastre el controlador para mover el segmento de cuadrante hacia arriba o hacia abajo.

Propiedades de las ventanas de adquisición

Las propiedades de las ventanas de adquisición se pueden cambiar haciendo clic con el botón derecho del ratón en la ventana de adquisición. Puede cambiar el nombre de la ventana de adquisición, su color y el grosor de la línea delimitadora de la ventana. También puede seleccionar si desea mostrar el recuento o el % de eventos parentales dentro de la ventana de adquisición, así como los parámetros de la ventana.

Gate Properties

Gate Name:

Gate Color:

Count % Parent

Gate Boundary Line Weight:

Gate Borderline Color:

Parameters

X Axis Parameter:

Y Axis Parameter:

Ventanas de adquisición booleanas (lógicas)

Seleccione varias ventanas de adquisición y haga clic con el botón derecho del ratón para abrir un menú para:

- Formar una intersección de las ventanas de adquisición con el operador *AND* (Y): los eventos que estén presentes en todas las ventanas seleccionadas forman parte de la población de la intersección de las ventanas.
- Unir las ventanas de adquisición con el operador *OR* (O): los eventos que estén presentes al menos en una de las ventanas de adquisición forman parte de la población de las ventanas unidas. Puede asignar un nuevo color para la ventana de adquisición unida o conservar el color original (véase “Propiedades de las ventanas de adquisición” en la página 52).



Estadística

Para crear un cuadro de estadística, haga clic en el icono *Statistics* (Estadística) de la barra de herramientas de la hoja de trabajo y después haga clic en el área de la hoja de trabajo.



Seleccione la casilla de verificación de población junto a las poblaciones que tienen estadísticas que mostrar. Para agregar una estadística, seleccione la estadística en la lista *Statistics Variable* (Variable estadística).

Seleccione el parámetro que desea agregar para la estadística. Se pueden seleccionar varios parámetros a la vez.

El software ofrece una estadística de recuentos/μl que se puede calcular para cualquier ventana de adquisición.

Para ajustar la precisión de las estadísticas, seleccione la posición decimal en la tabla *Decimal Places* (Posiciones decimales). Para eliminar una estadística, haga clic con el botón derecho del ratón en el encabezado de la columna y seleccione *Delete* (Eliminar).

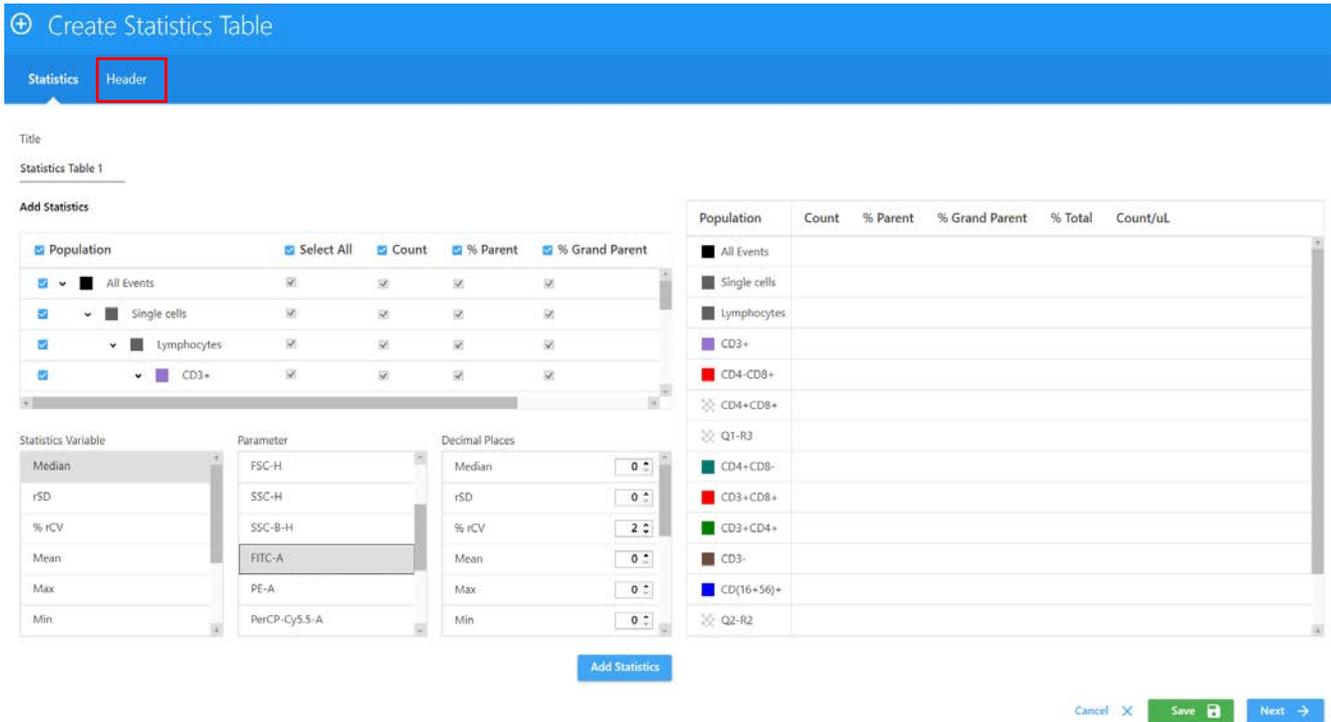
Puede agregar palabras clave a las estadísticas.

A screenshot of a software dialog box titled "Create Statistics Table". The dialog has a blue header with a plus icon and the title. Below the header, there are two tabs: "Statistics" and "Header". The "Header" tab is selected. Below the tabs, there is a section titled "Select a Control to View" with two options: "Custom keywords" and "Standard keywords". To the right of this section is a table with two columns: "Keyword" and a checkbox. The table lists several keywords with their corresponding checkboxes: \$PAR, \$TOT, \$MODE, \$NEXTDATA, \$BYTEORD, \$DATATYPE, and \$BEGINDATA. The "Select All" checkbox is checked.

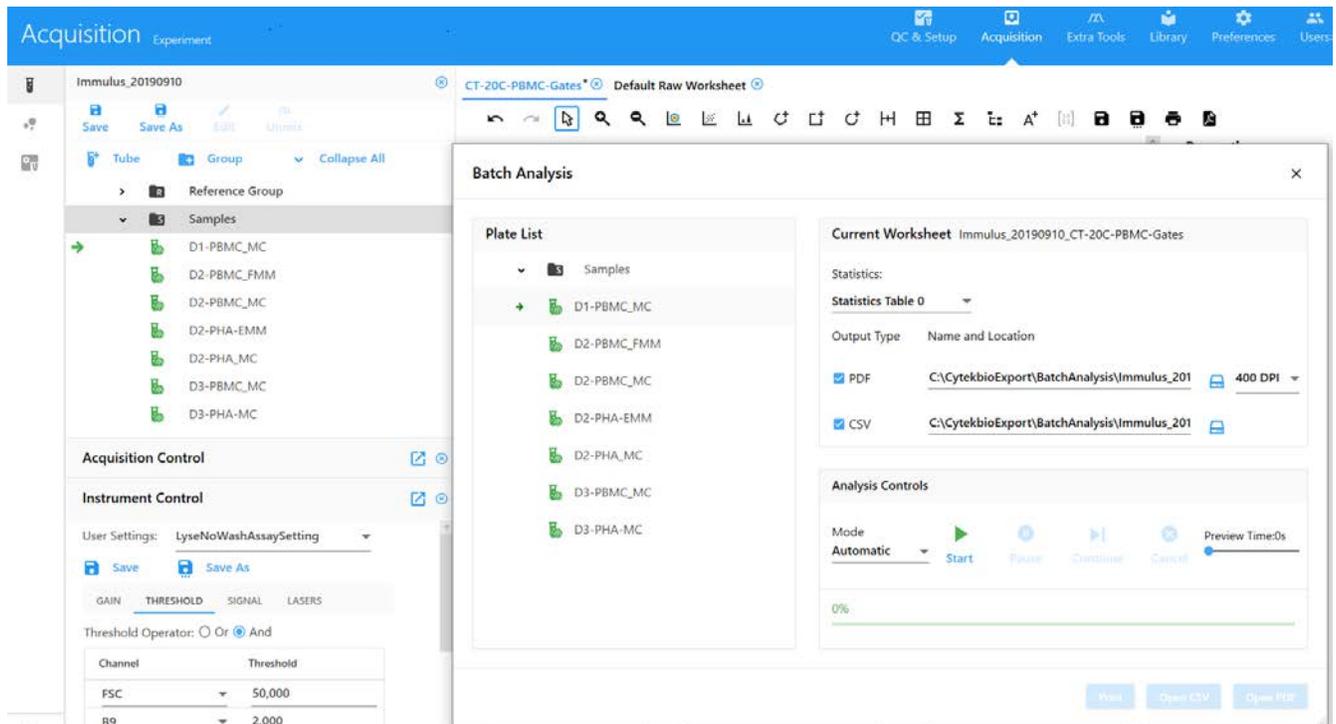
Keyword	<input checked="" type="checkbox"/> Select All
\$PAR	<input type="checkbox"/>
\$TOT	<input type="checkbox"/>
\$MODE	<input type="checkbox"/>
\$NEXTDATA	<input type="checkbox"/>
\$BYTEORD	<input type="checkbox"/>
\$DATATYPE	<input type="checkbox"/>
\$BEGINDATA	<input type="checkbox"/>

Una vez que finalice las estadísticas, puede exportarlas como un archivo CSV a la ubicación que elija. La salida de estadísticas se puede añadir o sobrescribir si exporta las estadísticas al mismo archivo CSV.

Puede agregar palabras clave a la tabla de estadística para exportar. Haga clic en la pestaña *Header* (Encabezado) de la ventana *Create Statistics Table* (Crear tabla de estadística) y seleccione las palabras clave que desea exportar.



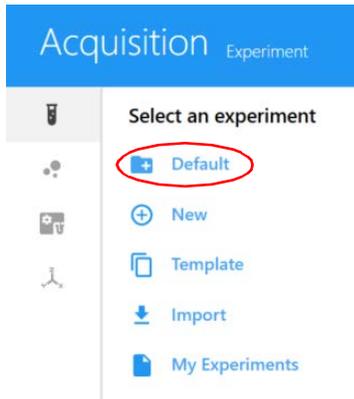
Para exportar estadísticas de varios tubos, seleccione un grupo o varios tubos y después haga clic con el botón derecho del ratón para seleccionar *Batch Analysis* (Análisis por lotes). Se pueden exportar archivos PDF y CSV con datos para varios tubos.



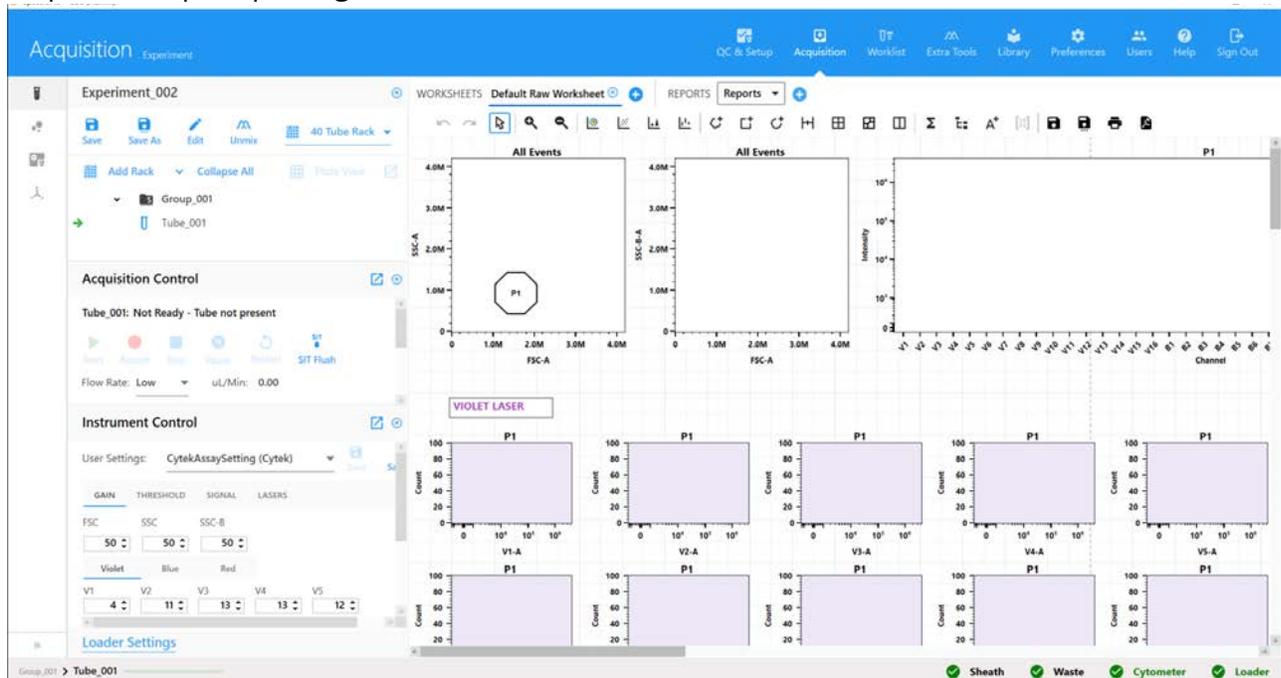
Creación de un experimento predeterminado

Utilice la opción de experimento predeterminado para iniciar rápidamente un experimento. El experimento predeterminado contiene un conjunto de marcadores fluorescentes; sin embargo, todos los parámetros son configurables por el usuario.

- 1 Haga clic en *Default* (Predeterminado) en el menú *Acquisition Experiment* (Experimento de adquisición).



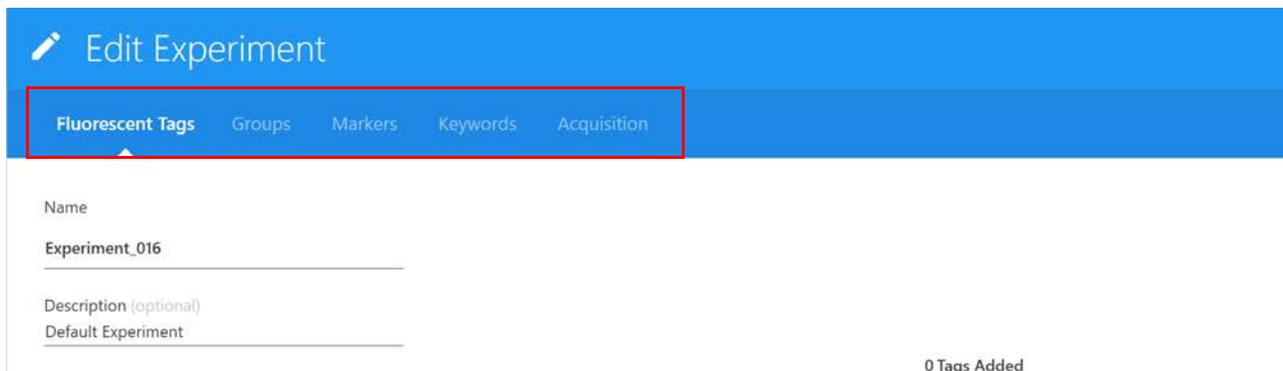
El experimento predeterminado se abre con una hoja de trabajo predeterminada para datos sin procesar, para placa/gradilla de 40 tubos.



- 2 Seleccione el tipo de transportador.
- 3 Haga clic en *Edit* (Modificar).

Aparece el mismo asistente que al crear un experimento nuevo. Siga los pasos para seleccionar los marcadores fluorescentes, agregar grupos y definir los marcadores, las palabras clave y la configuración de adquisición/hojas de trabajo.

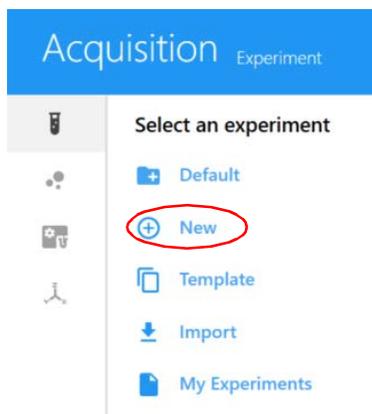
Véase “Creación de un experimento nuevo” en la página 56 para obtener más datos sobre el modo de definir la información en el asistente de experimentos.



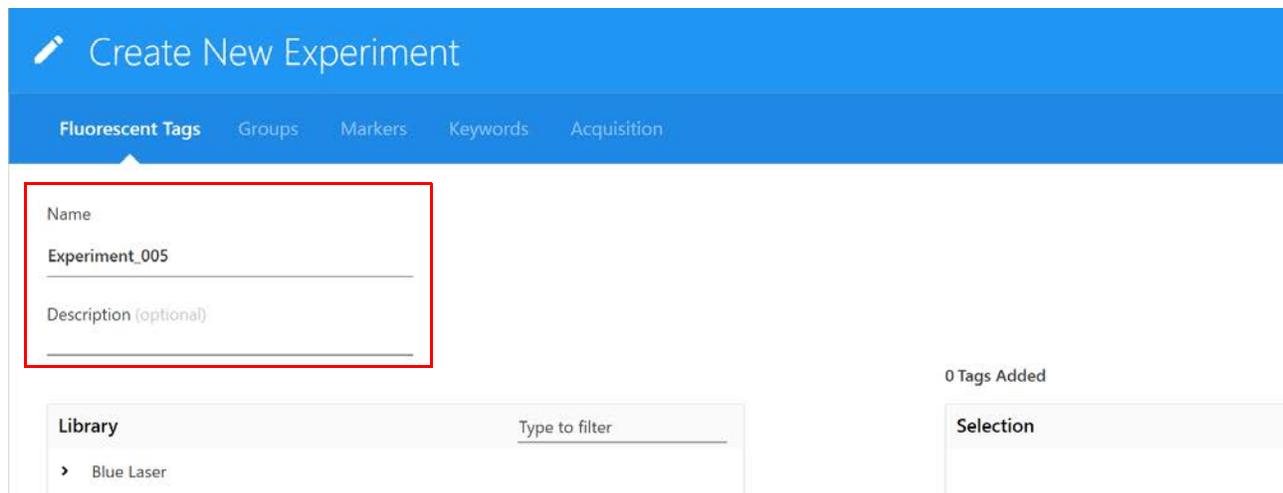
Creación de un experimento nuevo

Al seleccionar *New* (Nuevo) en el menú *Acquisition Experiment* (Experimento de adquisición) se abre el asistente *Create New Experiment* (Crear experimento nuevo). El asistente le guiará a través de los pasos para crear un experimento nuevo.

- 1 Haga clic en *New* en el menú *Acquisition Experiment* (Experimento de adquisición).



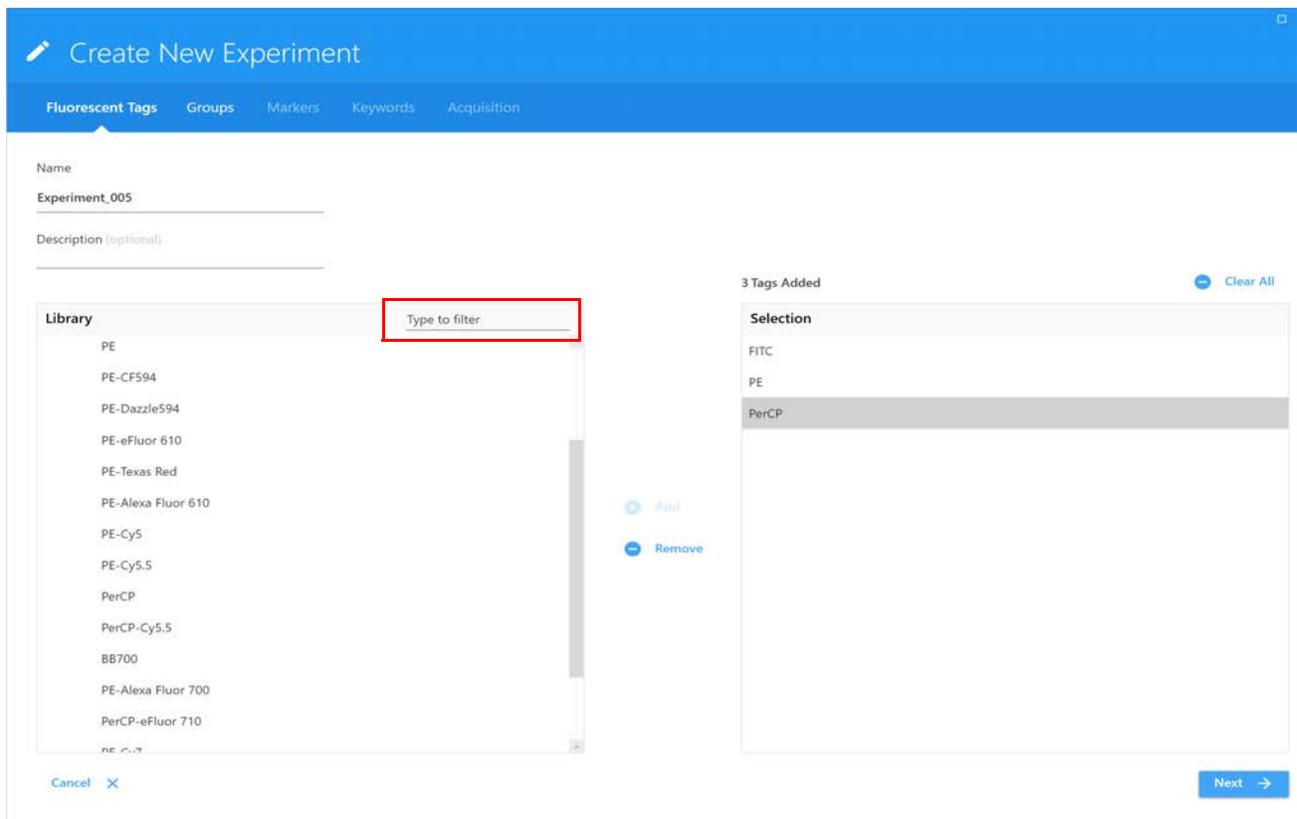
- 2 Se abre el asistente *Create New Experiment* (Crear experimento nuevo). Especifique un nombre para el experimento o utilice el nombre predeterminado. (Opcional) Escriba una descripción.



- Haga clic en la flecha situada a la izquierda del nombre del grupo (láser) en el recuadro *Library* (Biblioteca) de la izquierda para mostrar la lista de sus marcadores fluorescentes. Seleccione los marcadores fluorescentes utilizados en el experimento y haga clic en **+** *Add* (Agregar) para agregarlos a la lista *Selection* (Selección) de la derecha. También puede hacer doble clic en un marcador para agregarlo a la lista *Selection*.

Para buscar rápidamente un marcador fluorescente, escriba el nombre del marcador en el cuadro de texto *Type to filter* (Escribir para filtrar). En la biblioteca hay disponible una lista predeterminada de marcadores fluorescentes para cada grupo. Véase “[Marcadores fluorescentes](#)” en la página 67.

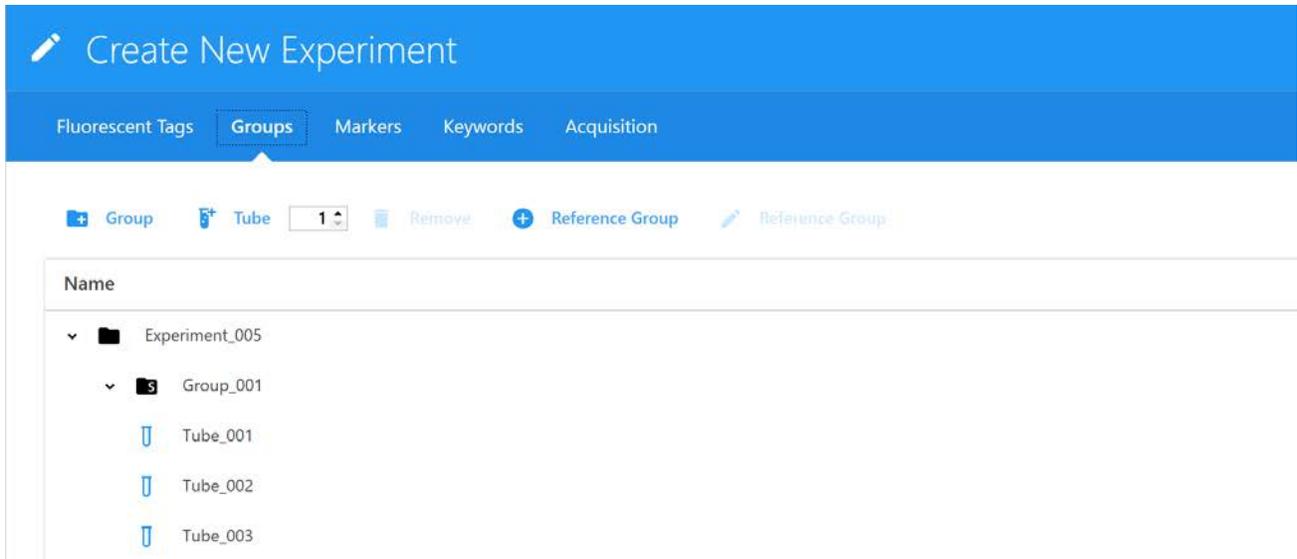
Debe seleccionar todos los marcadores fluorescentes presentes en el experimento, ya que esto determinará qué controles de referencia se utilizarán durante la deconvolución espectral.



Para quitar marcadores fluorescentes individuales de la lista *Selection*, haga clic para seleccionar el marcador y después haga clic en *Remove* (Quitar). Para quitar todos los marcadores fluorescentes, haga clic en *Clear All* (Borrar todo).

- Una vez seleccionados todos los marcadores fluorescentes de la lista *Library* (Biblioteca), confirme la lista en el recuadro de selección y después haga clic en *Next* (Siguiendo).
- Asegúrese de que se ha seleccionado el *Carrier Type* (Tipo de transportador) correcto (*Manual Tube* [tubo manual], *40 Tube Rack* [Gradilla de 40 tubos] o tipo de placa) y después cree grupos para las muestras seleccionando **+** *Group* (Grupo). Agregue tubos a los grupos, a la placa o a la gradilla de 40 tubos.

- 6 Cree grupos para las muestras seleccionando **+ Group**. Agregue tubos a los grupos.



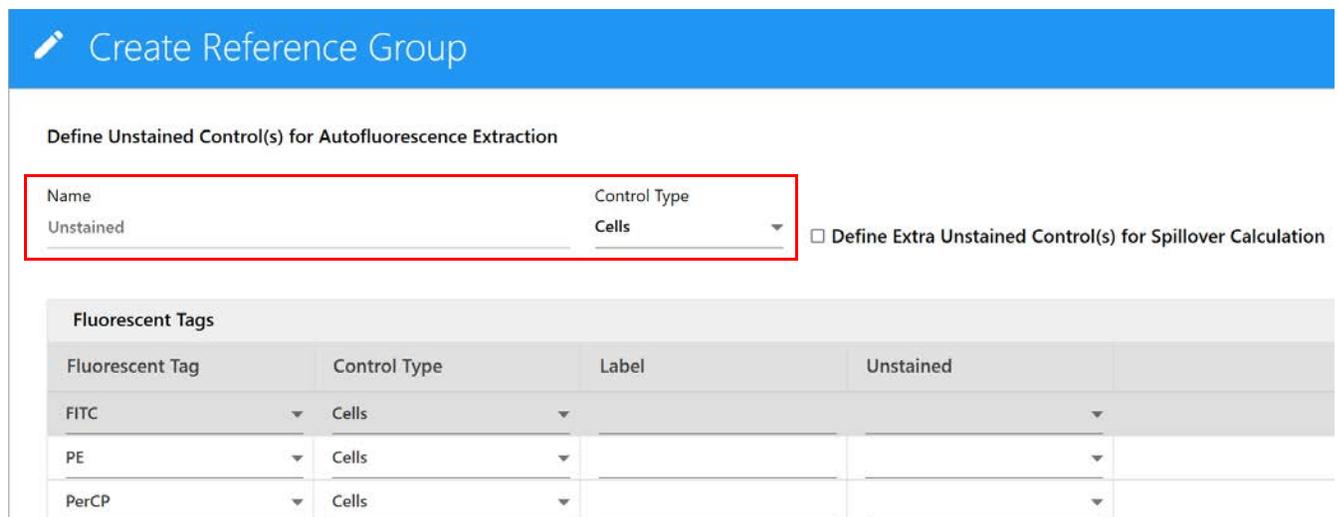
- 7 Seleccione **+ Reference Group** (Grupo de referencia) si desea separar con todos o con algunos controles adquiridos en este experimento.

Esto crea una lista de tubos de control de referencia para cada marcador fluorescente especificado como parte del experimento.

■ **NOTA:** Si planea deconvolucionar las muestras utilizando únicamente los controles de referencia procesados en *QC & Setup* (CC y configuración), no es necesario realizar el paso 7.

■ **NOTA:** Al utilizar controles de la biblioteca de referencias y procesar controles en tiempo real, eliminará los controles utilizados de la biblioteca y procesará los demás controles. Al deconvolucionar, agregará los controles de la biblioteca para deconvolucionar todos los controles.

- 8 **IMPORTANTE:** Defina un control sin teñir para la autofluorescencia seleccionando su tipo de control (microesferas o células). El control sin teñir tiene que ser del mismo tipo y estar preparado de la misma manera que las muestras, ya que esto garantizará una deconvolución y una cuantificación de autofluorescencia precisas.



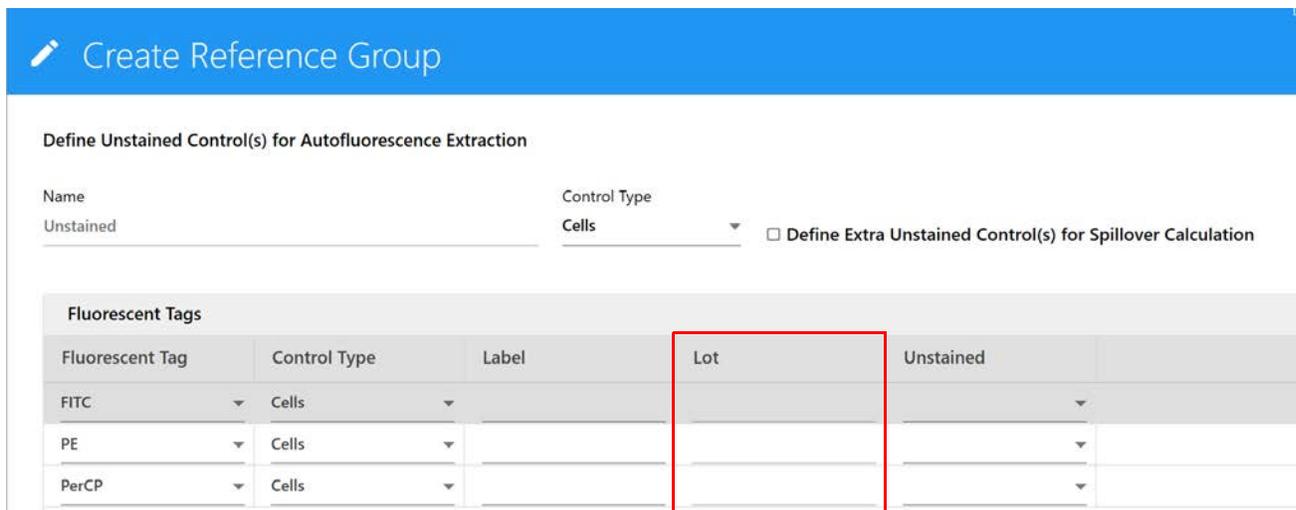
- 9 Si procede, seleccione *Define Extra Unstained Control(s) for Spillover Calculation* (Definir control[es] adicional[es] sin teñir para calcular la contaminación espectral) para utilizar un control sin teñir diferente para calcular la contaminación espectral para los controles de referencia. A continuación, introduzca un nombre y un tipo de control para este control adicional sin teñir.

Por ejemplo, si las muestras de prueba son células y los controles de referencia son microesferas, todas solo con picos positivos, tendrá que procesar un tubo separado de microesferas negativas para el cálculo de la contaminación espectral. No es necesario un control adicional sin teñir si el control de autofluorescencia sin teñir (y la muestra) es del mismo tipo que los controles de referencia.

Name	Control Type
Unstained CompBeads	Beads

- 10 Seleccione el tipo de control (microesferas o células) para los controles de referencia de tinción única.
- 11 (Opcional) Introduzca la etiqueta (por ejemplo, nomenclatura CD) que se conjuga con el marcador fluorescente.
- 12 Si procede, introduzca el número o números de lote de los controles de referencia.

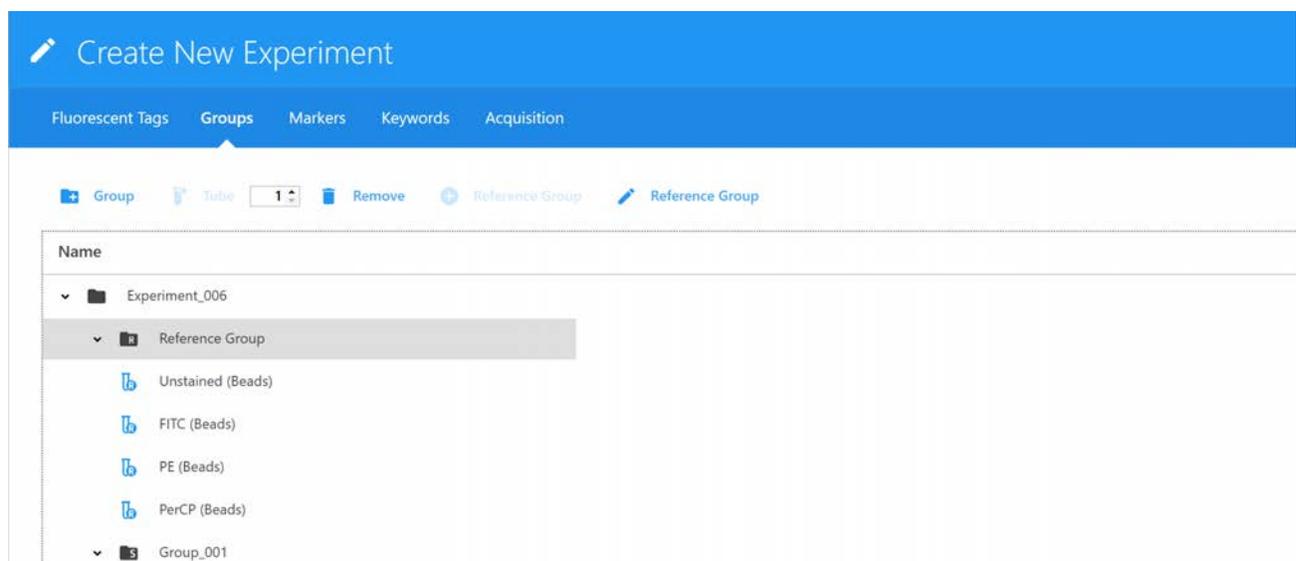
■ **NOTA:** Si ha seleccionado *Label/Lot Specific Unmixing* (Deconvolución específica por lotes/etiquetas) en *Acquisition Preferences* (Preferencias de adquisición; véase la [página 76](#)), el software buscará en la biblioteca y en los grupos de referencia de experimentos controles de referencia que tengan el mismo marcador fluorescente, etiqueta e información de lote para utilizar el control correspondiente para la deconvolución.



■ **NOTA:** Utilice el icono rojo de papelera para eliminar un tubo individual del grupo de referencia. Esto puede ser necesario si desea mezclar y relacionar referencias adquiridas en este experimento con controles de referencia procesados en *QC & Setup* (CC y configuración). Cualquier control almacenado que planea utilizar se debe eliminar del grupo de referencia.

13 Haga clic en *Save* (Guardar).

Una vez creado el grupo de referencia, se mostrarán las entradas para cada una de las referencias. Cada uno de los tubos del grupo de referencia tendrá asociado un icono (con la letra R) bajo el grupo de referencia.



14 Si es necesario, continúe agregando tubos y haga clic en *Next* (Siguiente) cuando haya creado todos los tubos.

15 Añada marcas/etiquetas a los tubos de muestra restantes antes de continuar. Se pueden elegir en la lista *Labels* (Etiquetas) de la derecha, escribir directamente en la tabla o copiar y pegar. Se pueden agregar etiquetas a nivel de grupo o de tubo y se pueden aplicar a varias celdas seleccionadas a la vez. Las etiquetas son necesarias para los controles de referencia si ha seleccionado *Label/Lot Specific Unmixing* (Deconvolución específica por lotes/etiquetas) en *Acquisition Preferences* (Preferencias de adquisición; véase la [página 76](#)). Haga clic en *Next* (Siguiente) cuando todos los tubos estén etiquetados.

■ **NOTA:** Si ha seleccionado *Label/Lot Specific Unmixing*, el software buscará en la biblioteca y en los grupos de referencia de experimentos controles de referencia que tengan el mismo marcador fluorescente, etiqueta e información de lote para utilizar el control correspondiente para la deconvolución.

Name	FITC	PE	PerCP
Experiment_006			
Reference Group			
Unstained (Beads)			
FITC (Beads)			
PE (Beads)			
PerCP (Beads)			

16 (Opcional) Introduzca palabras clave personalizadas y haga clic en *Next*.

Se pueden agregar palabras clave personalizadas a nivel de experimento, grupo o tubo. Debe definir las palabras clave personalizadas en *Library* (Biblioteca) antes de agregarlas a un experimento (véase “*Keywords (Palabras clave)*” en la página 69 para obtener más información). Arrastre y suelte las palabras clave de la lista *Keywords (Palabras clave)* a la derecha del experimento, grupo o tubo e introduzca los valores de las palabras clave según sea necesario. También puede copiar y pegar palabras clave personalizadas a lo largo de diferentes tubos en este asistente.

Name	Keyword	Value	Keyword	Value	Keyword	Value	Keyword
Test-Keywords							
Reference Group							
Setup							
Samples							
WB1	Sample ID	A01	Patient Name	ABC	Age	25	
WB2	Sample ID	A02	Patient Name	XYZ	Age	46	

17 Seleccione la configuración de adquisición y la(s) hoja(s) de trabajo. El menú de hoja de trabajo enumera todas las hojas de trabajo del usuario indicado.

- Seleccione *Default Raw Worksheet (Raw)* (Hoja de trabajo predeterminada para datos sin procesar) para el *Reference Group* (Grupo de referencia) y para los grupos de muestras si tiene previsto realizar una deconvolución posterior a la adquisición.

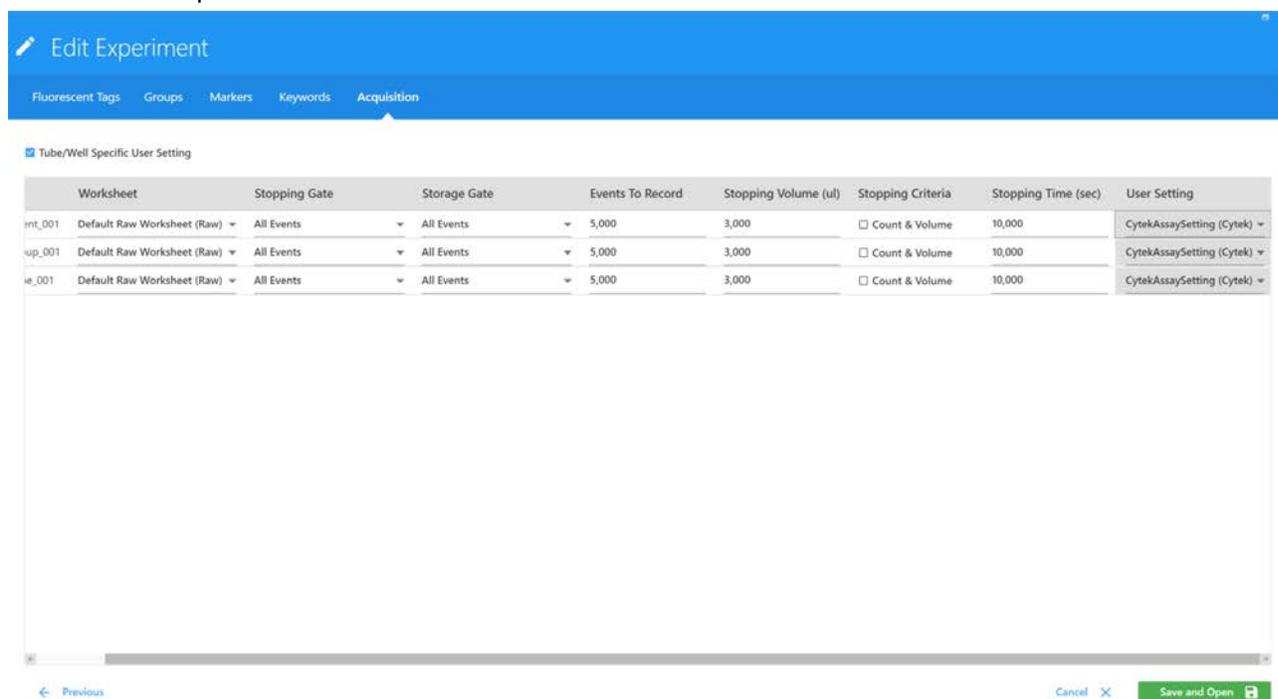
- Seleccione *Default Unmixed Worksheet (Unmixed)* (Hoja de trabajo predeterminada para datos sin deconvolucionar) o cualquier hoja de trabajo para datos sin deconvolucionar creada por el usuario para los grupos de muestra si está realizando una deconvolución en tiempo real. Se pueden seleccionar hojas de trabajo a nivel de experimento, grupo o tubo.

Seleccione la ventana de adquisición de parada, la ventana de adquisición de almacenamiento, el número de eventos que desea grabar, el volumen de parada (µL), los criterios de parada o el tiempo de parada (en segundos). La adquisición se detiene cuando se cumple el primer criterio de parada (tiempo, volumen, número de eventos). Estos criterios se pueden seleccionar a nivel de experimento, grupo o individual.

- Si se adquieren microesferas, se recomienda recoger 5000 eventos individuales.
- Si se adquieren células, se recomienda recoger de 10 000 a 20 000 eventos de la población deseada.

■ **NOTA:** El número de eventos que adquirir depende de la población deseada. Por ejemplo, es posible que necesite adquirir de 10 000 a 20 000 eventos para obtener 2000 de la población deseada. Se necesitan aproximadamente de 1000 a 2000 eventos en las poblaciones tanto negativa como positiva de cada control para una deconvolución precisa.

- 18 Seleccione *Tube/Well Specific User Settings* (Configuración de usuario específica del tubo/pocillo) si desea aplicar una configuración de usuario específica a tubos/pocillos individuales. Si se deja sin marcar, todos los tubos/pocillos del experimento utilizarán la misma configuración de usuario del experimento.



- 19 Una vez definidos la hoja de trabajo y los criterios de parada, haga clic en *Save and Open* (Guardar y abrir) para abrir el experimento nuevo.

Para realizar cualquier cambio en el experimento, haga clic en *Edit* (Modificar) encima de la jerarquía de grupos/tubos.

- 20 Para adquirir controles y muestras y realizar una deconvolución en tiempo real, véase “Deconvolución en tiempo real” en la página 98.

Creación de un ensayo

Crear nuevos ensayos

Componentes del ensayo

Un *Assay* (Ensayo) es similar a una plantilla de experimento, pero está formateado para utilizarse en una *Worklist* (Lista de trabajo) para recoger datos de muestras por lotes. Un ensayo incluye los siguientes elementos: tubos (uno o varios tubos), marcadores fluorescentes, etiquetas de marcas, hojas de trabajo (opcionales), informes (al menos uno), tiempo de vista previa, reglas de parada de recogida de datos, tipo de *Carrier* (Transportador) y *Keywords* (Palabras clave).

Crear informes

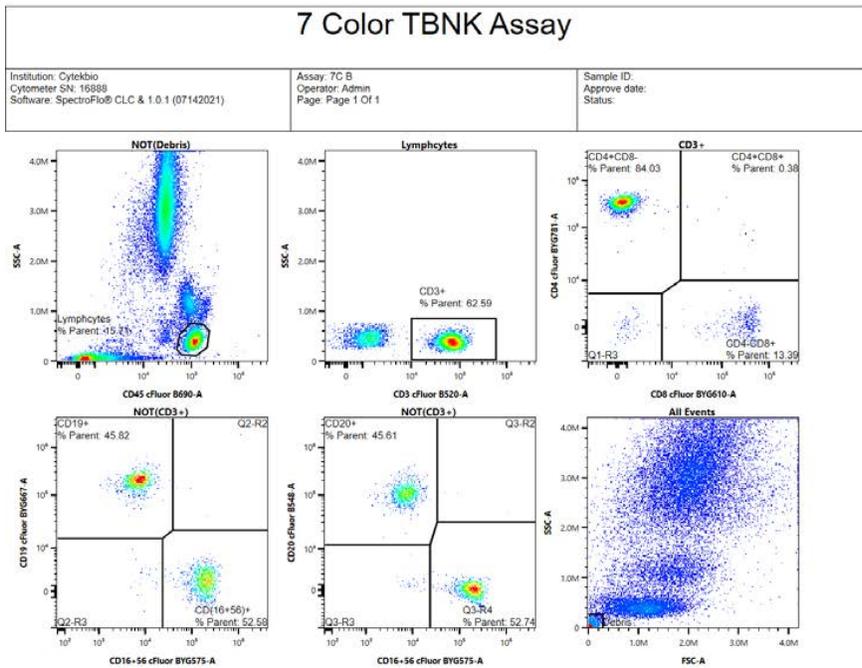
Los experimentos se pueden guardar como *Assays*. Un ensayo debe contener al menos un informe.

- 1 Haga clic en el signo más situado a la derecha de *Reports* (Informes) en la barra de herramientas del experimento para crear un informe.
- 2 Haga doble clic en el *Report* correspondiente para modificar el nombre del informe.



- 3 Haga clic en el informe.
Puede modificar el informe y agregar elementos como gráficos, ventanas de adquisición, elementos estadísticos, información de encabezado y pie de página. Agregar elementos de la hoja de trabajo al informe se realiza copiando de la hoja de trabajo deseada y pegando en el informe.

4 Copie los gráficos y la jerarquía de ventanas de adquisición deseados de la hoja de trabajo y péguelos en el informe.



Gate	% Parent	% Grand Parent	Count/uL	Absolute Count
7C_B_Lymphocytes	15.71	13.66	59.44	618.22
7C_B_CD3+	62.59	9.83	37.21	386.95
7C_B_CD3+CD4+	84.41	52.84	31.41	326.65
7C_B_CD3+CD8+	13.77	8.62	5.12	53.29
7C_B_CD19+	45.82	17.14	10.19	105.97
7C_B_CD(16+56)+	52.58	19.67	11.69	121.60
7C_B_CD20+	45.61	17.06	10.14	105.48
7C_B_CD19+ AND CD20+	45.61	17.06	10.14	105.48
7C_B_CD19+ OR CD20+	45.82	17.14	10.19	105.97

Signature:
REPORT NOT SIGNED
 Comments:

- **NOTA:** Report frente a Worksheet (Hoja de trabajo)
- El Report es una hoja de presentación de datos estáticos que puede mostrar los datos de uno o más tubos.
- La Worksheet es una hoja de presentación de datos dinámicos, que muestra los datos del tubo actual con el puntero del tubo orientado hacia él y solo puede mostrar los datos de un tubo cada vez.

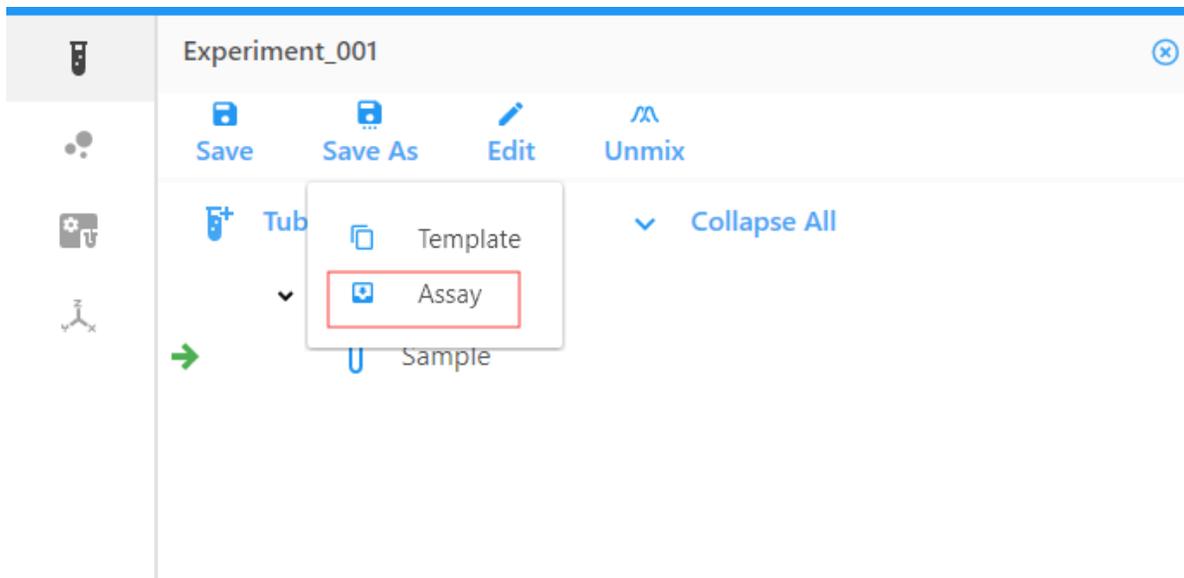
- 5 Agregar Header, Footer y Signature (Encabezado, Pie de página y Firma) en el Report.
- Seleccione los botones de los iconos de encabezado, pie de página y firma en la barra de herramientas para agregar encabezados, pies de página y cuadros de firma al informe.
 - Introduzca la información pertinente en el encabezado y pie de página según sea necesario, como el nombre del informe, el logotipo de la empresa, etc.

- 6 Haga clic con el botón derecho del ratón en el encabezado o pie de página del *Report* para seleccionar la información de una lista desplegable que muestra elementos como *Sample ID*, *Operator* (ID de la muestra, Operador), fecha de grabación de datos, etc.

7 Color TBNK Assay				
Institution: Cylekbio Cytometer SN: 16888 Software: SpectroFlo® CLC & 1.0.1 (07142021)		Assay: 7C B Operator: Admin Page: Page 1 Of 1		Sample ID: Approve date: Status:
Gate	% Parent	% Grand Parent	Count/uL	Absolute Count
7C B_Lymphocytes	15.71	13.66	59.44	619.22
7C B_CD3+	62.59	9.93	37.21	386.95
7C B_CD3+CD4+	84.41	52.84	31.41	326.65
7C B_CD3+CD8+	13.77	8.62	5.12	53.29
7C B_CD19+	45.82	17.14	10.19	105.97
7C B_CD(16+56)+	52.58	19.67	11.69	121.60
7C B_CD20+	45.61	17.06	10.14	105.48
7C B_CD19+ AND CD20+	45.61	17.06	10.14	105.48
7C B_CD19+ OR CD20+	45.82	17.14	10.19	105.97

Guardar un experimento como un ensayo

Los usuarios con los privilegios adecuados pueden utilizar *Save As-Assay* (Guardar como-Ensayo) para convertir un experimento en una plantilla de ensayo (*Assay*), que se puede utilizar en la *Worklist* (Lista de trabajo).



Biblioteca, preferencias y usuarios

Biblioteca

La biblioteca contiene información sobre diversos elementos utilizados para los experimentos. La información guardada en la biblioteca incluye lotes de microesferas de CC SpectroFlo, marcadores fluorescentes, etiquetas, configuraciones de usuario, plantillas de hojas de trabajo, plantillas de experimentos y palabras clave. La información almacenada en la biblioteca se puede guardar, exportar e importar para volverla a utilizar.

Microesferas de CC

Las ID de los lotes de microesferas de CC SpectroFlo y sus fechas de caducidad se pueden importar, exportar o eliminar de la biblioteca. El lote de microesferas de CC de las microesferas utilizadas para el *Daily QC* (CC diario) debe guardarse en la biblioteca. Seleccione *QC Beads* (Microesferas de CC) para ver una lista de lotes de microesferas de CC.

Library <small>QC Beads</small>	
QC Beads	
Import Export Remove	
Lot ID	Expiration Date
1002	December 31, 2021
1001	December 31, 2020

Marcadores fluorescentes

Marcadores fluorescentes es la designación que se da a cada molécula fluorescente diferente que el sistema puede detectar. Esto incluye, por ejemplo, fluorocromos, proteínas fluorescentes y colorantes fluorescentes de viabilidad. A cada fluorocromo singular procesado en el instrumento se le debe dar un nombre de marcador fluorescente.

De forma predeterminada, varios grupos de marcadores fluorescentes están preinstalados con el software: *Blue Laser*, *Red Laser*, *Violet Laser*, *Fluorescent Proteins* y *Viability Dyes* (Láser azul, Láser rojo, Láser violeta, Proteínas fluorescentes y Colorantes de viabilidad). Estos grupos

contienen los fluorocromos utilizados con más frecuencia excitados por los láseres integrados del sistema. Se pueden agregar marcadores adicionales a estos grupos.

The screenshot shows the 'Library' interface with a sidebar on the left containing navigation options like 'QC Beads', 'Fluorescent Tags', 'Labels', 'Keywords', 'Spillovers', 'User Settings', 'Loader Settings', 'Worksheet Templates', 'Experiment Templates', and 'Backup & Restore'. The main area is divided into two panels: 'Fluorescent Tag Groups' and 'Current Group: Blue Laser'. The 'Fluorescent Tag Groups' panel has buttons for 'Import', 'Export', 'New', 'Edit', and 'Delete'. The 'Current Group: Blue Laser' panel has buttons for 'Add', 'Edit', and 'Delete'. Below these panels is a table with columns: Name, Created By, Date Created, Date Modified, Name, Emission Wavelength, Laser Excitation, and Display Name.

Name	Created By	Date Created	Date Modified	Name	Emission Wavelength	Laser Excitation	Display Name
Blue Laser	System	August 11, 2021 - 14:29 PM	August 11, 2021	BB660	667	488	BB660
Red Laser	System	August 11, 2021 - 14:29 PM	August 11, 2021	PerCP	677	488	PerCP
Violet Laser	System	August 11, 2021 - 14:29 PM	August 11, 2021	cFluor-BYG680	680	488	cFluor-BYG680
Fluorescent Proteins	System	August 11, 2021 - 14:29 PM	August 11, 2021	BB700	693	488	BB700
Viability	System	August 11, 2021 - 14:29 PM	August 11, 2021	PE-Cy5.5	695	488	PE-Cy5.5
				cFluor B690	690	488	cFluor B690
				PerCP-Cy5.5	695	488	PerCP-Cy5.5
				PE-Fire 700	695	488	PE-Fire 700
				PerCP-Vio700	704	488	PerCP-Vio700
				cFluor BYG710	710	488	cFluor BYG710

Puede crear grupos o marcadores fluorescentes individuales seleccionando **Add** (Agregar). Tanto los grupos como los marcadores fluorescentes individuales se pueden importar o exportar.

■ **NOTA:** Si selecciona *New* (Nuevo), se creará un nuevo grupo mientras que si selecciona *Add* podrá agregar un marcador fluorescente individual a un grupo.

Para modificar las propiedades de un marcador fluorescente que ha añadido, seleccione el marcador fluorescente de interés y seleccione *Edit* (Modificar). Las propiedades que se pueden modificar incluyen el nombre del marcador fluorescente, la longitud de onda de excitación del láser, la longitud de onda de emisión y el nombre de presentación. Los marcadores predeterminados que se incluyen con el software no se pueden modificar ni eliminar. Sin embargo, se pueden exportar e importar en diferentes sistemas que ejecutan el software SpectroFlo, v2.2.

Si el fluorocromo se conoce por otro nombre o se identifica con una ortografía diferente, esos nombres u ortografías adicionales se pueden agregar como sinónimos.

Cualquier grupo que haya creado también se puede modificar en esta ventana. Los grupos predeterminados no se pueden modificar ni eliminar.

Etiquetas

Los marcadores fluorescentes se pueden conjugar o unir a proteínas que pueden unirse específicamente a otras proteínas en la superficie celular o dentro del citoplasma. También pueden ser inherentemente fluorescentes, como las proteínas fluorescentes que se pueden fusionar a diversas proteínas celulares utilizando técnicas de clonación molecular. Las proteínas que están unidas o conectadas a marcadores fluorescentes pueden designarse como etiquetas. El software viene con un conjunto inicial de etiquetas preinstaladas que se clasifican como *CD Markers*, *Chemokines*, *Chemokine Receptors* y *Cytokines* (Marcas de CD, Quimiocinas, Receptores de quimiocinas y Citocinas). Se pueden agregar etiquetas adicionales mediante **+** *Add* (Agregar) en el recuadro derecho.

Library Labels					
Library		Label Groups			Current Group:
QC Beads		Import	Export	New	Edit
Fluorescent Tags					Remove
Labels		Name	Created By	Date Created	Date Modified
User Settings		CD Markers	System	July 13, 2018 - 10:43 AM	July 13, 2018 - 10:43 AM
Worksheet Templates		Chemokine	System	July 13, 2018 - 10:43 AM	July 13, 2018 - 10:43 AM
Experiment Templates		Chemokine Receptors	System	July 13, 2018 - 10:43 AM	July 13, 2018 - 10:43 AM
Keywords		Cytokines	System	July 13, 2018 - 10:43 AM	July 13, 2018 - 10:43 AM
					CD1a
					CD1b
					CD1c
					CD1d
					CD1e

Se pueden crear nuevos grupos de etiquetas y etiquetas individuales haciendo clic en *New* (Nuevo). También se pueden importar y exportar grupos de etiquetas para su uso en otros sistemas. Las etiquetas predeterminadas no se pueden modificar ni eliminar.

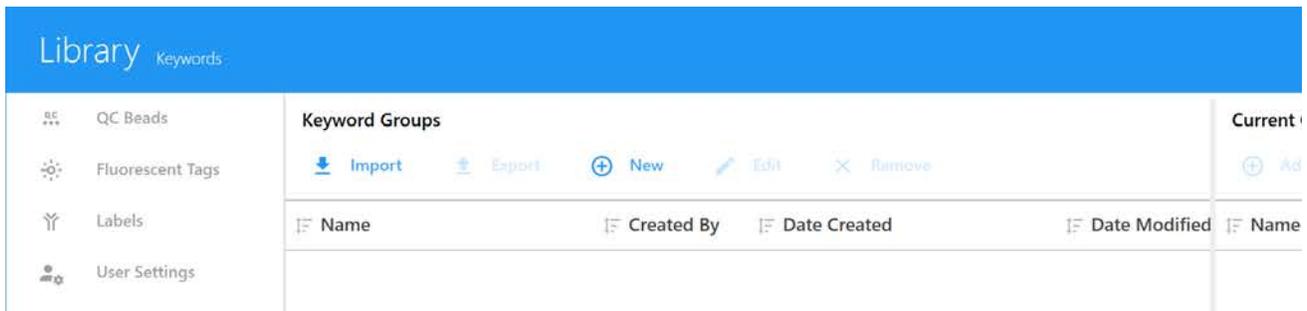
Keywords (Palabras clave)

Keywords permite escribir, importar o exportar palabras clave FCS personalizadas definidas por el usuario por grupo. Estas palabras clave se pueden asignar en un experimento al nivel del experimento, grupo o tubo y se exportan con los archivos FCS.

Se pueden crear los siguientes tipos de palabras clave:

- Numéricas
- Cadenas
- Booleanas

- Numéricas seleccionables
- Cadenas seleccionables



Palabras clave convencionales

En la tabla siguiente se describen las palabras clave convencionales de FCS 3.1 que se encuentran en los archivos FCS de SpectroFlo.

Palabra clave	Descripción
\$FIL	Nombre del tubo
\$VOL	Volumen total de muestra (microlitros)
\$DATE	Fecha en la que se adquirió el conjunto de datos FCS
\$BTIM	Hora de inicio de la adquisición de datos
\$ETIM	Hora de finalización de la adquisición de datos
\$OP	Nombre del operador
\$INST	Nombre del centro
\$CYT	Nombre del citómetro (Northern Lights)
\$CYTSN	Número de serie del citómetro
\$SPILLOVER	Matriz de contaminación espectral

Palabras clave personalizadas

En la tabla siguiente se describen las palabras clave personalizadas que se encuentran en los archivos FCS de SpectroFlo. Las palabras clave personalizadas no son necesarias como parte del estándar FCS 3.1.

Palabra clave	Descripción
APPLY COMPENSATION	<i>True</i> o <i>False</i> (Verdadero o Falso) para indicar si la compensación está activada cuando se carga el archivo FCS en SpectroFlo.
CHARSET	Codificación. UTF8.
CREATOR	Nombre y versión del software.
FSC ASF	Factor de escala de área de FSC.
GROUPNAME	Nombre del grupo de muestras.

Palabra clave	Descripción
LASER{x}NAME	Nombre de cada láser.
LASER{x}DELAY	Retardo entre láseres para cada láser.
LASER{x}ASF	Factor de escala de área para cada láser.
P{x}DISPLAY	Escala de presentación preferida.
THRESHOLD	Canal y valor de umbral.
TUBENAME	Nombre del tubo de muestra.
WINDOW EXTENSION	Extensión de ventana utilizada para grabar el tubo.
USERSETTINGNAME	Nombre de la configuración de usuario utilizada para grabar el tubo.

Los usuarios pueden cambiar el valor de una palabra clave personalizada y después seleccionar *Auto Update* (Actualización automática) para actualizar esa palabra clave en experimentos posteriores.

Name	Suffix	Type	Value	Auto Update	Description
Age		Numeric	0	<input type="checkbox"/>	
Sample Type		String		<input type="checkbox"/>	
Gender		Selectable String	M	<input type="checkbox"/>	
Dilution Factor		Numeric	1.00	<input type="checkbox"/>	

Spillovers (Contaminaciones espectrales)

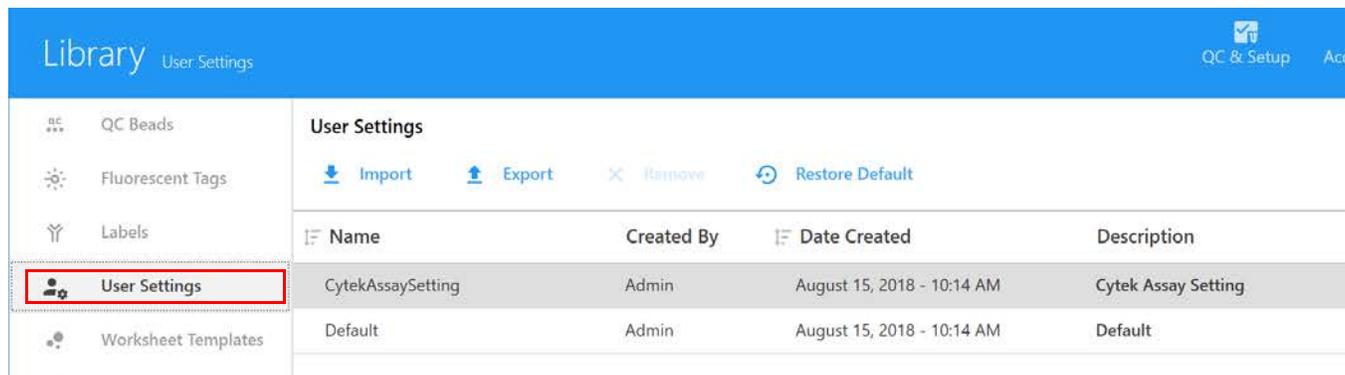
Spillovers muestra las matrices de contaminación espectral guardadas durante los experimentos. Estas matrices guardadas se pueden utilizar para otros experimentos.

Name	Created By	Date Created	Description

User Settings (Configuración de usuario)

User Settings es el conjunto de ajustes de ganancia, umbral y tipo de señal para todos los canales detectores. También se guarda la fecha de creación, así como el nombre del usuario que la creó. La configuración se guarda desde el *Instrument Control Pane* (Recuadro de control del instrumento) en el módulo *Acquisition* (Adquisición). El nombre y la descripción se pueden modificar en esta pestaña. Los administradores pueden activar la casilla de verificación *Shared* (Compartido) para permitir que todos los usuarios vean y utilicen la configuración y las hojas de trabajo creadas por otros usuarios. Esta configuración se puede guardar desde la pantalla *Acquisition*.

Si desea restablecer la configuración de usuario predeterminada definida por el sistema a su configuración original, seleccione la configuración de usuario *Default* (Predeterminado) y después haga clic en *Restore Default* (Restaurar predeterminado).



Library User Settings

QC Beads
Fluorescent Tags
Labels
User Settings
Worksheet Templates

User Settings

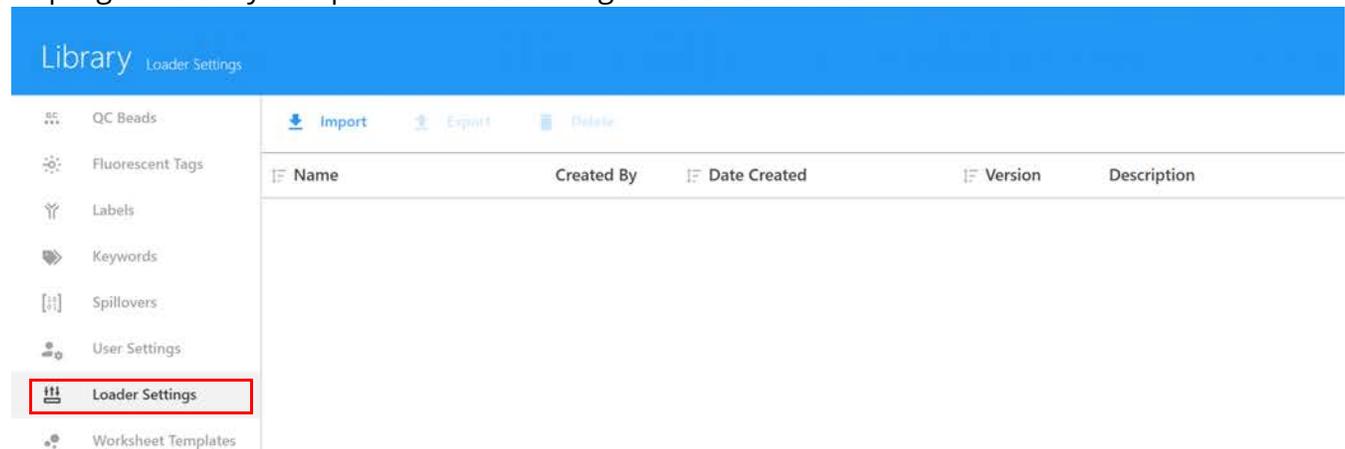
Import Export Remove Restore Default

Name	Created By	Date Created	Description
CytekAssaySetting	Admin	August 15, 2018 - 10:14 AM	Cytek Assay Setting
Default	Admin	August 15, 2018 - 10:14 AM	Default

Loader Settings (Configuración del cargador)

La configuración del cargador se puede guardar y almacenar en la biblioteca. Se muestran el nombre de la configuración, la fecha de creación de la configuración, la versión y el nombre del usuario que la creó. Haga clic en *Description* (Descripción) para agregar información sobre la configuración.

La configuración del cargador incluye tiempo y velocidad de mezcla, retorno de muestra, número de purgas del SIT y tiempo de retardo de la grabación de datos.



Library Loader Settings

QC Beads
Fluorescent Tags
Labels
Keywords
Spillovers
User Settings
Loader Settings
Worksheet Templates

Import Export Delete

Name	Created By	Date Created	Version	Description
------	------------	--------------	---------	-------------

Worksheet Templates (Plantillas de hoja de trabajo)

Todas las hojas de trabajo creadas en el módulo *Acquisition* se guardan en la biblioteca y se puede acceder a ellas a través de la pestaña *Worksheet Templates*. Las hojas de trabajo se pueden exportar como archivos WTML e importar para su reutilización. Para obtener más información acerca de las hojas de trabajo, véase [“Acerca de las hojas de trabajo” en la página 21](#).

Seleccione un usuario o usuarios para ver las plantillas de hoja de trabajo creadas por ese usuario o usuarios. Haga clic en la herramienta de la pluma para modificar la descripción de la hoja de trabajo seleccionada. Los administradores pueden activar la casilla de verificación *Shared* (Compartido) para permitir que todos los usuarios vean y utilicen las plantillas de hoja de trabajo creadas por otros usuarios. Los superusuarios pueden ver, importar y exportar plantillas de hoja de trabajo, pero no pueden eliminar plantillas creadas por otros usuarios.

Para ver una hoja de trabajo, selecciónela y haga clic en *View* (Ver). Para quitar una hoja de trabajo que ya no es necesaria, selecciónela y haga clic en *Remove* (Quitar).

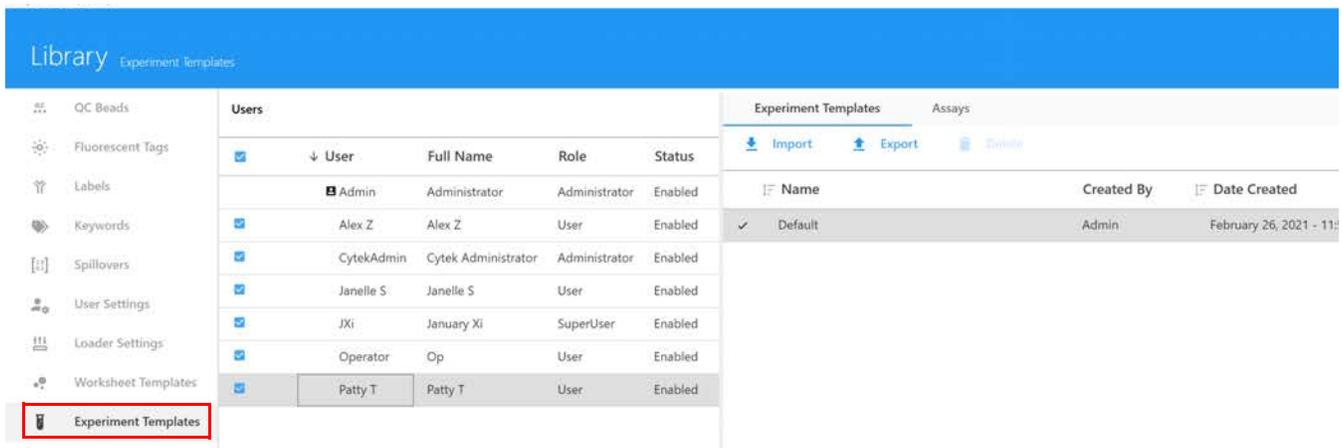
También puede restablecer las hojas de trabajo predeterminadas para datos sin procesar y deconvolucionados a sus valores predeterminados originales seleccionando la hoja de trabajo y después haciendo clic en *Restore Default* (Restaurar predeterminado).

The screenshot shows the 'Library Worksheet Templates' interface. On the left, a sidebar contains various menu items, with 'Worksheet Templates' highlighted by a red box. The main area displays a table of users and their associated worksheet templates. The table has columns for 'User', 'Full Name', 'Role', 'Status', 'Name', 'Created By', 'Type', and 'Date Created'. A modal window titled 'Default Raw Worksheet' is open, showing a graph with 'All Events' and 'DC B-A' data. The graph has a y-axis ranging from 2.0M to 4.0M and an x-axis labeled 'Intensity'.

Experiment Templates (Plantillas de experimentos)

Las plantillas de experimentos contienen los elementos principales de un experimento sin los datos. Se pueden guardar y almacenar la biblioteca para utilizarlas en el futuro. Los *Assays* (Ensayos) guardados se muestran en la pestaña de ensayos. Se muestra el nombre, la fecha y la hora de creación, la descripción y la información del creador. Las plantillas de experimentos también se pueden importar y exportar desde esta pestaña. Los ensayos se pueden utilizar para crear experimentos. Para obtener más información acerca de los experimentos, véase [“Acerca de los experimentos” en la página 18](#).

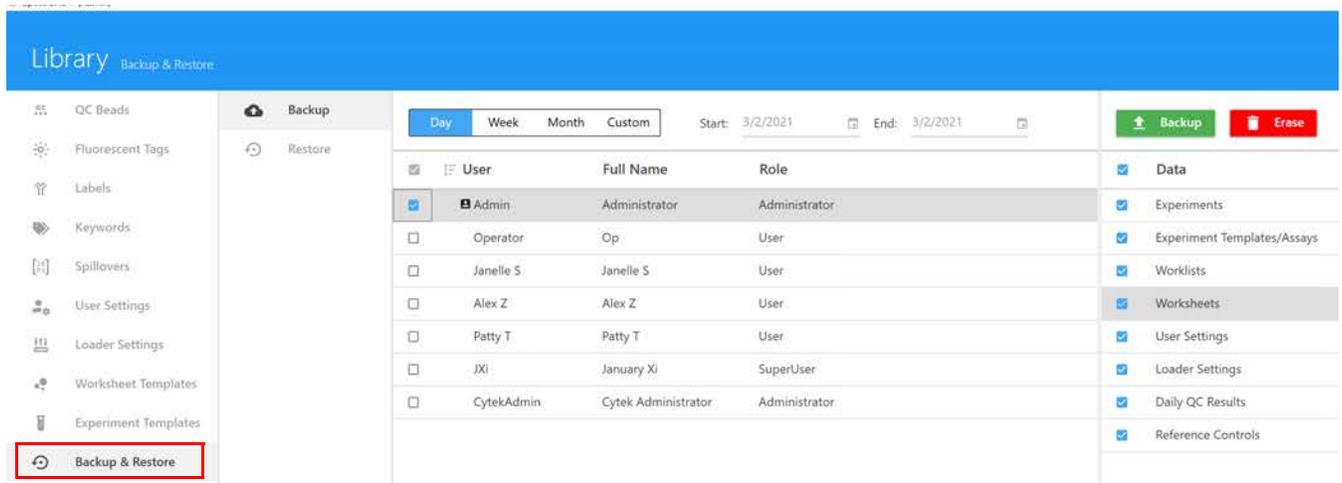
Seleccione un usuario o usuarios para ver las plantillas de experimentos creadas por ese usuario o usuarios. Haga clic en la herramienta de la pluma para modificar la descripción de la hoja de trabajo seleccionada. Los administradores pueden activar la casilla de verificación *Shared* (Compartido) para permitir que todos los usuarios vean y utilicen las plantillas de experimentos creadas por otros usuarios. Los superusuarios pueden ver, importar y exportar plantillas de experimentos, pero no pueden eliminar plantillas creadas por otros usuarios. Para eliminar una plantilla de experimento que ya no es necesaria, selecciónela y haga clic en *Delete* (Eliminar). La plantilla de experimento predeterminada no se puede eliminar.



Copia de seguridad y restauración

Los usuarios y superusuarios pueden realizar copias de seguridad de datos seleccionados de sus cuentas directamente desde el software SpectroFlo. Esto incluye experimentos, plantillas de experimentos, hojas de trabajo, configuración de usuario, configuración del cargador, resultados de CC diarios y controles de referencia. Los administradores tienen la capacidad adicional de realizar copias de seguridad de datos seleccionados de las diferentes cuentas de usuario y superusuario.

- 1 Para realizar una copia de seguridad de datos, haga clic en **Backup** (Copia de seguridad) en el panel derecho.
- 2 Elija un período (día, semana, mes o período personalizado) que incluya los datos, seleccione el usuario o usuarios.



Preferences (Preferencias)

El módulo *Preferences* permite cambiar varios elementos de funcionalidad y presentación de la interfaz de usuario del software. En la siguiente sección se describen las opciones que se pueden cambiar en el módulo *Preferences*. Cada sección de *Preferences* se puede restaurar a su configuración predeterminada seleccionando *Restore Default Preferences* (Restaurar preferencias predeterminadas).



Restore Default Preferences

Preferencias de adquisición

En la pestaña *Acquisition* (Adquisición) puede cambiar el número de eventos mostrados en los gráficos durante la adquisición, el número de purgas del SIT, el tiempo de vista previa antes de que comience la grabación, el valor de los incrementos de la configuración de ganancia al hacer clic en la flecha del cuadro de selección durante la adquisición y la *SIT Lift Distance* (Distancia de elevación del SIT). También puede introducir prefijos predeterminados para los nombres de tubos, grupos y experimentos. Una función de deconvolución específica por lotes/etiquetas le permite elegir controles de referencia específicos para la deconvolución. Las opciones de *Batch Analysis* (Análisis por lotes) permiten elegir el tipo de archivo de salida y los resultados de tubos/pocillos incluidos en el PDF.

Acquisition

- Number of Events to Display on Plots: 2,000
- Number of Automatic SIT Flush After Tube Unload: 1
- Data Review Time(Sec) After Tube Recorded: 0
- Record Data Delay Time(Sec) for Manual Tube: 0
- Gain Spinbox Up/Down Increment (Ctrl key Held): 5

Experiment

- Default Tube Name Start With: Tube_
- Default Group Name Start With: Group_
- Default Plate Name Start With: Plate_
- Default Tube Rack Name Start With: TubeRack_
- Default Experiment Name Start With: Experiment_
- Default User Setting: CytexAssaySetting (Cytex)
- Ref Controls Ordered by Control Type

Unmixing Feature

- Label/Lot Specific Unmixing
- Preferred SSC Channel for Unmixing: SSC

Batch Analysis

- Default Output File Type: PDF CSV
- Default PDF File Option: All in one file Each tube/well has its own file

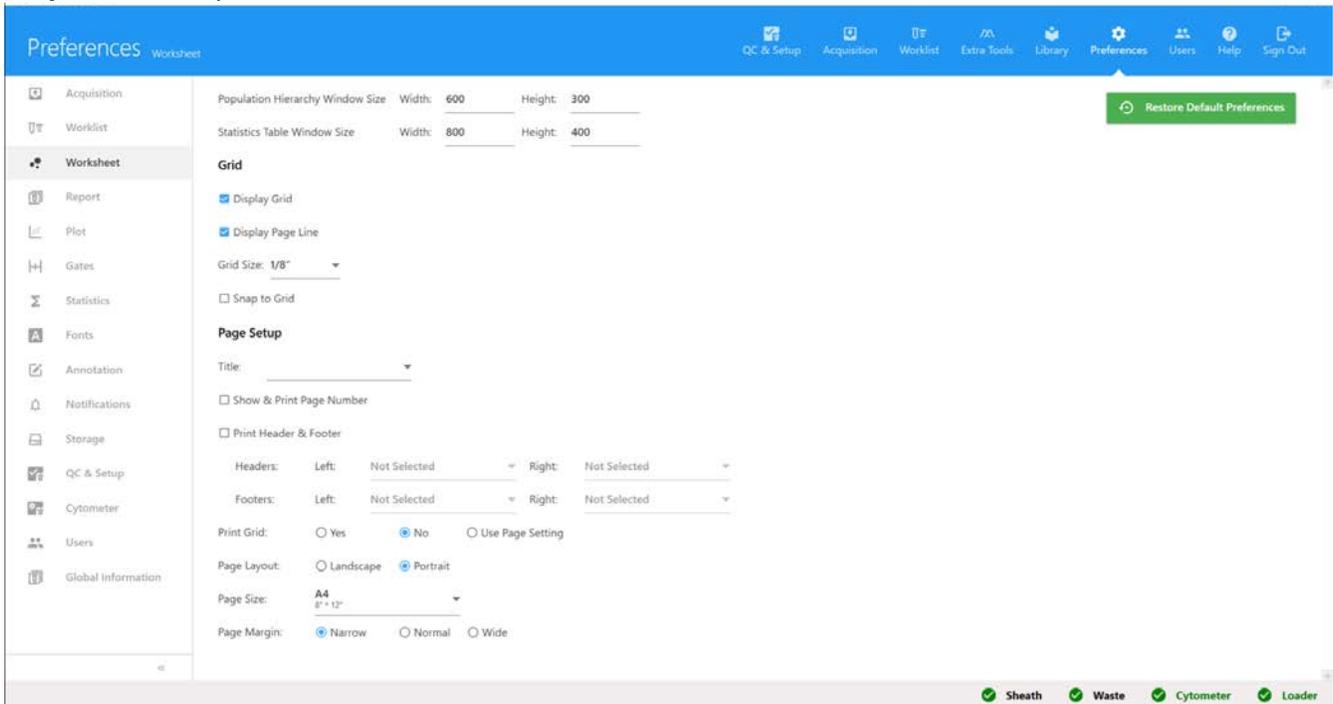
En la tabla siguiente se describen las opciones de las preferencias de *Acquisition*.

Elemento	Descripción
<i>Number of Events to Display on Plots</i> (Número de eventos que se muestran en los gráficos)	El número de eventos mostrados en los gráficos en seudocolor, los gráficos de puntos y los histogramas. El valor predeterminado son 2000 eventos.
<i>Number of Automatic SIT Flush After Tube Unload</i> (Número de purgas automáticas del SIT después de descargar el tubo)	Elija el número (0-2) de <i>SIT Flushes</i> (Purgas del SIT) que se realizarán una vez que se retire un tubo del SIP.
<i>Data Review Time (Sec) After Tube Recorded</i> (Tiempo de revisión de datos [s] después de grabar el tubo)	El número de segundos que transcurren antes de que el puntero del tubo se traslade al tubo siguiente después de que se haya terminado de grabar el tubo actual.
<i>Record Data Delay Time (Sec) for Manual Tube</i> (Tiempo de retardo de la grabación de datos [s] para el tubo manual)	El número de segundos antes de que comience la grabación después de hacer clic en <i>Record</i> (Grabar).
<i>Gain Spinbox Up/Down Increment (Ctrl key Hold)</i> (Incremento/decremento del selector de ganancia [manteniendo pulsada la tecla Ctrl])	Aumenta/disminuye la ganancia de cada canal detector en la medida indicada al mantener pulsada la tecla Ctrl y seleccionar las flechas arriba y abajo del selector de ganancia.
Experimento	<p>Introduzca el nombre predeterminado para los tubos, grupos, placas, gradillas de tubos (solo ASL) y experimentos. Modifique el nombre predeterminado o agregue texto a los nombres existentes. Seleccione la configuración de usuario predeterminada para experimentos.</p> <p><i>Ref Controls Ordered by Control Type</i> (Controles de referencia ordenados por tipo de control) permite ordenar los controles de referencia por tipo (microesferas o células). Si no está seleccionado, los controles de referencia se ordenan por láser de excitación y después por emisión máxima.</p>
Función de deconvolución	<p><i>Label/Lot Specific Unmixing</i> (Deconvolución específica por lotes/etiquetas) permite utilizar controles de referencia específicos de cada lote para la deconvolución cuando proceda. Si se selecciona esta opción, el software buscará en la biblioteca y en los grupos de referencia de experimentos controles de referencia que tengan el mismo fluorocromo, etiqueta e información de lote para utilizar el control correspondiente para la deconvolución.</p> <p>Seleccione el canal SSC preferido para la deconvolución (SSC para la señal del láser violeta [predeterminado] o SSC-B para la señal del láser azul).</p>

Elemento	Descripción
Análisis por lotes	Seleccione el tipo de archivo de salida predeterminado para los informes de análisis por lotes (PDF, CSV o ambos). Elija crear un solo PDF para todos los tubos/pocillos o archivos PDF individuales para cada tubo/pocillo.

Preferencias de la hoja de trabajo

La pestaña *Worksheet* (Hoja de trabajo) permite cambiar la forma en que se presentan los elementos en la hoja de trabajo. Las propiedades de encabezado y pie de página también se ajustan en la pestaña *Worksheet*.



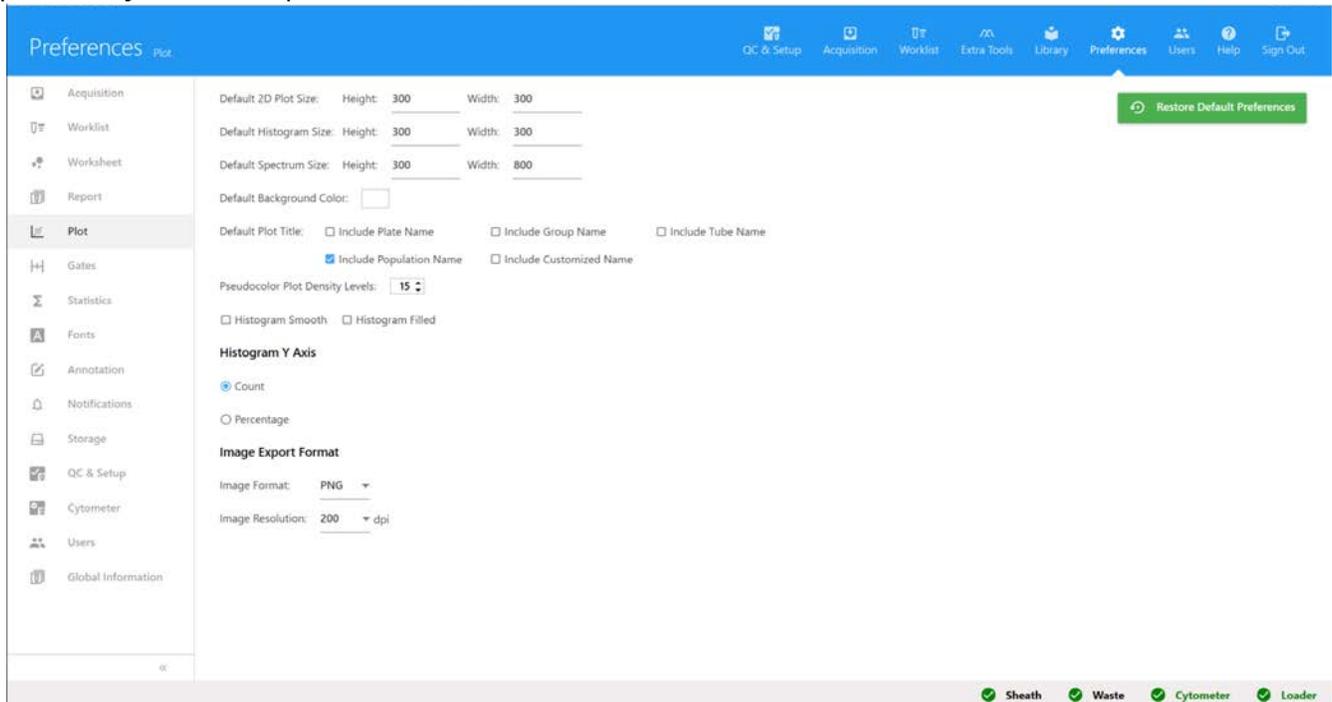
En la tabla siguiente se describen las opciones de las preferencias de la hoja de trabajo.

Elemento	Descripción
<i>Population Hierarchy Window Size</i> (Tamaño de la ventana de jerarquía de la población)	Establece la altura y la anchura predeterminadas del elemento de jerarquía de la población del experimento.
<i>Statistics Table Window Size</i> (Tamaño de la ventana de la tabla de estadística)	Establece la altura y la anchura predeterminadas de la tabla de estadística.

Elemento	Descripción
<p><i>Grid</i> (Cuadrícula)</p>	<p><i>Display Grid</i> (Mostrar cuadrícula): activa o desactiva la visualización de líneas de cuadrícula en la hoja de trabajo.</p> <p><i>Display Page Line</i> (Mostrar línea de página): activa o desactiva la línea de salto de página en la hoja de trabajo.</p> <p><i>Grid Size</i> (Tamaño de cuadrícula): modifica el tamaño de los cuadros de la cuadrícula. Las opciones son 1", 1/2", 1/4" y 1/8".</p> <p><i>Snap to Grid</i> (Ajustar a la cuadrícula): activa o desactiva la capacidad de los elementos de la hoja de trabajo para ajustarse y alinearse con las líneas de cuadrícula de la hoja de trabajo.</p>
<p><i>Page Setup</i> (Configurar página)</p>	<p><i>Title</i> (Título): seleccione un título de la hoja de trabajo de una lista de títulos predeterminados. El título se muestra cuando la hoja de trabajo se imprime o exporta como PDF.</p> <p><i>Show & Print Page Number</i> (Mostrar e imprimir número de página): alterna si se muestra e imprime el número de página.</p> <p><i>Print Header & Footer</i> (Imprimir encabezado y pie de página): alterna si se imprimen el encabezado y el pie de página. Le permite seleccionar el texto que se muestra en los encabezados y pies de página izquierdos y derechos.</p> <p><i>Print Grid</i> (Imprimir cuadrícula): alterna si se imprime la cuadrícula. También se puede configurar para utilizar <i>Use Page Setting</i> (Usar configuración de página).</p> <p><i>Page Layout</i> (Diseño de página): alterna entre <i>Landscape</i> y <i>Portrait</i> (Horizontal y Vertical).</p> <p><i>Page Size</i> (Tamaño de página): configura el tamaño de la página de acuerdo con los tamaños de papel convencionales.</p> <p><i>Page Margin</i> (Margen de página): configura los márgenes de la página en <i>Narrow</i>, <i>Normal</i> o <i>Wide</i> (Estrecho, Normal o Ancho).</p>

Preferencias de gráficos

Las propiedades de presentación de los gráficos en seudocolor, de puntos e histogramas se pueden ajustar en la pestaña *Plot* (Gráfico).



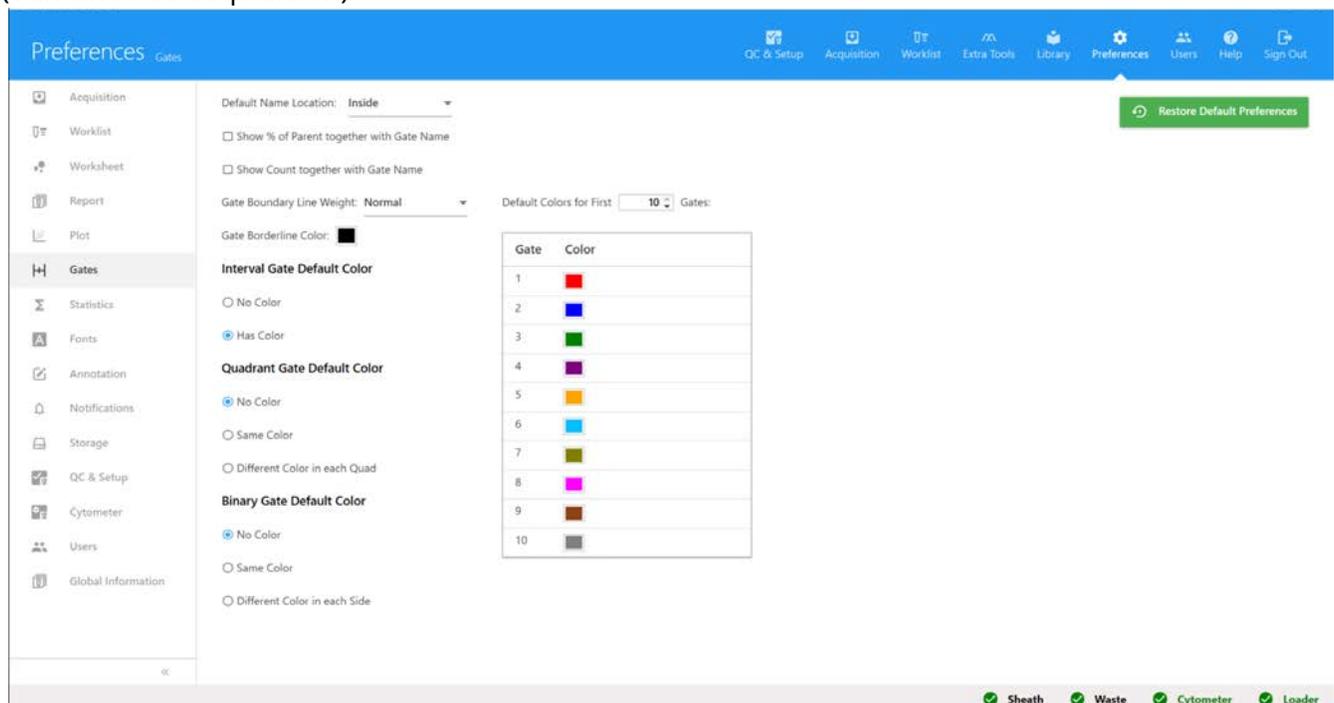
En la tabla siguiente se describen las opciones de las preferencias de gráficos.

Elemento	Descripción
<i>Default 2D Plot Size</i> (Tamaño de gráfico 2D predeterminado)	Configura la altura y anchura predeterminadas de los gráficos en seudocolor y los gráficos de puntos en píxeles.
<i>Default Histogram Size</i> (Tamaño predeterminado del histograma)	Configura la altura y anchura predeterminadas de los histogramas en píxeles.
<i>Default Spectrum Size</i> (Tamaño espectral predeterminado)	Configura la altura y anchura predeterminadas de los gráficos espectrales en píxeles.
<i>Default Background Color</i> (Color de fondo predeterminado)	Configura el color de fondo predeterminado para todos los gráficos. Haga clic en para seleccionar uno de los colores disponibles.
<i>Default Plot Title</i> (Título de gráfico predeterminado)	Personaliza el título de todos los gráficos para incluir el nombre de la placa, el nombre del grupo, el nombre del tubo, el nombre de la población o un nombre personalizado.
<i>Pseudocolor Plot Density Levels</i> (Niveles de densidad del gráfico en seudocolor)	Aumenta o disminuye el número de niveles de densidad que se muestran en el gráfico en seudocolor.

Elemento	Descripción
<i>Histogram Smooth</i> (Suavizado del histograma)	Configura si se suavizan las distribuciones del histograma.
<i>Histogram Filled</i> (Relleno del histograma)	Configura si se rellenan las distribuciones de histograma.
<i>Histogram Y Axis</i> (Eje y del histograma)	Configura la escala del eje y del histograma a recuento o porcentaje.
<i>Image Export Format</i> (Formato de exportación de imágenes)	Selecciona el formato (PNG, TIFF o JPEG) y la resolución (96, 200, 300 o 500 ppp) de las imágenes exportadas.

Preferencias de las ventanas de adquisición

Las propiedades de las ventanas de adquisición se pueden configurar en la pestaña *Gates* (Ventanas de adquisición).



En la tabla siguiente se describen las opciones de las preferencias de *Gates*.

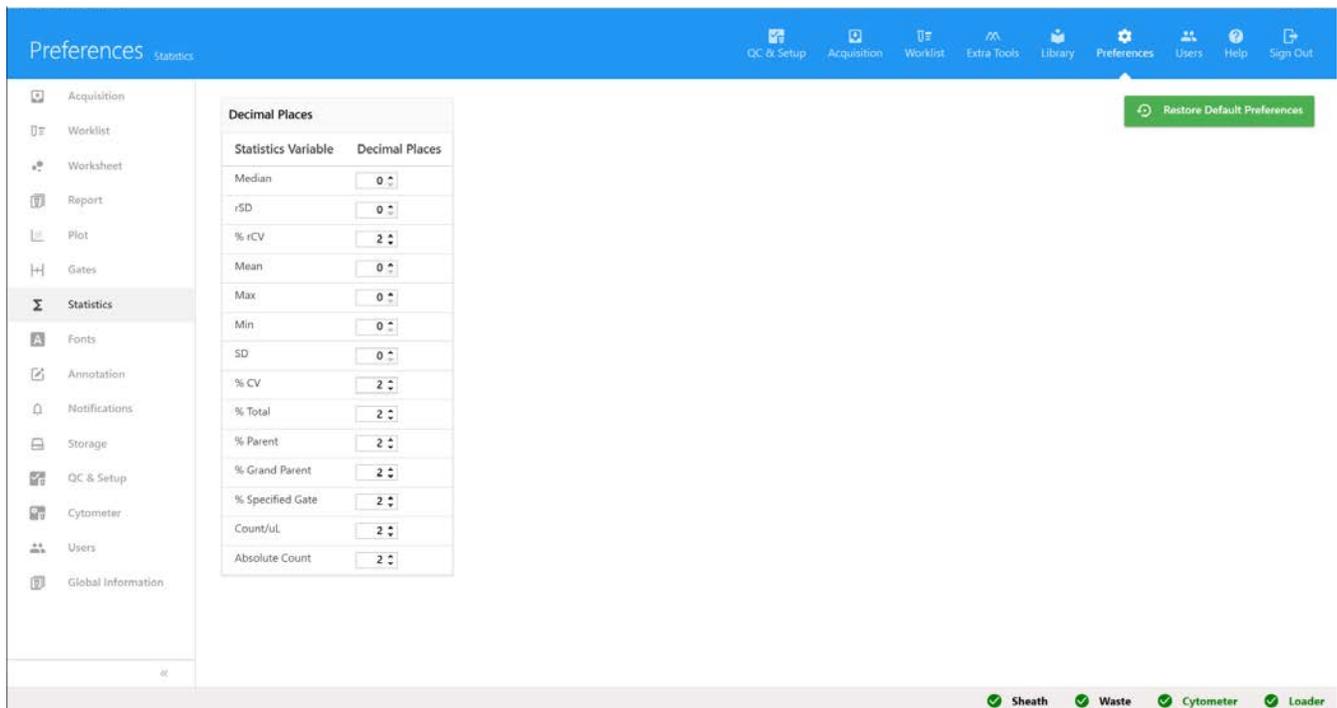
Elemento	Descripción
<i>Default Name Location</i> (Ubicación predeterminada del nombre)	Selecciona dónde se muestra el nombre de la ventana de adquisición con respecto a la propia ventana de adquisición.

Elemento	Descripción
<i>Show % of Parent together with Gate Name</i> (Mostrar % de la población parental junto con el nombre de la ventana de adquisición)	Activa o desactiva la presentación del % de la población parental con el nombre de la ventana de adquisición.
<i>Show Count together with Gate Name</i> (Mostrar recuento junto con el nombre de la ventana de adquisición)	Activa o desactiva la presentación del recuento de la población con el nombre de la ventana de adquisición.
<i>Gate Boundary Line Weight</i> (Grosor de línea del límite de la ventana de adquisición)	Configura el grosor de la línea trazada por la ventana de adquisición.
<i>Default Colors for First X Gates</i> (Colores predeterminados para las primeras X ventanas de adquisición)	Configura el número de ventanas de adquisición (1-10) que seguirán la combinación de colores detallada en la tabla de colores de las ventanas de adquisición. El orden en el que aparecen los colores se puede cambiar.
<i>Interval Gate Default Color</i> (Color predeterminado de la ventana del intervalo)	Activa o desactiva si la población capturada por la ventana del intervalo tiene un color predeterminado.
<i>Quadrant Gate Default Color</i> (Color predeterminado de ventana del cuadrante)	Selecciona si la población capturada por la ventana del cuadrante tiene un color predeterminado y, si es así, si cada cuadrante tiene un color diferente.
<i>Binary Gate Default Color</i> (Color predeterminado de ventana binaria)	Selecciona si la población capturada por la ventana binaria tiene un color predeterminado.

Preferencias de estadística

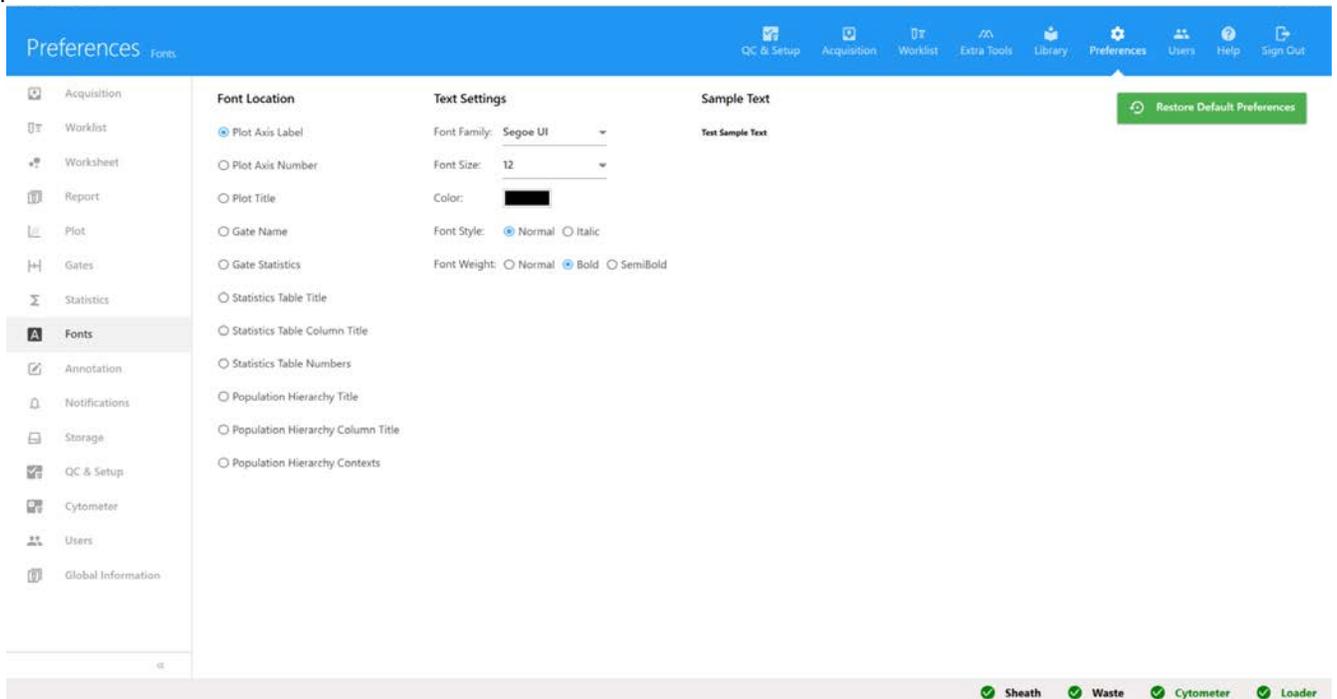
El grado de precisión predeterminado (número de posiciones decimales) de las estadísticas presentadas en la hoja de trabajo se puede modificar en la pestaña *Statistics* (Estadística).

Se puede ajustar la precisión de las siguientes estadísticas: *Median*, *rSD*, *% rCV*, *Mean*, *Max*, *Min*, *SD*, *%CV*, *% Total*, *% Parent* y *% Grand Parent* (Mediana, rSD, % rCV, Media, Máx, Mín, SD, % CV, % total, % parental y % preparental).



Preferencias de fuentes

La pestaña *Fonts* (Fuentes) permite cambiar las propiedades de la fuente de cada elemento presentado.

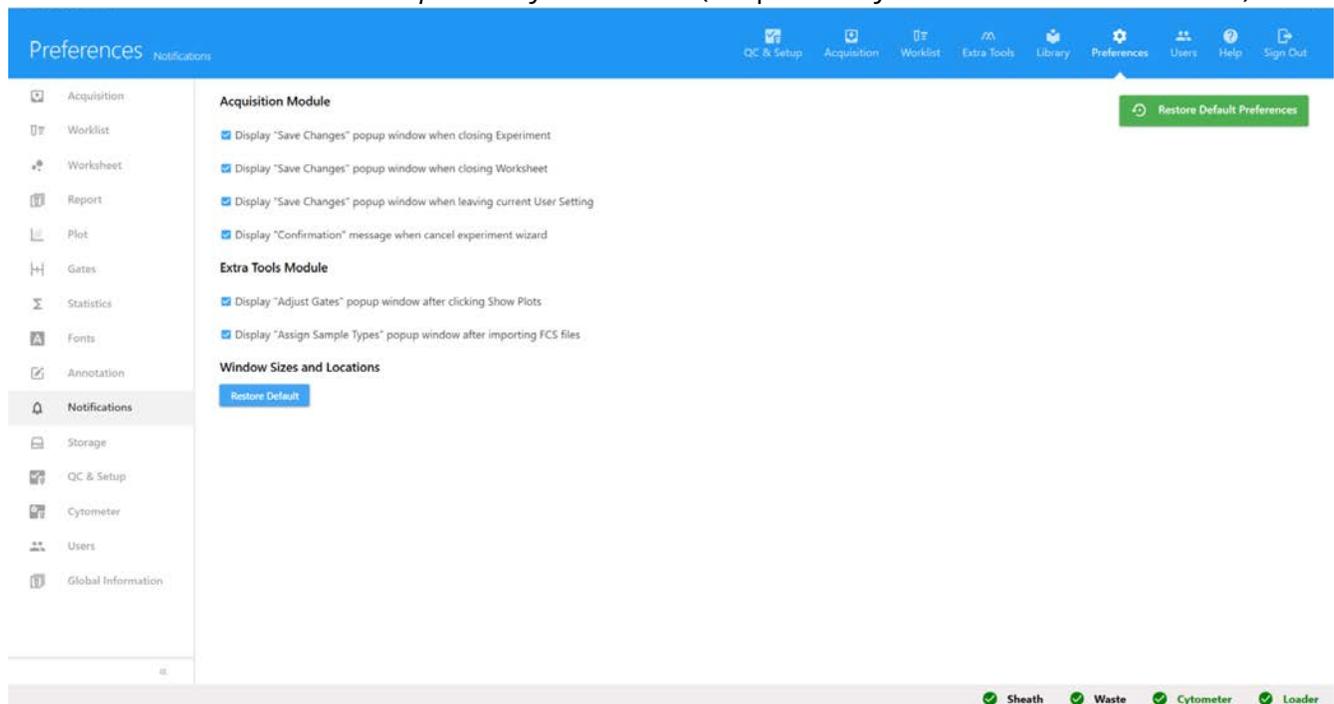


En la tabla siguiente se describen las opciones de las preferencias de fuentes.

Elemento	Descripción
<i>Font Locations</i> (Ubicaciones de fuentes)	Selecciona la fuente del elemento presentado que se desea modificar.
<i>Text Settings</i> (Configuración del texto)	<i>Font Family</i> (Familia de fuentes): selecciona la familia de fuentes. <i>Font Size</i> (Tamaño de la fuente): selecciona el tamaño de la fuente. <i>Color</i> (Color): selecciona el color de la fuente. <i>Font Style</i> (Estilo de la fuente): alterna entre normal y cursiva. <i>Font Weight</i> (Grosor de la fuente): selecciona normal, negrita o seminegrita.
<i>Sample Text</i> (Texto de muestra)	Muestra una vista previa del texto con las propiedades configuradas en <i>Text Settings</i> .

Preferencias de notificaciones

La pestaña *Notifications* (Notificaciones) permite cambiar determinadas configuraciones de notificación en los módulos *Acquisition* y *Extra Tools* (Adquisición y Herramientas adicionales).



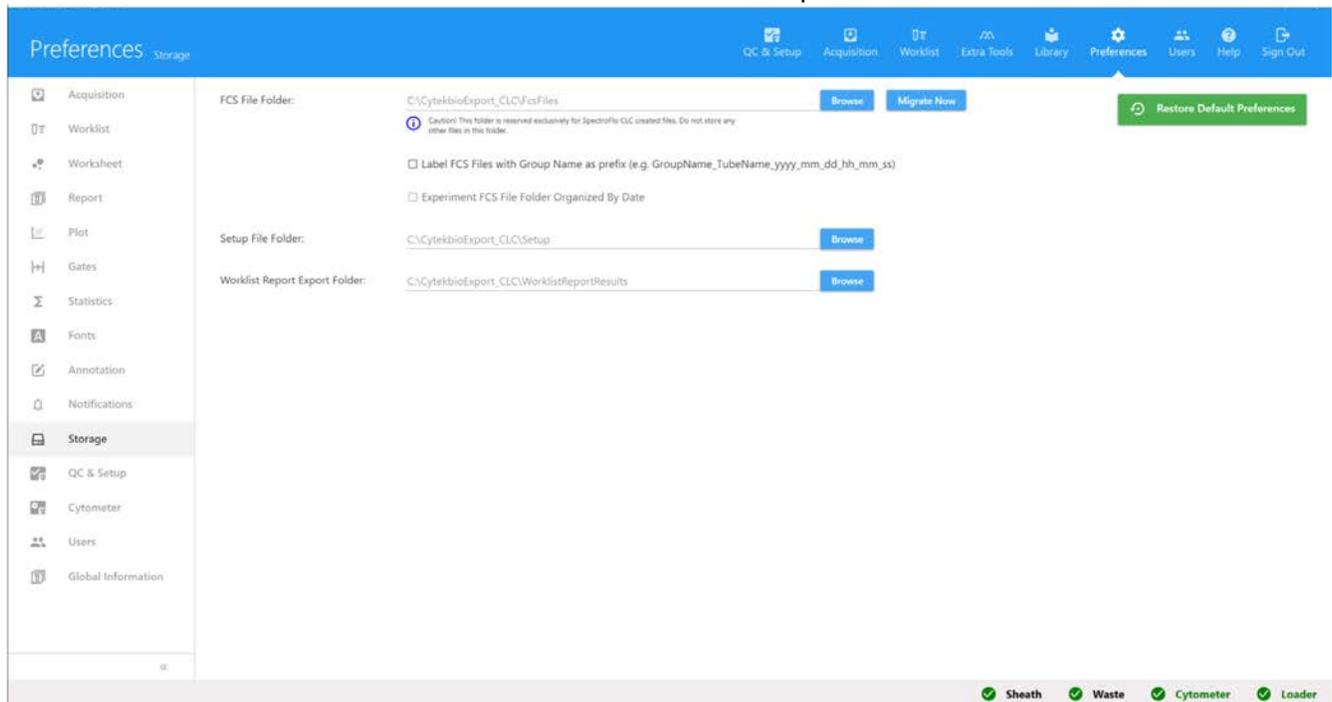
En la tabla siguiente se describen las opciones de las preferencias de notificaciones.

Elemento	Descripción
<i>Acquisition Module</i> (Módulo Adquisición)	Alterna si se muestra la ventana emergente <i>Save Changes</i> (Guardar cambios) al cerrar un experimento, una hoja de trabajo y una configuración de usuario, así como si se muestra un mensaje de confirmación al cancelar el asistente de experimentos.
<i>Extra Tools Module</i> (Módulo Herramientas adicionales)	Alterna si se muestran los cuadros de diálogo de instrucciones en el módulo <i>Extra Tools</i> .
<i>Window Sizes and Locations</i> (Tamaños y ubicaciones de las ventanas)	Seleccione <i>Restore Default</i> (Restaurar predeterminado) para configurar los tamaños y ubicaciones de las ventanas emergentes en los valores predeterminados.

Preferencias de almacenamiento

La pestaña *Storage* (Almacenamiento) permite a los administradores configurar las ubicaciones de almacenamiento predeterminadas para los archivos FCS de experimentos y los archivos FCS de configuración. Esta opción está disponible solo para los administradores.

■ **NOTA:** No mueva los archivos almacenados en estas carpetas.

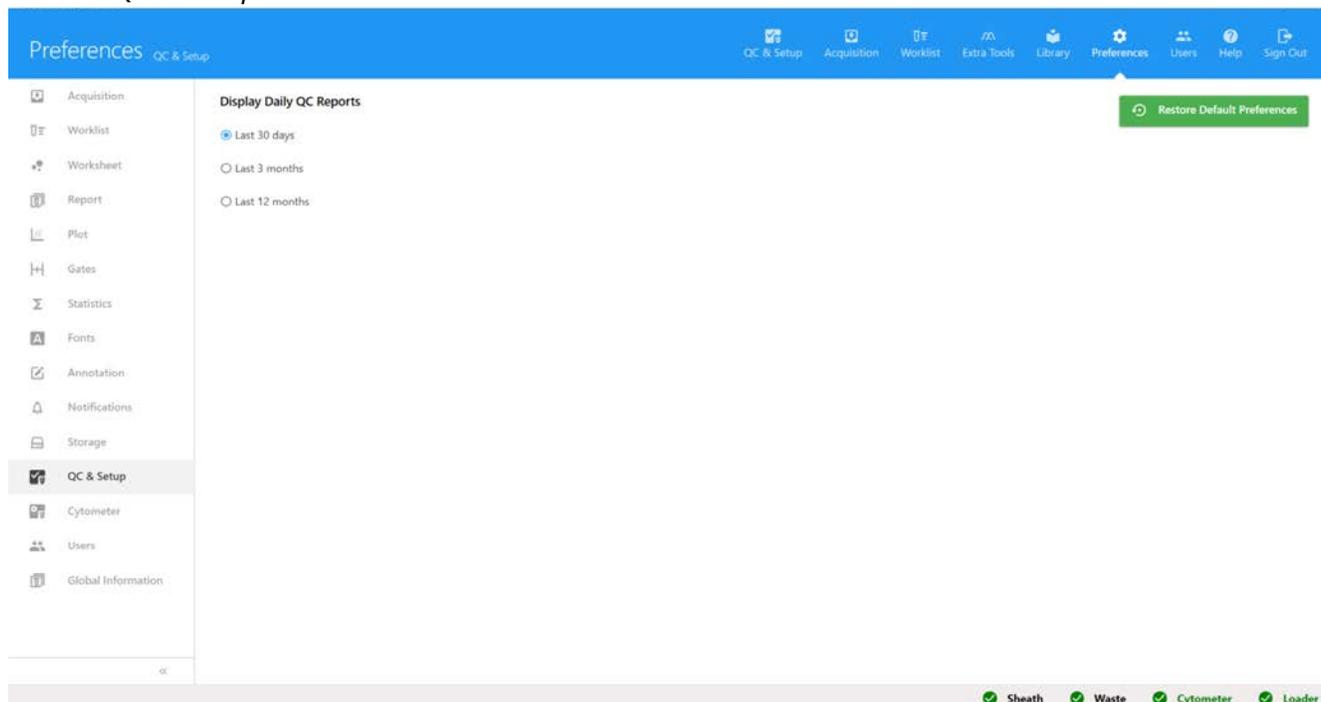


En la tabla siguiente se describen las opciones de las preferencias de almacenamiento.

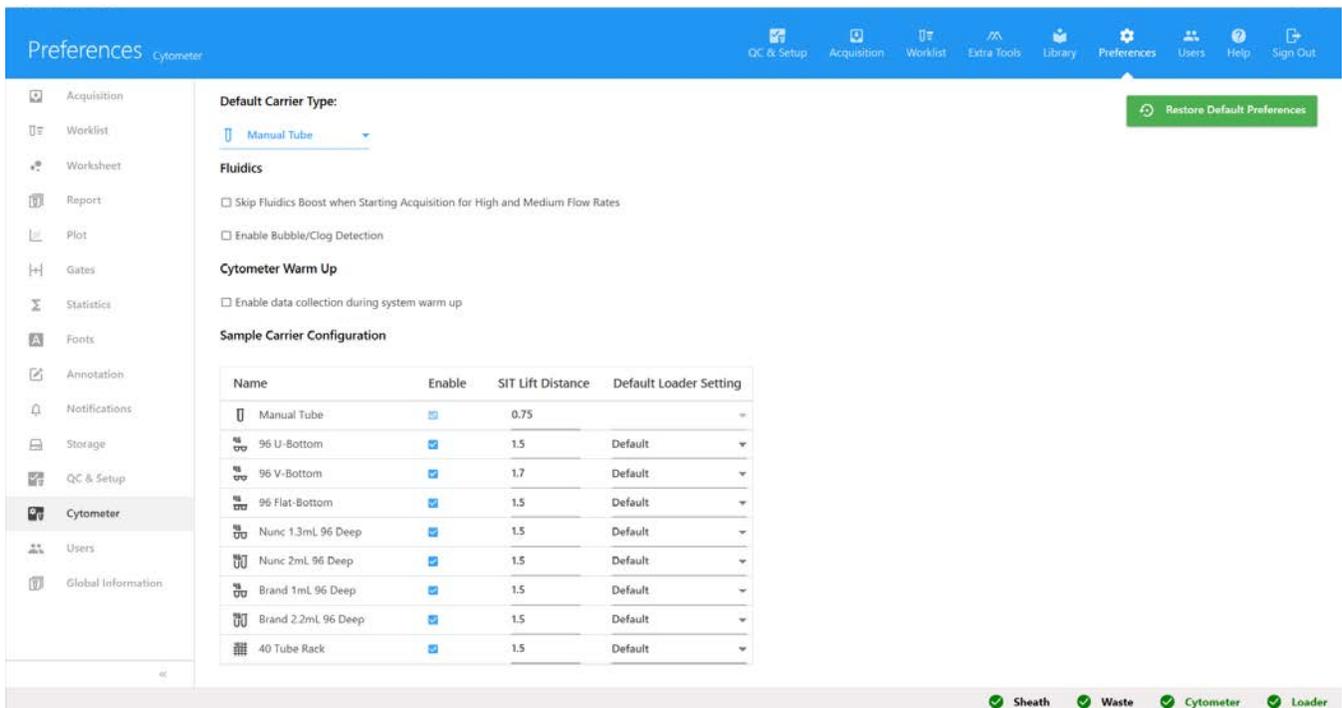
Elemento	Descripción
<i>FCS Files Folder</i> (Carpeta de archivos FCS)	<p>Selecciona la carpeta donde se guardan los archivos FCS. Aquí se almacenan los archivos FCS de experimentos en los que solo se adquirieron datos sin procesar, así como los archivos FCS de experimentos en los que se realizó la deconvolución en tiempo real. Para experimentos en los que se realiza la deconvolución en tiempo real, se guardan los archivos FCS sin procesar y deconvolucionados.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Puede seleccionar etiquetar archivos FCS con nombres de grupo como prefijo. Tenga en cuenta que puede configurar el nombre de grupo predeterminado en <i>Acquisition preferences</i> (Preferencias de adquisición). • Puede seleccionar organizar las carpetas de archivos FCS por fecha. Si no se selecciona, los archivos FCS se ordenan por nombre de experimento, sin una carpeta parental que indique la fecha. Si cambia la carpeta predeterminada donde se guardan los archivos FCS y desea mover experimentos existentes a la carpeta especificada, haga clic en <i>Migrate Now</i> (Migrar ahora).
<i>Setup FCS Files Folder</i> (Carpeta de archivos FCS de configuración)	Selecciona la carpeta en la que se guardan los archivos FCS generados por los procedimientos <i>QC & Setup</i> (CC y configuración).

Preferencias de configuración del CC

La pestaña *QC Setup* (Configuración del CC) permite seleccionar los días/meses de los informes de CC que se mostrarán en la sección *Reports* (Informes) del menú *Cytometer QC* (CC del citómetro) del módulo *QC & Setup*.



Preferencias del citómetro



En la tabla siguiente se describen las opciones de las preferencias del citómetro.

Elemento	Descripción
<i>Default Carrier Type</i> (Tipo de transportador predeterminado)	Le permite configurar un transportador como predeterminado.
<i>Fluidics</i> (Sistema fluídico)	Utilice las casillas de verificación para configurar las preferencias de impulso fluídico y detección de burbujas/obstrucciones.
<i>Cytometer Warmup</i> (Calentamiento del citómetro)	Haga clic en la casilla de verificación para activar la recogida de datos tras el calentamiento.
<i>Sample Carrier Configuration</i> (Configuración del transportador de muestras)	Para cada tipo de transportador se puede seleccionar la opción predeterminada, de alta capacidad o de arrastre bajo.

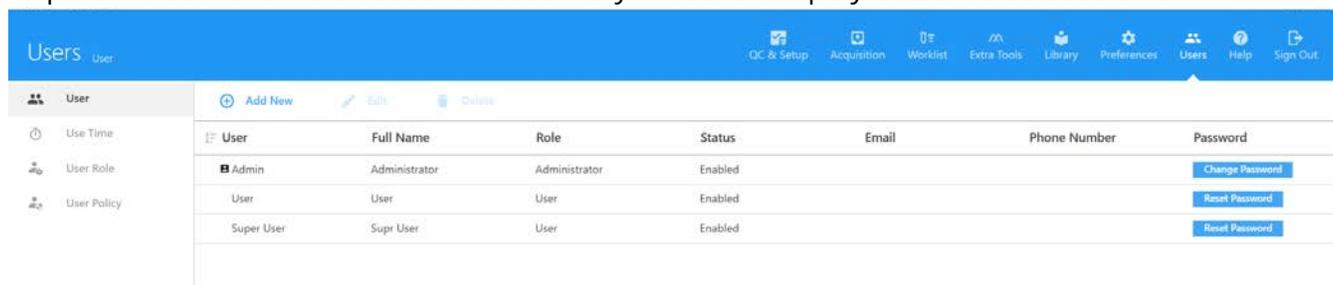
Usuarios

Las cuentas de usuario se pueden gestionar en el módulo *Users* (Usuarios). La información de las cuentas de usuario y el tiempo de uso se almacenan en este módulo.

Hay dos tipos de cuentas de usuario: *SuperUser* y *User* (Superusuario y Usuario). Solo los administradores pueden gestionar cuentas de usuario.

Administración de usuarios

Los administradores pueden agregar, quitar, modificar e inhabilitar cuentas de usuario desde la pestaña *User* (Usuario). También se pueden cambiar/restablecer las contraseñas de usuario. La pestaña *User* enumera todos los usuarios y muestra el tipo y el estado de cada uno.



The screenshot shows the 'Users' module interface. At the top, there is a navigation bar with icons for 'QC & Setup', 'Acquisition', 'Worklist', 'Extra Tools', 'Library', 'Preferences', 'Users', 'Help', and 'Sign Out'. Below the navigation bar, there is a sidebar with 'User' selected. The main area contains a table with columns: 'User', 'Full Name', 'Role', 'Status', 'Email', 'Phone Number', and 'Password'. The table lists three users: 'Admin' (Administrator, Administrator, Enabled), 'User' (User, User, Enabled), and 'Super User' (Supr User, User, Enabled). Each user has a 'Change Password' or 'Reset Password' button next to the password field.

User	Full Name	Role	Status	Email	Phone Number	Password
Admin	Administrator	Administrator	Enabled			Change Password
User	User	User	Enabled			Reset Password
Super User	Supr User	User	Enabled			Reset Password

Agregar una nueva cuenta de usuario

- 1 Haga clic en **+** *Add New* (Agregar nuevo) en la pestaña *User* del módulo *Users*. Esta opción está disponible solo para los administradores.

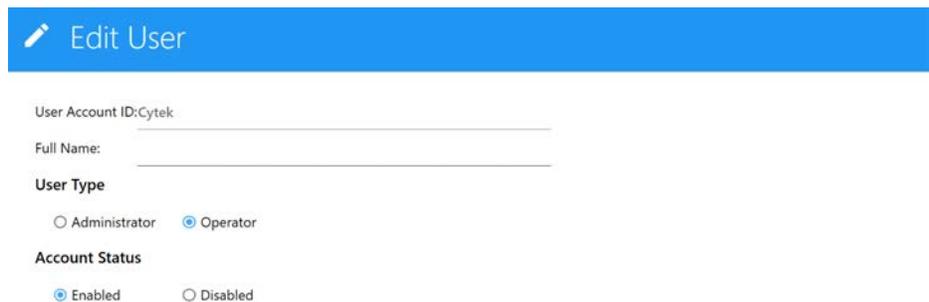


The screenshot shows the 'Create User' form. It has a blue header with a pencil icon and the text 'Create User'. Below the header, there are several input fields and radio buttons. The 'User Account ID' field contains 'Cyttek'. The 'Password' and 'Confirm Password' fields are masked with dots. The 'Full Name' field is empty. The 'User Type' section has two radio buttons: 'Administrator' (unselected) and 'Operator' (selected). The 'Account Status' section has two radio buttons: 'Enabled' (selected) and 'Disabled' (unselected).

- 2 Introduzca una ID y una contraseña de cuenta de usuario y después vuelva a introducir la contraseña para confirmarla.
La ID de cuenta de usuario aparece en el campo del nombre de usuario en la pestaña *User*.
- 3 (Opcional) Introduzca el nombre completo del usuario.
- 4 Seleccione el tipo de usuario: *Administrator*, *SuperUser* o *User* (Administrador, Superusuario o Usuario).
- 5 Seleccione el estado del usuario: habilitado o inhabilitado.
- 6 Haga clic en *Save* (Guardar).

Modificar una cuenta de usuario

- 1 Seleccione el usuario en la pestaña *User* (Usuario) del módulo *Users* (Usuarios) y después haga clic *Edit* (Modificar).



The screenshot shows the 'Edit User' form. At the top, there is a blue header with a pencil icon and the text 'Edit User'. Below this, the form contains several fields and options:

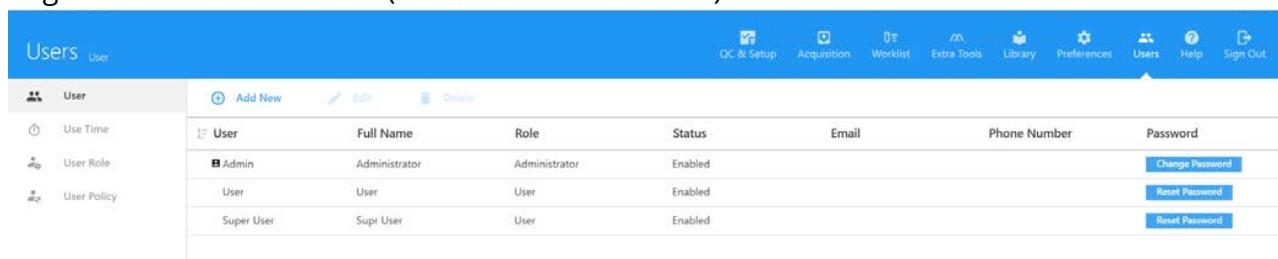
- User Account ID: Cytex
- Full Name: (empty field)
- User Type: Administrator Operator
- Account Status: Enabled Disabled

- 2 Puede modificar o agregar un nombre de usuario. También puede cambiar el tipo de usuario o el estado de la cuenta.
- 3 Haga clic en *Save* (Guardar).

Restablecer una contraseña de usuario

Un administrador puede cambiar su contraseña o la de otro administrador o restablecer la contraseña de un operador.

- 1 Seleccione el usuario en la pestaña *User* del módulo *Users*.
- 2 Haga clic en *Reset Password* (Restablecer contraseña).



The screenshot shows the 'Users' module interface. The top navigation bar includes 'Users' and 'User'. Below the navigation bar, there is a table with columns: User, Full Name, Role, Status, Email, Phone Number, and Password. The table contains three rows of user data:

User	Full Name	Role	Status	Email	Phone Number	Password
Admin	Administrator	Administrator	Enabled			Change Password
User	User	User	Enabled			Reset Password
Super User	Supr User	User	Enabled			Reset Password

- 3 Se abre un cuadro de diálogo que muestra la nueva contraseña.
- 4 Anote la contraseña y haga clic en *OK* (Aceptar).

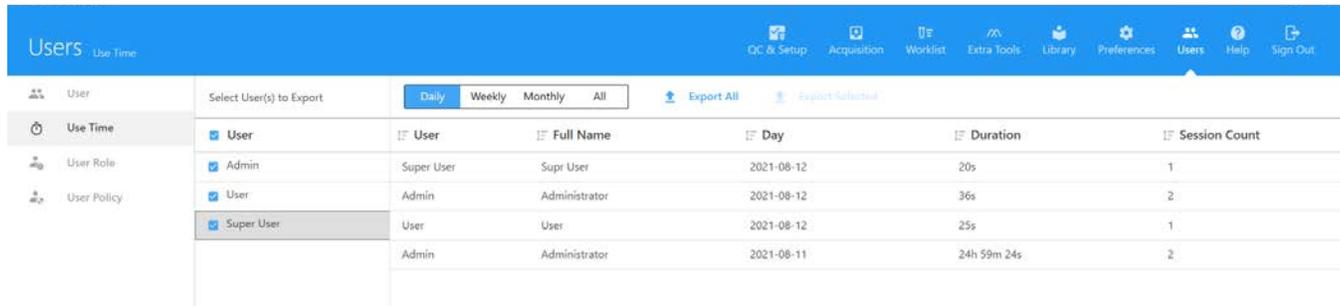
Quitar una cuenta de usuario

Para quitar una cuenta de usuario, seleccione el usuario en la pestaña *User* del módulo *Users* y después haga clic en *Remove* (Quitar). Al quitar una cuenta de usuario se elimina toda la información de la cuenta y los datos adquiridos por ese usuario. Los archivos FCS guardados por el usuario se conservan.

Tiempo de uso

Seleccione la pestaña *Use Time* (Tiempo de uso) del módulo *Users* (Usuarios).

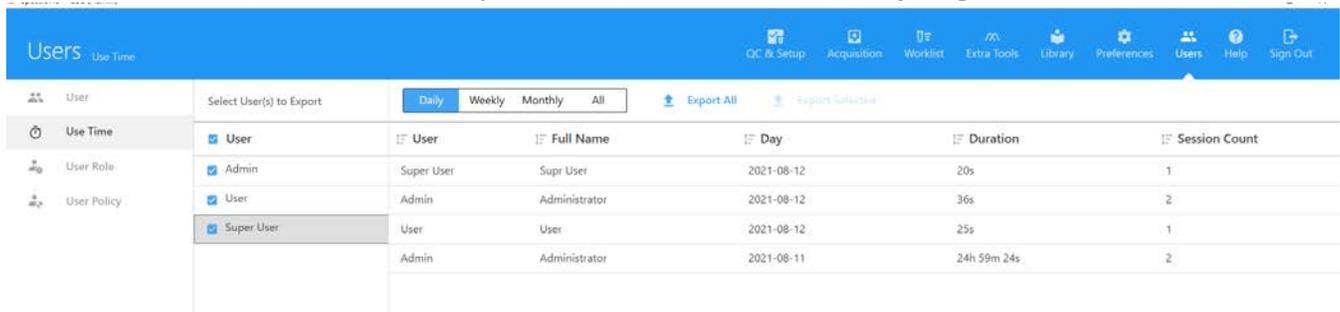
Use Time muestra el tiempo (duración) total de uso diario, semanal o mensual y el número de sesiones que cada usuario tiene en el sistema. Seleccione *Admin*, *User* o *SuperUser* (Administrador, Usuario o Superusuario) para ver y exportar los tiempos de uso de la cuenta de usuario correspondiente.



The screenshot shows the 'Users Use Time' interface. On the left, there are navigation options: 'User', 'Use Time', 'User Role', and 'User Policy'. The 'Use Time' section is active, showing a table with columns: 'User', 'Full Name', 'Day', 'Duration', and 'Session Count'. The table contains the following data:

User	Full Name	Day	Duration	Session Count	
Admin	Super User	2021-08-12	20s	1	
User	Administrator	2021-08-12	36s	2	
Super User	User	2021-08-12	25s	1	
	Admin	Administrator	2021-08-11	24h 59m 24s	2

Para ver las sesiones de conexión individuales de cada día, seleccione *Login Sessions* (Sesiones de conexión). Seleccione *Admin*, *User* o *SuperUser* para ver y exportar las sesiones de inicio de la cuenta de usuario correspondiente. Se muestran las horas de inicio y cierre de cada sesión, así como la duración de la sesión. Los administradores pueden gestionar la lista de sesiones de conexión eliminando todas las sesiones anteriores a una fecha concreta. Para eliminar sesiones, haga clic en *Manage Use Time* (Administrar tiempo de uso), seleccione la fecha y haga clic en *Delete* (Eliminar).



This screenshot is identical to the one above, showing the 'Users Use Time' interface with the same table of user sessions.

Los administradores pueden exportar el tiempo de uso y las sesiones de inicio diarias, semanales y mensuales a archivos .csv seleccionando el usuario o usuarios y las fechas de las sesiones y haciendo clic en *Export* (Exportar) o seleccionando *Admin*, *User* o *SuperUser* y haciendo clic en *Export All* (Exportar todo) para exportar todos los tiempos de uso o sesiones de inicio.

Función de usuario

Los administradores pueden modificar los privilegios de las funciones de usuario y superusuario. Los administradores también pueden crear y modificar nuevas funciones de usuario personalizadas. Los privilegios de administrador no se pueden modificar.

Modificar una función de usuario

- 1 Seleccione *User Role* (Función de usuario) en la pestaña *Users* (Usuarios) y después seleccione el nombre (función) de usuario que desea modificar.

Las funciones (y nombres) de usuario predeterminadas son *Administrator*, *SuperUser* y *User*. La función *Administrator* no se puede modificar.

- 2 Haga clic en *Edit* (Modificar) para modificar la función de usuario.
- 3 Modifique los privilegios de la función de usuario y después haga clic en *Save* (Guardar).

Véase “Privilegios de la función de usuario” en la sección siguiente.

- 4 Si desea restaurar los privilegios de la función de usuario a los valores predeterminados, haga clic en *Restore Default* (Restaurar predeterminado) en la ventana *Edit User Role* (Modificar función de usuario).

Privilegios de la función de usuario

La siguiente tabla muestra los privilegios de los tres tipos de usuario predeterminados (*Administrator*, *SuperUser* y *User*) (Administrador, Superusuario y Usuario). Los administradores pueden modificar los privilegios del superusuario y del usuario. Los privilegios de administrador no se pueden modificar.

Privilegios	Usuario	Superusuario	Administrador
<i>Instrument Control</i> (Control del instrumento)			
<i>Gains of Fluorescent Channels</i> (Ganancias de los canales de fluorescencia)		✓	✓
<i>Customize parameters (signal types)</i> (Personalizar parámetros [tipos de señal])		✓	✓

Privilegios	Usuario	Superusuario	Administrador
<i>Window extension</i> (Extensión de ventana)		✓	✓
<i>Area scaling factors</i> (Factores de escala de área)	✓	✓	✓
<i>Change laser delay</i> (Cambiar retardo entre láseres)		✓	✓
<i>Can enable data collection during warm up</i> (Puede permitir la recogida de datos durante el calentamiento) (preferencia del citómetro)		✓	✓
<i>Library Documents</i> (Documentos de la biblioteca)			
<i>Manage QC bead lot</i> (Administrar el lote de microesferas de CC)		✓	✓
<i>Create fluorescent tags</i> (Crear marcadores fluorescentes)	✓	✓	✓
<i>Create label</i> (Crear etiqueta)	✓	✓	✓
<i>Create reference controls</i> (Crear controles de referencia)	✓	✓	✓
<i>User Management</i> (Administración de usuarios)			
<i>Manage users</i> (Administrar usuarios)		✓	✓
<i>Manage all user types</i> (Administrar todos los tipos de usuario)			✓
<i>Create user role</i> (Crear función de usuario)			✓

Creación de una función de usuario

Los administradores pueden crear nuevas funciones de usuario basadas en los privilegios de las tres funciones predeterminadas.

- 1 Seleccione *User Role* (Función de usuario) en la pestaña *Users* (Usuarios).
- 2 Haga clic en *New* (Nueva).
- 3 Introduzca un nombre para la nueva función de usuario.
- 4 Seleccione el tipo básico para la nueva función. Los tipos básicos son *Administrator*, *SuperUser* y *User* (Administrador, Superusuario y Usuario).

La nueva función puede tener los mismos privilegios que el tipo básico seleccionado. Puede quitar algunos privilegios, pero no puede conceder más privilegios de los que tiene el tipo básico. Por ejemplo, si desea que la nueva función de usuario administre la información de lotes de microesferas de CC, seleccione Superusuario como tipo básico, ya que el tipo básico Usuario no tiene ese privilegio.

5 (Opcional) Introduzca una descripción.

6 Haga clic en *Save* (Guardar).

La nueva función de usuario aparece en la lista *Role Name* (Nombre de la función).

Eliminar una función de usuario

Los administradores pueden eliminar una función de usuario personalizada.

1 Seleccione *User Role* (Función de usuario) en la pestaña *Users* (Usuarios).

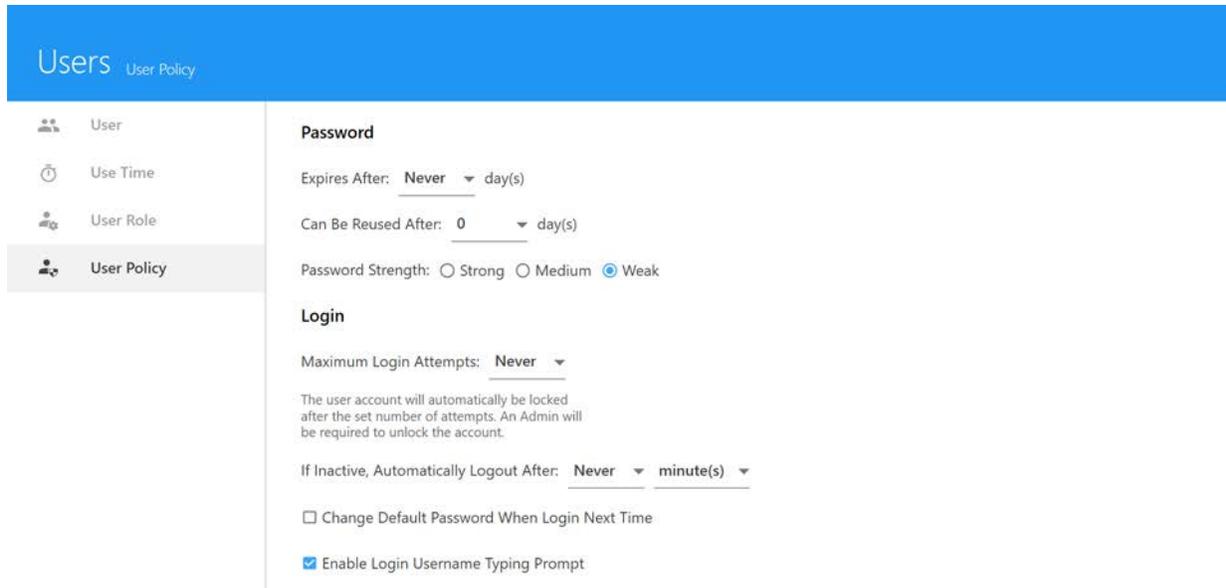
2 Haga clic en *Delete* (Eliminar).

3 Haga clic en *Delete* para confirmar la eliminación.

Política de usuario

Los administradores pueden configurar directivas generales de seguridad de contraseñas e inicio de sesión.

- 1 Seleccione *User Policy* (Directivas de usuario) en la pestaña *Users* para mostrar las directivas de usuario.



The screenshot shows the 'Users' section with the 'User Policy' tab selected. The configuration is divided into three sections: Password, Login, and a checkbox for 'Change Default Password When Login Next Time'. The 'Password' section includes 'Expires After' (Never), 'Can Be Reused After' (0 days), and 'Password Strength' (Weak selected). The 'Login' section includes 'Maximum Login Attempts' (Never), a note about account locking, 'If Inactive, Automatically Logout After' (Never), and a checked 'Enable Login Username Typing Prompt'.

Section	Setting	Value
Password	Expires After	Never (day(s))
	Can Be Reused After	0 (day(s))
	Password Strength	Strong, Medium, Weak (selected)
Login	Maximum Login Attempts	Never
	If Inactive, Automatically Logout After	Never (minute(s))
Change Default Password When Login Next Time	Checkbox	<input type="checkbox"/>
Enable Login Username Typing Prompt	Checkbox	<input checked="" type="checkbox"/>

- 2 Seleccione lo siguiente:

- Cuándo y si las contraseñas caducan.
- Cuándo y si se pueden volver a utilizar las contraseñas.
- *Password Strength* (Seguridad de la contraseña).
 - *Strong* (Segura) es de 8 a 20 caracteres con letras mayúsculas y minúsculas, al menos un número y al menos un carácter especial.
 - *Medium* (Mediana) es de 6 a 20 caracteres con letras y números.
 - *Weak* (No segura) no tiene restricciones.
- Cuándo y si falla un número máximo de intentos de inicio de sesión (los usuarios quedan bloqueados de SpectroFlo después de alcanzar el número seleccionado de intentos de inicio de sesión fallidos).
- Cuándo y si se cierra automáticamente la sesión de los usuarios si están inactivos durante el tiempo seleccionado (de 1 minuto a 45 horas, en diversos incrementos).
- *Change Default Password When Login Next Time* (Cambiar contraseña predeterminada la próxima vez que inicie sesión): si se ha configurado la contraseña predeterminada Rainbow, se pedirá al usuario que cree una nueva contraseña.
- *Enable Login Username Typing Prompt* (Activar el mensaje de introducción del nombre de usuario al inicio de sesión): al comenzar a escribir en el inicio de sesión, aparece una lista de nombres de usuario con caracteres coincidentes.

Deconvolución y compensación

Deconvolución espectral

La deconvolución espectral es un concepto importante para comprender cómo se generan y analizan los datos utilizando el citómetro de flujo NL-CLC con el software SpectroFlo. La deconvolución espectral se utiliza para identificar la señal de fluorescencia de cada fluorocromo utilizado en un experimento determinado.

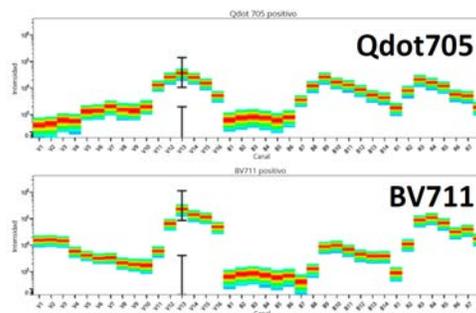
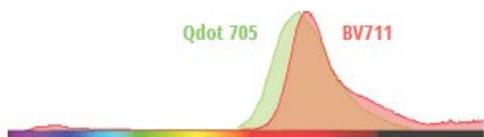
Comprender la citometría de flujo espectral

Debido a que los fluorocromos emiten luz en un intervalo de longitudes de onda, por lo general se utilizan filtros ópticos para limitar el intervalo de frecuencias medidas por un detector determinado. Sin embargo, cuando se utilizan dos o más fluorocromos, la superposición de los intervalos de longitud de onda a menudo hace imposible que los filtros ópticos aislen la luz de un fluorocromo determinado. Como resultado, la luz emitida por un fluorocromo aparece en un detector no primario (un detector destinado a otro fluorocromo). Esto se denomina contaminación espectral. En citometría de flujo convencional, la contaminación espectral se puede corregir mediante un cálculo matemático llamado compensación. Se deben adquirir controles de tinción única para calcular la cantidad de contaminación espectral en cada uno de los detectores no primarios.

La capacidad de medir el espectro de emisión completo de un fluorocromo permite que el sistema utilice un método diferente para aislar la señal deseada de la señal no deseada. La clave para diferenciar los diferentes fluorocromos es que tengan patrones o firmas diferentes en todo el espectro. Debido a que el sistema está detectando el intervalo completo de emisión de un determinado fluorocromo, y no solo la emisión máxima, dos colorantes con una emisión similar pero diferentes firmas espectrales se pueden distinguir entre sí. El método matemático para diferenciar las señales de varios fluorocromos/colorantes se denomina deconvolución espectral y da como resultado una matriz de deconvolución que se aplica a los datos. Aunque no es matemáticamente idéntico a la compensación convencional, el principio general es el mismo. Al igual que para la compensación, siguen siendo necesarios los controles de tinción única, identificados en el software SpectroFlo como controles de referencia, ya que proporcionan la información de todo el espectro de fluorescencia necesaria para realizar la deconvolución espectral.

Una ventaja de la deconvolución es la capacidad de extraer la autofluorescencia de una muestra y tratarla como un parámetro diferente. Esto es especialmente útil cuando se realizan análisis con partículas que tienen una autofluorescencia elevada y para las que ese fondo elevado afecta a la resolución de las señales fluorescentes. Por experimento, se puede definir un control sin teñir o varios controles sin teñir (uno por grupo), dependiendo de si las muestras multicolores tienen las mismas o diferentes firmas de autofluorescencia.

En la figura siguiente a la izquierda, los gráficos espectrales de un visor de espectro convencional muestran una gran superposición entre los espectros de emisión máximos Qdot 705 y BV711. A la derecha, los gráficos espectrales del NL-CLC muestran firmas diferenciadas para Qdot 705 y BV711.



Flujos de trabajo de deconvolución

Perspectiva general de la deconvolución

Hay tres flujos de trabajo de deconvolución disponibles en el software SpectroFlo: dos en el módulo *Acquisition* (Adquisición) y uno en el módulo *Extra Tools* (Herramientas adicionales):

- Deconvolución en tiempo real durante la adquisición.
- Deconvolución posterior a la adquisición (en el módulo *Acquisition*).
- Deconvolución posterior a la adquisición (en el módulo *Extra Tools*).

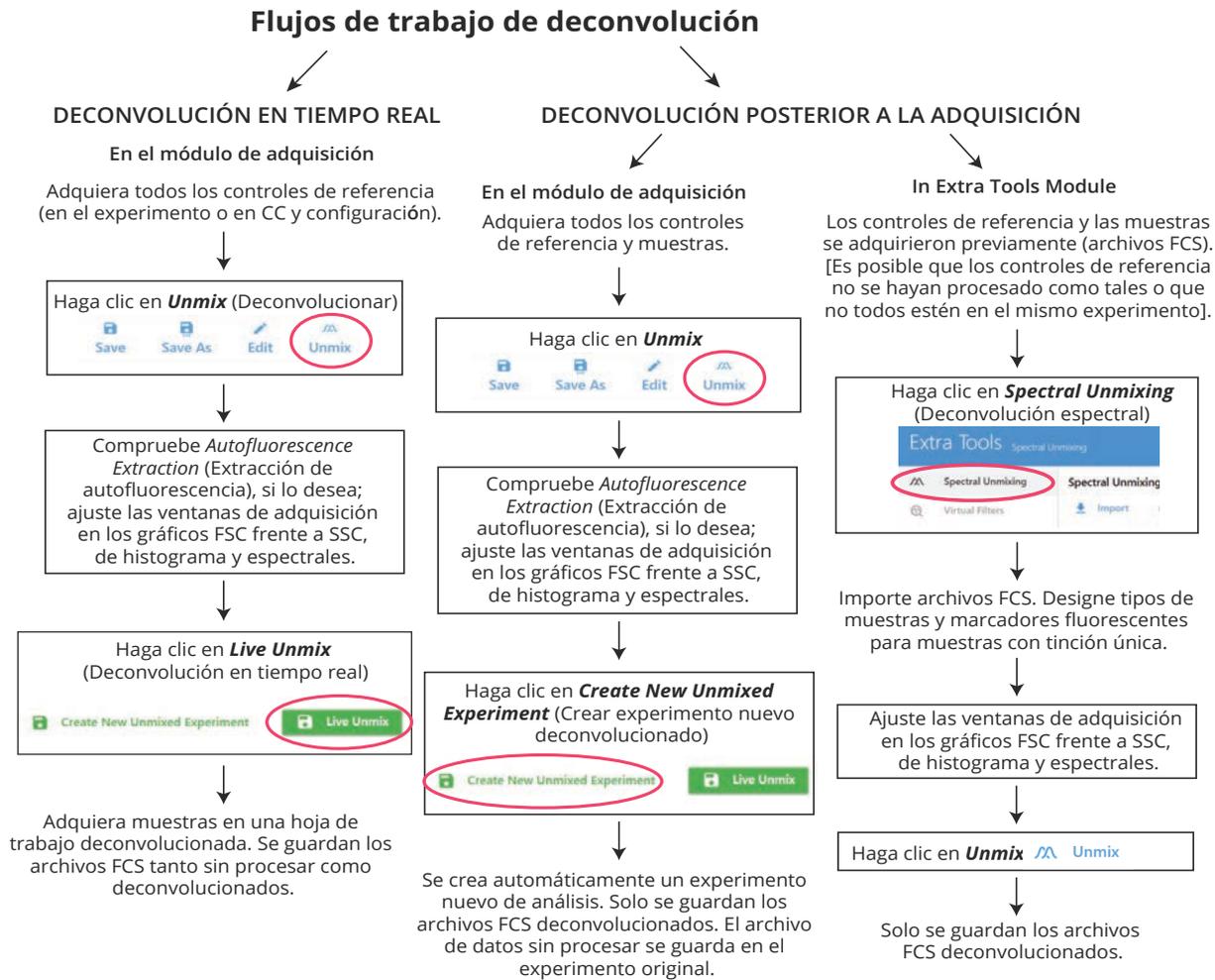
Cuando los datos se adquieren con deconvolución en tiempo real, las referencias se adquieren como datos sin procesar, ya sea en el experimento como parte del grupo de referencia, o bien previamente adquiridos en el módulo *QC & Setup* (CC y configuración) como controles de referencia. Las referencias para *todos* los marcadores fluorescentes utilizados en un experimento determinado deben estar presentes en el sistema para que se produzca la deconvolución en tiempo real de muestras multicolores. La función de deconvolución en tiempo real le permite visualizar datos deconvolucionados durante la adquisición.

Controles de referencia para la deconvolución

Dependiendo de cuándo deconvolucione los datos, utilizará los siguientes controles para la deconvolución.

Deconvolución	Controles de referencia
Deconvolución en tiempo real	Controles de referencia procesados en el experimento o controles de referencia procesados en <i>QC & Setup</i> .
Deconvolución posterior a la adquisición en el módulo <i>Acquisition</i>	Controles de referencia procesados en el experimento o controles de referencia procesados en <i>QC & Setup</i> .
Deconvolución posterior a la adquisición en el módulo <i>Extra Tools</i>	Cualquier archivo FCS de muestras procesadas en cualquier experimento.

Las muestras multicolores se pueden adquirir como datos sin procesar y también deconvolucionarlas después de la adquisición. Esto se puede hacer en el módulo *Acquisition* o en el módulo *Extra Tools*.



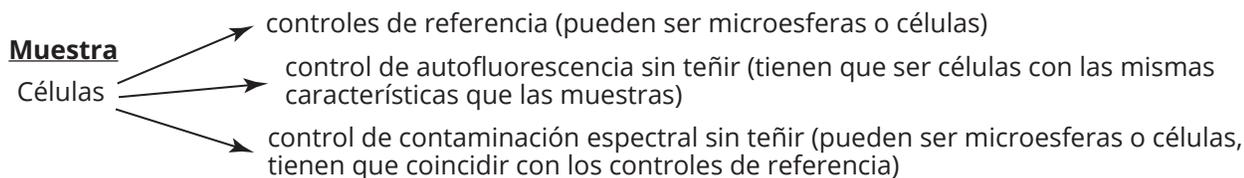
Controles negativos/sin teñir

Además de los controles de referencia positivos necesarios para la deconvolución espectral, también es necesario un control sin teñir para evaluar la **autofluorescencia**. El control sin teñir tiene que ser del mismo tipo y estar preparado de la misma manera que las muestras, ya que esto garantizará una deconvolución y una extracción de autofluorescencia precisas, si se desea. Lo ideal es que los controles de referencia, el control negativo y las muestras sean todos del mismo tipo de muestra y se preparen de la misma manera.

Además de evaluar la autofluorescencia, hay que determinar también la **contaminación espectral de la fluorescencia**. Para corregir la contaminación espectral, se puede utilizar el control de autofluorescencia sin teñir si coincide con el tipo de muestra y de control de referencia. Sin embargo, si los controles de referencia no coinciden con el tipo de muestra y no contienen una población

negativa en cada tubo (solo tienen picos positivos), debe utilizar un control de contaminación espectral independiente sin teñir que coincida con el tipo de control de referencia.

Controles



Deconvolución en tiempo real

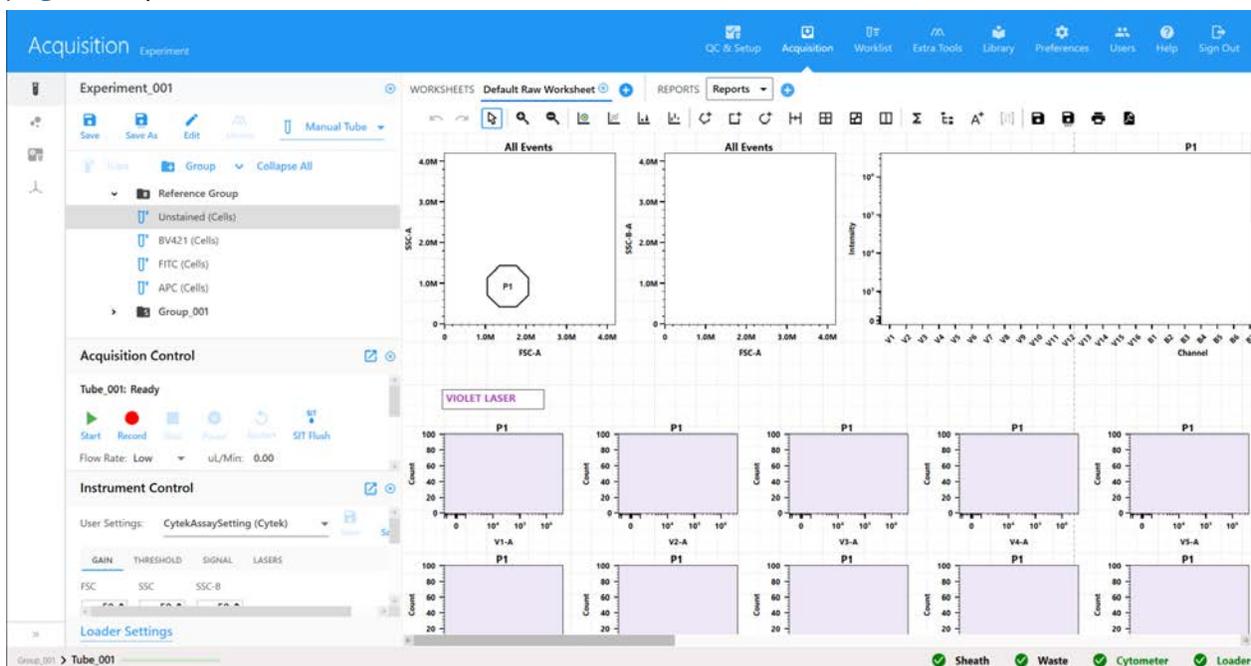
Las muestras se pueden deconvolucionar durante la adquisición. La deconvolución en tiempo real se puede realizar con el grupo de referencia adquirido durante el experimento, los controles de referencia (procesados durante *QC & Setup* [CC y configuración] y almacenados en el sistema) o una combinación de ambos.

Para cada tubo de muestra que se deconvoluciona en tiempo real, se generan dos archivos FCS, uno compuesto de datos sin procesar y otro compuesto de datos deconvolucionados.

Los datos deconvolucionados en tiempo real se pueden analizar en hojas de trabajo para datos deconvolucionados en el módulo *Acquisition* (Adquisición). Las hojas de trabajo para datos deconvolucionados son diferentes de las hojas de trabajo sin procesar, ya que solo muestran información de fluorescencia clasificada en los marcadores fluorescentes definidos para cada uno de los experimentos.

Para realizar la deconvolución en tiempo real

- 1 Cree un experimento nuevo con marcadores fluorescentes definidos. Cree un grupo de referencia en el experimento con los marcadores fluorescentes, si hay alguno que no se haya almacenado ya como control de referencia. Véase “Creación de un experimento nuevo” en la página 56 para obtener más datos.



- 2 Para ver los datos de los tubos de controles de referencia, asegúrese de que *CytekAssaySetting* esté seleccionado y después haga clic en *Start* (Iniciar). Si es necesario, utilice los *Instrument Controls* (Controles del instrumento) para ajustar la configuración de modo que todos los eventos se encuentren a escala. Vea todos los controles, así como el tubo multicolor, y realice los ajustes necesarios en el instrumento para asegurarse de que las poblaciones estén a escala antes de empezar a grabar.

Para modificar los criterios de adquisición, haga clic en *Edit* (Modificar) al nivel del experimento y seleccione la pestaña *Acquisition* (Adquisición). O bien, para modificar las propiedades de un solo tubo, haga clic con el botón derecho del ratón en un tubo y seleccione *Tube Properties* (Propiedades del tubo).

■ **NOTA:** Tenga en cuenta que cuantos más eventos adquiera, más tiempo tardará en deconvolucionar los datos.

- 3 Haga clic en *Record* (Grabar) cuando esté listo para iniciar la adquisición. La adquisición se detiene cuando se cumple el primer criterio de parada.
■ **NOTA:** Si es necesario, puede hacer una pausa para cambiar el volumen de adquisición.
- 4 Una vez adquiridos todos los controles de referencia, haga clic en *Unmix* (Deconvolucionar) en la barra de herramientas superior izquierda.
- 5 Para los controles sin teñir recomendamos seleccionar *Use Control from Experiment* (Usar control del experimento) si realiza la deconvolución con los controles que adquirió en el experimento.
- 6 Si es necesario, para los controles teñidos, seleccione *Use Control from Library* (Usar control de la biblioteca) si realiza la deconvolución con los controles de referencia procesados en *QC & Setup* (CC y configuración).

Aparecen marcas de verificación para los controles procedentes de *QC & Setup*. La casilla de verificación solo está activa si los controles de referencia para esos marcadores fluorescentes ya se han guardado con los controles de referencia del módulo *QC & Setup*.

UNMIX EXPERIMENT

Select Controls Identify Positive/Negative Populations QC Controls

UNSTAINED CONTROLS

Use Control from Library

Use Control from Experiment Reference Group - Unstained (Cells)

Name	Control Type
Reference Group - Unstained (Cells)	Cells

STAINED CONTROLS

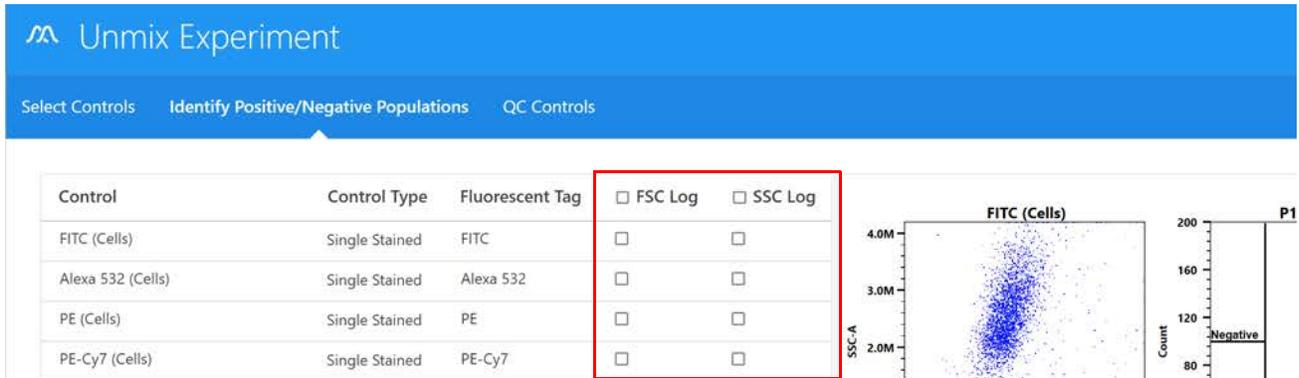
From Library	Fluorescent Tag	Control	Unstained	Generic
<input type="checkbox"/>	FITC	FITC (Cells)	Unstained	<input checked="" type="checkbox"/>

7 Haga clic en *Next* (Siguiente).

8 Utilice la pestaña *Identify Positive/Negative Populations* (Identificar poblaciones positivas/negativas) para incluir las poblaciones positivas y negativas para cada marcador fluorescente en la ventana de adquisición adecuada.

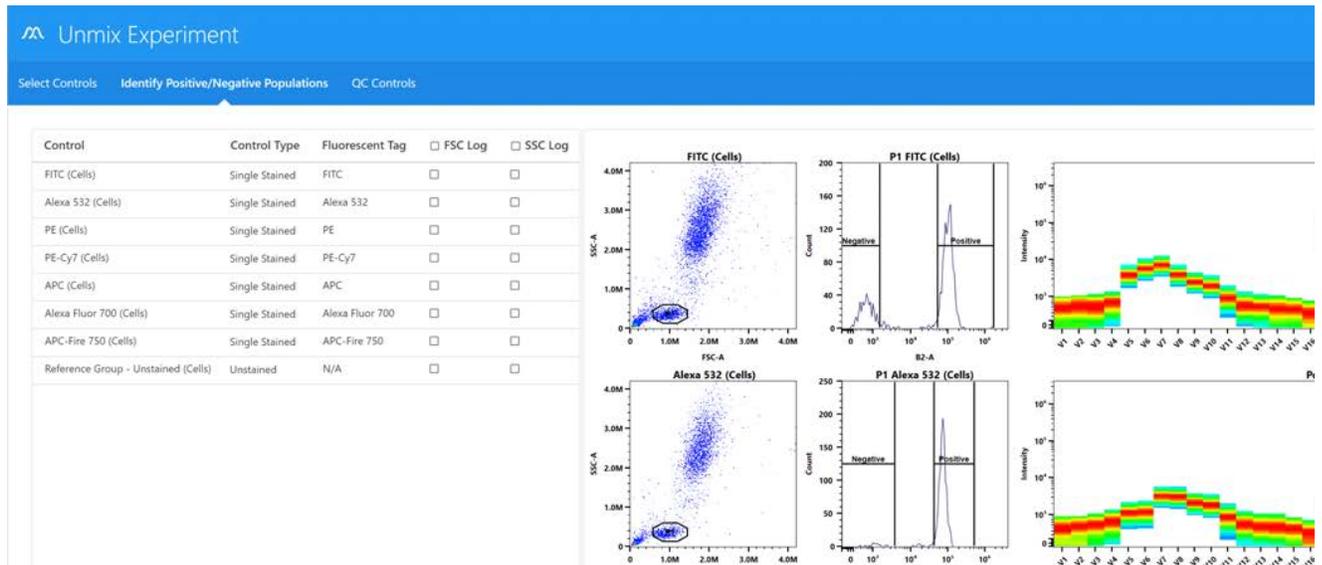
Solo se muestran los gráficos de datos de las muestras adquiridas, no de los controles de referencia que haya elegido utilizar de la biblioteca.

■ **NOTA:** Si necesita configurar el eje FSC o SSC en una escala logarítmica, seleccione la casilla de verificación *Log* (Logarítmico).



- Mueva la ventana de adquisición poligonal del gráfico FSC frente a SSC situado a la izquierda para incluir una población de eventos individuales. Mantenga presionada la tecla Ctrl para mover todas las ventanas de adquisición poligonales a la vez.
- Mueva la ventana de adquisición del intervalo positivo del histograma para incluir la población teñida positivamente. Mueva la ventana de adquisición del intervalo negativo para incluir la población negativa.
- Mueva la ventana de adquisición del intervalo del gráfico espectral situado a la derecha para seleccionar el canal que muestre la intensidad de fluorescencia más brillante. Este es el canal de emisión máxima para el marcador fluorescente.

■ **NOTA:** Si uno de los controles es dudoso o no contiene suficientes datos, puede volver a adquirirlo o agregarle más datos y después deconvolucionar de nuevo.



9 (Opcional) Para ver cómo se comparan los controles de referencia procesados en el experimento con los controles de referencia del punto de referencia, haga clic en *Next* (Siguiente).

■ **NOTA:** Para obtener información sobre la creación de puntos de referencia, véase “Establecer controles de referencia como puntos de referencia para el CC de los controles de referencia” en la página 40.

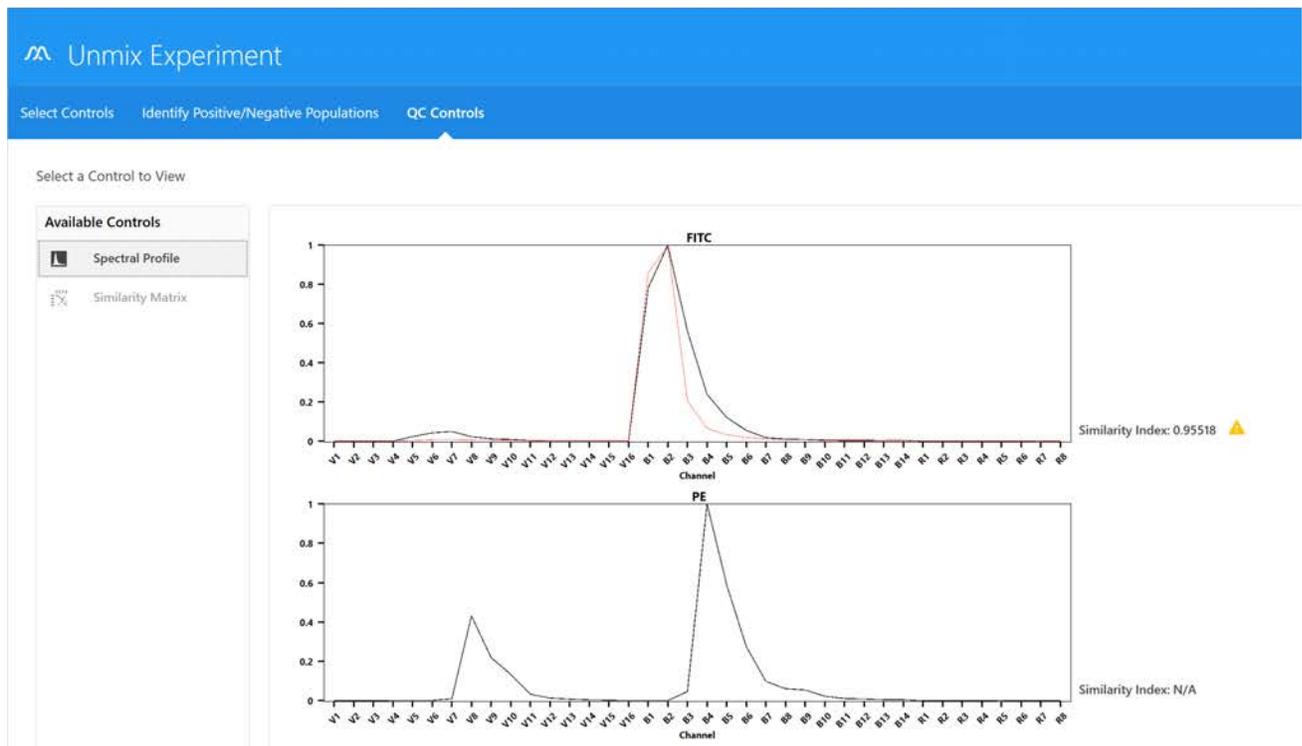
Dos opciones le permiten ver cómo se comparan los dos controles de referencia: *Spectral Profile* (perfil espectral) y *Similarity™ Matrix* (matriz de similitud).

- *Spectral Profile* (Perfil espectral) muestra el espectro de emisión de los controles de deconvolución frente a los espectros de referencia designados por el usuario. Los espectros de control de referencia del punto de referencia aparecen en rojo y los controles de referencia aparecen en negro.

A la derecha de los gráficos aparece un índice de similitud. Un valor más próximo a 1 indica firmas espectrales similares, mientras que un valor más próximo a 0 indica firmas espectrales que no son similares. Para su comparación con los puntos de referencia, el valor debe ser próximo a 1. Si el valor es inferior a 0,97, se marcará con un símbolo de advertencia amarillo. Esto indica un desajuste de los espectros de control de deconvolución con los espectros de referencia. Si el índice de similitud cae por debajo de este valor, es imprescindible verificar el control de deconvolución frente a los espectros de referencia facilitados en la guía de fluorocromos que se encuentra en el menú *Help* (Ayuda). Véase «*Similarity™ Matrix* (Matriz de similitud)» en la sección siguiente.

El índice de similitud también se puede utilizar para visualizar y comparar las firmas espectrales completas de dos colorantes cualesquiera. Los colorantes con firmas espectrales similares pueden ser difíciles de diferenciar. En este caso, es mejor utilizar colorantes con un índice de similitud $\leq 0,98$. Véase spectrum.cytekbio.com para obtener un instrumento de visualización del espectro completo.

Si no se establece un control de punto de referencia para un colorante concreto, ese gráfico solo mostrará una línea negra que represente el espectro del control de deconvolución. El índice de similitud mostrará N/A.



- **Similarity™ Matrix** (Matriz de similitud) muestra una matriz de índices de similitud y un valor del índice de complejidad.

Haga clic en *View Similarity Index* (Ver índice de similitud) encima de la matriz para mostrar los índices de cada colorante. La **Similarity™ Matrix** (Matriz de similitud) mostrará el índice de similitud de cada colorante frente a sí mismo y a todos los demás colorantes que se van a deconvolucionar en el experimento.

El índice de complejidad es una medida de lo distinguibles que son entre sí una colección de firmas espectrales cuando se deconvolucionan conjuntamente. Se calcula examinando la proporción del índice de similitud de la peor combinación de firmas de superposición espectral con respecto a la mejor combinación de firmas de superposición espectral.

Unmix Experiment

Select Controls Identify Positive/Negative Populations QC Controls

Select a Control to View Hide Similarity Index

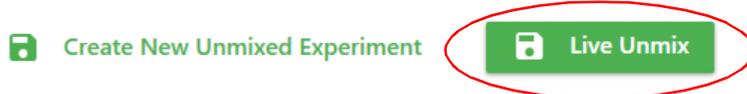
Available Controls

- Spectral Profile
- Similarity Matrix

	FITC	Alexa 532	PE	PE-Cy7	APC	Alexa Fluor 700	APC-Fire 750
FITC	1	0.5	0.2	0.01	0	0	0.01
Alexa 532	0.5	1	0.67	0.02	0	0	0
PE	0.2	0.67	1	0.02	0.01	0	0.01
PE-Cy7	0.01	0.02	0.02	1	0.02	0.07	0.18
APC	0	0	0.01	0.02	1	0.45	0.16
Alexa Fluor 700	0	0	0	0.07	0.45	1	0.37
APC-Fire 750	0.01	0	0.01	0.18	0.16	0.37	1

Complexity Index: 2.77

10 Haga clic en *Live Unmix* (Deconvolución en tiempo real).



11 El asistente se cierra y vuelve a aparecer el experimento. El grupo de referencia tiene ahora el icono deconvolucionado a la izquierda del tubo o tubos. Seleccione una hoja de trabajo de datos deconvolucionados para ver los datos deconvolucionados.

Acquisition Experiment

*7C Demo Panel 20190826

7C Default Raw Worksheet

Save Save As Edit Unmix

Tube Group Collapse All

- Reference Group
- Group_001
 - Tube_001
 - Tube_002

PSCH

4.0M

3.0M

2.0M

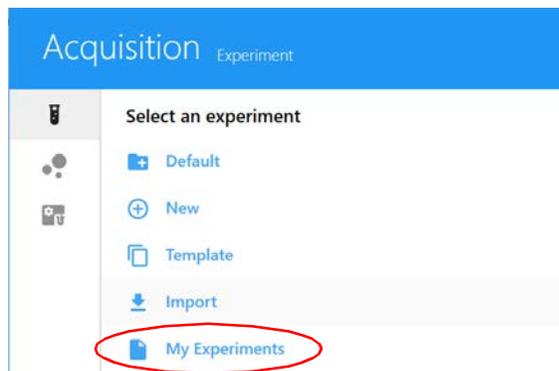
1.0M

P1

All Events

12 Seleccione el tubo de muestra que desee adquirir. La flecha verde indica que el tubo está seleccionado. Haga clic en *Start* (Iniciar) y después en *Record* (Grabar).

Utilice *My Experiments* (Mis experimentos) para abrir experimentos que haya ejecutado si desea revisar los datos o adquirir más muestras.



Los archivos FCS se almacenan en la carpeta *Export* (Exportar) de forma predeterminada, o en la carpeta que establezca como predeterminada. Véase “[Preferencias de almacenamiento](#)” en la [página 84](#) para obtener información. Los archivos FCS para datos deconvolucionados en tiempo real se guardan como datos sin procesar y datos deconvolucionados.

Análisis de datos sin conexión

Para analizar datos sin conexión, puede hacer clic en *My Experiments*, seleccionar los experimentos que desea exportar, hacer clic con el botón derecho del ratón y seleccionar *Export*. Esto exportará todo el experimento como un archivo ZIP con todos los archivos FCS y las plantillas de hoja de trabajo contenidos en su interior. Este experimento se puede importar a otras copias del software SpectroFlo, o descomprimirse para acceder a los archivos FCS para su análisis utilizando otro software de análisis.

Deconvolución posterior a la adquisición

Las muestras se pueden adquirir como datos sin procesar y después deconvolucionarlas una vez finalizada la adquisición. Esto se puede hacer por dos métodos:

- Deconvolución posterior a la adquisición en el módulo *Acquisition* (Adquisición, véase a continuación).
- Deconvolución posterior a la adquisición en el módulo *Extra Tools* (Herramientas adicionales, véase la [página 106](#)).

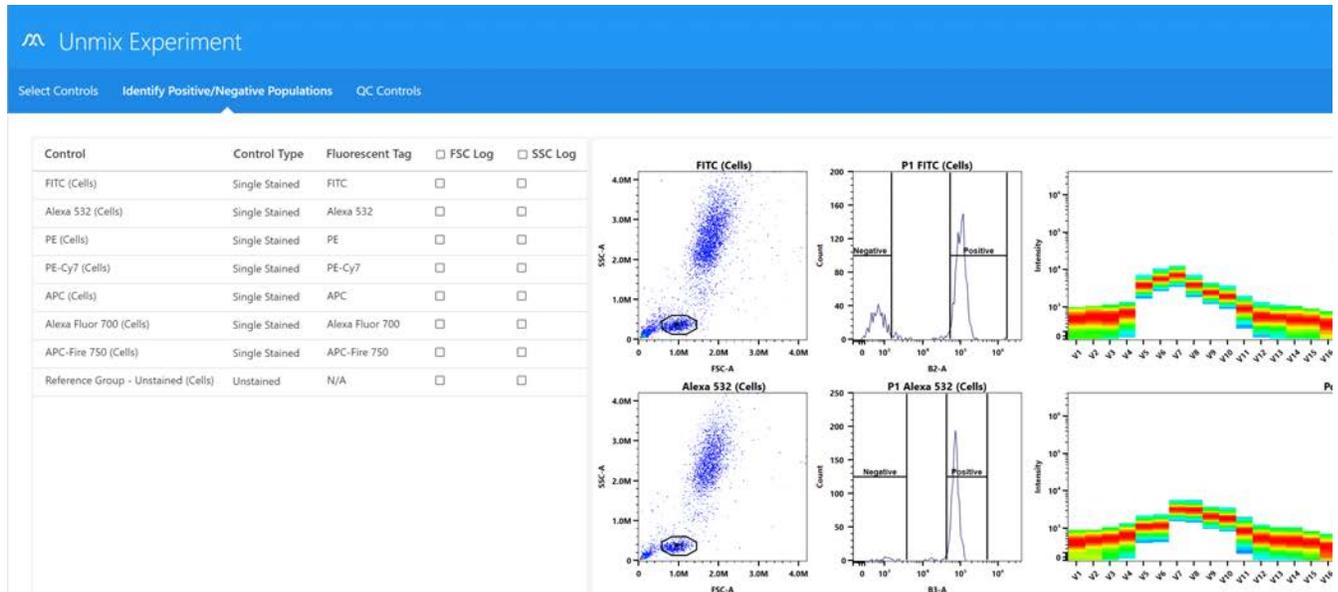
Deconvolución posterior a la adquisición en el módulo *Acquisition*

El asistente de deconvolución del módulo *Acquisition* limita los controles de referencia a los procedentes del grupo de referencia en el experimento o a los controles de referencia procesados en *QC & Setup* (CC y configuración).

Para realizar la deconvolución posterior a la adquisición en el módulo *Acquisition*, realice el mismo flujo de trabajo que en la deconvolución en tiempo real, excepto lo siguiente:

- 1 Adquiera todos los tubos de control de referencia y los tubos de muestra antes de seleccionar el botón *Unmix* (Deconvolucionar) en el recuadro superior izquierdo.
- 2 Examine los gráficos espectrales haciendo lo siguiente, si es necesario:
 - a. Mueva la ventana de adquisición poligonal del gráfico FSC frente a SSC situado a la izquierda para incluir una población de eventos individuales. Mantenga presionada la tecla Ctrl para mover todas las ventanas de adquisición poligonales a la vez.

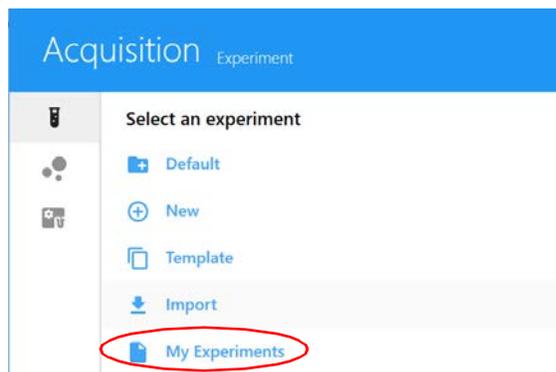
- b. Mueva la ventana de adquisición del intervalo positivo del histograma para incluir la población teñida positivamente. Mueva la ventana de adquisición del intervalo negativo para incluir la población negativa.
- c. Mueva la ventana de adquisición del intervalo del gráfico espectral situado a la derecha para seleccionar el canal que muestre la intensidad de fluorescencia más brillante. Este es el canal de emisión máxima para el marcador fluorescente.



- 3 Haga clic en *Create New Unmixed Experiment* (Crear experimento nuevo deconvolucionado). Se abre un experimento nuevo con una nueva hoja de trabajo para datos deconvolucionados.



Utilice *My Experiments* (Mis experimentos) para abrir experimentos que haya procesado, si desea revisar los datos o adquirir más muestras.



Los archivos FCS se almacenan en la carpeta *Export* (Exportar) de forma predeterminada, o en la carpeta que establezca como predeterminada. Véase “[Preferencias de almacenamiento](#)” en la [página 84](#) para obtener información. Los archivos FCS para datos deconvolucionados posteriores a la adquisición se guardan solo como datos deconvolucionados.

Deconvolución posterior a la adquisición en el módulo *Extra Tools* (Herramientas adicionales)

Al realizar la deconvolución posterior a la adquisición en el módulo *Extra Tools*, puede elegir qué archivos FCS se van a deconvolucionar (por ejemplo, controles procedentes de diferentes experimentos, controles de referencia procesados durante *QC & Setup* [CC y configuración] o controles de tinción única que no se procesaron como parte del grupo de referencia).

Los archivos FCS se pueden designar en tres categorías:

- *Single Stained* (Tinción única)
- *Unstained* (Sin teñir)
- *Sample* (Muestra)

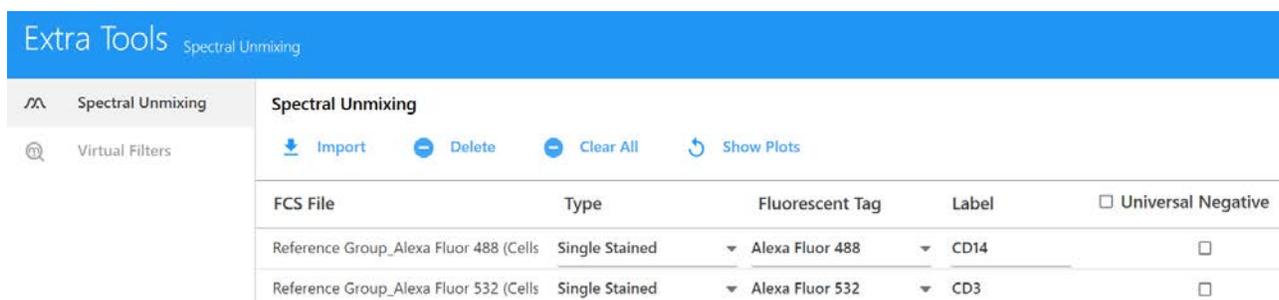
■ **NOTA:** Debe haber al menos un archivo FCS con datos de tinción única y un archivo FCS con datos sin teñir en la lista de archivos. De lo contrario, no se puede realizar la deconvolución.

■ **NOTA:** Los parámetros deben coincidir para que esto funcione.

Además, los archivos FCS sin procesar también se pueden compensar de forma convencional en este módulo a través de la pestaña *Virtual Filters* (Filtros virtuales). Esta función puede simular la presencia de filtros y puede compensar los datos mediante métodos de compensación convencionales (véase “[Virtual Filters \(Filtros virtuales\)](#)” en la página 110).

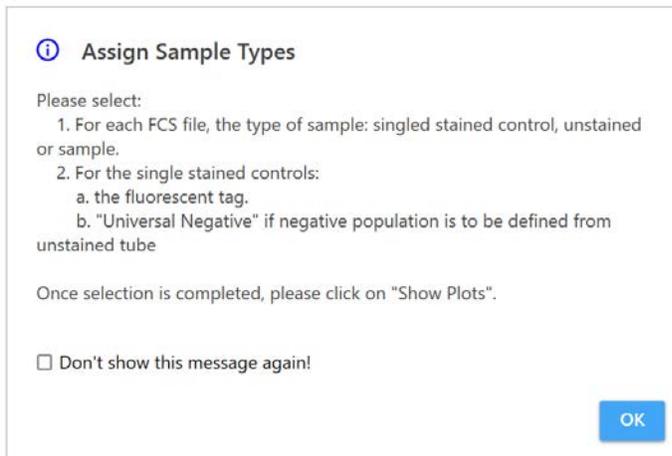
Para deconvolucionar archivos de datos sin procesar:

- 1 Seleccione *Spectral Unmixing* (Deconvolución espectral) en el módulo *Extra Tools*.
- 2 Haga clic en *Import* (Importar) para importar archivos FCS sin procesar para su deconvolución.

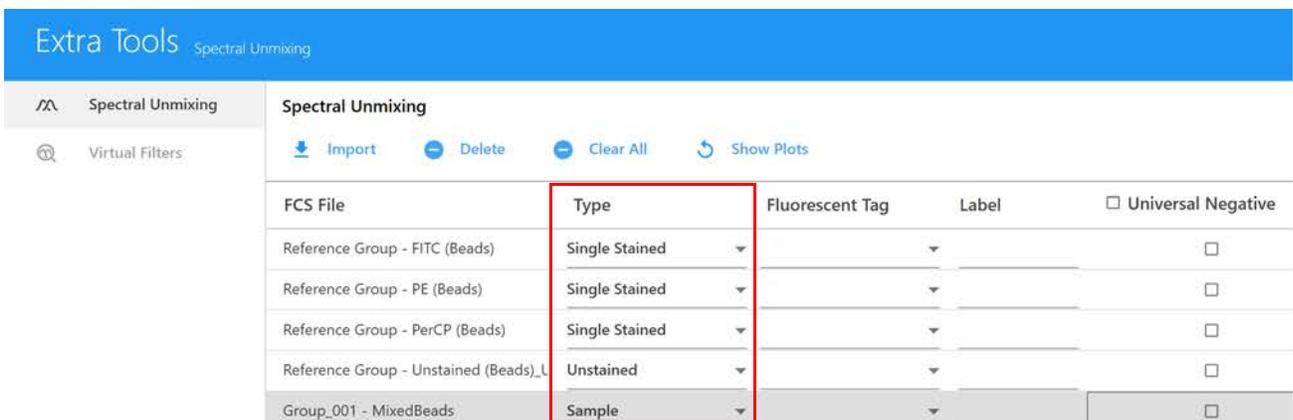


- 3 Seleccione los archivos. Seleccione varios archivos con la tecla Mayús o Ctrl. Haga clic en **Open** (Abrir).

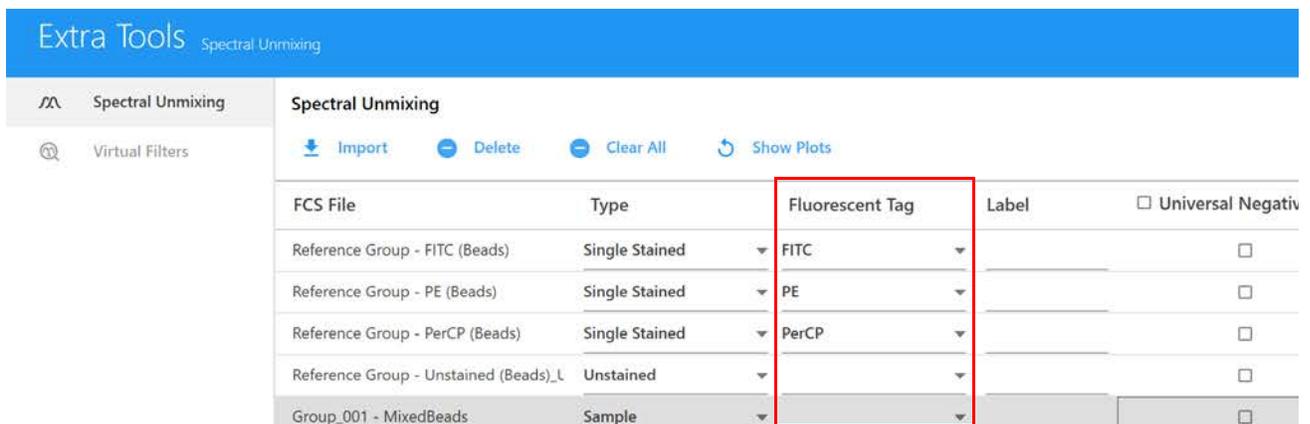
- 4 Al importar, aparece un cuadro de diálogo sobre el modo de asignar tipos de muestras. Lea las instrucciones y haga clic en *OK* (Aceptar).



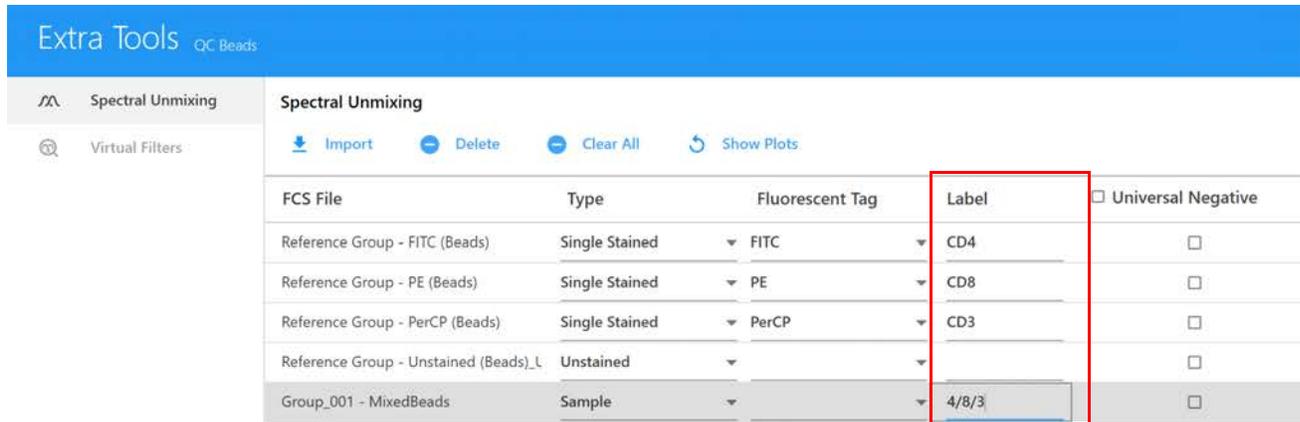
- 5 Una vez importados los archivos FCS, seleccione el tipo de muestra para cada archivo FCS como *Single Stained*, *Unstained* o *Sample* (Tinción única, Sin teñir o Muestra). El software designará automáticamente el tipo en función del nombre del archivo. Puede modificarlos manualmente si la designación automática es incorrecta.



- 6 Los archivos FCS designados como de tinción única requerirán una designación de marcador fluorescente para especificar qué espectro de referencia se ofrecerá para la deconvolución.

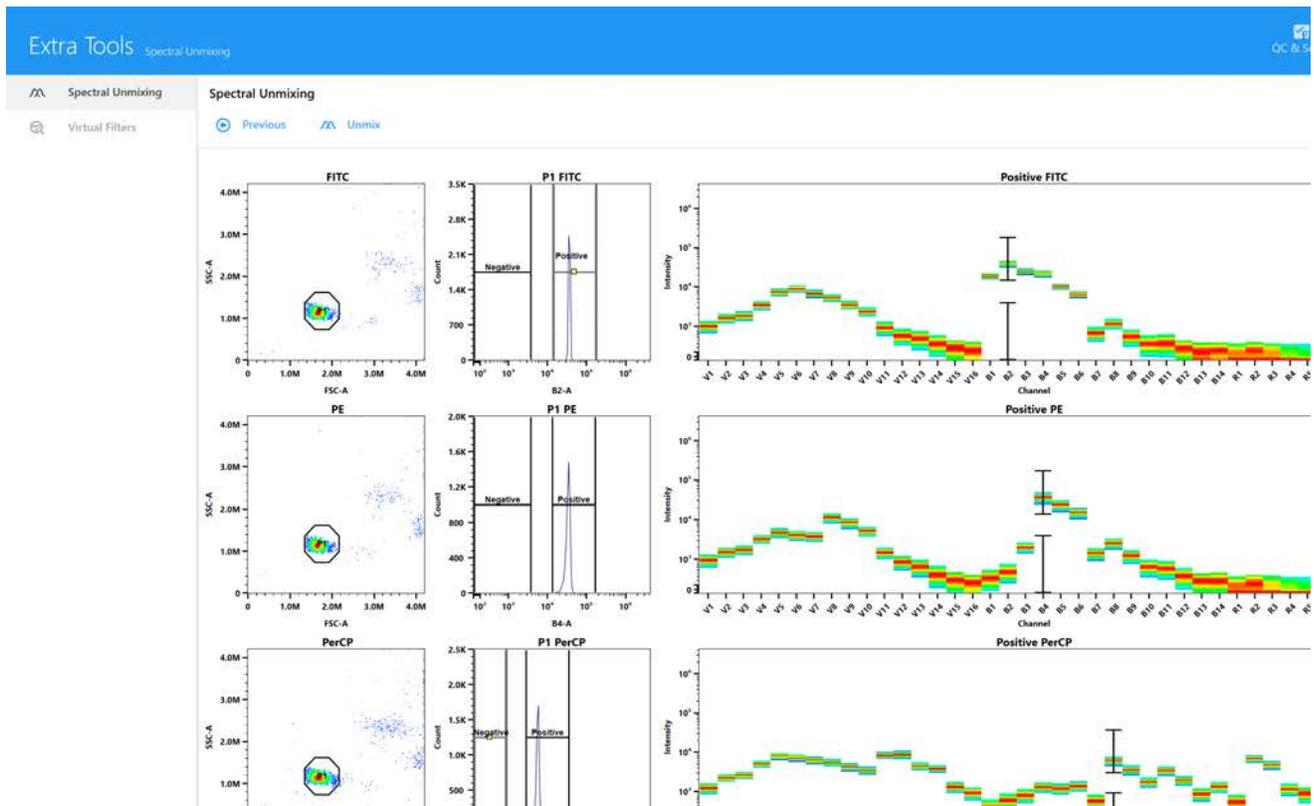


7 Introduzca una etiqueta para cada control de tinción única y cada muestra.



- 8 Seleccione *Universal Negative* (Negativo universal) para archivos FCS de tinción única que no contengan una población negativa, y el control sin teñir se utilizará para la población negativa. En la parte inferior izquierda de la pantalla, compruebe si se utilizará *Auto Fluorescence* (Autofluorescencia) como marcador fluorescente.
- 9 Haga clic en *Show Plots* (Mostrar gráficos) para mostrar los datos en el gráfico FSC frente a SSC, el histograma del canal de emisión máxima y los gráficos espectrales.
- 10 Las poblaciones positivas y negativas deben identificarse mediante la colocación adecuada de las ventanas de adquisición existentes. Haga clic en *OK* (Aceptar) para ajustar las ventanas de adquisición.
 - a. Mueva la ventana de adquisición poligonal del gráfico FSC frente a SSC para incluir la población de eventos individuales.
 - b. Mueva la ventana del intervalo del histograma etiquetada *Positive* (Positivo) para incluir la población teñida positivamente. Mueva la ventana del intervalo del histograma etiquetada *Negative* (Negativo) para incluir la población negativa. No ajuste la ventana de adquisición negativa cuando utilice el *Universal Negative*.

- c. Mueva la ventana de adquisición del intervalo del gráfico espectral situado a la derecha para seleccionar el canal que muestre la intensidad de fluorescencia más brillante. Este es el canal de emisión máxima para el marcador fluorescente.



- 11 Haga clic en *Unmix* (Deconvolucionar).
- 12 Seleccione el directorio al que se exportan los archivos FCS deconvolucionados o deje el predeterminado. Haga clic en *OK* (Aceptar).



Estos archivos FCS se pueden importar después a un experimento para su análisis o analizarlos utilizando software de terceros.

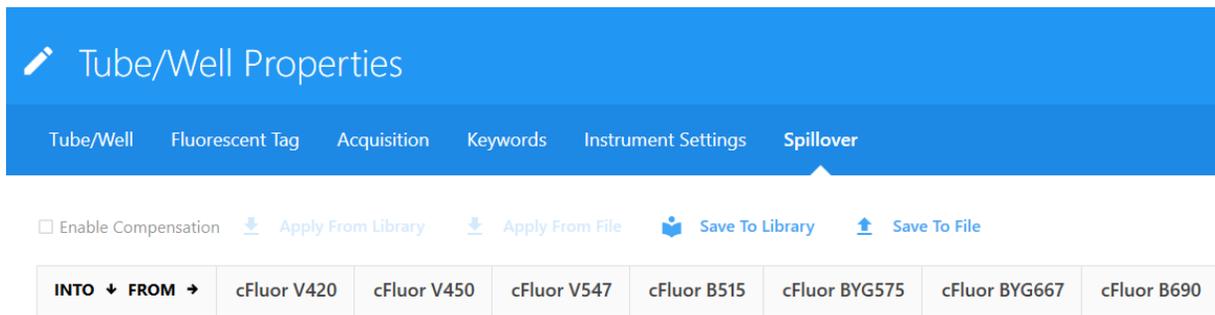
Ajuste de la contaminación espectral

Puede ajustar la contaminación espectral de la fluorescencia para un tubo/pocillo seleccionado.

- 1 Asegúrese de que la flecha verde esté junto al tubo/pocillo, haga clic con el botón derecho del ratón y después seleccione *Edit Properties* (Modificar propiedades) en la lista de jerarquías de grupos-tubos.

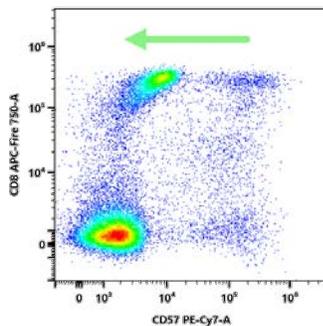
Se abre la ventana *Tube/Well Properties* (Propiedades del tubo/pocillo).

- 2 Seleccione la pestaña *Spillover* (Contaminación espectral).
- 3 Haga clic en la casilla de verificación *Enable Compensation* (Activar compensación) para activarla. El icono *Adjust Spillover* (Ajustar contaminación espectral) de la barra de herramientas está ahora activado.



- 4 Dejando abierta la ventana *Tube/Well Properties*, haga clic en el icono *Adjust Spillover* $\begin{bmatrix} 10 \\ 01 \end{bmatrix}$ y después haga clic y arrastre en el gráfico en la dirección que desee ajustar.

Los cambios se reflejan en la ventana *Tube/Well Properties*.

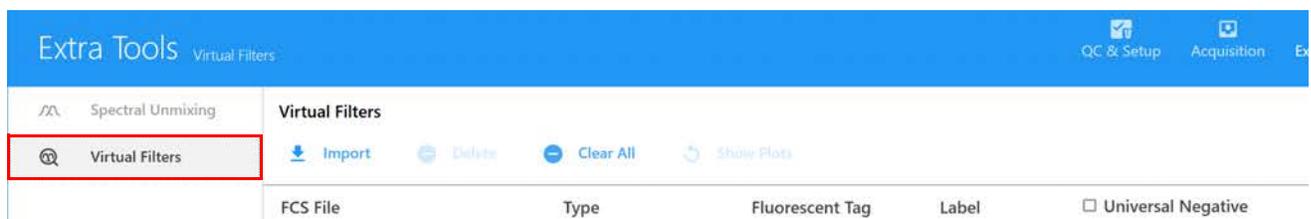


- 5 Haga clic en *Save* (Guardar) para guardar los cambios. Para descartar los cambios, cierre la ventana *Tube/Well Properties* y haga clic en *No* en la ventana de confirmación, o haga clic en *Discard changes* (Descartar cambios) en la ventana de propiedades del tubo/pocillo.

Virtual Filters (Filtros virtuales)

La opción *Virtual Filters* del módulo *Extra Tools* (Herramientas adicionales) permite compensar datos FCS sin procesar mediante métodos de compensación convencionales.

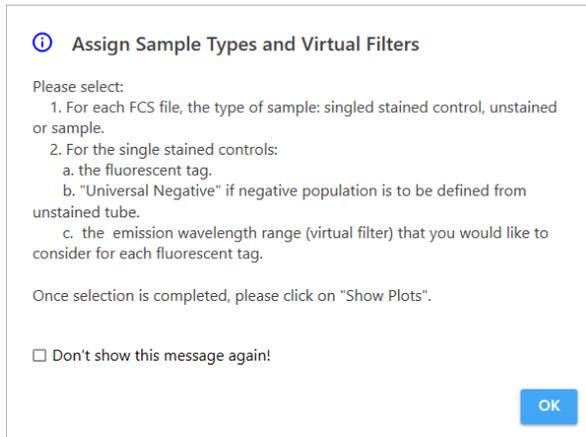
- 1 Haga clic en la pestaña *Virtual Filters* del módulo *Extra Tools*.



- 2 Haga clic en *Import* (Importar) para importar archivos FCS sin procesar para su análisis con filtros virtuales.

Estos archivos FCS pueden ser controles de referencia de tinción única, controles sin teñir o archivos de muestra. Sin embargo, tiene que incluir un archivo FCS de control sin teñir.

- 3 Al importar, aparece un cuadro de diálogo sobre el modo de asignar tipos de muestras. Lea las instrucciones y haga clic en *OK* (Aceptar).



- 4 Una vez importados los archivos FCS, hay que designar el tipo de muestra de cada archivo FCS *Single Stained*, *Unstained* o *Sample* (Tinción única, Sin teñir o Muestra). El software designará automáticamente el tipo en función del nombre del archivo. Puede modificarlos manualmente si la designación automática es incorrecta.
- 5 Los archivos FCS designados como de tinción única requieren una designación de marcador fluorescente. Seleccione el marcador fluorescente para cada muestra de tinción única.

Si no hay población negativa en los archivos FCS de tinción única, seleccione *Universal Negative* (Negativo universal) y se utilizará el control sin teñir para la población negativa.

El software asigna automáticamente el filtro virtual en función de la designación del marcador fluorescente. (Opcional) Para aumentar el ancho de banda del filtro virtual, utilice los menús desplegables del canal para seleccionar el intervalo deseado. Véase la tabla siguiente para conocer los intervalos de longitud de onda.

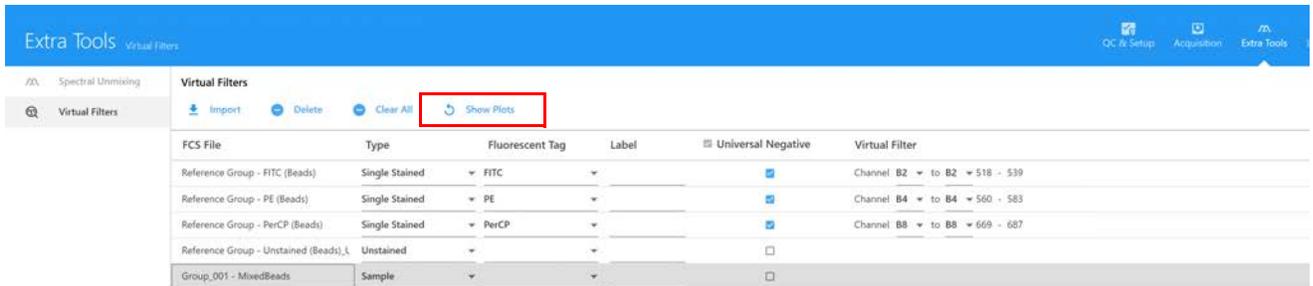


En la tabla siguiente se muestran los anchos de banda de los filtros del sistema.

Láser	Canal	Longitud de onda central (nm)	Ancho de banda (nm)	Inicio de la longitud de onda (nm)	Fin de la longitud de onda (nm)
Violeta	V1	428	15	420	435
	V2	443	15	436	451
	V3	458	15	451	466
	V4	473	15	466	481
	V5	508	20	498	518
	V6	525	17	516	533
	V7	542	17	533	550
	V8	581	19	571	590
	V9	598	20	588	608
	V10	615	20	605	625
	V11	664	27	651	678
	V12	692	28	678	706
	V13	720	29	706	735
	V14	750	30	735	765
	V15	780	30	765	795
	V16	812	34	795	829
Azul	B1	508	20	498	518
	B2	525	17	516	533
	B3	542	17	533	550
	B4	581	19	571	590
	B5	598	20	588	608
	B6	615	20	605	625
	B7	661	17	653	670
	B8	679	18	670	688
	B9	697	19	688	707
	B10	717	20	707	727
	B11	738	21	728	749
	B12	760	23	749	772
	B13	783	23	772	795
	B14	812	34	795	829
Rojo	R1	661	17	653	670
	R2	679	18	670	688
	R3	697	19	688	707
	R4	717	20	707	727
	R5	738	21	728	749
	R6	760	23	749	772
	R7	783	23	772	795
	R8	812	34	795	829

6 (Opcional) Seleccione una etiqueta para los controles de tinción única y las muestras.

7 Haga clic en *Show Plots* (Mostrar gráficos) para mostrar los gráficos.



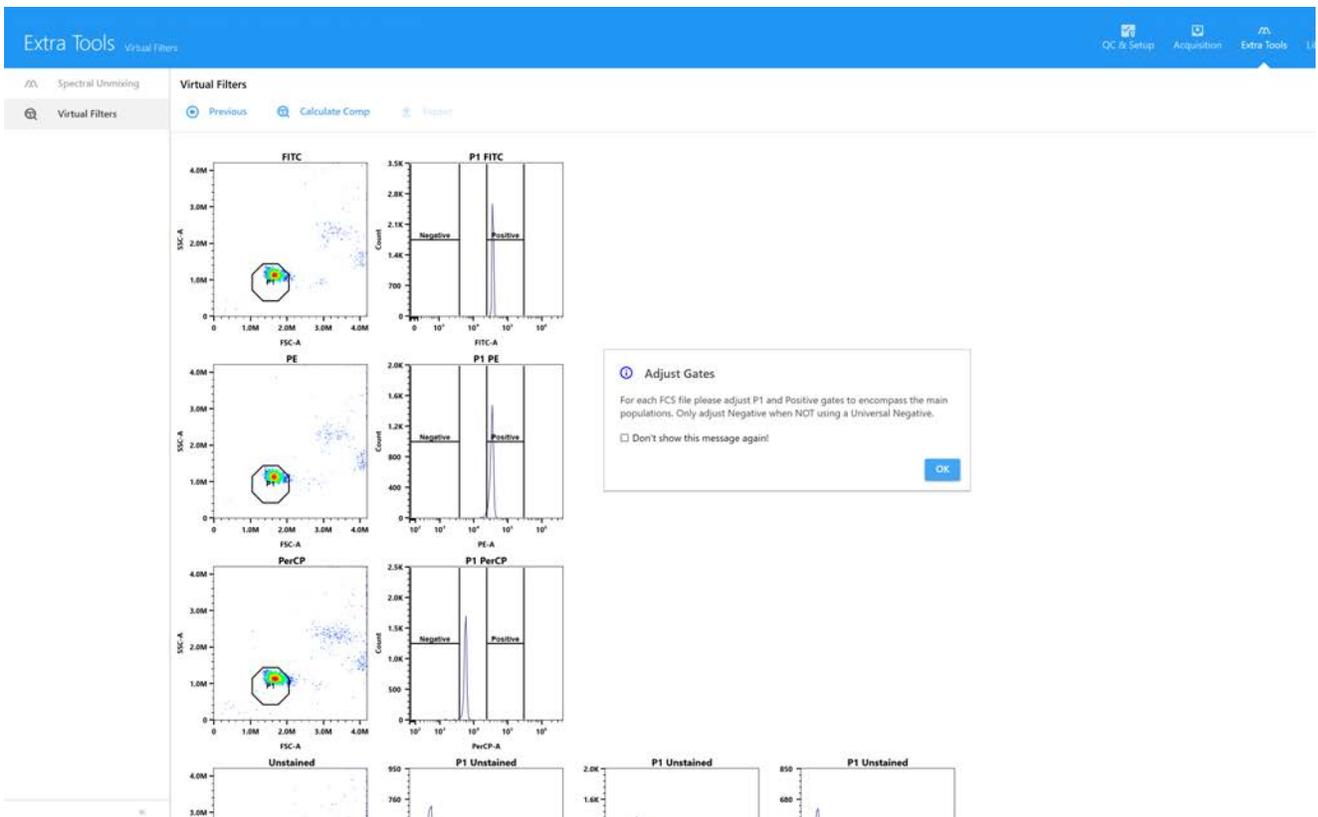
FCS File	Type	Fluorescent Tag	Label	Universal Negative	Virtual Filter
Reference Group - FITC (Beads)	Single Stained	FITC		<input checked="" type="checkbox"/>	Channel B2 to B2 - 518 - 539
Reference Group - PE (Beads)	Single Stained	PE		<input checked="" type="checkbox"/>	Channel B4 to B4 - 560 - 583
Reference Group - PerCP (Beads)	Single Stained	PerCP		<input checked="" type="checkbox"/>	Channel B8 to B8 - 669 - 687
Reference Group - Unstained (Beads)	Unstained			<input type="checkbox"/>	
Group_001 - MixedBeads	Sample			<input type="checkbox"/>	

Los datos se muestran en el gráfico de FSC frente a SSC y en el gráfico de histograma de marcadores fluorescentes.

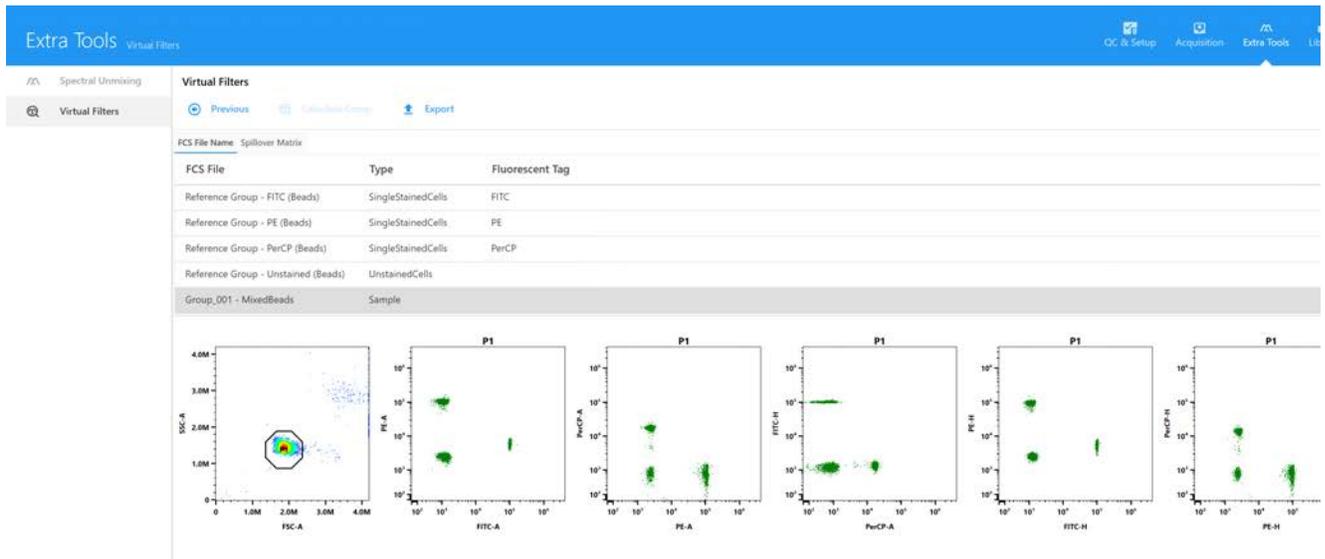
8 Las poblaciones positivas y negativas deben identificarse mediante la colocación adecuada de las ventanas de adquisición. Haga clic en *OK* (Aceptar) para ajustar las ventanas de adquisición.

- Mueva la ventana de adquisición poligonal del gráfico FSC frente a SSC para incluir la población de eventos individuales. Mantenga presionada la tecla Ctrl para mover todas las ventanas de adquisición poligonales a la vez.
- Mueva la ventana del intervalo del histograma etiquetada *Positive* (Positivo) para incluir la población teñida positivamente. Mueva la ventana del intervalo del histograma etiquetada *Negative* (Negativo) para incluir la población negativa. No ajuste la ventana de adquisición negativa cuando utilice el *Universal Negative* (Negativo universal).

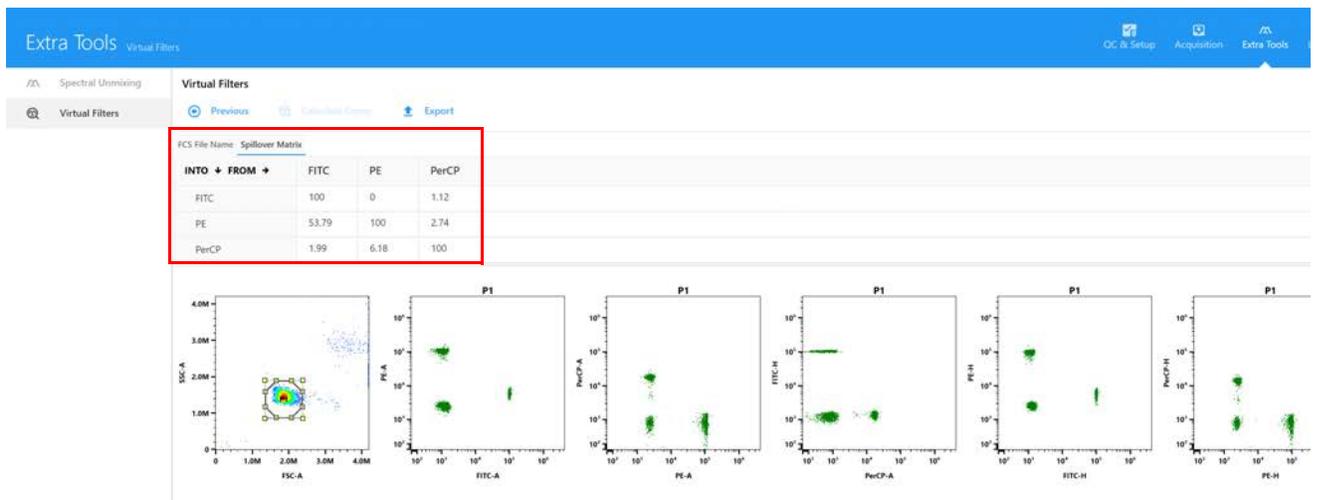
Los ejes x del histograma se etiquetan con el marcador fluorescente en lugar del canal/ detector.



- 9 Haga clic en *Calculate Comp* (Calcular comp) una vez que se hayan ajustado correctamente las ventanas de adquisición. Se muestran los datos compensados de forma convencional. Para ver los datos de un archivo FCS concreto, seleccione el archivo.



También se calcula la matriz de contaminación espectral. Haga clic en *Spillover Matrix* (Matriz de contaminación espectral) para ver los valores de contaminación espectral.



- 10 Haga clic en *Export* (Exportar) y seleccione la ubicación a la que desea exportar los datos compensados de forma convencional. Los archivos se exportan a una carpeta denominada *Compensated* (Compensado) seguido de la fecha y hora vigentes. A continuación, los archivos se pueden volver a importar a un experimento para analizarlos en el software SpectroFlo.

Lista de trabajo

Crear o abrir una lista de trabajo

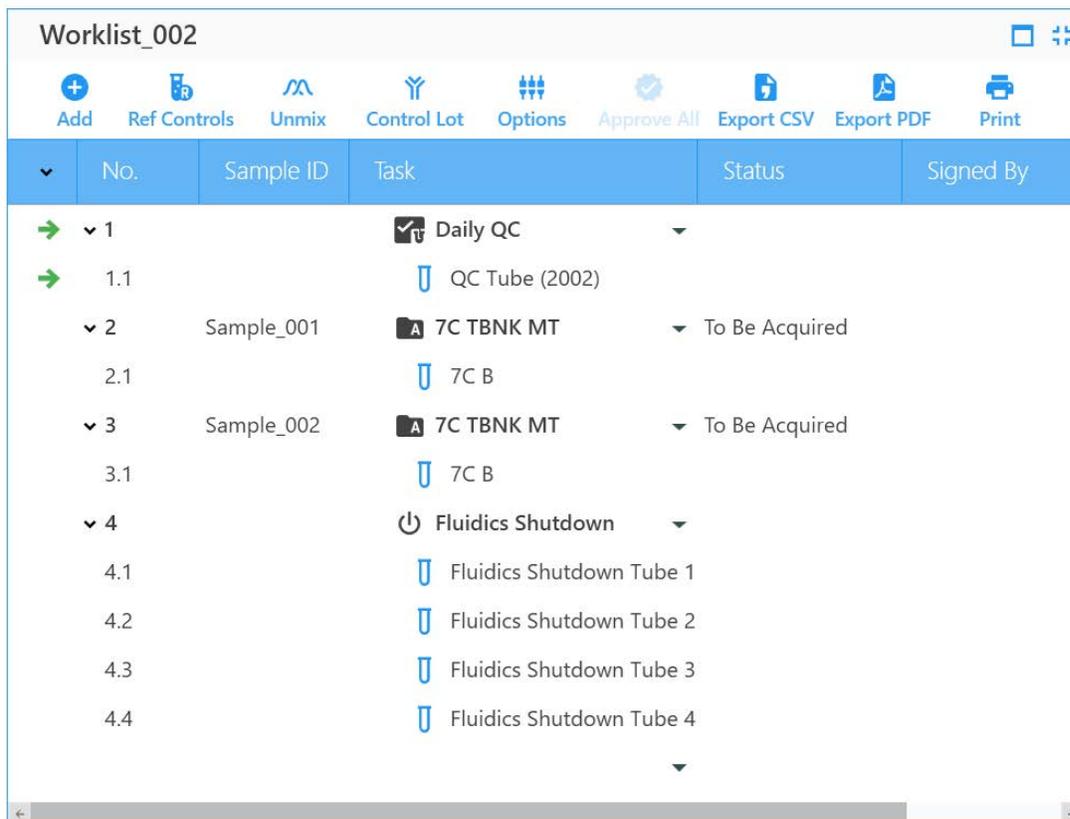
- 1 En el módulo *Worklist* (Lista de trabajo), haga clic en *New* (Nuevo) en la barra de herramientas para crear una nueva lista de trabajo.
Las listas de trabajo existentes se muestran debajo de la barra de herramientas *Worklist*.
- 2 Seleccione una *Worklist* deseada y haga doble clic en ella, o haga clic en *Open* (Abrir) en la parte inferior para abrir la lista de trabajo.

The screenshot shows the 'Worklist' application interface. At the top, there is a blue header with the text 'Worklist Worklist'. Below the header is a toolbar with three buttons: 'Import' (with a download icon), 'Export' (with an upload icon), and 'New' (with a plus icon). Below the toolbar, there are three worklist items displayed in a grid. Each item is a card with the following information:

Worklist ID	Created By	Date Created	Date Modified	Action
TNBK001	Admin	June 09, 2021 - 10:16 AM	June 10, 2021 - 09:35 AM	Open >
Worklist_002	Admin	June 09, 2021 - 09:47 AM	June 09, 2021 - 10:07 AM	Open >
Worklist_001	Admin	June 08, 2021 - 16:38 PM	June 09, 2021 - 09:37 AM	Open >

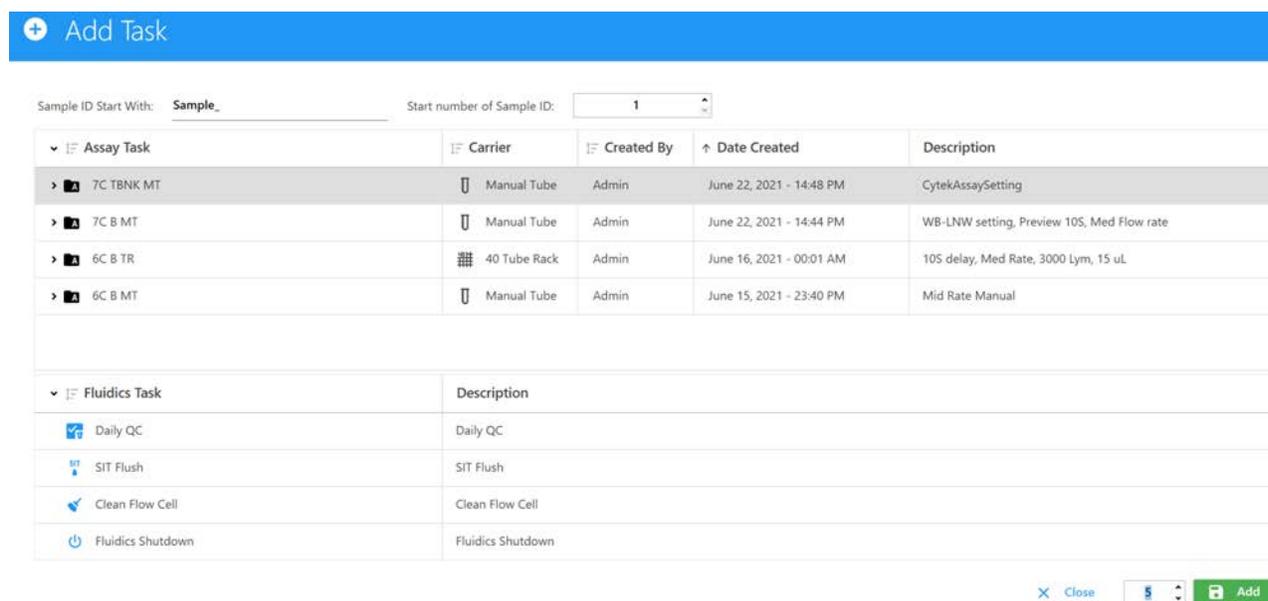
Agregar tareas

Después de abrir una lista de trabajo, haga clic en el botón *Add* (Agregar) o haga clic en la flecha desplegable de la columna *Task* (Tarea) de la lista de trabajo para agregar tareas.



No.	Sample ID	Task	Status	Signed By
1		Daily QC		
1.1		QC Tube (2002)		
2	Sample_001	7C TBNK MT	To Be Acquired	
2.1		7C B		
3	Sample_002	7C TBNK MT	To Be Acquired	
3.1		7C B		
4		Fluidics Shutdown		
4.1		Fluidics Shutdown Tube 1		
4.2		Fluidics Shutdown Tube 2		
4.3		Fluidics Shutdown Tube 3		
4.4		Fluidics Shutdown Tube 4		

- 1 Haga clic en *Add* para abrir el cuadro de diálogo *Add Task* (Agregar tarea).
- 2 Seleccione la *Assay Task* (Tarea de ensayo) o la *Fluidics Task* (Tarea de fluidica) que desea agregar.



Sample ID Start With: Sample_ Start number of Sample ID: 1

Assay Task	Carrier	Created By	Date Created	Description
7C TBNK MT	Manual Tube	Admin	June 22, 2021 - 14:48 PM	CytekAssaySetting
7C B MT	Manual Tube	Admin	June 22, 2021 - 14:44 PM	WB-LNW setting, Preview 10S, Med Flow rate
6C B TR	40 Tube Rack	Admin	June 16, 2021 - 00:01 AM	10S delay, Med Rate, 3000 Lym, 15 uL
6C B MT	Manual Tube	Admin	June 15, 2021 - 23:40 PM	Mid Rate Manual

Fluidics Task	Description
Daily QC	Daily QC
SIT Flush	SIT Flush
Clean Flow Cell	Clean Flow Cell
Fluidics Shutdown	Fluidics Shutdown

Close Add

- 3 Introduzca el número necesario de muestras en el cuadro de cantidad de la esquina inferior derecha y haga clic en el botón *Add*.
- 4 Cuando haya terminado, haga clic en el botón *Close* (Cerrar) para cerrar el cuadro de diálogo.

Tenga en cuenta que algunas tareas de fluídica solo se pueden agregar a tipos de transportadores concretos. Al agregar una tarea, el software seleccionará automáticamente el transportador de muestras necesario para la prueba y realizará el diseño de la posición predeterminada de las muestras en el transportador.

- 5 (Opcional) Imprima la tabla de ubicación de tubos/pocillos. Haga clic en *Print* (Imprimir) y seleccione *Print Tube/Well Location Mapping Table* (Imprimir tabla de asignación de ubicación de tubos/pocillos).

Controles de referencia

Puede elegir utilizar los controles de referencia guardados en la biblioteca o crear controles de referencia en la lista de trabajo.

- 1 Haga clic en *Ref Controls* (Controles de referencia) y aparecerá el cuadro de diálogo *Create Reference Controls* (Crear controles de referencia). El software generará una lista de controles de referencia según los ensayos agregados a la lista de trabajo.
- **NOTA:** El icono *Ref Controls* aparecerá atenuado hasta que añada el ensayo que va a procesar.
- 2 Haga clic en el botón *Add* para agregar controles de referencia adicionales.

Create Reference Controls

Reference Group Acquisition

Define Unstained Control(s) for Autofluorescence Extraction

Name: Unstained Control Type: Cells Define Additional Negative Control(s) for Spillover Calculation

Fluorescent Tag	Control Type	Label	Lot	Negative Control
FITC	Cells	CD3		
PE	Cells	CD16+56		
PE-Cy5	Cells	CD19		
PE-Cy7	Cells	CD4		
PE-Dazzle594	Cells	CD8		
PerCP-Cy5.5	Cells	CD45		

+ Add - Remove

Cancel X Save Save Next →

- Haga clic en *Acquisition* (Adquisición) o en *Next* (Siguiente) para seleccionar la hoja de trabajo, los criterios de parada y la configuración del instrumento para la recogida de datos.

Si varios ensayos de la lista de trabajo utilizan configuraciones de usuario diferentes, todas las configuraciones de usuario más *CytekAssySetting* aparecerán en el menú desplegable.

CytekAssySetting siempre será el valor predeterminado. Los datos del control de referencia deben recogerse antes que los datos de la muestra.

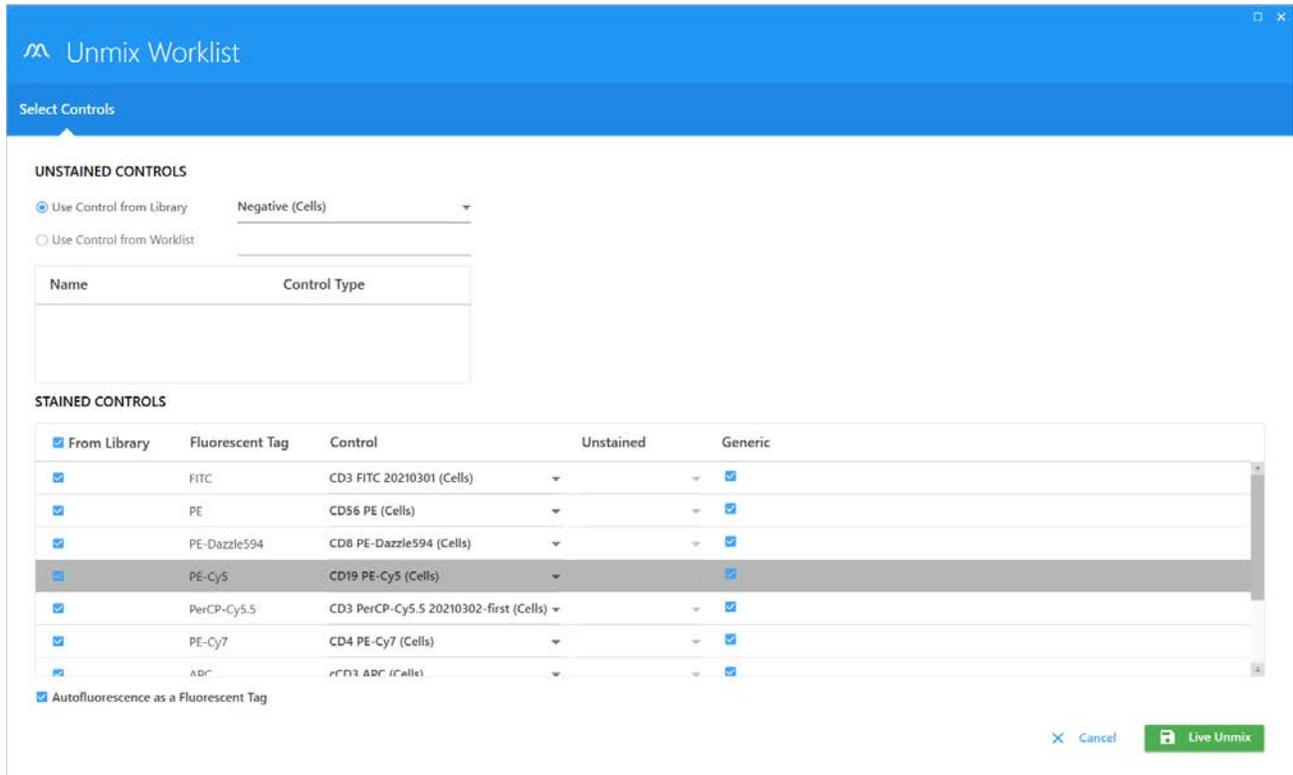
Name	CytekAssySetting (Cytek)	Worksheet	Stopping Gate	Storage Gate	Events To Record	Stopping Volume (ul)	Stopping Criteria
Reference Group	6CB	Raw Worksheet (Raw)	All Events	All Events	5,000	3,000	<input type="checkbox"/> Count & Volume
Unstained (Cells)	Default Raw Worksheet (Raw)	All Events	All Events	5,000	3,000	<input type="checkbox"/> Count & Volume	
CD45 FITC (Cells)	Default Raw Worksheet (Raw)	All Events	All Events	5,000	3,000	<input type="checkbox"/> Count & Volume	
CD56 PE (Cells)	Default Raw Worksheet (Raw)	All Events	All Events	5,000	3,000	<input type="checkbox"/> Count & Volume	
CD8 PE-Dazzle594 (Cells)	Default Raw Worksheet (Raw)	All Events	All Events	5,000	3,000	<input type="checkbox"/> Count & Volume	
PE-Dazzle594 (Cells)	Default Raw Worksheet (Raw)	All Events	All Events	5,000	3,000	<input type="checkbox"/> Count & Volume	
CD19 PE-Cy5 (Cells)	Default Raw Worksheet (Raw)	All Events	All Events	5,000	3,000	<input type="checkbox"/> Count & Volume	
PE-Cy5 (Cells)	Default Raw Worksheet (Raw)	All Events	All Events	5,000	3,000	<input type="checkbox"/> Count & Volume	
CD3 PerCP-Cy5.5 (Cells)	Default Raw Worksheet (Raw)	All Events	All Events	5,000	3,000	<input type="checkbox"/> Count & Volume	
CD4 PE-Cy7 (Cells)	Default Raw Worksheet (Raw)	All Events	All Events	5,000	3,000	<input type="checkbox"/> Count & Volume	
APC (Cells)	Default Raw Worksheet (Raw)	All Events	All Events	5,000	3,000	<input type="checkbox"/> Count & Volume	
CD19 APC (Cells)	Default Raw Worksheet (Raw)	All Events	All Events	5,000	3,000	<input type="checkbox"/> Count & Volume	
APC-Cy7 (Cells)	Default Raw Worksheet (Raw)	All Events	All Events	5,000	3,000	<input type="checkbox"/> Count & Volume	
CD8 APC-Cy7 (Cells)	Default Raw Worksheet (Raw)	All Events	All Events	5,000	3,000	<input type="checkbox"/> Count & Volume	

Deconvolucionar

El proceso de *Unmix* (Deconvolucionar) es el mismo que el de *Experiment* (Experimento). Véase “Flujos de trabajo de deconvolución” en la página 96 para obtener más datos.

- Haga clic en *Unmix* y seleccione el control de referencia correspondiente y si desea utilizar la extracción de autofluorescencia.

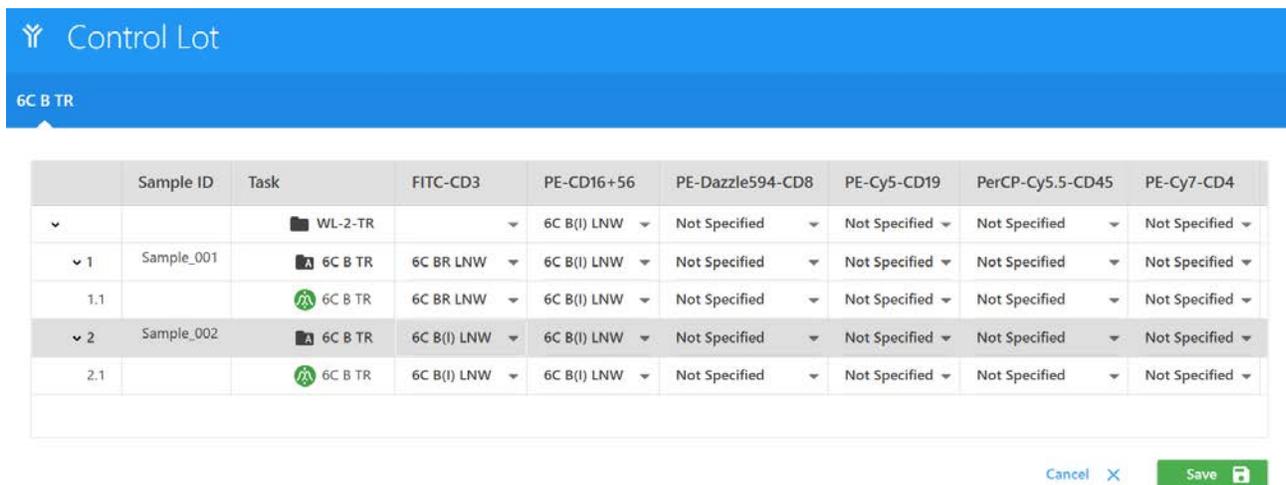
2 Haga clic en *Live Unmix* (Deconvolución en tiempo real).



Controles de referencia específicos del lote

Puede seleccionar controles de referencia específicos del lote.

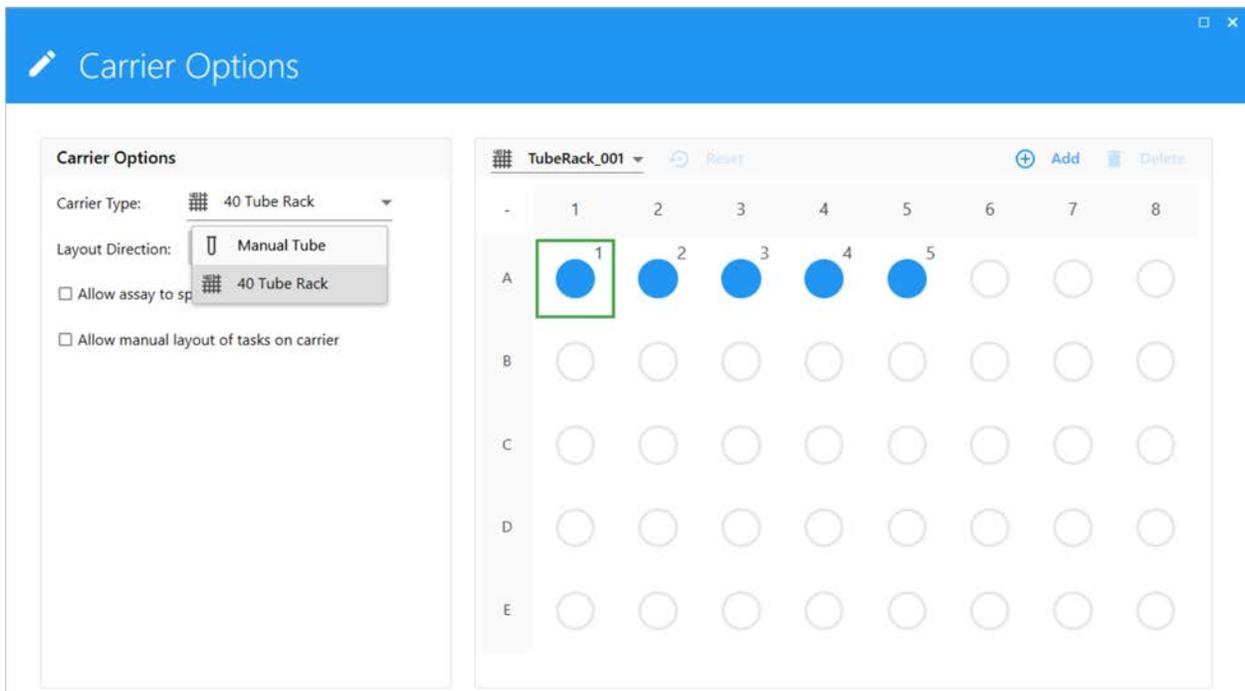
- 1 Haga clic en *Control lot* (Lote de control) para abrir la ventana selección de lotes de controles de referencia.
- 2 Si el mismo fluorocromo tiene un número de lote diferente, puede seleccionar un número de lote concreto en el menú desplegable. *Not Specified Fluorochrome* (Fluorocromo no especificado) utilizará el control de referencia predeterminado de ajuste óptimo determinado por el software.



Organizar las ubicaciones de las muestras en un transportador

Los ensayos que contienen el tipo de transportador no se pueden cambiar en la lista de trabajo, excepto los ensayos que utilizan *Tube Rack* (Gradilla de tubos), que se pueden cambiar a manual en la lista de trabajo.

- 1 Haga clic en el botón *Options* (Opciones) de la barra de herramientas para abrir el cuadro de diálogo de opciones del transportador de muestras.
 - Puede cambiar el tipo de transportador de muestras (manual/gradilla de tubos) si un ensayo utiliza la gradilla de tubos.
 - Puede personalizar las ubicaciones de los tubos/pocillos de muestra en un transportador arrastrando y soltando los elementos.



Recogida de datos

- 1 Haga doble clic en una entrada o en un tubo de la lista de trabajo para que sea la tarea actual.
- 2 Haga clic en el botón *Start* (Inicio) del recuadro *Acquisition Control* (Control de adquisición) y observe el gráfico de dispersión en el área de visualización de datos de la derecha.
- 3 Ajuste la ganancia de FSC o SSC y el *Threshold* (Umbral) en el panel de control del instrumento para poner a escala la población de interés. Ajuste la ventana de adquisición del gráfico de FSC frente a SSC para que comprenda la población.

- 4 Haga clic en el botón *Run* (Procesar) y, en la lista desplegable emergente, seleccione el intervalo de muestras que se va a recoger para iniciar la recogida de datos. El software le solicitará que cargue el tubo de muestra o el tipo de transportador correctos.

Worklist_003

No.	Sample ID	Task	Location	Carrier	Status
1	Sample_001	6C B TR	A1		To Be Acquired
1.1		6C B TR	A1	TubeRack_001	
2	Sample_002	6C B TR	A2		To Be Acquired
2.1		6C B TR	A2	TubeRack_001	
3	Sample_003	6C B TR	A3		To Be Acquired
3.1		6C B TR	A3	TubeRack_001	
4	Sample_004	6C B TR	A4		To Be Acquired
4.1		6C B TR	A4	TubeRack_001	

Acquisition Control

6C B TR: Not Ready - Warming up

Flow Rate: Medium uL/Min: 0.00

Event Rate: 0 Abort Rate: 0

Threshold Count: 0

Time Elapsed: 00:00:00 (HH:MM:SS)

Events to Display: 5,000

Selección	Descripción
<i>Run Current</i> (Procesar actual)	Grabar los datos del tubo/pocillo actual.
<i>Run Entry</i> (Procesar entrada)	Grabar los datos de la entrada actual.
<i>Run From Entry</i> (Procesar desde la entrada)	Iniciar la grabación de datos de la lista de trabajo desde la entrada actual.
<i>Run From Current</i> (Procesar desde actual)	Iniciar la grabación de datos de la lista de trabajo desde el tubo/pocillo actual.
<i>Run All</i> (Procesar todo)	Iniciar la grabación de datos de toda la lista de trabajo desde la primera entrada.

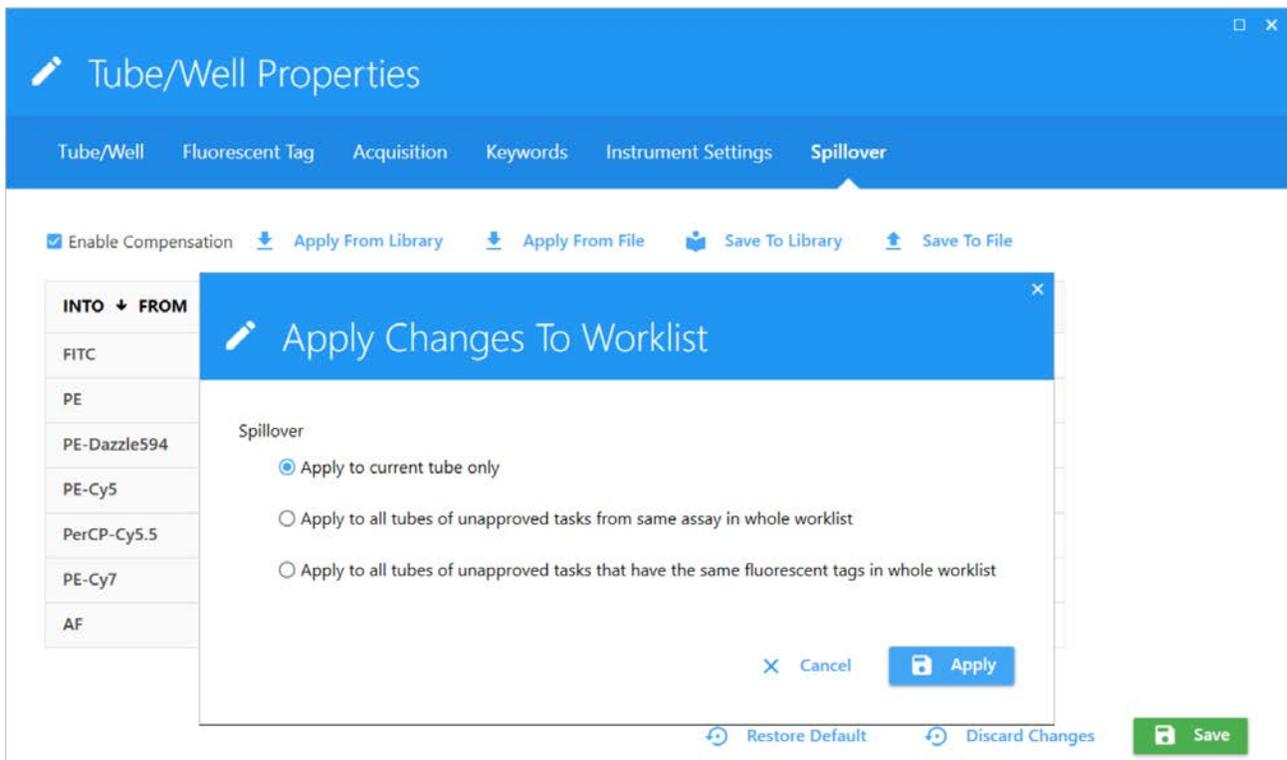
Exportar informe

- 1 Haga doble clic en una entrada que se haya grabado y el informe se abrirá en el lado derecho. El informe le permite obtener una vista previa de los datos de los siguientes elementos: ventanas de adquisición y exactitud de la deconvolución, modificar el informe, añadir notas, aprobar y exportar informes.

Corregir errores de deconvolución

Si se ha utilizado una hoja de trabajo o un informe para la adquisición, es posible modificar la compensación, si es necesario.

- 1 Haga clic con el botón derecho del ratón en un tubo o pocillo y seleccione *Properties* (Propiedades).
- 2 Vaya a la pestaña *Spillover* (Contaminación espectral).
- 3 Ajuste la compensación y haga clic en *Save* (Guardar).
- 4 El software le pedirá que seleccione si desea aplicar los cambios de compensación a otras muestras.



Modificar informe

Los componentes de un informe no se pueden agregar ni eliminar, pero las ventanas de adquisición se pueden ajustar según los datos.

- 1 Una vez finalizado el ajuste de una entrada, puede hacer clic con el botón derecho del ratón en la entrada (muestra) para aplicar el ajuste a otras muestras de la lista de trabajo.

The screenshot shows the 'Worklist' window with a table of tasks. A context menu is open over the task 'Sample_001', showing options like 'Apply Report', 'Approve', and 'Unapprove'. A tooltip indicates 'Apply changes in "Report_001" to other tasks'. To the right, a flow cytometry plot titled 'All Events' shows a gate labeled 'P1'.

No.	Sample ID	Task	Status
1.4		CD8 PE-Dazzle594 (Cells)	
1.5		CD19 PE-Cy5 (Cells)	
1.6		CD45 PerCP-Cy5.5 (Cells)	
1.7		CD4 PE-Cy7 (Cells)	
2	Sample_001	6CB	To Be Approved
2.1		S1	
3	Sample_002	6CB	
3.1		S1	

Seguimiento de auditoría

El software registrará automáticamente las principales operaciones y los cambios manuales en el registro de seguimiento de auditoría.

- 1 Haga clic en el botón *Audit Trail Logs* (Registros de seguimiento de auditoría) para abrir el cuadro de diálogo *Audit Trail Logs*.

The screenshot shows the top navigation bar with buttons for 'QC & Setup', 'Acquisition', 'Worklist', 'Extra Tools', 'Library', 'Preferences', 'Users', 'Help', and 'Sign Out'. Below the navigation bar, the 'Audit Trail Logs' button is highlighted in the top right corner.

- 2 En el cuadro de diálogo del registro de seguimiento de auditoría puede introducir los motivos por lotes o de uno en uno.

Export All Audit Trail Logs

No.	Action	Reason	Operator	Date Created
2	▼ 6CBR			
	Unapproved by Administrator at June 11, 2021 - 13:15 PM.	Comments:	Administrator	June 11, 2021 - 13:15 PM
	Approved by Administrator at June 09, 2021 - 09:33 AM.	Signature Comments: test	Administrator	June 09, 2021 - 09:33 AM
	Unapproved by Administrator at June 09, 2021 - 09:32 AM.	Comments:	Administrator	June 09, 2021 - 09:32 AM
	Approved by Administrator at June 09, 2021 - 09:29 AM.	Signature Comments: test	Administrator	June 09, 2021 - 09:29 AM
	Modify Gate in Report: Report_001.		Administrator	June 09, 2021 - 09:29 AM
	Modify Gate in Report: Report_001.	Modify	✓ Administrator	June 09, 2021 - 09:29 AM
	Modify Gate in Report: Report_001.		Administrator	June 09, 2021 - 09:29 AM
	Modify Gate in Report: Report_001.		Administrator	June 09, 2021 - 09:29 AM
	Modify Gate in Report: Report_001.		Administrator	June 09, 2021 - 09:29 AM
	Modify Gate in Report: Report_001.		Administrator	June 09, 2021 - 09:29 AM
	Modify Gate in Report: Report_001.		Administrator	June 09, 2021 - 09:29 AM

Reason

Modify

Close

Aprobar el informe

- 1 Después de completar el ajuste y la revisión del informe, haga clic en el botón *Approve* (Aprobar) para aprobar el informe.
- 2 El proceso de aprobación solicitará el nombre de usuario y la contraseña de la persona que aprueba y permitirá comentarios.
- 3 Una vez finalizada, el estado de la tarea de prueba cambiará a *Approved* (Aprobado).

- Haga clic en *Approve All* (Aprobar todo) para la aprobación por lotes después de confirmar que todos los informes son correctos.

No.	Sample ID	Task	Location	Carrier	Status
1	Sample_001	6C B TR	A1		To Be Approved
1.1		6C B TR	A1	TubeRack_001	
2	Sample_002	6C B TR	A2		To Be Approved
2.1		6C B TR	A2	TubeRack_001	
3	Sample_003	6C B TR	A3		To Be Approved
3.1		6C B TR	A3	TubeRack_001	
4	Sample_004	6C B TR	A4		To Be Approved
4.1		6C B TR	A4	TubeRack_001	

- Si desea volver a grabar o realizar cambios en un informe aprobado, haga clic en el botón *Unapprove* (Anular aprobación).
- El estado de la entrada cambiará de *Approved* a *Pending Approval* (Pendiente de aprobación).
- Puede volver a grabar, ajustar las ventanas de adquisición, etc., y volver a aprobar la entrada.

Imprimir informe

Una vez aprobado el informe, el archivo PDF del informe y el archivo CSV de los datos de la tabla estadística se exportarán automáticamente a C:\CytekbioExport_CLC\WorklistReportResults. También puede exportar manualmente archivos PDF y CSV a un directorio seleccionado.



- Para imprimir informes, haga clic en *Print* (Imprimir).
- Seleccione el informe de prueba que desea imprimir y el registro de seguimiento de auditoría que desea incluir.

3 Siga el resto de las indicaciones para imprimir.

 Print

<input checked="" type="checkbox"/>	No.	Task	Status	<input checked="" type="checkbox"/> Include Audit Trail Logs
<input checked="" type="checkbox"/>	1	  6C B TR	Approved	<input checked="" type="checkbox"/>
		 6C B TR		
<input checked="" type="checkbox"/>	2	  6C B TR	Approved	<input checked="" type="checkbox"/>
		 6C B TR		
<input checked="" type="checkbox"/>	3	  6C B TR	Approved	<input checked="" type="checkbox"/>
		 6C B TR		
<input checked="" type="checkbox"/>	4	  6C B TR	Approved	<input checked="" type="checkbox"/>
		 6C B TR		

[X Cancel](#) [Print Preview](#)

Cargador

Perspectiva general del cargador

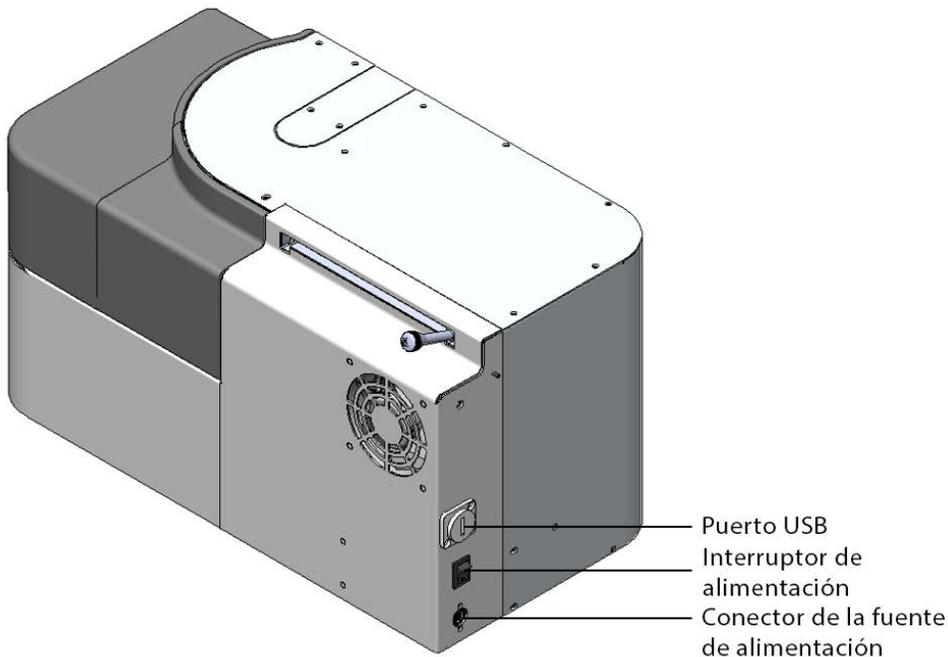
El *Automated Sample Loader* (Cargador automático de muestras) (ASL, por sus siglas en inglés) es un sistema de carga automática que mezcla muestras y suministra gradillas y placas de tubos al citómetro para su adquisición. El cargador se puede incluir como opción en un sistema nuevo o se puede solicitar e instalar más adelante mediante el servicio técnico. El cargador ofrece un rendimiento uniforme para satisfacer los requisitos de la aplicación.



El ASL suspende de nuevo las muestras utilizando un agitador orbital. Además de admitir diversas placas de 96 pocillos, incluidas placas de pocillos profundos, admite una gradilla de 40 tubos. El usuario puede ajustar la configuración del cargador, incluida la velocidad de mezcla, la duración de la mezcla, el número de purgas del SIT entre muestras y el tiempo de retardo de la grabación de datos. Las configuraciones del cargador son *Default* (Predeterminada) (estándar), *High throughput* (Alta capacidad) y *Low carryover* (Arrastre bajo).

Componentes del cargador automático de muestras

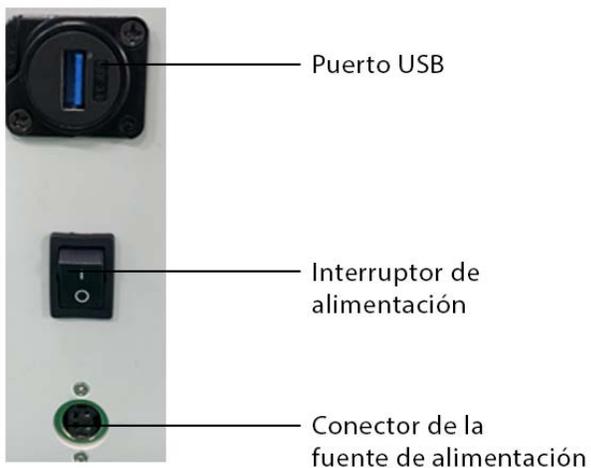
El interruptor de alimentación del cargador está situado en la parte posterior del mismo. Para encender el cargador, conecte la fuente de alimentación y ponga el interruptor de alimentación en la posición de encendido.



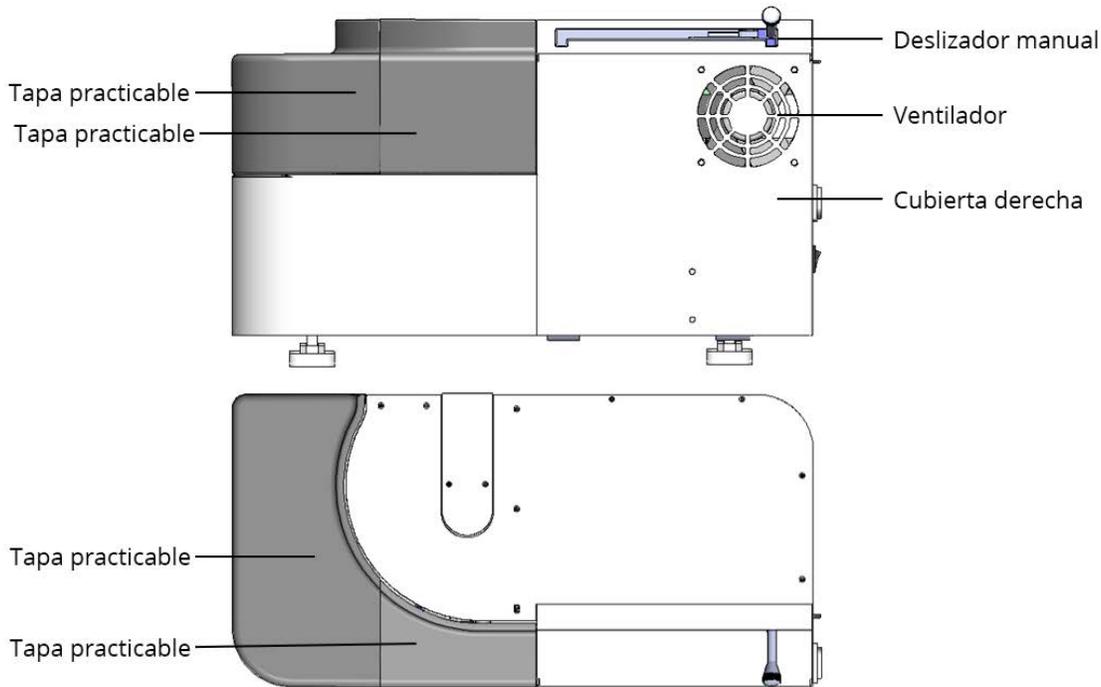
Cuando el cargador está encendido y conectado correctamente al software, el indicador de estado de la esquina inferior derecha de la pantalla muestra una marca de verificación verde. Aparece una X roja si el cargador no está encendido o no está conectado al software.

✔ Sheath ✔ Waste ✔ Cytometer **✔ Loader**

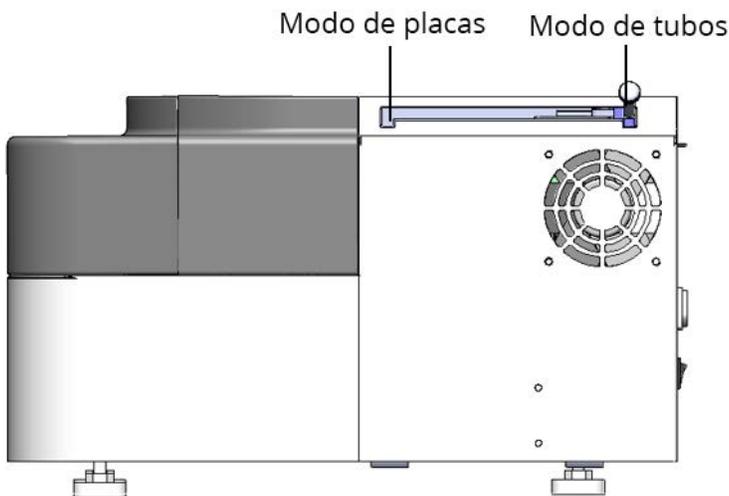
- El panel derecho incluye los controles principales del cargador. Hay un puerto USB, un conector de la fuente de alimentación y un interruptor de alimentación.



- El cargador tiene 2 cubiertas que se pueden abrir para colocar el transportador de muestras en la plataforma.
- El ventilador se encuentra en el lado derecho y se utiliza para la ventilación de los componentes electrónicos. Se enciende cuando la temperatura supera los 27 °C.
- El software detecta la posición del deslizador y ajusta el citómetro para que funcione en el modo correspondiente.

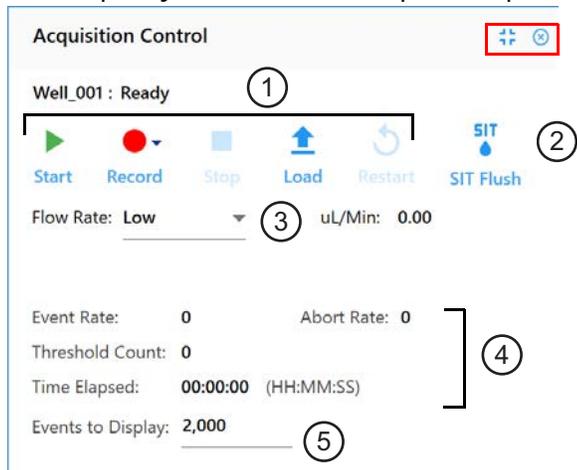


- El deslizador manual se encuentra en el lado derecho del cargador. El deslizador es una palanca mecánica que se utiliza para que el instrumento funcione en modo de placas, modo de tubos o modo de gradilla de tubos. El deslizador se puede mover con la alimentación encendida o apagada.



Controles y configuración de adquisición del cargador

El recuadro *Acquisition Control* (Control de adquisición) permite iniciar, detener y pausar la adquisición, grabar datos y reiniciar los contadores de adquisición. Para mostrar, ocultar o desacoplar (flotar) este recuadro del cuadro de experimentos, utilice los iconos de acoplar/desacoplar y ocultar y mostrar de la esquina superior derecha.



En la tabla siguiente se describen los controles del recuadro *Acquisition Control*.

N.º	Control	Descripción
1	<i>Start/Record/Stop/Load/Eject/Restart</i> (Iniciar/Grabar/Detener/Cargar/Expulsar/Reiniciar)	<p>Dependerá de si se está procesando una placa o una gradilla de tubos. Procesar una placa: la palanca está hacia delante. Procesar una gradilla de tubos: la palanca está hacia atrás.</p> <p>Seleccione <i>Start</i> después de seleccionar <i>Load</i> placa para iniciar la adquisición.</p> <p>Seleccione <i>Record</i> para grabar datos. <i>Record</i> también puede iniciar la adquisición.</p> <p>Seleccione <i>Stop</i> para detener la adquisición.</p> <p>Seleccione <i>Load</i> o <i>Eject</i> para cargar o expulsar la placa.</p> <p>Seleccione <i>Restart</i> para reiniciar los contadores de adquisición.</p> <p>Se actualizan todos los eventos y resultados mostrados.</p> <p><i>Stop</i> y <i>Restart</i> se activan una vez que se selecciona <i>Start</i>.</p> <p><i>Stop</i> y <i>Pause</i> se activan una vez que se selecciona <i>Record</i>.</p>
2	<i>SIT Flush</i> (Purga del SIT)	Seleccione para realizar una <i>SIT Flush</i> .
3	<i>Flow Rate</i> (Volumen de adquisición)	Seleccione <i>Low</i> (Bajo, 15 µl/min), <i>Medium</i> (Medio, 30 µl/min) o <i>High</i> (Alto, 100 µl/min). Se muestra el volumen exacto.

N.º	Control	Descripción
4	<i>Event Rate, Abort Rate, Threshold Count, Time Elapsed</i> (Tasa de eventos, Tasa de cancelación, Recuento de umbrales, Tiempo transcurrido)	Muestra los recuentos en tiempo real durante la adquisición.
5	<i>Events to Display</i> (Eventos para mostrar)	Introduzca el número de eventos que se mostrarán durante la adquisición.

En la tabla siguiente se describe la configuración del cargador ASL.

Configuración	Descripción
<i>Selected Settings</i> (Configuración seleccionada)	Hay tres configuraciones del cargador disponibles: <i>Default</i> (Predeterminada), <i>High throughput</i> (Alta capacidad) y <i>Low carryover</i> (Arrastre bajo). Puede crear su propia configuración personalizada.
<i>Acquisition order</i> (Orden de adquisición)	Seleccione el orden en el que desea que se procese la placa. Los pocillos se adquieren por: <ul style="list-style-type: none"> • filas de izquierda a derecha (A1-A12, B1-B12, etc.) • columnas de arriba abajo (1A-1H, 2A-2H, etc.) • filas de izquierda a derecha, luego de derecha a izquierda (A1-A12, B12-B1, C1-C12, etc.) • columnas de arriba abajo, luego de abajo arriba (1A-1H, 2H-2A, etc.)
<i>Shake Time</i> (Tiempo de agitación)	Seleccione el tiempo (en segundos) de agitación de la placa/gradilla de tubos. También puede desactivar el tiempo de agitación.
<i>Shake Speed</i> (Velocidad de agitación)	Seleccione la velocidad del agitador orbital (en rpm).
<i>Shake Interval Mode</i> (Modo de intervalo de agitación)	Seleccione si desea agitar cada N pocillos/tubos o después de un período determinado. También puede desactivar la agitación.
<i>Shake Every N Wells</i> o <i>Shake Interval</i> (Agitar cada N pocillos o Intervalo de agitación)	Seleccione la frecuencia (número de pocillos/tubos o tiempo en segundos) con la que desea agitar la placa/gradilla de tubos.
<i>Premix Time</i> (Tiempo de premezcla)	Seleccione el tiempo (en segundos) que se debe agitar la placa/gradilla de tubos antes de la adquisición del primer tubo/pocillo.
<i>SIT Flush Times</i> (Veces de purga del SIT)	Después de cada adquisición, se realiza una purga del SIT sobre la estación de lavado. Seleccione una sola purga, doble purga o desactivado si no desea realizar una purga del SIT.
<i>Sample Recovery</i> (Recuperación de muestras)	Permite que cualquier muestra restante que quede en el SIT después de terminar la adquisición se deposite de nuevo en el pocillo.
<i>Record Data Delay Time</i> (Tiempo de retardo de la grabación de datos)	Seleccione el tiempo en segundos que desea obtener una vista previa de los datos de un pocillo/tubo antes de iniciar la grabación una vez que haga clic en <i>Record</i> (Grabar).

Flujo de trabajo diario del cargador

En la siguiente sección se describen los procedimientos recomendados para utilizar el cargador automático de muestras desde la puesta en marcha hasta el apagado.

Puesta en marcha

- 1 Encienda el citómetro, el cargador y el ordenador (si aún no está encendido).
- 2 Inicie el software SpectroFlo e inicie sesión con el nombre de usuario adecuado.
- 3 Una vez que haya iniciado sesión en el software, comenzará el procedimiento de inicialización del citómetro. Cargue un tubo de agua desionizada y espere a que el procedimiento de autocomprobación del instrumento y del cargador finalicen. El indicador de estado de conexión del citómetro y del cargador se iluminará en verde cuando se complete la autocomprobación.
- 4 Asegúrese de que las marcas de verificación de los indicadores de estado para *Cytometer* (Citómetro) y *Loader* (Cargador) estén ambas en verde. Esto indica que la estación de trabajo, el instrumento y el cargador se están comunicando entre sí.



- 5 El cargador y el citómetro ya están listos para su uso.

Configuración de un experimento

La configuración de un experimento en SpectroFlo incluye:

- 1 Dar un nombre y una descripción (opcional) al experimento.
- 2 Especificar los fluorocromos utilizados en el experimento.
- 3 Definir el grupo de referencia como adquirido en el experimento o como referido desde la biblioteca de controles de referencia almacenados.
- 4 Definir los criterios de adquisición para el grupo de referencia y el grupo de muestras. Los criterios de adquisición se basan en eventos, volumen o tiempo.
- 5 (Opcional) Si los controles de referencia se van a adquirir en el experimento, NO SE PUEDE deconvolucionar en tiempo real durante la adquisición. La adquisición debe continuar con una hoja de trabajo para datos sin procesar. Los controles de referencia referidos desde la biblioteca de controles de referencia almacenados no se tienen que adquirir en el experimento.
- 6 Procese la muestra, ajuste la configuración del instrumento y guarde *User Settings* (Configuración de usuario) en el software.

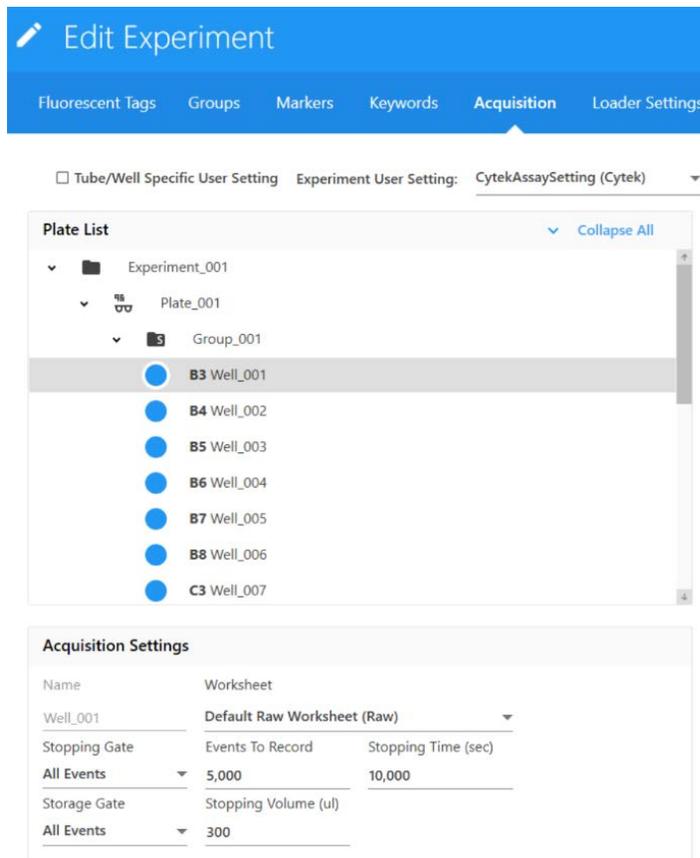
Adquisición

El espacio de trabajo *Acquisition* (Adquisición) proporciona al usuario los elementos necesarios para la recogida de datos. Los datos del citómetro de flujo se pueden adquirir a partir de experimentos. Los experimentos se pueden crear mediante el asistente para nuevos experimentos o mediante plantillas de experimentos. El software SpectroFlo incluye muchas características que garantizan la adquisición adecuada de datos de citometría de flujo. Los datos se graban en el formato FCS 3.0.

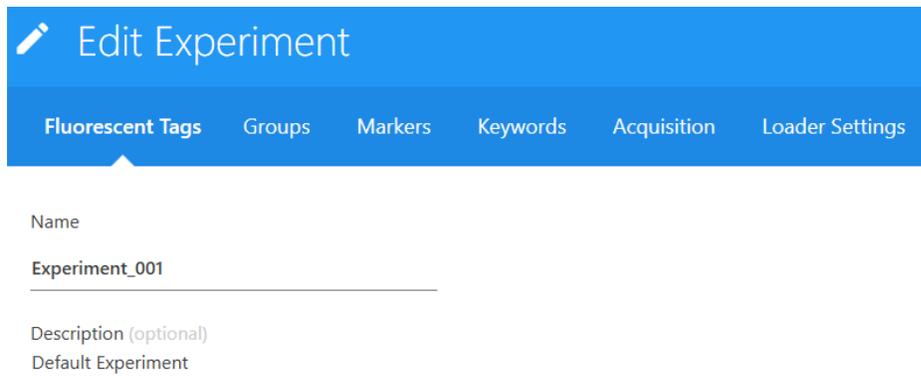
El espacio de trabajo *Acquisition* ofrece una interfaz en la que el usuario puede diseñar una hoja de trabajo de experimentos con diferentes elementos, como gráficos 2D, histogramas y presentación de estadísticas. La configuración de ganancia del instrumento también se puede ajustar en la interfaz. Ajuste correctamente la configuración de ganancia del instrumento entre muestras y seleccione si desea obtener una vista previa o grabar los datos con los criterios de adquisición adecuados a los volúmenes de adquisición de muestras seleccionados.

Creación de un nuevo experimento del cargador con grupo de referencia:

- 1 Seleccione *Edit* (Modificar) en el menú *Acquisition* (Adquisición) para modificar el experimento de *Plate* (Placa).



- 2 Se abre el asistente de experimento nuevo. En esta ventana, el usuario puede especificar un nombre para el experimento o escribir una descripción.



Edit Experiment

Fluorescent Tags Groups Markers Keywords Acquisition Loader Settings

Name
Experiment_001

Description (optional)
Default Experiment

- 3 A continuación, el usuario debe seleccionar los fluorocromos presentes en el experimento en el recuadro de la lista *Library* (Biblioteca) de la izquierda. El usuario tiene que seleccionar todos los fluorocromos individuales presentes en el experimento ya que esto determinará qué controles de referencia se utilizarán durante la deconvolución espectral. En esta lista también se pueden seleccionar también fluorocromos adicionales que no estén presentes en la muestra.



Library

Blue Laser

- BB515
- Alexa Fluor 488
- FITC
- Alexa Fluor 532
- PE
- PE-Dazzle594
- PE-eFluor 610
- PE-CF594
- PE-Texas Red
- PE-Alexa Fluor 610
- PE-Cy5
- PerCP
- PE-Cy5.5
- PerCP-Cy5.5
- BB700
- PerCP-eFluor 710
- PE-Alexa Fluor 700
- PE-Cy7

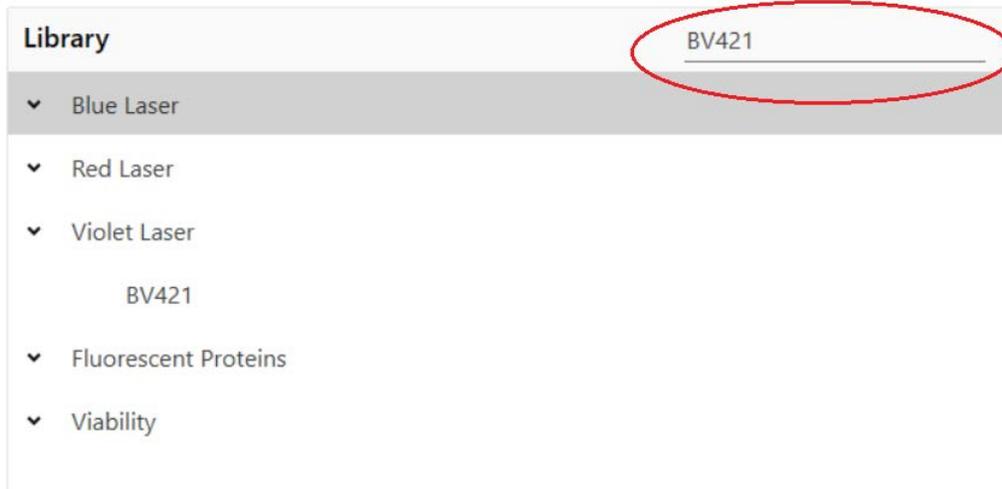
Red Laser

Violet Laser

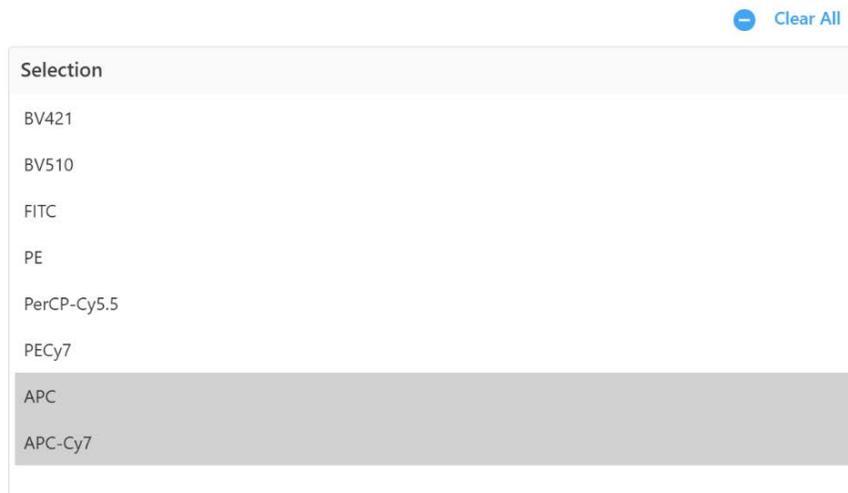
Fluorescent Proteins

Viability

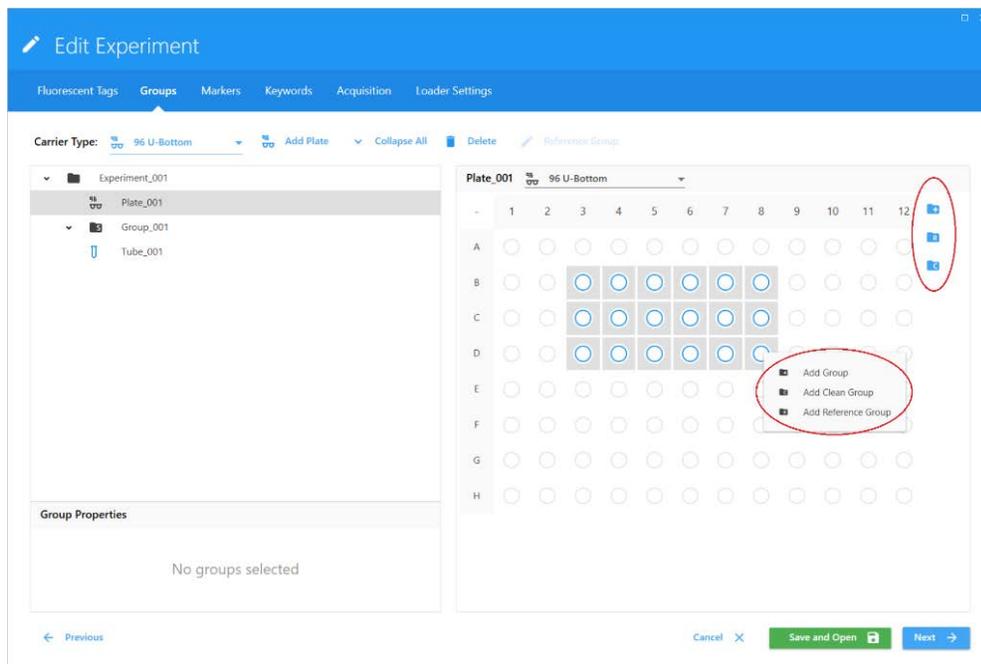
■ **NOTA:** Puede buscar fluorocromos en la esquina superior derecha del recuadro *Library* (Biblioteca).



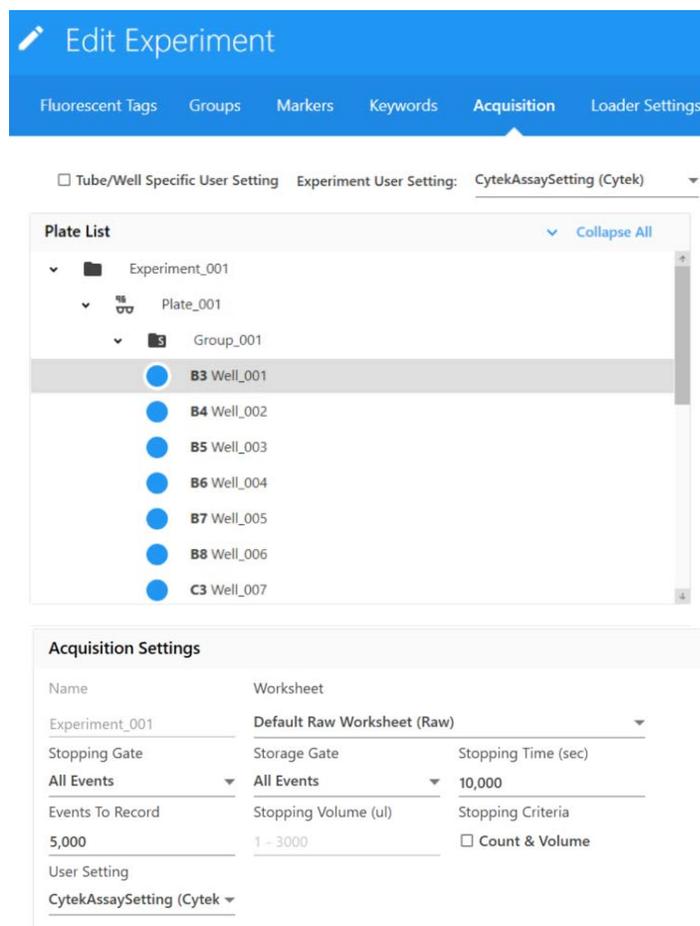
4 Una vez elegidos todos los fluorocromos de la biblioteca de fluorocromos, confírmelos en el recuadro de selección. En este recuadro se pueden quitar fluoróforos individuales. Seleccione *Clear All* (Borrar todos) para quitar todos los fluoróforos.



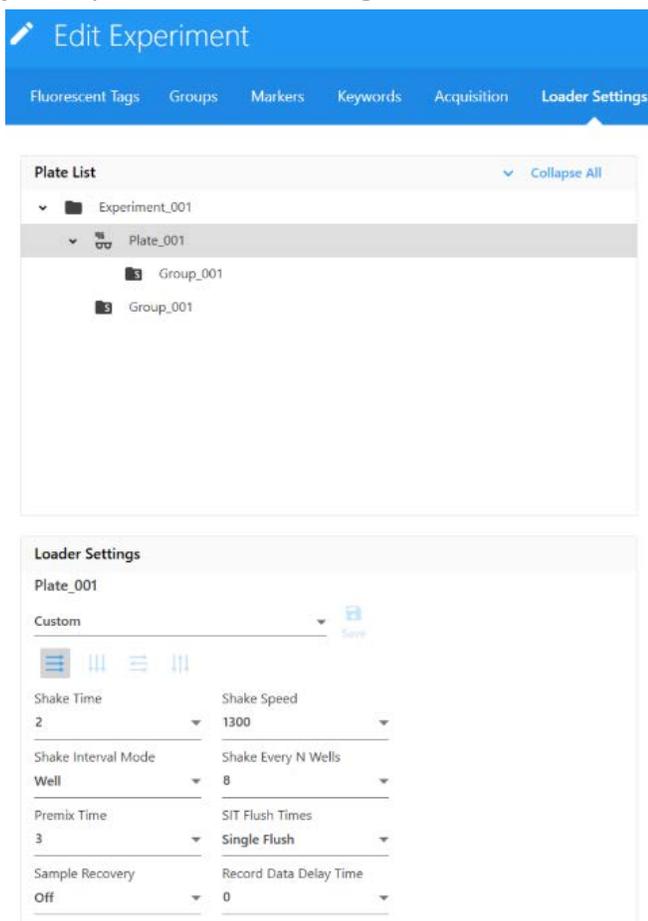
- 5 Seleccione los pocillos de la placa para designarlos para su adquisición. Configúrelos como un pocillo de muestra, de referencia o de limpieza.



- 6 Mediante la pestaña *Acquisition* (Adquisición), configure los parámetros del experimento. Entre ellos se incluyen la hoja de trabajo de presentación, las ventanas de adquisición de parada y almacenamiento y los criterios de adquisición.



Mediante la pestaña *Loader Settings* (Configuración del cargador), configure los parámetros de funcionamiento del cargador. Entre ellos figuran la configuración de *Shake* (Agitación), *SIT Flush Times*, *Sample Recovery* y *Record Data Delay Time* (Veces de purga del SIT, Recuperación de muestras y Tiempo de retardo de la grabación de datos).



Apagado del cargador



Aténgase siempre a los procedimientos de manipulación adecuados para las muestras y los reactivos. Use el equipo EPI convencional de laboratorio, como guantes protectores, gafas y bata de laboratorio durante este procedimiento.

Apagado del sistema fluídico con gradilla de tubos en el cargador:

- 1 En el *Cytometer Wizard* (Asistente del citómetro), seleccione *Fluidics Shutdown* (Apagado del sistema fluídico) con *Tube Rack* (Gradilla de tubos).
- 2 Cargue el tubo de lejía al 10 % en la posición A1 (la posición del tubo se puede cambiar arrastrando sobre la vista de placa).
- 3 Cargue el tubo de agua desionizada en la posición B1 (la posición del tubo se puede cambiar arrastrando sobre la vista de placa).
- 4 Cargue el tubo de Contrad al 30 % en la posición C1 (la posición del tubo se puede cambiar arrastrando sobre la vista de placa).

- 5 Cargue el tubo de agua desionizada en la posición D1 (la posición del tubo se puede cambiar arrastrando sobre la vista de placa).
- 6 Deje el SIT sumergido bajo el agua desionizada del último tubo.
- 7 Salga del software SpectroFlo.
- 8 Apague el citómetro y el ordenador.
- 9 Apague el cargador.

Mantenimiento

Programa de mantenimiento



Cualquier superficie del instrumento en contacto con muestras biológicas puede transmitir enfermedades potencialmente mortales. Adopte las precauciones universales al limpiar el instrumento o al cambiar piezas. Use el equipo de laboratorio indicado, como guantes protectores, gafas y bata de laboratorio.

La solución de lejía al 10 % utilizada durante todos los procedimientos de mantenimiento se prepara añadiendo 1 parte de lejía doméstica a 9 partes de agua desionizada.

El mantenimiento ordinario del citómetro NL-CLC incluye el cambio periódico de piezas. Para conocer los números de referencia, véase [“Suministros y repuestos” en la página 169](#).

Mantenimiento programado

En la tabla siguiente se describen los procedimientos de mantenimiento programado para el citómetro.

Procedimiento de mantenimiento	Descripción	Frecuencia
Cambiar el filtro del envoltente	Garantiza que el líquido envoltente esté libre de residuos.	Cada 6 meses o cuando sea necesario.
Limpieza larga	Limpia los conductos fluídicos con una solución de lejía al 10 %.	Una vez al mes y antes de las visitas de mantenimiento.

Mantenimiento no programado

En la tabla siguiente se describen los procedimientos de mantenimiento no programado para el citómetro.

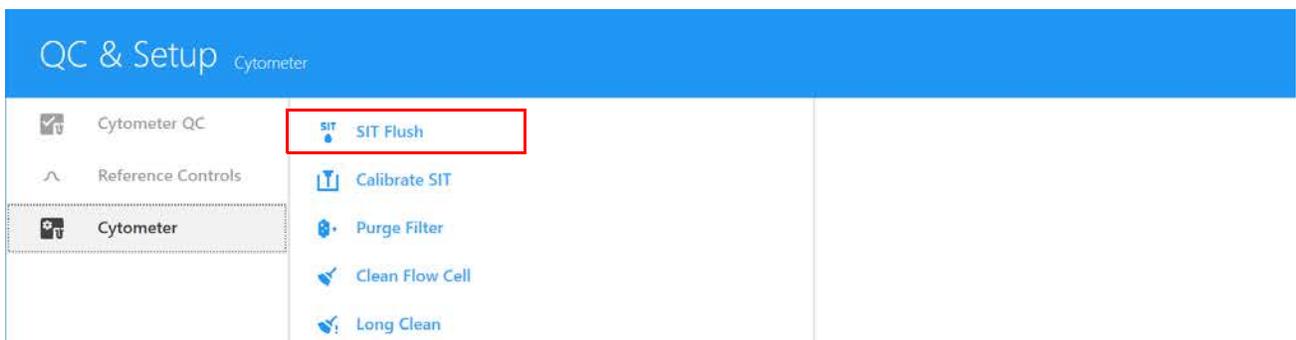
Procedimiento de mantenimiento	Descripción	Frecuencia
<i>SIT Flush</i> (Purga del SIT)	Purga el SIT a contraflujo	Cuando sea necesario, si el SIT se obstruye o después de procesar colorantes adherentes.

Procedimiento de mantenimiento	Descripción	Frecuencia
<i>Purge Filter</i> (Purgar el filtro)	Elimina las burbujas del filtro del envoltente.	Si hay burbujas en el filtro del envoltente, o si el reservorio interno o el depósito del envoltente se vacían.
<i>Clean Flow Cell</i> (Limpiar la cámara de flujo)	Procesa una solución de lejía al 10 % seguida de agua desionizada a través de la cámara de flujo.	Cuando sea necesario, o después de procesar colorantes adherentes.
Limpiar las superficies externas	Mantiene las superficies libres de acúmulos de sal.	Cuando sea necesario.

SIT Flush (Purga del SIT)

Se realiza una purga a contraflujo del conducto de muestra siempre que se retira un tubo del SIP después de la adquisición de la muestra. Si el conducto de muestra presenta signos de arrastre o se obstruye después de terminar un experimento con un colorante adherente como yoduro de propidio, naranja de acridina o naranja de tiazol, se debe volver a purgar manualmente el conducto de muestra a contraflujo.

- 1 En la pestaña *Cytometer* (Citómetro), de los módulos *QC & Setup* o *Acquisition* (CC y configuración o Adquisición), seleccione *SIT Flush*.



- 2 Si persiste el arrastre o la obstrucción, coloque un tubo con lejía al 10 % en el SIP y adquiera a un volumen de adquisición alto durante 5 minutos. Después adquiera un tubo de agua desionizada a un volumen de adquisición alto durante 5 minutos.

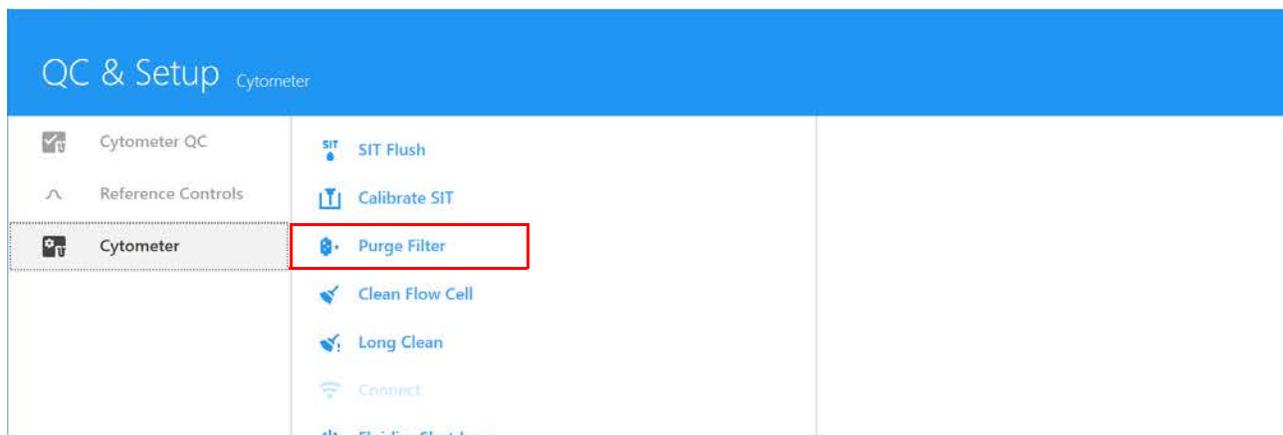
■ **NOTA:** Si se procesan grandes cantidades de microesferas o células grandes, se recomienda utilizar un tubo con lejía al 10 % seguido de un tubo de agua desionizada, durante 5 minutos cada uno, entre experimentos.

Purge Filter (Purgar el filtro)



Lleve a cabo este procedimiento si hay burbujas de aire visibles en el filtro del envoltente, o si el reservorio interno o el depósito del envoltente se han vaciado y hay aire en el sistema fluídico.

- 1 En la pestaña *Cytometer* (Citómetro) de los módulos *QC & Setup* o *Acquisition* (CC y configuración o Adquisición), seleccione *Purge Filter*.



La válvula de venteo conectada al filtro del envoltente se abrirá y liberará las burbujas de aire atrapadas dentro del filtro del envoltente.

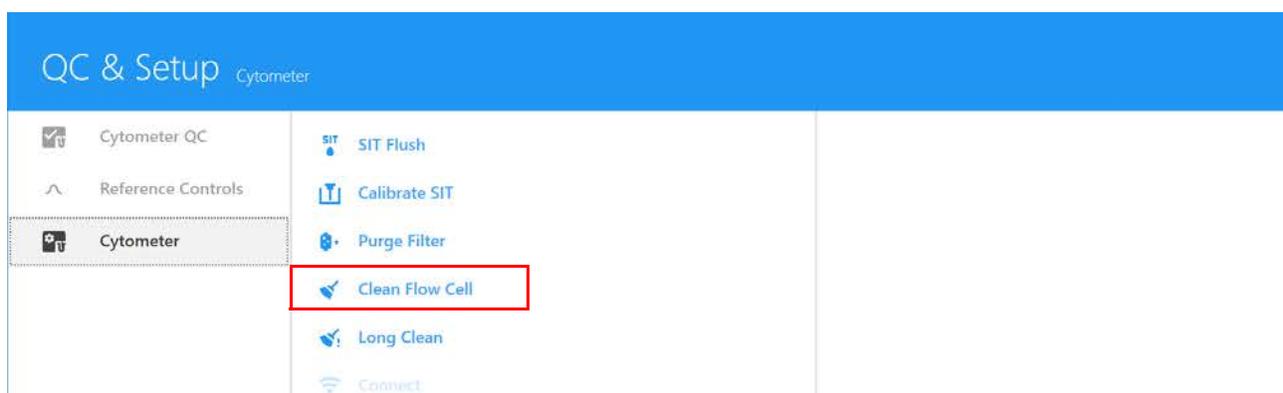
- 2 Repita el modo fluídico de *Purge Filter* hasta que no haya burbujas visibles dentro del filtro del envoltente.

Clean Flow Cell (Limpiar la cámara de flujo)

Limpie la cámara de flujo después de terminar un experimento con un colorante adherente como yoduro de propidio, naranja de acridina o naranja de tiazol. También se recomienda limpiar la cámara de flujo después de adquirir grandes cantidades de soluciones de microesferas altamente concentradas o si sospecha que hay una obstrucción.

Si procesa muestras adherentes, realice este procedimiento utilizando una solución de Contrad 70 al 50 % en lugar de lejía al 10 % entre experimentos.

- 1 En la pestaña *Cytometer* (Citómetro) de los módulos *QC & Setup* o *Acquisition* (CC y configuración o Adquisición), seleccione *Clean Flow Cell*.



- 2 Siga las instrucciones que aparecen. Cargue un tubo que contenga 3 ml de solución de lejía al 10 % en el SIP y haga clic en *Continue* (Continuar).
- 3 Cuando se le solicite, cargue un tubo que contenga 3 ml de agua desionizada en el SIP y haga clic en *Continue*.
- 4 Haga clic en *Done* (Listo) cuando haya finalizado el procedimiento.

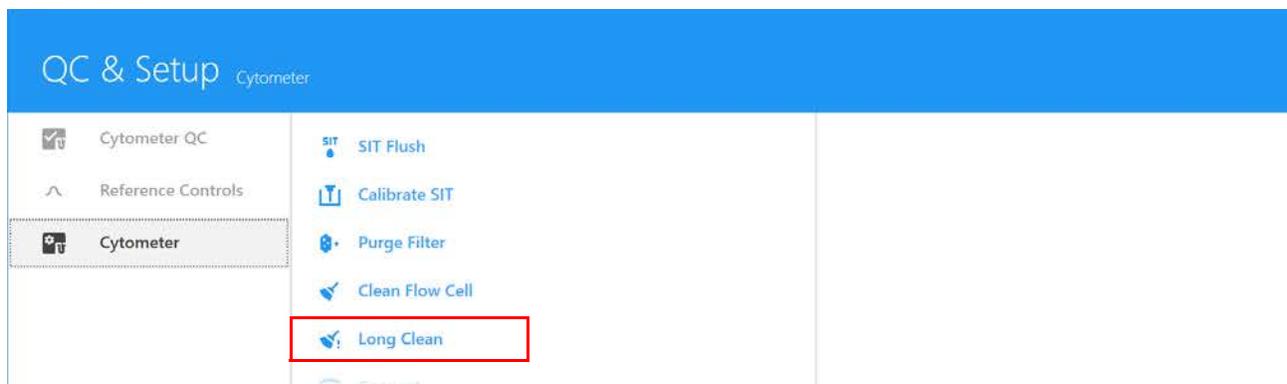
Long Clean (Limpieza larga)

Descontamine el sistema fluídico mensualmente ejecutando el modo fluídico *Long Clean*. Realice *Long Clean* justo antes de las visitas de mantenimiento, o si procesa volúmenes elevados de muestras sin lavar o muestras teñidas con yoduro de propidio, naranja de acridina o naranja de tiazol.



No haga pasar lejía ni detergente a través del filtro del líquido envolvente. Es difícil eliminar las soluciones de limpieza del filtro del líquido envolvente.

- 1 En la pestaña *Cytometer* de los módulos *QC & Setup* o *Acquisition* (CC y configuración o Adquisición), seleccione *Long Clean*.



- 2 Siga las instrucciones que aparecen. Prepare los tubos de limpieza y los depósitos de líquidos adecuados.

- 3 Vacíe el depósito de residuos. Cambie el filtro del envoltente por el conjunto de derivación del filtro del envoltente (tubos de limpieza larga).



- 4 Quite el depósito del envoltente y cámbielo por un depósito que contenga una solución de lejía al 10 %.
- 5 Cargue un tubo que contenga 3 ml de una solución de lejía al 10 % en el SIP.
- 6 Lleve a cabo el procedimiento *Long Clean* (Limpieza larga) en el software.
- 7 Una vez finalizado el ciclo de limpieza con lejía, vuelva a colocar el depósito del envoltente.
- 8 Retire el tubo de lejía al 10 % del SIP y cámbielo por un tubo de 3 ml de agua desionizada.
- 9 Lleve a cabo el procedimiento *Long Clean* (Limpieza larga) en el software.
- 10 Cuando se le solicite, retire el conjunto de tubos de limpieza larga y vuelva a instalar el filtro del envoltente.

Fluidics Shutdown (Apagado del sistema fluídico)

Realice el apagado del sistema fluídico al final de cada día que utilice el instrumento. El procedimiento de apagado limpia a fondo el sistema fluídico.

- 1 En el menú *Cytometer* de los módulos *QC & Setup* o *Acquisition* (CC y configuración o Adquisición), seleccione *Fluidics Shutdown*.
- 2 Cargue un tubo con 3 ml de lejía al 10 % en el SIP y haga clic en *Continue* (Continuar).
La solución de lejía al 10 % se prepara añadiendo 1 parte de lejía doméstica a 9 partes de agua desionizada.
- 3 Cargue un tubo con 3 ml de agua desionizada y haga clic en *Continue*.
- 4 Cargue un tubo con 3 ml de Contrad 70 al 50 % y haga clic en *Continue*.
- 5 Cargue un tubo con 3 ml de agua desionizada y haga clic en *Continue*.

- 6 Deje que termine el procedimiento de apagado, después haga clic en *Done* (Listo) y apague el citómetro. Asegúrese de que el SIT esté sumergido en el agua desionizada al final del procedimiento.

Al día siguiente, al encender el sistema, comienza el procedimiento de inicio, utilizando el tubo de agua desionizada que hay en el SIP.

Limpeza de las superficies externas

Compruebe periódicamente si hay residuos de solución salina.

- 1 Humedezca un paño con una solución de limpieza suave y limpie las superficies del instrumento.
- 2 Humedezca un paño con agua desionizada y vuelva a limpiar las superficies para eliminar la solución de limpieza residual.
- 3 Seque las superficies con un paño limpio y seco.

Inspección de los conductos fluídicos



Revise periódicamente el citómetro para detectar fugas de líquidos. Si se detecta cualquier indicio de fuga, póngase en contacto de inmediato con el servicio de asistencia técnica de Cytek. No intente reparar el instrumento.

- 1 Realice una inspección ocular por si hay fugas de líquidos buscando pequeños acúmulos de líquido cerca de cualquiera de las conexiones rápidas.
- 2 Inspeccione ocularmente si hay residuos secos o una ligera decoloración en los espacios que rodean al citómetro.

Cambio del filtro del envoltente

El filtro del envoltente atrapa los residuos y las burbujas de aire antes de que lleguen a la cámara de flujo. Cambie el conjunto del filtro cada 6 meses, o cuando observe un aumento del un volumen de adquisición de muestra o residuos en un gráfico de FSC frente a SSC.



Use el equipo de seguridad adecuado, como guantes protectores, gafas y bata de laboratorio para realizar este procedimiento.

- 1 Apague el citómetro.
- 2 Abra el panel delantero del citómetro.

- 3 Presione las dos conexiones rápidas del conducto fluídico y la conexión rápida del venteo a la derecha del filtro del envoltente.



Conexiones rápidas del conducto fluídico
Conexión rápida del venteo
Filtro del envoltente

- 4 Deseche el filtro del envoltente de acuerdo con el protocolo habitual del laboratorio y la normativa local.
- 5 Instale un nuevo filtro del envoltente con la flecha hacia arriba.
- 6 Reinicie el citómetro y ejecute el modo fluídico *Purge Filter* (Purgar el filtro) para eliminar las burbujas de aire (véase [“Purge Filter \(Purgar el filtro\)” en la página 141](#)). Repita este paso hasta que se hayan purgado todas las burbujas de aire del filtro.
- 7 Cierre el panel delantero.

Cambio del SIT

Cambie el SIT si los tubos están obstruidos incluso después de limpiar y purgar repetidamente el SIT.

- 1 Asegúrese de que el SIT esté extendido en un tubo con agua desionizada y que el citómetro esté apagado.

Si el citómetro se apagó correctamente usando el procedimiento *Fluidics Shutdown* (Apagado del sistema fluídico), el SIT ya estará extendido y sumergido en agua.

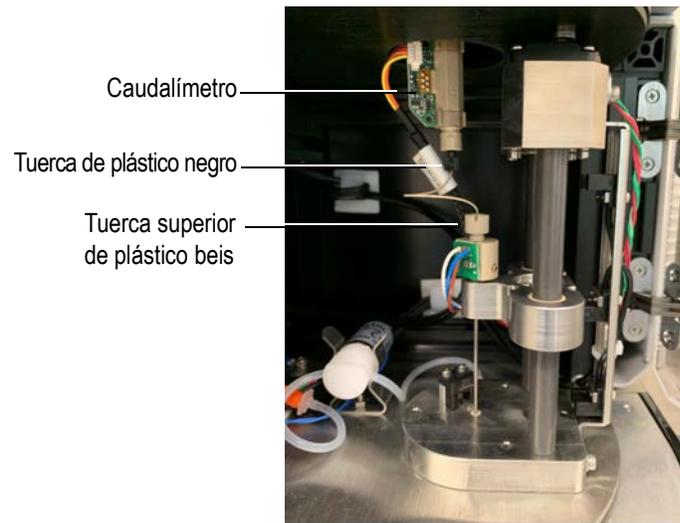
■ **NOTA:** Si el SIT no está extendido, encienda el citómetro y ejecute *Fluidics Shutdown*. A continuación, apague el citómetro.

- 2 Obtenga un conjunto de tubos del SIT.

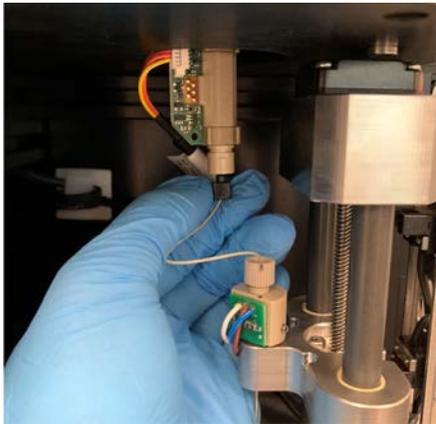


- 3 Abra la puerta del SIT. Identifique los tres componentes que se muestran en la figura siguiente.

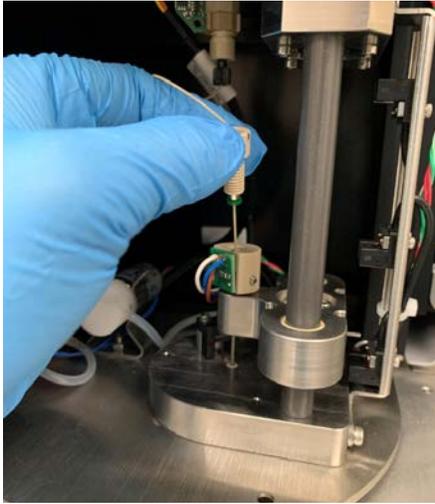
Abra el panel delantero y después abra la puerta del SIT. La puerta SIT está situada encima del SIP. Véase “Parte delantera del citómetro” en la página 12.



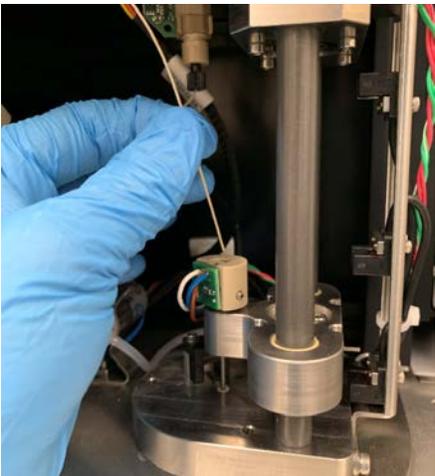
- 4 Desenrosque y retire con cuidado la tuerca de plástico negro de la parte inferior del caudalímetro.



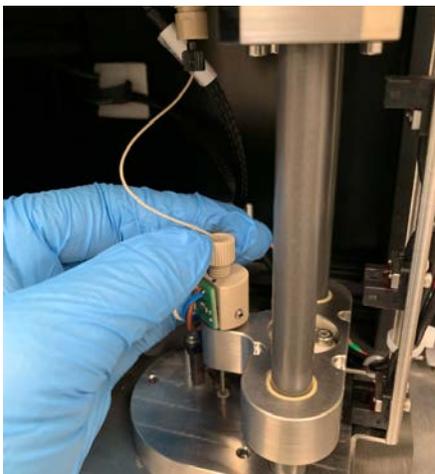
- 5 Siga el tubo desde la tuerca negra hasta la tuerca de plástico beis. Desenrosque la tuerca beis y tire suavemente de ella y del tubo para sacarlos del SIP.



- 6 Deseche el conjunto de tubos del SIT.
- 7 Inserte el nuevo tubo de muestra a través del orificio.



- 8 Deslice la tuerca beis hacia abajo dentro del orificio y enrósquela para fijarla, pero no la apriete.

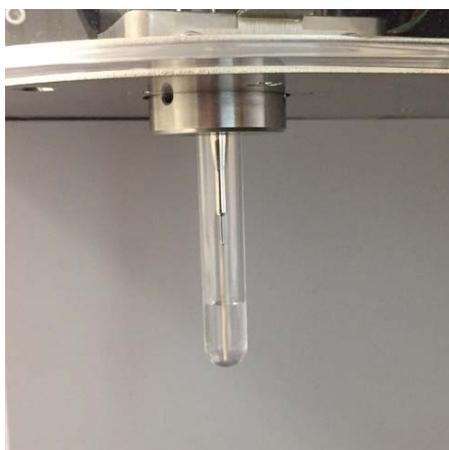


- 9 Marque la posición completamente enroscada en la base y en la tuerca, como se muestra. A continuación, desenrosque la tuerca 1½ vuelta desde la posición marcada.

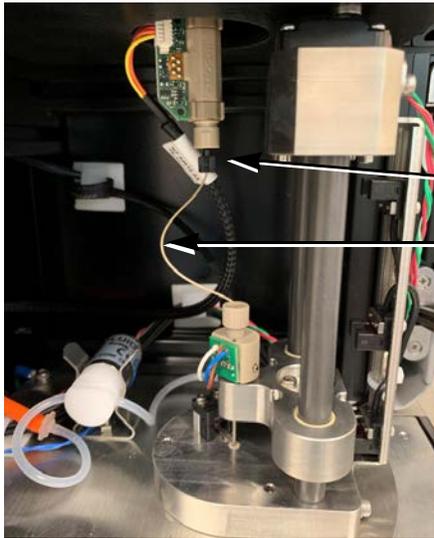


Marque la posición de la tuerca enroscada.

- 10 Compruebe que el tubo entra en contacto con la parte inferior del tubo en el SIP.



- 11 Fije la tuerca negra a la parte inferior del caudalímetro de manera que quede bien sujeta. Asegúrese de que el conducto de muestra se curve y se aleje del conjunto del SIT al elevarse la plataforma del SIT.



Apriete la tuerca negra.

Asegúrese de que el conducto de muestra se curve y se aleje del conjunto del SIT.

- 12 Cierre la puerta del SIT.
- 13 Encienda el sistema. Durante la inicialización, el sistema calibra automáticamente la profundidad del SIT en el tubo cargado en el SIP.

Mantenimiento del cargador

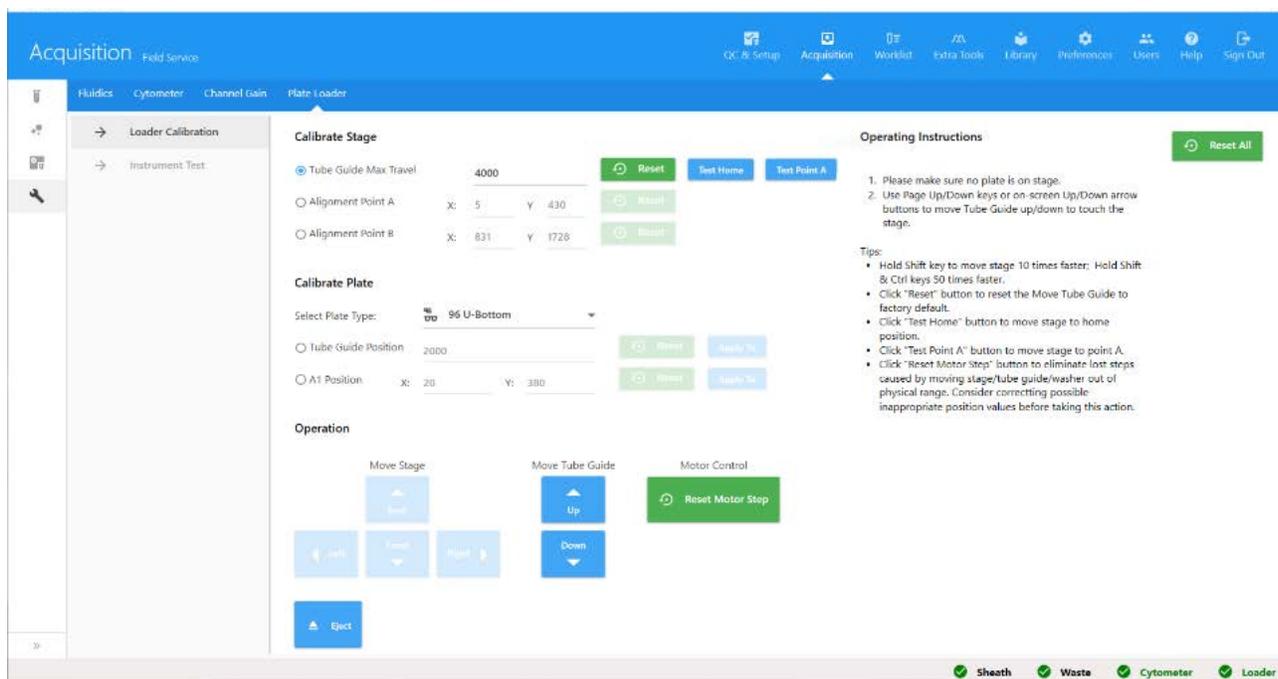


Cualquier superficie del instrumento en contacto con muestras biológicas puede transmitir enfermedades potencialmente mortales. Adopte las precauciones universales al limpiar el instrumento o al cambiar piezas. Use el equipo de laboratorio indicado, como guantes protectores, gafas y bata de laboratorio.

Calibración de la plataforma y la placa del cargador

Haga clic en el botón *Reset* (Restablecer) para volver a calibrar la plataforma y la placa si se produce alguna de las siguientes situaciones:

- Si la propia plataforma alcanza el límite de su recorrido mecánico.
- Si algún componente que se mueve junto con la plataforma alcanza el límite de su recorrido mecánico.



- 1 Tire del deslizador hacia delante. Observe la posición de la guía del tubo y ajuste su recorrido máximo a una posición adecuada.
- 2 Haga clic en *Alignment Point A* (Punto de alineación A) o en *Alignment Point B* (Punto de alineación B). Alinee la guía del tubo usando el marcador en forma de cruz del accesorio de calibración de la plataforma en las posiciones izquierda/derecha y atrás/adelante.
- 3 Coloque una placa de pocillos convencionales o una placa de pocillos profundos en la plataforma del agitador. Calibre la posición de la guía del tubo y la posición A1.
- 4 Tire del deslizador hacia atrás y coloque la gradilla de tubos en la plataforma del agitador. Calibre la posición A1.

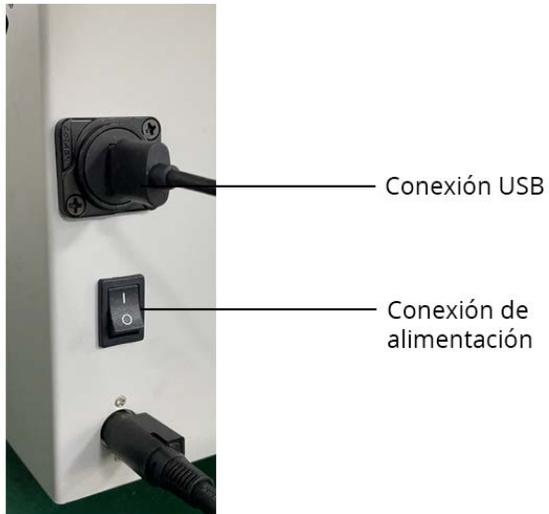
Limpieza de las superficies externas de la cargador

Compruebe periódicamente si hay residuos de solución salina.

- 1 Humedezca un paño con una solución de limpieza y limpie el líquido envolvente seco de las superficies.
- 2 Humedezca un paño limpio con agua desionizada y limpie las superficies para evitar la corrosión por lejía.
- 3 Seque las superficies con un paño limpio y seco.

■ **NOTA:** Las altas concentraciones de hipoclorito sódico (lejía) y otros limpiadores pueden dañar el instrumento.

Conexiones del cargador



- USB2.0: requiere un cable alargador USB2.0 del tipo A para cable USB2.0 del tipo A convencional (aprox. 1 metro de longitud) para la conexión al ordenador.
- Alimentación: requiere un cable de alimentación IEC320-C8 para conectar con la fuente de alimentación de CA-CC.

Desinstalación de la fuente de alimentación del cargador

Para desinstalar la fuente de alimentación:

- 1 Desenchufe la conexión de CA.
- 2 Desenchufe la conexión de alimentación del cargador.



Instrucciones de elevación y transporte del cargador

- Mantenga todo el equipo separado del suelo sobre una superficie firme, como una mesa.
- Nunca coloque el cargador sobre el suelo cuando esté en uso.
- Utilice un carro u otro sistema de soporte estable para transportar el cargador.

Resolución de problemas

En esta sección se ofrecen consejos para ayudarle a identificar y resolver los problemas que puedan producirse en el citómetro de flujo. Si necesita ayuda adicional, póngase en contacto con Cytex Biosciences. Tenga a mano la siguiente información: número de serie, mensajes de error y datos del funcionamiento reciente.

Para obtener asistencia para el instrumento en EE. UU., llame al 1-877-92-CYTEK. Visite nuestro sitio web www.cytexbio.com, para obtener información de contacto actualizada.

- “Resolución de problemas generales” en la página 154
- “Resolución de problemas del cargador” en la página 157

Resolución de problemas generales

Observación	Posibles causas	Soluciones recomendadas
El CC diario no se completa	Muestra de microesferas de CC incorrecta.	Asegúrese de que está procesando microesferas de CC SpectroFlo.
	Muestra de microesferas incorrectamente mezclada.	Mezcle la muestra de microesferas.
	Muestra de microesferas demasiado diluida.	Concentre la muestra de microesferas o prepare una nueva muestra de microesferas.
	Burbuja de aire en el conducto de muestra.	Realice una <i>SIT Flush</i> (Purga del SIT).
Error de CC diario	Burbuja de aire en el sistema fluídico.	Ejecute <i>Purge Filter</i> (Purgar el filtro).
	Cámara de flujo sucia.	Ejecute <i>Clean Flow Cell</i> (Limpiar la cámara de flujo). Si el problema persiste, ejecute <i>Clean Flow Cell</i> usando Contrad 70 al 25-50 %, seguido de agua desionizada.
	Preparación de muestra dudosa.	Verifique la técnica de preparación de muestras.
	Aire en el filtro del envoltente.	Ejecute <i>Purge Filter</i> .
	Muestra no diluida en el mismo líquido que el envoltente.	Diluya la muestra en el mismo líquido que la solución envoltente.
Aire en el filtro del envoltente.	El citómetro no se ha utilizado durante un período prolongado.	Ejecute <i>Purge Filter</i> . Compruebe que todos los conectores del envoltente estén bien conectados. Compruebe si hay fugas o grietas en el reservorio interno del envoltente. Cámbiela, si es necesario.
	Depósito del envoltente vacío.	Llene el depósito del envoltente. Ejecute <i>Purge Filter</i> .

Observación	Posibles causas	Soluciones recomendadas
No se muestran eventos (volumen de adquisición inferior al esperado)	No hay muestra en el tubo.	Agregue muestra o instale un tubo de muestra nuevo.
	Muestra mezclada incorrectamente.	Mezcle la muestra para suspender las células/partículas.
	SIT obstruido.	Realice una <i>SIT Flush</i> (Purga del SIT). Después ejecute <i>Clean Flow Cell</i> (Limpiar la cámara de flujo) con lejía al 10 %, seguida de <i>Clean Flow Cell</i> con agua desionizada. Si la obstrucción persiste, cambie el conducto de muestra.
No se muestran eventos (volumen de adquisición normal)	Ganancia insuficiente para el parámetro de umbral.	Aumente la ganancia del parámetro de umbral.
	Umbral demasiado alto.	Baje el umbral.
	Retardo entre láseres incorrecto.	Asegúrese de que los valores de retardo entre láseres coincidan con los de la última secuencia de <i>Daily QC</i> (CC diario). Véase “Instrument Control (Control del instrumento)” en la página 48 para conocer la ubicación del retardo entre láseres. Si los valores no coinciden, vuelva a ejecutar <i>Daily QC</i> .
	Umbral configurado en un parámetro incorrecto.	Configure el umbral en el parámetro adecuado para la aplicación (normalmente FSC).
	Gráfico referido a una ventana sin datos en la ventana de adquisición.	Elimine o mueva la ventana de adquisición.

Observación	Posibles causas	Soluciones recomendadas
Tasa de eventos de la muestra baja	Umbral demasiado alto.	Baje el umbral.
	Ganancia insuficiente para el umbral.	Aumente la ganancia del parámetro de umbral.
	Muestra mezclada incorrectamente.	Mezcle la muestra para suspender las células/partículas.
	Muestra demasiado diluida.	Concentre la muestra. Configure el volumen de adquisición en <i>Medium</i> o <i>High</i> (Medio o Alto).
	SIT obstruido.	Realice una <i>SIT Flush</i> . Después ejecute <i>Clean Flow Cell</i> (Limpiar la cámara de flujo) con lejía al 10 %, seguida de <i>Clean Flow Cell</i> con agua desionizada. Si la obstrucción persiste, cambie el conducto de muestra.
Tasa de eventos errática	SIT parcialmente bloqueado.	Realice una <i>SIT Flush</i> . Después ejecute <i>Clean Flow Cell</i> (Limpiar la cámara de flujo) con lejía al 10 %, seguida de <i>Clean Flow Cell</i> con agua desionizada.
	Muestra con grumos.	Agite en vórtex, filtre o disgregue la muestra.
Los datos de los parámetros de dispersión aparecen distorsionados	Burbuja de aire en la cámara de flujo.	Realice una <i>SIT Flush</i> (Purga del SIT).
	Aire en el filtro del envoltente.	Ejecute <i>Purge Filter</i> (Purgar el filtro).
	Cámara de flujo sucia.	Ejecute <i>Clean Flow Cell</i> (Limpiar la cámara de flujo).
	Calidad inadecuada de la muestra.	Compruebe la viabilidad de las células.
	Tampones hipertónicos.	Compruebe el pH de los tampones y del fijador.
	Configuración del instrumento incorrecta.	Optimice la configuración del instrumento.

Observación	Posibles causas	Soluciones recomendadas
CV altos	Burbuja de aire en el sistema flúídico.	Realice una <i>SIT Flush y Purge Filter</i> .
	Volumen de adquisición de muestra configurado en <i>High</i> (Alto).	Configure el volumen de adquisición de muestra en <i>Low</i> o <i>Medium</i> (Bajo o Medio).
	Cámara de flujo sucia.	Ejecute <i>Clean Flow Cell</i> . Si el problema persiste, ejecute <i>Clean Flow Cell</i> usando <i>Contrad 70</i> al 25-50 %, seguido de agua desionizada.
	Preparación de muestra dudosa.	Verifique la técnica de preparación de muestras.
	Aire en el filtro del envoltente.	Ejecute <i>Purge Filter</i> .
	Muestra no diluida en el mismo líquido que el envoltente.	Diluya la muestra en el mismo líquido que la solución envoltente.

Resolución de problemas del cargador

Observación	Posibles causas	Solución recomendada
La plataforma o el motor no se mueven	Conexión USB	Compruebe que el cable USB y el conector USB no estén sueltos.
	Conexión de alimentación	- Compruebe que la fuente de alimentación, el cable de alimentación de CA-CC y el cable de alimentación de CC-CC están bien conectados. - Utilice un medidor para comprobar si la salida de CC de la fuente de alimentación son 24 VCC.
	Avería mecánica	Con el interruptor de alimentación apagado, empuje y tire manualmente de la plataforma para comprobar si el movimiento es suave.
La plataforma no está alineada	La calibración de la plataforma no es correcta.	- Vuelva a calibrar el instrumento siguiendo los pasos de calibración del software. - Compruebe si hay un sesgo significativo en la plataforma. - Compruebe si la configuración del software para <i>Plate/Deep Well/Tube Rack</i> (Placa/Pocillo profundo/Gradilla de tubos) es correcta.

Glosario

ASL	El <i>Automated Sample Loader</i> (Cargador automático de muestras) mezcla muestras y suministra gradillas y placas de tubos al citómetro para su adquisición.
APD	El fotodiodo de avalancha (APD, por sus siglas en inglés) es un dispositivo electrónico semiconductor de alta sensibilidad para medir la intensidad de la luz. Los APD convierten la luz en electricidad y se los puede considerar fotodetectores.
archivo de datos	Recopilación de valores medidos a partir de una sola muestra combinados con texto que describe los datos, que se ha almacenado como archivo estándar de citometría de flujo (.fcs) en un disco.
autofluorescencia	Fluorescencia inherente que generan principalmente las estructuras celulares como las mitocondrias y los lisosomas. La autofluorescencia puede dificultar la detección de señales fluorescentes atenuadas.
cámara de flujo	La cámara de flujo permite el enfoque hidrodinámico de la muestra para que el láser o láseres puedan interrogar secuencialmente a las células o partículas de interés individualmente.
citometría de flujo	Tecnología que mide y analiza simultáneamente varias características de células o partículas individuales a medida que pasan por un haz de láser.
compensación	Proceso por el cual se tiene en cuenta la fluorescencia de contaminación espectral de parámetros secundarios, de modo que los valores de fluorescencia de un parámetro representen solo la fluorescencia del fluorocromo primario.
contaminación espectral	Luz emitida por un fluorocromo que entra en el detector de otro fluorocromo.

deconvolucionar	Proceso basado en algoritmos que se utiliza para invertir los efectos de la convolución (o superposición) en los datos grabados.
detector	Dispositivo que responde a un estímulo específico. Los fotodiodos y los tubos de APD son dos tipos de detectores en los citómetros. Convierten las señales de luz en señales electrónicas.
deconvolución espectral	Método matemático para deconvolucionar las señales de múltiples fluorocromos/colorantes para diferenciarlas.
FCS	Estándar de citometría de flujo, un formato convencional para archivos de datos de citometría de flujo.
filtro	Dispositivo óptico que bloquea el paso de parte de la luz incidente, permitiendo que el resto pase prácticamente sin cambios.
fluorescencia	Emisión de luz de longitudes de onda más largas que se produce cuando una sustancia absorbe luz de longitudes de onda más cortas.
fluorocromo	Colorante fluorescente. Molécula capaz de absorber energía lumínica y después emitir luz a una longitud de onda más larga (fluorescencia) a medida que libera esa energía.
fotodiodo	Dispositivo para medir la intensidad de la luz. Un fotodiodo genera una corriente de salida proporcional a la intensidad de la luz incidente.
ganancia	Amplificación de una señal. El aumento de la ganancia da lugar a una señal de salida mayor para una señal de entrada determinada.
gráfico de puntos	Representación gráfica de datos de dos parámetros. Cada eje de un gráfico presenta los valores de un parámetro.
láser	Amplificación de luz mediante emisión estimulada de radiación. Fuente de luz altamente direccional, monocromática, coherente y brillante. La luz emitida se halla en una o más bandas espectrales estrechas y, en la mayoría de los láseres, se concentra en un haz intenso y estrecho.
rCV	Coefficiente de variación robusto porcentual. El CV robusto es una medida de la dispersión de una distribución de probabilidades o de una distribución de frecuencias.
referencia	Perfil espectral de un marcador fluorescente en todos los detectores para todos los láseres.

resolución	Medida de la capacidad de un citómetro para distinguir entre dos poblaciones con diferentes intensidades de fluorescencia o dispersión de luz.
retardo entre láseres	Cantidad de tiempo entre las señales de diferentes puntos de interrogación de láser.
rSD	Desviación estándar robusta. La SD robusta se basa en la desviación de los puntos de datos individuales con respecto a la mediana de la población.
ruido electrónico	Fluctuación aleatoria en las señales electrónicas, característica de todos los circuitos electrónicos.
superposición espectral	Fenómeno por el que diferentes fluorocromos emiten luz dentro del mismo intervalo de detección. En experimentos multicolores, hay que realizar una compensación para corregir la superposición espectral.
sensibilidad	Medida de la capacidad de un citómetro para distinguir las partículas del ruido de fondo. A menudo se expresa en términos de un número mínimo de moléculas fluorescentes por partícula necesario para distinguir una partícula teñida de una partícula sin teñir. La sensibilidad depende del instrumento, el colorante y el método de preparación.
SIP	Puerto de inyección de muestras. Área del citómetro donde se coloca la muestra.
SIT	Tubo de inyección de muestras. Sonda que extrae la muestra del tubo de muestra y la lleva a la cámara de flujo.
tasa de eventos	La velocidad a la que se adquieren las células o partículas.
volumen de adquisición	Cantidad de líquido que pasa por un punto por unidad de tiempo. El volumen de adquisición del citómetro NL-CLC se mide mediante el caudalímetro.
ventana de adquisición	Límite (región) numérico o gráfico que define un subconjunto de datos. Las ventanas de adquisición pueden ser unidimensionales o multidimensionales.
voltaje	Medida del potencial eléctrico. El voltaje aplicado a un detector afecta a su ganancia de amplificación.

Especificaciones

Citómetro

Óptica

Elemento	Especificación
Plataforma óptica	Conjunto óptico fijo configurado con hasta tres haces de láser separados espacialmente. Los retardos entre láseres se ajustan automáticamente durante el CC del instrumento.
Láseres	405 nm: 100 mW (violeta) 488 nm: 50 mW (azul) 640 nm: 80 mW (rojo)
Geometría del haz	Perfil de haz de láser plano con altura estrecha de haz vertical, optimizado para la detección de partículas pequeñas.
Recogida de emisiones	Cubeta de sílice fundida acoplada a una lente de alta AN para lograr una eficacia óptima de recogida en fibras ópticas.
Detector y filtro de dispersión frontal	Detector semiconductor de alto rendimiento con filtro paso de banda de 488 nm.
Detectores y filtros de dispersión lateral	Dos detectores semiconductores de alto rendimiento con filtros paso de banda de 405 y 408 nm.
Detectores de fluorescencia	Conjunto de detectores semiconductores de multiplexación por división aproximada de longitud de onda (CWDM) de alta sensibilidad, de 16 canales por láser, que permite una captura de espectro más eficaz para los colorantes que emiten en el intervalo de 420 a 830 nm. No se requieren cambios de filtro para ningún fluorocromo excitado por los láseres integrados. NOTA: Véase la tabla de la página 112 para conocer las especificaciones de ancho de banda de los detectores.

Sistema fluídico

Elemento	Especificación
Funcionamiento general	Sistema fluídico accionado por vacío con los siguientes modos fluídicos: Long Clean, SIT Flush, Purge Filter, Clean Flow Cell, Fluidics Shutdown (Limpieza larga, Purga del SIT, Purgar el filtro, Limpiar la cámara de flujo, Apagado del sistema fluídico).
Tubos compatibles	Tubos de poliestireno y polipropileno de 12 x 75 mm.
Contenedores de líquidos	Se facilitan depósitos de líquido de 4 l con detección de nivel. Compatibles con contenedor de 20 l de envoltorio y de residuos.
Volúmenes de adquisición de muestra	Tres volúmenes de adquisición predefinidos medidos por el caudalímetro: Modo de tubos: <ul style="list-style-type: none"> • Bajo: 15 µl/min • Medio: 30 µl/min • Alto: 60 µl/min
Velocidad de adquisición de datos	Hasta 35 000 eventos/s (para sistemas de tres láseres).

Rendimiento

Característica	Parámetro	Criterios de aceptación	Resultado
Sensibilidad analítica	Sensibilidad de fluorescencia	Sensibilidad mínima: FITC ≤ 200 MESF PE ≤ 100 MESF APC ≤ 15 MESF Azul Pacífico ≤ 190 MESF	Resultados de MESF: FITC = 51 PE = 51 APC = 14 Azul Pacífico = 13
	Linealidad de la fluorescencia	$R \geq 0,98$	$R > 0,99$ para todos
	Sensibilidad de la dispersión frontal (FSC)	La dispersión frontal debe distinguir una micropartícula de 1 µm de los desechos por tamaño relativo.	Las microesferas de 0,98 µm se separaron de los desechos por FSC.
	Linealidad de la prueba de ploidía del ADN	El cociente de la IFM G2/M a G0/G1 deberá estar comprendido entre 1,95 y 2,05.	Cociente G2/M a G0/G1 = 2,03.
Resolución de dispersión	Resolución FSC/SSC	FSC $\leq 3,0$ %CV SSC $\leq 8,0$ %CV	FSC 2,96 %CV SSC 4,55 %CV

Característica	Parámetro	Criterios de aceptación	Resultado
Exactitud	Exactitud de la detección de marcadores de superficie celular	Utilizando una muestra CD-Chex Plus (Streck, n.º ref. 213365) para los marcadores de superficie celular CD3, CD4, CD8, CD16/56 y CD19, los linfocitos positivos en porcentaje deben hallarse dentro del intervalo deseado del prospecto facilitado por el proveedor.	Las poblaciones de linfocitos analizados, CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD3-CD19+, CD3-(CD16+CD56+) en porcentaje se hallan dentro de los intervalos deseados publicados. Datos archivados.
Precisión (repetibilidad y reproducibilidad)	Repetibilidad de la detección de marcadores de superficie celular	Medición repetida de muestras en varios instrumentos con los marcadores de superficie celular CD3, CD4, CD8, CD16/56 y CD19; el %CV de los porcentajes de linfocitos positivos deberá cumplir los siguientes criterios: Si los porcentajes de linfocitos positivos son $\geq 30\%$, %CV será $\leq 8\%$. Si los porcentajes de linfocitos positivos son $< 30\%$, %CV será $\leq 15\%$.	El %CV de cada población celular medido en 10 análisis repetidos es inferior al 6 % y cumple los criterios de aceptación. Datos archivados.
Validación del flujo de trabajo del ensayo	Arrastre Fiabilidad del instrumento	El arrastre será $\leq 0,5\%$	Arrastre $< 0,003\%$
		Cuando la temperatura ambiente permanece dentro del 5 % de la temperatura de funcionamiento del diseño, en cualquier periodo de 8 horas no habrá ninguna variación superior a $\pm 10\%$ en la intensidad de FSC y de cualquier canal de fluorescencia.	Los resultados de las pruebas demuestran que la variación de la IFM en cualquier canal fue inferior a $\pm 10\%$. Datos archivados.

Estación de trabajo

Elemento	Especificación
Sistema operativo	Microsoft® Windows® 10 Pro, 64 bits
Procesador	Procesador Intel® Core™ i7, 3,6 GHz
RAM	32 GB
Disco duro	SSD de 500 GB/SATA de 1 TB
Procesador de vídeo	NVIDIA® GeForce 530
Pantalla	Pantalla UHD 4K de 32 pulgadas

Especificaciones técnicas del cargador

Especificaciones generales	
Tipos de placas	Placa de pocillos profundos de 1 ml, placa de pocillos profundos de 2 ml, placa convencional de 96 pocillos con fondo en V, placa convencional de 96 pocillos con fondo en U, placa convencional de 96 pocillos con fondo plano
Gradilla de tubos	Gradilla de 40 tubos
Interfaz del ordenador	USB 2.0
Mezcla	Basada en un transportador concreto en software configurado con la velocidad de agitación, el tiempo de agitación y la frecuencia de agitación recomendados.
Requisitos de instalación	
Dimensiones	23 x 47 x 28 cm (9,1 x 18,5 x 11 in)
Peso	15 kg (33 lb)
Espacio de trabajo recomendado	65 x 30 x 30 cm (26 x 12 x 12 in)
Fuente de alimentación	Entrada: 110-240 V~, 50/60 Hz, 2,0-1,0 A Salida: 24 V CC, 6,67 A, 160 W máx.
Humedad	Del 20 al 85 % relativa, sin condensación
Condiciones ambientales	Altitud de hasta 2000 m (6560 pies), grado de contaminación: 2
Filtrado del aire	Sin polvo ni humo excesivos
Iluminación	Sin requisitos especiales

Requisitos de instalación

Elemento	Especificación
Dimensiones (An x Pr x Al)	54 x 52 x 52 cm (21,3 x 20,5 x 20,5 in)
Peso	61 kg (134,5 lb) a 71 kg (156,5 lb)
Estación de trabajo	3,5 x 18,3 x 17,9 cm (1,4 x 7,2 x 7,0 in)
Espacio de trabajo recomendado	152,4 x 61 x 132 cm (60 x 24 x 52 in)
Alimentación	110/240 V~, 50/60 Hz, 3,5 A/1,5 A
Valor nominal del fusible	250 VCA, 5 A, tamaño 5 x 20 mm
Disipación térmica	500 W con todos los láseres de estado sólido
Temperatura	15-28 °C
Condiciones ambientales	Para uso en interiores
Altitud	Hasta 2000 m (6562 pies)
Grado de contaminación	2
Humedad	Del 20 al 85 % relativa, sin condensación
Filtrado del aire	Sin polvo ni humo excesivos
Iluminación	Sin requisitos especiales

Suministros y repuestos

Elemento	Número de referencia	Descripción
Tanque de 4 L	N4-00124	Frasco de fluídica para vaina y residuos
Conjunto de tapa de suministro de 4L	N7-32015	Tapa para depósito de funda 4L con tubo
Conjunto de tapa de residuos de 4L	N7-32014	Tapa para depósito de residuos de 4L con tubo y sensor de nivel de líquido
Conjunto de adaptador Cubitainer de 20 L	N7-32016	Tubos y tapas para adaptarse a contenedores de vaina y residuos de 20 l
Conjunto de soporte del depósito	N7-32019	Soporte para vainas de 4L y depósitos de residuos
SpectroFlo QC Beads 2000 Serie, 2mL	B7-10001	Cuentas de control de calidad diarias para validar el rendimiento del instrumento
Conjunto del filtro del envoltente (0,2 µm)	N7-22006	Conjunto del filtro del envoltente de 0,2 µm con conectores rápidos y colector.
Conjunto del filtro del envoltente (0,4 µm)	N7-22016	Conjunto del filtro del envoltente de 0,4 µm con conectores rápidos y colector.
Conducto de muestra	N7-22014	Conjunto de tubos del SIT.
Derivación del filtro del envoltente (tubos de <i>Long Clean</i> [Limpieza larga])	N7-22010	Sustituye el filtro del envoltente durante una limpieza larga.
Filtro de disco de 25 mm (20 µm)	N4-00047	Filtro en la entrada de los tubos del envoltente para la tapa del contenedor y del depósito de 4 l del envoltente.

Índice alfabético

A

- adquisición
 - controles 47
 - experimentos 46
 - preferencias 75
- agregar
 - etiquetas 68
 - marcadores fluorescentes a la biblioteca 68
 - nueva cuenta de usuario 87
- Análisis de datos sin conexión 104
- apagar el sistema 28
- archivos FCS
 - datos deconvolucionados 104, 105, 109
 - datos sin procesar 104
 - formatos 20, 45
 - preferencias de almacenamiento 84

B

- barra de herramientas, experimento 50
- biblioteca
 - configuración de usuario 72
 - configuración del cargador 72
 - etiquetas 68
 - marcadores fluorescentes 67
 - microesferas de CC 67
 - palabras clave 69
 - plantillas de experimentos 73
 - plantillas de hoja de trabajo 73
- botón de encendido 12

C

- cámara de flujo, limpieza 141
- cambio
 - filtro del envoltente. 144
 - SIT 145–149
- cargador
 - apagado 137
 - calibración de la plataforma y la placa del cargador 149
 - conexiones 151
 - configuración 72
 - configuración de un experimento 132
 - configuración y controles 130
 - desinstalación de la alimentación 151

- flujo de trabajo diario 132
- instrucciones de elevación y transporte 151
- mantenimiento 149
- puesta en marcha 132
- resolución de problemas 157
- caudalímetro 146
- CC diario
 - informe 32
 - realizar 29–32
- citómetro
 - apagado 28
 - botón de encendido 12
 - componentes del sistema fluídico 14–16
 - contenedores de líquidos 14, 25–27
 - filtro del envoltente 16
 - láseres 17
 - limpieza de superficies 144
 - óptica 16
 - perspectiva general 12
 - repuestos 169
 - SIT/SIP 13
- conductos fluídicos
 - inspección 144
- configuración
 - usuario 42
- configuración de usuario 42
 - biblioteca 72
- configuración del CC
 - preferencias 85
- contaminación espectral 95
 - ajuste 109
- contenedor de residuos 14
 - vaciado 26–27
- contenedor del envoltente 14
 - llenado 25–26
- contenedores de líquidos 14, 25–27
- contraseña, restablecer 88
- controles de referencia 34
 - actualizar 41
 - comparar con puntos de referencia 101
 - procesar 34–39
 - selección de puntos de referencia 40

D

datos

- deconvolucionados 45, 104, 105, 109
- formatos 45
- sin procesar 45, 104

Deconvolución 95

deconvolución

- en tiempo real 98–104
- específica por lotes/etiquetas 76
- perspectiva general 96
- posterior a la adquisición 104–109

deconvolución posterior a la adquisición

- en el módulo de adquisición 104–105
- en el módulo de análisis 106, 106–109

Desgasificador 14

E

eliminar

- cuenta de usuario 88

especificaciones de la estación de trabajo 166

estadística

- creación 53
- preferencias 81

etiquetas

- agregar 68
- biblioteca 68

experimento

- acerca de 18
- barra de herramientas 50
- crear nuevo 56–62
- exportar 20
- perspectiva general de la configuración 46
- predeterminado 19, 22

experimentos

- plantillas 20, 73
- presentación 46–54

exportar

- experimento 20
- informes de CC 32

F

factor de escala de área 49

filtro del envoltente 16

- cambio 144
- purgar 141

filtros virtuales 110–114

G

ganancia

- ajuste 49

configuración 42

Véase también configuración de usuario

gráficos

- preferencias 79
- tipos y propiedades 50

H

hoja de trabajo

- acerca de 21
- plantillas 73
- preferencias 77
- seleccionar 50

I

información sobre asistencia técnica 10

informes de CC

- criterios de apto/no apto 32
- exportación 32

intervalos de alarma 43

L

láseres

- detectores 17
- factor de escala 49

Levey-Jennings

- pestaña para el seguimiento del rendimiento 29
- seguimiento 41

limpieza

- cámara de flujo 141
- SIT 140
- superficies externas 144

limpieza larga 142

lista de trabajo

- agregar tareas 116
- controles de referencia específicos del lote 119
- controles de referencias 117
- crear o abrir 115
- deconvolucionar 118
- exportar informe 122
- organizar ubicaciones de muestras en un transportador 120
- recogida de datos 120

M

mantenimiento

- no programado 139
- programado 139

marcador fluorescente

- agregar nuevo 68

- biblioteca 67
- deconvolución en tiempo real 99
- grupos 34
- modificar propiedades 68
- procesar controles de referencia 34
- selección en un experimento 57
- mediciones de señal 49
- microesferas de CC
 - biblioteca 67
 - procesar 29–32
- modificar
 - cuenta de usuario 88
 - propiedades de las ventanas de adquisición 52
 - propiedades de marcadores fluorescentes 68
 - propiedades del gráfico 51
- módulos, software 17

O

- óptica 16
 - compartimento 12
 - especificaciones 163

P

- palabras clave 69
- perspectiva general
 - citómetro 12
 - deconvolución 96
 - sistema Northern Lights 11
 - software 17
- preferencias
 - adquisición 75
 - almacenamiento 84
 - configuración del CC 85
 - estadística 81
 - fuentes 82
 - gráficos 79
 - hoja de trabajo 77
 - notificaciones 83
 - ventanas de adquisición 80
- preferencias de fuentes 82
- preferencias de notificación 83
- procedimiento de apagado 28
- puerto de inyección de muestras (SIP) 13
- puntos de referencia de los controles de refer-

encia 40

R

- repuestos 169
- requisitos de instalación 167
- reservorio interno 14
- reservorio interno del envoltente 14
- resolución de problemas 153–157

S

- seguimiento
 - Levey-Jennings 41
- seguridad
 - biológica 9
 - eléctrica 9
 - información general 8
 - símbolos 7

SIP

Véase puerto de inyección de muestras

sistema

- apagado 28
- perspectiva general 11
- puesta en marcha 27

sistema fluídico

- componentes 14–16
- descontaminación 142
- especificaciones 164

SIT

Véase tubo de inyección de muestras

software

- formatos de archivo FCS 45
- módulos 17
- perspectiva general 17

T

- tubo de inyección de muestras (SIT) 13
 - cambio 145–149
 - compartimento 12
 - purga 140
 - purga, cargador 131

U

- umbral 49
- usuarios
 - agregar nueva cuenta 87
 - modificar cuenta 88
 - quitar cuenta 88
 - restablecer contraseña de usuario 88
 - tiempo de uso en el sistema 89

V

vaso acumulador 14, 16

ventanas de adquisición

ajustar, deconvolución posterior a la adquisición 104, 108

modificar propiedades 52

preferencias 80



 Cytek Biosciences, Inc.
47215 Lakeview Blvd.
Fremont, CA 94538 (EE. UU.)
1.877.922.9835 (opción 1)

products@cytekbio.com
cytekbio.com

EC	REP
----	-----

Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP La Haya
Países Bajos