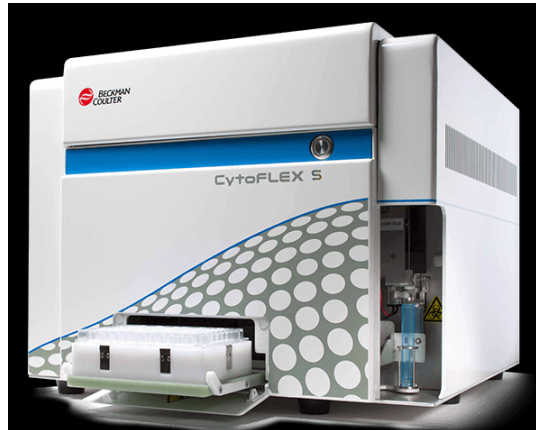


## CYTOFLEX (BECKMAN COULTER)



Citómetro con 3 láseres:

-Azul (488nm), filtros 525/40- FITC; 690/50-PC5.5; 585/42-PE; 780/60-PC7

-Rojo (638nm), filtros 660/20-apc; 712/25-APC A700; 780/60-APC A750

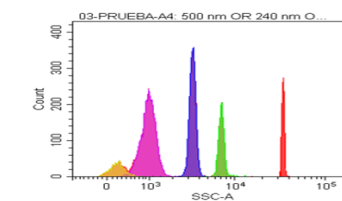
-Violeta (405nm), filtros 450/45-Pacific Blue; 525/40-Krome Orange; 610/20 -Brilliant Violet 610; 660/20-Brilliant Violet 660; 780/60 Violet 780

Capacidad de lectura de 13 parámetros de fluorescencia.

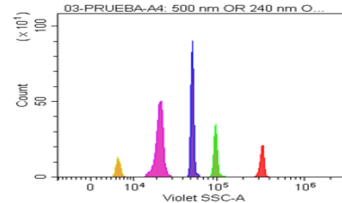
Capacidad de análisis de muestras en placas de 96 pocillos o en tubos.

### Sistema óptico del Cytoflex.

| Láser     | Canal fluorescente | Nombres de los canales de CytoFLEX | Pigmentos fluorescentes de uso común               |
|-----------|--------------------|------------------------------------|--|
| 405 nm    | 450/45 BP          | PB450                              | Pacific Blue™ dye, V450, eFluor™ 450, BV421        |
|           | 525/40 BP          | K0525                              | Krome Orange, AmCyan, V500, BV510                  |
|           | 610/20 BP          | Violet610                          | BV605, Qdot® 605                                   |
|           | 660/10 BP          | Violet660                          | BV650, Qdot® 655                                   |
|           | 780/60 BP          | Violet780                          | BV785, Qdot® 800                                   |
|           | 488 nm             | 525/40 BP                          | FITC   |
| 585/42 BP |                    | PE                                 | PE, PI   |
| 610/20 BP |                    | ECD                                | ECD, PE-Texas Red®, PE-CF594, PI                   |
| 690/50 BP |                    | PC5.5                              | PC5.5, PC5, PerCP, PerCP-Cy5.5, PI, DRAQ7™         |
| 780/60 BP |                    | PC7                                | PC7, DRAQ7™  |
| 638 nm    | 660/10 BP          | APC                                | APC, Alexa Fluor™ 647, eFluor™ 660, Cy5            |
|           | 712/25 BP          | APC-A700                           | APC-A700, Alexa Fluor™ 700, Cy5.5, DRAQ7™          |
|           | 780/60 BP          | APC-A750                           | APC-A750, APC-Cy7, APC-H7, APC-eFluor™ 780, DRAQ7™ |



SSC-Azul 488 nm  
Sensibilidad 200nm



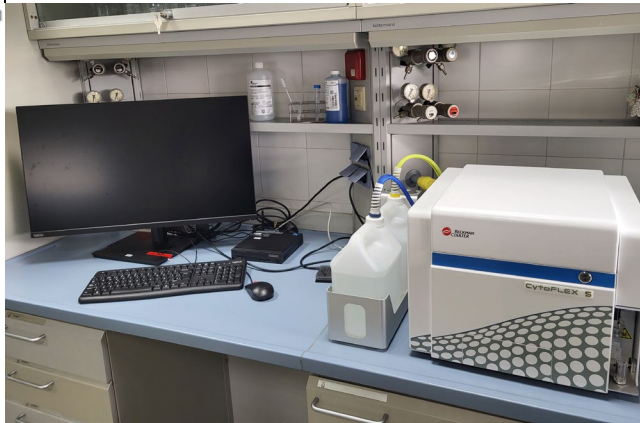
SSC-Violeta 405 nm  
Sensibilidad 80nm

## CITÓMETRO CYTOFLEX S (BECKMAN COULTER)

El Cytofex **S** es similar al anterior Cytofex con la diferencia que tiene un láser amarillo adicional y el mismo número de parámetros de fluorescencia (13) que se reparten de la siguiente manera:

Tabla 1.2 Códigos de color del soporte del filtro óptico del WDM [CytoFLEX S, Violeta-Azul-Amarillo-Rojo]

| Láser  | Canal fluorescente | Nombres de los canales de CytoFLEX | Pigmentos fluorescentes de uso común               |
|--------|--------------------|------------------------------------|--|
| 405 nm | 450/45 BP          | PE450                              | Pacific Blue™ dye, V450, eFluor™ 450, BV421        |
|        | 525/40 BP          | KO525                              | Krome Orange, AmCyan, Y500, BV510                  |
|        | 610/20 BP          | Violet610                          | BV605, Qdot® 605                                   |
|        | 660/10 BP          | Violet660                          | BV650, Qdot® 655                                   |
| 488 nm | 525/40 BP          | FITC                               | FITC, Alexa Fluor™ 488, CFSE, Fluo-3               |
|        | 690/50 BP          | PC5.5                              | PC5.5, PCS, PerCP, PerCP-Cy5.5, PI, DRAQ7™         |
|        | 610/20 BP          | ECDmCherry                         | ECD, mCherry, PE-CF594                             |
| 561 nm | 585/42 BP          | PE                                 | PE, DsRed  |
|        | 690/50 BP          | PC5.5                              | PC5.5, PCS, PI, DRAQ7™                             |
|        | 780/60 BP          | PC7                                | PC7, DRAQ7™  |
|        | 638 nm             | 660/10 BP                          | APC  |
| 638 nm | 712/25 BP          | APC-A700                           | APC-A700, Alexa Fluor™ 700, Cy5.5, DRAQ7™          |
|        | 780/60 BP          | APC-A750                           | APC-A750, APC-Cy7, APC-H7, APC-eFluor™ 780, DRAQ7™ |



Comunidad de Madrid

CONSEJERÍA DE EDUCACIÓN, CIENCIA Y UNIVERSIDADES



Fondos Europeos

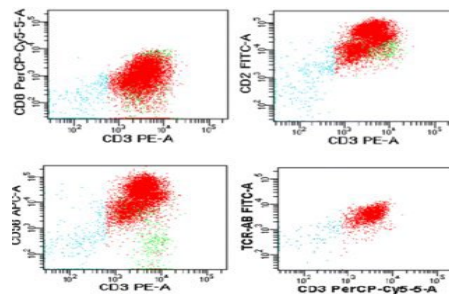
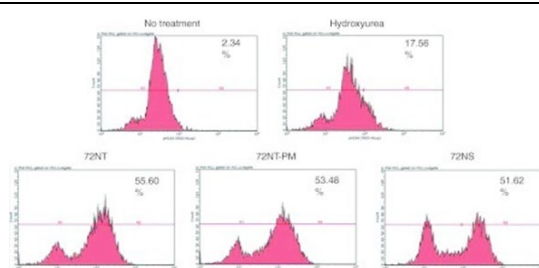


Cofinanciado por la Unión Europea

## CYTOFLEX (BECKMAN COULTER)

## CITÓMETRO CYTOFLEX S (BECKMAN COULTER)

Ambos citómetros Cytofex tienen la característica de que, mediante un cambio en la posición de los filtros de paso de luz asociados al láser violeta, se puede asociar el parámetro SSC a este láser violeta, lo que proporciona una mayor resolución, pudiendo llegar a eventos con un tamaño de entre 100 y 200 nanómetros.



Representación en histogramas y plots de muestras en citometría.

## **CITÓMETRO CYTOFLEX Nano (BECKMAN COULTER)**

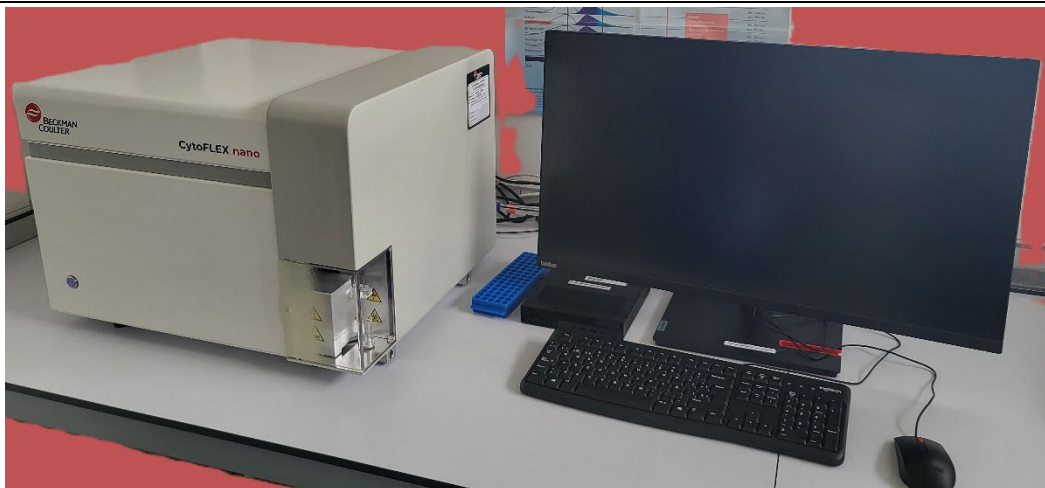
Es un citómetro de sobremesa diseñado específicamente para el estudio de vesículas extracelulares y otras nano partículas como virus que desempeñan papeles importantes en los procesos fisiológicos y enfermedades. Igualmente se puede utilizar para el estudio de micro y nanoplasticos. Permite el análisis de partículas de al menos 40 nm de tamaño con facilidad y, al mismo tiempo, ofrece hasta 6 canales de detección fluorescentes independientes para brindar una caracterización completa.

Tiene 4 láseres colineales (Blue, Violet, Red y Yellow/Green) y permite la detección de hasta 12 parámetros simultáneamente (FSC, 5 SSC y 6 fluorescencias), optimizando así la distribución de las fluorescencias en un mayor número de láseres y disminuyendo así las interacciones y compensaciones de las mismas.

La configuración de parámetros respecto a los láseres es la siguiente:

- Blue (488 nm) 50 mW. 1 canal SS. 1 canal de Fluorescencia (verde)
- Violet (405 nm) 120 mW. 2 canales SS, SSD1 y SSD2. 1 canal de Fluorescencia (azul)
- Red (638 nm) 100 mW. 1 canal SS. 3 canales de Fluorescencia (rojo)
- Yellow/Green (561 nm) 35 mW. 1 canal SS. 1 canal de Fluorescencia (naranja)

La sensibilidad de los SSC le permite detectar partículas que cubren un rango de entre 40 y 1000 nanómetros. El caudal de flujo de muestra es de entre 1 y 6 microlitros/minuto con una velocidad máxima de adquisición de 16000 eventos/segundo.



**Comunidad  
de Madrid**

CONSEJERÍA DE EDUCACIÓN,  
CIENCIA Y UNIVERSIDADES



Fondos Europeos



Cofinanciado por  
la Unión Europea

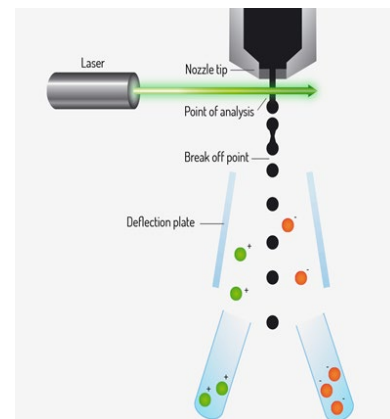
| CYTOFLEX (BECKMAN COULTER) | CITÓMETRO CYTOFLEX S (BECKMAN COULTER) | CITÓMETRO CYTOFLEX Nano (BECKMAN COULTER) |
|----------------------------|--|---|
|----------------------------|--|---|

Los 3 citómetros tienen en común un sistema de detección mediante el uso de fotodiodos de avalancha (APDs) de alto rendimiento especialmente diseñados para minimizar la pérdida de luz y maximizar así la eficiencia de la transmisión de la luz emitida, aumentando la sensibilidad en gran medida (eficiencia cuántica cercana al 100% y linealidad de funcionamiento). Los detectores tienen una respuesta lineal de tal forma que si se modifica la ganancia o voltaje del detector se recalcula automáticamente la matriz de compensación sin necesidad de realizar una nueva compensación. Igualmente, los 3 citómetros tienen un sistema capaz de realizar un conteo volumétrico de la muestra con una exactitud del 90%.

### SORTER BD FACS MELODY (BECTON DICKINSON)



Esquema de funcionamiento del Sorter



Un sorter es un citómetro que analiza y **separa físicamente** partículas o células en suspensión en un medio líquido.

Las células o partículas generalmente se marcan previamente con un anticuerpo conjugado con una molécula fluorescente o directamente con un fluoróforo. Estas células o partículas en suspensión pasan a través del sistema fluido del sorter y son interrogadas por un láser que excita las moléculas fluorescentes. La luz emitida es captada por el sistema y convertida en una señal eléctrica que es analizada mediante el software de control. La información obtenida es utilizada por el equipo para seleccionar y separar físicamente células o partículas y dirigir las hacia un tubo, placa de pocillos o portaobjetos. La separación se produce cuando el equipo incluye cada célula individualmente dentro de una gota de fluido. Cada gota se carga eléctricamente, carga positiva, negativa o neutra en función del tipo celular de que se trate, y las gotas son dirigidas hacia una pieza con un microporo de hasta 100  $\mu\text{m}$  llamada "nozzle" que las enfoca hacia unos deflectores eléctricos. Estos deflectores a su vez dirigen las gotas en función de su carga hacia los tubos o pocillos de la placa.

El instrumento tiene 3 láseres de excitación:

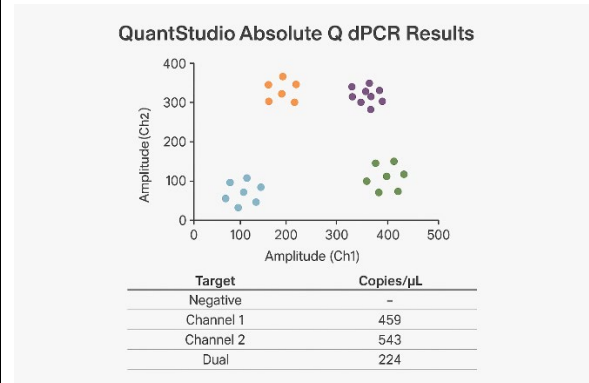
- azul (488 nm),
- verde-amarillo (563 nm) y
- rojo (640 nm).

Puede detectar hasta 10 parámetros: tamaño (forward scatter), granularidad intracelular (Side scatter) y 8 parámetros de colores con la siguiente configuración:

- Para láser azul 2 filtros: 527nm bp32 (B), y 700 bp54 (A), aparte de los detectores de FSC y SSC.

- Para láser verde-amarillo 4 detectores: 582 bp15 (D), 613 bp18 (C), 697 bp58 (B) y 783 bp56 (A).
- Para láser rojo 2 detectores: 660 bp10 (B) y 783 bp56 (A).

## EQUIPO DE PCR DIGITAL QUANTSTUDIO ABSOLUTE Q (Life technologies)



La PCR digital (dPCR) es una variante avanzada de la reacción en cadena de la polimerasa que permite la cuantificación absoluta de ácidos nucleicos sin necesidad de curvas estándar, a diferencia de la PCR en tiempo real. Su principio se basa en la partición de la muestra en miles o millones de micro-reacciones independientes (gotas o pocillos). En cada partición puede haber cero o una (o muy pocas) moléculas diana. Tras la amplificación, las particiones se clasifican como positivas o negativas según presenten señal fluorescente. Aplicando estadística de Poisson, se calcula directamente el número inicial de copias presentes en la muestra.

Entre sus principales ventajas destacan:

- Alta sensibilidad y precisión
- Detección de variantes raras
- Mayor tolerancia a inhibidores
- Cuantificación absoluta sin patrón externo

Por ello, la PCR digital se utiliza ampliamente en diagnóstico molecular, detección de mutaciones somáticas, análisis de expresión génica, cuantificación viral y estudios de ADN libre circulante. En resumen, la PCR digital mejora la exactitud y sensibilidad de la cuantificación molecular al convertir una medición analógica en un conteo digital de eventos individuales.

Este equipo en concreto utiliza la tecnología de placa de matriz microfluídica que permite dividir la mezcla de reacción en más de 20.000 microcámaras independientes por unidad de reacción. Cada microcámara actúa como un micro reactor, facilitando la detección de moléculas individuales y permitiendo una cuantificación absoluta sin necesidad de curvas estándar.



**Sistemas de PCR en Tiempo Real ABI 7500 Fast (APPLIED BIOSYSTEMS)**

El equipo 7500 Fast es un equipo de PCR en Tiempo Real para placas de 96 pocillos que tiene la opción Fast para hacer las PCRs en un tiempo relativamente corto.

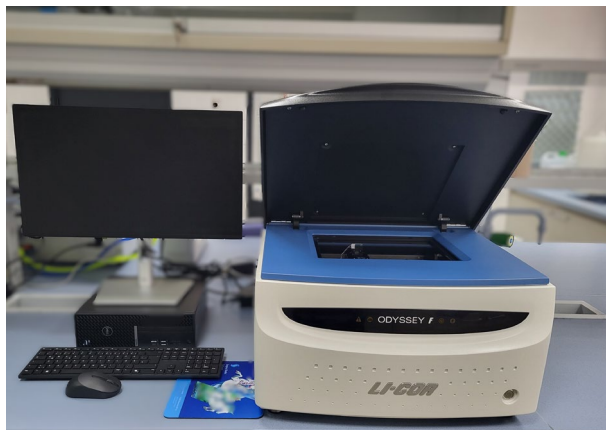


**QuantStudio 12K (Thermofisher)**

Equipo de PCR para placas de 96, 384, Taqman array Cards, trabajando con sondas Taqman y reactivo SYBR.

La PCR digital compartimentaliza una reacción de PCR genérica en miles de reacciones a escala de nanolitros, cada una de las cuales contiene ninguna, una o sólo unas pocas moléculas de ADN. Al realizar el recuento de las reacciones positivas y aplicar las estadísticas de Poisson, se logra una cuantificación absoluta de la muestra. La dPCR supera las limitaciones comunes de la qPCR, como la necesidad de curvas estándar, la baja precisión al medir objetivos raros y la falta de sensibilidad en condiciones de fondo elevadas.

**ESCANER DE FLUORESCENCIA ODYSSEY F (LicorBio).**



El Odyssey F de LI-COR Bio es un escáner de fluorescencia con una tecnología que combina 2 láseres en el visible y otro en el infrarrojo cercano, lo que le permite detectar varias señales a la vez y analizar desde Western blots y geles hasta placas multipocillo o tomas en portaobjetos. Gracias a esta combinación, el equipo ofrece una gran sensibilidad, un amplio rango dinámico y la capacidad de realizar escaneos rápidos.

Una de sus ventajas más llamativas es que permite trabajar con múltiples colores de fluorescencia simultáneamente, facilitando experimentos en los que se analizan varias proteínas o moléculas en paralelo. Además, está diseñado para ser versátil y compatible con muchos tipos de muestras, por lo que resulta útil en tareas tan variadas como estudios de expresión proteica, ensayos celulares o análisis de tejidos en portaobjetos.



Comunidad  
de Madrid

CONSEJERÍA DE EDUCACIÓN,  
CIENCIA Y UNIVERSIDADES



Fondos Europeos



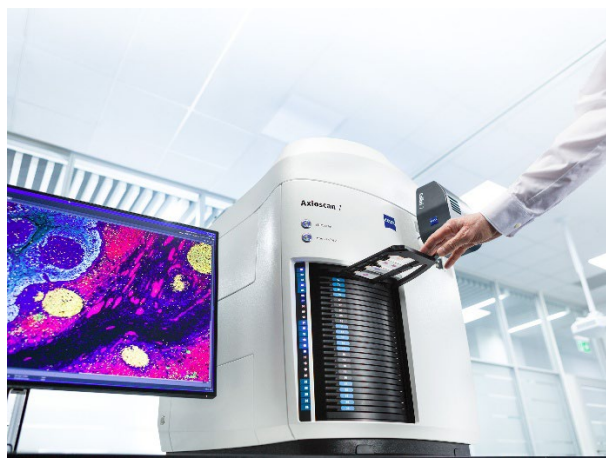
Cofinanciado por  
la Unión Europea

### ESCANER DE PORTAOBJETOS AXIOSCAN (Zeiss).



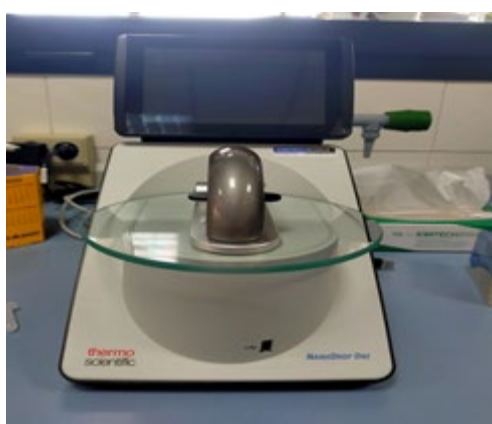
El **ZEISS Axio Scan.ZI** es un escáner automático de portaobjetos diseñado para la digitalización de preparaciones histológicas y citológicas con calidad de microscopía óptica de alta gama. Permite escanear múltiples láminas de forma automatizada, generando imágenes de campo completo (whole slide imaging) con alta resolución y reproducibilidad.

El sistema incorpora ópticas de precisión y enfoque automático continuo, lo que garantiza nitidez incluso en muestras con ligeras irregularidades. Puede trabajar en campo claro y, en modo fluorescencia, ya que nuestro equipo incorpora también un módulo de fluorescencia multicanal.



El **módulo de fluorescencia** integra fuentes de iluminación LED estables, filtros específicos para distintos fluorocromos y cámaras de alta sensibilidad, lo que permite detectar señales débiles con bajo nivel de ruido. Además, posibilita la adquisición secuencial de varios canales y la posterior superposición digital de las imágenes, facilitando análisis multicolor en estudios de inmunofluorescencia, hibridación in situ o marcaje de biomoléculas específicas.

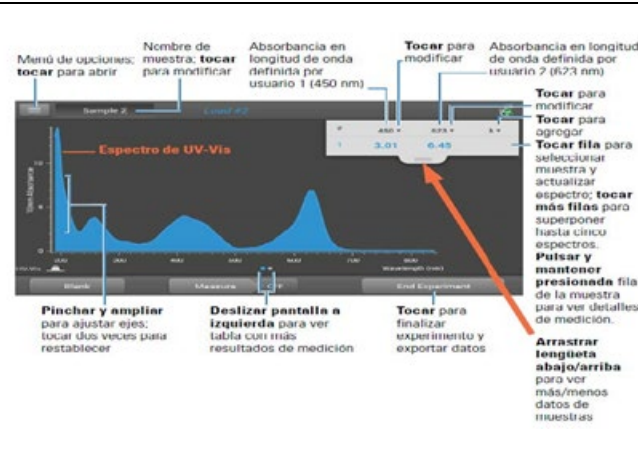
### Espectrofotómetros Nanodrop™ ONE (Thermo Scientific).



Mide la variación de la absorbancia con la longitud de onda de una disolución empleando solo una microgota de 1 y 2 microlitros. A partir de la absorbancia, calcula automáticamente la concentración de DNA, RNA, proteínas y otras sustancias, mostrando todo el espectro ultravioleta-visible.

Para detectar y cuantificar impurezas incluye el software Acclaro™, que tiene un algoritmo para corrección de los valores de concentración de las muestras. Además, posee una opción que mide la integridad de las muestras mediante un procesamiento digital de imagen.

### Software Acclaro



### Bioanalizador QSEP ONE TM (BIOPTIC)



Es una plataforma basada en la tecnología de microfluidos diseñada para la determinación del tamaño, **cuantificación** y el control de calidad de ADN, ARN y proteínas en un único instrumento, mediante electroforesis capilar. Los resultados se obtienen en un corto espacio de tiempo de forma automatizada.

El funcionamiento se basa en electroforesis capilar gel (incluido en un cartucho recambiable) con un detector de fluorescencia inducida por LED integrado de alta sensibilidad con capacidad para analizar de 1 a 8 muestras. El gel en donde se produce la electroforesis se encuentra en un cartucho (cartridge) recambiable y específico del tipo de muestra (DNA, RNA o proteína).

**Termociclador C1000 Touch (BioRad).** Este equipo tiene dos bloques programables de forma independiente, cada uno de 48 pocillos.

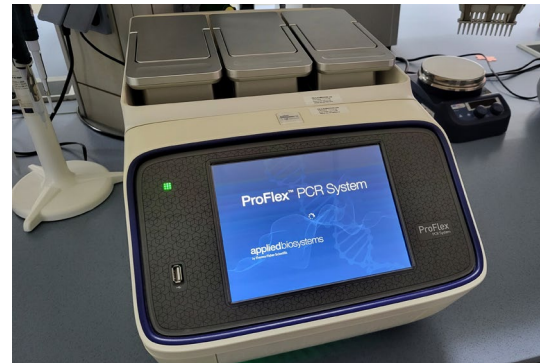
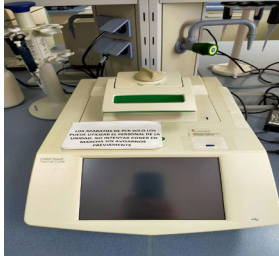
PCR convencional

**-Termociclador ProFlex PCR system.** (Applied biosystem).

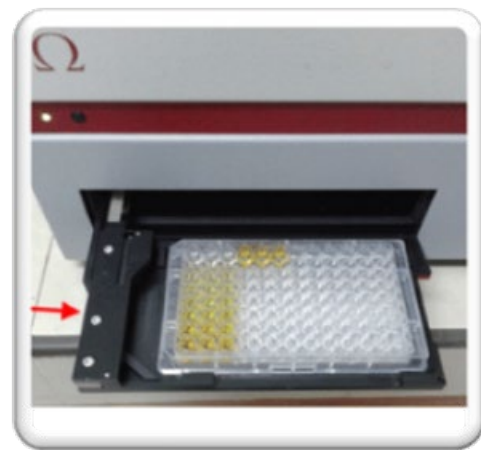
Equipo con 3 bloques independientes de 32 pocillos.

PCR convencional.

CON UN BLOQUE DE 96 POCILLOS CON 2 BLOQUES DE 48 POCILLOS



### FLUOstar® Omega



El FLUOstar® Omega es un lector de microplacas para detección de fluorescencia y absorbancia, (también conocido como lector de microplacas o fotómetro de microplacas) es un instrumento de laboratorio que permite detectar eventos biológicos, químicos o físicos en muestras contenidas en placas de microtitulación. Permite detectar tanto fluorescencia como absorbancia.

El FLUOstar® Omega dispone de:

- 2 detectores de fluorescencia :
- Rango de Excitación de Fluorescencia 415 nm y de Emisión 550nm.
- Rango de Excitación de Fluorescencia 485 nm y de Emisión 520nm.
- Rango de absorbancia que cubre (espectro ultravioleta-visible).

### Fluorímetro QUBIT (Thermo Scientific).



En el caso del fluorímetro QBIT4, se utiliza más específicamente para medir con precisión concentración de DNA, RNA y proteínas, así como integridad de los RNAs. También se puede medir concentración de otras moléculas que emitan fluorescencia.

### **ULTRACENTRÍFUGA OPTIMA XE-90 (BECKMAN COULTER)**

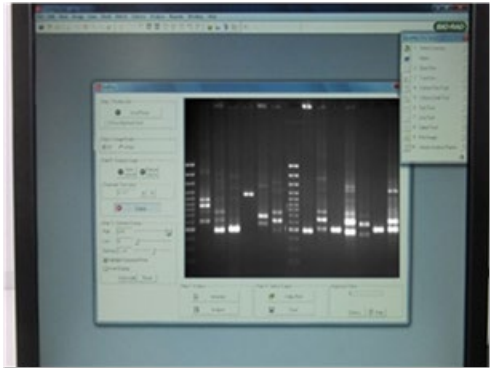


El equipo utilizado para llevar a cabo esta técnica es la ultracentrífuga. Una ultracentrífuga es un dispositivo especializado que puede generar fuerzas centrífugas de hasta cientos de miles de veces la gravedad terrestre (g). Estas fuerzas se logran mediante la rotación de muestras a velocidades extremadamente altas, que pueden superar las 100,000 revoluciones por minuto (rpm). Durante el proceso de ultracentrifugación, las muestras se colocan en tubos o frascos especiales que se insertan en el rotor de la ultracentrífuga. Al girar, las partículas en la muestra experimentan una fuerza centrífuga que las empuja hacia el exterior del rotor. Las partículas más densas y grandes se sedimentan más rápidamente y se acumulan en el fondo del tubo, mientras que las partículas más ligeras y pequeñas permanecen en suspensión o se sedimentan más lentamente.

La unidad dispone actualmente de un rotor tipo 70Ti para la ultracentrífuga.

## Otros equipos disponibles en la Unidad.

### Equipo de fotodocumentación Molecular Imager Chemidoc MP

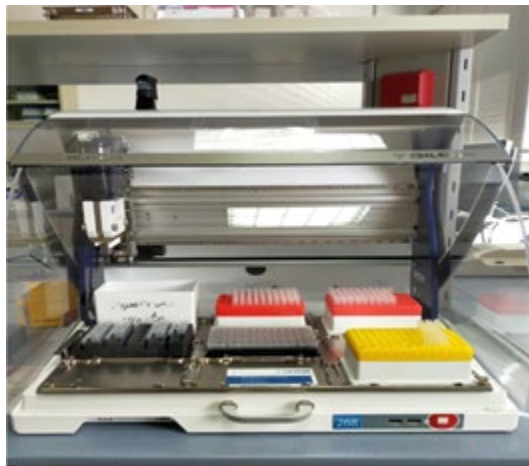


Equipo para toma de imágenes de fluorescencia de geles y membranas de DNA, RNA y proteínas, placas multipocillo.

Aplicaciones:

- Detección y cuantificación de ácidos nucleicos y proteínas marcados con fluorescencia presentes en soportes sólidos o en disolución como membranas, geles o placas de distintos tipos.

### ESTACIÓN DE PIPETEO PIPETMAX (GILSON).



Equipo de pipeteo automatizado para el procesamiento eficiente de ensayos biológicos que requieran un elevado número de pasos de pipeteo. Por ejemplo, ensayos que requieran rellenar placas multipocillo como PCR en tiempo Real o ensayos tipo ELISA. Mediante un software específico en el ordenador del equipo, se pueden configurar distintos protocolos de pipeteo en placas multipocillo.

### Otros equipos accesorios de la Unidad de Genómica:

- Centrífuga refrigerada modelo 5415R (Eppendorf).
- Congelador de -86 °C NUAIRE de 483l.
- Termobloque modelo Accublock (labnet).
- Software específico para diseño de oligonucleótidos de PCR y sondas taqman.

-Software Acclaro para corregir la contaminación por DNA genómico y otros componentes de la extracción.

-Megafuge ST Plus Series Centrifuge. (Thermo Scientific).