



A Better Choice of Flow Cytometer

Glenn Yang
Product manager
Cell-bio biotechnology
www.cell-bio.com.tw
glenn.cellbio@gmail.com

The screenshot shows a website header with a blue navigation bar containing Chinese text and English links. Below the header, there's a large advertisement for a Sony Cell Sorter SH800. The ad includes the Sony logo, the product name, and a small image of the equipment. At the bottom of the page, there's a dark blue footer with a website URL and a slogan.

臺灣生技科技股份有限公司
www.cell-bio.com.tw

SONY
Cell Sorter SH800

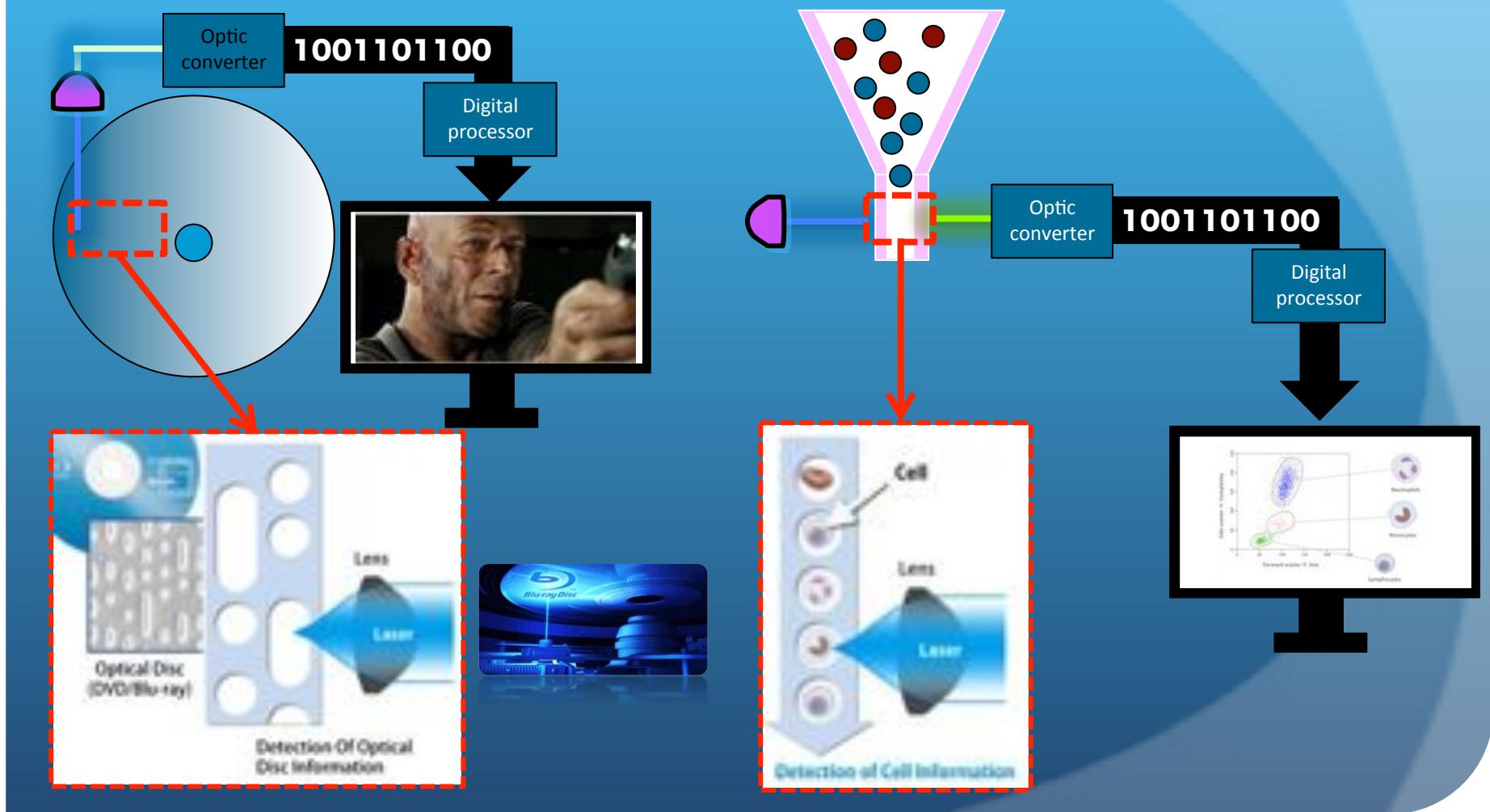
晶片式全自動細胞分選儀

facebook

<http://www.cell-bio.com.tw>

THINKING AHEAD
MOVING FORWARD

光碟讀取技術與流式細胞儀的讀取方式



2010年，SONY收購美國流式製造商 iCyt Mission Technology, 正式進軍流式市場



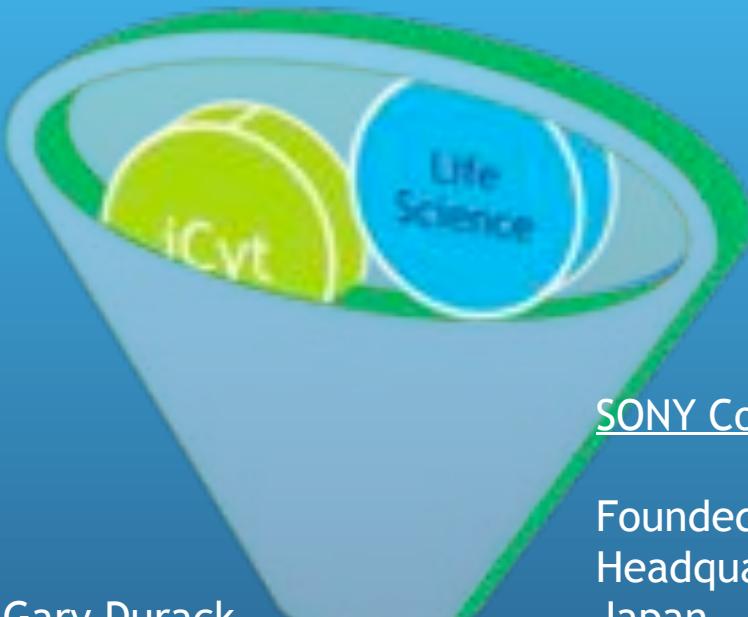
iCyt Mission Technologies

Founded: 1995

Headquarters: Champaign, IL

Founder, President, and CEO: Gary Durack

Technologies: 4-head sorting, laser modulation



SONY Corp of America

Founded: 1946

Headquarters: Shinagawa, Japan

EVP SONY: Keiji Kimura

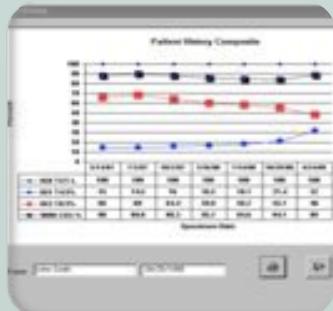
Technologies: CD, DVD, Blu-Ray

2010: iCyt becomes
a SONY Group Company

關於iCyt Mission Technology 擁有15年輝煌歷史的流式製造商



Gary Durack



1995~2002

- Cytometry Service Inc
- Development project for major flow cytometer on market

2002~2005

- Change name to iCyt
- Tailor made industrial cell sorter
- Laser replacement
- Development project for major flow cytometer on market

2005~2007

- Develop of HAPS technology
- First commercial instrument the iCyt Reflection

2007~2010

- Develop of Synergy HAPS cell sorter
- Develop of cell analyser

2010~

- Acquired by SONY
- Commercialized Cell analyzer ec800
- Commercialized Cell sorter Synergy Sy3200
- More...

SONY Biotechnology 高階流式細胞分選儀產品



SONY iCyt SY3200 頂級並聯式流式細胞分選儀

真正創新的並聯式細胞分選儀SONY iCyt SY3200，可在相同硬體架構下，並聯安裝2個分選模組，進行8向高通量多工分選，搭配整合式生物安全櫃設計，提供業界最大無菌操作空間。 SY3200採用Piezo motor數位控制，讓分選調校更精準更輕鬆，加上創新的專利光路，大幅提升雷射分離及螢光敏感度，在SONY強大的電子處理器加持下，更實現多方登入遠端遙控的自動化分選可能，SY3200將提供您無與倫比的分選體驗！

SONY Biotechnology 高階流式細胞分選儀產品



iCyt Synergy

Location

540 First Avenue
NYU Langone Medical Center
Smilow Building 10006
Phone: 212-263-5907



The image displays the NYU Langone Medical Center logo, featuring a circular emblem with a stylized 'N' and 'Y' intertwined, followed by the text "NYU Langone MEDICAL CENTER".



Yale SCHOOL OF MEDICINE
LABORATORY MEDICINE

Cell Sorter Core Facility



The image shows three men in a laboratory or office setting. Two men are seated, facing each other, while a third man stands to the right, looking towards the others. They appear to be engaged in a discussion or presentation.



UNC
SCHOOL OF MEDICINE

Department of Microbiology and Immunology
Flow Cytometry Core Facility

directories | maps & direc

Amgen Corporation
California Institute of Technology Pasadena,
Case Western Reserve University
East Virginia Medical School
IUPUI
Institute for Genomic Biology
La Jolla Bioengineering Institute
Louisiana State University
NIH-Institute on Aging
Nevada Cancer Institute
New York University
The Ohio State University
Princeton University
Purdue University
St. Jude Children's Hospital
University of Arizona
University of Illinois
University of North Carolina
University of Virginia
Washington University

SONY流式細胞分選儀產品



SONY SH800 新世代流式細胞分析分選儀

維持SONY一貫的創新思維，SH800以專利的藍光讀取技術為核心架構，配合革命性分選晶片，將傳統分選設備繁複的光路及液流校正化整為零，只需10分鐘，全自動系統最佳化即可完成，無須專人伺候，人人都能做分選！僅傳統分選儀1/3體積的精緻外型下，可安裝4支雷射，同時分析8個參數共6色螢光，並可提供10000eps的雙向分選，絕對是您細胞分析分選應用不容錯過的最佳選擇！



SONY SH800 全自動晶片式細胞分選儀

SH800具備完全自動化的雷射光軸調節和校正細胞分選time delay功能，無需專業操作者進行複雜的設置和調整。這種快捷且簡單的設置可以顯著提高研究人員的工作效率。

與使用價格昂貴的、固定的石英零部件且每次使用完畢都需進行清洗的常規細胞分選儀不同，SH800的測量通道中採用一種新研發的塑料細胞分選芯片。該芯片的生產基於索尼在光盤領域研發的精密加工技術。SH800還可以讓操作者根據待測細胞的類型及大小而選擇不同噴嘴直徑、易於更換和安裝的芯片。

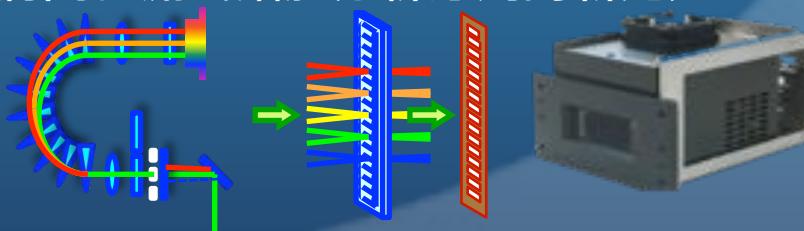
SH800採用了集成激光技術和簡潔的結構設計，外形緊湊，其尺寸僅為同類常規儀器的三分之一（寬55mm x深55cm x高72cm）。而且，相比現有的同類器材，SH800在價格上更具競爭力，它擁有實現基本細胞分選功能所需使用的最多四束激光和六色熒光的檢測功能。索尼將此用戶友好型“個人細胞分析儀”推介給來自各領域的消費者，包括那些之前單純因費用開支以及專業要求等方面因素而未配備流式細胞分析儀的個人實驗室。

SONY流式細胞分析儀產品 (2013五月上市！)



SONY SP6800 光譜掃描流式細胞分析儀

卓越科技，定義未來！業界唯一雙雷射15色無須螢光補償，沒有染劑限制的次世代流式細胞儀SONY SP6800，以突破傳統的全光譜掃描技術，獲取樣本500~800nm所有螢光訊息，搭配SONY超高速訊號處理及專利逆捲積運算，即使光譜重疊，依然輕鬆拆解，清晰呈現細節！超越螢光干擾的極限，SONY SP6800將開啓流式細胞分析應用的新紀元！



SONY Biotechnology流式細胞分析儀產品

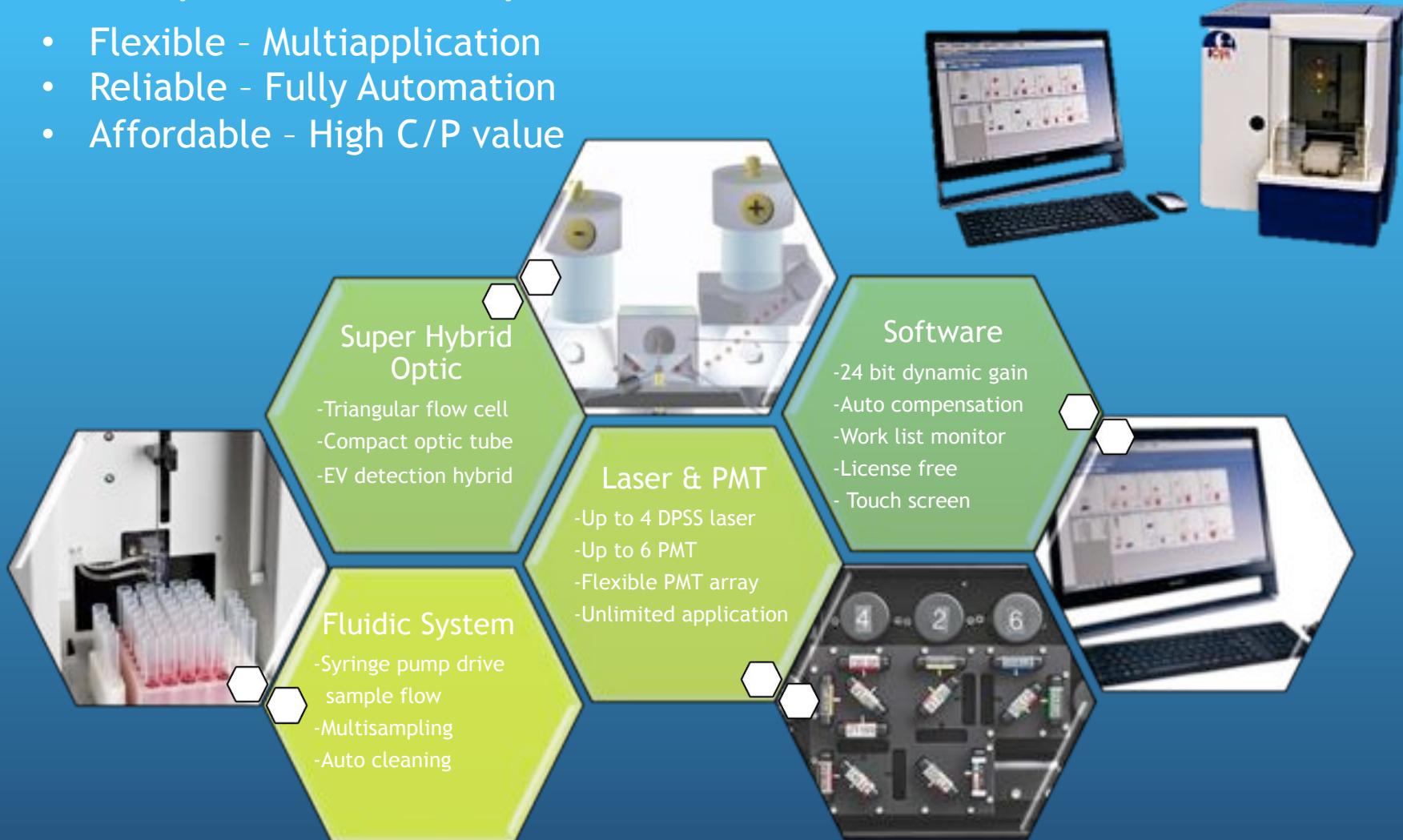


SONY iCyt EC800 阻抗式自動流式細胞分析儀

自動分析，自動清洗，無人職守的高通量流式細胞分析時代來臨！SONY iCyt EC800是業界唯一整合體積量測黃金標準-EV電阻抗模組-的流式細胞儀，能進行細胞絕對體積及絕對計數分析，藉由EV參數換算細胞螢光濃度及螢光表面密度的全新數據，將重新定義螢光分析的新思維！用戶自訂的彈性光路，搭配友善的操作界面及高度自動化的上樣方式，讓您輕鬆進行多參數高通量流式分析！

Concept of SONY iCyt ec800

- Flexible - Multiapplication
- Reliable - Fully Automation
- Affordable - High C/P value



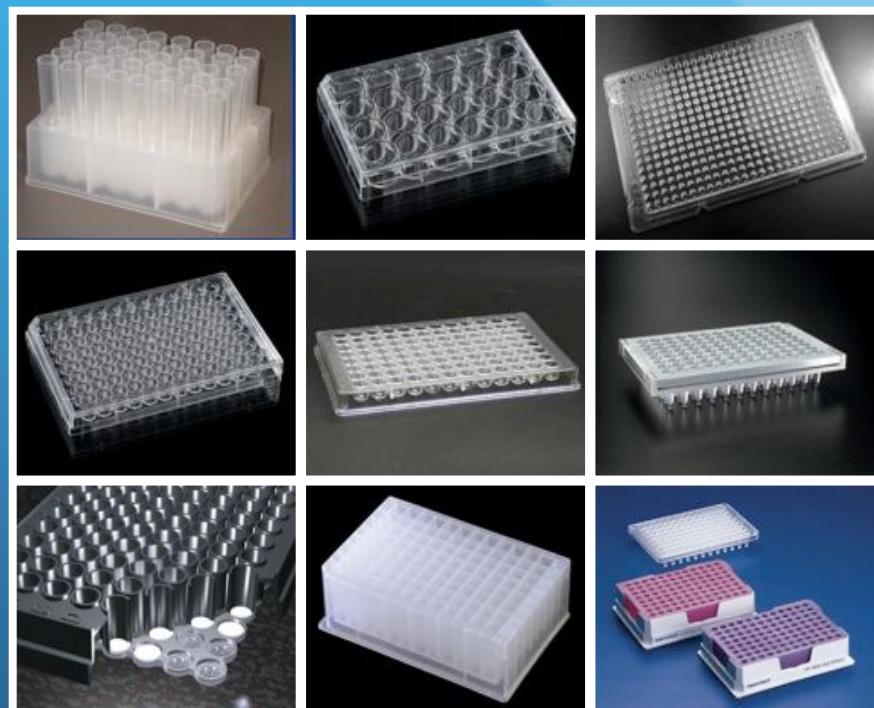
特點一：全功能自動上樣

高精度幫浦注射上樣器

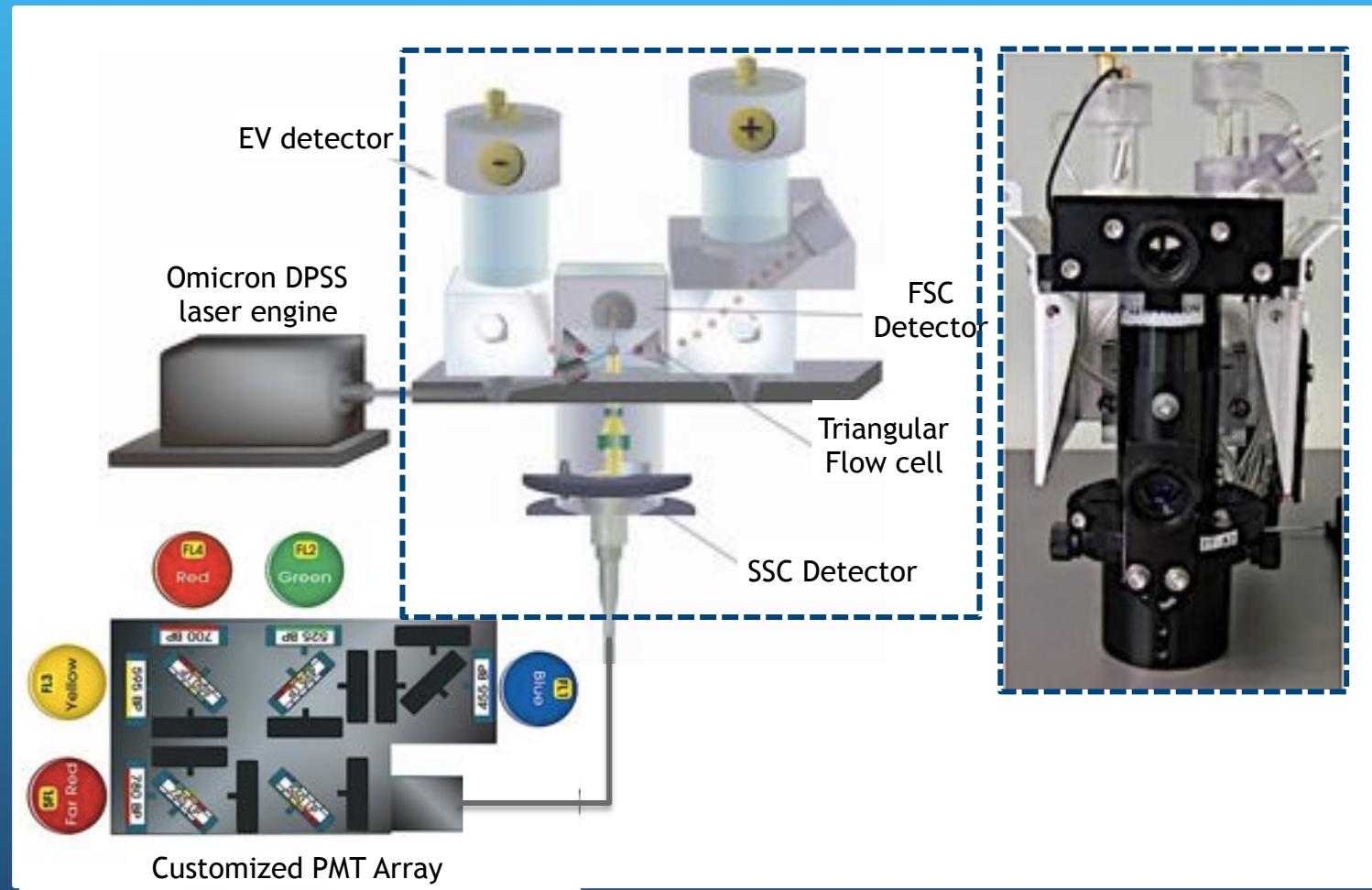


- 以高精度注射器體取定量體積的樣本，分析的同時，以cell count/ μL 的方式運算絕對細胞濃度！無須額外添加標準品。
- 無段式上樣流速，每分鐘5~200 μL
- 樣本預混及自動加藥，適合高通量樣本分析。

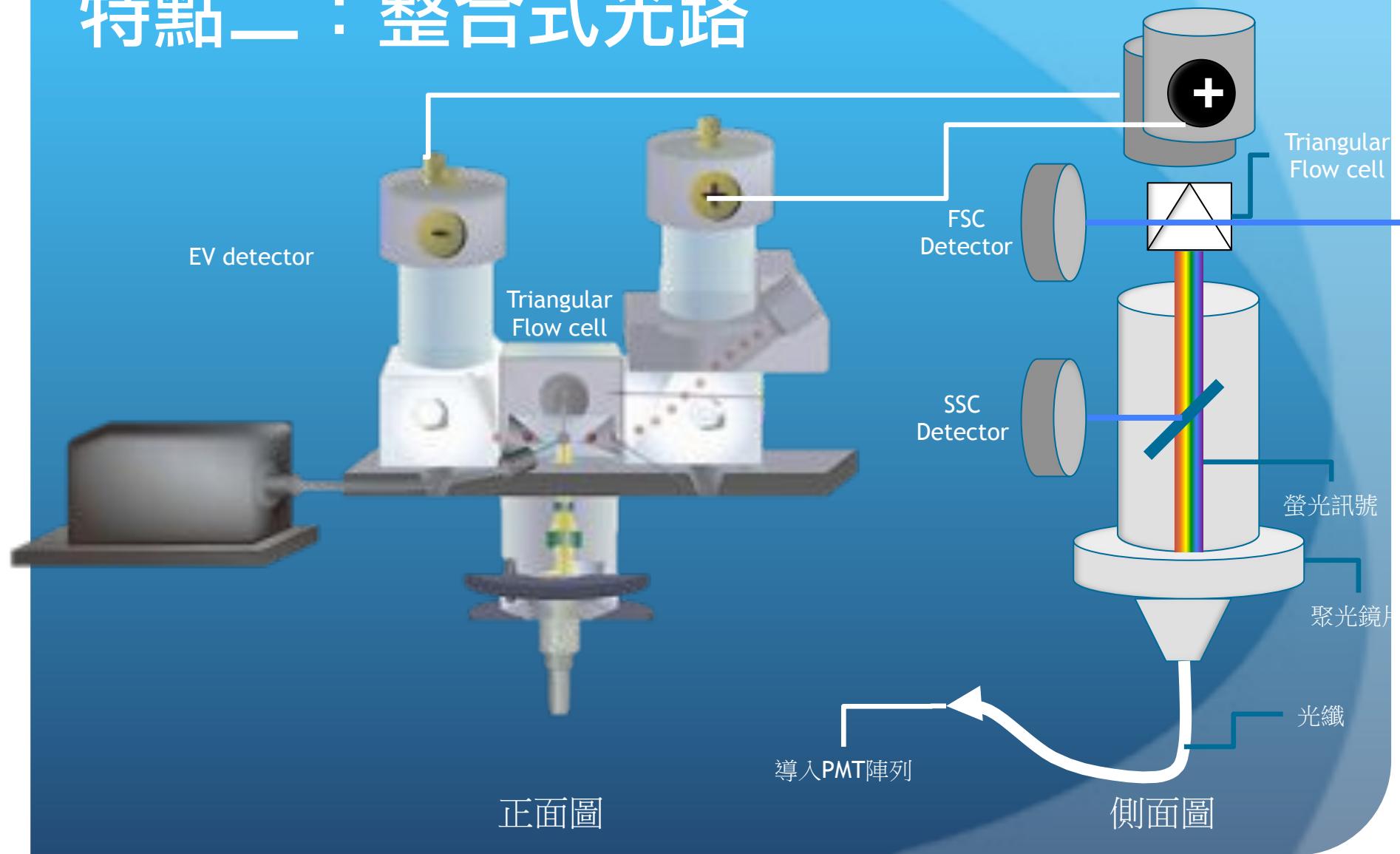
特點一：全功能自動上樣台



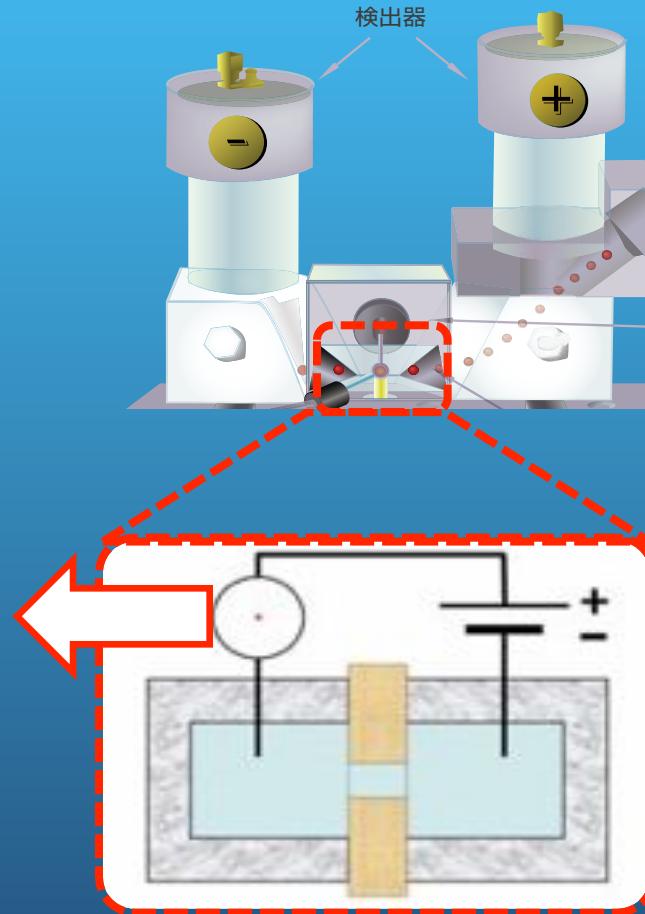
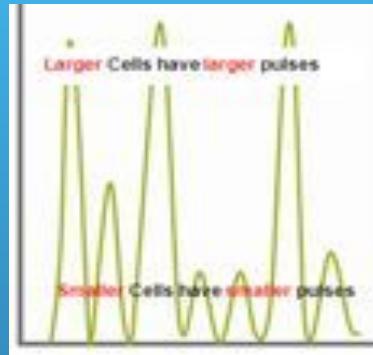
特點二：整合式光路



特點二：整合式光路



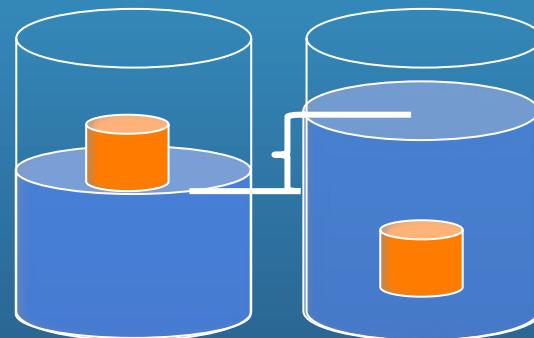
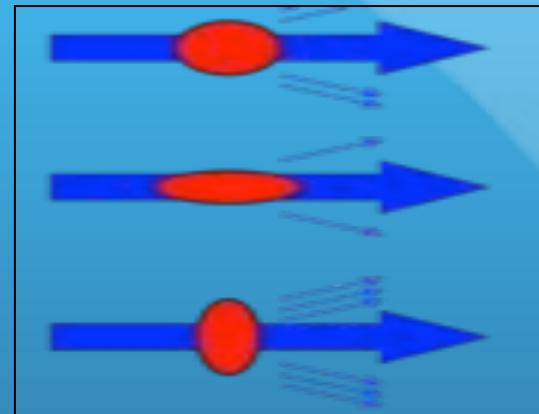
EV 檢查原理



我們在流動室內建立一個電流迴路，當流動室中只有液體沒有顆粒物質時，這個迴路是穩定的，電子流動是順暢的，當有顆粒進入流動室時（例如細胞），就會阻礙了這些電子的流動，可視為電阻，這時回到末端電極的電子會降低，當顆粒越大，佔據的體積越多，相對的電阻就越大，換算之後，便可以呈現顆粒相對體積，面積以及直徑，這個技術已經存在市場很久了，最著名的產品就是BeckMan Coulter的Coulter Counter，而EC800是目前業界唯一將EV放入flow的機型。

EV 與FSC的差異

FSC是指顆粒被雷射照射後產生的前方散射訊號，理論上，顆粒越大，其散射訊號越強，但是這是在細胞與雷射交會的角度與空間方向一致的前提下，當流速不穩（例如團塊或雜訊太多）時，便會產生較大的變異，也因此無法忠實呈現顆粒大小，反觀EV，因為是檢查顆粒所產生的電阻訊號，並非是光學訊號，對於細胞體積極大小的描繪會更加精準，不易受到液流和光學太大的影響。



EV 帶來的好處---範例（一）

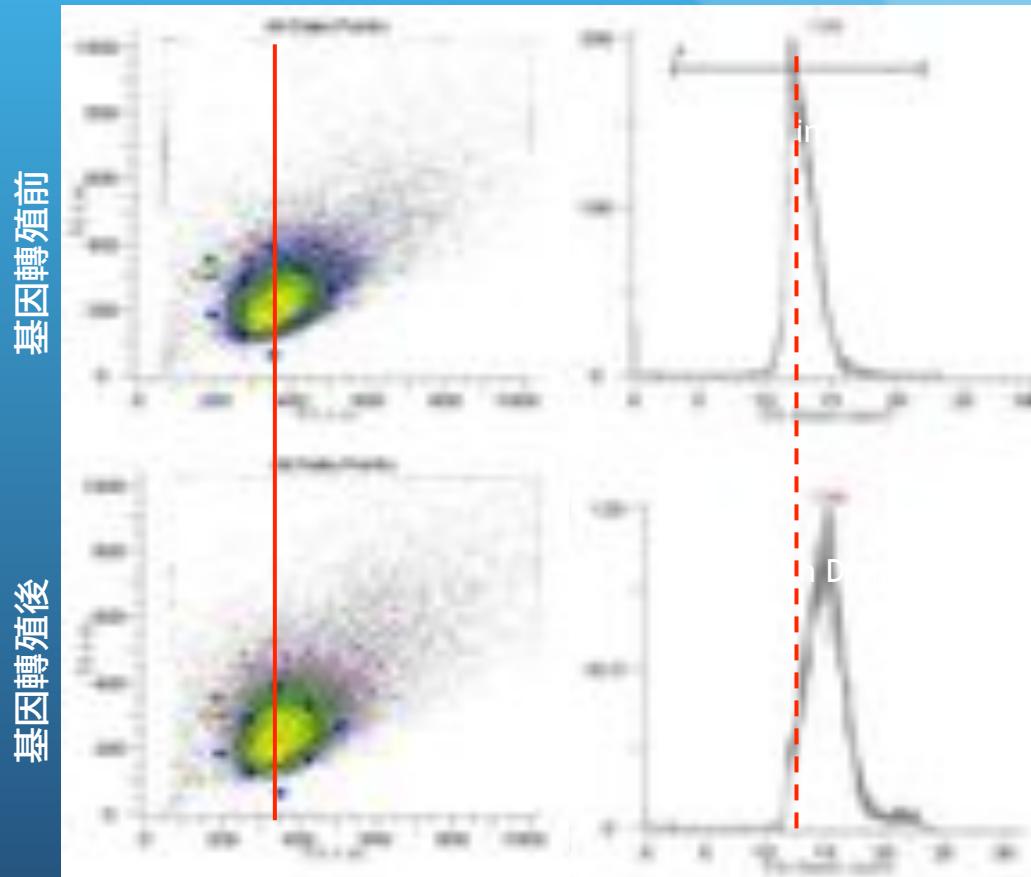
精確量測細胞大小

樣本來源：中研院生醫所

檢測目標：檢查基因轉殖前後
細胞大小是否變異

檢測結果：

基因轉殖前後，在FSC圖譜上無法發現細胞大小變異，紅線標示該細胞群FSC中心位置，轉殖前後位移動，而EV測得轉殖前細胞直徑為12.5微米，轉殖後細胞直徑達到15微米，差異2.5微米，紅虛線為轉殖前EV中心位置，轉殖後明顯右移。



EV 帶來的好處---範例（一）

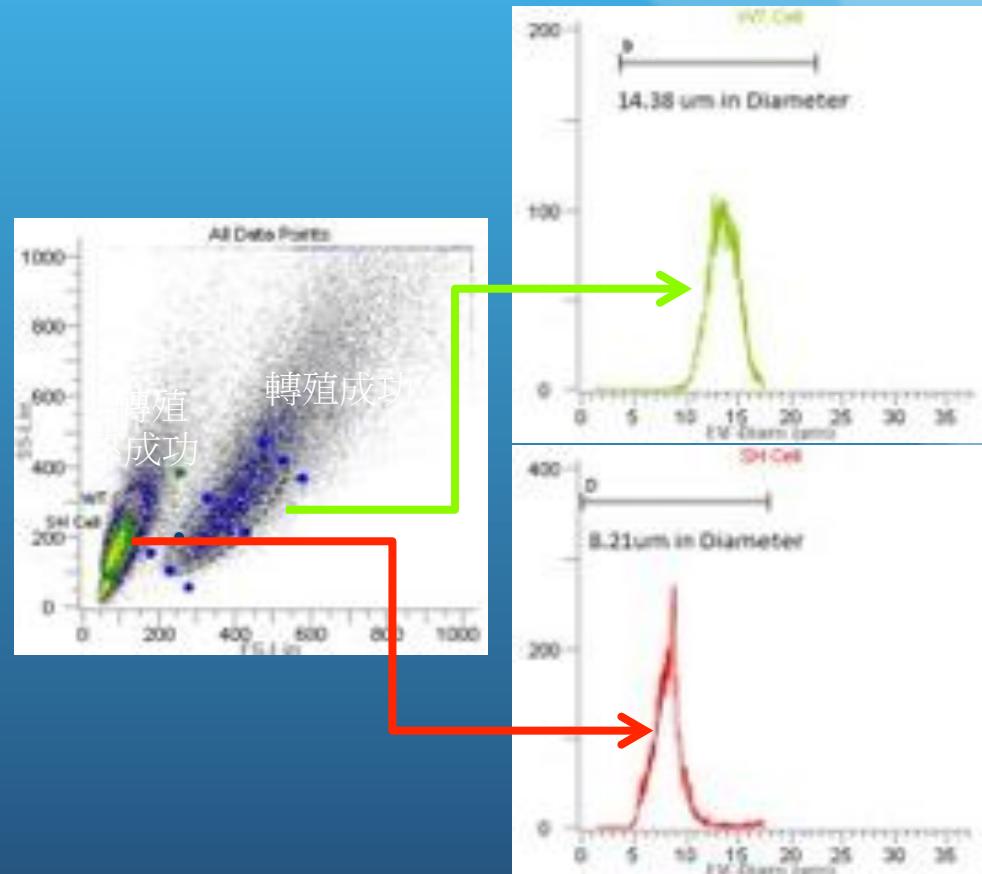
精確量測細胞大小

樣本來源：中研院生醫所

檢測目標：檢查基因轉殖造成
細胞大小變異

檢測結果：

基因轉殖前後，在FSC圖譜上
發現細胞大小變異，但是無法
得知實際大小，該單位研究人
員目前是以顯微鏡拍照並利用
軟體手動量測細胞直徑，耗時
費工，我們利用EV偵測器直接
提供兩種細胞的絕對大小，用
戶相當滿意。



EV 帶來的好處---範例（二）

相較FSC，提供更清楚的顆粒分群，

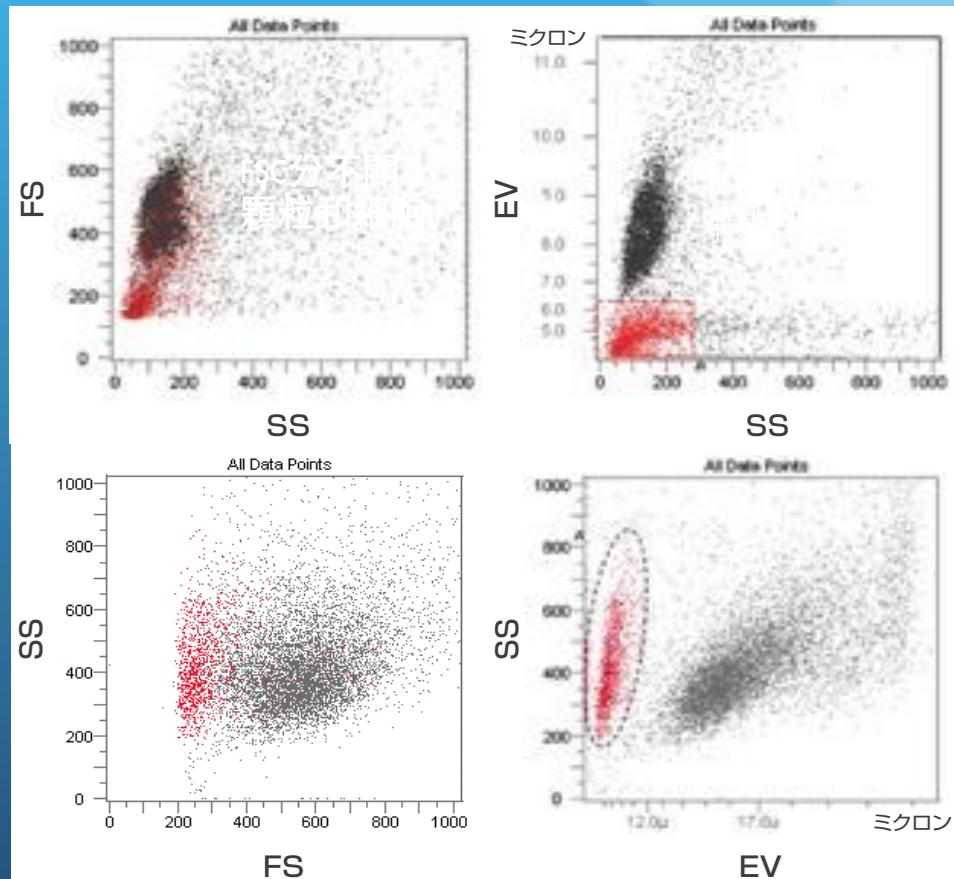
樣本來源：SONY Biotechnology

檢測目標：將細胞液中摻入大量小顆粒雜質，分別以FSC和EV檢查，是否能分開兩族群

檢測結果：

不論是貼覆生長細胞株，或是懸浮細胞株，FSC偵測器都無法將細胞（黑色點）與雜質（紅色點）明顯分開，反觀EV偵測器，能有效的將這兩種大小不同的顆粒明顯分群，相較FSC，EV能夠提供更清楚的細胞分群。。

基因轉殖前
基因轉殖後



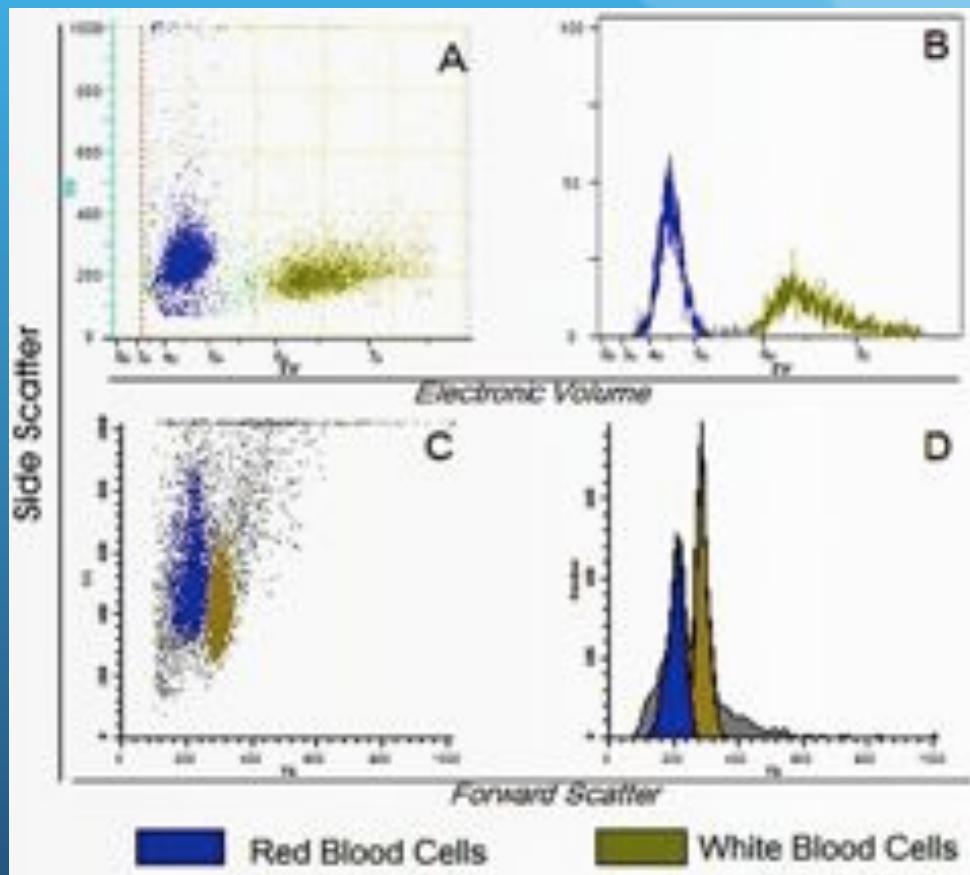
EV 帶來的好處---範例（二） 相較FSC，提供更清楚的顆粒分群，

樣本來源：SONY Biotechnology

檢測目標：將白血球與紅血球
混在一起，分別以FSC和EV檢查，
是否能分開兩族群

檢測結果：
EV偵測器能有效的將這兩種大
小不同的血球明顯分群，相較
FSC，EV能夠提供更清楚的細胞
分群。

基因轉殖前
基因轉殖後



EV 帶來的好處---範例（二）

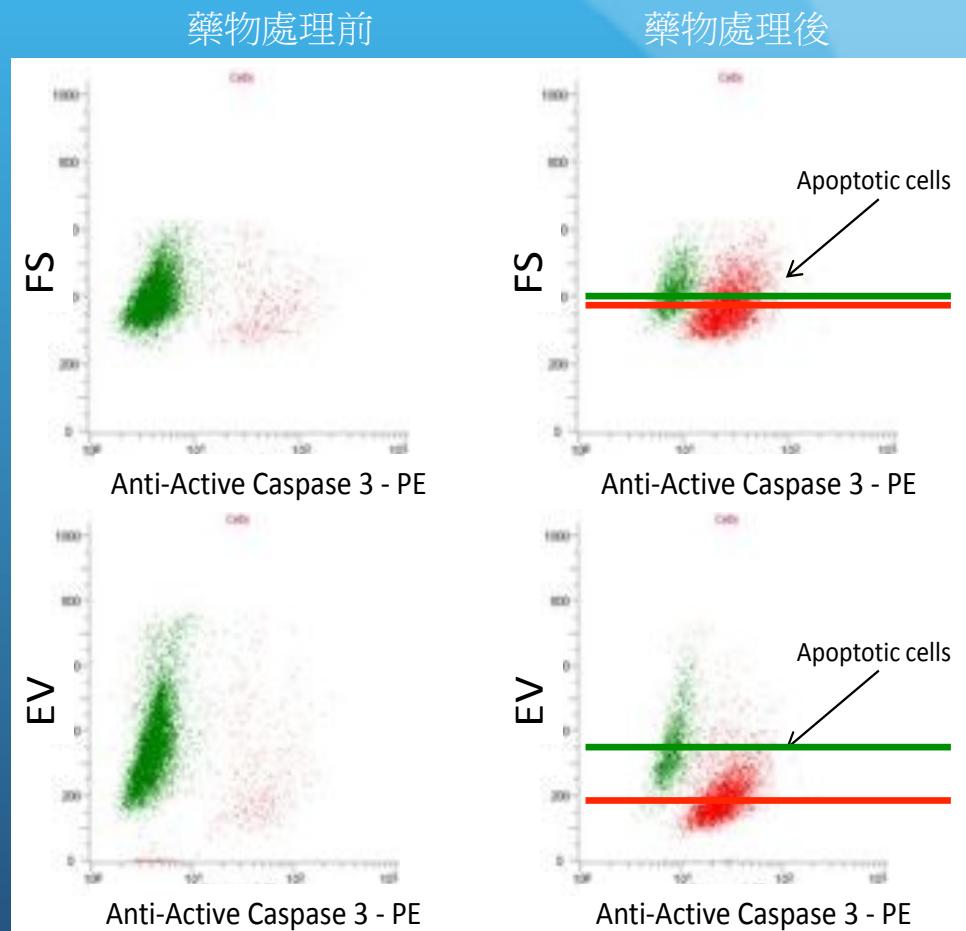
相較FSC，提供更清楚的顆粒分群

樣本來源：SONY Biotechnology

檢測目標：凋亡細胞與正常細胞大小的差異

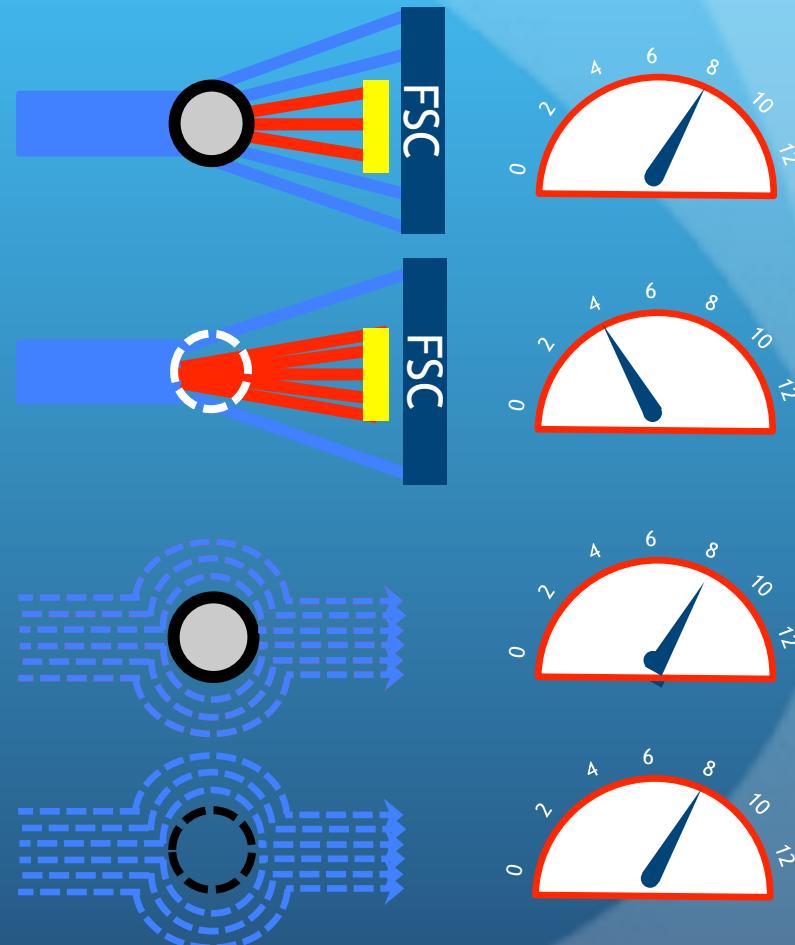
檢測結果：

細胞凋亡後期時，細胞會皺縮，造成體積變小，EV偵測器能有效的將這兩種大小不同的細胞明顯分群，相較FSC，EV能夠提供更清楚的細胞分群。



EV 帶來的好處---範例（三） 釐清FSC的訊號謬誤

FSC是指顆粒被雷射照射後產生的前方散射訊號，我們會在偵測器前方放置一個擋板（右圖黃色區域）阻斷直接穿透細胞的強光，僅收特定折射角度的訊號，已避免偵測器燒燬，這樣的設計對於細胞膜完整的正常細胞而言，前方散射光訊號可以相對反應細胞大小，但是如果細胞膜不完整（例如經過打孔固定的細胞），大部份的光會穿透細胞被擋板阻絕，僅有幾少數的光會散射道真側器，使訊號降的很低，讓人誤認為是雜訊，因而失去正確的圈選，反觀EV偵測器，不論細胞膜是否完整，都不影響電阻數據，能夠釐清傳統FSC訊號的謬誤。



EV 帶來的好處---範例（三）

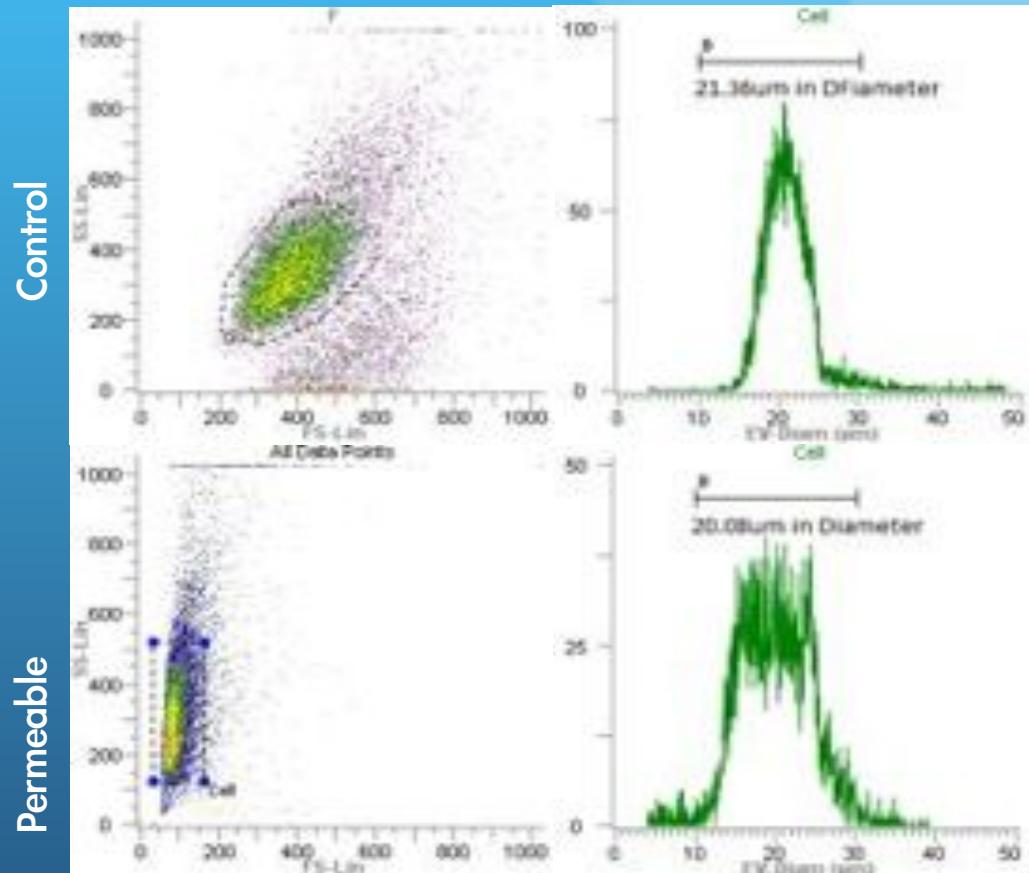
釐清FSC的訊號謬誤

樣本來源：台大醫學院8共

檢測目標：Saponin打孔的細胞
與正常細胞再FSC上的異同

檢測結果：

Saponin打孔的細胞由於細胞膜已經不完整，導致前方散射光訊號衰減，在散射光圖譜上可以明顯看見細胞族群向左方偏移，實驗者一直以為Saponin將他的細胞變成碎片了，殊不知這是FSC產生的謬誤！經過同時以EV偵測器檢查後發現，該碎片族群其實體積與正常細胞無異（皆為20微米左右），確認是細胞，應該圈選後進行分析。



EV 帶來的好處---範例（四） 更多元化的螢光分析參數

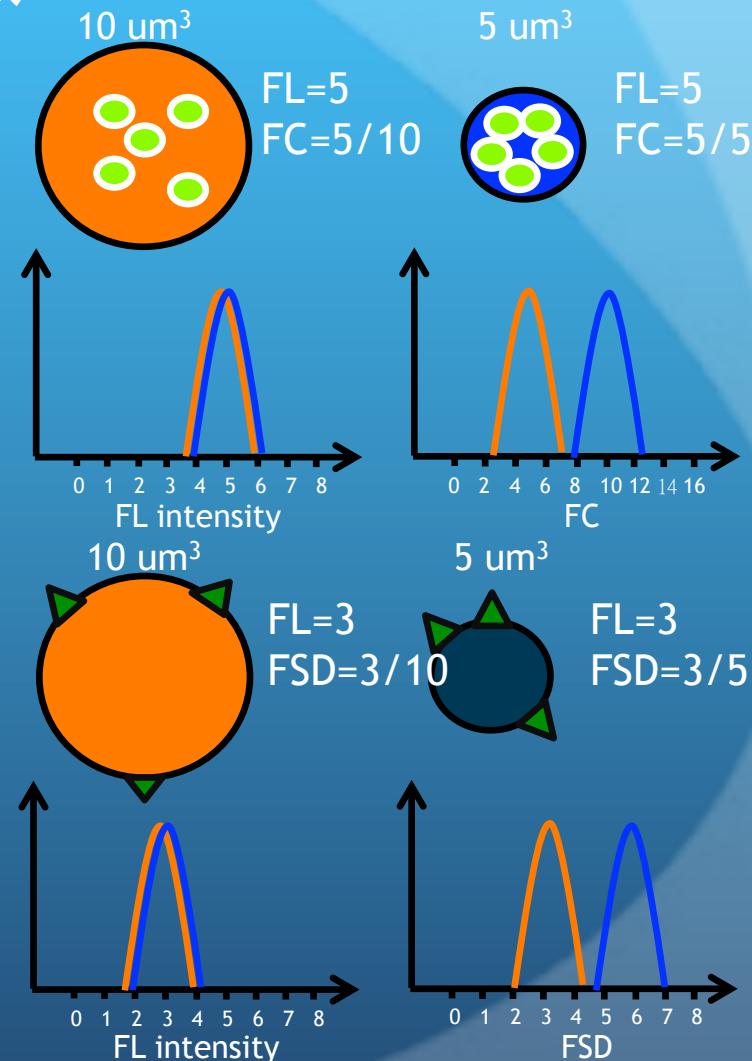
藉由EV偵測器提供的精確細胞體積，我們可以衍生出新的光參數：

- FC=Fluorescence Concentration

螢光濃度，指的是細胞螢光總強度除以細胞體積，藉由這個參數，我們可以釐清細胞體積與其螢光強度之間的關聯性，如右上圖顯示，若單就螢光總量而言，這兩個樣本都是5個螢光分子，並無明顯差異，然而體積卻相差兩倍，傳統只看螢光強度的分析方法，是無法解析這兩個截然不同生物特性的樣本，搭配EV偵測器以體積參數normalize後，結果會更為精確。

- FSD=Fluorescence Surface Density

螢光表面積密度，是以細胞螢光總強度除以細胞面積，分析概念同FC。



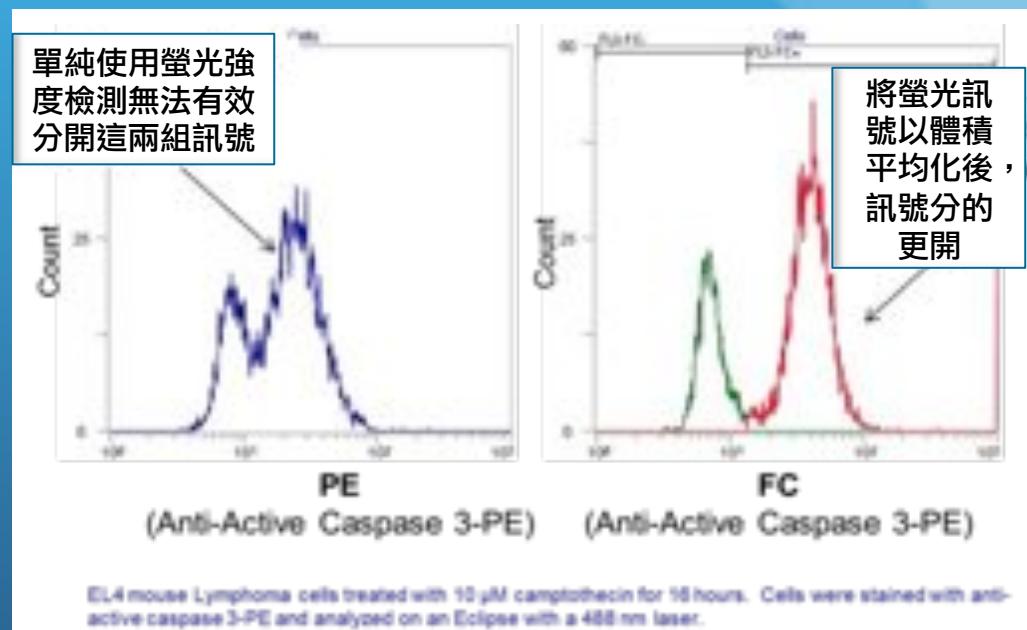
EV 帶來的好處---範例（四） 更多元化的螢光分析參數

樣本來源：SONY Biotechnology

檢測目標：凋亡細胞內Caspase 3的螢光強度變化

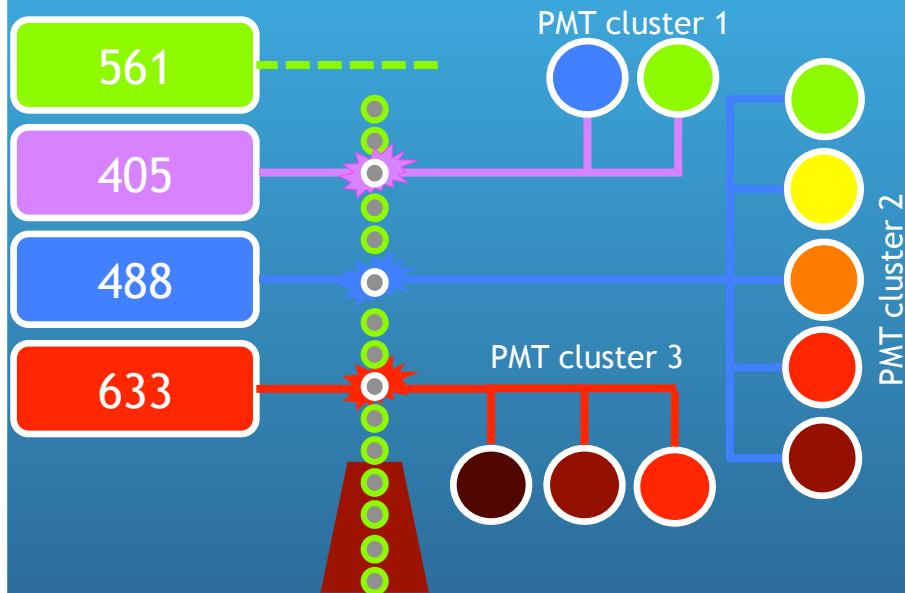
檢測結果：

經過藥物處理後，部份細胞開始進行細胞凋亡，並產Caspase-3凋亡水解酶，這是典型的凋亡反應。利用流式細胞儀可以檢查陽性細胞的比例，但是如果單純使用螢光強度檢測無法有效分開這兩組訊號（如右圖藍色線條），但是如果將螢光訊號以體積平均化後，訊號便可以分的更開，因為凋亡細胞的體積會縮小，藉由這個方法，便能提升訊號的準確率！



Other Flow cytometer's optic design

Parallel laser system



Purpose of this design :

- >6 Multi-color detection

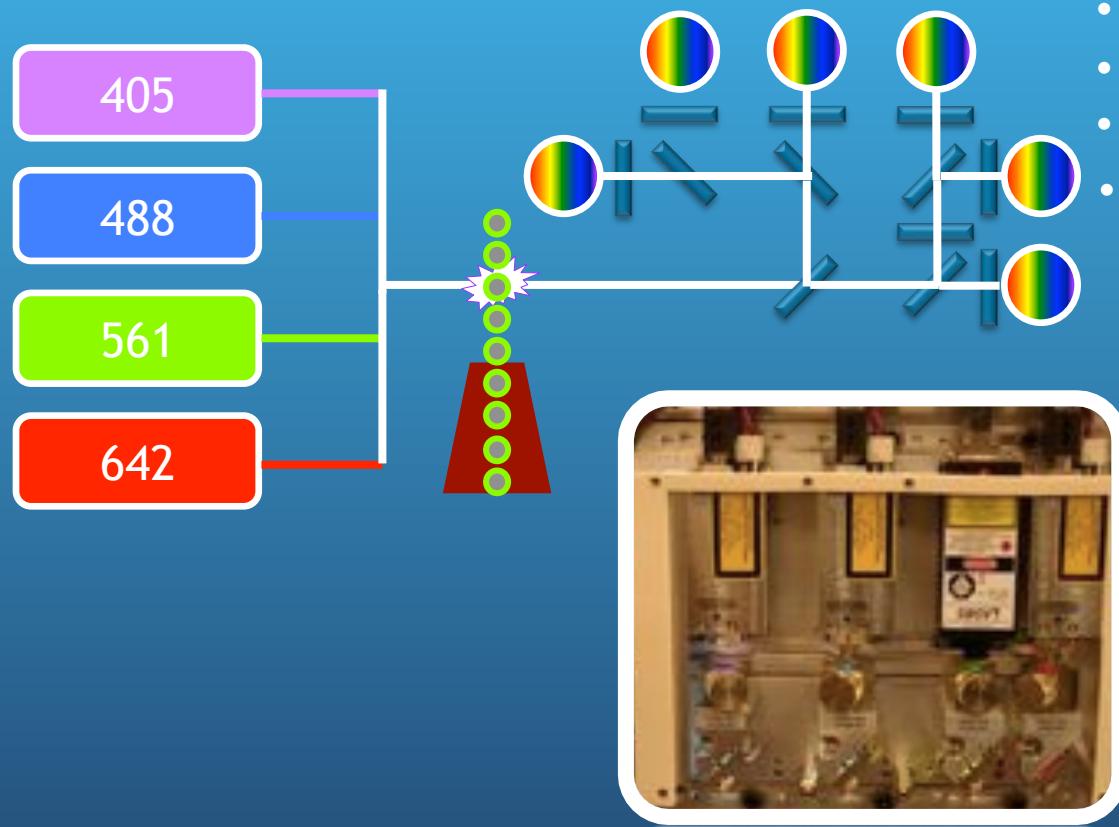
Trade off :

- Need larger space for laser arrangement.
- Need “Time-Delay” alignment
- Fixed application for each laser line.

Question : How many % of user on earth need >6 multi-color application ?
Answer : <5% in Taiwan . Only lymphocyte subset analyze might need >6 color

SONY ec800 Flow Cytometer

Co-Linear Laser optics with user configurable PMT Array

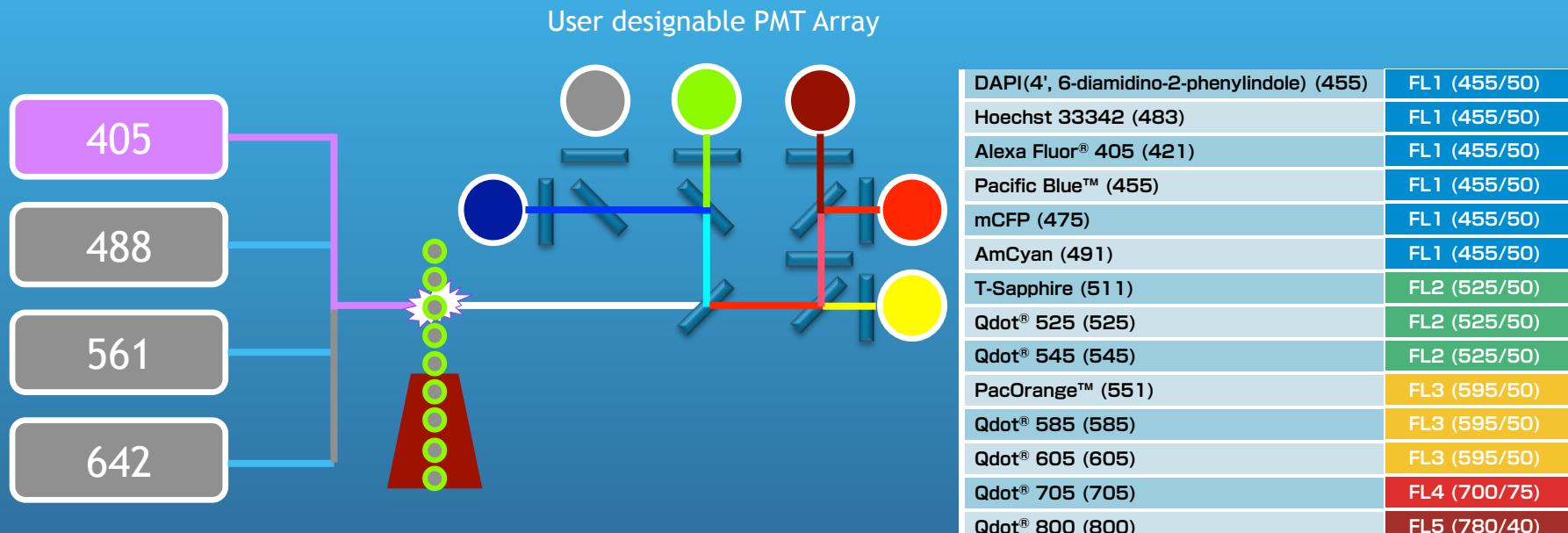


Benefit:

- More laser , more application:
- No limit detection of each laser
- User configurable PMT array
- Maximum 4 laser
 - 405nm 30mW
 - 488nm 25mW
 - 562nm 30mW
 - 642nm 30mW



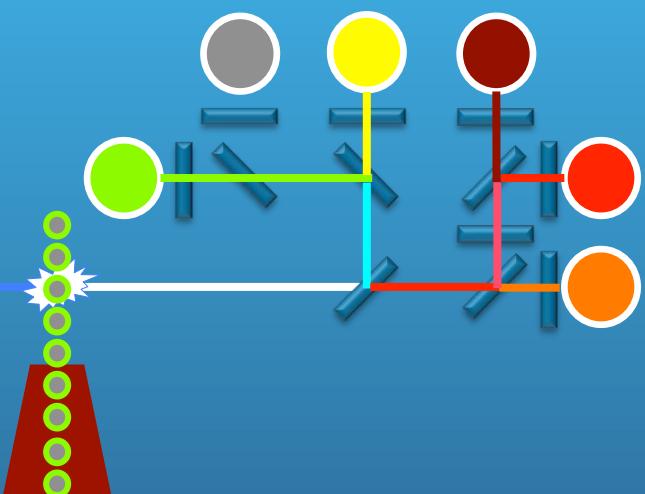
Flexible PMT array for all application



Flexible PMT array for all application

User designable PMT Array

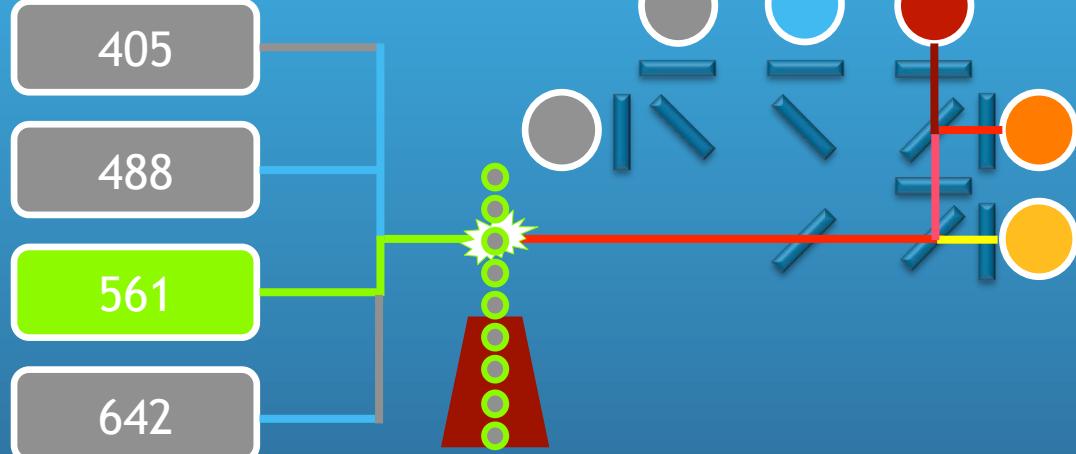
405
488
561
642



EGFP(Enhanced green fluorescent protein)	FL1 (525/50)
CFSE (Carboxyloourescein Succinimidyl ester)	FL1 (525/50)
FITC (Flourescein isothiocynatate) (518)	FL1 (525/50)
Alexa Fluor® 488 (519)	FL1 (525/50)
EYFP(Enhanced Yellow flourescent protein)	FL1 (525/50)
mCitrine (529)	FL1 (525/50)
PE (R-Phycoerythrin) (575)	FL2 (585/40)
PE-Texas Red® (615)	FL3 (640/30)
PI (Propidium Iodide) (620)	FL3 (640/30)
7-AAD (7-Aminoactinomycin D) (647)	FL4 (700/75)
PE-Cy5 (667)	FL4 (700/75)
PerCP (Peridinin chlorophyll protein) (675)	FL4 (700/75)
PE-Cy5.5 (695)	FL4 (700/75)
PerCP-Cy5.5 (695)	FL4 (700/75)
PerCP-eFluor 710™ (710)	FL4 (700/75)
PE-Cy7 (774)	FL5 (780/40)

Flexible PMT array for all application

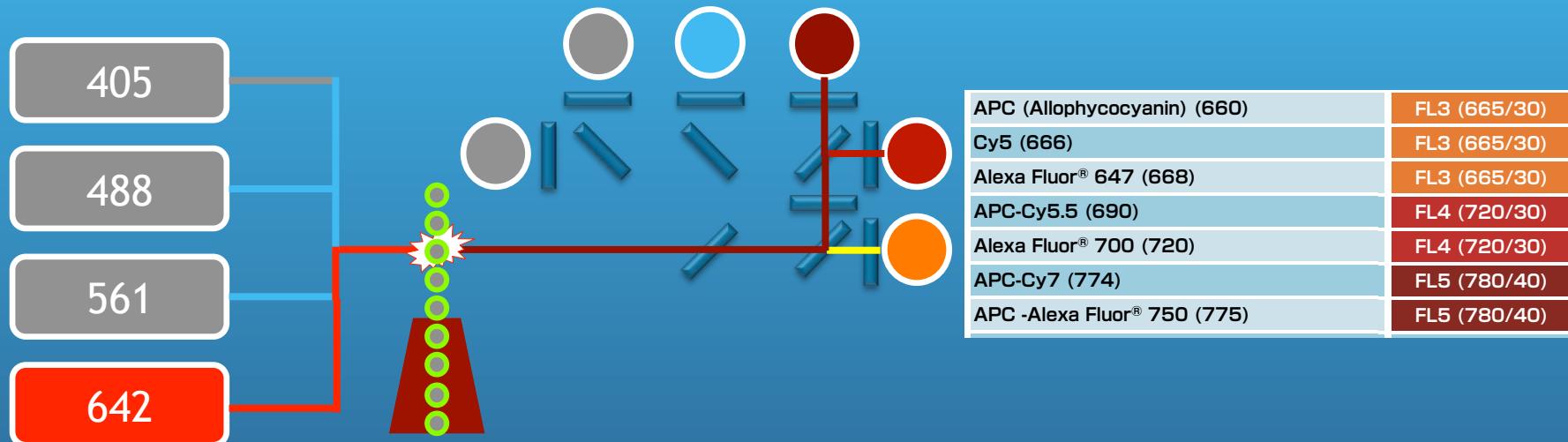
User designable PMT Array



mKO1	548	559
mOrange	548	562
mKO2	551	565
mOrange2	549	565
TurboRFP	553	574
DsRed	558	583
TagRFP	555	584
TagRFP-T	555	584
mApple	568	592
mStrawberry	574	596
mRFP1	584	607
mCherry	587	610
mKate2	588	635
Katushka	588	635
t-HcRed	590	637
ncRed	592	645
mPlum	590	649
eqFP650	592	650
mNeptune	600	650
Neptune	600	650
eqFP670	605	670

Flexible PMT array for all application

User designable PMT Array



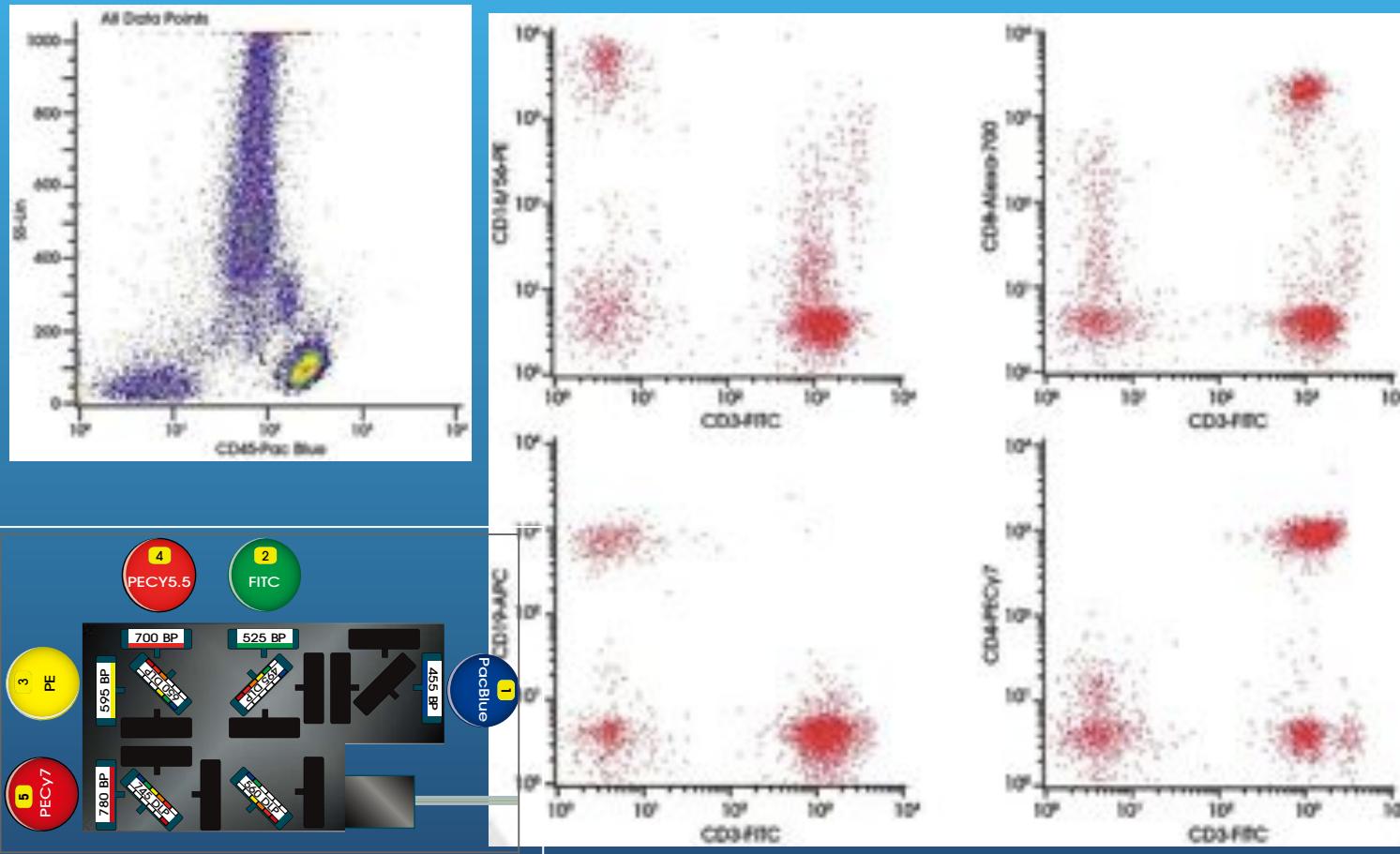
you to start your discovery today, while
planning for the future.



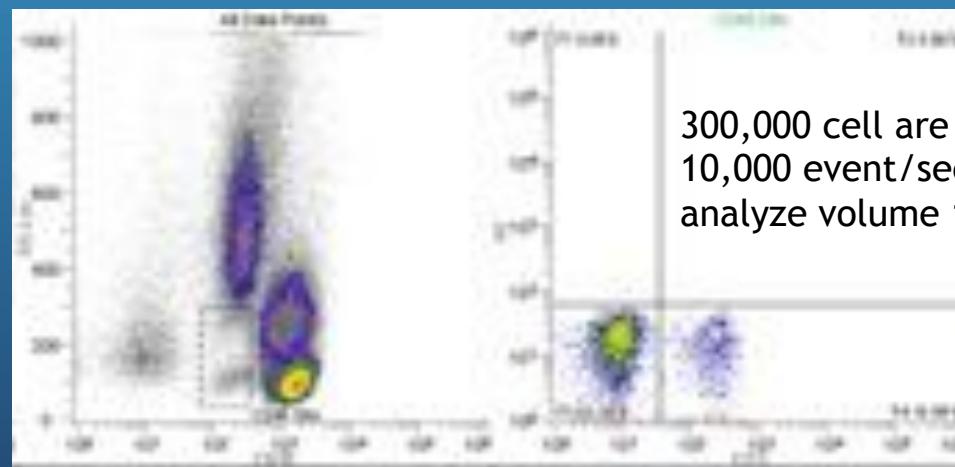
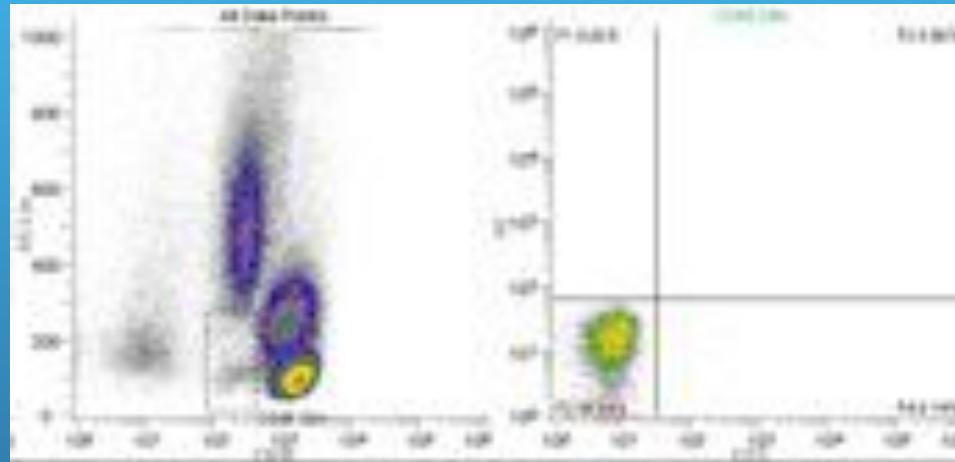
How can the Eclipse Expand Your Research Capabilities?



Immuno-phenotyping-5 color lymphocyte subset

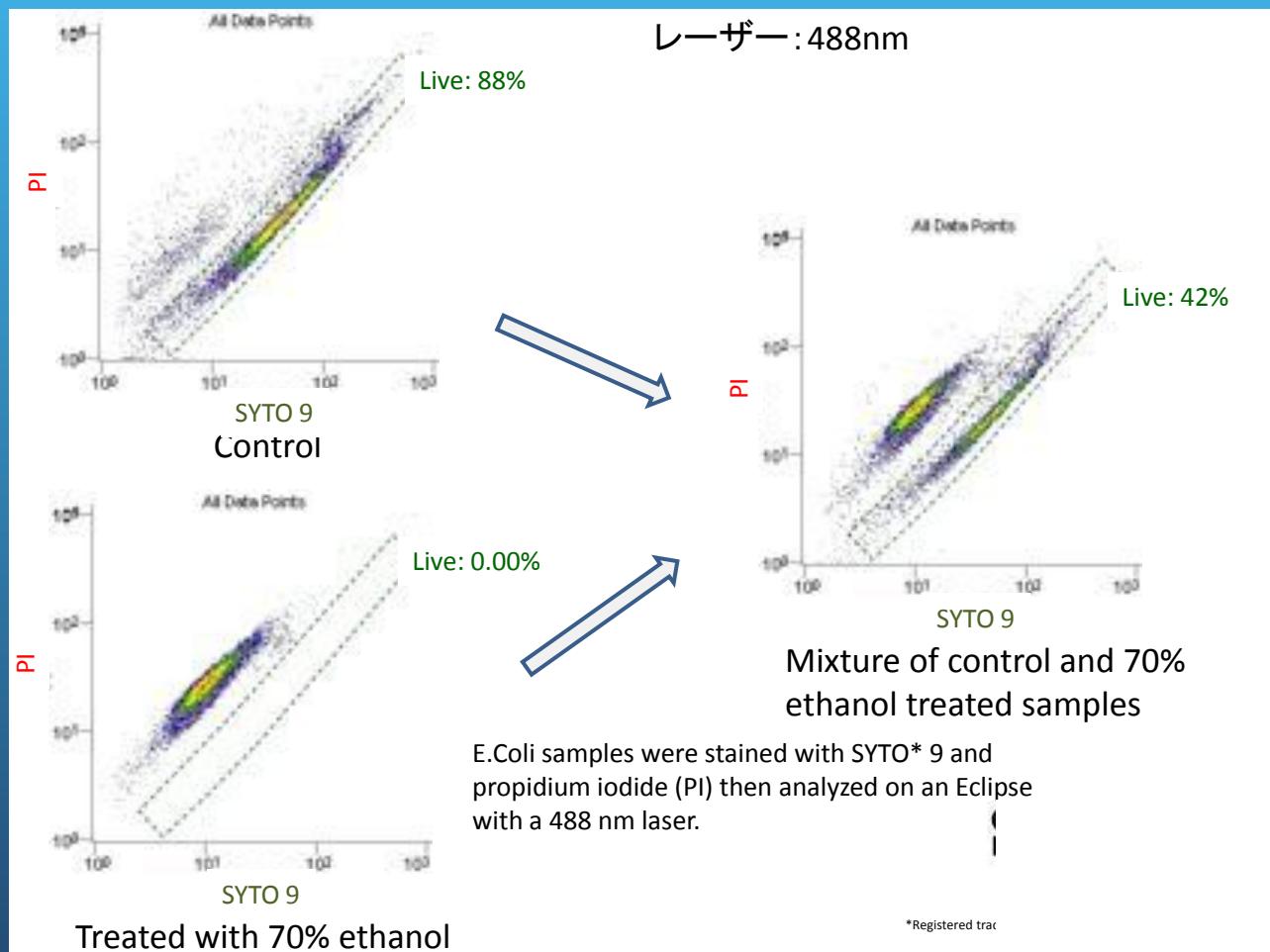


Immuno-phenotyping-3 color rare cell population analysis

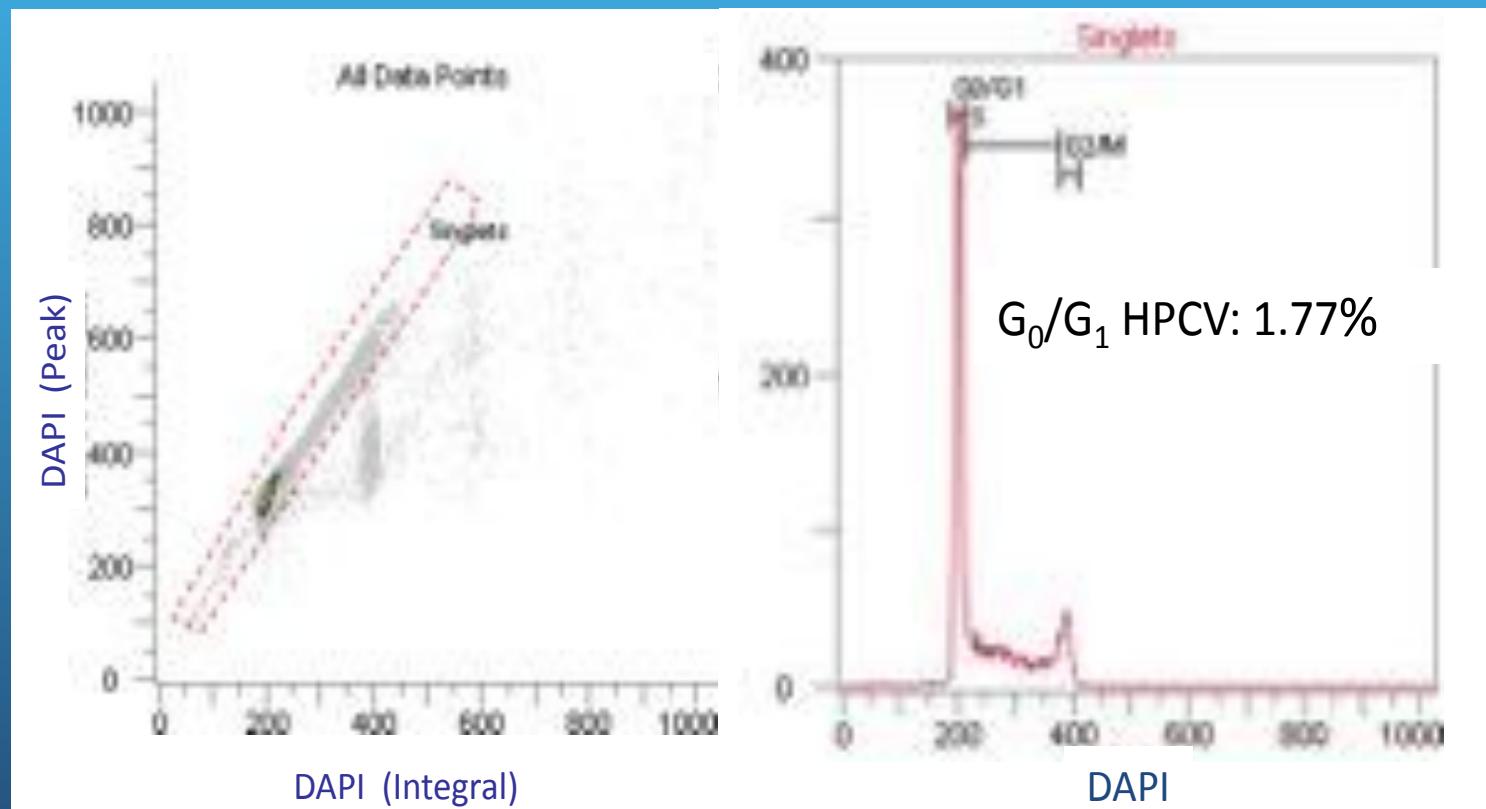


300,000 cell are acquired , at
10,000 event/sec event rate Total
analyze volume 100ul/sample

Bacterial Viability



Cell Cycle-DAPI or Hoechst with 405nm Violet laser



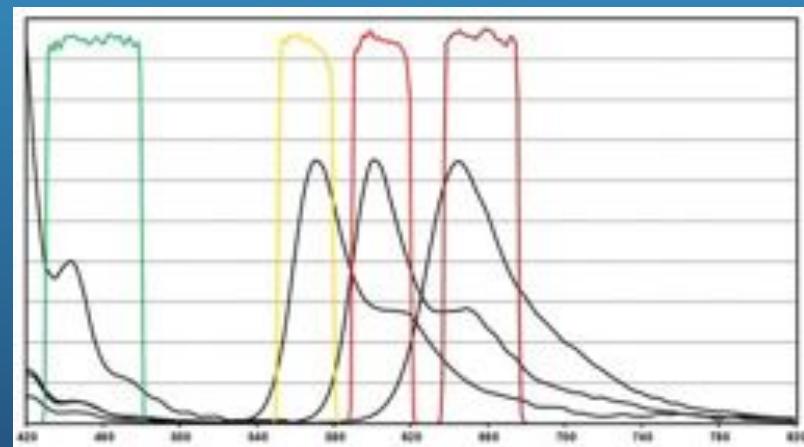
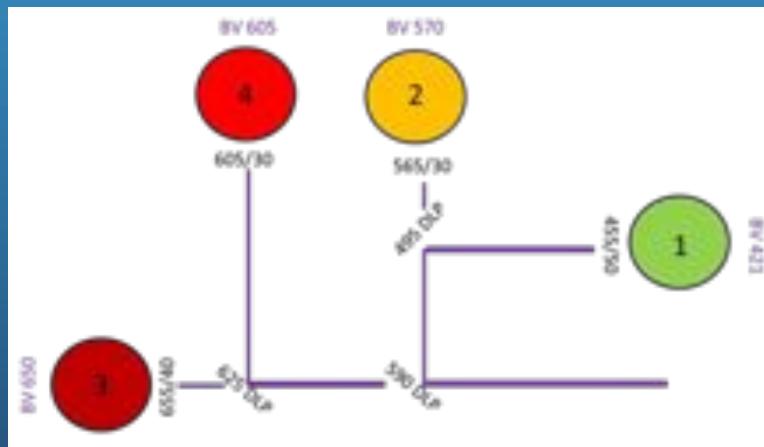
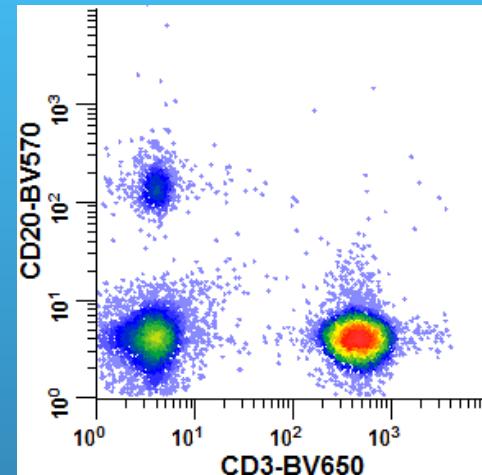
System Solutions – 405 nm

**Maximize the utility of your 405 laser
with four Brilliant Violet™
fluorochromes**

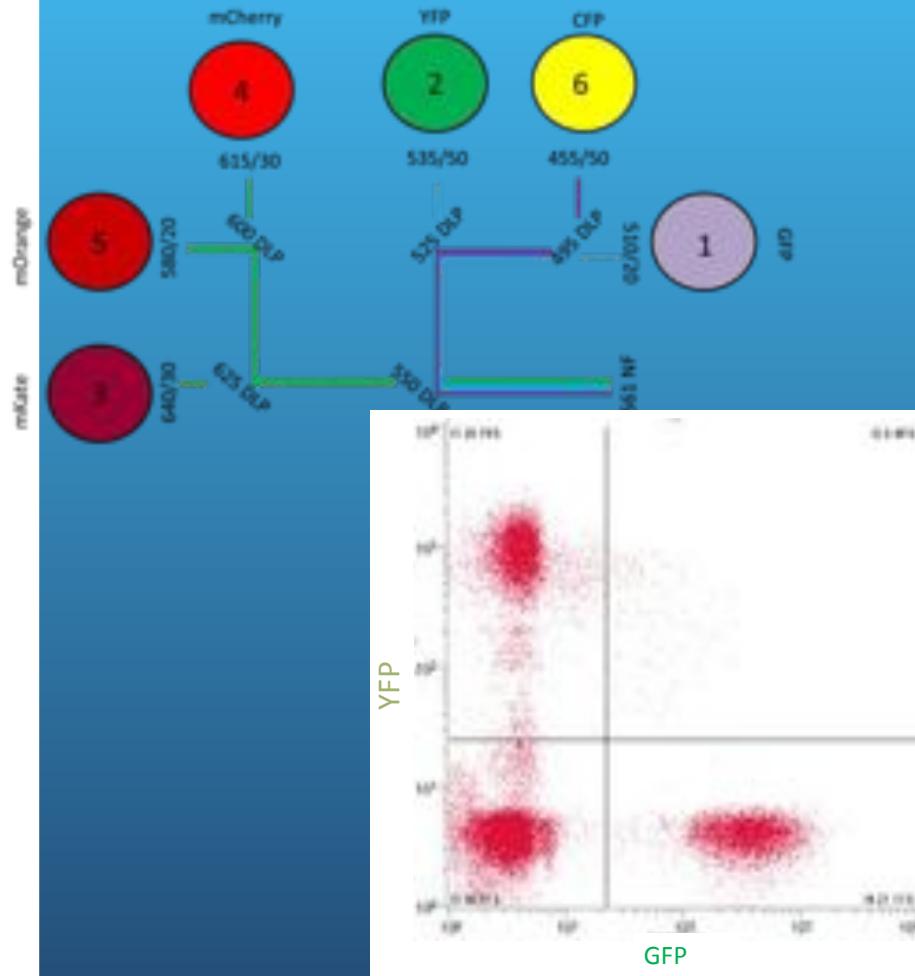
- Brighter than other fluorochromes excited by the 405 laser
- Simple, ready-to-use, low volume (5uL) test size
- Compatible with standard staining buffers
- Useful for surface and intracellular antigens
- Fixation stability
- Works well with multi-laser, multi-color set ups

The Brilliant Violet™ family

Name	Tandem	Collection Filter
Brilliant Violet 421™		455/50
Brilliant Violet 570™	BV421/Cy3	565/30
Brilliant Violet 605™ new	BV421/Cy3.5	605/30
Brilliant Violet 650™ new	BV421/DY610	665/40



Fluorescent Proteins



Flexibility and functionality for more complex applications.

- Additional filter kits also available for
- GFP/YFP/DsRed/HcRed
- GFP/YFP/mKO/mCherry and
- GFP/YFP/mOrange/mCherry

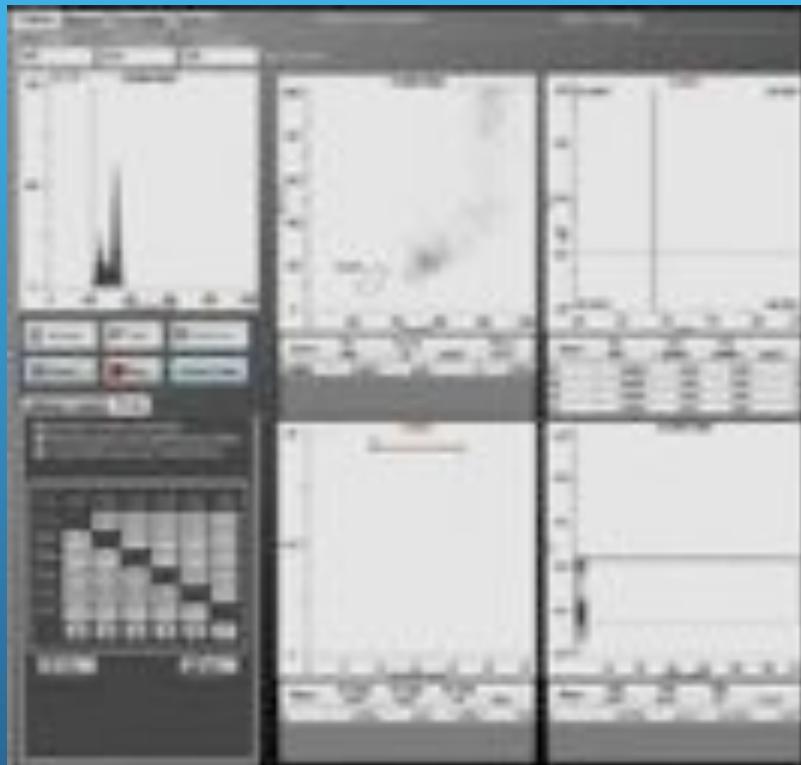
488nm, 561 nm	
Name	Filter
GFP	510/20
YFP	535/50
mKate	640/30
mCherry	615/30
mOrange	580/20
CFP	455/50

Digital process and Software Function



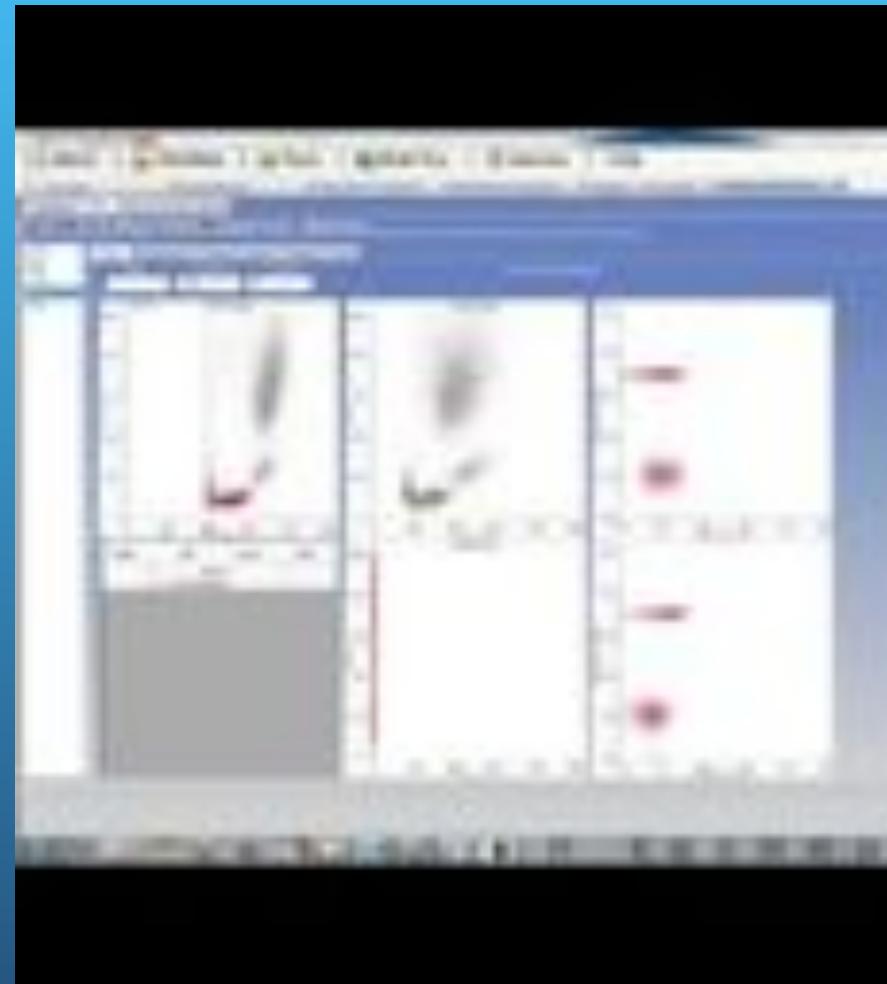
- No dongles, no SW keys, no registration and free upgrades
- 24-bit digital signal processing.
- Single and multiple discriminators/threshold on all fluorescence and light scatter channels.
- User selectable 3 – 6 log decade display.
- 42 real time parameters, each with 15 user selectable statistics in acquisition and analysis.
- Automated startup, cleaning, and shutdown cycles.
- Dynamic digital gain for post-acquisition data adjustment.

Dynamic Digital Gain



- The Dynamic Digital Gain component allows you to adjust populations during acquisition and analysis.
- Enable the touchscreen feature on your all-in-one computer to visually “drag and drop” populations onscreen.
- Find and optimize your populations quickly and easily.

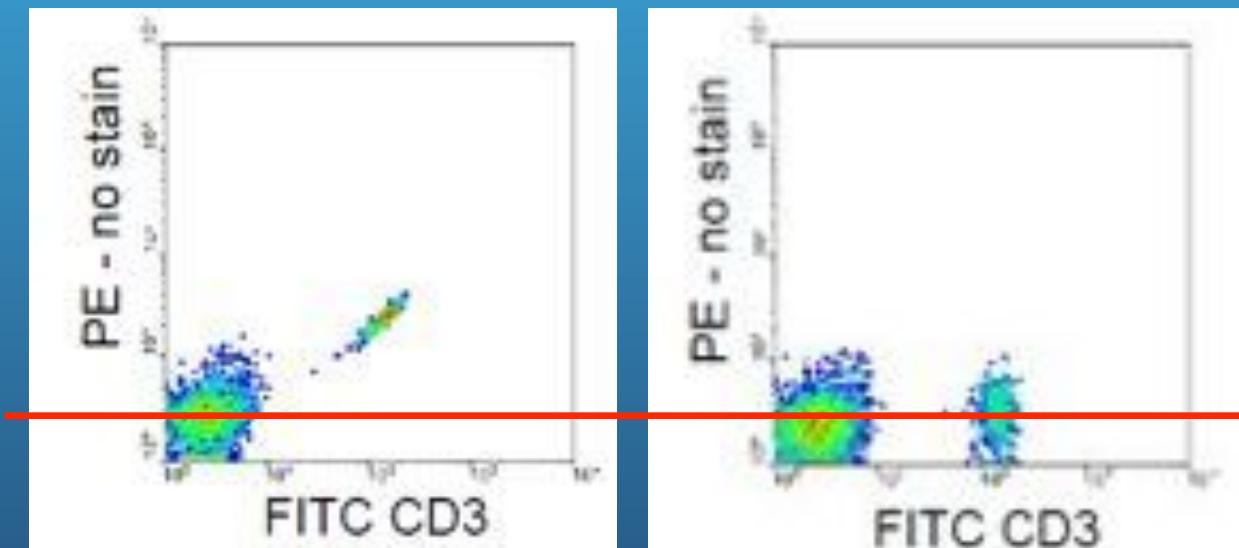
Dynamic Digital Gain



- The Dynamic Digital Gain component allows you to adjust populations during acquisition and analysis.
- Enable the touchscreen feature on your all-in-one computer to visually “drag and drop” populations onscreen.
- Find and optimize your populations quickly and easily.

Automated Compensation

Proper compensation requires that the median fluorescence of the stained population in every other channel (other than the channel specific for the stain) is equal to the median fluorescence of an unstained population.



Increased Productivity with Walk-Away Sample Monitoring

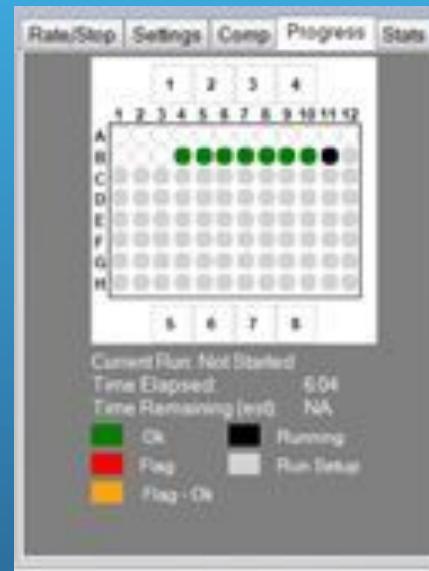
Built-in Sample Flagging Options



By selecting the clog detect option, you can decide on the detection method by region, parameter, or count.

Then indicate if you would like the Eclipse to Flush (3 available option levels), or Cleanse the Flow Cell before attempting to Rerun the current sample prior to moving to the next sample.

•Real-Time Sample Acquisition Monitoring



The active Progress Tab shows you worklist completion and flagging status in one simple view.

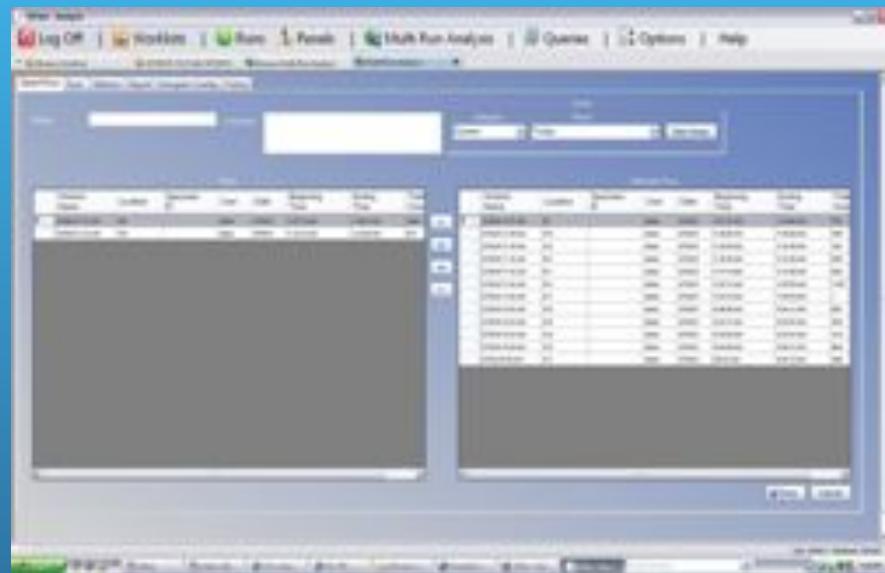
Analysis Features

- Worklist/Plate Heat Maps



Acquired samples can be defined by parameter(s) and then color-coded via statistics to Identify populations of interest.

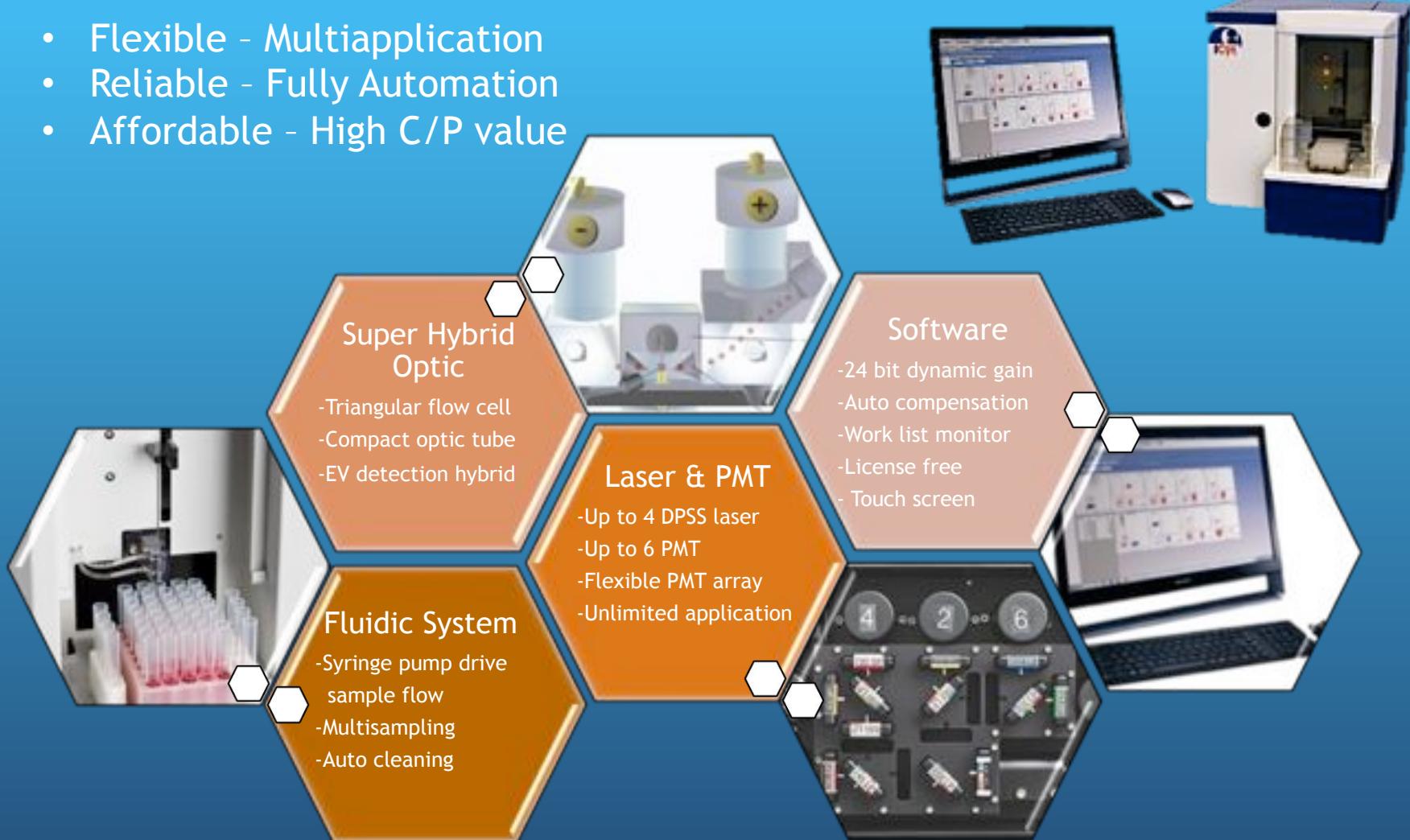
- Batch Analysis of Multiple Runs



Import and view runs from multiple worklists for data comparison for export or to create a customized report.

Concept of SONY iCyt ec800

- Flexible - Multiapplication
- Reliable - Fully Automation
- Affordable - High C/P value



SONY iCyt ec800

阻抗式自動流式細胞分析儀

•SONY iCyt EC800 , the new generation user Independent Flow Cytometer :

1. Truly walk away experience :

- Automatic sample deliver
- Standardize Protocol and worklist
- Off-line gain and compensation

2. Super Combo optic with EV detector

3. User designable flexible optic

