

Citometría Espectral: Redefiniendo el análisis celular con mejor sensibilidad y alta resolución

A lo largo de la historia, múltiples experimentos y desarrollos científicos han transformado la manera de estudiar las células. Desde 1904, con el surgimiento de la microscopía de fluorescencia, seguido por la primera detección y análisis del ADN descritos por Robert Feulgen en 1924, hasta la aparición de los citómetros de flujo en la década de 1970, instrumentos de alta tecnología que revolucionaron el análisis celular al permitir el estudio simultáneo de múltiples características a gran velocidad.

En las dos últimas décadas, la citometría ha evolucionado significativamente. Los avances en óptica, detectores y procesamiento de datos han permitido el desarrollo de citómetros de flujo espectral con hasta cinco láseres, capaces de medir hasta 64 marcadores, proporcionando resultados con mayor sensibilidad y resolución, lo que amplía las posibilidades para numerosas aplicaciones biológicas (1, 2, 3).



Figura 1. Cytek® Aurora-Evo: Analizador full espectral con capacidades extraordinarias que valen la pena ser probadas en Latinoamérica. Tomado de Cytek® Biosciences. [4]

En 2017, se presentó el sistema Cytek® Aurora, un citómetro de flujo con tecnología espectral que incorpora mejoras en los sistemas de fluidos, óptica de excitación y detección de emisión. Esta última representa una de sus principales fortalezas, ya que para cada láser existe una matriz compuesta por un conjunto de Divisores Selectivos de Múltiples Longitudes de Onda (CWDM) y fotodiodos de avalancha (APD), que permiten la captura del espectro completo de

cada fluorescencia (Figura 1).

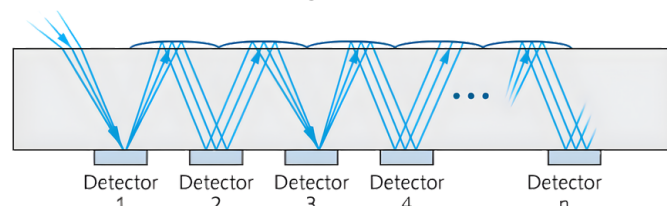


Figura 2. Recolección de luz a través de las matrices ópticas mediante metodología CWDM. Tomado de Cytek® Biosciences. [5]

Debido a que el sistema es capaz de detectar el intervalo completo de emisión de un determinado fluorocromo y no solo la emisión máxima (citometría convencional), dos fluorocromos con una emisión similar se pueden distinguir entre sí, generando huellas espectrales únicas y distinguibles para cada fluorocromo (figura 2) lo que brinda mayor flexibilidad en el momento de diseñar los paneles multicolor.

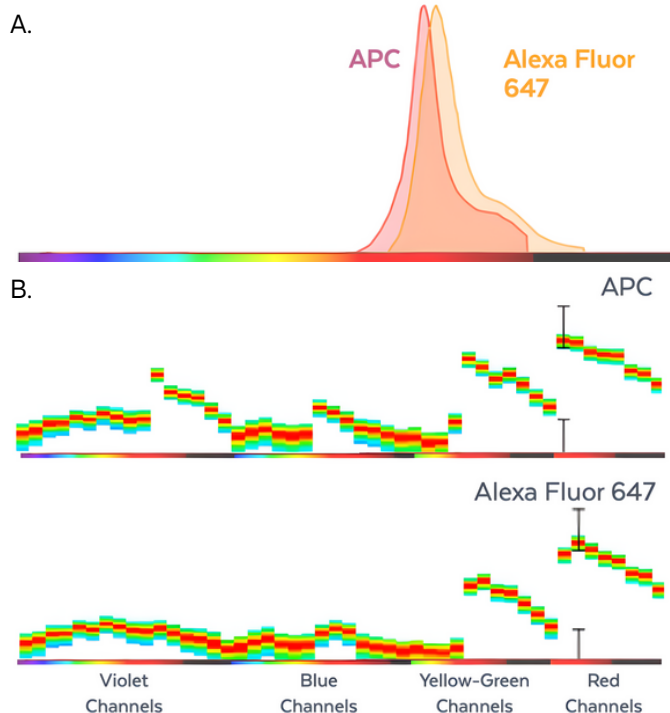


Figura 3. APC and Alexa Fluor 647. (A) Espectros de emisión de APC y Alexa Fluor 647 con alta superposición, indistinguibles mediante citometría de flujo convencional. (B) Gráficas espectrales con firmas diferenciadas entre los fluorocromos. Tomado de Cytek® Biosciences. [6]

Sumado a esto, los fotodiodos de avalancha (APD's) ofrecen múltiples ventajas: presentan una eficiencia de conversión de fotones entre 10 a



100 veces superior a la de los fotomultiplicadores (PMT) y operan en un rango más amplio de longitudes de onda; su diseño compacto, comparable al tamaño de un borrador de lápiz, permite integrar hasta 67 APD's en citómetros de 3 a 5 láseres; además, generan menor ruido electrónico, lo que se traduce en una mayor resolución del instrumento, y poseen un costo más bajo, haciendo su implementación más accesible y eficiente (6).

Estas características, junto con la capacidad de detectar y corregir la autofluorescencia celular y de identificar pequeñas partículas como las vesículas extracelulares, entre otras ventajas, han permitido que la citometría espectral evolucione de ser una tecnología emergente a convertirse en una herramienta esencial (1, 2) en campos como la biotecnología, la inmunología, el diagnóstico clínico y el desarrollo de terapias. A continuación, se presentan algunos ejemplos de sus principales aplicaciones:

1. Estudio de la respuesta inmune: Mediante paneles de hasta 45 colores es posible realizar un análisis detallado de diferentes subpoblaciones celulares (linfocitos T, B, NK, células dendríticas y monocitos), lo que contribuye a una comprensión más profunda de

la función inmunológica en la patogénesis y la respuesta terapéutica (7).

2. Hemato-oncología: En leucemia mieloide aguda se han desarrollado ensayos espectrales de alta complejidad en un solo tubo, como paneles de 18 colores (Figura 3), que incrementan la eficiencia del laboratorio al reducir el consumo de muestra y reactivos, y disminuir el tiempo de preparación y adquisición de datos.

3. Estudios de sensibilidad y toxicidad: Permiten evaluar la respuesta celular frente a fármacos o agentes tóxicos, aportando información valiosa para el desarrollo de terapias seguras.

4. Identificación de biomarcadores: Facilitan la detección de biomarcadores inmunológicos asociados con la progresión de enfermedades, la respuesta positiva a la inmunoterapia o la resistencia al tratamiento. Por ejemplo, la evaluación de marcadores como PD-1 y LAG-3 en células inmunes.

5. Caracterización de células CAR-T: Posibilita el análisis fenotípico y funcional de las células CAR-T durante su producción y tras la administración, optimizando la terapia según el perfil

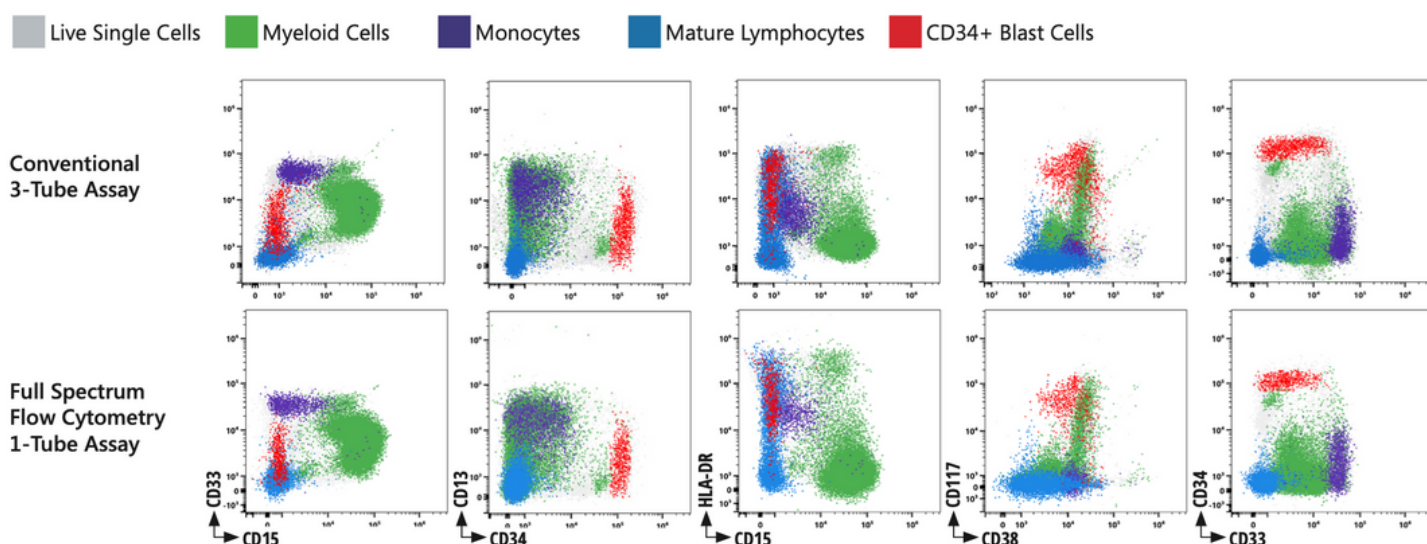


Figura 4. Datos representativos de dos médulas óseas para realizar seguimiento a Leucemia Mieloide Aguda (Enfermedad Mínima Residual – MMRD), evaluación negativa (azul) y positiva (rojo) usando un panel multiparamétrico de 27 colores adquirido en un sistema Cytex® Aurora. Tomado de Cytex® Biosciences. [8]



inmunológico individual (9).

6. Estudios de infiltración tumoral: Analizan la composición y actividad de las células inmunes infiltradas en tumores, lo cual es fundamental para predecir la eficacia de la inmunoterapia y comprender los mecanismos de escape tumoral.

Estas y otras aplicaciones tanto en humanos como animales y plantas indican que la citometría de espectro completo se posiciona cada vez más como una herramienta útil y poderosa en laboratorios clínicos, universidades y centros de investigación ayudando a redefinir el análisis celular con ayuda de tecnología de vanguardia.

En caso de estar interesado en el producto, por favor ponerse en contacto con la especialista de producto eproducto1@biosciences.com.co.

Bibliografía

1. Nolan JP, Condello D. Spectral flow cytometry. Curr Protoc Cytom. 2013 Jan;Chapter 1:1.27.1–1.27.13. doi: 10.1002/0471142956.cy0127s63. PMID: 23292705; PMCID: PMC3556726.
2. Nolan JP. The evolution of spectral flow cytometry. Cytometry A. 2022 Oct;101(10):812–817. doi: 10.1002/cyto.a.24566. Epub 2022 May 14. PMID: 35567367.
3. Robinson JP. Flow cytometry: past and future. Biotechniques. 2022 Apr;72(4):159–169. doi: 10.2144/btn-2022-0005. Epub 2022 Apr 4. PMID: 35369735.
4. Cytek Biosciences. Cytek Aurora™ Evo Flow Cytometer [brochure]. 2025. Available from: <https://cytekbio.com/pages/aurora-evo>
5. Omixys. Spectral analysis meets flow cytometry [PDF]. 2024 Oct. Available from: https://omixys.pl/wp-content/uploads/2024/10/spectral_analysis_meets_flow_cytometry.pdf
6. Cytek Biosciences. Cytek Aurora [brochure]. N9-20001 Rev. L. Available from: https://cytek-web.s3.us-east-1.amazonaws.com/cytekbio.com/instruments/brochures/N9-20001+Rev.+L_Brochure,+Cytek+Aurora_Web.pdf
7. Park LM, Lannigan J, Low Q, Jaimes MC, Bonilla DL. OMIP-109: 45-color full spectrum flow cytometry panel for deep immunophenotyping of the major lineages present in human peripheral blood mononuclear cells with emphasis on the T cell memory compartment. Cytometry A. 2024 Nov;105(11):807–815. doi: 10.1002/cyto.a.24900. Epub 2024 Oct 28. PMID: 39466962.
8. Cytek Biosciences. Creating efficiency in the lab with full spectrum cytometry [white paper]. Available from: <https://welcome.cytekbio.com/hubfs/Website%20Downloadable%20Content/White%20Paper/N9-20073%20Creating%20Efficiency%20in%20the%20Lab%20with%20Full%20Spectrum%20Cytometry.pdf>
9. Astakhova EA, Gubaeva AS, Naumova DA, Egorova AE, Maznina AA, Rybkina IG, et al. Spectral flow cytometry: the current state and future of the technology. Int J Mol Sci. 2025;26(12):5911. doi: 10.3390/ijms26125911.

