

Countstar® Rigel 系列

全自動細胞螢光分析儀



前言

ALIT Life Science 艾力特生命科學有限公司成立於2005年，公司總部及研發中心位於上海，現有120多名員工，其中碩士及以上學歷員工近30名。經過十多年的發展，艾力特生命科學已形成了集研發、生產、代理進口生命科學實驗室儀器和生產設備，以及提供技術服務為一體的高科技企業。

Countstar誕生於2009年，隸屬於ALIT Life Science旗下子公司之上海睿鈺生物科技有限公司，該公司致力於現代細胞分析之技術研發和儀器制造。“始終保持初心，專做一件事——**做‘最好’的細胞分析儀**”是艾力特團隊的立足之本。

基於全球研發、全球銷售、中國生產的經營理念，ALIT Life Science已在歐洲設立辦事處，在美國、歐洲和亞洲多個國家均有代理商。

Countstar細胞分析儀廣泛應用於細胞治療、抗體製程開發、品質控制和科學研究等各個領域，在全球的細胞治療領域已有超過200多家客戶，已成為業內多家知名企業的指定品牌。

由我們的技術應用專家、銷售廠商和售後服務人員組成的團隊為廣大客戶提供優質和專業的售前技術諮詢、計畫設定及售後服務。我們承諾為我們的用戶提供最優質的產品和最專業的服務。

目錄

產品簡介	3
產品應用	9
應用案例	11
雙螢光計數法 (AO/PI)	11
細胞殺傷	13
細胞轉染	15
細胞凋亡	16
細胞週期	17
細胞亞群分析 —— CD Marker檢測	18
免疫螢光法檢測退化細胞株	19
抗體親和力檢測	19
明場細胞計數及存活率檢測	20
Countstar® Rigel 在細胞存儲品質控制過程中的應用	21
Countstar® Rigel 在幹細胞研究過程中的應用	22

Countstar® Rigel 螢光細胞分析儀簡介

Countstar® Rigel 全自動螢光細胞分析儀是一款基於圖像法檢測，配合多螢光通道，藉由採集圖像中的細胞資訊，進行定量分析。它將螢光顯微成像與統計學群體分析結合於一身，既能提供細胞群的統計資料，又可以獲得單個細胞的圖像，從而提供細胞形態學資訊。獨特的圖像採集系統同時產生明場以及四張螢光圖像，讓實驗結果更為直觀。

核心特點

- 一鍵自動檢測5個樣品
- 專利成像技術及高靈敏度CCD使結果清晰可“見”
- 單個樣品量僅需20uL
- 符合GMP管理規範及FDA 21 CFR Part 11
- 多通道螢光分析及可客製化App
- 人性化的軟體操作平台
- 極簡的設計，同時配備高靈敏的觸控螢幕

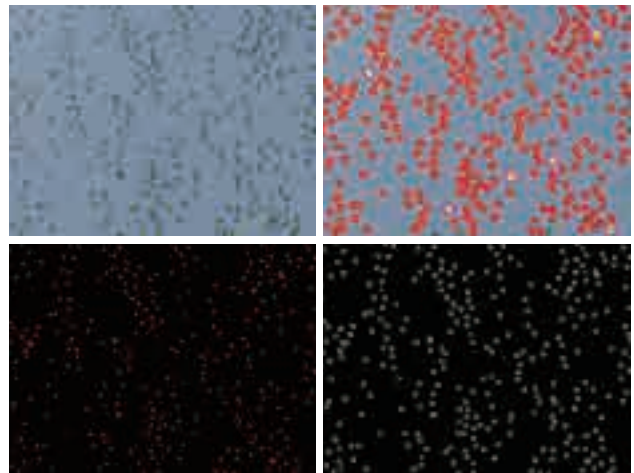


獨創的專利“定焦”技術



Countstar® Rigel 對光學系統進行優化並獨創“定焦”設計。不需要調焦、更換玻片或樣品位置及調整視野，避免手動調焦可能帶來的測量數值變化。

專利圖像辨識、智慧細胞分割



專利圖像辨識技術，智慧細胞分割。單一細胞識別20+種參數，細節一覽無遺。

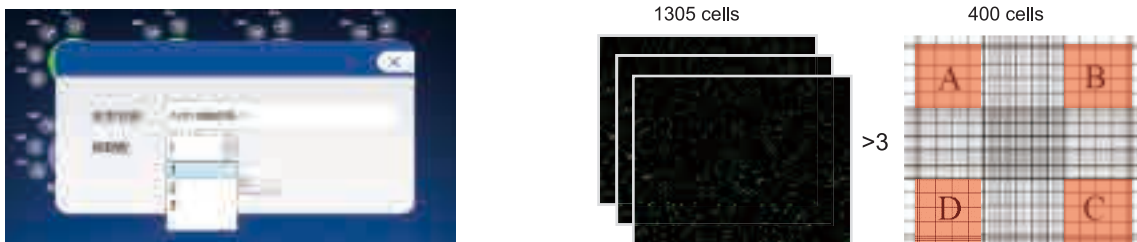
全觸控螢幕、多功能合一設計，告別PC時代



靈活細胞分析程式，“APP”式管理程式



大樣本採樣量減少統計學誤差，可選擇分析1-3個視野



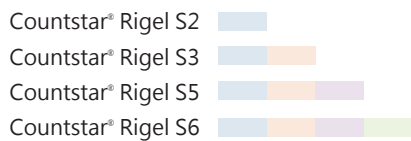
自動化多螢光同步檢測 最多可達13種螢光組合

- 最多4個激發光加5個檢測器濾光片組合，可檢測多達13種螢光通道

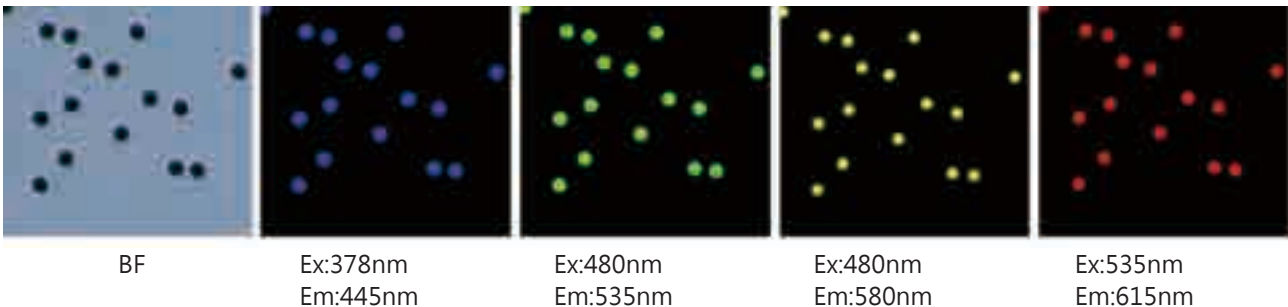
Specification	Excitation LED	375	480	525	620
Detectors	460/50	●			
	535/40	●	●		
	580/25	●	●	●	
	600LP	●	●	●	
	665LP	●	●	●	●

- Countstar® Rigel 各型號可組合的螢光通道

激發光譜(nm)	發射光譜(nm)	常用的相容染料/螢光蛋白
480nm	535nm	AO, FITC, GFP, CFSE, Alex Fluor 488
525nm	600LP	PI, RFP, Alexa Fluor® 546, Fluor® 555, Cy®3, DsRed, Rhodamine Red, dTomato
480nm	600LP	ECD, PE-Texas Red, PE-CF594
375nm	460nm	DAPI, Hoechst, BFP
375nm	535nm	Amcyan, Brilliant Violet™ 510
375nm	600LP	Qdot® 605
375nm	580nm	Pacific Orange™, Brilliant Violet™ 570
480nm	580nm	PE
525nm	580nm	PI
375nm	665LP	Brilliant Violet™ 650
480nm	665LP	PC5, PC5.5, PerCP, PerCP-Cy5.5, PI, 7-AAD
525nm	665LP	7-AAD, Nile-Red, Alex Fluor 647-PE
625nm	665LP	APC, Alex Fluor 647, Alex Fluor 660

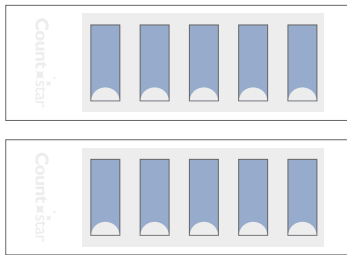


- 全自動光路切換，單次實驗可同時檢測4個螢光通道加明場



差異CV小於5%

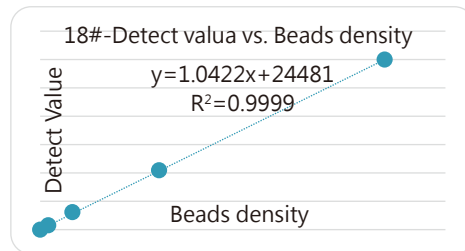
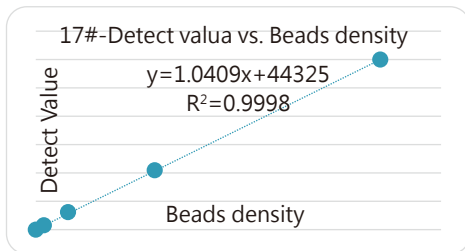
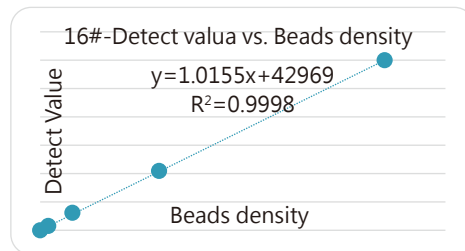
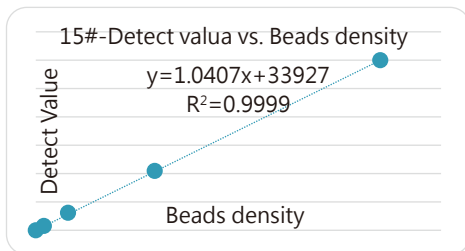
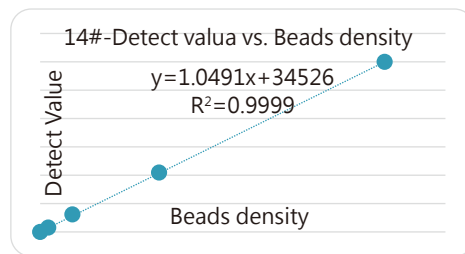
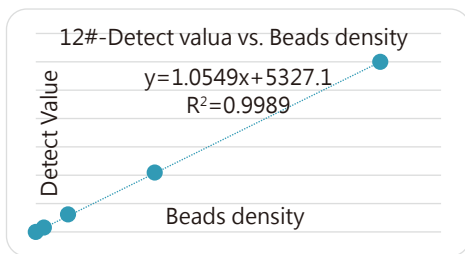
在細胞濃度範圍 $2 \times 10^5/\text{mL}$ - $1.5 \times 10^7/\text{mL}$ 內，Countstar® Rigel的濃度和存活率測量差異CV小於5%。



樣品槽間測量結果 CV < 5%
樣品板間測量結果 CV < 5%



同個Countstar® Rigel儀器內測量結果 CV < 5%
不同Countstar® Rigel儀器內測量結果 CV < 5%



6台Countstar® Rigel儀器的線性測試結果

FCS 類流式軟體 (選配)

FCS Express系列軟體是De Novo公司開發的一款對細胞螢光圖像進行量化分析的軟體。

FCS Express可以進行單細胞/多細胞分析參數設定和細胞圖像分析，特別是在Countstar® Rigel與FCS Express合併使用可以對細胞週期進行分析，幫助使用者獲得更多的分析結果。



符合GMP和FDA 21 CFR Part 11法規

為了因應現代生物製藥的需求，Countstar® Rigel軟體系統的數據管理和控制性能完全符合FDA 21 CFR Part11，如下特點確保了該功能的合規性：



安全用戶登錄系統



用戶等級權限管理



電子簽名和電子記錄

3Q確效和標準顆粒



標準微珠顆粒



IQ/OQ/PQ 確效

人性化的數據庫管理

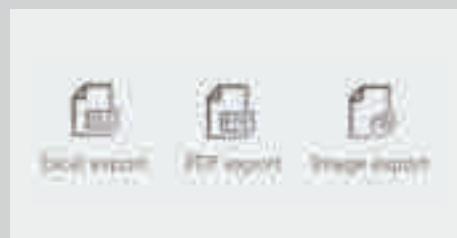
智慧人性化的設計，提供靈活創新的使用者體驗，並確保實驗數據的可靠性和可追溯性。

數據儲存



500GB記憶體，可存儲超過16萬個樣品的數據。

數據輸出



支援PDF、EXCEL、JPEG；USB2.0、3.0外接埠使數據輸出更便捷。

多計劃數據管理



通過添加實驗類型的方法，使資料按照計劃類型進行分類，新的檢測結果會自動保存到該計劃的資料庫中，使資料整理和維護更輕鬆。

數據搜索



通過實驗或計劃名稱，測試日期，關鍵字進行檢索，得到的資料可以查看、列印或輸出。

Countstar® Rigel 系列應用

Countstar® Rigel S2

Countstar® Rigel S2系統使用雙色螢光，能夠染色活的和死的有核細胞，即使存在碎片、血小板和紅血球細胞，也能產生準確的存活率結果。針對來自周邊血、臍帶血、骨髓和其他複雜樣品的原代細胞，能夠進行有效的細胞計數、存活率和濃度分析。可用於各種研究領域，包括：全血中的有核細胞、PBMC、脾細胞、幹細胞、CAR-T及NK細胞。

激發光：480nm, 525nm
檢測器濾光片：535nm, 600LP

Countstar® Rigel S3在S2的基礎上增加了DAPI通道，是一款集三螢光通道加明場的多功能細胞分析儀，為細胞計數、細胞存活率以及T/NK細胞誘導的細胞毒性檢測，提供了整體的解決方案。儀器內預設了多個實驗類型，包括台盼藍計數、AO/PI雙螢光計數、細胞殺傷、細胞凋亡和細胞週期等。

激發光：375nm, 480nm, 525nm
檢測器濾光片：460nm, 535nm, 600LP

Countstar® Rigel S3

Countstar® Rigel S5

Countstar® Rigel S5系統在S3的基礎上增加了PE通道，可以進行除了快速的細胞活率、濃度測定以外，還可以進行多色螢光實驗。包括：細胞凋亡(Annexin V/PI/DAPI)、細胞轉染(GFP/YFP/RFP)、CD marker實驗(DAPI/FITC/PE)和細胞殺傷實驗(Hoechst33342/Calcein-AM/PI)等。

更多的通道組合給使用者帶來更靈活的實驗選擇以及更多的實驗功能。

激發光：375nm, 480nm, 525nm
檢測器濾光片：460nm, 535nm, 580nm, 600LP

Countstar® Rigel S6螢光圖片流式分析儀是一款基於圖像法檢測，配合4螢光通道，運用獨特的圖像採集系統，可產生明場以及四張螢光圖像，讓實驗結果更為直觀。同時，可通過採集圖像中的細胞資訊，使用FCS類流式軟體分析進行定量分析。它將螢光顯微成像與統計學群體分析結合於一身，既能提供細胞群的統計資料，又可以獲得單個細胞的圖像，從而提供細胞形態學資訊。

激發光：480nm, 525nm, 375nm, 620nm
檢測器濾光片：460nm, 535nm, 580nm, 600LP, 665LP

Countstar® Rigel S6

實驗類型	Countstar® Rigel S2	Countstar® Rigel S3	Countstar® Rigel S5	Countstar® Rigel S6
明場存活率計數	√	√	√	√
雙螢光法存活率計數(AO/PI)	√	√	√	√
細胞週期(PI)	√*	√*	√	√
細胞凋亡(Annexin V-FITC/PI)	√*	√*	√	√
細胞凋亡(Annexin V-FITC/PI/Hoechst)		√*	√	√
GFP轉染	√	√	√	√
YFP轉染			√	√
RFP轉染	√	√	√	√
細胞殺傷(CFSE/PI/Hoechst)		√	√	√
抗體親和力(FITC)	√	√	√	√
表面標記物 CD Marker (三色)			√	√
表面標記物 CD Marker (四色)				√
類流式軟體 FCS Express	選配	選配	√	√

√*: 此標誌表示儀器在選配了FCS軟體下，才能進行此實驗。

產品規格參數

測量直徑範圍	3μm ~ 180μm
濃度範圍	1×10 ⁴ ~ 3×10 ⁷ /mL
物鏡放大倍數	5x
成像元件	140萬像素 CCD相機
USB	1×USB 3.0 1×USB 2.0
內建儲存容量	500GB
電源	110-230 V/AC, 50/60Hz
螢幕	10.4英寸
重量	13kg (28lb)
尺寸 (W×D×H)	機器尺寸: 254×303×453mm 外包裝尺寸: 430×370×610mm
工作溫度	+10°C ~ +40°C
工作濕度	20% ~ 80%

應用案例

雙螢光計數法 (AO/PI)

雙色螢光 (AO/PI) 可以對活細胞和死有核細胞進行染色，即使存在碎片、血小板和紅血球細胞也能產生精確的存活結果。對“雜亂”和“乾淨”樣品的精確分析，Countstar開發的雙螢光計數法可以對整個樣品處理步驟中的不同環節進行品質評估——從樣品最初收集到分離，再到冷凍保存。

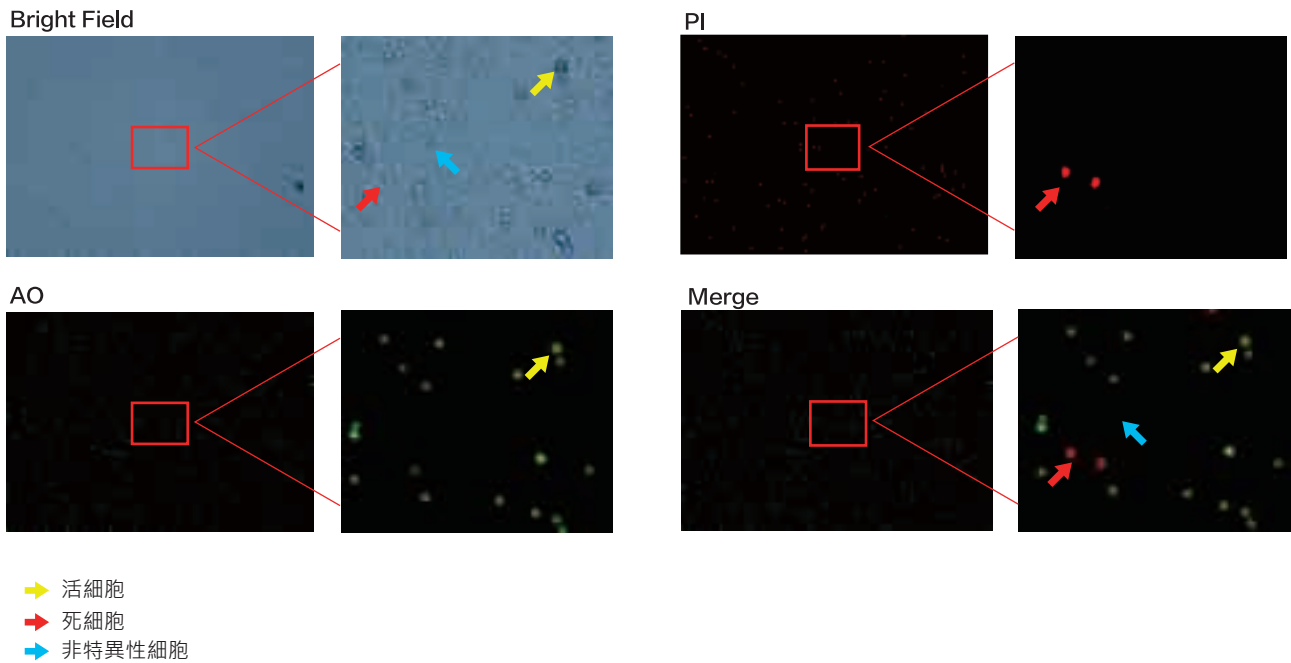
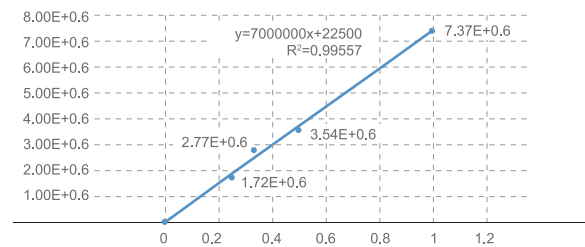
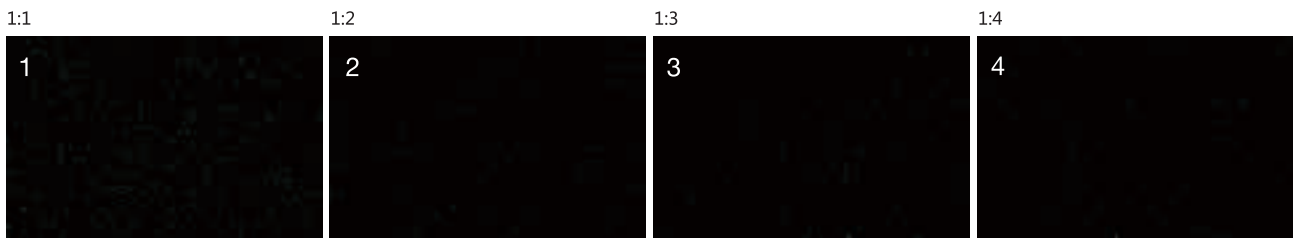
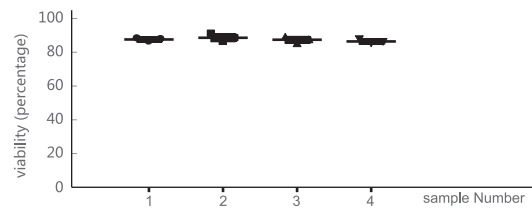


圖 1 AO/PI雙螢光染色法PBMC細胞圖像



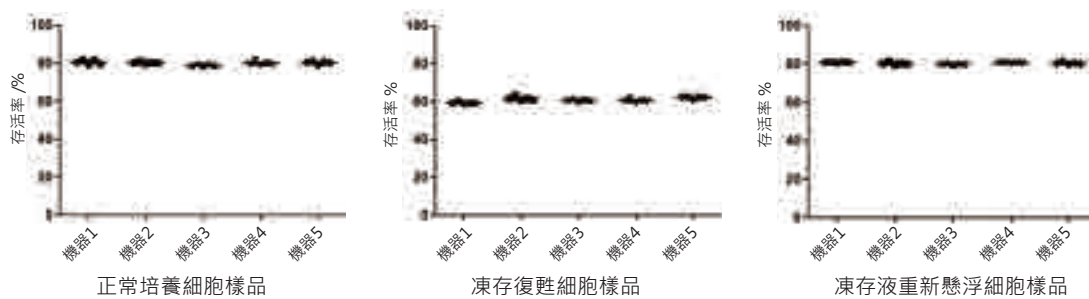
對PBMCs進行梯度稀釋後，Countstar Rigel數據結果具有很好的線性



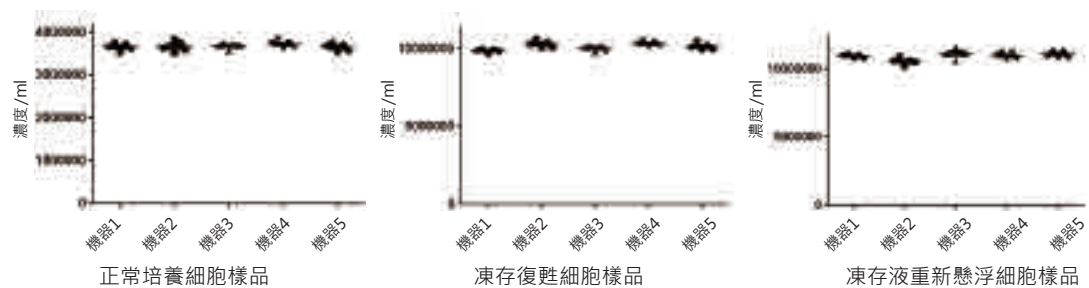
對PBMCs進行梯度稀釋後，Countstar Rigel測試的存活率結果表現出很好的穩定性

圖 2 測定PBMCs梯度稀釋後的細胞存活率和濃度

5台儀器用AO/PI的方法測試不同樣品(正常培養, 凍存液重新懸浮, 凍存復甦)的結果, 每個樣品在一台儀器上重複測試5次
不同儀器間測試的存活率, 存活率結果CV值<5%



不同儀器間測試的濃度, 濃度結果CV值<5%



細胞殺傷

CAR-T療法，用基因工程的方法對T細胞進行基因改造，從而產生可以直接和標靶腫瘤細胞結合並攻擊的CAR-T細胞。

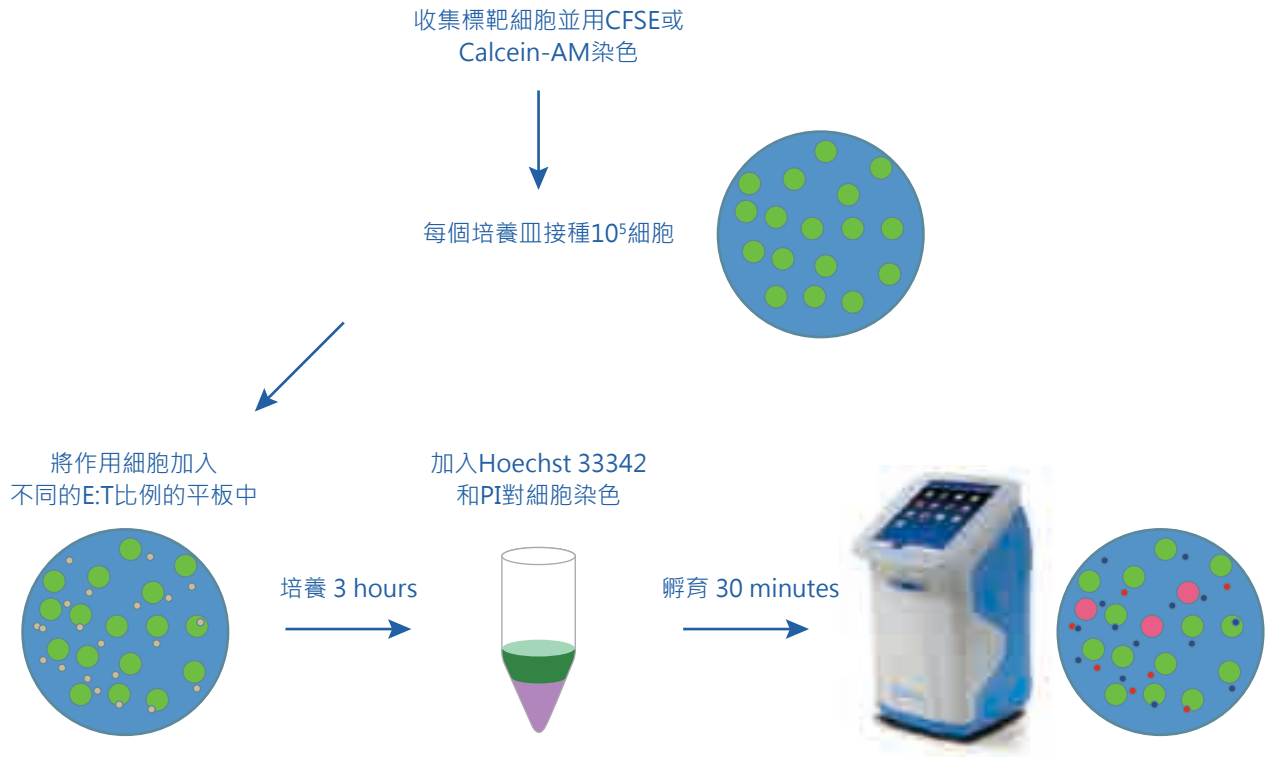


圖 1 實驗步驟

(PS: 標靶細胞可以用CFSE或Calcein-AM染色，如果細胞用GFP轉染，則不需要染色其他染料)

對靶標細胞用無毒的無放射性的鈣黃綠素進行標記（或者GFP轉染標記），我們可以觀察CAR-T細胞對腫瘤細胞殺傷效應。活的腫瘤細胞會含有鈣黃綠素或者GFP，死的腫瘤細胞不含有鈣黃綠素或者GFP。Hoechst33342被用來染色所有的細胞（包含T細胞和腫瘤細胞），PI用來染色所有的死細胞（包含T細胞和腫瘤細胞）。這種染色策略可以讓我們對細胞進行精準的區分。

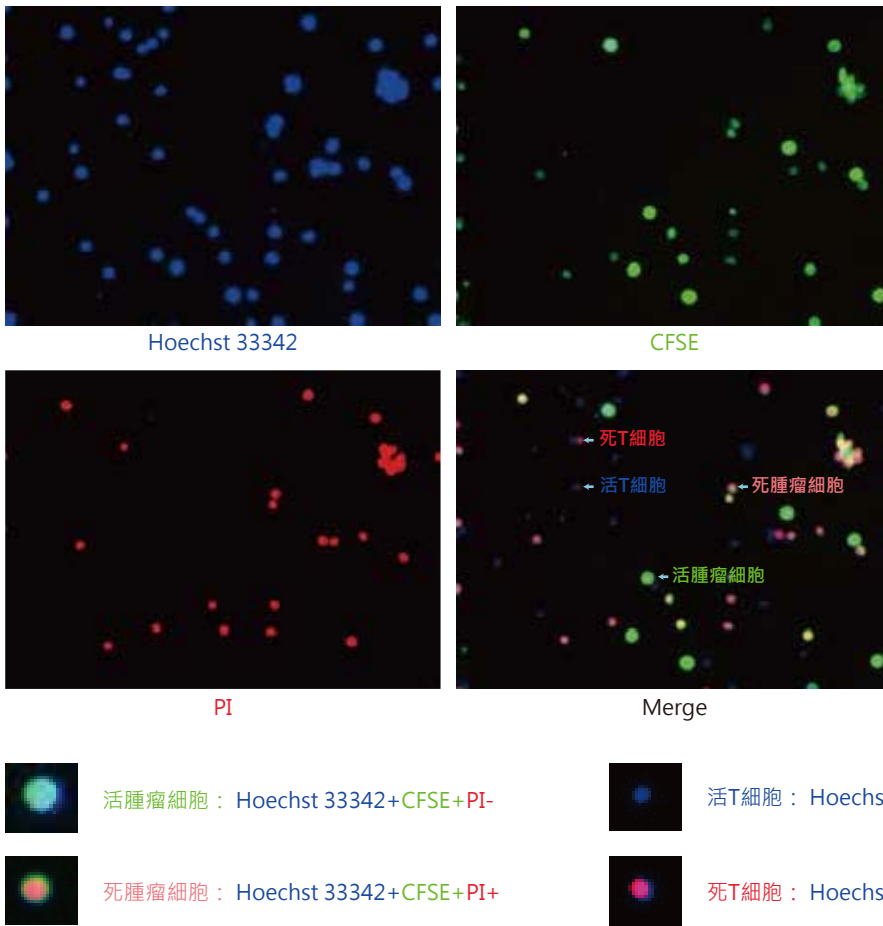


圖 2 Countstar® Rigel S3分析T細胞誘導的細胞毒性圖片

$$\text{細胞毒性}\% = (\text{對照組的活細胞數} - \text{實驗組的活細胞數}) / (\text{對照組的活細胞數}) \times 100\%$$

E : T比率對K562的細胞毒性研究 · 隨著E : T比率增加 · 所得螢光圖像顯示Hoechst + CFSE + PI + 標靶細胞的增加

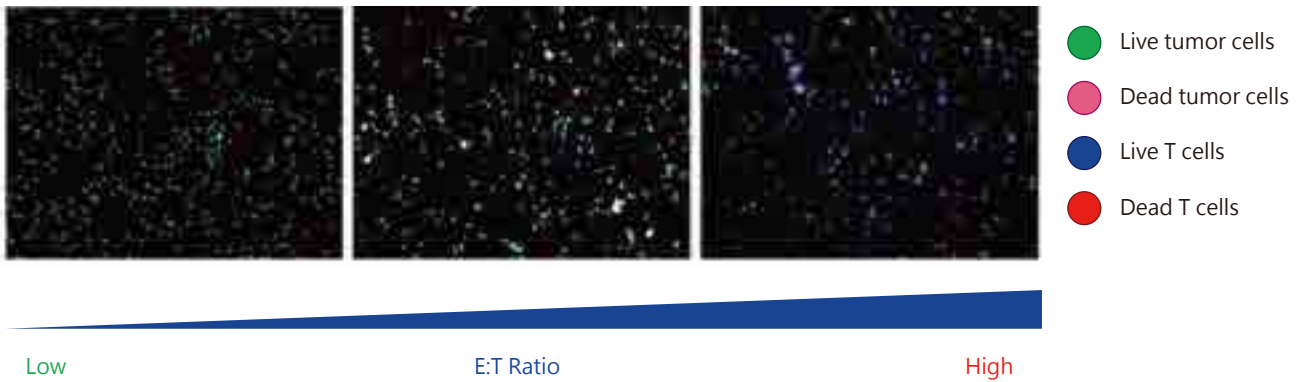


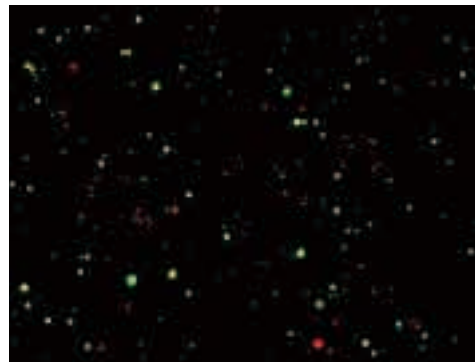
圖 3 K562標靶細胞與作用細胞混合培養3h 後 · Hoechst 33342 · CFSE · PI染色的螢光圖像

細胞轉染

由於後續的實驗準確度取決於轉染率結果的準確性。實驗室常用螢光顯微鏡或流式細胞儀測定轉染效率。但是，螢光顯微鏡沒有分析軟體，依賴人眼計數會帶來主觀誤差，而且流式細胞儀需要經過複雜的儀器學習和操作。Countstar® Rigel為實驗室帶來了快速、準確並且簡便的轉染效率測定方法。



BR



FL1FL2 Fusion

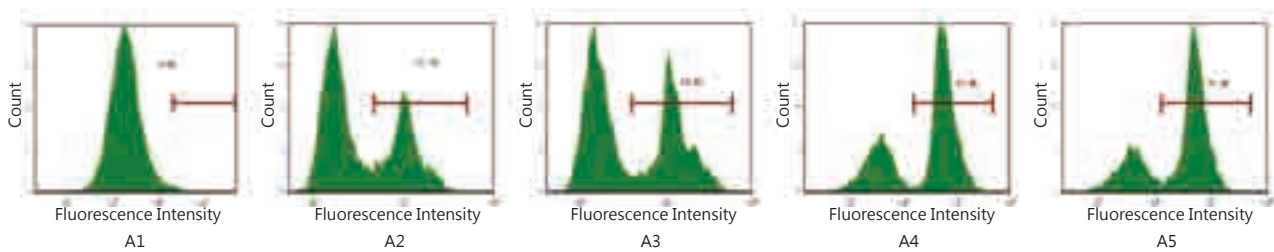


GFP



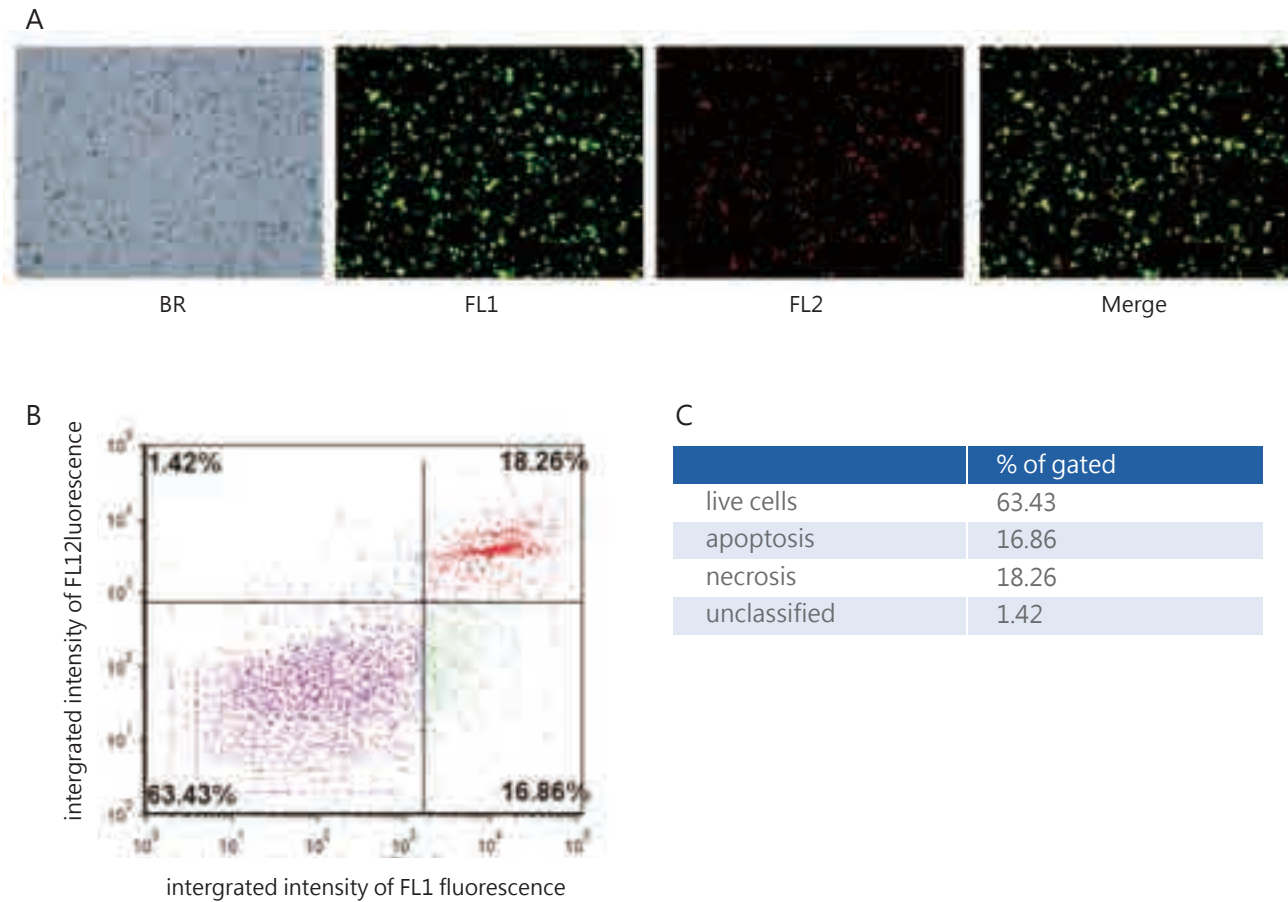
PI

Countstar® Rigel可以匯出類流式分析格式的文件，用FCS express可以快速進行類流式分析



細胞凋亡

細胞凋亡可以用Annexin-V- FITC和7-ADD進行檢測。磷脂醯絲氨酸 (PS) 通常僅見於健康細胞的細胞膜內，但在早期細胞凋亡期間，膜不對稱性喪失且磷脂醯絲氨酸轉位至外部。



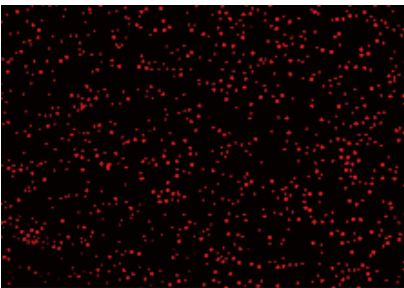
Countstar® Rigel 檢測MSCs的凋亡A. MSCs凋亡檢測的螢光圖像B.通過FCS軟體分析得到的MSC凋亡散點圖C.正常細胞、凋亡細胞、壞死或極晚期凋亡細胞的百分比。

細胞週期

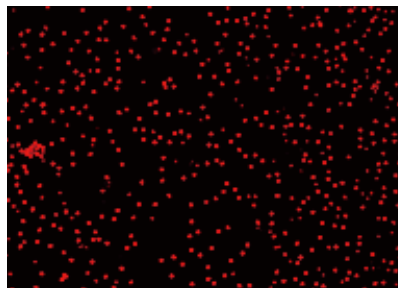
細胞週期是細胞實驗室一項常規的實驗。通常情況下，實驗室可能會使用其它流式細胞儀檢測，但是這樣的檢測方法通常費時費力。Countstar® Rigel提供一種實驗室桌面的解決方案，可以讓使用者快速簡單的知道細胞週期結果，並且分析出細胞週期的不同過程。

MCF-7細胞分為對照組和實驗組，其中實驗組添加 4 μ M Nodz (Nocodazole) 阻滯細胞週期值G2/M，對照組不進行任何處理。採樣 3000 個細胞即可，用FCS Express 6.0軟體進行分析，Countstar® Rigel獲得了與流式相近的結果。

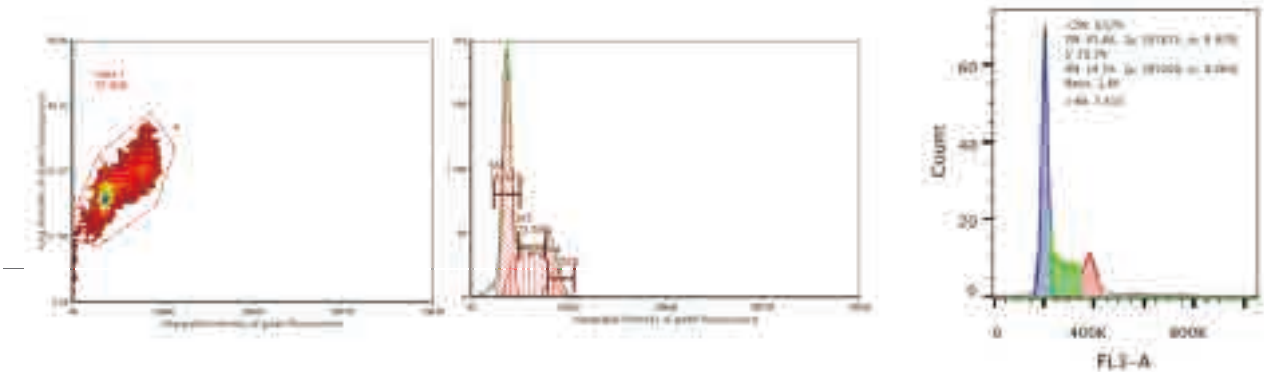
control group



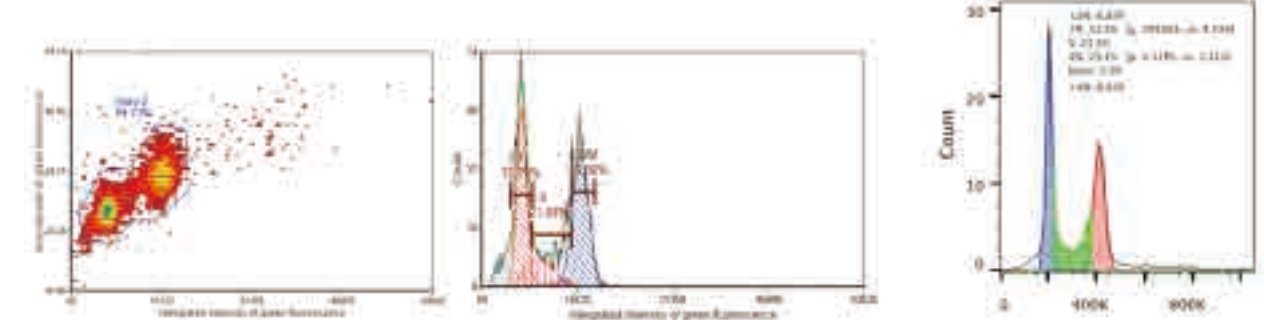
add drug (G2/M)



對照組



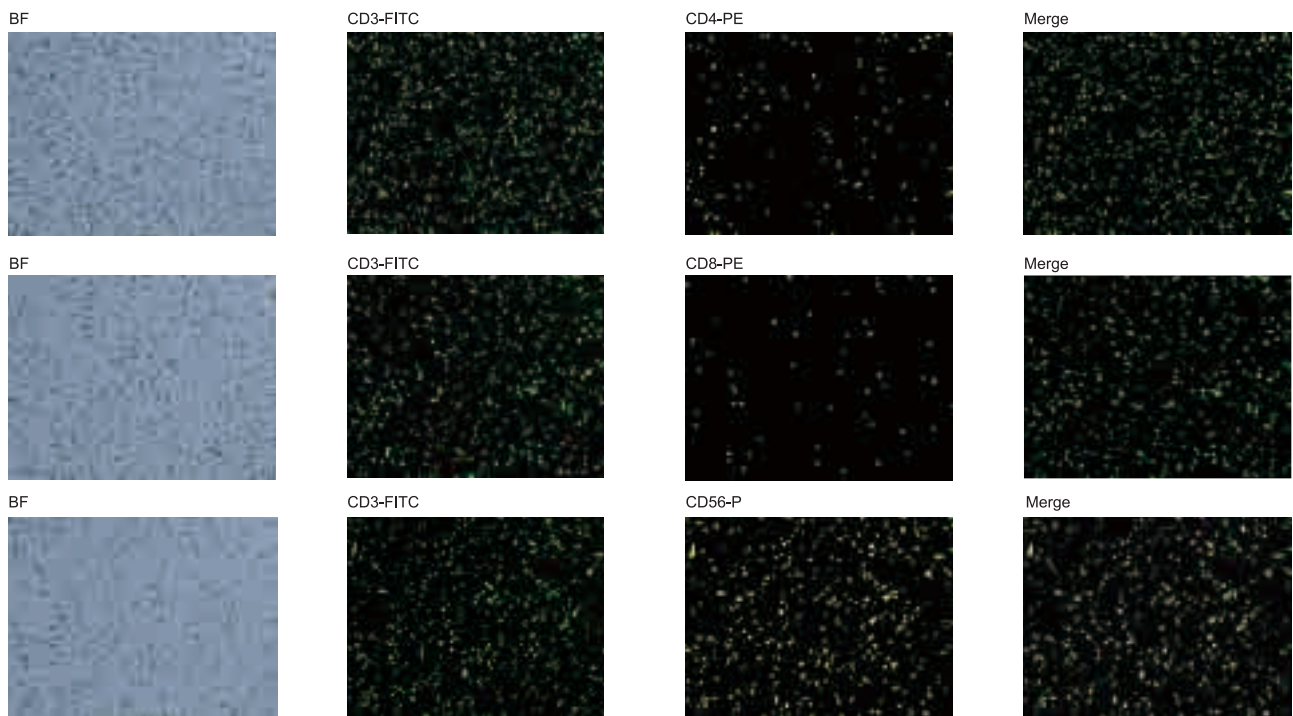
實驗組



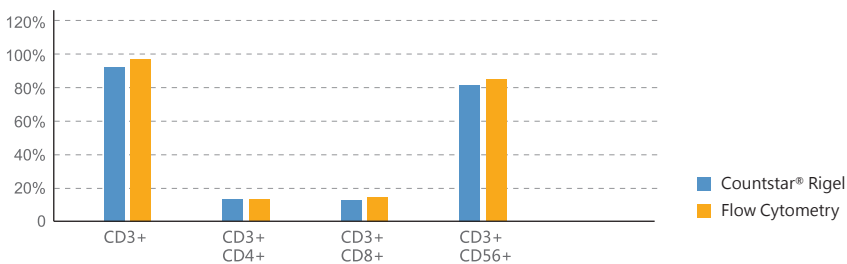
細胞亞群分析——CD Marker檢測

Countstar® Rigel提供了一種更為快速和操作簡便的方法來使免疫細胞分型工作變得更加高效率。藉由可見的細胞圖像和強大的資料分析功能，Countstar® Rigel能夠讓使用者從此不再需要大量複雜的對照設置及螢光補償調整，即可獲得穩定可靠的結果。

CIK免疫細胞研究是一個很好的例子。經過培養的小鼠PBMCs細胞，經過在IL-6誘導後使用CD3-FITC, CD4-PE, CD8-PE, CD56-PE幾種抗體染色，之後在用Countstar® Rigel和Flow Cytometry同時分析。在此檢測中分為CD3-CD4組、CD3-CD8組和CD3-CD56組三組進行，測定不同細胞亞群所占比例。



IL-6誘導PBMCs後各細胞亞群所占比例



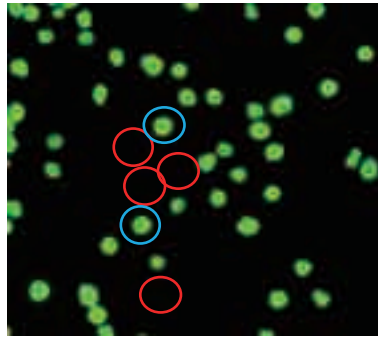
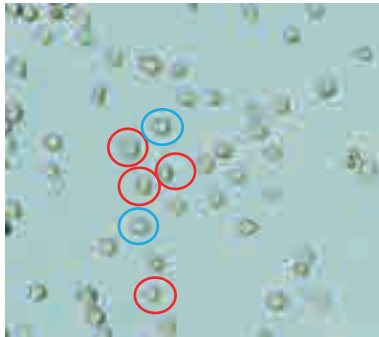
Countstar® Rigel與Flow Cytometry相比具有穩定的線性一致性。

免疫螢光法檢測退化細胞株

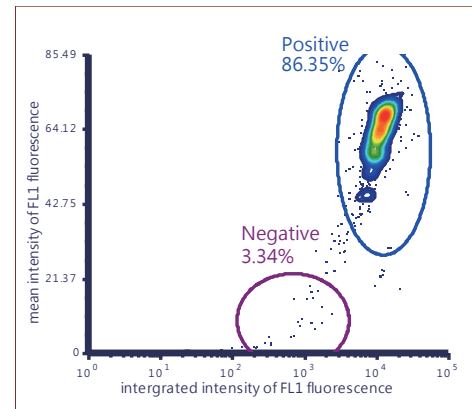
在細胞增殖和傳代過程中，由於退化或基因突變，細胞失去了一些細胞特性，導致單株抗體生產產量下降。監測細胞退化是改善培養條件和提高產量的重要過程控制。

利用免疫螢光法對細胞株中的抗體進行染色，Countstar® Rigel進行拍照分析，從圖片中可以看出部分細胞已經不產生抗體。

利用FCS軟體對結果進行定量分析顯示細胞系中抗體表達陽性率為86.35%。與此同時，FCS軟體提供了圖像與定量資料直接對比的功能。



○ 陽性 ○ 陰性



FCS軟體分析結果

抗體親和力檢測

免疫螢光法測定細胞層級的抗體親和力大小是評價抗體效果非常重要的指標，Countstar® Rigel可透過間接免疫螢光法檢測不同抗原抗體反應呈現的平均螢光強度，直接定量評價抗體親和力大小，同時也可檢測細胞濃度、存活率。此外，可獲得細胞圖片，實驗過程中即時拍攝明場和螢光圖像。

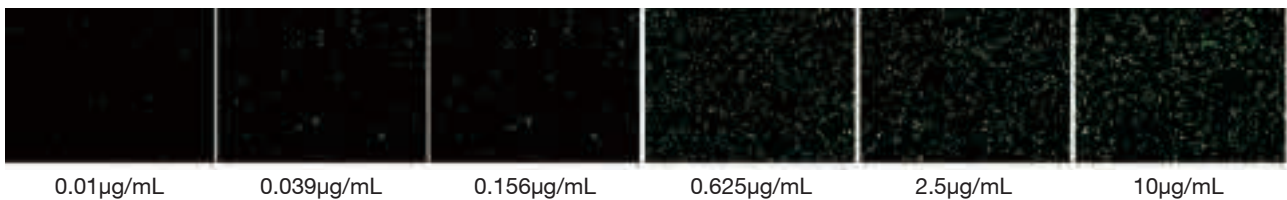


圖1 0.01, 0.039, 0.156, 0.625, 2.5, 10µg/ml AB4與CHO細胞反應後的細胞圖像

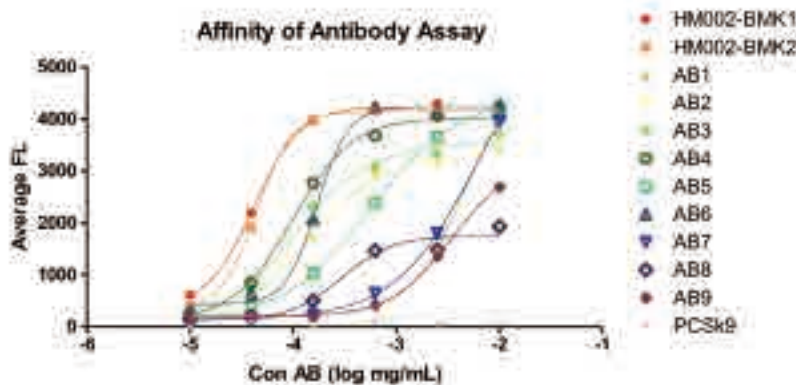
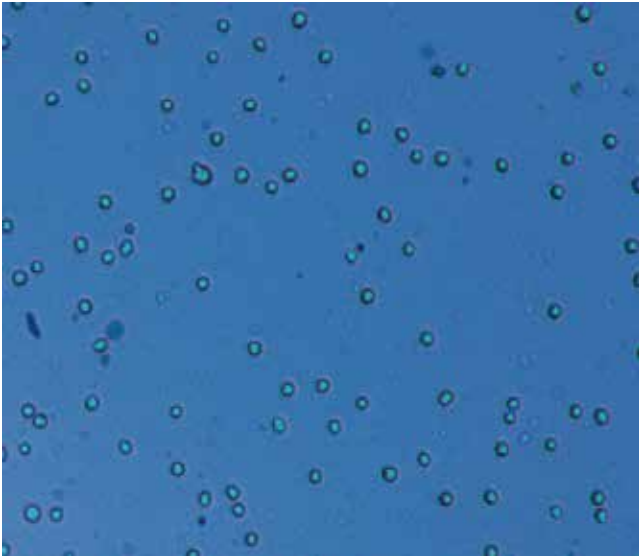


圖2 不同濃度梯度抗體下不同抗原抗體反應中平均螢光強度

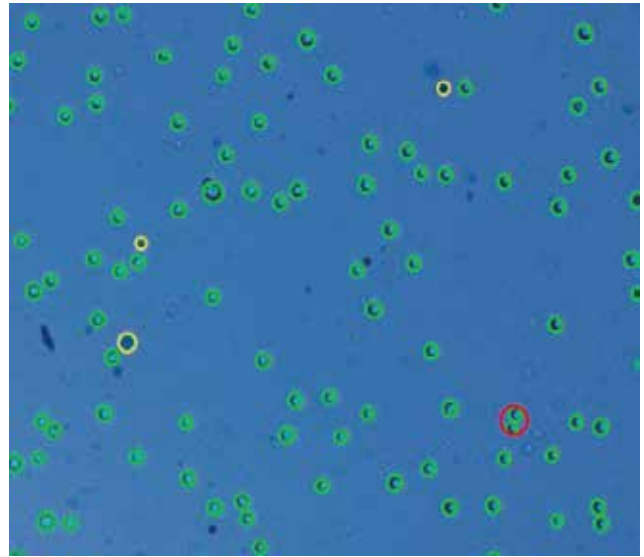
明場細胞計數及存活率檢測

在明場條件下進行細胞計數及存活率分析是一種快速和簡單的方法，所有的細胞學實驗室依然採用此方法進行細胞的快速分析。

Countstar® Rigel相容了經典明場台盼藍計數方法，讓使用者快速檢測細胞存活率、濃度和死活細胞數量等參數。



原始圖



識別後

準確穩定源自多重技術保證

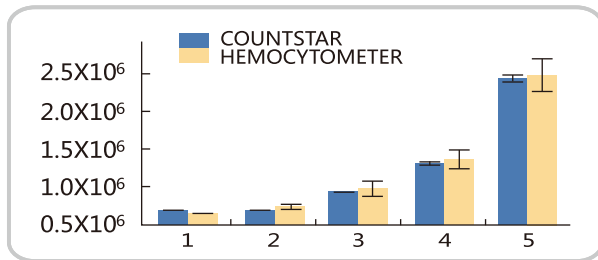


圖1. 以CHO為例，Countstar® Rigel與血球計數板濃度測量結果顯示兩種方法無差異，而Countstar® Rigel的計數結果則更為穩定。

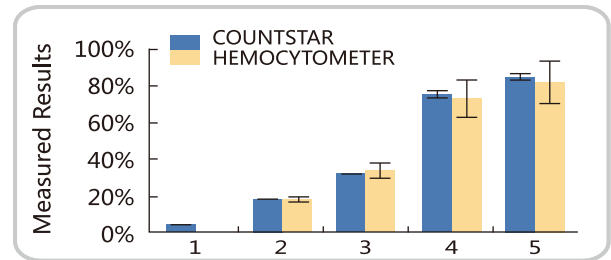
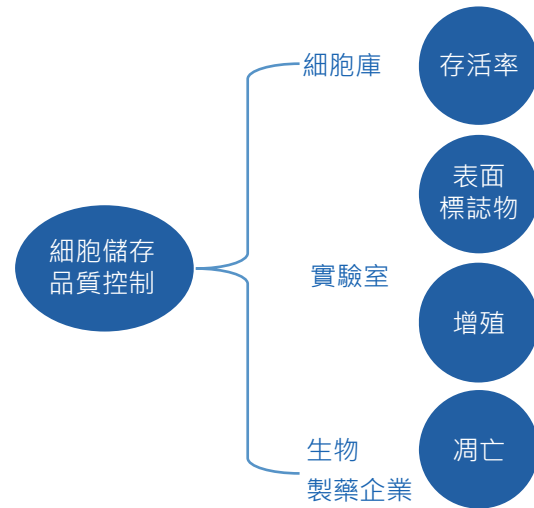


圖2. 以CHO為例，Countstar® Rigel與血球計數板的存活率測量顯示兩種方法無差異，而Countstar® Rigel的計數結果則更為穩定。

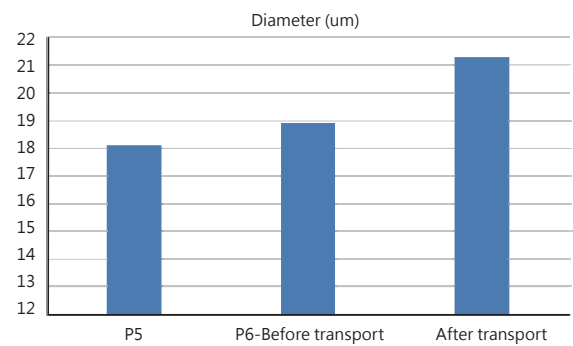
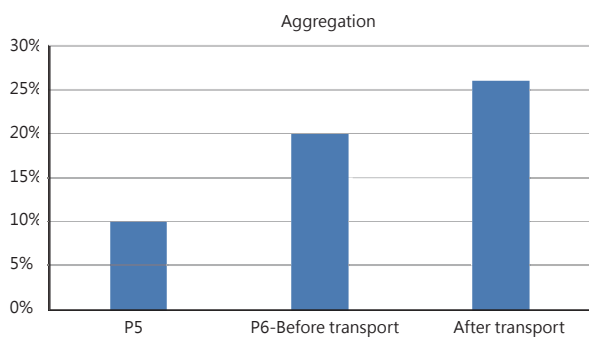
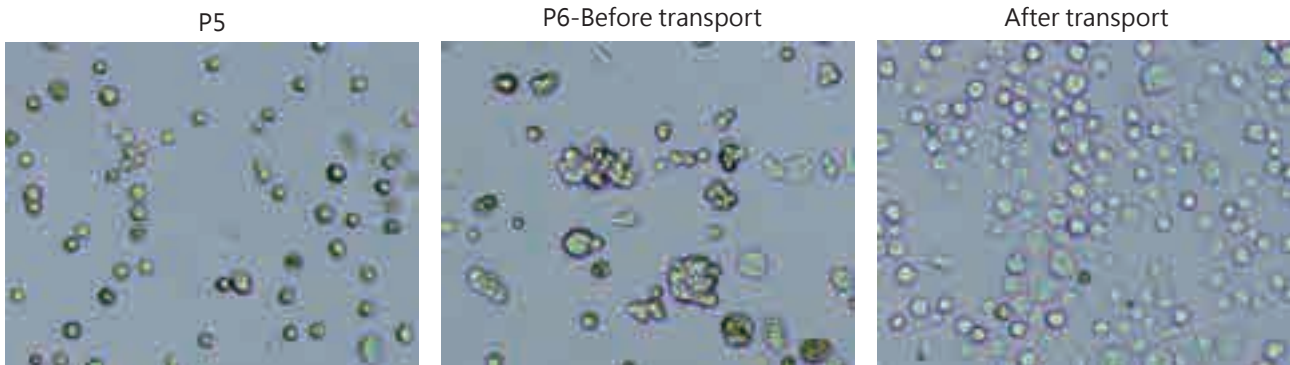
Countstar® Rigel 在細胞存儲品質控制過程中的應用

在細胞存儲過程中，細胞的品質管制關係到能否確保安全、有效的細胞產品用於實驗、生產以及建立可信、可靠、可比和可重複的流程。目前以單個細胞為對象的品質監控方法主要有顯微鏡、流式細胞儀等，但是顯微鏡容易引入人為因素，造成檢測結果不可控。另外，流式細胞儀的操作維護相對複雜。

Countstar® Rigel 除了可以全自動獲得細胞清晰的形態圖像，而且能夠快速將圖形量化為資料進行客觀的定量與客觀的比較，避免人為主觀判斷產生的誤差，配以完善的數據管理系統，為細胞存儲品質控制提供多重的保證。



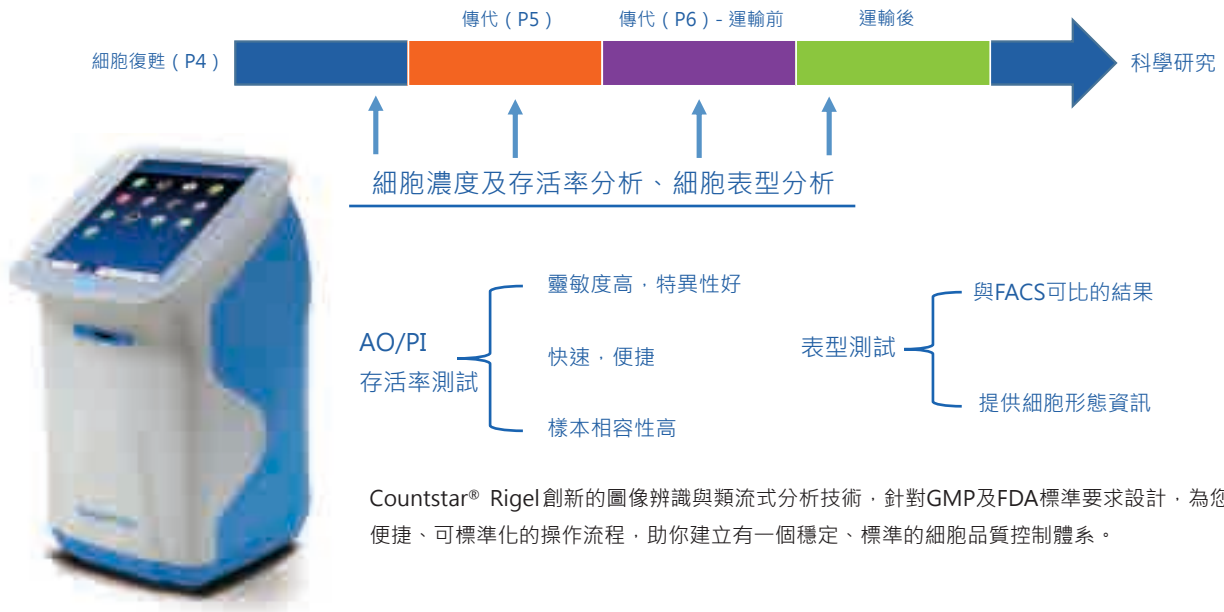
監測幹細胞形態變化



Countstar® Rigel 拍攝和分析ADMCs在傳代和運輸過程中的形態變化

Countstar® Rigel 在幹細胞研究過程中的應用

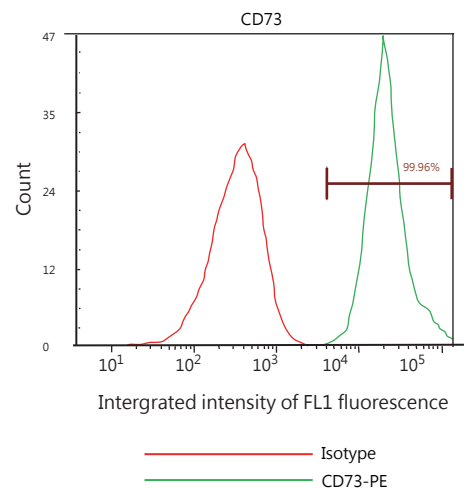
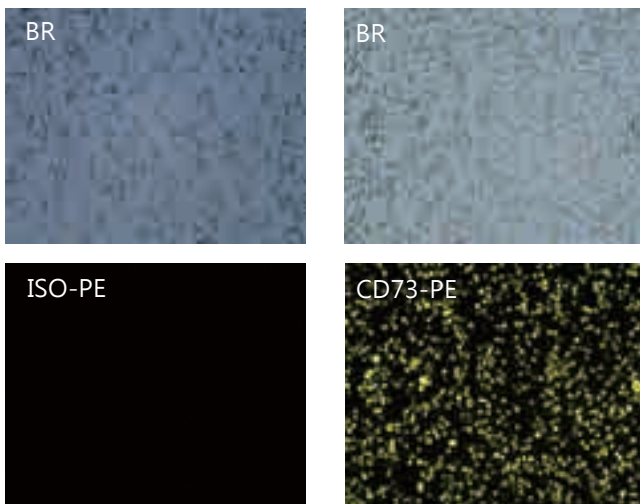
在幹細胞研究領域中，從幹細胞復甦至最終用於研究，中間過程需要經歷細胞傳代及運輸。因此細胞在整個過程中的品質變化對最終的研究結果有著至關重要的影響。細胞品質包括了濃度、存活率以及細胞表型。Countstar® Rigel 雙螢光存活率計數方法，可對剛復甦以及運輸後的幹細胞進行快速準確的存活率濃度測量，同時高靈敏度的光學系統，可精確、便捷的完成幹細胞表型分析。



幫您建立標準的細胞品質控制體系

- 桌面型小儀器，20μL樣品量，觸控螢幕操作，20s得到細胞品質管控結果；
- 資料結果準確，可與流式對比
- 螢光染色，避免血液分離等繁瑣操作步驟，省時省力；
- 按照GMP、cGMP和FDA資料存儲、電子簽名要求的規範設計，保證數據來源可靠，可追溯；
- 圖像+資料，結果真實可見；

幹細胞純度鑑定：提供圖像和定量統計的雙重驗證





ALIT Life Science Co., Ltd.

上海睿鈺生物科技有限公司

熱線電話：400-820-2912

地址: 上海市松江區沈磚公路6000號C3-301室

網址: www.countstar.cn

電話: +86 021-3373 5060

傳真: +86 021-3373 5080

郵箱: marketing@countstar.cn

僅限於研究用途 · 不可用於診斷操作

所有解釋權歸上海睿鈺生物科技有限公司所有

台灣銷售夥伴-勝博國際集團

網址：www.sunpro.com.tw

台北-勝綻科技

電話: 02-8791-8971

E-Mail: sunbloom@sun-bloom.com.tw

台中-勝璋科技

電話: 04-2298-0365

E-Mail: sunwise@sun-wise.com.tw

高雄-勝騏科技

電話: 07-338-5550

E-Mail: suncheer@sun-cheer.com.tw

