

Countstar[®] Rigel系列

全自动细胞荧光分析仪



目录

前言

艾力特生命科学有限公司 (ALIT Life Science) 成立于2005年, 公司总部及研发中心位于上海, 现有120多名员工, 其中硕士及以上学历员工近30名。经过十多年的发展, 艾力特生命科学已形成了集研发、生产、进口生命科学实验室仪器和生产设备的代理, 以及提供技术服务为一体的高科技企业。

Countstar诞生于2009年, 隶属于ALIT Life Science旗下子公司--上海睿钰生物科技有限公司, 其负责产品的研发和生产, 致力于现代细胞分析技术研发和仪器制造。“始终保持初心, 专做一件事——做‘最好’的细胞分析仪”是艾力特团队的立足之本。

基于全球研发、全球销售、中国生产的经营理念, ALIT Life Science已在欧洲设立办事处, 在美国、欧洲都有代理商。

Countstar细胞分析仪广泛应用于细胞治疗、抗体工艺开发、质量控制和科学研究等各个领域, 在国内外的细胞治疗领域已有超过200多家客户, 已成为业内多家知名企业的指定品牌。

由我们的技术应用专家、销售专家和售后服务人员组成的团队为广大客户提供优质和专业的售前技术咨询、方案设计及售后服务。我们承诺为我们的用户提供最优质的产品最专业的服务。

产品简介	3
产品应用	9
应用案例	11
双荧光计数法 (AO/PI)	11
细胞杀伤	13
细胞转染	15
细胞凋亡	16
细胞周期	17
细胞亚群分析——CD Marker检测	18
免疫荧光法检测退化细胞株	19
抗体亲和力检测	19
明场细胞计数及活率检测	20
Countstar® Rigel在细胞存储质量控制过程中的应用	21
Countstar® Rigel在干细胞研究过程中的应用	22

Countstar® Rigel 荧光细胞分析仪简介

全触屏、一体化设计，告别PC时代

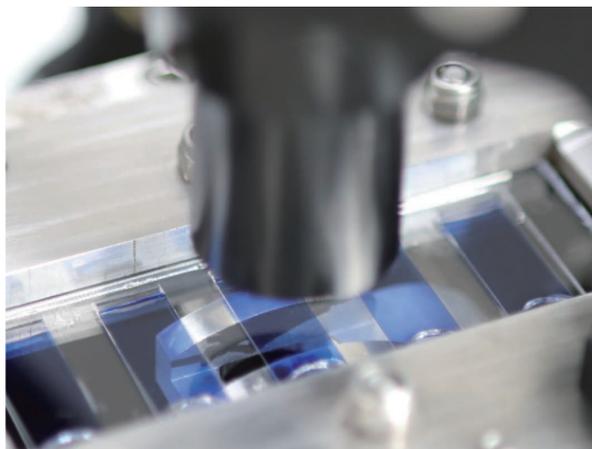
Countstar® Rigel 全自动荧光细胞分析仪是一款基于图像法检测，配合多荧光通道，通过采集图像中的细胞信息，进行定量分析。它将荧光显微成像与统计学群体分析结合于一身，既能提供细胞群的统计数据，又可以获得单个细胞的图像，从而提供细胞形态学信息。独特的图像采集系统同时产生明场以及四张荧光图像，让实验结果更为直观。



核心特点

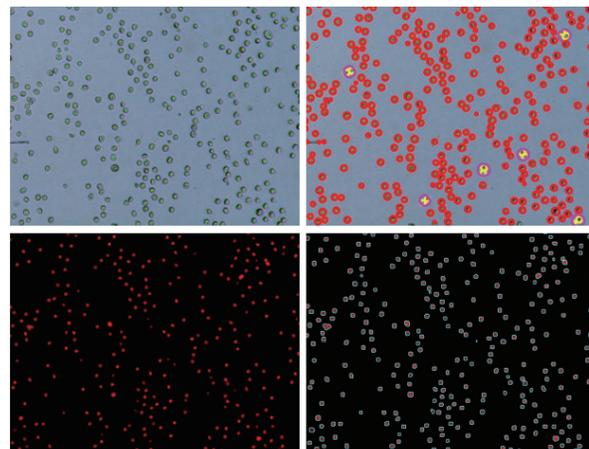
- 一键自动检测5个样本
- 专利成像技术及高灵敏度CCD使结果清晰可“见”
- 单个样本量仅需20uL
- 符合GMP管理规范及FDA's 21 CFR Part 11
- 多通道荧光分析及可定制化App
- 人性化的软件操作平台
- 极简的设计，同时配备高灵敏的触控屏

独创的专利“定焦”技术

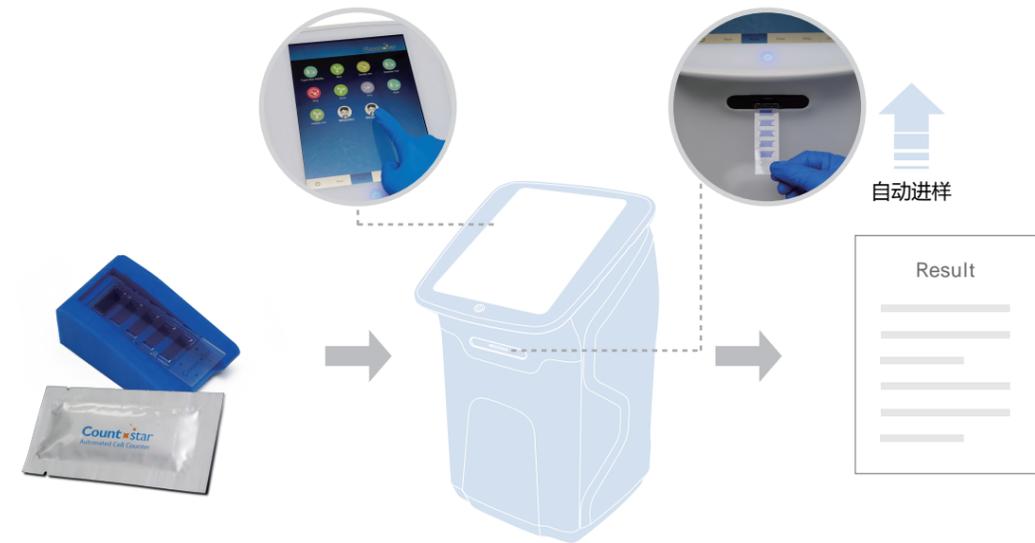


Countstar® Rigel对光学系统进行了优化并独创了“定焦”设计。不需要调焦、更换玻片、更换样本槽位、调整视野，避免了手动调焦可能带来的测量数值变化。

专利图像识别、智能细胞分割



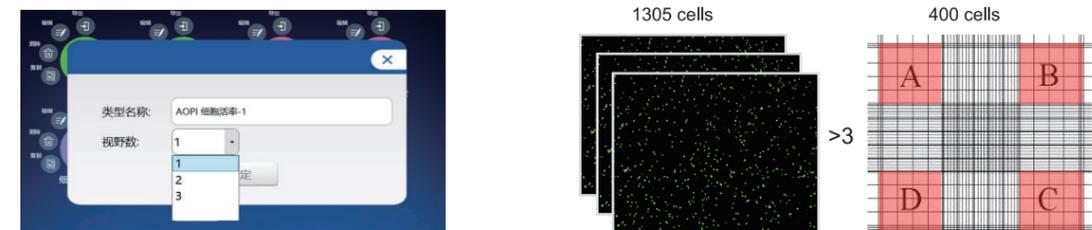
专利图像识别技术，智能细胞分割。单一细胞识别20+种参数，细节一览无余。



灵活细胞分析程序，“APP”式管理程序



大样本采样量减少统计学误差，可选择分析1-3个视野



自动化多荧光同步检测 最多可达13种荧光组合

- 最多4个激发光加5个检测器滤光片组合，可检测多达13种荧光通道

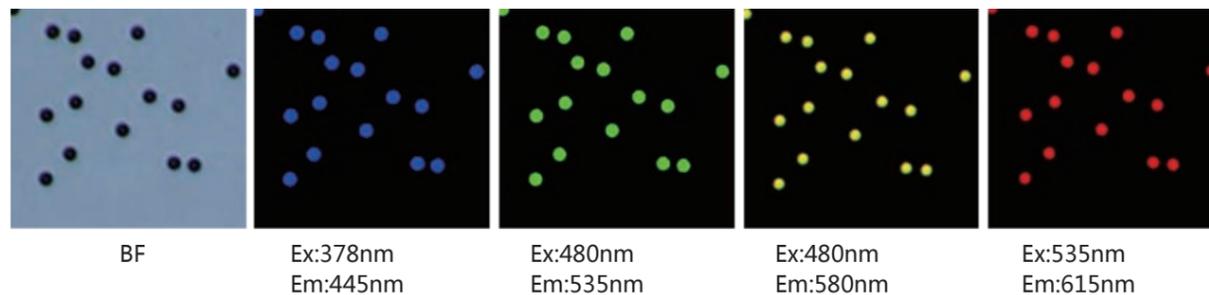
Specification	Excitation LED	375	480	525	620
Detectors	460/50	●			
	535/40	●	●		
	580/25	●	●	●	
	600LP	●	●	●	
	665LP	●	●	●	●

- Countstar® Rigel各型号可组合的荧光通道

激发光谱 (nm)	发射光谱 (nm)	常用的相容染料/荧光蛋白
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

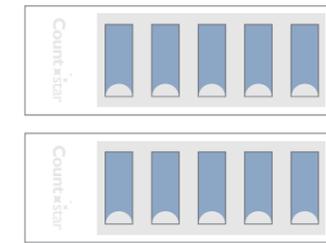
- Countstar® Rigel S2
- Countstar® Rigel S3
- Countstar® Rigel S5
- Countstar® Rigel S6

- 全自动光路切换，单次实验可同时检测4个荧光通道加明场



差异CV小于5%

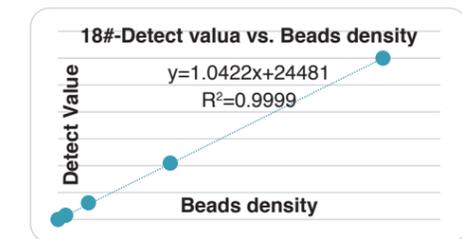
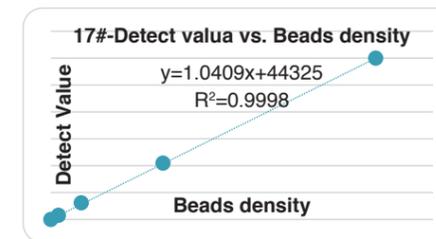
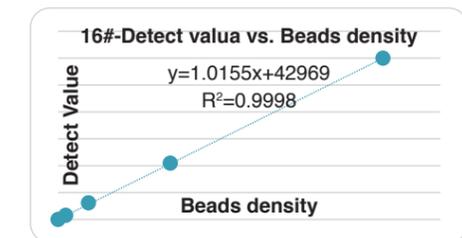
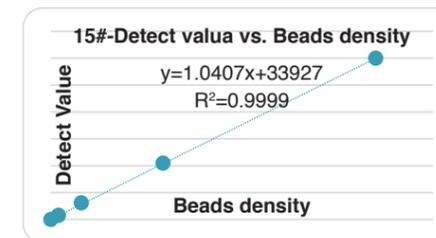
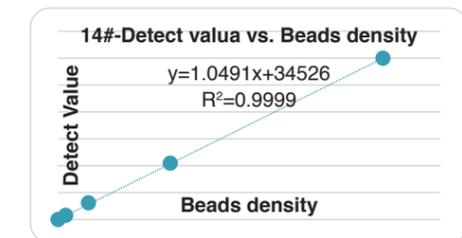
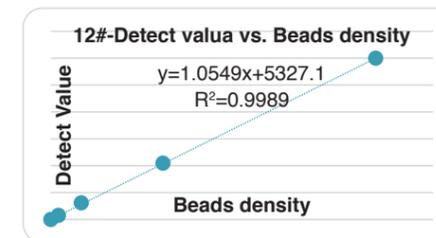
在细胞浓度范围 2×10^5 /mL- 1.5×10^7 /mL内，Countstar® Rigel的浓度和活率测量差异CV小于5%。



样品孔内测量结果 CV < 5%
样品板间测量结果 CV < 5%



同个Countstar® Rigel仪器内测量结果 CV < 5%
不同Countstar® Rigel仪器间测量结果 CV < 5%



6台Countstar® Rigel仪器的线性测试结果

FCS 类流式软件 (选配)

FCS Express系列软件是De Novo公司开发的一款对细胞荧光图像进行量化分析的软件。FCS Express可以进行单细胞/多细胞分析参数设定和细胞图像分析，特别是在Countstar® Rigel与FCS Express联用可以对细胞周期进行分析，帮助使用者获得更多的分析结果。



符合GMP和FDA 21 CFR Part 11法规

为了适应现代生物制药的需求，Countstar® Rigel软件系统的数据管理和控制性能完全符合FDA 21 CFR Part11，如下特点保证了该功能的合规性：



安全用户登录系统



用户等级权限管理

操作时间	用户名	事件类型	操作事项
2018-05-31 16:27:32	admin	数据-图片导出	类型: 台盼蓝计数 测试编号: 20180522112712 样品ID: fey-1
2018-05-31 16:27:24	admin	数据-图片导出	类型: AOPI Via-PBMC 测试编号: 20180522113212 样品ID: fey-9
2018-05-31 16:27:10	admin	数据-图片导出	类型: AOPI Via-PBMC 测试编号: 20180531161702 样品ID: Chamber3
2018-05-31 16:26:51	admin	数据-图片导出	类型: 台盼蓝计数 测试编号: 20180522113406 样品ID: fey-2

电子签名和电子记录

3Q验证和标准颗粒



标准微珠颗粒



IQ/OQ/PQ验证

人性化的数据库管理

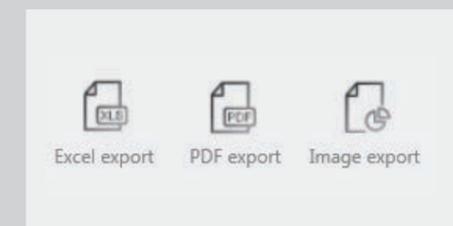
智能化、人性化的设计，灵活性、创新性的用户体验，保证了数据结果的可靠性和可追溯性。

数据储存



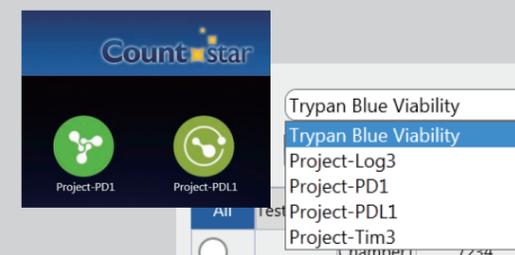
500GB内存，可存储超过16万个样品的数据。

数据输出



支持PDF、EXCEL、JPEG；USB2.0、3.0外接端口使数据输出更便捷。

数据多项目管理



通过添加实验类型的方法，使数据按照项目类型进行分类，新的检测结果会自动保存到该项目的数据库中，使数据整理和维护更轻松。

数据搜索

All	Test Name	Sample ID	Sample volume	Total cell conc	Live cell conc	Dead cell conc	Viability
<input type="radio"/>	Chamber3	4152	3.87E+06	2.95E+06	9.22E+05	76.15	
<input type="radio"/>	Chamber3	4096	3.82E+06	2.9E+06	9.2E+05	75.94	
<input type="radio"/>	Chamber3	3904	3.64E+06	2.72E+06	9.17E+05	74.83	

通过实验或项目名称，测试日期，关键词进行检索，得到的数据可以查看、打印或输出。

Countstar® Rigel 系列应用

Countstar® Rigel S2

Countstar® Rigel S2系统使用双色荧光，能够染色活的和死的有核细胞，即使存在碎片、血小板和红血细胞，也能产生准确的活率结果。针对来自外周血、脐带血、骨髓和其他复杂样品的原代细胞，能够进行有效的细胞计数、活率和浓度分析。可用于各种研究领域，包括：全血中的有核细胞、PBMC、脾细胞、干细胞、CAT-T及NK细胞。

激发光: 480nm, 525nm
检查滤光片: 535nm, 600LP

Countstar® Rigel S3在S2的基础上增加了DAPI通道,是一款集三荧光通道加明场的一体化细胞分析仪，为细胞计数、细胞活率以及T/NK细胞介导的细胞毒性检测，提供了一体化解决方案。仪器内预置了多个实验类型，包括台盼蓝计数、AO/PI双荧光计数、细胞杀伤、细胞凋亡和细胞周期等。

激发光: 375nm, 480nm, 525nm
检查滤光片: 460nm, 535nm, 600LP

Countstar® Rigel S3

Countstar® Rigel S5

Countstar® Rigel S5系统在S3的基础上增加了PE通道，可以开展除了快速的细胞活率，浓度测定以外，还可以开展多色荧光实验。包括：细胞凋亡（Annexin V/PI/DAPI）、细胞转染（GFP/YFP/RFP）、CD marker实验（DAPI/FITC/PE）和细胞杀伤实验（Hoechst33342/Calcein-AM/PI）等。更多的通道组合给用户带来更灵活的实验选择以及更多的实验功能。

激发光: 375nm, 480nm, 525nm
检查滤光片: 460nm, 535nm, 580nm, 600LP

Countstar® Rigel S6荧光图片流式分析仪是一款基于图像法检测，配合4荧光通道，运用独特的图像采集系统，可产生明场以及四张荧光图像，让实验结果更为直观。同时，可通过采集图像中的细胞信息，使用FCS类流式软件分析进行定量分析。它将荧光显微成像与统计学群体分析结合于一身，既能提供细胞群的统计数据，又可以获得单个细胞的图像，从而提供细胞形态学信息。

激发光: 480nm, 525nm, 375nm, 620nm
检查滤光片: 460nm, 535nm, 580nm, 600LP, 665LP

Countstar® Rigel S6

实验类型	Countstar® Rigel S2	Countstar® Rigel S3	Countstar® Rigel S5	Countstar® Rigel S6
明场活率计数	✓	✓	✓	✓
双荧光法活率计数(AO/PI)	✓	✓	✓	✓
细胞周期(PI)	✓*	✓*	✓	✓
细胞凋亡(Annexin V-FITC/PI)	✓*	✓*	✓	✓
细胞凋亡(Annexin V-FITC/PI/Hoechst)		✓*	✓	✓
GFP转染	✓	✓	✓	✓
YFP转染			✓	✓
RFP转染	✓	✓	✓	✓
细胞杀伤(CFSE/PI/Hoechst)		✓	✓	✓
抗体亲和力(FITC)	✓	✓	✓	✓
表面标记物 CD Marker (三色)			✓	✓
表面标记物 CD Marker (四色)				✓
类流式软件FCS Express	选配	选配	✓	✓

√*. 此标志表示仪器在选配了FCS软件下，才能进行此实验

产品技术参数

测量直径范围	3μm ~ 180μm
浓度范围	1×10 ⁴ ~ 3×10 ⁷ /mL
物镜放大倍数	5x
成像元件	140万像素 CCD相机
USB	1×USB 3.0 1×USB 2.0
内置存储	500GB
电源	110-230 V/AC, 50/60Hz
屏幕	10.4英寸
重量	13kg (28lb)
尺寸 (W×D×H)	机器尺寸: 254×303×453mm 外包装尺寸: 430×370×610mm
工作温度	+10°C ~ +40°C
工作湿度	20% ~ 80%

双荧光计数法 (AO/PI)

双色荧光 (AO/PI) 可以对活细胞和死有核细胞进行染色, 即使存在碎片、血小板和红细胞也能产生精确的存活结果。对“杂乱”和“干净”样品的精确分析, Countstar开发的双荧光计数法可以对整个样品处理步骤中的不同环节进行质量评估——从样品最初收集到分离, 再到冷冻保存。

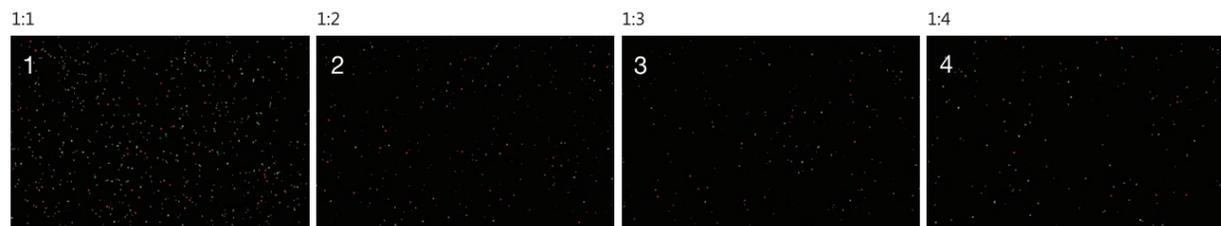
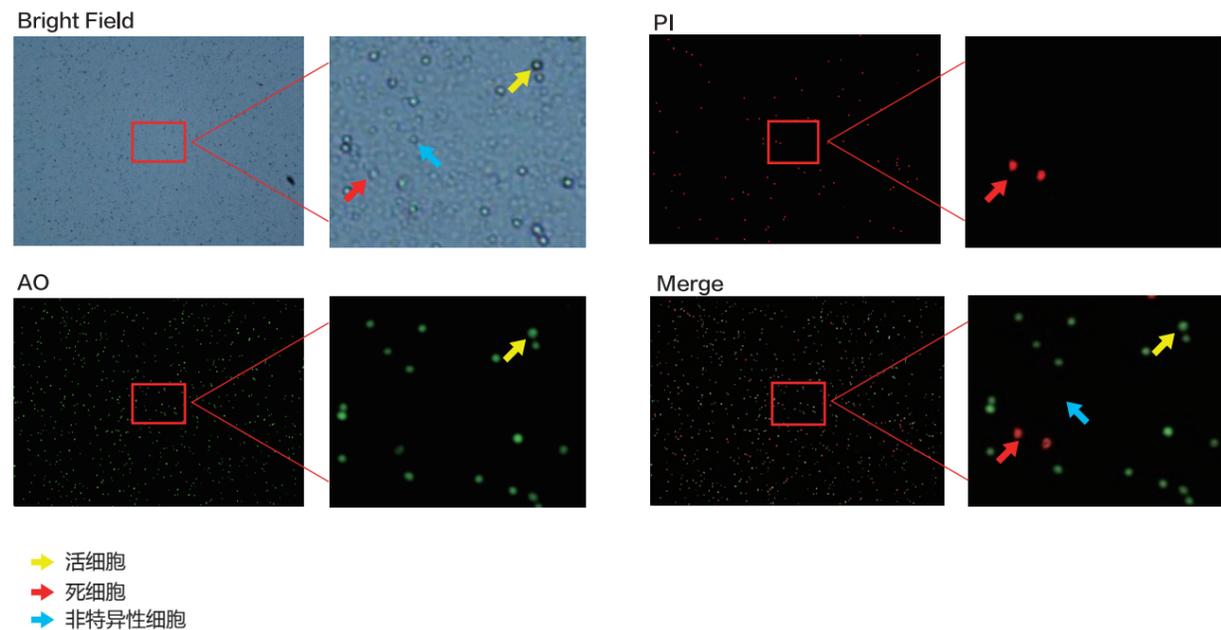
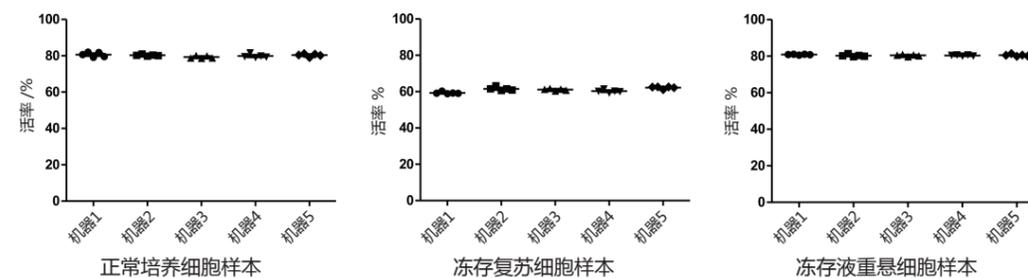
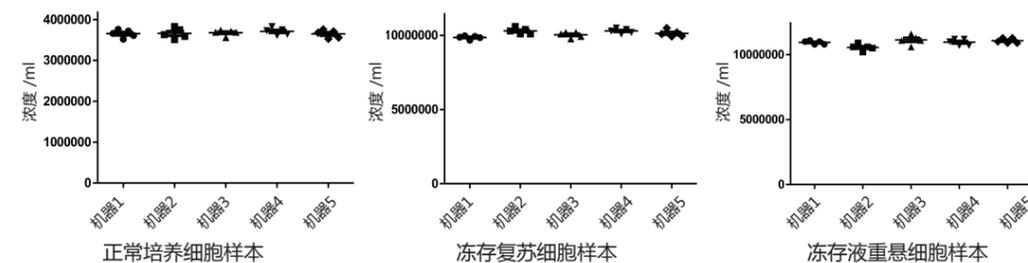


图 2 测定PBMCs梯度稀释后的细胞活率和浓度

5台仪器用AO/PI的方法测试不同样本 (正常培养, 冻存液重悬, 冻存复苏) 的结果, 每个样本在一台仪器上重复测试5次。不同仪器间测试的活率, 活率结果CV值<5%



不同仪器间测试的浓度, 浓度结果CV值<5%



细胞杀伤

CAR-T疗法，用基因工程的方法对T细胞进行基因改造，从而产生可以直接和靶标肿瘤细胞结合并攻击的CAR-T细胞。

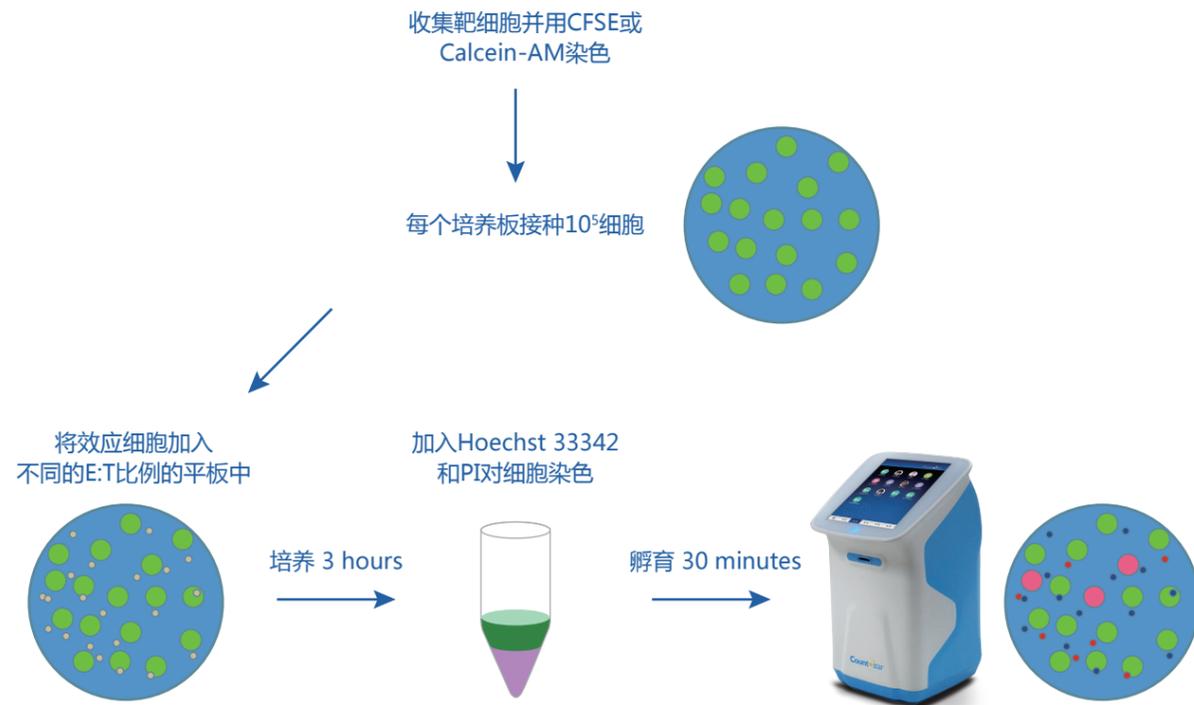


图 1 实验步骤

(PS: 靶细胞可以用CFSE或Calcein-AM染色, 如果细胞用GFP转染, 则不需要染色其他染料)

对靶细胞用无毒的无放射性的钙黄绿素进行标记 (或者GFP转染标记), 我们可以观察CAR-T细胞对肿瘤细胞杀伤效应。活的肿瘤细胞会含有钙黄绿素或者GFP, 死的肿瘤细胞不含有钙黄绿素或者GFP。Hoechst33342被用来染色所有的细胞 (包含T细胞和肿瘤细胞), PI用来染色所有的死细胞 (包含T细胞和肿瘤细胞)。这种染色策略可以让我们对细胞进行精准的区别。

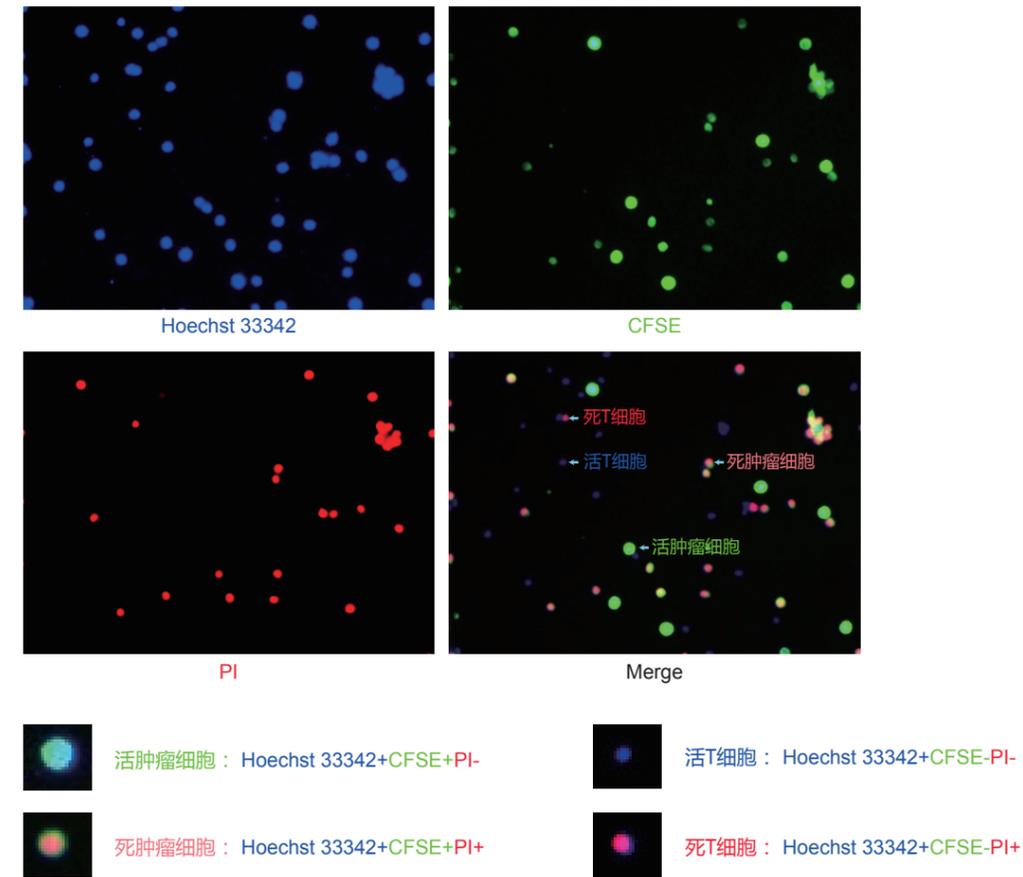


图 2 Countstar® Rigel S3分析T细胞介导的细胞毒性图片

细胞毒性% = (对照组的活细胞数 - 实验组的活细胞数) / (对照组的活细胞数 x 100)

E:T比率对K562的细胞毒性研究, 随着E:T比率增加, 所得荧光图像显示Hoechst + CFSE + PI + 靶细胞的增加

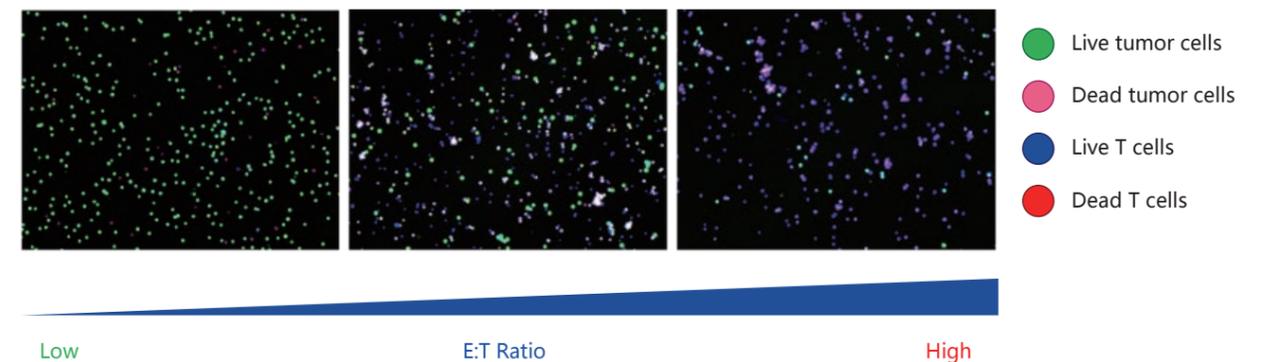
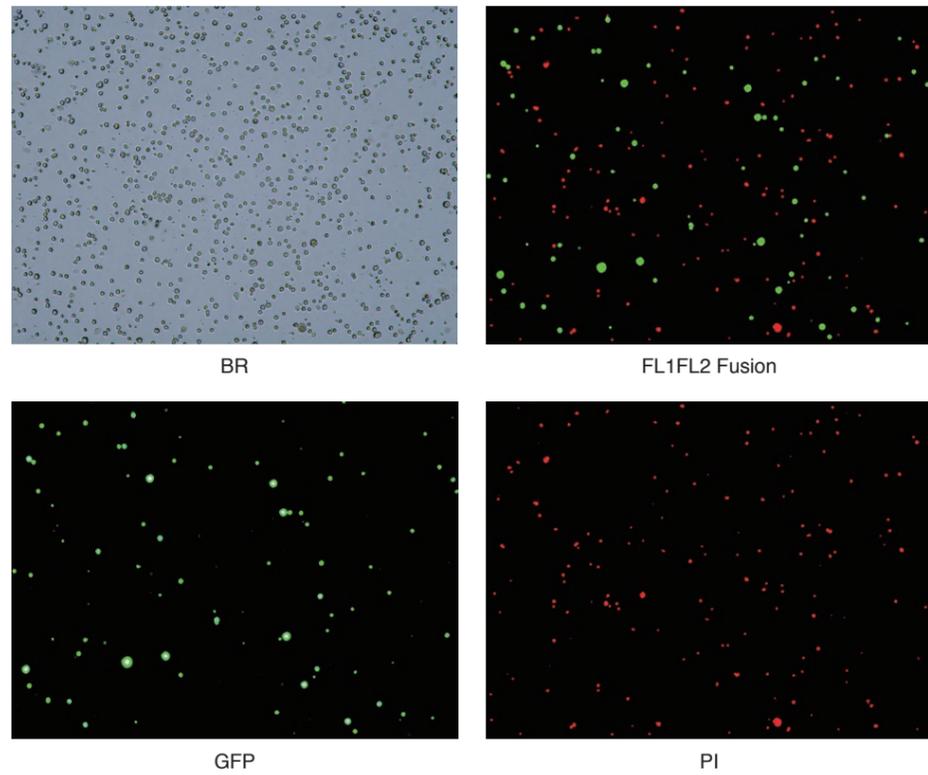


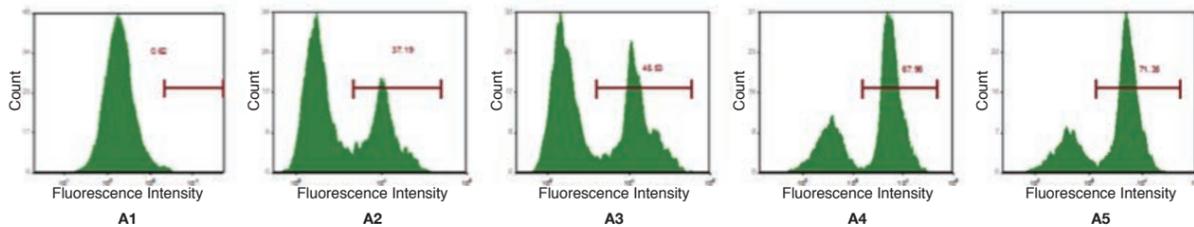
图 3 K562靶细胞与效应细胞混合培养3h后, Hoechst 33342, CFSE, PI染色的荧光图像

细胞转染

由于后续的实验准确度取决于转染率结果的准确性。实验室常用荧光显微镜或流式细胞仪测定转染效率。但是，荧光显微镜没有分析软件，依赖人眼计数会带来主观误差，而且流式细胞仪需要经过复杂的仪器学习和操作。Countstar® Rigel为实验室带来了快速、准确并且简便的转染效率测定方法。

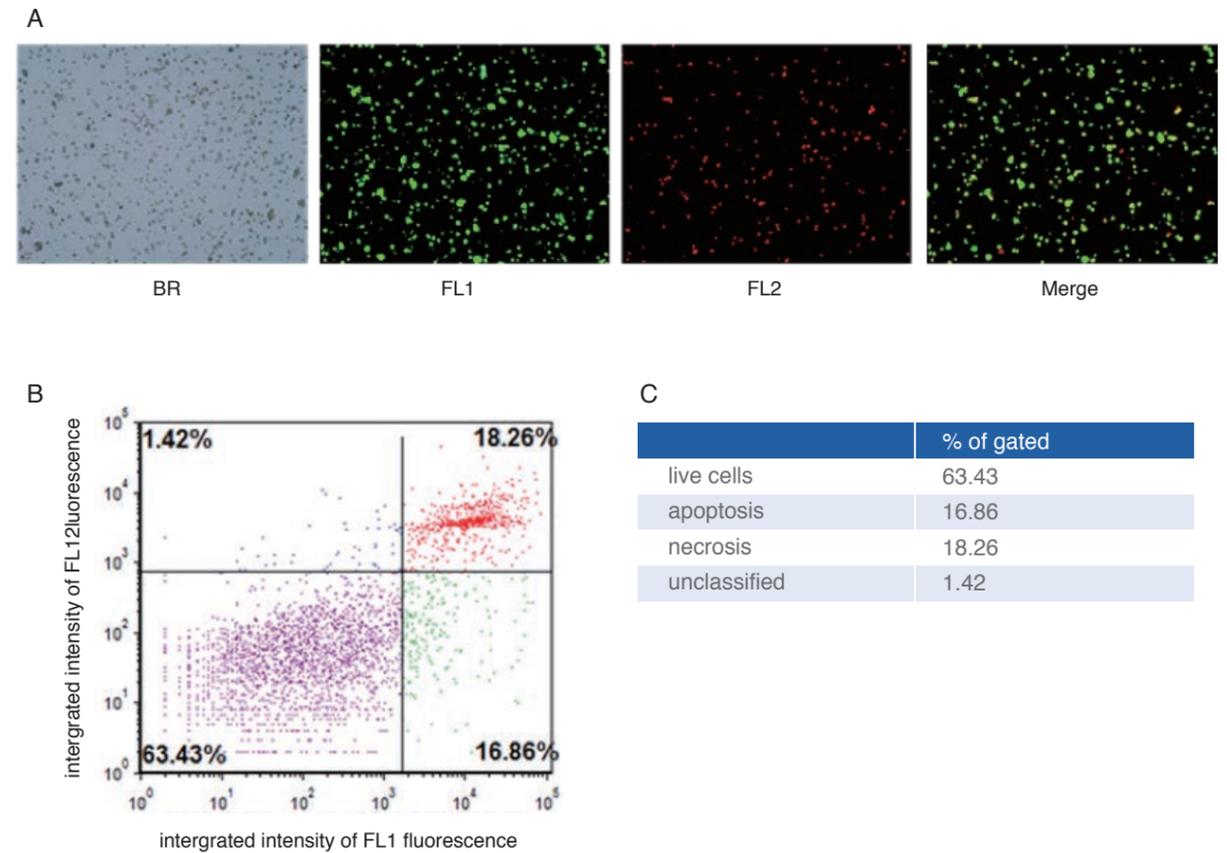


Countstar® Rigel可以导出类流式分析格式的文件，用FCS express可以快速进行类流式分析



细胞凋亡

细胞凋亡可以用Annexin-V- FITC和7-ADD进行检测。磷脂酰丝氨酸 (PS) 通常仅见于健康细胞的质膜胞内，但在早期细胞凋亡期间，膜不对称性丧失且磷脂酰丝氨酸转位至外部。

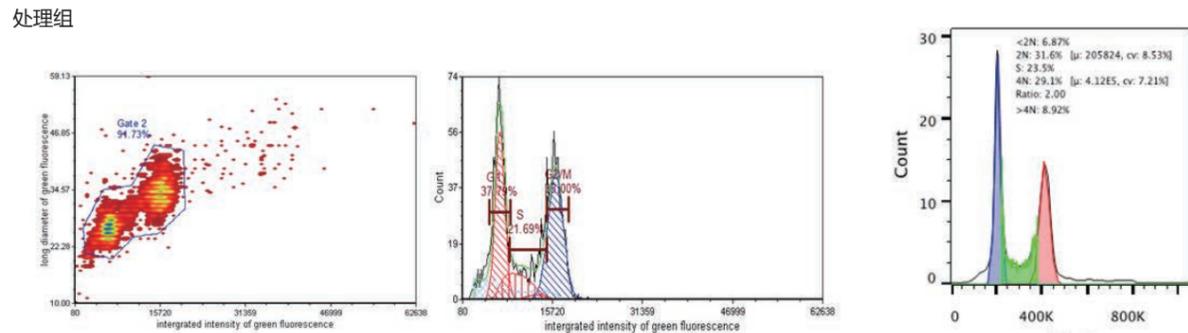
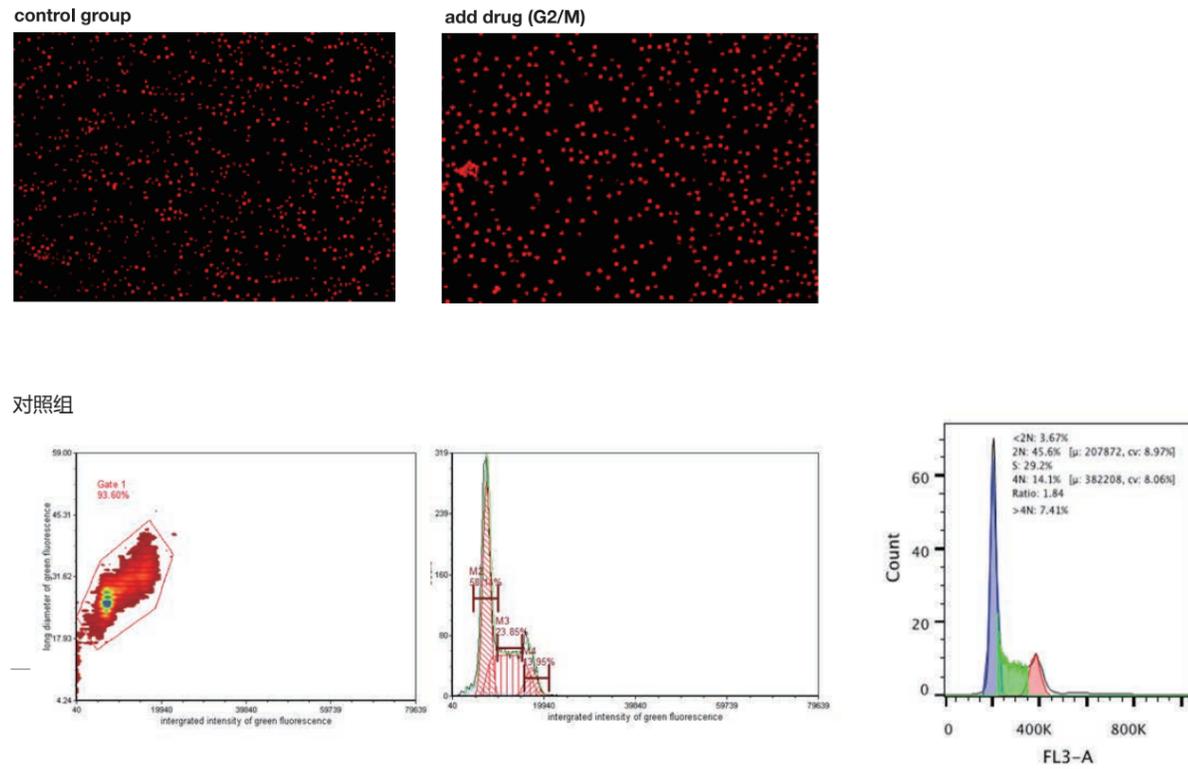


Countstar® Rigel检测MSCs的凋亡A. MSCs凋亡检测的荧光图像B.通过FCS软件分析得到的MSC凋亡散点图C.正常细胞、凋亡细胞、坏死或极晚期凋亡细胞的百分比。

细胞周期

细胞周期是细胞实验室一项常规的实验。通常情况下，实验室可能会使用其它流式细胞仪检测，但是这样的检测方法通常费时费力。Countstar® Rigel提供一种实验室桌面的解决方案，可以让用户快速简单的知道细胞周期结果，并且分析出细胞周期的不同过程。

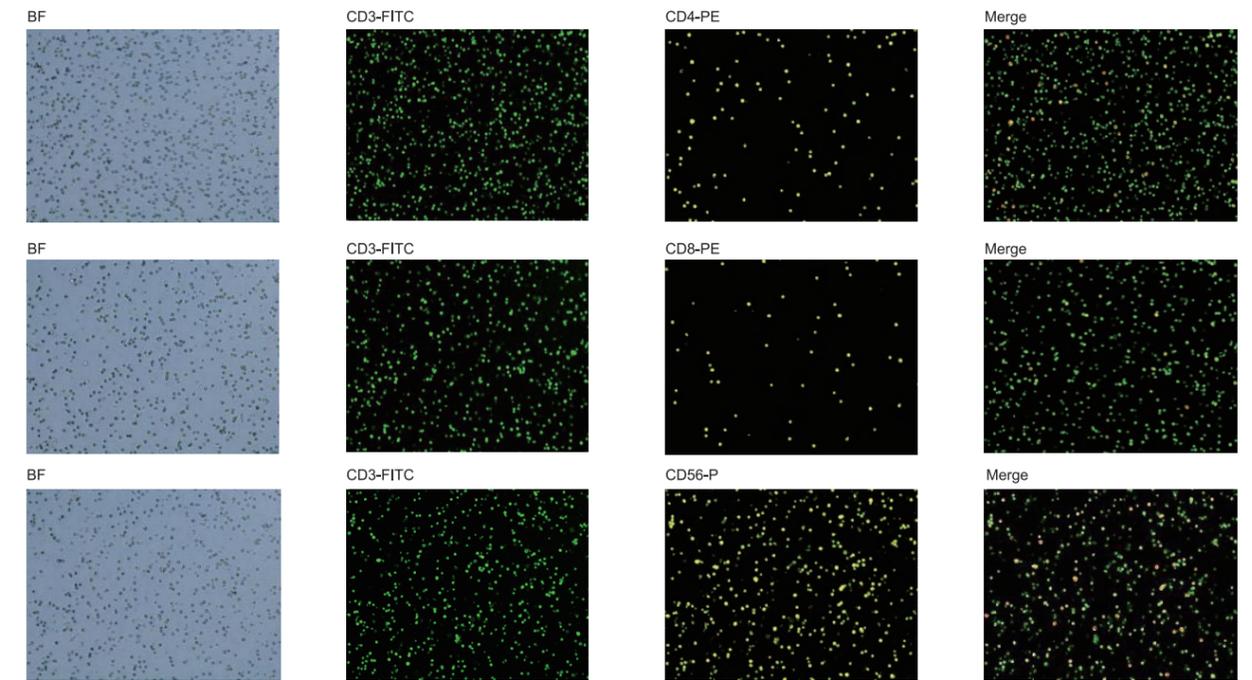
MCF-7细胞分为对照组和实验组，其中实验组添加 4μM Nodz (Nocodazole) 阻滞细胞周期值G2/M，对照组不进行任何处理。采样 3000 个细胞即可，用FCS Express 6.0软件进行分析，Countstar® Rigel获得了与流式相近的结果。



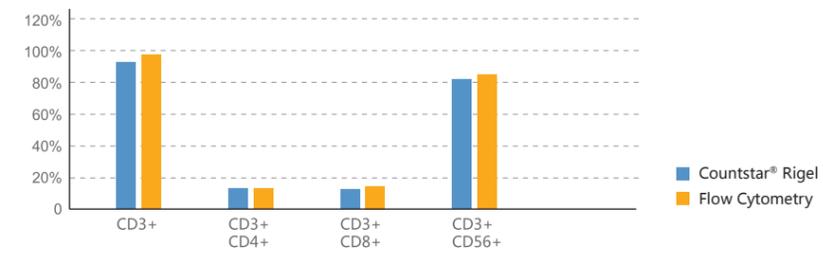
细胞亚群分析——CD Marker检测

Countstar® Rigel提供了一种更为快速和操作简便的方法来使免疫细胞分型工作变得更加高效。通过可见的细胞图像和强大的数据分析功能，Countstar® Rigel能够让用户从此不再需要大量复杂的对照设置及荧光补偿调整，即可获得稳定可靠的结果。

CIK免疫细胞研究是一个很好的例子。经过培养的小鼠PBMCs细胞，经过IL-6诱导后使用CD3-FITC, CD4-PE, CD8-PE, CD56-PE几种抗体染色，之后在用Countstar® Rigel和Flow Cytometry同时分析。在此检测中分为CD3-CD4组、CD3-CD8组和CD3-CD56组三组进行，测定不同细胞亚群所占比例。



IL-6诱导PBMCs后各细胞亚群所占比例



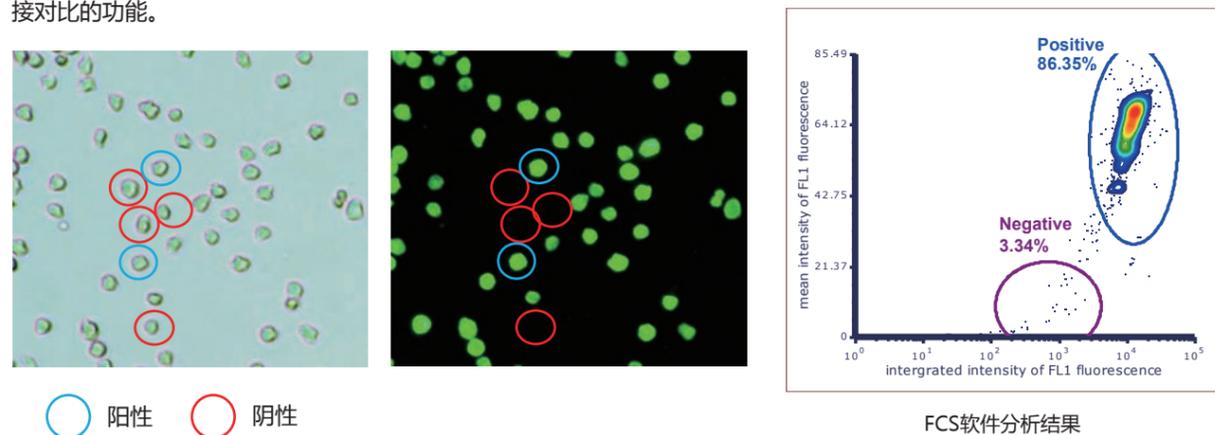
Countstar® Rigel与Flow Cytometry相比具有稳定的线性一致性。

免疫荧光法检测退化细胞株

在细胞增殖和传代过程中，由于退化或基因突变，细胞失去了一些阳性克隆，导致单克隆抗体生产产量下降。监测细胞退化是改善培养条件和提高产量的重要过程控制。

利用免疫荧光法对细胞株中的抗体进行染色，Countstar® Rigel进行拍照分析，从图片中可以看出部分细胞已经不产生抗体。

利用FCS软件对结果进行定量分析显示细胞系中抗体表达阳性率为86.35%。与此同时，FCS软件提供了图像与定量数据直接对比的功能。



抗体亲和力检测

免疫荧光法测定细胞水平的抗体亲和力大小是评价抗体效果非常重要的指标，Countstar® Rigel可通过间接免疫荧光法检测不同抗原抗体反应呈现的平均荧光强度，直接定量评价抗体亲和力大小，同时也可检测细胞浓度、活率。此外，可获得细胞图片，实验过程中实时拍摄明场和荧光图像。

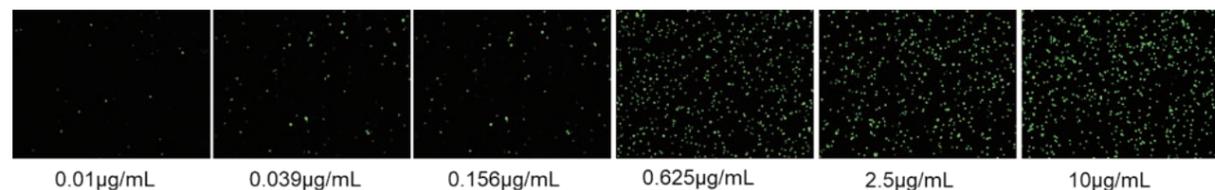


图1 0.01, 0.039, 0.156, 0.625, 2.5, 10 µg/ml AB4与CHO细胞反应后的细胞图像

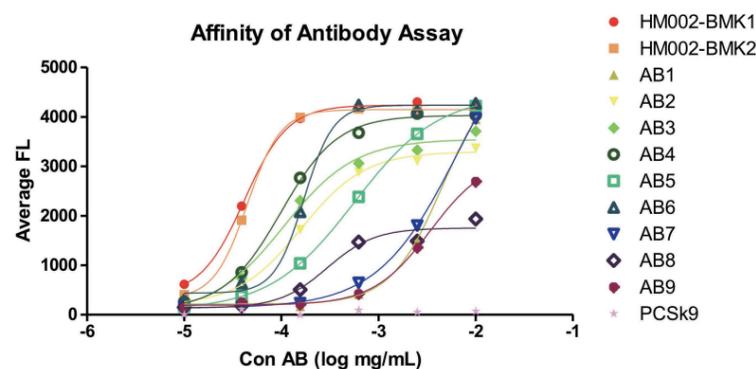
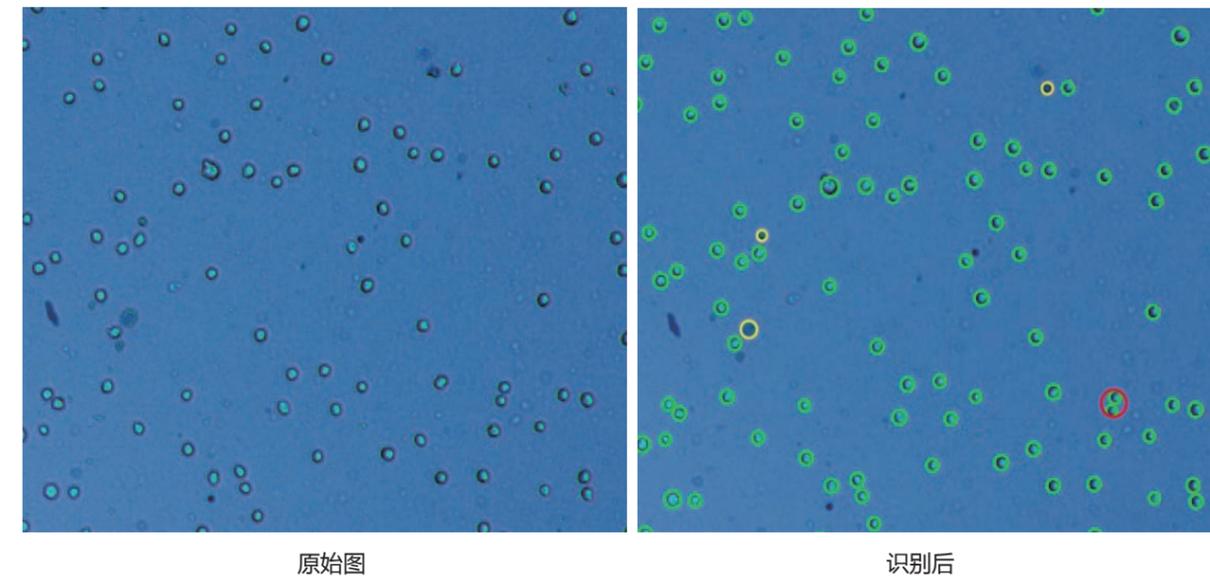


图2 不同浓度梯度抗体下不同抗原抗体反应中平均荧光强度

明场细胞计数及活率检测

在明场条件下进行细胞计数及活率分析是一种快速和简单的方法，所有的细胞学实验室依然采用此方法进行细胞的快速分析。

Countstar® Rigel兼容了经典明场台盼蓝计数方法，让用户快速检测细胞活率、浓度和死活细胞数量等参数。



准确稳定源自多重技术保证

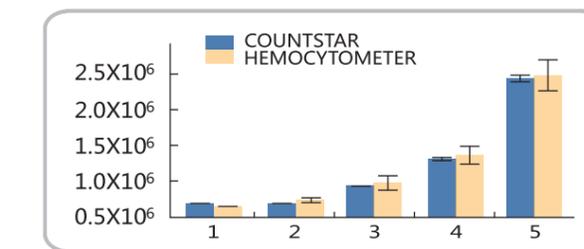


图1. 以CHO为例，Countstar® Rigel与血球计数板浓度测量结果显示两种方法无差异，而Countstar® Rigel的计数结果则更为稳定。

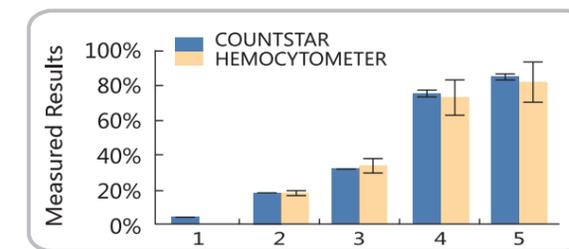
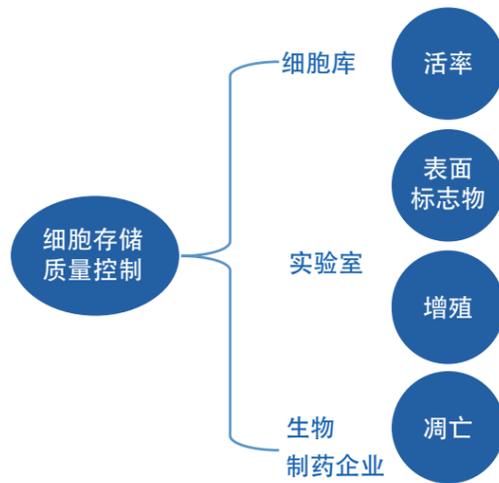


图2. 以CHO为例，Countstar® Rigel与血球计数板的活率测量结果显示两种方法无差异，而Countstar® Rigel的计数结果则更为稳定。

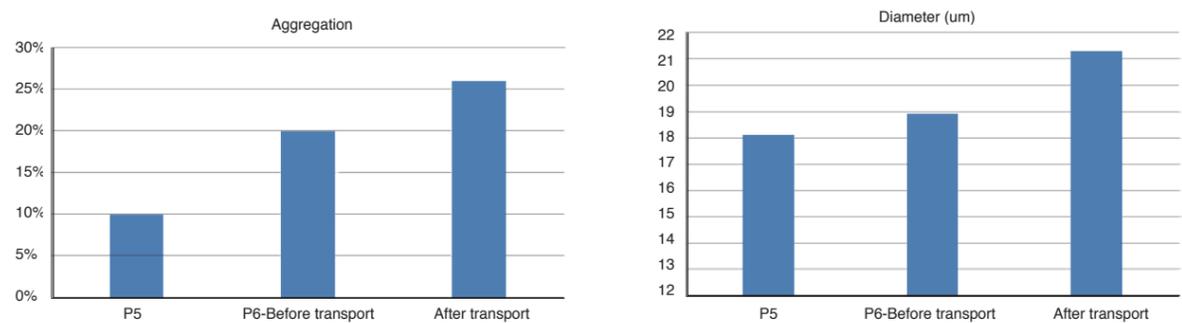
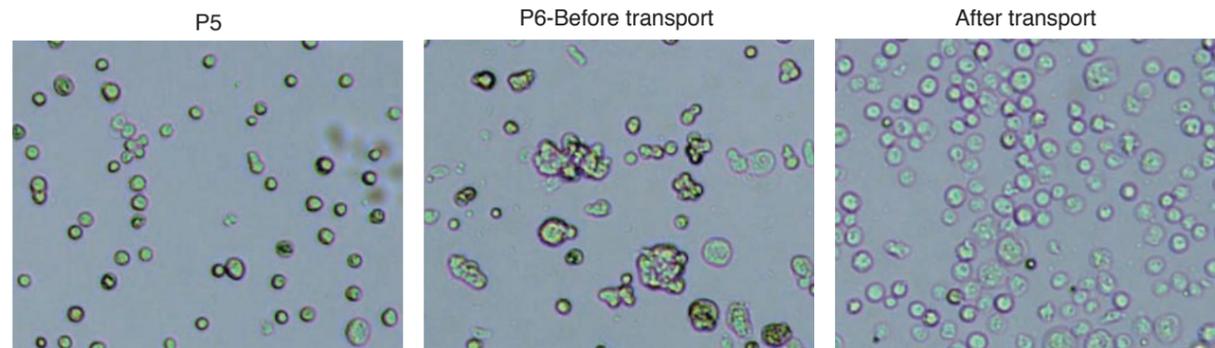
Countstar® Rigel在细胞存储质量控制中的应用

在细胞存储过程中，细胞的质量管理关系到能否确保安全、有效的细胞产品用于实验、生产以及建立可信、可靠、可比和可重复的流程。目前以单个细胞为对象的质量监控方法主要有显微镜，流式细胞仪等，但是显微镜容易引入人为因素，造成检测结果不可控。另外，流式细胞仪的操作维护相对复杂。

Countstar® Rigel 除了可以全自动获得细胞清晰的形态图像，而且能够快速将图形量化为数据进行客观的定量与客观的比较，避免人为主观判断产生的误差，配以完善的数据管理系统，为细胞存储质量控制提供多重的保证。



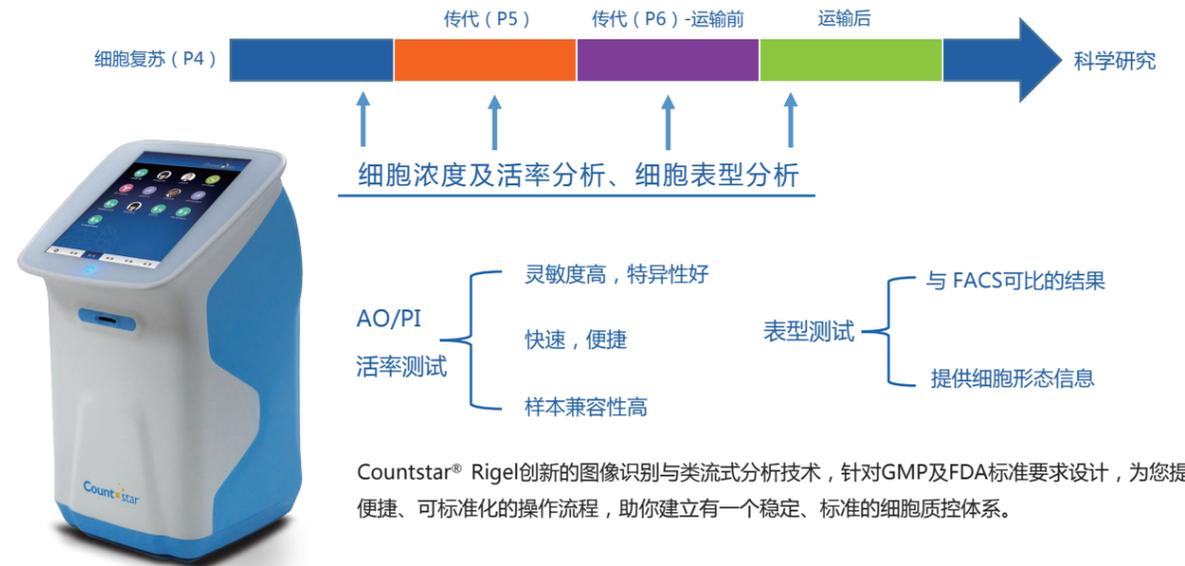
监测干细胞形态变化



Countstar® Rigel拍摄和分析ADMCs在传代和运输过程中的形态变化

Countstar® Rigel在干细胞研究过程中的应用

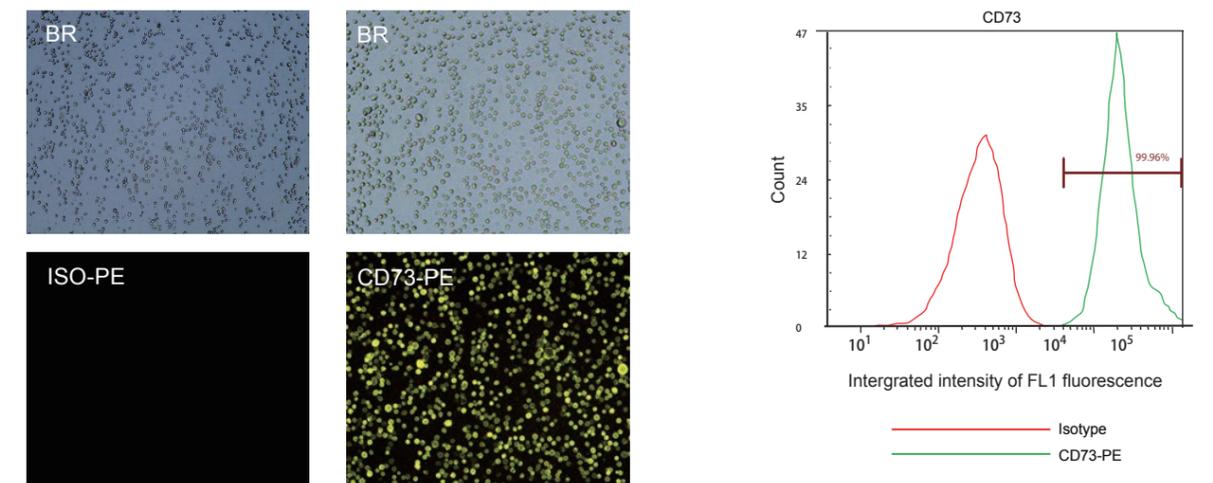
在干细胞研究领域，从干细胞复苏至最终用于研究，中间过程需要经历细胞传代及运输。因此细胞在整个过程中的质量变化对最终的研究结果有着至关重要的影响。细胞质量包括了浓度活率以及细胞表型。Countstar® Rigel双荧光活率计数方法，可对刚复苏以及运输后的干细胞进行快速准确的活率浓度测量，同时高灵敏度的光学系统，可精确、便捷的完成干细胞表型分析。



帮您建立标准的细胞质控体系

- 桌面型小仪器，20μL样本，触屏操作，20s得到细胞质控结果；
- 数据结果准确，可与流式对比；
- 荧光染色，避免血液分离等繁琐操作步骤，省时省力；
- 按照GMP、cGMP和FDA数据存储、电子签名要求的规范设计，保证信息来源可靠，可追溯；
- 图像+数据，结果真实可见；

干细胞纯度鉴定：提供图像和定量统计的双重验证



Countstar® Rigel检测ADMSCs中的CD分子表达水平



ALIT Life Science Co., Ltd.

上海睿钰生物科技有限公司

热线电话：400-820-2912

地址: 上海市松江区沈砖公路6000号C3-301室

网址: www.countstar.cn

电话: +86 021-3373 5060

传真: +86 021-3373 5080

邮箱: marketing@countstar.cn

仅限于研究用途，不可用于诊断操作

所有解释权归上海睿钰生物科技有限公司所有

