

细胞计数与活力分析中的好帮手



你是怎么样进行细胞计数的？看着显微镜，拿着计数器，1、2、3.....直到 200？数完之后似乎有点头晕眼花，结果还不是很准确。在这个讲究速度和效率的时代，你似乎有些大材小用了，应该把时间花在更有意义的事情上。这些简单的工作就留给那些细胞分析计数仪去做吧。

现在已经有了很多种能自动完成细胞计数的仪器，同时还能分析细胞活力、细胞大小、细胞的生长曲线等等。而且，这些仪器既准确、简单、快速，不需要对样品进行稀释，也几乎不需要清洗，把你从那些繁重的体力劳动中解放出来。谁说做生物实验一定是体力劳动，我们也可以成为脑力劳动者。

通用电气（GE Healthcare）最近就推出了一款非常小巧的全自动细胞计数分析仪——Cytorecon。该仪器采用了高分辨率的 CCD 成像技术及自动软件分析功能，可以快速完成包括贴壁细胞、悬浮细胞、白细胞、培养细胞、酵母细胞等细胞样品的计数和浓度计算，结合台盼蓝染色技术，还可以快速完成细胞存活率的分析。除了细胞样品以外，它还支持一些细菌和微生物样品的浓度计算。



在进样的设计上，Cytorecon采用了 20 孔的特制样品盘设计，只需要用移液枪在样品盘上点上样品，即可完成细胞计数和浓度计算。而且样品需要量非常少，只需要 11ul，即使是非常珍贵的样品也不用担心浪费啦。另外，在手工进行细胞计数时，大部分细胞需要先稀释再计数。现在有了Cytorecon，即使细胞浓度超过 10^7 个/ml，也无需稀释就能完成浓度分析。它内置了多种细胞分析模型，能准确测定附着在一起的细胞。

仪器可连续对 20 个样品进行拍摄和计数。每个样品拍摄 6 个视野，并自动计算细胞总数和细胞浓度。样品盘每个孔均为一次性使用，避免样品交叉污染，也避免传统细胞计数仪器的进样针会堵塞的麻烦，无需清洗和维护。便携的样品盘也易于长期保存，样品少时可以分多次使用，一方面提高了灵活性，而另一方面也大大降低了成本。

Cytorecon 内置了方便上手的控制分析软件，通过简单的参数设置就可以设定拍摄的样品数量，以及完成细胞的计数、浓度计算和活力分析。有了如此方便的帮手，相信细胞计数将会变得无比轻松，您再也无需枯燥地对着显微镜，以损耗视力作为代价一个一个进行细胞计数了。

说到细胞计数仪，就一定不能不说库尔特了。最初库尔特公司设计的电子计数系统应用

最为广泛。它的原理是细胞在流经一个精细的管子时，会增加流过这一管子的液体的电阻，所产生的一系列脉冲就可以被分类和计算。但是如果只是单纯的计数，死细胞和细胞碎片就不能被区别开来，会产生一定的误差。只有结合了细胞活力的数量才有意义，因此新的细胞计数仪还具有测量细胞活力的功能。

贝克曼库尔特的细胞活力分析仪——Vi-CELL 系列，扩展了流式细胞仪的功能又继承了库尔特计数仪的特色与实用性。它应用目前广泛认可的台盼蓝染料排斥法 (Trypan Blue Dye Exclusion Method) 的原理，结合先进的 CCD(电荷耦合器) 成像技术，几分钟就能完成细胞计数，并得到具有统计学意义的更多参数。



台盼蓝这种染料在正常情况下不能透过细胞膜，进入细胞。当细胞死亡(失去活力)时，其细胞膜因破损而被台盼蓝染料透过。死亡的或失去活力的细胞因为吸收了染料，其色调比有活力的细胞(活细胞)要暗淡。对该种色调明暗的对比进行测量，即可判断细胞的活力。

如果使用最新的 Vi-CELL XR，您只需加入 0.5 ml 左右样品到试管，放进试管槽即可，加样时不必绝对准确，仪器会自动准确无误地完成取样过程。样品的取样、染色自动完成，不再依赖人手，避免人为误差。若配合 12 位的全自动的样品输送器，只须将测试的样品试管放入槽内，仪器即可自动依次将样品管连续旋转输送至工作位置，开始分析。你可以去休息一下，或处理更重要的事情，直到样品分析完毕。

Vi-CELL 还可以与培养箱或生物反应器配合，实时监测细胞培养过程。以往你要人工观察细胞的反应过程，人手收集大量的原始数据，分类、整理、保存、提取、比较等等都要花去许多宝贵的时间。费时费力，而且容易出错。Vi-CELL 不但能实时监测细胞的状态，还能记录和储存整个生物反应过程的所有数据，并自动描绘生物周期的生长曲线。通过 Vi-CELL 简单的软件操作界面，你可以随时调出任意时刻的相关数据和图像，如生长速度、倍增时间、存活率、存活细胞浓度、存活细胞的直径分布等。

Vi-CELL XR 检测细胞的下限从原来的 5 微米降到 2 微米，可以分析酵母或者更小的细胞。与 Vi-CELL S 和 Vi-CELL AS 相比，在很多功能上都有所改进：具有自动对焦功能，使用更方便；图像放大 6.75 倍，你可了解所关心的某一图像的细节之处；环状测量使细胞碎片分离；取样和混匀的过程不再是固定的，可以调节，因为有些细胞系比较脆弱，而有些又很粘稠，这种因细胞而异的做法能改善分析的结果。

丹麦 ChemoMetec A/S 公司也开发了 NucleoCounter 系列细胞计数的仪器，可以对哺乳动物细胞、酵母细胞，精子和牛奶中体细

胞这四种类型的细胞进行计数。它的技术原理是基于 ChemoMetec 荧光显微镜、CCD 成像和荧光染料 PI (碘化丙啶)。



NucleoCounter Mammalian 计数仪的核心是内置的荧光显微镜设计，包括 LED 激发光源，光学元件和 CCD，能检测与核酸结合的荧光染料 PI 发出的信号。PI 是一种荧光分子和高选择性的 DNA 染料。它不能通过具有完整细胞膜的活细胞，死细胞因膜破损，可被 PI 染成红色。因此如果要测定死细胞浓度，可以直接将样品送进去分析。不过想要测定总

细胞浓度的话，在分析之前就要先裂解样品，比其他的分析仪多了一个将样品与裂解液和稳定液混合的步骤。细胞的大小与分析无关，因为它测量的只是发荧光的细胞核，所以在测量过程中也不必选择特定的细胞类型。

NucleoCounter 的分析过程还挺快，按下“Run”键，30 秒之后就会在屏幕上显示结果。不过每次只能分析一个样品。

NucleoCounter 还有一个秘密武器就是一次性的 NucleoCassette 板。

NucleoCassette 包含整个流路系统和分析室，而且 PI 固定在它的内部，因此样品分析后丢弃即可，不需要清洁和维护。每块 NucleoCassette 分析室的厚度都经过严格检测，可精确决定每个测量的分析体积，因此 NucleoCounter 也无需校正，相当省心。

名称	CytoRecon	Vi-CELL XR	NucleoCounter
细胞浓度	$5 \times 10^5 - 2 \times 10^6$ 细胞/ml	$5 \times 10^4 - 1 \times 10^7$ 细胞/ml	$5 \times 10^3 - 2 \times 10^6$ 细胞/ml
细胞直径	2-60 μm	2-70 μm	无限制
样品体积	11 μl	0.5 ml	50 μl
活力范围	0-100%	0-100%	0-100%
CCD 分辨率	1280 \times 1024	1394 \times 1040	未知
分析时间	10 秒 (成像时间)	2.5 min	30 秒
分析参数	活细胞数目, 活细胞的浓度, 死细胞的数目, 死细胞的浓度, 总细胞的浓度, 细胞存活率, 总细胞数目	细胞存活率、总细胞数、存活细胞数、总细胞浓度、存活细胞浓度、细胞的直径及分布、细胞的平均直径、细胞圆度及分布、细胞平均圆度、细胞的生长速度、细胞倍增时间、细胞生长曲线。	活细胞数目, 活细胞的浓度, 死细胞的数目, 死细胞的浓度, 总细胞的浓度, 细胞存活率, 总细胞数目
通量	20	12	1
染料	台盼蓝	台盼蓝	碘化丙啶 (PI)
便利性	好	好	一般
制造商	GE	Beckman Coulter	ChemoMetec

(生物通 余亮)