



LUNA-FL[™] 自动荧光细胞计数仪

用户使用手册



北京东胜创新生物科技有限公司

根据 Logos Biosystems LBSM-MD-ML-LUF-001 Rev. 8 user manual 编译







重要声明:

LUNA-FL[™]自动荧光细胞计数仪是一款仅能用作科学研究的实验室电子设

备。它**不是**一款<mark>医疗</mark>或者<mark>体外诊断</mark>设备。

目录
安全信息(Safety Information)
本手册中使用到的图标符号
使用 LUNA-FL [™] 荧光细胞计数仪的通用指导3
环境条件4
第一章 产品介绍(Introduction)
1.1 产品概览 (Product Overview)5
1.2 产品内容(Product Contents)
1.3 产品参数 (Product Specifications)7
1.4 产品描述(Product Description)8
第二章 设置 (Setting Up)11
2.1 安装 (Installation)11
2.2 启动界面(Start-Up Screen)11
2.3 设置 (Settings)16
2.4 设置时间与日期 (Setting the date and time)16
2.5 保存选项 (Save Options)17
2.6 计数选项 (Countng Option) 17



2.7 结果/打印机/计算器选项(Result/Printer/Calculator Options)	
第三章 明场视野细胞计数(Bright Field Cell Counting)	21
3.1 样品准备 (Sample Preparation)	21
3.2 加样品到计数板(Loading Samples into Slides)	21
3.3 计数细胞(Counting Cells)	22
3.4 使用 Tag 功能(Using the Tag Founction)	24
3.5 细胞尺寸和数量的分布 (Cell Size and Number Distribution)	25
3.6 使用稀释计算器(Using the Dilution Calculator)	
3.7 保存图像并生成一个当前计数结果的 PDF 报告(Saving Images and Generating a PDF R	eport of the
Current Count)	
3.8 打印计数结果(Printing the Counting Results)	
第四章 荧光细胞计数(Fluorescence Cell Counting)	
4.1 样品制备(Sample Preparation)	
4.2 将样品加入到计数板中(Loading Samples into Slides)	
4.3 计数细胞(Counting Cells)	
4.4 使用 Tag 功能(Using the "Tag" Function)	
4.5 细胞尺寸和数量的分布(Cell Size and Number Distribution)	40
4.6 使用稀释计算器(Using the Dilution Calculator)	
4.7 保存图像并生成一个当前计数结果的 PDF 报告(Saving Images and Generating a PDF R	eport of the
Current Count)	45
4.8 打印计数结果 (Printing the Counting Results)	47
第五章 GFP 转染分析 (GFP Transfection Assay)	49
5.1 样品准备(Sample Preparation)	49

EASTWIN



	5.2	加样到计数板中(Loading Samples into Slides)	49
	5.3	检测 GFP 转染效率(Measuring GFP Transfection Efficiency)	50
	5.4	使用 Tag 功能(Using the "Tag" Function)	54
	5.5	GFP 强度和数量分布(GFP Intensity and Number Distribution)	55
	5.6	明场和绿色通道的开启与关闭(On/off of the Bright and Green Channel)	58
	5.7	针对当前的计数结果保存图像并生成报告 (Saving the Image and Generating a Report of the Curre	nt
	Cοι	unt)	59
	5.8	计数结果的打印(Printing the Counting Results)	61
第六	章	酵母细胞计数(Yeast Cell Counting)	62
	6.1	样品制备 (Sample Preparation)	62
	6.2	加样到计数板(Loading Samples into Slides)	63
	6.3	酵母计数(Counting Yeasts)	64
	6.4	使用 Tag 功能(Using the "Tag" Function)	69
	6.5	故障处理(Trouble Shooting)	71
	6.6	打印计数结果(Printing the Counting Results)	72
第七	;章∣	回看以前的结果(Reviewing Previous Results)	73
	7.1	输入以前的计数结果(Importing Previous Counts)	73
	7.2	回看以前的结果(Reviewing Previous Results)	73
	7.3	以前计数按钮("Previous Count" button)	74
第八	章	设置计数的 protocol(Setting Up the Protocol for Counting)	77
第九	章	维护和故障处理(Maintenance and Troubleshooting)	83
	9.1	清洁 (Cleaning)	83
	9.2	更换电池组(Changing the Battery)	83

EASTWIN





第十	├一章 购买须知(Purchaser Notification)	. 92
第十	▶章 订货信息(Ordering Information)	. 91
	9.5 故障处理(Troubleshooting)	. 89
	9.4 固件升级(Updating Firmware)	.87
	9.3 校准仪器(Calibrating the Counter)	.84





安全信息 (Safety Information)

为了获得最佳的结果,LUNA-FL[™]自动荧光细胞计数仪(下文简称 LUNA-FL[™])的用户必须遵照下面操作指导,另外也需要遵照通用的用电安全防护措施要求。

 操作仪器时,使用人员要避免被电击;不要用湿手触碰仪器机器配套零部件,不要将它放置在例如孵育器 之类的潮湿环境中。更多信息,请参考环境条件部分内容。

 台盼蓝,吖啶橙和碘化丙啶以及其他试剂被认为是有害材料,处理这些试剂时,请务必佩戴手套以避免皮 肤暴露。

3. 使用之前,请确认输入电压与仪器的供电电压相匹配。

4. 为了获得最优的操作,请将仪器放置在一个水平台面上,避免任何震动。

5. 只有当将电源线和适配器连接好,并与仪器正确连接后,方可启动仪器电源。在拔掉电源线之前或移动仪器前请关闭电源。

6. 使用前请确保电源线插头紧紧地插在电源插孔,墙壁的插座以及适配器的插孔内。

7. 仪器操作一段时间后,温度会升高,请在使用时要小心,不要让仪器长时间使用或者连续使用导致温度过高。操作时,仪器周围留出足够的空间以利于空气循环和降温。

8. 任何情况下都不要私自拆卸仪器, 仪器出现失灵, 跌落或者摔坏破损, 请联系当地客服人员, 拆卸仪器将 失去免费质保。

9. 请使用官方授权的零部件(适配器,电源插头以及 USB 驱动)

10. 如果仪器发生冒烟现象,请立即从墙壁上拔下插头,联系当地客服人员。

11. 使用的细胞计数板必须做为生物有害物废弃物进行丢弃。

12. LUNA-FL[™]自动荧光细胞计数仪是一款仅能用作科学研究的实验室电子设备。它不是一款医疗或者体外诊断设备。





本手册中使用到的图标符号



WEEE(Waste Electrical and Electronic Equipment)图标意味着使用该产品的用户有责任在对 环境友好的情况下丢弃和回收电子废弃物。 请在当地按照规定妥善处置电子废弃物。



CE 图标表示该仪器符合所有欧盟使用 CE 所要求的规定,要使用该仪器,用户清楚 并必须按照本说明书规定的条件来执行。如果没有按照该说明书要求使用该仪器,该 仪器所提供的保护将会受到损害。



接地保护





使用 LUNA-FL[™] 荧光细胞计数仪的通用指导

为了使用 LUNA-FL™ 荧光细胞计数仪获得最佳的结果,使用人员必须按照下面的指导小心操作。

1. 仪器必须在本手册第4页描述的匹配的环境条件下使用,特别是温湿度条件非常重要。

2. 根据用户的需要,样品必须以合适的方式进行处理。

3. 捏住细胞计数板的两侧边缘避免接触光学表面,确保计数板的光学表面没有发生损坏或者污染。

4. 要获得准确的细胞活率计数,细胞样品与提供的试剂混合后,请在 1-3min 内完成计数。最好是同一个样品 计数两次(读两次数)以获得更好的结果。

5. 由于 LUNA-FL[™]在出厂之前已经进行过校准,使用人员在使用之前不需要进行二次校准。不过,如果需要,例如仪器长时间使用后,可参考 9.3 部分进行二次校准。

6. 不要裸手接触台盼蓝或者其它试剂,因为它们都是有害化学品,计数板使用后,请按有害生物废弃物处理, 不要重复使用一次性计数板。







操作电源	100-240V AC,1.5A
频率	50/60Hz
电源输入	12VDC, 5.0A
安装位置	仅限于室内
操作温度	10-35℃
最大相对湿度	20-80%
海拔高度	≤2000 米
污染程度	2级





第一章 产品介绍 (Introduction)

1.1 产品概览 (Product Overview)

LUNA-FL[™]自动荧光细胞计数仪是一款基于图像法原理的小型的,快速的,价格合理的细胞计数仪器,包含有明场和双荧光光路系统,能够计数用于科学研究实验的各种不同类型细胞。

通过精密的光学组件,先进的图像分析算法,LUNA-FL[™]可帮助测量细胞数量包括细胞活率(活细胞, 死细胞,总细胞数)。由于被 Logos Biosystems 公司引入了革新技术,LUNA-FL[™]为用户提供了最先进的技 术装备,并且消除了手动细胞计数产生的繁琐和主观性。

LUNA-FL[™]可以以一种非常简单的程序使用,例如:为了完成双荧光计数,首先,将 18µl 细胞样品与 2µl AO/Pl (吖啶橙/碘化丙啶)荧光染料混合(万一细胞样品不多,也可以用 9µl 细胞悬液与 1µl 染料混合。) 然后,取 10µl 混好的细胞悬液加到一次性荧光计数板 PhotonSlide[™]或者 LUNA[™]可重复使用计数板上。第 三,将计数板插入到仪器的计数板插孔中,调节对焦旋钮得到清晰的细胞图像,最后点击"Count"按钮,细 胞计数结果和活率会显示在显示器上。计数的图像可以以 TIF 格式下载到随机配套的 U 盘中用于后续分析。



分析原理: AO 染所有细胞, PI 只染死细胞。如果 AO 和 PI 同时存在,应为荧光共振能量传递的原理, AO 的荧光信号绝大多不被 PI 淬灭掉,因此,AO 荧光(绿色)只在活细胞中存在,而 PI 荧光(红色)只在 死细胞中存在。利用 AO/PI 双染色法进行细胞活率分析是已经被证明而且是普遍接受的方法。

LUNA-FL[™]自动细胞计数仪提供下列数据:

活细胞数和死细胞数以及二者的浓度 总细胞数和浓度 活率百分比(活细胞在总细胞数中的百分比)





细胞图像(活细胞显示绿圈标记,死细胞红圈标记) 细胞尺寸分布和细胞尺寸门控的柱状图。 转染 GFP 细胞的数目和百分比。

PhotonSlide[™]是一种专门为 LUNA-FL[™]设计的一次性的计数板,每个计数板包含两个样品池,标记为 A 和 B,一块计数板可用于针对同一个样品重复计数两次,也可用于计数两个不同样品。

LUNA-FL[™]的关键特征参见下表:

关键特点	描述						
明场和双荧光光路系统	LUNA-FL™整合了明场和双荧光光学组件为用户提供先进的细胞计数功						
	能。从每个通道(明场,绿色和红色)获得的图像可以在屏幕上叠加。每						
	种颜色的亮度可单独被调节以获得准确的显示结果。						
小尺寸	由于其尺寸小(22 cm x 21 x 9 cm),重量轻(1.8kg),它可用在超净台						
	或者生物安全柜内。						
准确与精准	由于具有精密的光学组件和先进的计数算法, LUNA-FL™ 每次计数都能						
	提供可重复的结果。						
简便易用的界面	基于触摸屏上的直观的界面使得使用起来简单且容易操作。						
出结果时间最短	对于绝大多数的细胞系,点击"Count"按钮后 7-30 秒内都可以得到结果。						
革新性的计数板	LUNA-FL™采用了一种革新性的计数板,具有 T-bound 技术,没有使用危						
	害性的有机溶剂。						
细胞浓度和活率范围	计数范围可在 1x10 ⁴ ~1x10 ⁷ 个细胞/ml(最佳是 5x10 ⁴ ~1x10 ⁷)						
	直径范围是: 1-90µm (最佳是 5-60µm)。						
细胞尺寸门控	计数完毕后,用户可以设置细胞尺寸的门控参数。						
易用的浓度稀释计算	应用内置的计算器可以很容易计算出稀释浓度。						
设置和保养	只需要接通电源,它就处于待机状态,几乎没有保养时间和花费。						
计数图像转移	计数图像可通过 U 盘下载为 TIF 格式图片以用作后续分析。						
独立的 protocol 保存	每一位用户都可以调节计数参数并保存 protocol 作为后续使用。						
自动生成报告	完成一次计数后,LUNA-FL [™] 可立即根据计数结果生成 PDF 格式的计数						
	报告。						





1.2 产品内容 (Product Contents)

LUNA-FL™自动荧光细胞计数仪(Cat#L20001)包含下面组成部分:

组成部分	数量
LUNA-FL™自动荧光细胞计数仪	1台
电源线(包含适配器)	1套
PhotonSlide™荧光计数板	1 盒 x50 片
吖啶橙/碘化丙啶染料(AO/PI)	2x0.5ml
0.4%台盼蓝染料	2x1ml
LUNA [™] 荧光校准微珠	1x0.5ml
U 盘,16GB	1个

注意: PhotonSlide™荧光计数板是 Logos Biosystem 开发的能够提供更好的荧光信号,具有极低的自发荧光。 LUNA-FL™的用户推荐使用该计数板,特别是进行酵母计数和 GFP 转染效率分析时。

注意:当您收到货物时,请检查上面列表中所有的零部件都齐全而且没有在运输过程中损坏。运输过程中造成的损坏不包含在质保期内,任何损坏索赔必须递交给承运方。

1.3 产品参数 (Product Specifications)

1.3.1 LUNA-FL[™]荧光细胞计数仪的参数

仪器类型	台式细胞计数仪			
尺寸	22 cm x 21 x 9 cm			
重量	1.8kg			
光源	LED			
激发光波长范围	470+/-20nm			
发射光波长范围	525+/-25nm(绿色),600nmLP 长带通(红色)			
细胞浓度范围	1x10 ⁴ ~1x10 ⁷ 个细胞/ml(最佳是 5x10 ⁴ ~1x10 ⁷)			
细胞直径范围	1-90µm (最佳是 5-60µm)			
细胞圆度范围	30-100%			
细胞活率范围	0-100%			
图像解析度	500 万像素 CMOS			
图像格式	TIF			
报告类型	PDF			
液晶显示屏	7 英寸(800x600 像素)			
计数时间	明场下大约7秒钟,荧光模式下大约30秒,具体时间取			
	决于细胞类型和浓度。			





1.3.2 荧光计数板 (PhotonSlide[™])参数

材质	聚甲基丙烯酸甲酯 (PMMA)
尺寸	25 x 75 x 2.4 mm
样品池深度	100µm
样品池体积	10µl

1.3.3 LUNA-FL[™]软件(V3.0)

- 双荧光细胞计数
- 明场细胞计数
- 酵母计数
- 转染效率分析

1.4 产品描述 (Product Description)

1.4.1 LUNA-FL[™]荧光细胞计数仪正面视图

LUNA-FL™自动荧光细胞计数仪前视图显示一个宽大的触摸屏,该界面包含了所有功能和显示结果的按钮。

Lur	na A		Er:
1	Bright Field Cell Counting	Fluorescence Cell Counting	
	Yeast Cell Counting (FDA/PI)	GFP Transfectio Assay	•





1.4.2 LUNA-FL[™]荧光细胞计数仪背面视图

LUNA-FL™ 的背面视图显示了一个用于开启或者关闭仪器的电源按钮和一个电源接口。用随机器提供的电源线和 适配器将仪器连接到一个电源插座上。请确认电源插座与您所在的国家相匹配。



1.4.3 LUNA-FL[™] 荧光细胞计数仪右侧面视图

LUNA-FL™自动荧光细胞计数仪的右侧视图显示一个对焦旋钮和一个计数板插孔。使用对焦旋钮通过调节活细胞的中心亮点与死细胞的中心暗点之间的对比度,获得最佳的细胞图像。计数板插孔用于插入加好样的计数板到仪器内部去。



1.4.4 LUNA-FL[™] 荧光细胞计数仪左侧面视图

在细胞计数仪的左侧,有一个 USB 插孔,用于插 U 盘转移和保存数据,在本机的包装中包含一个 U 盘,任何一个标准的 U 盘都可以使用。







1.4.5 为 LUNA-FL[™] 而设计的 PhotonSlide[™] 荧光计数板

PhotonSlide[™] 荧光计数板包含两个样品池,标记为A和B,它们可用于同一个样品的两个重复,也可用于两个不同样品(例如: GFP 转染效率分析),计数板样品池的深度是 100µm,计数的细胞总体积大约是 0.5µl,几乎是相当于一个标准血球计数板上 5 个 1x1mm 区域的面积。



注意: 0.4%台盼蓝染色后的样品是蓝色, AO/PI 染色后的样品是浅粉色(或者橙色)。





第二章 设置 (Setting Up)

2.1 安装 (Installation)

2.1.1 在收到货物后,小心打开包装,检查并确保所有零部件都包含在内并且没有发生损坏。

2.1.2 将 LUNA-FL[™] 自动荧光细胞计数仪放置在一个水平稳定的实验台上。

2.1.3 检查完当地的电源输出与仪器所需要的电源相匹配后,将电源线的一端插入到仪器背后的电源插孔内, 将另一端插入到外接电源的插孔内。

2.1.4 利用仪器背后的电源开关接通电源打开仪器。

2.1.5 启动界面将会出现在触摸屏上,如 2.2 所示。

2.2 启动界面 (Start-Up Screen)

2.2.1 主界面 (home screen)

当 LUNA-FL[™]荧光细胞计数仪打开电源后,启动界面显示四个选项,如下图所示。用户可选择其中一个选项进行 操作。





2.2.2 明场细胞计数界面 (Bright Field Cell Counting Screen)







2.2.3 荧光细胞计数界面 (Fluorescence Cell Counting Screen)

2.2.3.1 荧光计数--明场界面



2.2.3.2 荧光计数--绿色荧光界面







2.2.3.3 荧光计数--红色荧光界面



2.2.4 GFP 转染分析 (GFP Transfection Assay)

2.2.4.1 GFP 转染分析--明场界面





ħ	Co	unt Revi	iew	Pro	otoc	ol		Mode 0 Date 2	GFP trai 22 Oct.	nsfection , 2013,	n assa 17:38	y I	\$
Set O Cor	ntrol	Count Sample			•	0		0	0		, ,		• •
Bright Fi	eld	₽ 1×		•			• •	0	0				
Gree	n expo	5	0	。。	• •	,	•	o ³		•	•	• •	c
Set d Expo	ate : 22 sure le	e Oct., 2013, 13:26 vel used : Green 5	00	•			0		p	0		0 ° 0	0
Protoc	ol: D	EFAULT	0	0		•	0			° 0			•
				0				0 0	•	•	° 0		
							°.	c	,		• •		0

2.2.4.2 GFP 转染分析--绿色荧光界面



2.2.5 酵母计数界面(Yeast Cell Counting Screen)

2.2.5.1 酵母计数--明场界面





Ħ	Count	Review	Protocol	Mode Yeast cell counting Date 22 Oct., 2013, 17:38	₽
Bright Curr Gr R Prot	Count Field ent exposure leve een 18 e d 18 bocol : DEFAULT			Date 22 Oct., 2013, 17:38	~

2.2.5.2 酵母计数--绿色荧光界面



2.2.5.3 酵母计数--红色荧光界面







2.3 设置 (Settings)

一般情况下,用户不需要更改仪器"Settings"里的参数,因为在出厂前已经预设好了。如果用户需要重新设置日期,时间或者其它选项,用户可以从下面描述的"Settings"的菜单中调节或者更改这些参数。

2.3.1 打开仪器电源后,选择主界面上四个功能模块中的任意一个进入。

2.3.2 点击细胞计数界面右上角的齿轮 () 图标, 然后 Settings 界面会出现, 在该界面, 用户可以改变 或调整相应各个参数和选项。



设置界面

注意: 请检查软件版本, 如果有需要, 请从 Logos Biosystems 网站 (www.logosbio.com) 上下载最新版本。

2.3.3 Settings 按钮允许进行如下操作:

仪器的背景校正(在9.3部分进行介绍)

实时发布的固件的升级(在 9.4 部分固件升级介绍)

时间和日期的设定

其它选项如保存,计数以及结果/打印/计算器等的设置。

2.4 设置时间与日期 (Setting the date and time)

2.4.1 在 Settings 界面上选择,选择日期和时间按钮。

2.4.2 选择下面区域后,通过后退按钮() 擦除日期或时间,输入最新的数字,点击 Apply (Apply) 来保存对日期和时间的更改。





2.5 保存选项 (Save Options)

2.5.1 保存选项界面将如下界面显示,选择保存按钮后,只有分析图像按钮是默认被激活的。而原始图像和报告按钮是未激活状态。



2.5.2 在默认图像保存选项(Default Image Save)中,用户可根据自己需要选择保存原始图像,PDF或者二者同时保存。每个按钮都可以以 ON 或者 OFF 切换。

保存的项目	描述
分析图像	图像含有计数结果和活细胞/死细胞的标记。
原始图像	图像只含有计数时拍照的图像,三种图像将会被保存(明场,绿色和红色)。
报告	PDF 报告含有计数结果和柱状图。

注意:请记住要获得最佳的技术支持,原始图像必须被打开并发送到原始图像。

2.5.3 上图红色框中的 Auto-header 是新建的默认的文件夹名字或者是文件的名字的前缀,所有的图像在保存之前都是以此开始。保存后,用户可以在 U 盘的根目录下看到一个含有被保存的前缀的文件夹或者是文件名。一旦用户想使用另外一个默认的名字,用户可通过编辑默认的 Logos Biosystems 来定制化自己想要的名字。

2.6 计数选项 (Countng Option)

2.6.1 该选项显示三个不同的菜单,如下图所示。







2.6.2 在计数选项中的 Staining 选项,用户可以选择下面三种染色选项中的其中一种。

染色选项	描述
台盼蓝染色 With Typan	该选项可用于正常明场计数,当细胞样品与台盼蓝染料进行 1:1 比例混合后,
Blue(1:1)	该选项可生成细胞活率数据。
无台盼蓝染色 (without Typan	当样品不含台盼蓝染料时,打开该按钮,并按照表格中的指示操作,这些指导
blue)	设置了稀释因子(Dilution factor)。对于含有台盼蓝染料的样品,稀释因子
	设置为2,不含台盼蓝染料的样本,稀释因子设置为1。
	注意:LUNA-FL [™] 中的明场模式下的细胞计数参数已经用台盼蓝染料优化过
	了。尽管无台盼蓝染色选项提供在 protocol 菜单中,能够满足特殊用户对大
	多数情况下的总细胞数的计数需求,但仍然不推荐使用无台盼蓝计数模式。由
	于缺乏台盼蓝,导致对比度不够,这可能导致结果异常。
	Staining Option K With Trypan Blue OFF Custom OFF Without Trypan Blue" was selected as a staining option. Be sure to check the "Dilution Factor" at the [Protocol] menu, and use the correct "Dilution Factor" Press "OK" to continue. Auto N OK Cancel 注意: 稀释因子的设置必须通过手动检测和处理。
定制染色(Custom staining)	在该选项中,细胞可被赤藓红 B 染色或者其它染料包括培养基。在选用该选



2.6.3 LUNA-FL[™]的自动曝光功能可在 3.0 及更高版本的软件上使用,只有在 With Typan blue (1:1)选项中,该功能才可以使用。该模式默认是激活状态 (On)。

自动曝光模式的描述见下表:

自动曝光	描述
ON	用户使用该功能是为了尽可能减少在台盼蓝 1:1 染色模式下因为
	染料的浓度波动导致的计数结果的波动。随着自动曝光模式开启,
	即使样品的背景稍微亮一点或者暗一点,计数的图像的背景会被自
	动调节。
	注意:LUNA-FL [™] 的基本分析结果都依赖于图像,当细胞与准确
	浓度的台盼蓝染料染色后, 仪器可以提供一个准确的计数结果。正
	是因为这,可能因为染料的浓度受各种因素影响导致浓度变化,染
	色的细胞的浓度变化受染料浓度的变化影响。在这种情况下,使用
	自动曝光模式,计数结果的准确性可确保不受来自染料的品牌,浓
	度,是否避光等因素的影响。
OFF	随着自动曝光模式关闭,样品通过之前进行过的背景校正设定的值
	进行采集和计数。





2.7 结果/打印机/计算器选项 (Result/Printer/Calculator Options)

2.7.1 该选项显示三个不同的菜单,如下图所示。

Result Option			×
Display	Display Total Cell Only OFF		
Dilution Calculator Opt	ions		
Current Concentration Default Value	Total Cells ON	Live Cells OFF	Dead Cells OFF
Printer Option			
Print	Print Protocol ON	Thermal ON	

选项	此选项	描述
Result	Display	默认值是关闭,当它启动时,计数结果对话框只显示总数结果,不显示
		活细胞/死细胞结果。
Dilution	Current	默认值是 Total Cells(On),要在计算器中使用活细胞,请将 Live Cell 点
Caculator	Concentration	开(On)。
Option		
Printer	Print Protocol	当该按钮打开时,打印出来的结果中包含了计数参数的详细信息。反之,
		计数参数的相关信息不显示。
	Thermal	目前,默认的打印纸是热敏打印卷纸,确保 thermal 选项始终开启。

注意:随着四种不同计数模式的使用,某一个或者某几个选项有可能是不能用了或者失活的。





第三章 明场视野细胞计数 (Bright Field Cell Counting)

3.1 样品准备 (Sample Preparation)

3.1.1 请为细胞样品计数准备好下面材料:

细胞样品

荧光计数板(Cat#L12005)或者 LUNA™ 可重复使用计数板(Cat#L12008)

0.4%台盼蓝染料(Cat#T13001)或者赤藓红染料(Cat#L13002)

3.1.2 如果需要,请插入U盘来保存计数数据与结果。

3.1.3 取 10µl 细胞悬液与 10µl 0.4%台盼蓝染料在一个微量离心管里用移液器小心地反复吹吸混匀。

注意: LUNA-FL[™]的明场计数模式的细胞计数参数是使用台盼蓝染料进行优化过的。尽管在 protocol 手册 中提供了不加台盼蓝染色的计数模式选项,该选项可以满足某些特殊用户在绝大多数情况下的总细胞数的计 数需求。但是仍然不推荐用户使用不加台盼蓝模式计数!由于不加台盼蓝,细胞与背景的对比度低,容易造 成结果误差。

注意:赤藓红 B 是台盼蓝染料的替代品,也是可以使用的。它对细胞的毒性更小,使用赤藓红 B 染料,需要使用明场计数模式下的定制染色(Custom staining)模式。

3.2 加样品到计数板 (Loading Samples into Slides)

3.2.1 捏住计数板的边缘,加 10-12μl 混合好的细胞悬液到计数板的一个样品槽的进口处。为了容易加样,请像下面图片展示的那样,将枪头倾斜 45-60°。



注意: 往样品槽中加样时,不要加样过多,也不要太少。





3.3 计数细胞 (Counting Cells)

3.3.1 将加了样品的计数板插入到细胞计数仪的样品孔中,确保加有样品的样品槽朝里处于第一个位置插入样品孔中,因为仪器只分析第一个位置的细胞样品,轻轻地把计数板插到底。

注意:插入细胞计数板后,LUNA-FL[™]只能计数第一个位置的样品,要想计数第二个样品槽,需要把计数 板拔出来,水平旋转 180°,再重新插入到样品孔中。请确保细胞计数板没有样品孔朝下插入到计数仪内,这 将导致样品洒出,严重损坏仪器。



3.3.2 在细胞计数仪的主界面上选择 Bright Field Cell Counting 模式。

注意:这一步骤结束后,样品的真实计数图像会显示在显示器上,细胞图像可通过手指触屏或者触控笔在显示器上浏览,要知道,LUNA-FL[™]的触摸屏是电阻式触摸屏,需要稍微施加点压力,屏幕才会有感应。

3.3.3 Preview 界面在明场下会出现下面图片情况,确保用户具有最好的聚焦。必要时,调节仪器右侧的对 焦旋钮进行聚焦,以确保活细胞具有明亮的中心和黑暗的边缘,而死细胞整个细胞具有均一的黑色。







注意: 要获得最佳的计数结果, 操作员需要寻找到准确的对焦点。

注意: 要获得最好的聚焦,图像可以通过 Count 下面的 Zoom-in 按钮放大,最初时,Zoom-in 设置是 1x 放大,点击一次,显示 2x 放大,2x 放大是调焦的最佳状态。当再一次点击 Zoom-in,可以显示 4x 放大。再点击一次,重新恢复到 1x 放大。

注意:当前的染色选项显示在上述图像左侧红色方框标记的位置,该染色选项可以在设置菜单中进行更改 (2.6.2 部分)。选择错误的染色选项,会导致产生弱曝光的预览图像,如下图所示,选择了 without typan blue 模式,而有有台盼蓝存在。



注意:默认的预览图像设置为一个灰度,要想将预览图像改成彩色的模式,请点击 color 按键一次,预览图 像会变成蓝色背景的图像,而 color 按键也会变成蓝色背景。不管选择哪种模式,灰度或者彩色,灰度图像 都将被用来计算显示在细胞计数结果中的细胞数目。





EASTWIN

3.3.4 点击 count 按钮,该按钮位于缩放按钮上方。

3.3.5 大约在7秒钟内(依赖于细胞的浓度),细胞样品的图像和计数数据/结果(包括总浓度,活细胞浓度, 死细胞浓度,活率,平均直径,实际数到的总细胞数,活细胞数以及死细胞数)都显示在屏幕上。



3.4 使用 Tag 功能 (Using the Tag Function)

3.4.1 执行完计数功能后, Tag 按钮用于区分计数结果。







注意: Tag 功能是 LUNA-FL 自动荧光计数仪的其中一个直接工具, 它使得用户可以不经过计算机算法而去浏 览数据,并且在线判断计数的准确性。

3.4.2 当触摸 Tag 按钮后,屏幕上的图像将会呈现目标细胞被绿色和红色圆圈包围的状态。绿色圆圈指示的 是活细胞,红色圆圈指示的死细胞。

3.4.3 预览过图像分析的准确性后,再次点击 Tag 可以移除绿色和红色标记的圆圈。

3.5 细胞尺寸和数量的分布 (Cell Size and Number Distribution)

3.5.1 要想从图表中获得细胞尺寸和数量分布的更多信息,点击屏幕左下方的 Graph/Gating 按钮。一个柱状 图将会如下图所示显示细胞样品尺寸和数量的更多细节。活细胞显示绿色,死细胞显示红色。



当细胞大小超出范围后,显示为灰色







总数和细胞数量 联用,显示了总细 胞数对应下的尺 寸分布的细胞数 量。

注意: 当点击 Total 按键后,它会切换到 Live 按钮,这种情况下,只显示活细胞的数量。再次点击 Live 按钮,它又会切换成 Dead,只显示死细胞的数量。



活细胞数和细胞 数量联用,显示了 只有活细胞数对 应下的尺寸分布 的细胞数量。



死细胞数和细胞数 量联用,显示了只有 死细胞数对应下的 尺寸分布的细胞数 量。

注意: 当点击 Cell number 按键时,它会切换到细胞浓度(Cell concentration),单位是个/ml。再次点击, 又会重新切换到 Cell number。











3.5.1.1 活细胞和死细胞的图形表示

当点击 Total 按键后,直方图以一种叠加的柱状图显示。







3.5.2 成团化图谱(Cluster Map) 按键

3.5.2.1 当点击成团化图谱按键后,界面显示细胞成团化分布的百分比,1-cell 意味着是单个细胞,2-cell 意味着是 2 个细胞成团做为一个单元的。当成团化图谱按键开启后,Total 和 Cell Number 按键就失灵了。



3.5.2.2 再次点击 Graph Gating 按键,重新回到前一个界面。

3.6 使用稀释计算器 (Using the Dilution Calculator)

3.6.1 LUNA-FL[™]自动荧光细胞计数仪提供了一个内置的计算器,能够帮助轻松的计算浓度来获得一个期望的浓度。







3.6.2 稀释度计算器最初显示的是当前的计数浓度,在下面 Desired Concentration 和 Final Volume 的空白 处填入个人期望的数值。



使用者可以选择总数(Total), 活细胞数(Live)或者死细胞数 (Dead)来计算他们的稀释度。 通过点击这个按钮,当前的浓度 (Current Concentration)会显 示总数(Total),活细胞(Live) 或者死细胞(Dead)的浓度。 在计算稀释因子之前,请检查该 选项是否匹配你的需要。

Dilution Calculator X	Dilution Calculator X
Current Concentration 4.1 × 10e 5 /mL of Live	Current Concentration 4.3 × 10e 4 /mL of Dead
Desired Concentration X 10e /mL Final Volume mL	Desired Concentration × 10 /mL Final Volume mL
1 2 3 4 5 6 7 8 9 0 <table-cell></table-cell>	1 2 3 4 5 6 7 8 9 0 <table-cell></table-cell>
Calculate	. Calculate





Diluti	on Calculat	or	×
Current Concent	ration 0.0	× 10 e 0 /mL of	Custom
Desired Concent	ration	× 10e /mL Final V	olume mL
1	2 3	4 5 6 7 8	9 0 🛛
•	Calculate		

使用者也可以计算他们自定义的稀释 度。

3.6.3 点击 Caculate, 然后一个稀释的指导方法会出现在信息栏中。

3.7 保存图像并生成一个当前计数结果的 PDF 报告(Saving Images and Generating a PDF Report of the Current Count)

3.7.1 要保存图像和生成报告,需要提前在仪器的左侧 USB 插口处插入 U 盘。

3.7.2 点击屏幕左下方的 Save 按键,会弹出一个新的保存(Save)界面,如下图所示。

I	~	Analyzeo Image		~	Raw Imag	e	~	Report		Prin	t
Lo	gos Bi	osyster	ms							Add Date	/Time
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	-
	Q	w	E	R	Т	Y	U	Ι	0	Р	×
	A	S	D	F	G	Н	J	K			nter
	仓		Ζ	X	С	V	В	Ν	Μ		
					٤	Space					.

注意:保存界面含有3个保存选项。

Analyzed Image:选择该选项来保存分析后的图像,该图像中,活的有核细胞被绿色圆圈标记,死的有核细胞被标记为红色。

Raw Image: 该选项必须始终被选中,为了保存3张TIF格式的图像(明场,绿色,红色)。这些被保存的 图像可用于以后需要时再分析。

Report: 选择该选项,会生成一个可供打印的 PDF 格式的报告文件,该报告文件包含了所有的细胞计数的信





息。同时也可以在个人电脑上查看。

注意: 要从分销商和厂商获得更多的技术支持,请不要忘记把 Raw Image 保存下来并发送给厂商。

3.7.3 利用屏幕上的软键盘输入所需要的文件名,点击 Date/Time 按钮,日期和时间会添加到文件名中去。 注意:在输入文件名之前,请确保光标定位在文件名信息栏内。

3.7.4 一旦文件名确定下来,点击 Enter 保存图像或报告到 U 盘上去。现在,通过 U 盘把这些文件转移到个 人电脑上后,可通过相应的软件打开它们。

注意:在LUNA-FL[™]软件中,数据和结果中额外提供的图表说明会在 PDF 报告中体现出来,如下图所示。

Cell Count Rep	port	1/2
File name	Date	
I-sample-100	10 May, 20	21, 13:25
Cell count results	Protocol	ie: xinzab
Live cell concentration: 2.37 x 105	cells/mL Dilution facto	r: 1.11
Dead cell concentration: 2.20 x 10 Viability: 91.5 %) ⁴ cells/mL Min. cell size Max_cell size	:1 µm
Average cell size: 4.7 µm	Size gating: 1	1 ~ 60 μm
Total cell number: 106 Live cell number: 97	Green fluorer	scence threshold: 5
Dead cell number: 9	Green expos	ure: 8
	Red exposur Green calibra	e: 8 ated value: 0v36E2
	Red calibrate	ed value: 0x5E0A
Cell Image (Average intensity: 125)		
W 145-1467205 W weater, 3.14		Second Se
Cell Count Rep	port	2/2
Cell size histogram expressed by c Total cells	Live cells	Dead cells
Literatur Grand	Citation Transfer	General Compt
Cell size histogram expressed by c Total cells	Live cells	Dead cells
		Lid constraints.
Cell cluster graph		
Of America		
DP: LUF-14-01245 50Y-service: 3.1.4		liger

第一页:数据和结果 包含: 细胞计数数据 使用的 Protocol 细胞图像(Tag标记的和4倍放大的)

第二页:分析后的柱状图 包含:细胞数目柱状图(Total/Live/Dead) 细胞浓度柱状图(Total/Live/Dead) 细胞成团化分布柱状图




3.8 打印计数结果 (Printing the Counting Results)

3.8.1 用户可以通过 LUNA[™] Printer (Cat# P10001) 和配套的热敏打印纸 LUNA[™] Printer paper (Cat#P12001)。 该打印机是热敏式的,在打印之前可对其电池组进行充电。



USB Connection Port

注意: LUNA[™] Printer 及其配套的热敏打印纸是专门为 LUNA-FL[™] 细胞计数仪设计的,需要从厂家或者其分 销商处购买。

关于 LUNA[™] Printer 的更多信息,请详细阅读 LUNA[™] Printer 的使用说明书。

3.8.2 首先, 通过 USB 接头连接 LUNA[™] Printer 到 LUNA-FL[™] 细胞计数仪上(打印机的连接是即插即用型)。 然后长按打印机上的 Power 按钮 1-2sec (关机同样是这样的操作)。

3.8.3 在 LUNA-FL[™]细胞计数仪上返回到 Print/Save 界面,点击 Print 按钮。

I	Analyzed Raw Image Report									Print		
Lo	Logos Biosystems Add Date/Time											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	-	
	Q	W	E	R	Т	Y	U	I	0	Р	×	
	A	S	D	F	G	Н	J	K	L		ntor	
	☆ Z X C V B N										inter	
	Space										.	

3.8.4 计数的结果和使用的 Protocol 会如下图所示被打印出来。







- **注意**: 仪器上的打印按钮只会打印最后一次计数的结果。
- 注意:如果打印内容中 Protocol 部分不需要,可以通过仪器的设置功能将它关闭掉。

Result Option				×
Display	Display Total Cell Only OFF			
Dilution Calculator O	ptions			
Current Concentration Default Value	Total Cells ON	Live Cells OFF	Dead Cells OFF	
Printer Option				
Print	Print ON Protocol	Thermal ON		





第四章 荧 光 细 胞 计 数 (Fluorescence Cell Counting)

4.1 样品制备 (Sample Preparation)

4.1.1 准备下列材料用于细胞计数

- 细胞样品
- 荧光计数板(PhotonSlide[™] Cat#L12005)或者 LUNA[™]可重复使用计数板(Cat# L12011)
- AO/PI 预混荧光染料(Cat# F23001)

4.1.2 如果需要,请插入U盘用于保存数据和结果。

4.1.3 转移 2µIAO/PI 预混荧光染料到 1.5ml 微量离心管中。

4.1.4 向上述含有 AO/PI 的微量离心管中加入 18μl 的细胞悬液,用移液器上下反复吹吸混匀或者用手颠倒混 匀。

4.2 将样品加入到计数板中(Loading Samples into Slides)

4.2.1 两指轻轻捏住计数板的两边,用 10μl 移液器吸取 10μl 混合好的样品,加入到计数板的其中一个样品 池的加样孔中去。要想轻松准确加样,建议移液器吸头与计数板保持 **45-60°**夹角。如下图所示。









4.2.2 剩余的 **10**µl 混合样品可用于另一个重复计数,以获得平均的计数结果。 注意: 往样品槽中加样时,不要加样过多,也不要太少。

4.3 计数细胞 (Counting Cells)

4.3.1 根据细胞样品的不同,静置 15sec-1min,让细胞沉降下来,这一步很重要。

注意:如果跳过该步骤,有可能导致计数结果不准确,因为移动的细胞会导致细胞图像(明场,绿色荧光,红色荧光)叠加不准确。最佳的等待时间需要根据实验人员的经验来判断。如果在预览视野中细胞仍在移动, 需要等待更长的时间,确保在预览窗口观察到的细胞不再移动为止。

注意:如果细胞不能沉降下来,则从明场,绿色荧光和红色荧光通道采集到的图像不能很好叠加,就像下图 所示。



4.3.2 将加了样品的计数板插入到细胞计数仪的样品孔中,确保加有样品的样品槽朝里处于第一个位置插入样品孔中,因为仪器只分析第一个位置的细胞样品,轻轻地把计数板插到底。

注意:LUNA-FL[™]只能计数第一个位置的样品,要想计数第二个样品槽,需要把计数板拔出来,水平旋转 180°,再重新插入到样品孔中。





注意:请检查计数板没有被倒置插入到样品孔。这会导致样品洒出来严重损坏计数仪。 4.3.3 选择屏幕主界面上的荧光计数(Fluorescence Cell Counting)按钮。



注意:这一步骤结束后,样品的真实计数图像会显示在显示器上,细胞图像可通过手指触屏或者触控笔在显示器上浏览,要知道,LUNA-FL[™]的触摸屏是电阻式触摸屏,需要稍微施加点压力,屏幕才会有感应。 4.3.4 Preview 界面在明场下会出现下面图片情况,确保用户具有最好的聚焦。必要时,调节仪器右侧的对焦旋钮进行聚焦。



注意:确保在明场下进行调焦,准确的聚焦对准确的计数非常重要。







注意: 要获得最好的聚焦,图像可以通过 Count 下面的 Zoom-in 按钮放大,最初时,Zoom-in 设置是 1x 放大,点击一次,显示 2x 放大, 2x 放大是调焦的最佳状态。当再一次点击 Zoom-in,可以显示 4x 放大。再点击一次,重新恢复到 1x 放大。

注意:在预览界面检查细胞全部都固定不动再开始计数,如果有些细胞还在移动,请等待所有细胞静止下来 再开始计数。

4.3.5 点击 BF/GF/RF 选择按钮一次,预览绿色荧光图像,如果预览的绿色荧光图像信号太暗只有几个细胞能 看到,可增加激发光强度。如果荧光信号太强以致于背景荧光开始出现,适当降低激发光强度。最佳的荧光 激发光强度值取决于经验值,仪器默认的哺乳动物细胞的值是 5。

注意: 在预览阶段,如果细胞在长时间的光源照射下,他们的荧光强度会迅速降低。当使用过强的激发光时,这种荧光漂白现象会加速产生。在选择 GF/RF 预览时,通常尝试用尽可能短的曝光时间和尽可能低的激发光强度。



4.3.6 再一次点击点击 BF/GF/RF 按钮一次,可预览红色荧光(RF)图像,根据需要调节荧光激发光强度,仪器 出厂默认的哺乳动物细胞的值是 5。

注意:在预览阶段,如果细胞在长时间的光源照射下,他们的荧光强度会迅速降低。当使用过强的激发光时,这种荧光漂白现象会加速产生。在选择 GF/RF 预览时,通常尝试用尽可能短的曝光时间和尽可能低的激发光强度。







4.3.7 点击 Count 按钮

4.3.8 大约 **30** 秒(取决于细胞浓度),细胞样品的图像和数据(总细胞浓度,活细胞浓度,死细胞浓度,活 率,平均直径,总细胞个数,活细胞个数以及死细胞个数)将会显示在屏幕上。

注意:LUNA-FL[™]会按顺序拍摄明场、绿色荧光、红色荧光三张图像。

п	Count	Review	Protocol	Date 17 Jun., 2013,	17:46
N	lext Count		•	0	
	Images			٥	0
Total Live	1.76x10e6 cells/ 1.69x10e6 cells/	mL III	00	° 0	
Dead	6.98x10e4 cells/	mL		0	
Viability	96.0%	0		0	0
Dil. factor	1.11		C00		0
Total#	806 cells		0 0		12.00
Live #	774 cells		- O-	-	
Dead #	32 cells				
-			0	0	
Graph	Dilution	Save			
Gating		Print		0 0	
lr.	B	00	0	8.	

4.4 使用 Tag 功能 (Using the "Tag" Function)

4.4.1 为了核验计数后的结果,依次点击 Image 和 Tag,显示下面图像结果。









Green circle – live cell Red circle – dead cell

注意: 这个 Tag 功能是 LUNA-FL[™] 自动荧光计数仪直观的功能之一,它能帮助用户不用电脑即可在线浏览 并判定计数结果的准确性。

4.4.2 当触摸 Tag 按钮后,屏幕上的图像将会呈现目标细胞被绿色和红色圆圈包围的状态。绿色圆圈指示的是活细胞,红色圆圈指示的死细胞。

注意: 在荧光计数模式下,包含在细胞培养液中的非细胞碎片,因为不含核酸很容易在细胞计数时被区分出来。







4.4.3 预览过图像分析的准确性后,再次点击 Tag 可以移除绿色和红色标记的圆圈。

4.5 细胞尺寸和数量的分布 (Cell Size and Number Distribution)

4.5.1 要想从图表中获得细胞尺寸和数量分布的更多信息,点击屏幕左下方的 Graph/Gating 按钮。一个柱状 图将会如下图所示显示细胞样品尺寸和数量的更多细节。活细胞显示为绿色柱状图,死细胞显示红色。



注意:当细胞尺寸超出设定的范围时,超出部分显示为灰色。(本图没有显示)





Ħ	Count	Review	v I	Proto	ocol	Mo Da	ode FL cel ite 18 No	l count w., 20:	ting 13, 10:5	i6	\$
1	Next Count	<u>ا</u>	Total		Cluster	OFF		Min.	3 µn	n	Apply
	Images		Total		Мар			Max.	60 µn	n	орру
Total Live	2.83×10e6 cells/m 1.56×10e6 cells/m		32	.4		-		-		-	-
Dead Viability Avg. size	1.27×10e6 cells/m 55.2% 12.3 um		equinu lle 16	2							-
Dil. factor Total # Live #	1.11 1230 cells 679 cells		0			-		+		-	-
Dead #	551 cells				10 20	20	40 50	60	70	80	
Graph Gating	Dilution	Save Print	4		10 20	Ce	ell size (µm)		,0		
lin											

总细胞数和细胞数量联用,显示 了总细胞数下的细胞数量与细胞 尺寸的分布。

注意: 当 Total 按钮点击一次时,它切换到显示活细胞按钮,这时,只显示活细胞数量,如下图所示。再次点击一下,它切换到显示死细胞按钮,此时只显示死细胞,如下图所示。



活细胞与细胞数量联合使用,显 示了只有活细胞情况下的细胞数 量与细胞尺寸的分布。



死细胞与细胞数量联合使用,显 示了只有死细胞情况下的细胞 数量与细胞尺寸的分布。

注意: 当 Cell number 按钮点击一次时,它切换到浓度按钮,显示是个/ml(例如:柱状图的 Y 轴部分)。当 再点击一次,它又切换到 Cell number 。







总细胞数和细胞浓度联用,显示 了总细胞数下的细胞浓度与细胞 尺寸的分布。



活细胞与细胞浓度联合使用,显 示了只有活细胞情况下的细胞浓 度与细胞尺寸的分布。

ħ	Count	Revie	w	Pr	otoc	ol	M Di	ode F ate 1	EL cell L8 Nov	count ., 201	ting 13, 10:5	6		¢
1	Next Count			head		Cluster	OFF]	P	Min.	3 µn	n	An	alv
	Images			_ ()	(10e5/ml	Мар L)]	1	Max.	60 µn	n		
Total	2.83×10e6 cells/mL			7.4										
Live	1.56×10e6 cells/mL 1.27×10e6 cells/mL		atior											
Viability	55.2%		entr	-			-	-		-		-	-	
Avg. size	12.3 um		Sonc	3.7			_		_				-	
Dil. factor	1.11		Sello		1									
Total #	1230 cells								-			1		
Live # Dead #	579 cells			-						+-		-	-	
				0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	
Graph	Dilution	Save					с	ell size	(µm)					
Gating		Print												>
lin														

死细胞与细胞浓度联合使用,显 示了只有死细胞情况下的细胞 浓度与细胞尺寸的分布。

4.5.1.1 活细胞和死细胞的柱状图代表的含义

当点击 Total 按键后,直方图以一种叠加的柱状图显示。







4.5.2 成团化图谱(Cluster Map) 按键

4.5.2.1 当点击成团化图谱按键后,界面显示细胞成团化分布的百分比,1-cell 意味着是单个细胞,2-cell 意味着是 2 个细胞成团做为一个单元的。当成团化图谱按键开启后,Total 和 Cell Number 按键就失灵了。



4.5.2.2 再次点击 Graph Gating 按键,重新回到前一个界面。

4.6 使用稀释计算器 (Using the Dilution Calculator)

4.6.1 LUNA-FL[™]自动荧光细胞计数仪提供了一个内置的计算器,能够帮助轻松的计算浓度来获得一个期望的浓度。







4.6.2 稀释度计算器最初显示的是当前的计数浓度,在下面 Desired Concentration 和 Final Volume 的空白 处填入个人期望的数值。



使用者可以选择总数(Total), 活细胞数(Live)或者死细胞数 (Dead)来计算他们的稀释度。 通过点击这个按钮,当前的浓 度(Current Concentration)会 显示总数(Total),活细胞(Live) 或者死细胞(Dead)的浓度。 在计算稀释因子之前,请检查 该选项是否匹配你的需要。







Dilutio	on Calculat	or		×
Current Concenti	ration 0.0	× 10 e 0 /mL	of	Custom
Desired Concentr	ration	× 10 e /mL	Final Volum	• mL
1	2 3	4 5 6 7	89	0 🛛
	Calculate			

使用者也可以计算他们自定义的稀释 度。

4.7 保存图像并生成一个当前计数结果的 PDF 报告(Saving Images and Generating a PDF Report of the Current Count)

4.7.1 要保存图像和生成报告,需要提前在仪器的左侧 USB 插口处插入 U 盘。

4.7.2 点击屏幕左下方的 Save 按键,会弹出一个新的保存(Save)界面,如下图所示。

I	~	Analyze Image		Raw Image Report					Print		
Lo	Logos Biosystems Add I										e/Time
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	-
	Q	W	E	R	Т	Y	U		0	Р	×
	Α	S	D	D F G H J K							inter
	Û		Z	X	С	V	В	Ν	Μ		inter
	Space										

注意:保存界面含有3个保存选项。

Analyzed Image:选择该选项来保存分析后的图像,该图像中,活的有核细胞被绿色圆圈标记,死的有核细胞被标记为红色。

Raw Image: 该选项必须始终被选中,为了保存3张TIF格式的图像(明场,绿色,红色)。这些被保存的 图像可用于以后需要时再分析。

Report: 选择该选项,会生成一个可供打印的 PDF 格式的报告文件,该报告文件包含了所有的细胞计数的信

^{4.6.3} 点击 Caculate, 然后一个稀释的指导方法会出现在信息栏中。





息。同时也可以在个人电脑上查看。

注意: 要从分销商和厂商获得更多的技术支持,请不要忘记把 Raw Image 保存下来并发送给厂商。 4.7.3 利用屏幕上的软键盘输入所需要的文件名,点击 Date/Time 按钮,日期和时间会添加到文件名中去。

注意:在输入文件名之前,请确保光标定位在文件名信息栏内。

4.7.4 一旦文件名确定下来,点击 Enter 保存图像或报告到 U 盘上去。现在,通过 U 盘把这些文件转移到个人电脑上后,可通过相应的软件打开它们。

注意:在 LUNA-FL™软件中,数据和结果中额外提供的图表说明会在 PDF 报告中体现出来,如下图所示。

File name			172
		Date	
g-2		09 Mar., 2018,	12:56
Cell count results		Protocol	
Total cell concentration: 2.33 x 1	0 ⁶ cells/mL	Protocol name: N	ew Protocol-2
Live cell concentration: 2.24 x 10	⁶ cells/mL	Dilution factor: 1.	11
Dead cell concentration: 8.76 x 1 Viability: 96.2 %	0 ⁴ cells/mL	Min. cell size: 3 µ	n
Average cell size: 11.2 um		Max. cell size: 90 Size gating: 3 = 9	μm
Total cell number: 983		Green fluorescen	ce threshold: 1
Live cell number: 946		Red fluorescence	threshold: 1
Dead cell number: 37			
Cell Image			
		S	
			www.togostico.or
Cell Count Rep	port		2/2
Cell size histogram expressed by o	cell number Live cells		ad cells
Total cells		De	
Total colis	College 25 16 16 16 16 16 16 16 16 16 16 16 16 16		
Total cells	contraction contraction contraction Live cells	a a a a a a a a a a a a a a a a a a a	of same
Total colls	constraints constraints Live cells		ar valar ar val
Total colls	calculations of the second sec		
Total colls	concentration Live cells	()	decents

logos exerciseres

第一页:数据和结果
包含:细胞计数数据
使用的 Protocol
细胞图像(Tag 标记的和 4 倍放大的)

第二页:分析后的柱状图 包含:细胞数目柱状图(Total/Live/Dead) 细胞浓度柱状图(Total/Live/Dead) 细胞成团化分布柱状图





4.8 打印计数结果 (Printing the Counting Results)

4.8.1 用户可以通过 LUNA[™] Printer (Cat# P10001) 和配套的热敏打印纸 LUNA[™] Printer paper (Cat#P12001)。 该打印机是热敏式的,在打印之前可对其电池组进行充电。



USB Connection Port

注意:LUNA[™] Printer 及其配套的热敏打印纸是专门为 LUNA-FL[™]细胞计数仪设计的,需要从厂家或者其分 销商处购买。

关于 LUNA[™] Printer 的更多信息,请详细阅读 LUNA[™] Printer 的使用说明书。

4.8.2 首先, 通过 USB 接头连接 LUNA[™] Printer 到 LUNA-FL[™]细胞计数仪上(打印机的连接是即插即用型)。 然后长按打印机上的 Power 按钮 1-2sec (关机同样是这样的操作)。

4.8.3 在 LUNA-FL[™]细胞计数仪上返回到 Print/Save 界面,点击 Print 按钮。

I	Analyzed Raw Image Report									Print		
Lo	Logos Biosystems Add Date/Time											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	-	
	Q	w	Ε	R	т	Y	U	I	0	Р	×	
	A	S	D	F	G	H	J	K			nter	
	☆ Z X C V B N										inter	
	Space										.	

4.8.4 计数的结果和使用的 Protocol 会如下图所示被打印出来。







- **注意**: 仪器上的打印按钮只会打印最后一次计数的结果。
- 注意:如果打印内容中 Protocol 部分不需要,可以通过仪器的设置功能将它关闭掉。

Result Option	×
Display Display Total Cell Only OFF	
Dilution Calculator Options	
Current Concentration Default Value Total Cells ON Live Cells OFF Dead Cells OFF]
Printer Option	
Print Print ON Thermal ON	





第五章 GFP 转染分析 (GFP Transfection Assay)

5.1 样品准备 (Sample Preparation)

5.1.1 进行一个带有阴性对照的 GFP 转染实验,阴性对照例如:无转染的对照或者是无质粒的模拟转染。

5.1.2 转染后大约 24-96 小时内收集细胞样品。

5.1.3 计数样品中的细胞,血球计数板上最佳的计数浓度是 2x10⁶~5x10⁶cells/ml,如果初始浓度太高,请加入一些细胞培养基进行稀释,如果初始浓度偏低,请利用离心机进行离心后,重悬在小体积的溶液中来进行浓缩。

5.1.4 打开 LUNA-FL[™],为了测量 GFP 转染效率,请准备下列物品。

- 细胞样品
- 荧光计数板(PhotonSlide[™] Cat#L12005)或者 LUNA[™]可重复使用计数板(Cat# L12008)
- 如果需要,请准备一个用于存储数据和结果的U盘。

注意:GFP 转染分析的试剂和相应的试剂盒没有包含在 LUNA-FL™的标准套装中,这些需要从供应商处额外购买。

5.2 加样到计数板中(Loading Samples into Slides)

5.2.1 两指轻轻捏住计数板的两边,用 10µl 移液器吸取 10µl 阴性对照样品,加入到计数板的其中一个样品池的加样孔中去。另一个样品池中加入 GFP 转染后的细胞样品。要想轻松准确加样,建议移液器吸头与计数板保持 45-60°夹角。如下图所示。









注意: 往样品槽中加样时,不要加样过多,也不要太少。

5.3 检测 GFP 转染效率 (Measuring GFP Transfection Efficiency)

5.3.1 优化检测条件 (对焦和曝光水平)

5.3.1 为了让细胞沉降下去,等待 10sec(根据细胞样品有所不同)再开始计数。

注意: 该步骤很重要,如果跳过该步骤,有可能导致计数结果不准确。最佳的等待时间需要根据实验人员的 经验来判断。如果在预览视野中细胞仍在移动,需要等待更长的时间。

注意:如果细胞不能沉降下来,则从明场,绿色荧光和红色荧光通道采集到的图像不能很好叠加,就像下图 所示。



5.3.1.2 将含有 GFP 转染细胞的计数板插入到仪器的插孔中,确保加样的一边朝里并且加样孔朝上,仪器只 会根据计数的结果分析第一个插入的样品池中的样品。轻轻地将计数板推到底部。

注意:LUNA-FL[™]只能计数第一个位置的样品,要想计数第二个样品槽,需要把计数板拔出来,水平旋转 180°, 再重新插入到样品孔中。

注意:请检查计数板没有被倒置插入到样品孔。这会导致样品洒出来严重损坏计数仪。





5.3.1.3 在主界面上选择 GFP 转染效率(GFP Transfection Efficiency) 按钮。



注意:点击该按钮之后,细胞样品的实时图像会显示在屏幕上(预览状态),细胞的图像可以通过触控笔触 碰屏幕移动或者手指在屏幕上移动进行浏览。要知道,LUNA-FL™的触摸屏是电阻式触摸屏,需要稍微施加点 压力,屏幕才会有感应。

5.3.1.4 Preview 界面在明场下会出现下面图片情况,确保用户具有最好的聚焦。必要时,调节仪器右侧的对焦旋钮进行聚焦。



注意: 要想获得最佳的结果,请使用明场模式(2X或4X)去调节对焦点。







注意:要获得最好的聚焦,图像可以通过 Count 下面的 Zoom-in 按钮放大,最初时,Zoom-in 设置是 1x 放大,点击一次,显示 2x 放大, 2x 放大是调焦的最佳状态。当再一次点击 Zoom-in,可以显示 4x 放大。再点击一次,重新恢复到 1x 放大。

注意:在预览界面检查细胞全部都固定不动再开始计数,如果有些细胞还在移动,请等待所有细胞静止下来 再开始计数。

5.3.1.5 点击 BF/GF/RF 按钮一次,预览绿色荧光图像,如果预览的绿色荧光图像信号太暗只有几个细胞能看到,可增加激发光强度。如果荧光信号太强以致于背景荧光开始出现,适当降低激发光强度。最佳的荧光激发光强度值取决于经验值,仪器出厂默认设置的哺乳动物细胞的值是 18。

注意:在预览阶段,如果细胞在长时间的光源照射下,他们的荧光强度会迅速降低。当使用过强的激发光时,这种荧光漂白现象会加速产生。在选择 GF/RF 预览时,通常尝试用尽可能短的曝光时间和尽可能低的激发光强度。



注意:绿色荧光的曝光水平必须从 18 开始然后根据信号的强弱,可适当调节。

5.3.2 设置阴性对照

5.3.2.1 取出含有 GFP 转染细胞的计数板,插入含有阴性对照的计数板。

5.3.2.2 点击 Set (-) control 按钮。

注意:一个弹窗(如下图所示)会显示出存在当前阴性对照的警告,如果您是错误操作了 Set (-) control 按钮, 点击 cancel 返回,否则,点击 OK 确认开始设置。





ħ	Co	ount	Review	Protoco	ol	Mode GFP to Date 27 Oc	ransfecti t., 2013	on assay , 16:56		\$
Set OC	ontrol	Count Sa	mple	•	0	0		0		• •
Curro Gro Preso Set Exp	ent expe een et nega t date : 2 posure le	tive control 7 Oct., 2013	Previou: Do you wa	s negative con ant to set a ne	ntrol was o ew negativ	detected. re control	?	0 ⁰	8	0
Prote	ocol: D	EFAULT		ок	Can	cel		,		• •
				9	ė	° °		. 0		
				5.00		0		0	0	0

5.3.2.3 大约 30 秒内(取决于细胞的浓度),阴性对照的分析会完成,点击 OK 按钮。

价	Co	unt Revi	iew Protocol	Mode GFP trans Date 27 Oct.,	fection assay 2013, 16:57	₽
Set 🔾 Co	ontrol	Count Sample	•	o o	0	• •
Bright	Field	N	egative control setting Please insert the san GFP transfected ce [Count San	g was completed. nple containing Ils and press nple].	• • • • • • • •	0
			ок	Cancel	•	° 0
			•	8	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	•

5.3.3 计数 GFP 转染样品

5.3.3.1 插入含有 GFP 转染样品的计数板,点击 Count Sample 按钮。

5.3.3.2 大约 30 秒内(取决于细胞的浓度),细胞样品的图像,数据和结果(包括总浓度,GFP+浓度,GFP+ 百分比,总细胞数,GFP+细胞数,平均直径,稀释因子等)会显示在屏幕上。

注意: 阴性对照和 GFP 转染样品请使用相同的曝光水平。

注意:结果屏幕上的 GFP 转染数据是采用自动门控功能计算得来的,要想得到更为准确的结果,请点击 Graph 按钮采用一个新的门控,关于用户自定义的门控部分更详细的内容,请参考 5.5 部分内容。







5.3.3.3 如果您有多个 GFP 转染的样本,并且想测量下一个样品的转染效率,直接插入下一张含有 GFP 样本的计数板,点击 Next Count 按钮就可以了。



5.3.3.4 根据需要点击 Count Sample 按钮

5.4 使用 Tag 功能(Using the "Tag" Function)

5.4.1 完成测量 GFP 转染效率功能后,为了核验计数后的结果,如下如所示点击 Image 和 Tag。







注意: 这个 Tag 功能是 LUNA-FL[™] 自动荧光计数仪直观的功能之一,因为它能帮助用户不用电脑即可在线 判定测量 GFP 转染效率的准确性。

5.4.2 当触摸 Tag 按钮后,屏幕上的图像将会呈现目标细胞被绿色圆圈包围的状态。绿色圆圈指示的是 GFP 转染的细胞。



绿色圆圈--GFP 转染细胞

5.4.3 预览过图像分析的准确性后,再次点击 Tag 可以移除绿色圆圈。

5.5 GFP 强度和数量分布 (GFP Intensity and Number Distribution)

5.5.1 要想得到 GFP 强度和数量的图示分布,请点击左下角的 Graph/Gating 按钮。屏幕上就会显示一个如下 图所示的柱状图,含有更多的 GFP 强度和数量的细节。GFP 转染的细胞显示为绿色曲线,而阴性对照细胞显 示为灰色曲线。









GFP 强度阈值线是被 LUNA-FL[™]软件自动判



注意: 仪器自动设定的默认的阈值线是 GFP 强度的最小值,该情况下,所有的阴性对照被标记为 GFP-细胞。 万一自动生成的阈值线不满意,用户可以按下图所示自定义阈值线。



GFP 强度阈值可以被使用者 人为降低,使用人可以通过 触碰右下方左侧箭头图标。 要更新GFP+和GFP-的百分 比,需要点击 Apply 按钮。 需要注意的是,GFP+和 GFP-的百分比是从当前的 数值变化。



Graph Gating





GFP 强度阈值可以被使用者 人为增加,使用人可以通过 触碰右下方右侧箭头图标。 要更新GFP+和GFP-的百分 比,需要点击 Apply 按钮。 需要注意的是,GFP+和 GFP-的百分比是从当前的 数值变化。

当点击一次 Control+Sample 按钮, 阴性对照细胞(Control) 的 GFP 荧光强度会显示。





当再次点击 Control 按钮, 会显 示转染 GFP 细胞 (Sample) 的 GFP 荧光强度。

5.5.2 再次点击 Graph/Gating 按钮,返回到前一个界面。





5.6 明场和绿色通道的开启与关闭 (On/off of the Bright and Green Channel)

5.6.1 使用人可以通过点击 On/Off 按钮来开启或者关闭明场和绿色通道。





5.6.2 使用人员还可以通过上下箭头来调节明场和绿色通道的亮度水平。







5.7 针对当前的计数结果保存图像并生成报告 (Saving the Image and Generating a Report of the Current Count)

5.7.1 要保存数据或者生成报告,首先在仪器左侧的 USB 插口处插入 U 盘。



5.7.2 点击屏幕左下方的 Save 按钮, 会弹出一个新的保存界面。





EASTWIN

注意:保存界面含有3个保存选项。

Analyzed Image:选择该选项来保存分析后的图像,该图像中,活的有核细胞被绿色圆圈标记,死的有核 细胞被标记为红色。

Raw Image: 该选项必须始终被选中,为了保存3张TIF格式的图像(明场,绿色,红色)。这些被保存的图像可用于以后需要时再分析。请记得保存原始图像以便于从厂家或者分销商处得到技术支持

Report:选择该选项,会生成一个可供打印的 **PDF** 格式的报告文件,该报告文件包含了所有的细胞计数的 信息。同时也可以在个人电脑上查看。

注意:要从分销商和厂商获得更多的技术支持,请不要忘记把 Raw Image 保存下来并发送给厂商。

5.7.3 利用屏幕上的软键盘输入文件名,可通过点击 Add Date/Time 按钮添加上时间和日期。

5.7.4 一旦文件名被确认,点击 Enter 按钮来保存图像或者报告到 U 盘中去。现在,利用 U 盘把这些文件转移到个人电脑中去后,这些文件可以在电脑上使用相应的程序被打开。





Analyzed Image	Raw Image Report		Print			
HL60_GFP_gating X Add Date/Time						
1 2	3		9	0	-	
QW	E Please wait while saving.	(D	Ρ	×	
A S	D		L		nter	
仓	Z X C V B N	N	Л			
	Space					

注意:利用 LUNA-FL[™]软件,PDF 报告中数据和结果的附加的图示含义,如下图所示。



5.8 计数结果的打印 (Printing the Counting Results)

请参考 3.8 部分打印计数结果。





第六章 酵母细胞计数 (Yeast Cell Counting)

利用新的荧光染料,二乙酸荧光素(Fluorescein diacetate,FDA)和 2.0 及以上版本的软件,LUNA-FL™的用户可以计数酵母细胞,要想了解更多的信息,请参阅官方网站(www.logosbio.com)上发布的应用文档。

6.1 样品制备 (Sample Preparation)

6.1.1 请准备下列计数酵母细胞所用的材料。

酵母细胞

荧光计数板(Cat#L12005)或者是可无限重复使用计数板(Cat#L12008)

酵母活率计数试剂盒 I(Cat# F23202)

注意:酵母活率计数试剂盒 | 包含下面几种组分。

内容	体积	存储条件
二乙酸荧光素	500µl	-20 ℃(脱水,避光)
PI	500µl	4℃(避光)
LUNA-FL™ 细胞稀释缓冲液	20ml	4℃-常温
荧光信号增强剂I	500µl	-20 ℃

● 货架期:保存得当情况下,从生产日期起至16个月。

● FDA 需要被溶解在 DMSO 中,操作人员要小心操作。

- 荧光信号增强剂 | 暴露在人体皮肤表面会产生毒性,取用时需要佩戴手套和实验室防护服。
- 上述每种成分都可以单独购买,如有需要请联系当地分销商。

6.1.2 开始之前,如果需要,使用人员需要按下面方法检查样品条件。

6.1.2.1 从酵母(酒类或者啤酒)样品中取 10µl 样本,加入到计数板中,不用加任何试剂,在 LUNA-FL[™] 上 检查预览图像。

检查点1: 明场图像太暗(特别是酒类样品)?

检查点 2: 荧光图像太亮(自发荧光)?

检查点 3: 明场图像中存在太多酵母细胞?

6.1.2.2 如果上述三个检测点的答案都是"是",该样品应当用 LUNA-FL[™] 细胞稀释缓冲液进行稀释。准确的 稀释比例应当根据实验情况而定,从 1:10- 1:100 是一个好的起始点,如果需要,先通过离心去除上清液,然 后再用 LUNA-FL[™] 细胞稀释缓冲液进行重悬。经过稀释和清洗步骤后,进行下一步操作。





重要提示:



如果您的酵母细胞是生长在 YPD 培养基中, 在计数前, 请确保样品用 LUNA-FL™ 细胞稀释缓冲液至少按 1:100 比例进行稀释。YPD 培养基中含有强烈的酯酶活性, 会抑制酵母细胞摄如的 FDA, 导致荧光信号偏弱。

6.1.2.3 如果上述答案都是"否",则直接进行下一步操作。

6.1.3 吸取 1µl FDA,1µl PI 和 1µl 荧光信号增强剂 1 到一个新的 1.5ml ep 管中。

注意: AO 和 PI 测量的是细胞内的核酸的量, FDA 测量的是细胞内代谢酶(酯酶)的活性。在此,酵母细胞菌株之间核酸的量变化不会太大,但是,代谢酶的活性在不同菌种之间却变化很大。即使是同一种菌株,它在不同的生长状态下,代谢酶的活性也会有所不同。因此,不同菌株,不同生长状态下,FDA 荧光强度的变化是不可避免的。在有些菌株中,如酒香酵母属,这些信号变化的差异就会很明显,而在另外一些菌株,如酿酒酵母属,这些信号变化的差异时很小的。

6.1.4 加入 17µl 细胞样品到 ep 管中,用移液器反复吹吸进行混匀或者盖上盖子反复颠倒混匀。

注意:任何含有 FDA 和 PI 的溶液都应该避免强光照射。

6.1.5 孵育样品 2min (可选项)

注意:由于 FDA 的工作原理,请确保在室温下孵育混合样品 2-10min。

6.2 加样到计数板 (Loading Samples into Slides)

6.2.1 两指轻轻捏住计数板的两边, 吸取 10μl 混合好的样品, 加入到计数板的其中一个样品池的加样孔中去。 要想轻松准确加样, 建议移液器吸头与计数板保持 45-60°夹角。如下图所示。







- 6.2.2. 剩余的 10µl 样品可用于进行第二次重复计数以获得计数结果的平均值。
- 注意: 要小心计数板中不要加样过多,也不要过少。

6.3 酵母计数 (Counting Yeasts)

6.3.1 打开仪器,选择界面上的 Yeast Cell Counting (FDA/PI) 按钮。



6.3.2 将加好样的计数板插入到计数仪的插孔中,确保加样的一边朝里插入。该仪器只分析朝里插入的第一个样品池的样品,请轻轻地把计数板插到尽头。







注意:插入计数板后,LUNA-FL[™]只能分析计数板上朝里的第一个样品池,要想阅读第二个样品池,需要将计数板拔出,水平旋转 180 度,将第二个样品池朝里再次插入计数仪的插孔中。

注意:请确保计数板没有颠倒插入,这样会导致样品洒出,损坏计数仪。

6.3.3 在明场模式的预览界面,观察酵母细胞并等待 30sec 至 1min(具体根据样品情况而定)使得细胞沉降下来,这一步骤非常重要,因为酵母细胞非常小,需要花费一些时间来进行很好地对焦。2x 和 4x 缩放功能有助于对焦清晰。



注意:如果跳过该步骤,有可能导致计数结果不准确,因为移动的细胞会导致细胞图像(明场,绿色荧光,红 色荧光)叠加不准确。最佳的等待时间需要根据实验人员的经验来判断。如果在预览视野中细胞仍在移动, 需要等待更长的时间,确保在预览窗口观察到的细胞不再移动为止。



→细胞在朝这个方向移动





6.3.4 检查屏幕上用于酵母计数的默认 protocol 下当前的绿色通道(18)和红色通道(18)的曝光水平和阈值(2)。

注意: 使用人可以在 18-20 之间设置曝光水平,在 1-5 之间设置阈值,请确保您从 18(曝光)和 2(阈值) 开始,然后根据经验调节参数。

6.3.5 点击 Count 按钮



注意:请参考下面计数案例:酿酒酵母在指数生长期被 FDA/PI 完美计数。(图片来源: Vivelys 馈赠)







Counting Results	Counting Protocol		
Total cell concentration: 7.70 x 10e6 cells/mL	Protocol name: DEFAULT		
Live cell concentration: 7.70 x 10e6 cells/mL	Dilution factor: 1.18		
Dead cell concentration: 0.00 x 10e0 cells/mL	Min. cell size: 3 μm		
Viability: 100.0 %	Max. cell size: 60 μm		
Average cell size: 9.0 µm	Size gating: 3 - 60 µm		
Total cell number: 3351	Green fluorescence threshold: 5		
Live cell number: 3351	Red fluorescence threshold: 5		
Dead cell number: 0			

6.3.6 通过点击 Graph/Gating 按钮,屏幕将如下面那样显示尺寸/数量的分布。



注意:通过点击箭头按钮,使用人可以酵母细胞的最小和最大尺寸,以便把酵母细胞包含或者排除在计数结果中(外)。在屏幕下方,最大细胞直径低于最大直径设置的阈值,通过向左移动 Max 界限条,然后点击 Apply。




EASTWIN

注意:通过点击"Total/Live/Dead"按钮,使用人可以只看到总细胞数,活细胞或者是死细胞的单种柱状图。如下图所示。







注意:通过点击"Cluster Map"按钮,使用人可以看到如下图所示的细胞聚团的状态。



6.4 使用 Tag 功能 (Using the "Tag" Function)

6.4.1 完成计数后,要想验证计数结果,点击下图所示的 Image 和 Tag 按钮。

EASTWIN

Ħ	Count F	Review	Protoco		lode Yeast cell co late 27 Oct., 201	unting 13, 18:36	¢
I	Next Count			· •			
	Images						
Total	5.42×10e5 cells/mL			•			
Live Dead	3.59×10e5 cells/mL 1.84×10e5 cells/mL						
Viability Avg. size	66.1% 5.1 um						
Dil. factor	1.11						•
Total #	236 cells						
Live#	156 cells						

注意: 这个 Tag 功能是 LUNA-FL[™] 自动荧光计数仪直观的功能之一,它能帮助用户不用电脑即可在线浏览 并判定计数结果的准确性。

6.4.2 当触摸 Tag 按钮后,屏幕上的图像将会呈现目标细胞被绿色圆圈包围的状态。绿色圆圈指示的是活细胞。



注意:在上述图片中,每个荧光通道的曝光水平可以通过上下箭头调节。





6.4.3 浏览图片分析的准确性后,可以再次点击 Tag 按钮来去掉圆圈标记。

6.5 故障处理(Trouble Shooting)

6.5.1 (问题 1) 荧光信号太弱。

一 如果细胞是生长在 YPD 培养基中,请确保使用细胞稀释缓冲液至少进行 1:100 倍稀释, YPD 培养基的组 分中含有很强的酯酶活性,会抑制酵母细胞摄入 FDA 染料。关于 YPD 更详细的信息说明,请查阅官网 (www.logosbio.com)上最新的应用笔记。

6.5.2 (问题 2) 荧光信号仍然很弱以至于酵母细胞无法计数。

一 增加曝光水平到 20

6.5.3 (问题3)有荧光信号但是酵母细胞无法被计数(标记)

一 降低阈值范围到 1

6.5.4 (问题 4) 即使经过稀释或者清洗,背景荧光仍然很强

一 使用荧光信号增强剂 I(Cat# F23213),参见下面 protocol

EASTWIN





 使用 LUNA-FL[™]稀释缓冲液进行至少 1:100 稀释,或者是把酵母细胞进行离心取上清,然后用 LUNA-FL[™]稀释缓冲液进行重悬。
取 1µl 荧光信号增强剂 I 与 17µl 酵母细胞悬液进行混合。

- 3. 孵育 10min。
- 4. 加入 1µl FDA 和 1µl Pl。
- 5. 孵育 10min。
- 6. 取 10µl 混合样品上样到细胞计数板。

注意:荧光信号增强剂 | 是对增强信号有帮助的。但是,要看细胞的情况。例如:在指数生长期的酵母细胞, 荧光信号增强就很明显。而有些时候对生长末期的酵母细胞就不明显。 快速分裂的酵母细胞代谢活动比较明 显,他们会泵出更多活化的荧光染料。荧光信号增强剂实际上是抑制了细胞的泵出/转运机制。当在正常使用 荧光信号增强剂时,会降低背景信号,增加信号强度,这样从整体上增加了信噪比。

6.6 打印计数结果 (Printing the Counting Results)

请参阅 3.8 部分打印计数结果。





第七章 回看以前的结果(Reviewing Previous Results)

LUNA-FL[™]提供了一个简单易用的功能来使用存储在 U 盘里的以前的结果进行进一步的回看。该功能适用与 全部的四种计数类别。

7.1 输入以前的计数结果 (Importing Previous Counts)

7.1.1 将含有以前计数结果的 U 盘插入到仪器的 USB 插孔中去。

7.1.2 点击定位在屏幕上方的 Review 按钮, U 盘内的文件列表会显示在屏幕左下方。

ħ	Count	Review	Protocol	Mode FL cell counting Date 22 Oct., 2013, 17:25 1	\$
P	Previous Count				
	٩				
HL60_GFI	p_gating				
Logos Bio	systems-				
Logos Bio	systems-bead-ex3-3	3			
Logos Bio	systems-bead-ex7-3	3			
Logos Bio	systems-ex5-3				
Logos Bio	systems-ex5-3(1)				8
Logos Bio	systems-ex5-good				
Lonos Rin	evetome_ov6	-			

7.2 回看以前的结果 (Reviewing Previous Results)

7.2.1 点击文件名,以前的文件将开始输入,文件的图像和计数结果都会显示在显示屏幕上。



ħ	Count	Review	Protocol	Mode FL cell counting Date 22 Oct., 2013, 17:25 2	₽
Pro	evious Count				
Total Live Dead Viability Avg. size Dil. factor Total # Live # Dead #	1.57x10e6 cells 1.54x10e6 cells 2.40x10e4 cells 98.5% 16.5 um 1.11 719 cells 708 cells 11 cells	\$/mL \$/mL \$/mL			

EASTWIN

7.2.2 以前的计数图像可以通过点击缩放按钮进行 1x, 2x, 4x 浏览,也可以通过在屏幕窗口触摸和拖拽图像。

7.2.3 点击"X (关闭)"按钮可以来回看其它以前的结果。或者点击屏幕上方 Count 按钮, 仪器开始准备进行 再次计数。

7.3 以前计数按钮("Previous Count" button)

无论什么时间样品被计数,结果将会自动保存在仪器内部的存储中,这些数据可以输出 CSV 格式的文件进行 后续分析。

7.3.1 点击回看界面中左侧的以前计数按钮,会产生一个新窗口。以前计数窗口可以含有多达 1000 个存储在 LUNA-FL[™]记忆中的以前的计数结果。

logos

biosystems

20



ħ	Count	Review	Protocol	Date 27 Oct., 2013, 17:06	\$
P	revious Counts				
	2				
HL60_GF	P_gating				
Logos Bi	os y stems-				
Logos Bi	osystems-bead-ex3-3	3			
Logos Bi	osystems-bead-ex7-3	3			
Logos Bi	osystems-ex5-3				
Logos Bi	osystems-ex5-3(1)				
Logos Bi	osystems-ex5-good				
Logos Rig	nevetome.ov6				

Pr	Previous counts					o USB (.C	SV)	Erase All	×	
Mode	Name	Date	Total Coll	Live Cell	Dead Cell	Viability	Avg. Cell Size	Protocol	I	
BF	1145111	16/06/2013 13:35	6.68E+05	5.35E+05	1.34€+05	80.0%	12.1	Test Protocol	- 1	
			170	136	34					
FL.		15/06/2013 16:30	9.04E+05	9.04E+05	0.00E+00	100.0%	20.9	Test		
			46	46	0					
BF		15/06/2013 16:28	2.91E+05	2.16E+05	7.47E+04	74.3%	15.4	Test Protocol		
			74	55	19					
FL	9-20	15/06/2013 14:27	8.27E+06	8.27E+06	0.00E+00	100.0%	7.8	Test		
			421	421	0					
FL.		15/06/2013 14:26	8.27E+06	8.27E+06	0.00E+00	100.0%	7.8	Test		
			421	421	0					
R.		15/06/2013 14:25	8.31E+06	8.31E+06	0.00E+00	100.0%	7.8	Test		
			423	423	0					
R.	9-19	15/06/2013 14:24	8.31E+06	8.31E+06	0.00E+00	100.0%	7.8	Test	-	



Previous counts			Export 1	to USB (.C	SV)	Erase All	×
Name / Date	Total Cell	GFP(+) Cells	GFP(-) Cells	% GFP (+)	Avg. Size / Avg. Intensity	Protocol	
HL60_GFP_gating	9.13E+05	8.26E+05	8.70E+04	90.5%	12.6	DEFAULT	
27/10/2013 16:59	441	399	42		16769.3		
	1.00E+06	3.95E+05	6.05E+05	39.5%	10.0	DEFAULT	
27/10/2013 16:53	483	191	292		6770.3		
	9.69E+05	2.96E+05	6.73E+05	30.6%	10.7	DEFAULT	
27/10/2013 16:52	468	143	325		4704.0		
	9.65E+05	4.97E+04	9.15E+05	5.2%	10.5	DEFAULT	
27/10/2013 16:50	466	24	442		3997.5		
	9.79E+05	1.04E+04	9.69E+05	1.1%	10.9	DEFAULT	
27/10/2013 16:49	473	5	468		3766.6		
	1.29E+06	7.74E+05	5.18E+05	59.9%	8.3	DEFAULT	
23/10/2013 16:49	624	374	250		19388.6		
	1.01E+06	9.71E+05	3.93E+04	96.1%	8.2	DEFAULT	•

EASTWIN

7.3.2 在 Previous Count 界面,有三种按钮。

1.Export to USB(.CSV)--用户可以把以前所有的计数结果数据保存在U盘里。这些数据可以在个人电脑的软件上进行分析。首先插入一块U盘,然后点击 Export to USB(.CSV)。

2. Erase all --所有数据可以从内存中清除。

3.Close--关闭该窗口。







第八章 设置计数的 protocol (Setting Up the

Protocol for Counting)

用户可以针对不同种类的细胞设置独一无二的计数 protocol,当点击主界面上的 protocol 按钮,一组 protocol 将显示在 protocol 列表中。

注意:最初,仪器出厂时只有两个 Protocol,分别是 Default 和 New Protocol。要生成定制化的 Protocol,首 先选择 New Protocol 并且进行参数编辑 (Edit),然后点击 Save as 按钮。因为 Default protocol 不能被编辑, 在被编辑之前,需要先将其保存为另外一个名字。

注意:每一种计数模式都有自己独立的参数设置。

8.1 调节明场视野下的参数 (Adjusting Parameters for Bright Field Counting)

当进行计数时,默认的 protocol 或者当前的 protocol 参数会被用于计数。

ħ	Co	unt	Revi	ew I	Protocol		Protocol DEFAULT Date 16 Jun., 2013,			, 14:05		₽	
Protoc DEFAUL	ol T	User All User		Dilution Factor (1~100)	Noi Redu (1~	se ction 10)	Live Detection Sensitivity (1~10)		Roundne: (30~100%	ss Cel b) (1~9	Min. Cell Size (1~90µm)		Max. ell Size ~90µm)
New Pro	otocol	All User All User								,			
				2	5	;	5		60	З	3		60
				▼			▼				7		▼
				Load	ad		Edit		Delete		Save As		As

可调节的参数参见下表描述

参数	可调范围	默认值	描述
Dilution Factor	1-10	2	默认值是2,使用人可以根据原始样品的稀释程度进行调节。
(稀释因子)			如果稀释了 A 倍,使用人可以设置这个值为 2XA.例如进行 10



niosystems	
Josystems	

			倍稀释,稀释因子应当设置为 2x10(20)。
			稀释因子参数的调节时在 2-10 之间以 1 为步进调节,在
			10-100 之间是以 10 为步进调节。
			稀释因子校正的是实际的细胞数目,这样,分析结果是通过原
			始样品生成的。
			稀释因子会让使用者在进行高细胞浓度样本重复计数如发酵
			型的 CHO 样本时获得帮助。
Noise	0-10	5	这里指的是降低计数的背景。较高的背景扣除将不能检测到微
Reduction (背			弱的信号或者是染色较浅的目标。较低的背景扣除意味着增加
景噪音扣除)			了目标检测的灵敏度。需要将该参数调节到合适的数值。当细
			胞染色过度或者是染色不足时,该参数也会非常有用。
Live Detection	1-10	5	该参数是设计用来检测具有不同水平中心亮点的活细胞,增加
Sensitivity (活			该参数会检测更多的活细胞,减少该数值会出现只把那些中心
细胞检测灵敏			非常亮的细胞作为活细胞。
度)			
Roundness	30-100	60	这个参数指的是图像上目标的圆度,增加该数值,需要检测的
(圆度)			目标需要更圆。同时,降低该数值,将包含更多非圆形计数细
			胞。当细胞样品不是通常的圆形或者是不规则的形状时,请调
			整该参数。
最小细胞直径	1-90	3	用于设定可计数在内的最小的细胞直径,单位是 1µm。
最大细胞直径	1-90	60	用于设定可计数在内的最大的细胞直径,单位是 1µm。

EASTWIN

8.2 调节荧光计数的参数 (Adjusting Parameters for Fluorescence Counting)





Ħ	Count	Rev	view I	Proto	ocol	Pro Dat	rotocol DEFAULT ate 09 Jun., 2013,		10:22	\$
Protoc DEFAUL New Pro	Protocol User DEFAULT All User New Protocol All User		Dilution Min. Factor Cell Sizz (1-10) (1-90µm		u. Max. Size Cell Size µm) (1-90µm)		Green Fluore -scence Threshold (1-10)	Ri Flu -sce Thre: (1-	ed ore ence shold 10)	
			1.11	3	;	60	5	Ę	5	
			▼	7		▼	▼		7	
			Load	L	E	dit	Dele	te	Sa	ve As

参数	可调范围	默认值	描述
Dilution Factor	1-10	1.11	默认值是 1.11,这种模式下,2µl AO/Pl 与 18µl 细胞悬液混
(稀释因子)			合,20/18。如果是 4µl 染料与 16µl 细胞悬液混合,则稀释因
			子为 1.25。稀释因子的变化从 1.11,1.25,1.42(6µl), 1.66
			(8µl) , 2.00 (10µl) , 2.50(12µl),3.33 (14µl) , 5.00
			(16µl),10(18µl)。
			稀释因子校正的是细胞真实的个数,这样,计数结果可以生成
			原始细胞浓度。
			稀释因子校正的是实际的细胞数目,这样,分析结果是通过原
			始样品生成的。
最小细胞直径	1-90	3	用于设定可计数在内的最小的细胞直径,单位是 1µm。
最大细胞直径	1-90	60	用于设定可计数在内的最大的细胞直径,单位是 1µm。
Green	1-10	5	绿色和红色荧光的阈值可以检测到图像处理中阈值的水平,增
Fluorescence			加阈值将会通过更严格地扣除背景而检测到更少的细胞。降低
Threshold(绿			阈值会检测到更多的细胞,但是会增加噪音(杂)信号的水平
色荧光阈值)			
Red	1-10	5	
Fluorescence			
Threshold(绿			
色荧光阈值)			

8.3 酵母细胞计数参数的调节 (Adjusting Parameters for Yeast Cell Counting)



ħ	Count	Review	Prote	ocol	Mod Date	e Yeast cell c 24 Oct., 20	ounting 13, 20:34	¢
Protoc	ol User T All User	Dilution Factor (1-10)	Mii Cell (1~90	n. M Size Cel Iµm) (1~9	lax. I Size 90µm)	Green Fluore -scence Threshold (1~10)	Red Fluore -scence Threshold (1~10)	
New Pro	otocol All User							
		1.18	1	. 2	20	2	2	
		▼			•	▼	•	
		Lo	ad	Edit	:	Delete	e	Save As

EASTWIN

可调节的参数如下表所示:

参数	可调范围	默认值	描述
Dilution Factor	1-10	1.18	酵母计数(FDA/PI)模式下默认值是 1.18,这种模式下, 1µl
(稀释因子)			FDA,1µI PI 以及 1µI 荧光信号增强剂 I 与 17µI 细胞悬液混
			合,z 在这种模式下,稀释因子为1.18(20/17)。
			假设总体积是 20µl,使用人可以在根据下面几种参考稀释因
			子来修正参数。
			稀释因子(总体积/酵母细胞悬液体积):
			1 (20/20), 1.11 (20/18), 1.18 (20/17), 1.25 (20/16), 1.42
			(20/14), 1.66 (20/12), 2 (20/10), 2.5 (20/8), 3.33 (20/6), 5
			(20/4), 10 (20/2)
			稀释因子校正的是细胞真实的个数,这样,计数结果是从原始
			细胞样品生成的。
最小细胞直径	1-90	1	对于酵母细胞来说,该默认值为1,单位是1µm。
最大细胞直径	1-90	20	对于酵母细胞来说,该默认值为20,单位是1µm。
Green	1-10	2	绿色和红色荧光的阈值可以检测到图像处理中阈值的水平,增加
Fluorescence			阈值将会通过更严格地扣除背景而检测到更少的细胞。降低阈值
Threshold (绿			会检测到更多的细胞,但是会增加噪音(杂)信号的水平。
色荧光阈值)			
Red	1-10	2	对于酵母计数来说,根据荧光信号的强度,推荐从2或者3开始。
Fluorescence			
Threshold (绿			
色荧光阈值)			





8.4 GFP 转染效率分析的参数调节(Adjusting Parameters for GFP Transfection Assay)

ħ	Count	Review	Proto	col	Mod Date	e GFP transfe 24 Oct., 20	ction ass 13, 20:3	ay 4	₽
Protoc DEFAUL	ol User T All User	Dilution Factor (1~10)	Nois Reduc (1~1	e Roun tion (30~* 0)	ndness 100%)	Min. Cell Size (1~90µm)	Max Cell S (1~90)	i. Jize Jum)	
New Pro	otocol All User				▲				
		1	5		60	3	60)	
		•			7	▼	▼	-	
		Loa	ad	Edit		Delete	e	Save	As

可调节的参数如下表所示:

参数	可调范围	默认值	描述
Dilution Factor	1-10	1	系统默认值是 1,
(稀释因子)			使用人可以根据原始样品的稀释程度进行调节。如果稀释了A
			倍,使用人可以设置这个值为 2XA.例如进行 10 倍稀释,稀释
			因子应当设置为 2x10(20)。
			稀释因子参数的调节时在 2-10 之间以 1 为步进调节,在
			10-100 之间是以 10 为步进调节。
			稀释因子校正的是实际的细胞数目,这样,分析结果是通过原
			始样品生成的。
			稀释因子会让使用者在进行高细胞浓度样本重复计数如发酵
			型的 CHO 样本时获得帮助。稀释因子校正的是细胞真实的个
			数,这样,计数结果可以生成原始细胞浓度。
			稀释因子校正的是实际的细胞数目,这样,分析结果是通过原
			始样品生成的。
			注意:在任何情况下,使用人必须在计数前把稀释后的细胞样
			品与等体积的 0.4%台盼蓝染料进行 1:1 混合



Noise	0-10	5	这里指的是降低计数的背景。较高的背景扣除将不能检测到微
Reduction (背			弱的信号或者是染色较浅的目标。较低的背景扣除意味着增加
景噪音扣除)			了目标检测的灵敏度。需要将该参数调节到合适的数值。当细
			胞染色过度或者是染色不足时,该参数也会非常有用。
Roundness	30-100	60	这个参数指的是图像上目标的圆度,增加该数值,需要检测的
(圆度)			目标需要更圆。同时,降低该数值,将包含更多非圆形计数细
			胞。当细胞样品不是通常的圆形或者是不规则的形状时,请调
			整该参数。
最小细胞直径	1-90	3	用于设定可计数在内的最小的细胞直径,单位是 1µm。
最大细胞直径	1-90	60	用于设定可计数在内的最大的细胞直径,单位是 1µm。

EASTWIN

8.5 管理 Protocol (Managing Protocols)

参考下表描述

按钮	描述
Load	利用此按钮来调用一个保存好的 protocol 来调整参数或者进行计数
Edit	选定一个 Protocol 后,点击该按钮,可对 Protocol 的参数进行调整,定
	位在参数上下方的箭头被激活,点击箭头可改变每个参数的值。
	没有选中 protocol 时,该功能是失灵的。
	如果编辑完后, Load 一个新的 protocol, 则前面所编辑的参数会自动保
	存同一个名字下的 protocol 中。
Delete	选中该一个 protocol,点击该按钮,可以将其从存储中移除。
	未选中 protocol 时,该按钮是失灵的。
Save as	编辑完参数后,点击该按钮,可将参数保存到一个新的 protocol 中。
	保存后,点击 load 可调用已保存的 protocol 用于后续计数。

注意:LUNA-FL™提供了一个出厂时设置好的 protocol,名字为 Default(默认)。该"默认"protocol 不能被编 辑或者删除。该 protocol 里的参数是经过众多不同种类的细胞进行多次实验后确定下来的,可以不必修改参 数情况下用于普适性的细胞计数。





第九章 维护和故障处理(Maintenance and Troubleshooting)

9.1 清洁 (Cleaning)

通常情况下,LUNA-FL[™]不需要进行常规保养,当连续使用相当一段时间后,可能需要清洁或消毒表面以清除仪器表面的灰尘和污渍。在进行清洁和保养之前,请确保关闭 LUNA-FL[™]并断开电源。在清洁过程中,请确保水或者清洗液不会进入到仪器内部的任何零部件中。

9.1.1 清洁外壳

使用柔软湿润的抹布擦拭仪器表面,使用一些蒸馏水或者酒精来湿润抹布,清洁后,请立即用干布把仪器表面擦干。不要直接向仪器表面倾倒/喷洒水或者其它清洁剂。为了避免电击和仪器损伤,电源连接线部位绝对 不能湿水。

9.1.2 清洁触摸屏

找一块软抹布,稍微喷一些官方授权使用的液晶屏清洁剂,轻轻擦拭屏幕。由于用力过猛或者压力过大会损 坏液晶屏,在清洁时要轻柔而且小心,清洁后迅速把屏幕擦干。

9.1.3 利用酒精消毒

如果仪器需要消毒,用蘸有 70%酒精的软抹布擦拭仪器表面,不要把酒精或其他消毒液直接喷在仪器表面。 这样会导致仪器严重损害,也会造成使用人员遭电击。

注意:不能使用带有磨砂或者漂白作用的溶液处理仪器表面,否则会造成表面和液晶屏的磨损。

9.2 更换电池组(Changing the Battery)

LUNA-FL[™]细胞计数仪的电池组可使用 10 年以上,如果出现时间变化或者仪器不明原因的变慢,这意味着电 池变弱或者失效了,要更换电池组,请联系当地供应商的客服人员。任何情况下都不要尝试自己更换电池组, 私自拆卸仪器会导致质保期作废。





9.3 校准仪器 (Calibrating the Counter)

通常情况下,仪器在出厂前已经完成校准好了,使用前不再需要校准。然而,如果 IQ/OQ 需要校准,请参考 下面方法。

9.3.1 打开电源进入启动界面,如果仪器是开着,需要先关闭再启动,然后进入启动界面,选择明场计数模式 或者荧光计数模式,校准可以在这两种模式下进行。

注意:校准之前请确认仪器能够正常对焦,使用微珠去进行对焦调节。

9.3.2 进入设置界面,点击 Calibration 按钮,会有一个对话框出现,如下图所示。

Settings			×			
Save Options	Counting	Counting Result/Printer/Calcu Options Options				
Last Calibration 31-(Calibrated Values 0x0)	Calibratio Remove the c	Calibration Step 1 Remove the counting slide from LUNA-FL and press start.				
Last Update 14-1 Firmware Version 1.0.	from LUNA-FL a					
Date 31 MM	Start Ski	p Exit	Apply			
1 2 3	4 5 6	7 8	9 0 🛙			

注意:校准包含三个步骤分别针对明场,定制染色,荧光。根据需要,每一步都可以执行或者跳过。

9.3.3 "校准第一步"对于明场校准来说是必须进行的。通过点击 Start 可以实现,或者通过点击 Skip 跳过,当 您点击 Exit 按钮,您可以随时退出该程序。

注意: 在进行校准之前移除细胞计数板非常重要, 如果没有移除计数板, 细胞计数的结果会不准确。





注意: 在仪器校准期间,不要关闭电源,否则会造成仪器严重的技术损坏。

9.3.4 "校准第二步"对与客户定制的染料是必要的,通过该补校准后,客户可以使用自己定制的染料进行计数, 这一部分内容请关联 2.6 部分"计数选项"。



注意:要开展这一步,使用人一定要小心准备细胞染料。举个例子:客户想要用 0.1%的台盼蓝进行细胞染色, 首先需要取 5µl 0.4%的台盼蓝与 5µl PBS 混匀制备成 10µl 0.2%的溶液,然后,混合 10µl0.2%台盼蓝溶液与 另外 10µl PBS,来制备 20µl 0.1%的台盼蓝;再从 20µl 0,1%的台盼蓝中取 10µl 上样,进行 0.1%定制化校准。 要进行在浓度 0.1%台盼蓝染色情况下的细胞计数,使用人可以使用 0.2%台盼蓝与细胞悬液进行 1:1 混合。

EASTWIN







注意: 在仪器校准期间,不要关闭电源,否则会造成仪器严重的技术损坏。

9.3.5 "校准第三步"对于荧光计数校准是必须的,荧光标准微珠由韩国 Logos biosystems 公司或者他们在当地的分销商提供。向细胞计数板的其中一个样品池中加入 10μl 的荧光校准微珠,静置 1min 让微珠充分沉降 下来。插入计数板点击 Start 按钮。请确保上样的微珠是原始浓度而非稀释过的样本。









注意: 在仪器校准期间,不要关闭电源,否则会造成仪器严重的技术损坏。

9.3.6 当三个校准步骤全部成功完成后,使用者会看到下面对话框。



9.4 固件升级 (Updating Firmware)

9.4.1 如果仪器已经打开了,请关闭后再重新打开,在启动界面打开 Settings 按钮,仪器最后的固件升级时间 和当前固件版本号会显示在下方。

Settings			
Save Options	Counting Options	Result/Printer Optio	/Calculator ns
Last Calibration 2 Calibrated Values 0 1	3 Aug., 2020, 18:27 x0561 0x17D3 0x1A75 1, 49.58 103.04 ,0.80 97.89	0 .1.06 179 158 -	Calibrate
Last Update 2. Firmware Version 3	3 Aug., 2020, 18:02 .1.3		Update Firmware
DD MM	2020	Time 12 19	Apply

9.4.2 检查固件版本,需要时从 LUNA-FL[™]细胞计数仪的官网上(www.logosbio.com)下载最新的固件版本, 下载后将其保存到 U 盘的根目录下。

注意: 固件含有一个文件,只能保存到 U 盘的根目录下。

9.4.3 将 U 盘插入到 LUNA-FL[™]细胞计数仪的 USB 接口上,点击 update Firmware。

9.4.4 当屏幕显示问你是否需要升级时,点击 Start,完成升级过程会持续几分钟。

9.4.5 固件升级完成后,点击 Restart 重新启动仪器。

注意:固件升级不会清除用户保存在仪器内的 Protocol,升级后,这些 protocol 仍然可以使用。

注意: 固件升级后,需要对仪器进行再次校准。





9.5 故障处理(Troubleshooting)

问题	可能的原因	解决办法
	细胞图像没有聚	确保图像用对焦旋钮对焦正常,必要时采用缩放功能,将图像放大后准
	焦	确对焦。对焦时确保活细胞中心是亮的, 死细胞中心是暗的或者蓝色的。
	细胞成团	确保细胞尽可能地分散,单个细胞越多,计数准确度越高。
	细胞浓度范围	细胞的浓度最好是在 5x104-1x107 cells/ml,请确保样品浓度在此范围内,
		必要时需要对细胞悬液进行浓缩或者稀释。
	细胞计数板插入	确保计数板完全插入到仪器内,当插到底部时,会听到一声轻轻的咔哒
	不到位	声。
	加样问题	细胞计数板上样量过多或者过少都会影响计数的准确性,最佳的上样量
		是 10-12µl
	光学部件失灵	任何光学组件可能损坏,镜头被灰尘,溅出的细胞样品或者其它不明原
		因玷污,请联系当地的分销商。
计粉无准	计数板表面损伤	上样前请确保细胞计数板计数区是透明的,上样时最好佩戴无尘乳胶手
日刻小臣		套
	细胞漂移	上样后静置 30-60sec 等待细胞完全沉降下来,由于细胞形态和大小的不
		同,沉降时间会有所区别,这需要根据经验判断。
	漏加染料	在荧光模式下,不加与核酸结合的荧光染料,如 AO/PI,是无法计数的,
		需要重新加染料混匀后再上样计数。
	太低或太高的荧	在预览界面确保荧光的曝光时间设置在合理的范围内。
	光设置	
	不准确的校准	仪器出厂前已经校准好了,如果出现校准错误,请参考 9.3 部分内容重
		新校准。
	太低的精确范围	细胞计数结果的精度取决于被准确计算在内的细胞个数,尽管
		LUNA-FL™计数低至 5x10 ⁴ cells/ml,要想获得 10%或者更低的变异系数
		(CV),细胞浓度的值需要高于 2x10 ⁵ cells/ml。
粉捉娃孩	U盘不正确	使用原厂附带的 U 盘,或者确认自己的 U 盘是否与仪器兼容。USB 驱
<u></u> 新后积		动的版本是 2.0, 有些 U 盘在仪器上检测不到, 或者不兼容。
기파기丁 141	U盘中文件过多	U 盘中文件过多, 仪器读取 U 盘数据的速度会降低。
升级和校	校准时死机	通常情况下, 仪器的再校准会花费几分钟时间, 有时可能需要更长时间,
江 33/11/X 准位 哭时		这取决于背景调节的程度。如果校准时间超过 10min,请关闭电源重启,
由法理		再重新校准。如果再校准仍然失败,请联系当地的分销商。
的错误	U盘不正确	使用原厂附带的 U 盘,或者确认自己的 U 盘是否与仪器兼容。USB 驱





	动的版本是 2.0, 有些 U 盘在仪器上检测不到, 或者不兼容。
有不止一个固件	在下载新的固件升级文件前,删除以前下载的升级文件。
升级文件	
固件升级文件存	首先确保 U 盘工作正常, 而且与仪器兼容。其次, 重新下载升级文件,
储错误或者有损	并将该文件存储在 U 盘的根目录下, 第三, 确保 U 盘正常插入到仪器上。
坏	然后重新升级。
	如果问题仍然存在,请联系当地分销商。





第十章 订货信息 (Ordering Information)

下列货物可以从当地供应商处下单或者在官网上(www.logosbio.com)直接下单

类别	货号	英文描述	中 文描述	数量
计数仪	L20001	LUNA-FL [™] Automated Fluorescence Cell Counter	LUNA-FL™自动荧光细胞计数仪。	1 套
	L12005	PhotonSlide™, 50 Slides	荧光细胞计数板,50片,100次。	1 盒
	L12006	PhotonSlide™, 500Slides	荧光细胞计数板,500片,1000次。	10 盒
	L12007	PhotonSlide™, 1000Slides	荧光细胞计数板,1000 片,2000 次。	20 盒
	L12036	PhotonSlide™, 500 Slides, Sterile - gamma-irradiated, 500 Slides	(γ射线辐照灭菌)荧光细胞计数板,500片, 1000次。	10 盒
	L12001	LUNA™ Cell Counting Slides, 50 Slides	LUNA™普通细胞计数板,50 片,100 次。	1 盒
计数板	L12002	LUNA™ Cell Counting Slides, 500 Slides	LUNA™普通细胞计数板, 500 片, 1000 次。	10 盒
	L12003	LUNA™ Cell Counting Slides, 1000 Slides	LUNA™普通细胞计数板,1000 片,2000 次。	20 盒
	L12032	LUNA™ Cell Counting Slides, 500 Slides, Sterile - gamma-irradiated, 500 Slides	(γ射线辐照灭菌)普通细胞计数板,500片, 1000次。	10 盘
	L12011	LUNA™ Reusable Slide	LUNA™ 可重复使用计数板	1套
	L12012	LUNA™ Reusable Slide	LUNA™ 可重复使用计数板	2套
	L12014	LUNA™ Reusable Slide Coverslips	LUNA™ 可重复使用计数板专用盖玻片	10 片
治存工生	B13101	LUNA™ Standard Beads	LUNA™ 标准微珠	2x1ml
阀坏	F23102	LUNA™ Fluorescence Calibration Beads	LUNA™ 荧光校准微珠	1x0.5ml
	F23001	Acridine Orange/Propidium Iodide Stain	AO/PI 预混染料	2x0.5ml
	F23011	Acridine Orange/Propidium Iodide Stain, Sterile-filtered	AO/PI 预混染料-过滤除菌	2x0.5ml
	F23002	Acridine Orange Stain	AO 染料	2x0.5ml
	F23003	Propidium lodide Stain	PI 染料	2x0.5ml
试剂	F23202	Yeast Viability Kit 1	酵母活率试剂盒1	1套
	T13001	Trypan Blue Stain, 0.4%	0.4%台盼蓝	2x1ml
	T13011	Trypan Blue Stain, 0.4%, Sterile-filtered	0.4%台盼蓝-过滤除菌	2x1ml
	L13002	Erythrosin B Stain	赤藓红 B 染料	2x1ml
	F23212	Cell Dilution Buffer	细胞稀释缓冲液	5x20ml
	F53002	Cell Dilution Buffer II	细胞稀释缓冲液Ⅱ	5x20ml
	P10001	LUNA [™] Printer	LUNA [™] 配套打印机	1套
附件	P12001	LUNA [™] Printer Paper - thermal, 700 prints	LUNA [™] 配套热敏打印纸,打印 700 次。	3x2 卷
	U10005	USB Drive, 16 GB	U 盘,16GB	1个





第十一章 购买须知 (Purchaser Notification)

有限使用商标许可:仅限于研究使用(Limited Use Label License: Research Use Only)

该产品的购买方仅能用于是买方单独受益的科学研究,使用该产品,无论买方是盈利机构还是非盈利机构,同意受此术语约束。

如果买方不接受此条款,该产品不允许使用,厂家接受全款退货。

买方不得二次销售或者转移(a)该产品(b)产品组件(c)用于该产品或组件的材料到第三方用于商业目的。

商业目的是指任何使用该产品及其组件被乙方用于贸易或其它相关应用,包括但不限于(a)产品加工,(b)提供服务,信息或数据等,(c)医疗,诊断或疾病预防目的,或者(d)转售该产品或组件无论它是否被转售用于研究用途。

Aligned Genetics, Inc (简称"公司")不会针对买方索取任何与本产品相关的厂家的或由公司控制的涵盖与产品加工 过程中相关的专利侵权费用,在研究过程中由买方使用了该产品或组件开发的在医疗,临床诊断,疫苗,或者疾病 预防等方面的产品使用和销售费用。前提是该产品及组件均未有用于他们所开发的产品的生产中去。

除了这些仅用于研究用途的使用标签许可证以外的其它任何用途,请联系公司或发邮件 infor@logosbio.com 了解 更多信息。

仪器质保 (Instrument Warranty)

Aligned Genetics, Inc (简称"公司")向原买方保证仪器在正常安装和使用情况下,从产品所使用的材料和工艺,在 一年内(质保期)将与产品的技术参数保持一致。如果仪器在质保期内未能达到这个有限保证,公司全权负责,如 果在30个日历日内仪器还处于原始状态,公司将保证返还买方购买仪器所花费用。或者在购买30天后,只能更换或 维修仪器直到质保期结束。

在任何情况下,公司接受退货(包括组件),这些货物可能被使用过,或者在某些实验室受污染,包括但不限于HI V或其它感染性疾病或血液处理实验室。这个保证不涵盖退款,换货和因意外,滥用,错误使用,疏于管理,未经 授权的维修或仪器的改装。如果该仪器被买方私自拆开或维修,则该仪器的限制性质保无效。

一旦公司决定维修仪器而不是更换,这个限制性质保包含配件更换,人工。但不包括仪器从服务中心来回的运输费 用和客服工程师的差旅费。这些费用由买方自行承担。所作的每一个努力都是确保包含在文档中的所有信息在出版 时都是正确的。然而公司无法保证那些在出版物或文档中出现的各种被认为是无心的或始料不及的错误包括偶尔的 排版错误或其它不可避免的错误。除此之外,公司保留产品持续发展中未经通知自行修改的权利。如果您在出版物 或文档中发现任何错误,请报告给当地供应商或公司。对于使用仪器或仪器失灵导致的特殊的,伴随而来的非直接 损失和伤害,公司免责。





本有限质保是独一无二的,公司不做其他说明,也不做质保上的其他任何表述和暗示,包括出于销售和人身安全等 其他关于仪器的目的。在质保期内要获得服务,请联系当地的供应商或公司的技术支持团队。

保外服务 (Out of Warranty Service)

在质保期保外要获得服务,请联系当地的供应商或公司的技术支持团队。必要情况下,保外服务需要为更换配件和 发生在仪器维修上的劳务付费。另外,买方负责仪器运到服务中心的往返运费,必要情况下买后超过30天,包含 客服工程师的差旅费,只有在质保期内更换或维修仪器,不需要开信用证。









Logos Biosystems



北京东胜创新生物科技有限公司

1HEADQUARTERS FL 2 & 3 28 Simindaero 327beon-gil, Dongan-gu Anyang-si, Gyeonggi-do 14055

SOUTH KOREA

Tel: +82 31 478 4185 Fax: +82 31 360 4277 Email: info@logosbio.com

EUROPE

11B avenue de l'Harmonie 59650 Villeneuve d'Ascq

FRANCE

Tel: +33 (0)3 74 09 44 35 Fax: +33 (0)3 59 35 01 98 Email: info-france@logosbio.com 中国大陆总经销 北京市海淀区马连洼北路138号院1号楼4层423

北京东胜创新生物科技有限公司

电话: 010-51663168 传真: 010-82898283 产品技术联系人: 张红星 15810208710 Email:hongxing_zhang@eastwin.com.cn 网址: www.eastwin.com.cn

USA 7700 Little River Turnpike STE 207 Annandale, VA 22003

USA

Tel: +1 703 622 4660 Tel: +1 703 942 8867 Fax: +1 571 266 3925 Email: info-usa@logosbio.com