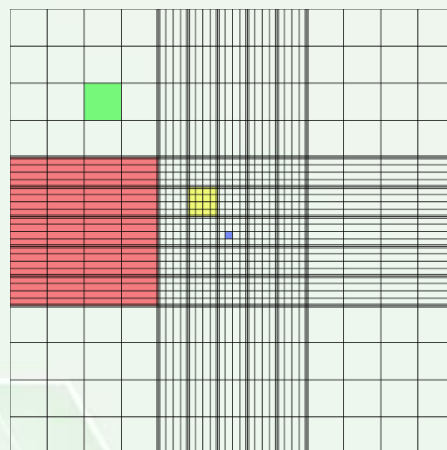


LUNA classic 讓您輕鬆快速的計數細胞

從最基本的細胞培養時的分盤到後續需要精準定量的 Assay – 例如 ELISA、qPCR、定序等，幾乎所有實驗的先決條件都需要研究人員先取得精確的細胞數目或濃度。今天我們將介紹各種細胞計數法及其優缺點。

1. 血球計數盤

血球計數盤，是專為準確細胞計數開發來的第一個方法。將網格狀的 Chamber 固定於玻片並蓋上特製的蓋玻片，使其成為固定體積的空間，藉由計算每一網格中的細胞數量便可得知樣本的細胞濃度。在使用血球計數盤之前，必須先使用 70%酒精與拭淨紙徹底清潔，然後輕柔的將蓋玻片放置於 Chamber 上。如果有觀察到牛頓環現象（彩色的同心圓），則表示蓋玻片放置正確。使用 pipette 取出一小部分樣本與 0.4% Trypan Blue 1:1 混合後，並將混合後的樣品從 Chamber 的邊緣利用毛細現象加入 Chamber 之中。其後利用顯微鏡觀察並計數，通常我們會利用下圖紅色區域(1 mm x 1 mm x 0.1mm)做為計數的區域，並重複計算 4-5 個不同的區域並平均後回推原始樣本的濃度。而利用 Trypan Blue 則可以估算細胞存活率，死細胞將因為細胞膜破損而使 Trypan Blue 得以進入細胞之中呈現實心的藍點狀。



以人工進行細胞計數是確定細胞數量與濃度的最便宜方法，但它同時也是最慢、最繁瑣且最不可靠的方法。尤其是當需要大量進行細胞計數時，將引起人員疲勞而導致更大的誤差。如果實驗室對於計數細胞的需求較低，且對於精確度較不要求，那麼血球計數盤會是一個很好的選擇。

2. 自動細胞計數儀

自動細胞計數儀是以手動計數法為基底。利用與血球計數盤相同的原理在已知的範圍內進行細胞的計數。同時，自動細胞計數儀亦可使用染料排除法辨別活細胞與死細胞。依據廠牌的不同，自動細胞計數器可作為獨立的設備，或連接電腦。除了細胞計數，多數的計數儀同時也會提供細胞大小等統計訊息。

在使用自動細胞計數器時，細胞懸浮液必須被注入到各計數儀專用的計數玻片中。然後將計數玻片插入到計數儀，選擇適當的設定，短短數十秒內便可得知結果，若是使用 Logos Biosystems 所出產的 LUNA automated cell counter 更是只要 7 秒內就可得到準確的細胞計數。

利用螢光細胞計數儀，例如 LUNA-Stem，可直接利用常見的螢光染色染劑 Acridine Orange 與 Propidium Iodide 更輕易的區分出活細胞與死細胞。螢光細胞計數儀相當適合用來計數有大量非細胞碎片殘留的懸浮液，例如 Primary culture，避免明視野下受到碎片干擾而導致數據有誤。

針對一般用途的細胞計數或檢測細胞存活率時，自動細胞計數儀是一個經濟實惠，同時又可提供高通量計數的解決方案。唯在明視野下，針對不規則狀、小型、過度稀釋或是含有多種細胞需要區分的樣品，可能較難獲得非常精確的計數數據。然而對於大多數細胞類型和大多數應用中，LUNA 自動細胞計數儀可以在相對低的成本提供優異的計數性能。

3. Coulter counter

Coulter counter 並非利用光學原理計數細胞，而是藉由測量微流道中的電阻變化計數細胞。因為細胞具有較高的電阻值，在通過微流道時將引起電阻的短暫上升。Coulter counter 相較於手動計數具有更快的速度，並且具備準確區分不同尺寸細胞的功能，因此常用於醫院需要迅速區分紅血球與白血球的的全血計數。然而 Coulter counter 無法區分活/死細胞，同時也無法準確區分成團的細胞是其最大的缺點。

4. 流式細胞儀

流式細胞儀的使用非常簡單也是非常強大的細胞分析工具，但同時使用成本也極其昂貴，因此極少用於普通的細胞計數應用。