



Countess™ 自動セルカウンター

CataLog no. C10227

日本語マニュアルは製品添付の英語版とバージョンが異なる場合があります。
実験を始める前に、最新バージョンの英文マニュアルも併せてご一読ください。

20090217

Version A

16 September 2008

MP10227

User Manual

DOC C10227

目次

構成品	3
安全情報	4
製品仕様	6
部品説明	7
関連製品	11
はじめに	12
概略	12
使用方法	14
始める前に	14
ガイドライン	20
使用方法	21
クリーニングとメンテナンス	30
キャリブレーション	31
トラブルシューティング	33
エラーコード	35
Appendix	36
Purchaser Notification	37

構成品

Countess™ 自動セルカウンター

Countess™ 自動セルカウンターには以下の製品が含まれています。

構成品	個数
Countess™ 自動セルカウンター	1
電源コード (4 種類のアダプターコードがついています) (U. S. / Canada/ Taiwan/ Japan, Europe, UK)	1
Countess™ 細胞計測チャンバースライド	50 枚入り 1 箱
トリパンブルー (0.4%)	1 mL × 2 本
Countess™ USB メモリ	1
マニュアル	1
クイックレファレンスカード (QRC)	1
Countess™ 自動セルカウンターの製品仕様については 6 ページをご覧ください。	

納品されたら

輸送中に損傷していなかったか、注意深く確認してください。また、付属品も含めて、すべての機器があるかどうか確認してください。損傷があった場合には、運送会社に申し出てください。尚、輸送時の損傷については保証できません。

機器の設置については 14 ページをご覧ください。

納品後は、トリパンブルーは室温で保管してください。

安全情報

安全に対する注意

以下の安全に対する注意事項をよくお読みください。

- ・電気ショックなどを避けるため、温室やインキュベータ内など、湿度の高い空間に設置しないでください。水や他の液体が機器やアダプタ、電源インレットなどにかかった場合には、電源コードを抜き、サービスマンにご連絡ください。必要な環境条件については、製品仕様(6 ページ)をご覧ください。
- ・濡れた手でプラグや電源コードをさわらないでください。
- ・常に入力電圧が設置場所で可能な電圧と一致しているか、確認してください。
- ・この機器は空冷仕様なので操作中に表面が高温になる可能性があります。従って、機器設置の際には、周囲に 10 cm(4 インチ)以上の空間をとり、機器と壁の間には何も置かないでください。
- ・機器の不調や損傷につながるので、傾斜や振動のある場所に機器を設置しないでください。
- ・電気ショック、怪我、機器の損傷につながるので、製品の通気口中に物を入れないでください。
- ・電源コードは、コンセントおよび AC アダプタへしっかりとつなげてください。
- ・電気ショックを避けるため、電源コードが適切にアース(接地)されていることを確認してください。
- ・プラグを簡単にはずすことができるような場所に機器を設置してください。
- ・電源コードを抜く前、もしくは、機器を移動する前には、機器の電源を切ってください。
- ・機器を壊れた場合また落下した場合には、電源コードをコンセントから抜き、サービスマンにご連絡ください。機器を分解しないでください。
- ・正規付属品(アダプタ、電源コード、USB メモリ)のみをご使用ください。
- ・バッテリーを取り外す場合および取り付けの場合には、金属品を使用しないでください。

- ・バッテリーを温めたり、熱にさらしたりしないでください。必要な環境条件については、製品仕様(6 ページ)をご覧ください。
- ・機器から煙を発した場合には、電源コードを壁付のコンセントから抜き、サービスマンにご連絡ください。

マークについて



Countess™ 自動セルカウンターでは以下のマークを使用しています。

警告を示すために機器に貼付されています。怪我や機器の損傷を防ぐために、マニュアルをご覧ください。



保護接地(アース)を示しています。



WEEE (Waste Electrical and Electronic Equipment) マークです。

製品仕様

Countess™ 自動セルカウンターの仕様

使用環境

定格電流・電圧	交流 100–240 VAC, 1.5 A
周波数	50/60 Hz
入力電力	直流 12 V, 1.0 A
設置場所	室内のみ
使用温度	10–35°C
最大相対湿度	20–80%
標高	2,000 m 以下
Transient カテゴリ	Installation categories II
環境汚染レベル	2
保護レベル	IPX0

機器の仕様について

機器様式	ベンチ設置型細胞計測器
作動時間	1 分間以内
細胞数範囲	1×10^4 – 1×10^7
ソフトウェア	Countess™ Software www.invitroge.com/countess
寸法	27 cm(w) × 20 cm(d) × 19 cm(h)
重量	2.1 kg(4.6 lbs)

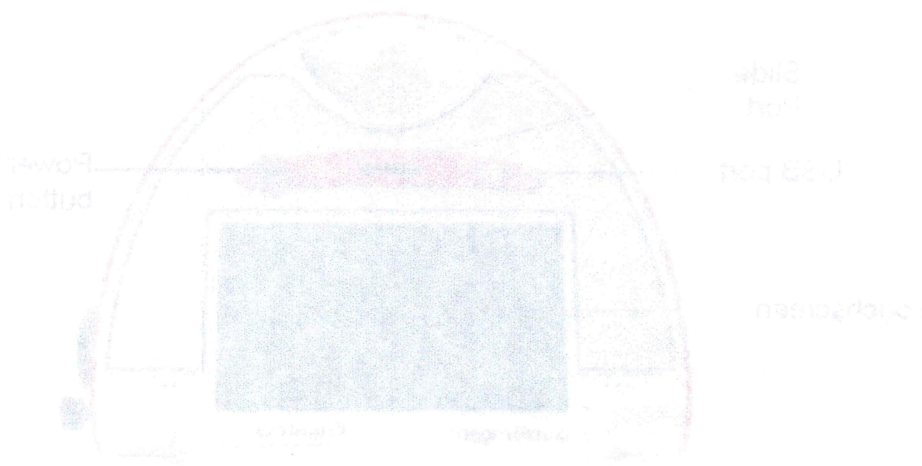
Countess™ 細胞計測チャンバースライドの仕様について

材料	ポリメタクリル酸メチル(PMMA)
寸法	75 mm(w) × 25 mm(d) × 1.8 mm(h)
チャンバーの深さ	100 μ m
チャンバー容量	10 μ L
Countess™ USB メモリ	1 ギガバイト



CE マークは、適用されうるすべてのヨーロッパ共同体が定めた対策に適合した製品に与えられるマークです。機器の操作はこのマニュアルに書かれている通りに行うことが前提となっています。

インビトロジェンによって指定されていない条件で機器を使用した場合、機器による安全の確保が失われる可能性があります。



重要

この装置は、医療用途にのみ使用されることを意図しています。他の用途での使用は、保証の対象外です。また、この装置は、医療用途にのみ使用されることを意図しています。他の用途での使用は、保証の対象外です。

インストール

この装置は、医療用途にのみ使用されることを意図しています。他の用途での使用は、保証の対象外です。また、この装置は、医療用途にのみ使用されることを意図しています。他の用途での使用は、保証の対象外です。

電源

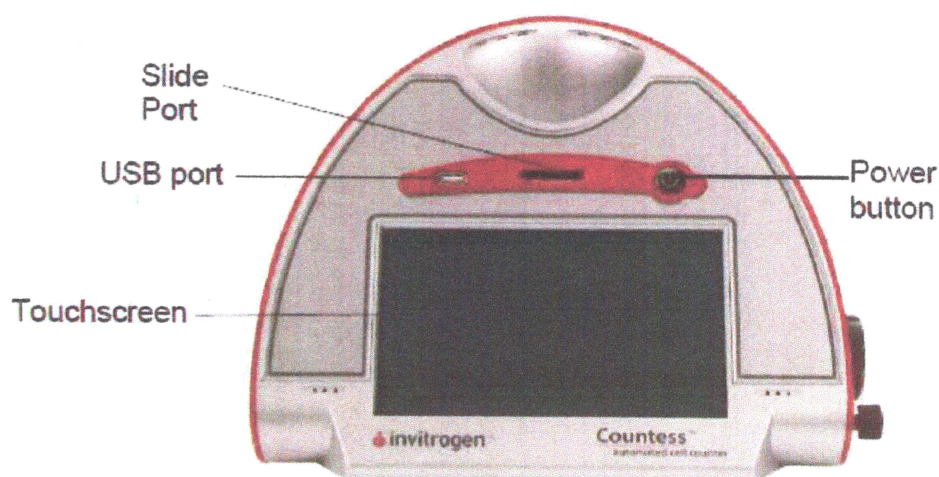
この装置は、医療用途にのみ使用されることを意図しています。他の用途での使用は、保証の対象外です。また、この装置は、医療用途にのみ使用されることを意図しています。他の用途での使用は、保証の対象外です。

USB

この装置は、医療用途にのみ使用されることを意図しています。他の用途での使用は、保証の対象外です。また、この装置は、医療用途にのみ使用されることを意図しています。他の用途での使用は、保証の対象外です。

Countess™ 自動セルカウンターの部品説明

Countess™ 自動セルカウンターの前面 Countess™ 自動セルカウンターはベンチ設置型自動細胞計測器で、トリパンプルで染色した細胞の細胞数計測と生死判定を行うことができます。Countess™ 自動セルカウンターの前面は以下のようになっています。



電源ボタン

電源ボタンを使用して機器の電源のオン、オフを行うことができます。赤いランプが点灯している場合はオフの状態、緑色のランプが点灯している場合はオンの状態であることを示しています。

タッチパネル型ディスプレイ

タッチパネル型ディスプレイは機器の前面に配置されており、操作に必要なボタンおよび測定結果は全てディスプレイ上に表示されます。

スライドポート

この部分にトリパンプルで染色したサンプルを注入した Countess™ 細胞計測チャンバースライドを挿入します。

USB ポート

コンピュータでの保存や印刷のために、計測データや画像を一時保存し、移行させる時に使用します。USB メモリは機器に付属されています。また、お手持ちの USB メモリもご使用いただけます。27 ページ、PC へのデータの移行についてもご覧ください。

Countess™ 自動セルカウンターの背面および側面

Countess™ 自動セルカウンターの背面および側面は以下のようになっています。

電源コード差し込み口

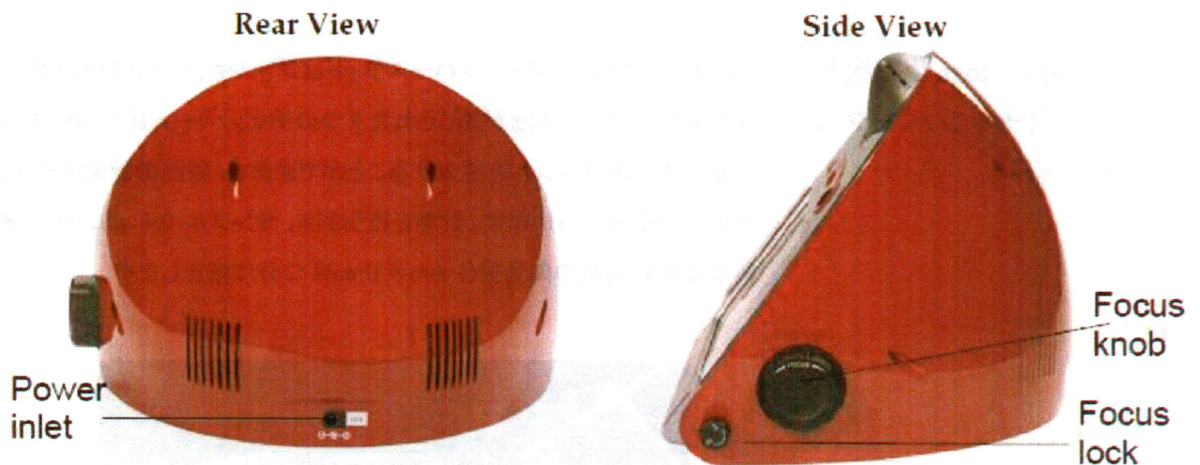
この部分で電源コードおよびプラグを機器と接続します。プラグは使用する国のコンセントに適した型を使用してください。

画像調整(フォーカス)ノブ

生細胞(中心が明るい)と死細胞(中心が濃い青)の対比がよくなるよう、画像調整(フォーカス)ノブで画質を調整します。フォーカスの調整は、正確な細胞数測定と生死判定に重要です。詳細は 24 ページをご覧ください。

フォーカスロックノブ

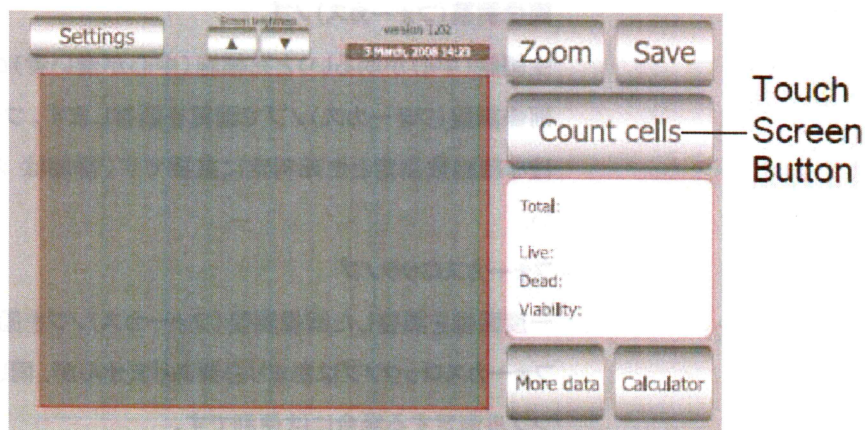
一度画像を調整した画像調整(フォーカス)ノブを固定することができます。フォーカスロックノブはあまり必要ありませんが、同じ種類の細胞を複数サンプル測定する場合には便利です。



ユーザーインターフェイス

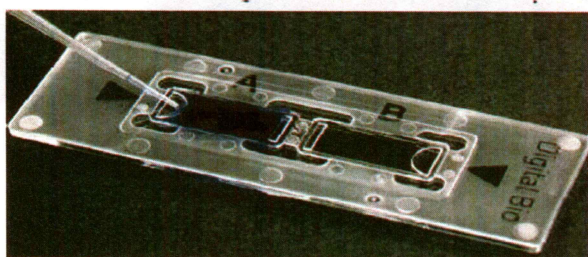
Countess™ 自動セルカウンターのタッチパネルユーザーインターフェイスを使用して機器を操作します。

- ・タッチパネルのボタンで機器の操作を行います。
- ・ディスプレイ上には細胞の画像と測定結果が表示されます。



Countess™ 細胞計測チャンバースライド

Countess™ 細胞計測チャンバースライドはプラスチック製で使い捨てタイプのスライドです。周囲が閉じられた2つのチャンバー(A,B)がついており、1度に2つのサンプルを注入することができます。細胞の計測はチャンバーの中心部分で行います。計測を行うのは、サンプル 0.4 μ L 分で、標準的な血球計測盤の四角形(1 mm $\times$ 1mm)4 つ分に相当します。



付属品

付属品

Countess™ 自動セルカウンターと共に使用する以下の付属品は弊社より別途ご購入頂くことができます。

詳細はテクニカルサポートにお問い合わせください(36 ページ)。

製品	数量	カタログ番号
Countess™ 専用細胞計測チャンバースライド 50 枚 トリパンブルー付	1 kit	C10228
Countess™ 専用電源コード 4 種アダプタ付き	1	C10285
Countess™ 専用 USB ドライブ	1	C10286
Countess™ 専用トリパンブルー	2 × 1 mL	T10282
Countess™ 専用テストビーズ	1 mL	C10284

はじめに

概略

はじめに

Countess™ 自動セルカウンターは最新の光学および画像解析により、自動的に細胞数を計測します。Countess™ 自動セルカウンターはベンチ設置型セルカウンターで、トリパンブルーで染色した細胞について、細胞数計測と生死判定を正確に行うことが可能です。

現在血球計測盤を用いて測定している同じサンプル量を利用すれば、Countess™ 自動セルカウンターを用いることによって、計測にかかる時間が 1 サンプルあたり1分以下になります。また、様々な真核細胞について計測が可能の上に、細胞のサイズまで測定することができます。

Countess™ 自動セルカウンターには使いやすいインターフェースがあります。また Countess™ ソフトウェア (www.invitrogen.com/countess からダウンロード可能) や機器に付属しているもしくは単独でも購入可能な USB メモリを用いて、計測データを保存および印刷することも可能です。

Countess™ 自動セルカウンターには、使い捨て Countess™ 細胞計測チャンバースライドが提供されています。このチャンバースライドは2つのチャンバーがついており、異なる2つの種類のサンプル、もしくは同じ種類のサンプルを2回測定することができます。細胞数の測定はチャンバーの中心部分で行われており、0.4 μL 分のサンプルを計測しています。その量は標準的な血球計測盤の四角形 (1 mm $\times$ 1 mm) 4つ分に相当します。

機器各部分の詳細については 8 ページをご覧ください。

システムについて

Countess™ 自動セルカウンターは、死細胞を染色するトリパンブルー法と先進の画像解析法を組み合わせ、生死判定および細胞数計測を行います。サンプルとなる細胞をトリパンブルーと混合し、Countess™ 細胞計測スライドに注入します。スライド上のサンプルについて、カメラで撮影した画像を画像解析ソフトによって自動的に解析します。そして、細胞数を計測し、トリパンブルー法によって、生死判定を行います。1 サンプルあたり1分1分以内の測定時間で以下のデータが得られます：

- ・死細胞および生細胞の濃度 /mL
- ・総細胞濃度/mL
- ・生細胞の割合(生細胞の総細胞に対する%)
- ・細胞径の平均値
- ・細胞の画像
- ・データのグラフ

特長

Countess™ 自動セルカウンターの主な特長は以下の通りです:

- ・使いやすいベンチトップ型のデザインで、1 分以内に簡単かつ迅速に自動で細胞数の計測および生死判定が可能です。
- ・細胞径の測定も可能で、サイズの設定を特に変更することなく、様々な種類の真核細胞の測定が可能です。
- ・測定可能な細胞の濃度は、 1×10^4 cells/mL から 1×10^7 cells/mL で、また、測定可能な細胞径は 5 μ m から 60 μ m です。
- ・使い捨て式のチャンバースライドを使用しますので、洗浄する操作もなく、サンプル間のコンタミも防ぐことができます。
- ・Countess™ ソフトウェアおよび Countess™ USB メモリを用いて、画像も含むデータを保存し、印刷することができます。
- ・グラフも含めたレポートとして、データを表示することができます。また、.CSV ファイルで、各サンプルのデータを比較できます。

使用方法

始める前に

Countess™ 自動セルカウンターの設置

1. 機器を箱から取り出し、平らかつ水平で濡れることがない場所に設置してください。
2. 付属の電源コードの片側を Countess™ 自動セルカウンターに差し込みます。次に、電源コードのもう一方に各国に適した型のアダプタを取り付けます。
3. そして、電源コンセントに電源コードを差し込みます。電源コードは、付属のコード以外は使用しないでください。付属のコード以外を用いて電源を入れた場合には、機器を損傷する恐れがあります。
4. Countess™ 自動セルカウンターを登録するために、<http://www.invitrogen.co.jp/mailservices/index.shtml> を訪れてください。インビトロジェン会員サイトにて登録していただいた後、製品登録、サポートページにてシリアル番号をご入力ください。保証書の登録、バージョンアップなどのサポートが受けられます(2009 年 3 月上旬開始予定)。
5. 使用する準備ができたなら、Countess™ 自動セルカウンターの電源ボタンを押して起動させてください。

オプション : Countess™ ソフトウェアのインストール

Countess™ はこれ 1 台でできるようにデザインされていますので、更に外部の PC を用意する必要はありません。

データを保存し、レポートを作成したい場合は、PC にデータを移行し、Countess™ ソフトウェアを用いてレポートを作成して印刷することができます(以下の使用説明をご覧ください)。また、.CSV ファイルでもデータが保存されていますので、Countess™ ソフトウェアがなくても USB メモリで PC へ移行し、スプレッドシートプログラムで開くことができます。

必要な PC の環境 (Countess™ は Macintosh OS に対応していません。)

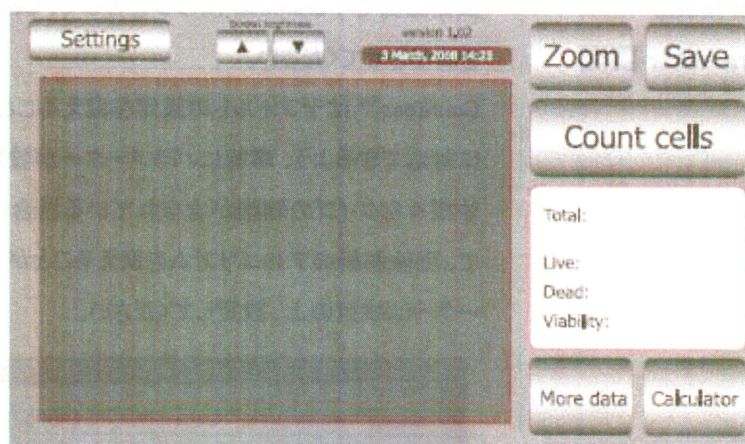
・USB ポート (1.1 以上、2.0 推奨)

・Windows XP/2000/Vista

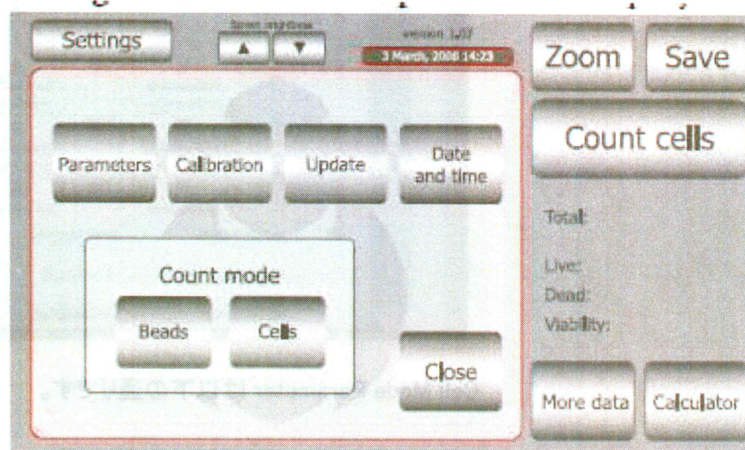
1. www.invitrogen.com/countess で、Countess™ ソフトウェアのインストールについての説明に従ってください。
2. Countess™ ソフトウェアがインストールされると、Countess™ 自動セルカウンターのアイコンがデスクトップ上に表示されます。
3. **PC へのデータの移行** (27 ページ) を参考にして、USB メモリを用いて、測定データを PC に移行してください。

起動画面

機器を起動すると、**起動画面**が表示されます。この後、すぐに測定を行うことができますので(21 ページ)、Cell もしくは Beads モードを選択し、画面の明るさを合わせてください。



設定画面



「**Setting**」ボタンを押して、起動画面から設定画面へ移動してください。

設定メニューでは、以下の設定ができます。:

- ・「Parameters」(詳細は下記および次ページをご覧ください。)
- ・「Calibration」:機器のキャリブレーション(31 ページ)
- ・「Update」:新しいバージョンのファームウェアが入手できるようになった際にインストールする
- ・「Date and Time」:日時の設定(18 ページ)
- ・「Count mode」:細胞の測定用モード(「Cells」を選びます)もしくはビーズの測定用モード(「Beads」を選びます)に設定します。

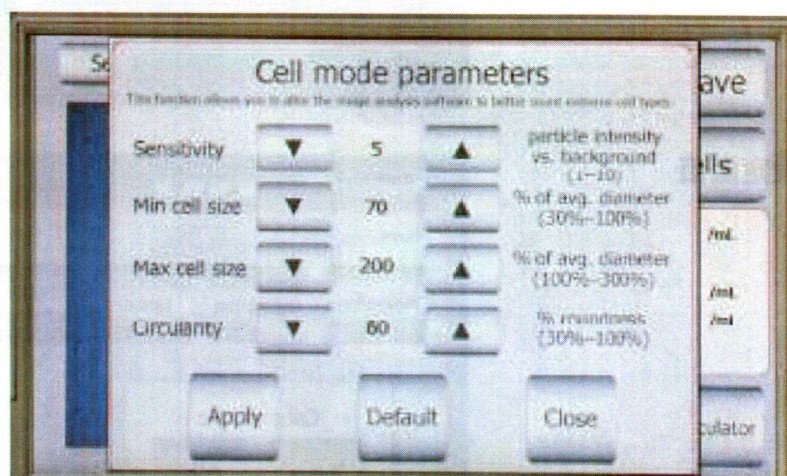
画面の明るさ

スクロールボタンを用いて、画面の明るさを調節します。

Cell Mode Parameter 画面

設定画面で「Parameter」ボタンを押して、**Cell Mode Parameter 画面**を表示させてください。

Countess™ はデフォルトの設定を変えることなく、多くの細胞種での測定に対応できるよう、事前にパラメーターが設定されています。特殊な細胞や様々なタイプの細胞が含まれている場合には、**Parameter** 機能において、画像解析のアルゴリズムを変えることができます。また、特殊なパラメーターは検討の上、設定してください。



Cell Mode Parameter は以下の通りです。

- ・**Sensitivity**(バックグラウンドに対する対象物のコントラスト) Sensitivity を高く設定すると、より対象物を感度よく認識します; 細胞がトリパンブルー

でよく染色されていない場合に役立ちます。一方、バックグラウンドが高い場合は Sensitivity を低く設定することによって、機器の感度を低くすることができます。

・**Minimum cell size** は計測対象に含まれる細胞径の最小範囲を決定するために用います。アルゴリズムは、はじめにすべての対象物を認識し、平均値を算出します(例えば、15 μm)。平均値の設定により、アルゴリズムによって、測定した中で最小の細胞径が算出されます(例えば、15 の 70% が 10.5 μm ; $15 - 10.5 = 4.5$ μm ; 4.5 μm が測定される最小の細胞径となります。)。数値が増加するにつれて、含まれる範囲が広くなり、最小細胞径の範囲がより小さくなります(例えば、15 の 50% が 7.5 μm ; $15 - 7.5 = 7.5$ μm)

・**Maximum cell size** は計測対象に含まれる細胞径の最大範囲を決定するために用います。アルゴリズムは、はじめにすべての対象物を認識し、平均値を算出します(例えば、15 μm)。平均値の設定により、アルゴリズムによって、測定した中で最大の細胞径が算出されます(例えば、200%の場合; 15 の 200% が 30 μm ; 30 μm が測定される最大の細胞径となります。)。

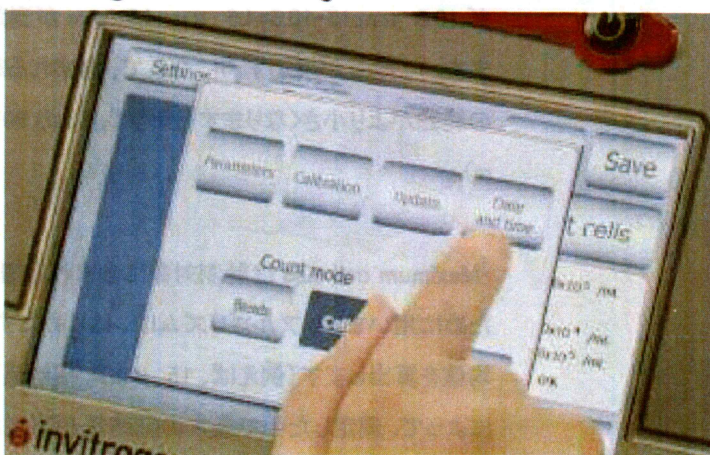
・**Circularity** は計測対象に含まれる細胞の真円性を設定するために用います。80%以上になると計測対象に含まれる細胞がより球形に近いことが必要となります。一方、80%以下の場合、球形でなくても、測定対象として含まれるようになります。細胞が一部球形でない場合や、細胞の形が特異的な場合は、この設定を変更することが有効であるかもしれません。

パラメーターを変更した場合は「Apply」ボタンを押して変更を実行してください。デフォルトのパラメーターに戻す場合は、「Default」ボタンを押してください。

日時の設定

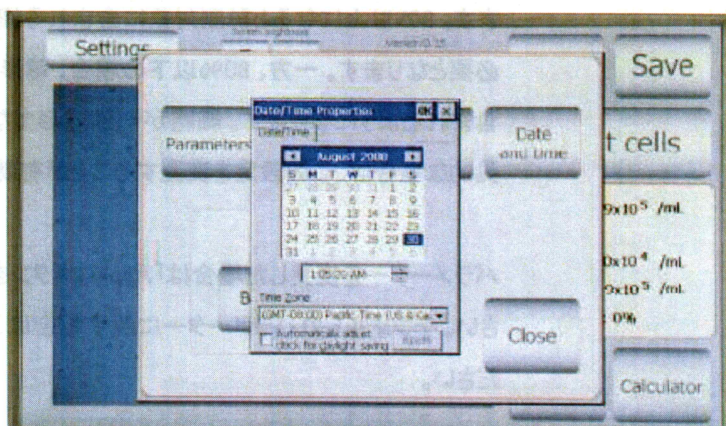
機器は納品された時点で日時が設定されています(時間は US の設定になっています。日本での使用には始めに日時の設定をおこなってください)。日時を再設定するには、以下の操作を行ってください。

1. 電源ボタンを押して Countess™ を起動します。数秒後、起動画面が表示されます。
2. 「Setting」ボタンを押して、続いて、「Date and Time」を押してください。



3. Date/Time Properties 画面が表示されます。矢印キーを押して月を合わせ、次にカレンダーの日にちを押して、月日を設定してください。

Note: カレンダー上の小さなボタンを押す際は、タッチペンやピペットチップなどの先の尖ったものをご使用ください。



4. 時間の設定には、設定する時間にスクロールして合わせるか、必要に応じて「Automatically adjust clock for daylight saving」を選択してください。「Apply」ボタンもしくは「OK」ボタンを押して、日時を変更してく

ださい。変更された日時は画面の上部に表示されます。

一度日時を設定すれば、機器の電源を入れる度に時間を設定する必要はありません。

5. 「Close」ボタンを押して、画面を切り替えてください。

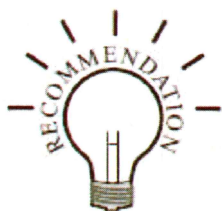
ガイドライン

はじめに

以下に、Countess™ 自動セルカウンターおよび Countess™ 細胞計測チャンバースライドを使用する際のガイドラインを記載します。

Countess™ 細胞計測チャンバースライド

Countess™ 細胞計測チャンバースライドは Countess™ 自動セルカウンター専用デザインされており、機器に付属のほか、別途弊社よりご購入いただけます(11 ページ)。他のスライドをご使用になると、正確な測定ができない他、機器を損傷する恐れがあります。



最良の結果を得るために、以下のことを推奨します。

- ・サンプルに触れる際には、手袋を着用してください。
- ・スライドを持つ際には、端を持ち、Countess™ 細胞計測チャンバースライドの観察領域の表面には触れないようにしてください。
- ・Countess™ 自動セルカウンターは室温下(10-35°C)でのみ使用してください。
- ・正確な生死判定のために、測定されるチャンバー内は細胞溶液で満たされている状態にしてください。また、トリパンプルーは細胞に対して毒性があるため、細胞とトリパンプルー溶液を混合してから、3 分以内に測定を行ってください。より正確な測定のために、2 サンプル以上の測定を行い、その平均値を測定値としてください。
- ・Countess™ 自動セルカウンターは既にキャリブレーションされています。機器を再度キャリブレーションする場合は、31 ページをご覧ください。
- ・Countess™ 自動セルカウンター内部のメモリに記憶できるのは、データ 1 セットになります。したがって、測定毎に USB メモリへデータを保存してください。**PC へのデータの移行**(27 ページ)に記載の方法によりすぐに PC に保存してください。
- ・ご使用後の Countess™ 細胞計測チャンバースライドは、ご所属の機関および自治体の規定に沿った方法で廃棄してください。**再利用はしないでください。**

Countess™ 自動セルカウンターの使用方法

はじめに

このセクションでは、トリパンブルーで染色した細胞を Countess™ 細胞計測チャンバースライドに注入し、Countess™ 自動セルカウンターで測定する方法をご説明致します。

Note



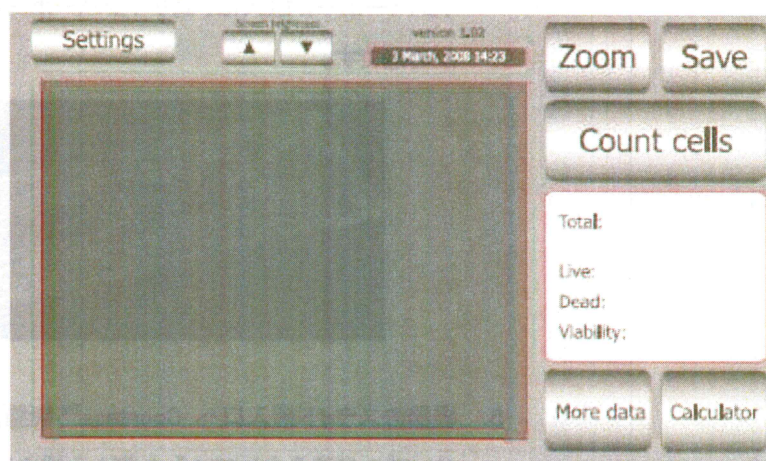
Countess™ 自動セルカウンターは既にキャリブレーション済みです。しかし、キャリブレーションを行う場合は、31 ページをご覧ください。

準備するもの

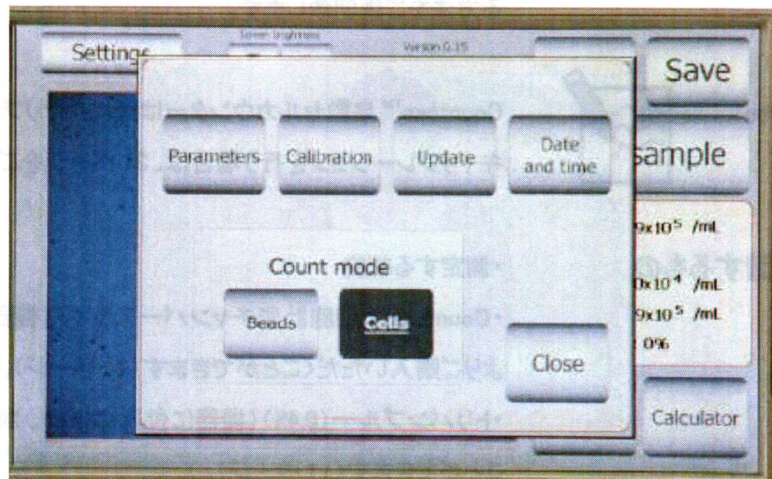
- ・測定する細胞
- ・Countess™ 細胞計測チャンバースライド(機器に付属のほか、別途弊社よりご購入いただくことができます(11 ページ)。)
- ・トリパンブルー(0.4%)(機器に付属のほか、別途弊社よりご購入いただくことができます(11 ページ)。)
- ・Optional: データを移行するための Countess™ USB メモリ(機器に付属のほか、別途弊社よりご購入いただくことができます(11 ページ)。)

手順

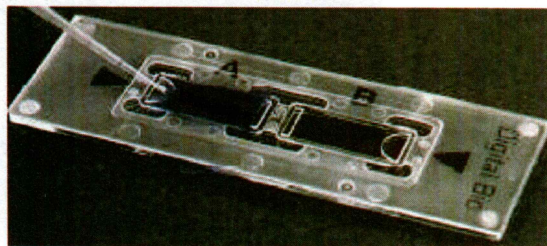
1. 電源ボタンを押して Countess™ を起動します。起動画面が表示されます。



2. Countess™ 自動セルカウンターは、はじめは **Cell** モードになっています。ビーズを測定するための Beads モードに変更した場合 (28 ページ) や、キャリブレーションを行った場合 (31 ページ) は、次に細胞を測定する前に、「**Setting**」ボタンを押した後、「**Cells**」ボタンを押し、**Cell** モードに変更されていることを確認してください。



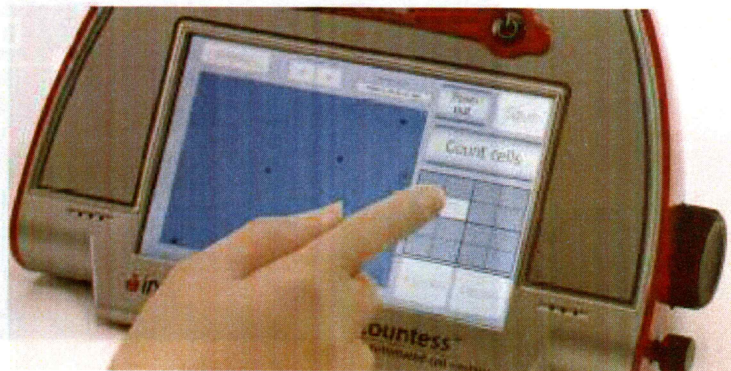
3. 付属のトリパンブルー溶液 10 μ L にサンプル 10 μ L を添加し、ピペティングにより混合します。
4. Countess™ 細胞計測チャンバースライドのチャンバーポートにサンプル混合液 10 μ L を注入します。スライド上の 2 つのポートには、サンプルを区別しやすいように、「A」もしくは「B」とラベルしてあります。1 チャンバーポートもしくは、両チャンバーポートにサンプルを入れて測定が可能です。



5. 機器のスライド挿入口へ Countess™ 細胞計測チャンバースライドを、サンプルが注入されている A 側から挿入します。チャンバー A が完全に機器内に入るまで、入れてください。完全に挿入されると、カチッと音がします。また、各チャンバーは別々に測定を行います。

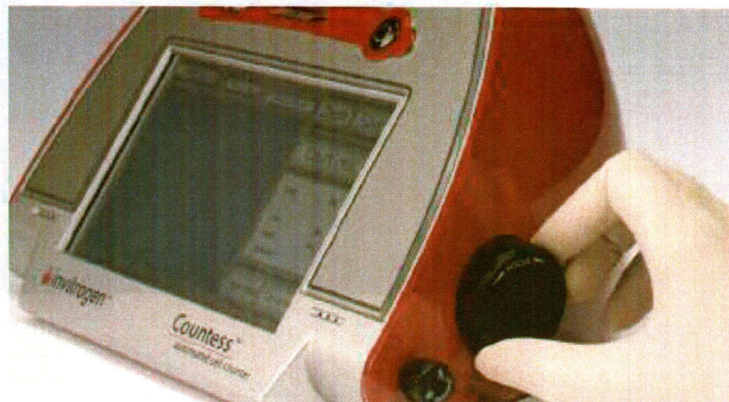


6. 「Count Cells」もしくは「Next Sample」ボタンを押してください。
7. 「Zoom」ボタンを押して、画像を調整します。格子状のます目を押して、観察したい部分へ移動します。



8. Zoom モードで細胞を観察しながら、フォーカスノブを使用して、フォーカスを調整します。

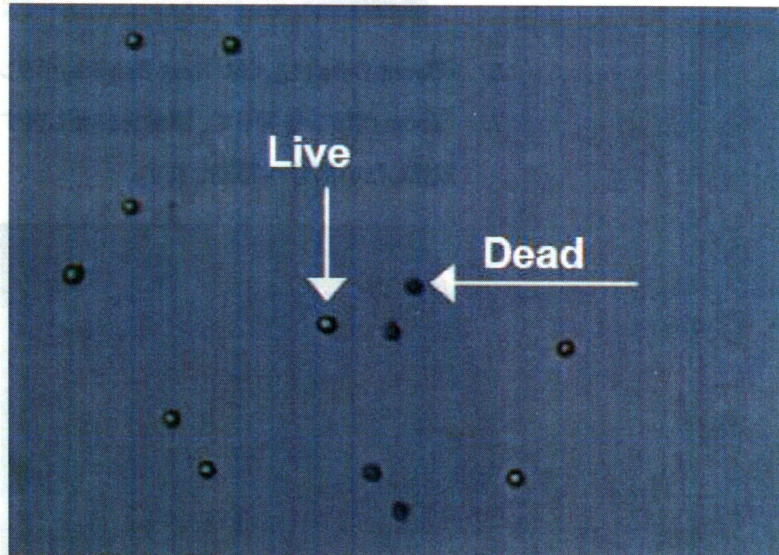
Note:最初のサンプルを測定した後は、フォーカスノブを使用して再度調整しなくても測定が可能です。ほぼ同じサイズ細胞について複数サンプルを測定する際は、フォーカスノブをロックするとよいでしょう。また、ノブのロックを解除すれば、画像を調整することも可能です。



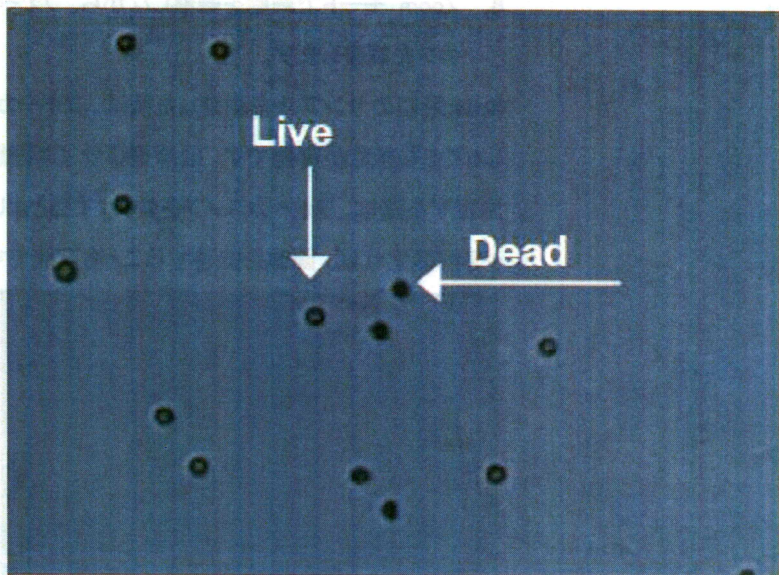
以下のように、解析用の画像を調整します。

- ・生細胞は、暗い縁で中心が明るい(次のページの画像を参照してください)。
- ・死細胞は、中心は明るくなく、一様に青く染まっている(次のページの画像を参照してください)。

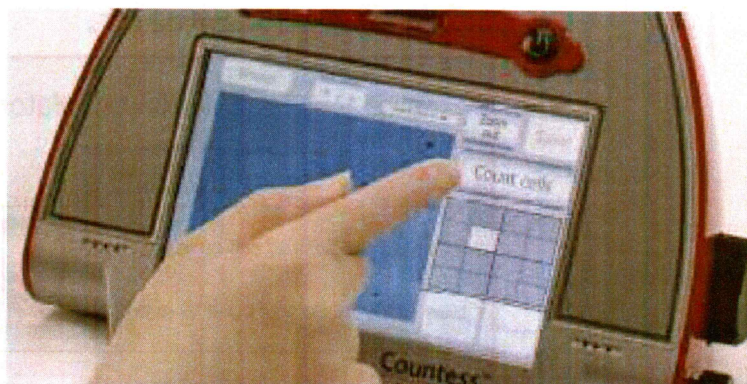
適切な細胞の画像



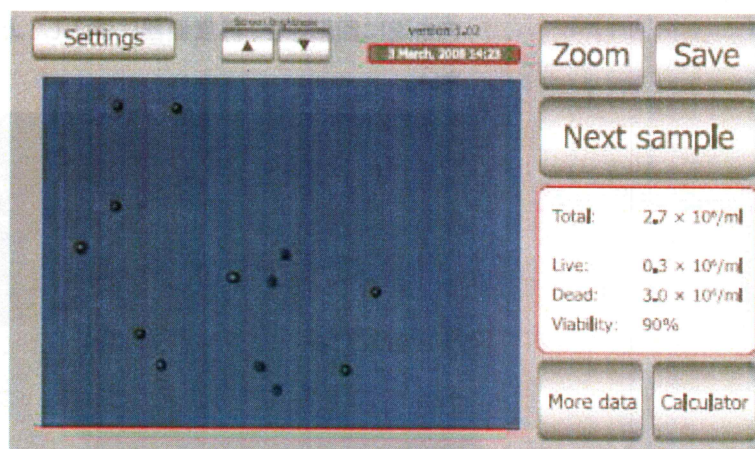
不適切な細胞の画像



9. 画像の調整が終了したら、「Count Cells」ボタンを押してください。

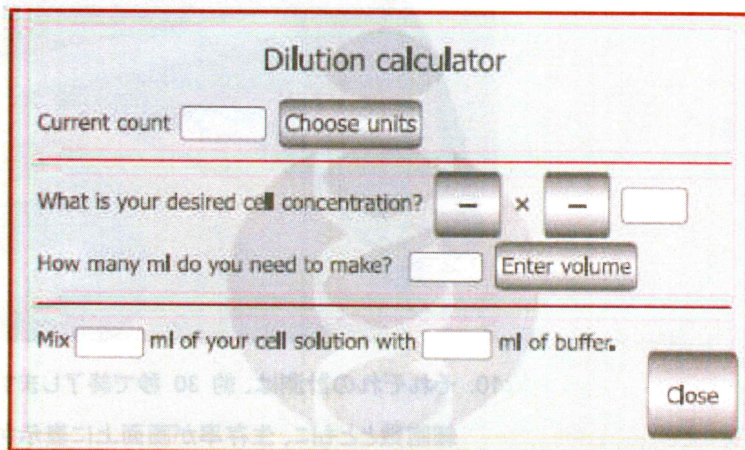


10. それぞれの計測は、約 30 秒で終了します。生細胞数、死細胞数、総細胞数とともに、生存率が画面上に表示されます。続いて、測定結果を記録するか、もしくは USB メモリを機器に挿入し、「Save」ボタンを押して、データを保存します。（データの保存に関して、詳細は 27 ページを参照してください。）



11. データの詳細や、グラフ化したデータを見る場合は、「More Data」ボタンを押してください。終わりましたら、「Close」ボタンを押して、メイン画面に戻ってください。

「Calculator」ボタンを押すと以下の画面が表示され、細胞溶液希釈のための計算を迅速に行うことができます。



12. もう一方のチャンバー(B 側)内のサンプルを測定するために、一度、Countess™ 細胞計測チャンバースライドを機器から抜き取ります。スライドは、一度少し押してから、挿入口より引き出します。スライドの方向を逆に回転させ、再度機器に挿入し、上記の操作を繰り返してください。



13. Countess™ 自動セルカウンター内部のメモリに記憶できるのは、データ 1 セットになります。次の測定を行う前に、必ず毎回測定後、データを記録するか保存してください。保存方法は、27 ページにある**データの PC への移行**をご覧ください。
14. データを記録または保存後、スライドを抜き取り、ご所属の機関および自治体の規定に沿った方法で廃棄してください。
15. この段階で、Countess™ 自動セルカウンターは次のサンプルを測定できる状態になります。もし、続けて機器をご使用にならない場合は、機

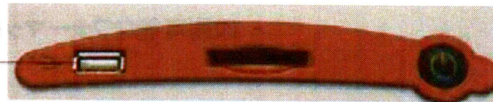
器の電源を切ってください。

Note: タッチパネルが反応しなくなった場合は、電源ボタンを 4 秒間押し続け、機器の電源を切ってください。

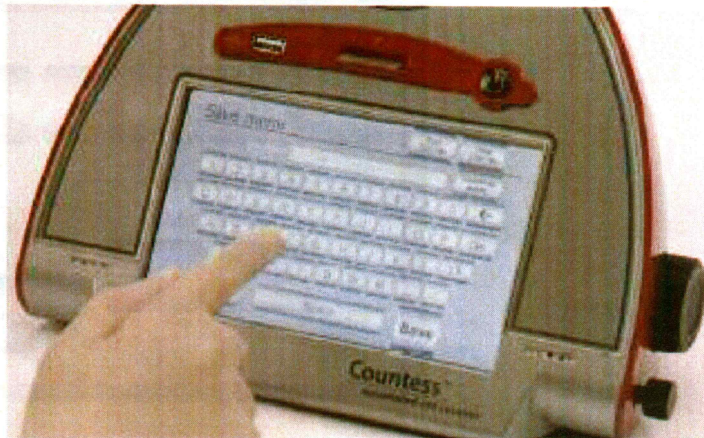
オプション: PC へのデータの移行

1. データを保存する場合やレポートを作成して印刷する場合などは、まず、USB ポートに Countess™USB メモリを挿入してください。

USB port



2. 画面上の「Save」ボタンを押して、USB メモリにデータを保存してください。画像と測定結果が保存されます。数値データは .CSV ファイルとして自動的に保存されており、スプレッドシートプログラムにより、開くことができます。 .CSV ファイルとして保存されている全データを消去する際は、「Start CSV file」ボタンを押してください。
3. Save メニュー上に表示されるキーパッドボタンで、ファイル名を入力してください。



4. PC 上の USB ポートに Countess™USB メモリを差し込み、データを移行します。スプレッドシートプログラムを用いて、.CSV ファイルを開くことが可能です。画像をご覧になる場合やレポートを作成する場合は、Countess™ソフトウェアをご使用ください。
5. PC 上の Countess™ automated cell counting software アイコンをクリック

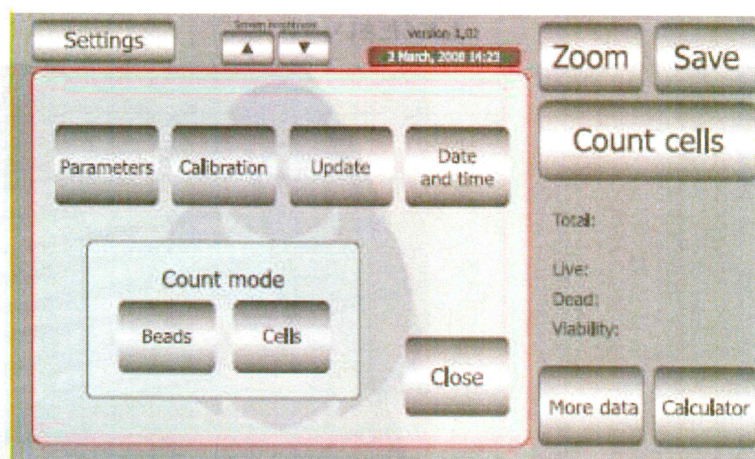
クリックしてください。(14 ページの Countess™ソフトウェアのインストールを参照してください。)

6. 「Open」ボタンを押して、ファイルを開きます。見たいファイルを選んで開いてください。
7. 格子をクリックすることで、画像をズームすることができます(この画面でどの細胞を生細胞および死細胞と認識しているか確認することができます)。
8. 「Prepare Report」をクリックすることで、画像とデータをレポートとして印刷可能なフォーマットとして出力することができます。

ビーズモードでビーズの測定を行う

Countess™ 自動セルカウンターのビーズモードでビーズの測定を行うことができます。

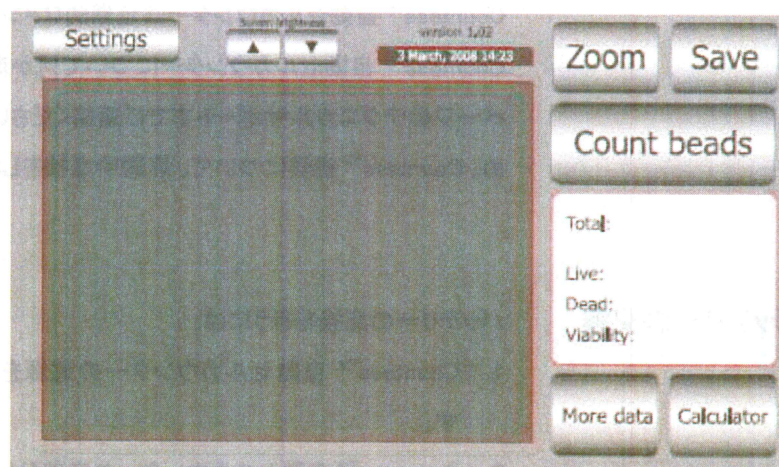
1. 電源ボタンを押して、機器を起動します。起動画面が表示されます。
2. 「Setting」ボタンを押して、次の画面で「Beads」ボタンを押すと、ビーズを測定するモードになります。



3. 付属のトリパンブルー溶液 10 μ L にビーズ 10 μ L を添加し、ピペッティングにより混合します。
4. 22 ページの写真にあるように、Countess™ 細胞計測チャンバースライドのチャンバーポートに混合液 10 μ L を注入します。1 チャンバーのみ、もしくは両チャンバーにサンプルを注入して測定していただくこと

ができます。

5. 23 ページの写真にあるように、サンプルが注入された側が完全に機器内に挿入されるまで、ビーズを注入した Countess™ 細胞計測チャンバースライドを機器の挿入口に入れます。
6. 「Count Beads」ボタンを押します。
7. 「Zoom」ボタンを押して、画像を調整します。格子状のます目を押して、観察したい部分へ移動します。フォーカスノブを使用して、フォーカスを調整します。
8. 画像の調整が終了したら、「Count Beads」ボタンを押してください。



9. ビーズの計測は、約 30 秒で終了します。ビーズの数は画面上に表示され、記録されます。
10. もう一方のチャンバー (B 側) 内のビーズを測定するために、一度、Countess™ 細胞計測チャンバースライドを機器から抜き取ります。スライドは、一度少し押してから、挿入口より引き出します。スライドの方向を逆に回転させ、再度機器に挿入し、上記の操作を繰り返してください。
11. ビーズの測定後は、「Setting」ボタンに続いて「Cell」ボタンを押して、細胞数を測定する Cell Count モードに設定してください。

クリーニングとメンテナンス

クリーニングとメンテナンス

Countess™ の表面は濡れた布で拭いて、清掃をしてください。LCD ディスプレイを清掃する際には、Countess™ の電源を切り、電源コードを抜いた状態で清掃してください。そして、LCD 用クリーニング溶液をしみ込ませた布で清掃してください。過度な力をかけて LCD ディスプレイを拭くと、LCD ディスプレイを損傷する恐れがあります。その後、すぐに乾いた布で拭いてください。

Countess™ 細胞計測チャンバースライドは再利用しないでください。

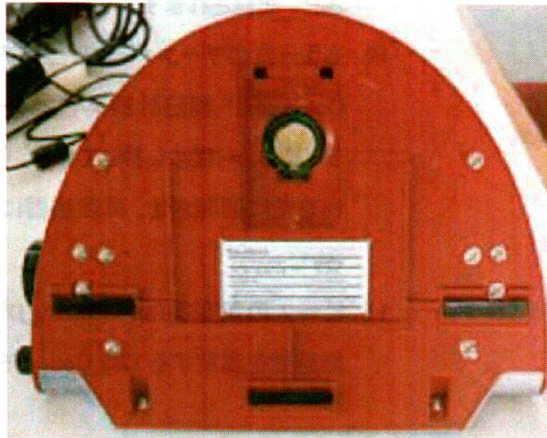
Countess™ 自動セルカウンターは定期的なメンテナンスは必要ありません。

Countess™ 自動セルカウンターについて何か問題が生じた場合には、36 ページのテクニカルサポートまでご連絡ください。機器への損傷を防ぐため、Countess™ 機器について、**修理や点検をしないでください。**

バッテリーの交換

バッテリーの交換を行うには：

1. Countess™ 自動セルカウンターの電源を切り、電源コードを抜きます。
2. Countess™ 自動セルカウンターの底部分にあるバッテリーカバーを開けます。



3. 古いバッテリーを出し、新しいバッテリーを入れてください。(バッテリー規格：CR2032)
4. バッテリーカバーを閉じ、電源コードをつなぎます。
5. 7 ページを参照し、日時を再設定してください。

Countess™ 自動セルカウンターのキャリブレーション

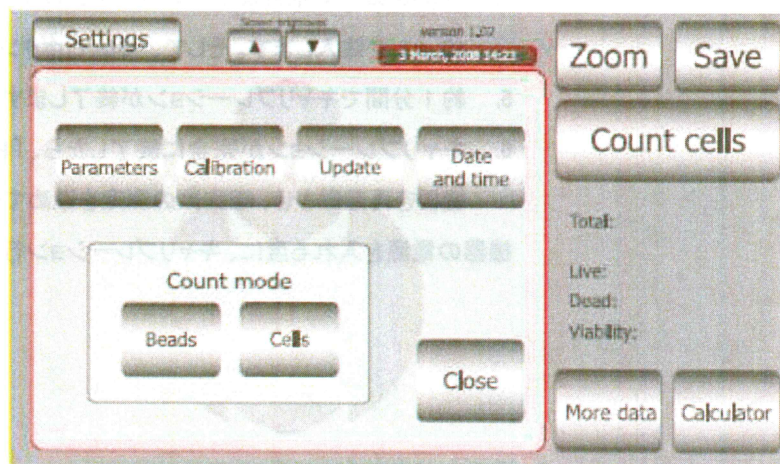
はじめに

正確な測定のために、Countess™ 自動セルカウンターを以下の方法のキャリブレーションを行うことができます。キャリブレーションによって、スライドに注入した、トリパンプルー溶液のバックグラウンドを設定します。

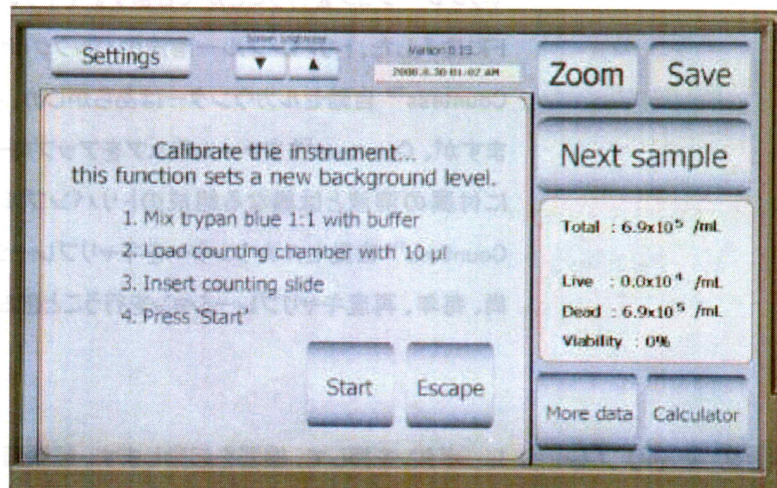
Countess™ 自動セルカウンターはあらかじめ、キャリブレーションされていますが、Countess™ ファームウェアをアップロードした場合もしくは、機器に付属の溶液とは異なる組成のトリパンプルーを使用する場合には、Countess™ 自動セルカウンターをキャリブレーションする必要があります。尚、毎年、再度キャリブレーションを行うことをおすすめいたします。

機器のキャリブレーション

1. ボタンを押して、機器を起動します。起動画面が表示されます。
2. 「**Setting**」ボタンをおして、続いて次の画面で「**Calibration**」ボタンを押します。



3. Countess™ の再キャリブレーションを行うために、トリパンブルー溶液 10 μ L とバッファー（例えば、リン酸バッファー（PBS））10 μ L を添加し、混合します。



4. Countess™ 細胞計測チャンバースライドのチャンバーポートに混合液 10 μ L を注入します。そして、「Start」ボタンを押します。
5. 約 1 分間でキャリブレーションが終了します。
6. キャリブレーションが完全に終了したら、「Re-start」ボタンを押して、機器を再起動させ、細胞数の測定を進めてください。
- 機器の電源を入れる度に、キャリブレーション行う必要はありません。

トラブルシューティング

はじめに

Countess™ 自動セルカウンターでの測定において、問題が生じた際には、以下の点をご確認ください。

問題点	原因	解決方法
正確に細胞数の測定ができない	サンプルのハンドリング	- 液体が機器内に入り、機器の損傷の原因となるので、Countess™ 細胞計測チャンバースライドを上下逆さまに機器へ挿入しないでください。 - Countess™ 細胞計測チャンバースライドは、再利用できません。はじめに測定したサンプルが残り、次のサンプルの測定に影響を及ぼします。 - ガラスの血球測定盤のような Countess™ 専用スライド以外の測定チャンバーは使用しないでください。正確な測定ができない上に、機器を損傷する恐れがあります。 - 確実に、測定範囲全体がサンプルで覆われている状態にし、機器へ Countess™ 細胞計測チャンバースライドを完全に挿入してください。
	サンプルの濃度が低すぎる、もしくは高すぎる	Countess™ 自動セルカウンターは、濃度が 1×10^4 cells/mL から 1×10^7 cells/mL のサンプル測定に対応していますが、 1×10^5 cells/mL から 4×10^6 cells/mL の濃度において最も高い精度で測定することができます。サンプルの濃度がこの範囲内ではない時には、サンプルを希釈するか、細胞数を上げて再測定してください。
	適切な画像になっていない	Zoom モードで細胞を観察しながら、生細胞については中心が明るくなるように、死細胞については、中心が青く暗くなるように、フォーカスノブを用いて、画像を調整してください。
	細胞が塊になっている	細胞が塊にならないように調整してください。
		機器の測定精度を維持するため、31 ページに記

		載されている方法で、年に 1 回キャリブレーションを行うことを推奨いたします。
エラーコード		エラーコードについては、35 ページをご覧ください。
データの保存および印刷ができない	適切な USB メモリを使用していない	機器に付属の USB メモリをご使用ください。 USB2.0 規格のメモリのうち一部の製品は Countess™ 自動セルカウンターが USB メモリを認識できず、保存できない場合があります。 また、USB メモリに過多のデータを保存しないでください。Countess™ が、USB メモリを読み込むために時間がかかる場合がございます。
	USB メモリを抜いてしまった	ファームウェアのアップデートを行っている間に、USB メモリを抜かないでください。また、同様に、電源も切らないでください。 また、データを保存している間に、USB メモリを抜かないでください。機器を損傷する恐れがあります。

Countess™ 自動セルカウンターエラーコード

はじめに 問題が起きた際に Countess™ 自動セルカウンターに表示されるエラーコードです。

問題が生じている部分	原因	メッセージ	エラーコード
ドライバ	カメラドライバをロードできない	システムエラー (E0101) デバイスを再起動するか、テクニカルサポート (36 ページ)へご連絡ください。	0101
	カメラドライバを開くことができない		0102
	カメラドライバを初期化できない		0103
	GPIO ドライバをロードできない		0104
プレビュー	カメラプレビューができない		0201
メモリ	イメージバッファメモリの割り当てができない		0301
	カメラメモリの割り当てができない		0302

Appendix

Technical Support

Web Resources



Visit the Invitrogen Web site at www.invitrogen.com for:

- Technical resources, including manuals, vector maps and sequences, application notes, MSDSs, FAQs, formulations, citations, handbooks, etc.
 - Complete technical support contact information
 - Access to the Invitrogen Online Catalog
 - Additional product information and special offers
-

Contact Us

For more information or technical assistance, call, write, fax, or email. Additional international offices are listed on our Web page (www.invitrogen.com).

Corporate Headquarters:

Invitrogen Corporation
5791 Van Allen Way
Carlsbad, CA 92008 USA
Tel: 1 760 603 7200
Tel (Toll Free): 1 800 955 6288
Fax: 1 760 602 6500
E-mail:
tech_support@invitrogen.com

Japanese

Headquarters:

Invitrogen Japan
LOOP-X Bldg. 6F
3-9-15, Kaigan
Minato-ku, Tokyo
108-0022
Tel: 81 3 5730 6509
Fax: 81 3 5730 6519
E-mail:
jpinfo@invitrogen.com

European Headquarters:

Invitrogen Ltd
Inchinnan Business Park
3 Fountain Drive
Paisley PA4 9RF, UK
Tel: +44 (0) 141 814 6100
Tech Fax: +44 (0) 141 814 6117
E-mail:
eurotech@invitrogen.com

Purchaser Notification

**Limited Use
Label License
No. 5:
Invitrogen
Technology**

The purchase of this product conveys to the buyer the non-transferable right to use the purchased amount of the product and components of the product in research conducted by the buyer (whether the buyer is an academic or for-profit entity). The buyer cannot sell or otherwise transfer (a) this product (b) its components or (c) materials made using this product or its components to a third party or otherwise use this product or its components or materials made using this product or its components for Commercial Purposes. The buyer may transfer information or materials made through the use of this product to a scientific collaborator, provided that such transfer is not for any Commercial Purpose, and that such collaborator agrees in writing (a) not to transfer such materials to any third party, and (b) to use such transferred materials and/or information solely for research and not for Commercial Purposes. Commercial Purposes means any activity by a party for consideration and may include, but is not limited to: (1) use of the product or its components in manufacturing; (2) use of the product or its components to provide a service, information, or data; (3) use of the product or its components for therapeutic, diagnostic or prophylactic purposes; or (4) resale of the product or its components, whether or not such product or its components are resold for use in research. Invitrogen Corporation will not assert a claim against the buyer of infringement of patents owned or controlled by Invitrogen Corporation which cover this product based upon the manufacture, use or sale of a therapeutic, clinical diagnostic, vaccine or prophylactic product developed in research by the buyer in which this product or its components was employed, provided that neither this product nor any of its components was used in the manufacture of such product. If the purchaser is not willing to accept the limitations of this limited use statement, Invitrogen is willing to accept return of the product with a full refund. For information on purchasing a license to this product for purposes other than research, contact Licensing Department, Invitrogen Corporation, 5791 Van Allen Way, Carlsbad, California 92008. Phone (760) 603-7200. Fax (760) 602-6500. Email: outlicensing@invitrogen.com

Continued on next page

Purchaser Notification, Continued

Instrument Warranty

Invitrogen warrants to the original purchaser ("Purchaser") that the Instrument ("Instrument") will be free from defects in materials and workmanship for a period of one (1) year from the date of delivery. Invitrogen agrees, as its sole responsibility under this limited warranty, and upon prompt notice of a defect, to repair, replace or refund purchase price, at its discretion, any Instrument discovered to be defective within the warranty period. This warranty does not include repair, replacement, or refund necessitated by accident, abuse, neglect, misuse, unauthorized repair, or modification of the Instrument.

In the event that Invitrogen determines that the Instrument is in need of repair and not replacement, this Standard Warranty includes replacement parts and labor for the Instrument. This Standard Warranty does not include shipment of the Instrument to and from service location or travel cost of service engineer, the costs of which shall be borne by the Purchaser.

This Warranty and the remedies set forth herein are exclusive and in lieu of all other express or implied warranties (including implied warranties of merchantability, fitness for a particular purpose and non-infringement), and no other warranties shall be binding upon Invitrogen. In no event shall Invitrogen be liable for any special, incidental or consequential damages resulting from the use or malfunction of this Instrument or the system With which it is used, even if such damages could be anticipated by Invitrogen.

To obtain service during the warranty period, contact Invitrogen Technical Support for further instruction.

OUT OF WARRANTY SERVICE

Contact Invitrogen Technical Support. We will be happy to assist you by phone at no charge. Repair service, if needed, will be billed depending on the parts replaced and labor hours needed to repair your instrument. You will be billed for shipment of the instrument to the recommended service facility.

©2008 Invitrogen Corporation. All rights reserved.

For research use only. Not intended for any animal or human therapeutic or diagnostic use.



Countess についてのよくあるご質問と回答

Version date: 09Oct2008

日本語 FAQ は英語版と異なる場合もございます。
最新バージョンの英文 FAQ も併せてご一読ください。

20090123

技術的なご質問

Q:測定にはどのくらいの時間がかかりますか？

A:1 サンプルあたり、30 秒です。

Q:測定できる濃度の範囲はどれくらいですか？

A: Countess™ は濃度が 1×10^4 cells/ml から 1×10^7 cells/ml のサンプル測定に対応していますが、
 1×10^5 cells/ml から 4×10^6 cells/ml の濃度において最も高い精度で測定することができます。

Q:測定可能な細胞の大きさはどれくらいですか？

A:5 μ m から 60 μ m です。

Q:細胞の生死判別にはどの試薬を使用すればよいですか？

A:トリパンブルーを使用してください。

Q:細胞の測定はどのように行われますか？

A:画像解析アルゴリズムを用いて測定しています。

Q:画像解析アルゴリズムをどのように用いて測定しているのですか？

A:残念ながら、お教えできません。

Q:細胞の大きさを測定できますか？

A:できます。

形態について

Q:Countess™ の大きさはどのくらいですか？

A:2 枚用トースターと同じくらいの大きさです。

Q:未滅菌のスライドや、個別包装ではないスライドはありますか？

A:現在のところ、個々に包装されたスライドのみの販売となっております。

Q:Countess™ のメンテナンスはどのようにすればよいですか？

A:メンテナンスは必要ありません。しかし、表面および内部に液体をこぼさないようにしてください。故障の原因となります。

コンピューターの互換性およびデータの保存について

Q:Countess™ の使用にあたり、コンピューターは必要ですか？

A:必要ありません。

Q:コンピューターにつなぐことはできますか？

A:できません。データをコンピューターに移す際は、USB ドライブを使用してください。

Q:自分のコンピューターにソフトウェアをロードする必要はありますか？

A:必要はありません。Countess™ ソフトウェアをロードすることはできますが、Excel を使用することも可能です。

Q:画像を保存できますか？

A:できます。JPEG ファイルとして保存すれば、どの画像解析ソフトウェアでも開くことができます。ご自分の PC にロードした Countess™ ソフトウェアを用いて、保存した画像を見ることももちろん可能です。

Q:Report を作成できますか？

A:できます。しかし、作成するためには、PC で Countess™ ソフトウェアを起動する必要があります。

Q:自分のコンピューター上のドライブに保存した結果を開くには特別なソフトウェアが必要になりますか？

A:CSV ファイルはどのスプレッドシートソフトウェアでも開くことができます。また、画像ファイルについても、どのイメージングソフトウェアでも開くことができます。より詳細に解析する場合は、Countess™ web site (www.invitrogen.com/countess)から Countess PC ソフトウェアをダウンロードしてご利用ください。

細胞計測について

Q:計測実績ある細胞種を教えてください。

A:これまでに実績のある細胞は以下になります。HEK-293, A431, CHO-M1, CHSE, COLO-205, COS-7, HeLa, HepG2, HL-60, J774(MMM), Jurkat, K-562, MCF-7, MRC-5, NIH/3T3, PC-12, SF-21, U266, U2OS, 初代細胞: Adipocytes, HASMC, HPAEC, HPASMC, HUVEC.
更に各種細胞について検討をしております。

Q:Countess™ は、細長い細胞も計測できますか？

A:可能だと考えられますが、細長い細胞についての計測実績はありません。細胞の形が特殊な場合や、細長い形状の場合は、「Setting」メニューの「Parameter」機能を使用して円形の条件を設定してください。この機能は、画像解析ソフトウェアによる細胞の認識方法を変更します。ご使用の細胞の形状に最も適した円形の設定条件を決めるには、条件検討が必要な場合もあります。

Q:Countess™ で酵母の計測を行うことはできますか？

A:できます。しかし、生死判定はできません。

Q:Countess™ でバクテリアの計測を行うことはできますか？

A:できません。バクテリアは小さいので、バクテリア以外のゴミなどと区別できません。

Q:Countess™ は細胞塊にはどのように対応できますか？

A:5-6 細胞の塊でしたら、計測が可能です。それ以上の塊では細胞が重なるので、正確な計測ができないと考えられます。

Q:Countess™ は血球の計測が可能ですか？

A:Countess™ は溶解させた血液および Ficoll 処理した細胞から単離した白血球を計測することができます。

Q: Countess™ は溶解していない細胞を含む血液の計測はできますか？

A:できません。赤血球を含む血液サンプルを希釈せずに測定することはできないと考えられます。希釈したサンプルの場合は測定できると考えられますが、計測した実績はありません。

Q:Countess™ は PBMC(末梢血単核球)を計測できますか？

A:はい、Countess™ は PBMC(末梢血単核球)を計測できます。しかし、白血球と区別することはできません。

Q: Countess™ は RBC(赤血球)を計測できますか？

A:はい、Countess™ は RBC(赤血球)を計測できます。特に RBC(赤血球)を計測する際には、BEAD モードで測定することを推奨します。これは、トリパンブルーによる RBC(赤血球)の生死判定はできないので生死判定機能を必要としないためです。Countess™ は、白血球と赤血球を区別することはできません。しかし、白血球の割合が特に高い場合は、RBC(赤血球)は測定結果に大きな影響を及ぼしません。

Q: Countess™ は植物細胞を計測できますか？

A: 植物細胞の計測実績はありません。しかし、細胞の大きさが Countess™ の計測可能範囲内であるか、大きな細胞塊になっていなければ、植物細胞の計測は可能です。

Q:複数種の細胞が混合していて、例えば、その中のリンパ球のみを計測したい場合、その細胞のみを計測できるように Countess™ のパラメーターを設定することができますか？

A:ある特定の大きさの細胞群のみを測定することはできません。画像中のすべての細胞について平均をとり、細胞径の平均値を決定します。なお、平均値からの上限と下限を設定モードで設定することもできます。

Q: Countess™ はどのように分裂している細胞を識別しますか？

A:2つの細胞がそれぞれ円形をとり、接している状態であれば、画像解析ファームウェアがそれぞれを異なる細胞として認識します。

Q:自分が測定する細胞に対して、それぞれ特定のパラメーターを設定する必要がありますか？

A:初代細胞、PBMC(末梢血単核球)、昆虫細胞、魚類細胞を含む、よく使用される 20 種以上の細胞についてデフォルトの設定で測定が可能でした。しかし、各細胞について特定のパラメーターが最適となるよう設定することもできます。

色素とキャリブレーションについて

Q:Countess™ で測定する際には、どの色素を使用することができますか？

A:トリパンブルーで染色した細胞のみ測定できます。

Q:Countess™ は、どれくらいの頻度でキャリブレーションする必要がありますか？

A:Countess™ はキャリブレーションされた状態でお手元に届きます。ファームウェアをアップデートした時には、キャリブレーションすることが必要となります。また、専用トリパンブルー以外の他社製品もしくは、異なる濃度のトリパンブルーを使用される際にも、再度キャリブレーションすることが必要です。使用するトリパンブルーをセットしキャリブレーションを行う際には、およそ 2-3 分間かかります。上記の場合以外では、キャリブレーションは行わないでください。

Q:測定に可能なトリパンプルーの濃度はどれくらいですか？

A:各濃度のトリパンプルーで再度キャリブレーションを行ったのち、0.05 - 0.6%で検討を行ったところ、どの濃度でも測定可能でした。

Q:設定モードで希釈倍率を設定することはできますか？

A:できません。1:1 で混合してサンプルを調製し測定するという簡便な操作方法となりますので、測定結果は、1/2 希釈で測定されたものとして実測値の 2 倍の値が算出されます。それ以外の希釈については、ご自身で算出してください。

