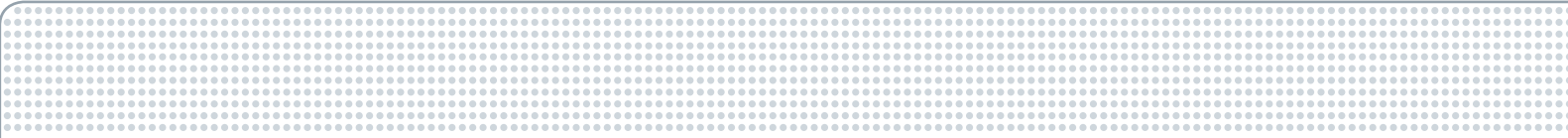


# STEMvision™

为脐血库提供的自动化和标准化  
CFU检测计数





## 目录

- 4 集落形成单位（CFU）检测 - 用于脐血库
- 5 CFU检测流程
- 6 STEMvision™自动成像和标准化集落计数
- 7 STEMvision™性能数据
- 9 STEMvision™ CFU检测报告
- 10 HetaSep™ - 用于去除红细胞
- 11 MethoCult™ Optimum - 用于14天CFU检测的甲基纤维素培养基
- 12 MethoCult™ Express - 用于7天CFU检测的甲基纤维素培养基
- 13 SmartDish™ - 为造血集落提供计数更可靠的无弯月面培养皿
- 14 STEMvision™产品信息

## 一套完整的CFU检测工具

STEMCELL Technologies公司为研究实验室、造血细胞治疗实验室和脐血库提供了一条全面的产品线，以检测脐血、骨髓和动员后的外周血样本中的CFU数量。STEMCELL Technologies公司的质量管理体系通过了ISO 13485医疗器械标准认证。请访问[www.stemcell.com](http://www.stemcell.com)网站查看更多信息。

# 集落形成单位 (CFU) 检测

## 用于脐血库



集落形成单位 (CFU) 检测是对造血祖细胞进行体外鉴定和计数的金标准。脐血 (CB) 库可用其评估用于移植的细胞产物。

CFU检测对脐血干细胞移植的效用, 已在针对各种血液和非血液癌症及其它疾病的临床研究中得到验证。这些研究表明, 一个脐血单位中的CFUs数目是与中性粒细胞和血小板的植入时间, 以及移植以后的总体存活率相关性最好的参数, 特别是对用于非亲属移植的, 经过解冻的冻存细胞<sup>1-5</sup>。

基于这些研究, 一些监管机构 (如FDA、AABB、NetCord-FACT) 建议或要求: 须先在冻存前和/或解冻后对脐血单位中的CFU数量进行检测, 以提前了解该脐血单位的移植能力。STEMCELL Technologies为脐血库提供了一套完整的用于检测CB样品中CFU数量的工具 (图1)。

### 公共脐血库

CFU检测可用于鉴定含有大量祖细胞的脐血单位。对含有大量CFU的脐血单位进行预筛选可使脐血库只将成本 (如宝贵的空间和资源等) 投入于只储存优质的CB单位, 以提高库存CB的质量。

CFU检测也可用于确认样品的处理和冻存过程是否对脐血单位中的活性祖细胞数量造成了有害影响。这将确保应用该检测的实验室产出的CB产品具有高移植潜能。

最后, CFU检测还可辅助为移植选择一个或多个合适的脐血单位。将样品解冻后, 一个脐血单位中具功能性和活性的CFU数量, 是其具有高移植潜能的关键性决定因素。

### 用于CFU检测的一套完整工具:

- STEMvision™ - 用于对BFU-E、CFU-G/M/GM和CFU-GEMM的自动化和标准化计数
- 用于7天和14天CB CFU检测的分析软件包
- MethoCult™ - 在7天或14天CFU检测中可支持造血集落形成的优化培养基
- SmartDish™ - 为造血集落提供计数更可靠的无弯月面培养皿
- HetaSep™ - 从新鲜的CB样品中去除红细胞
- Proficiency Testing项目

### 私营脐血库

CFU检测可向父母提供其子女的CB样品在收集时质量如何的重要生物学信息。若日后需要用到脐血单位进行造血移植, 该检测可成为家长确知孩子的CB单位中造血祖细胞保持活性的保证。该信息还可帮助使父母对这一方面的投资更有信心。

对一些正在选择由哪家脐血库来处理和保存孩子的CB细胞的, 可以向他们强调CFU检测的优势, 它可帮助私营脐血库从其众多的竞争对手中脱颖而出。

## CFU检测流程

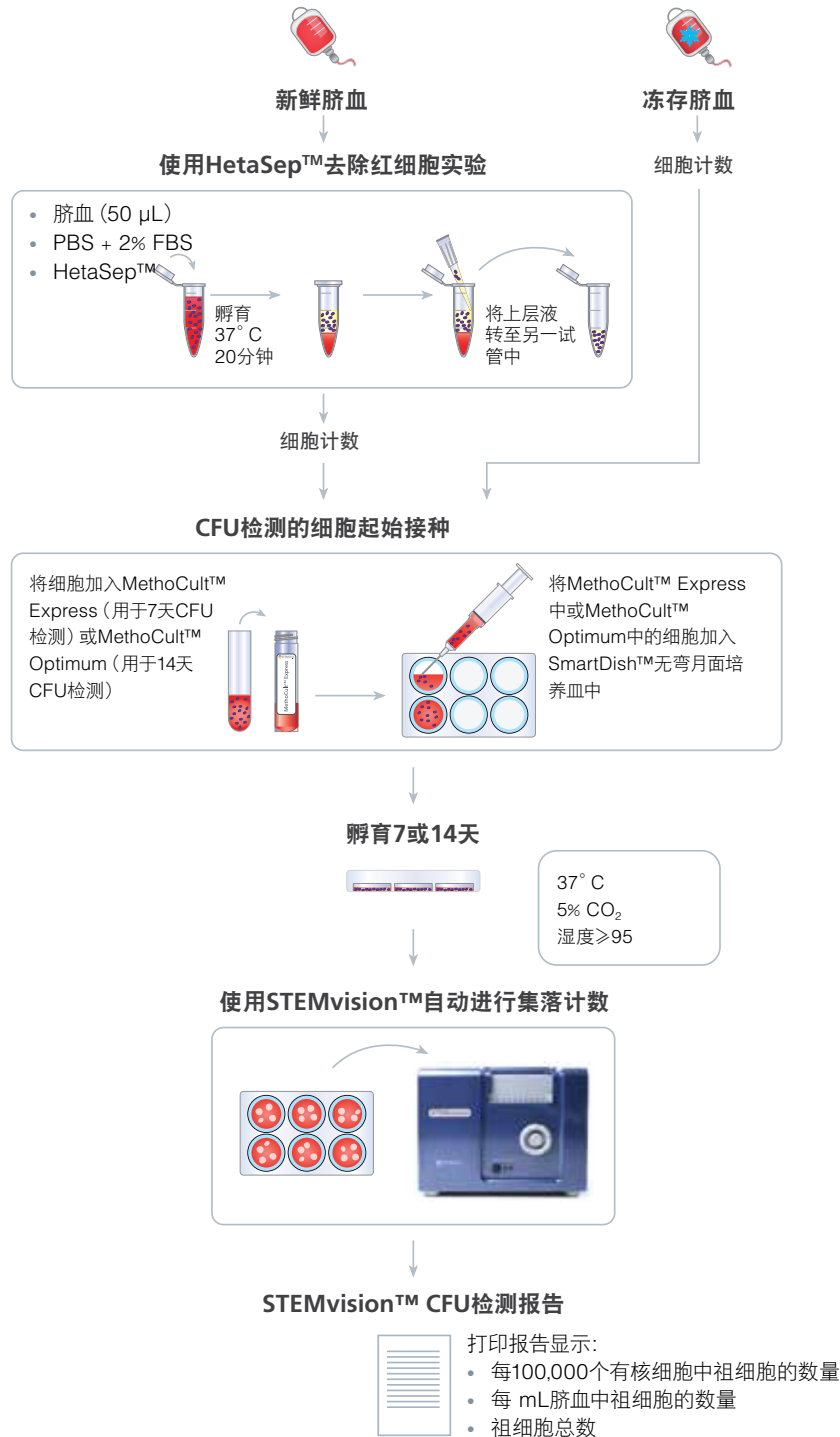


图1. 脐血库使用STEMvision™对造血集落进行自动化计数的CFU检测流程。

使用HetaSep™从50  $\mu$ L新鲜脐血 (CB) 样品中去除红细胞 (RBCs)。对预先冻存而经解冻的CB细胞, 可免去这一步骤。根据是否需在14天后对不同类型的集落形成单位 (CFU) 亚型进行区分 (MethoCult™ Optimum培养基), 或只需在7天后对总CFU进行计数 (MethoCult™ Express培养基), 而将新鲜或解冻的CB细胞培养于合适的MethoCult™培养基中。STEMvision™对培养皿进行图像采集, 再通过分析图像对不同集落类型进行鉴定和计数。脐血单位中CFU的比例和总数的测定结果可记录于打印报告中。打印报告的表格有两种形式, 一种用于实验室, 另一种则提供给家长 (可选)。

# STEMvision™

## 自动成像和标准化集落计数

STEMvision™是一套带计算机的台式系统，可对集落形成单位 (CFU) 检测过程中的造血集落进行自动化和标准化计数。STEMvision™仅需30秒即可获取每个35 mm培养孔的高分辨率图像，再由精密的图像分析软件对BFU-E、CFU-G/M/GM和CFU-GEMM生成的造血集落进行鉴定和计数 (图2)。

通过使用自动化系统进行标准化的集落鉴定和计数，可确保脐血库和移植实验室获得准确且可重复性好的CFU检测结果。STEMvision™分析软件包可针对传统的14天检测进行CFU总数计数和分类，也可用于更快的7天检测，对人CB细胞总数进行计数。有关产品的详细规格请查看第14页。

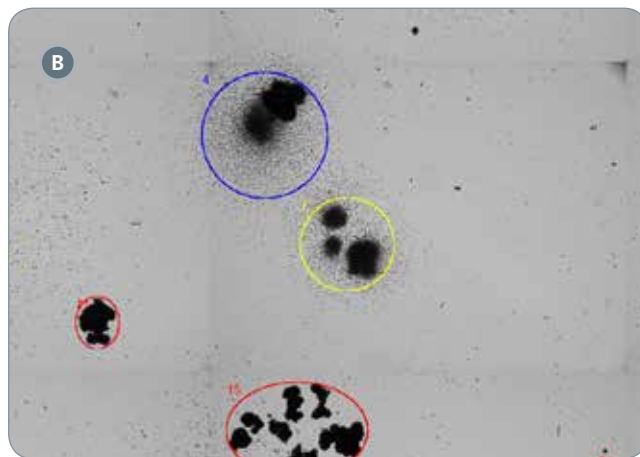
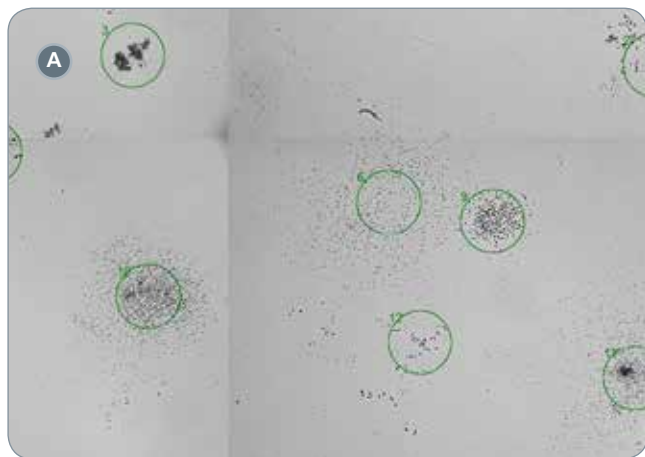


图2. 使用MethoCult™ Express经7天培养 (A)，或使用MethoCult™ Optimum经14天培养 (B) 后，对CB祖细胞生成的CB祖细胞集落用STEMvision™扫描后显示的典型图像。

使用STEMvision™人CB 7天和14天分析软件包对图像进行分析。绿圈内为仅对7天 CB CFU检测中单个克隆进行识别，并对CFUs总数进行计数的结果 (A)。对于14天CB CFU检测，红圈内为红系集落 (由BFU-E生成)，黄圈内为髓系集落 (由CFU-G、CFU-M或CFU-GM生成)，蓝圈内为混合集落 (由CFU-GEMM生成) (B)。

### STEMvision™能帮助您:

- 自动化和标准化的集落计数，确保得到更准确且可重复的CFU检测结果
- 最大限度减少集落计数时，对同一样本的不同操作人员之间，以及不同实验室之间的差异
- 对细胞培养物进行数码成像，可永久保存记录
- 以易于使用的格式采集和查看数据
- 节省人员培训及实验室工作流程所需的时间

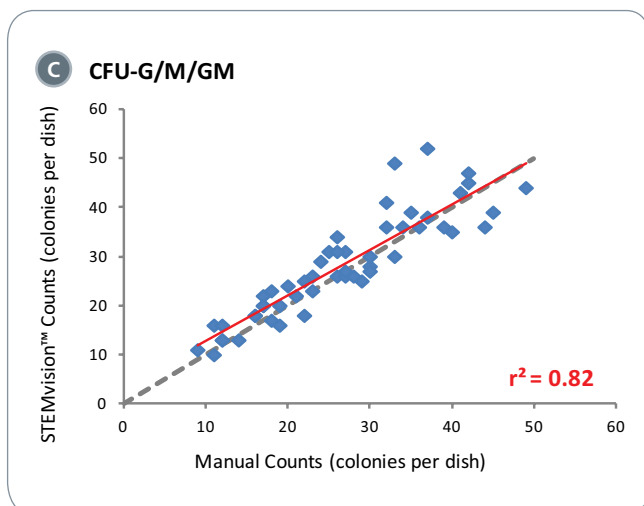
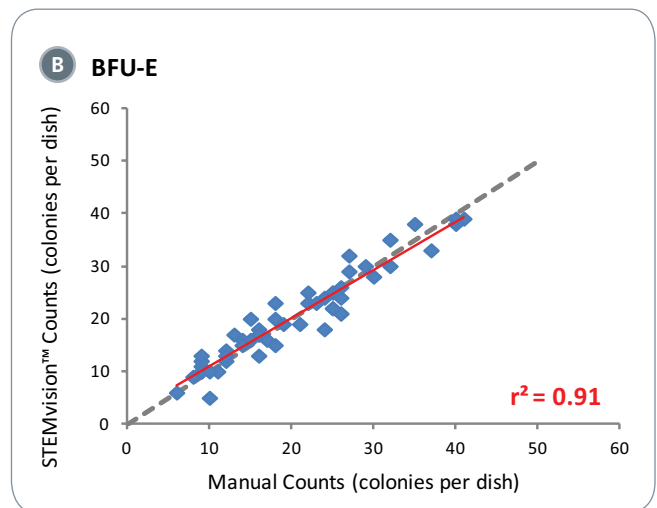
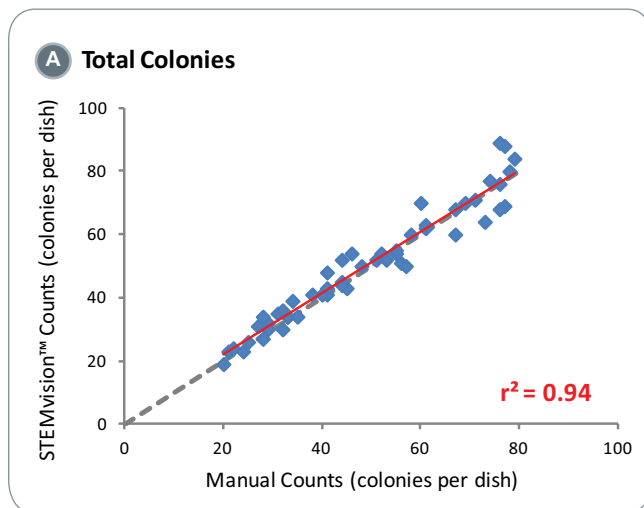
## STEMvision™

性能数据



使用STEMvision™，通过集落形成单位 (CFU) 检测对脐血 (CB) 中的造血集落总数，和红系、髓系及混合集落亚型进行计数，与手动使用倒置显微镜的计数结果有很强的正相关性。重要的是，由STEMvision™进行的集落计数在推荐集落密度范围内，即每个35 mm培养孔中有20-80个集落，其差异性显著低于不同技术员使用手动方法的集落计数结果。

自动和手动集落计数的相关性，以及采用自动化CFU计数使差异性降低的情况请见图3-5。



**图3.** 对于14天CB CFU检测，使用STEMvision™对集落总数(A)，红系(BFU-E) (B)和髓系(CFU-G/M/GM) (C)集落进行自动化计数，其结果与手动计数的结果有很强的相关性。

将冻存CB样品解冻，再接种于MethoCult™ Optimum培养基中培养14天，然后同时用倒置显微镜进行手动计数和用STEMvision™进行自动计数，结果显示两者之间有很强的相关性。灰虚线代表两者间的最佳线性相关性，红实线则代表两者间的实际线性相关性。

描述所有数据组 (n=52 个CFU检测) 的数学方程和相关系数 ( $r^2$ ) 如下:

图3A:  $y = 0.97x + 2.54$ ; 总集落的  $r^2 = 0.94$

图3B:  $y = 0.91x + 1.91$ ; BFU-E的  $r^2 = 0.91$

图3C:  $y = 0.93x + 3.43$ ; CFU-G/M/GM 的  $r^2 = 0.82$

## 性能数据

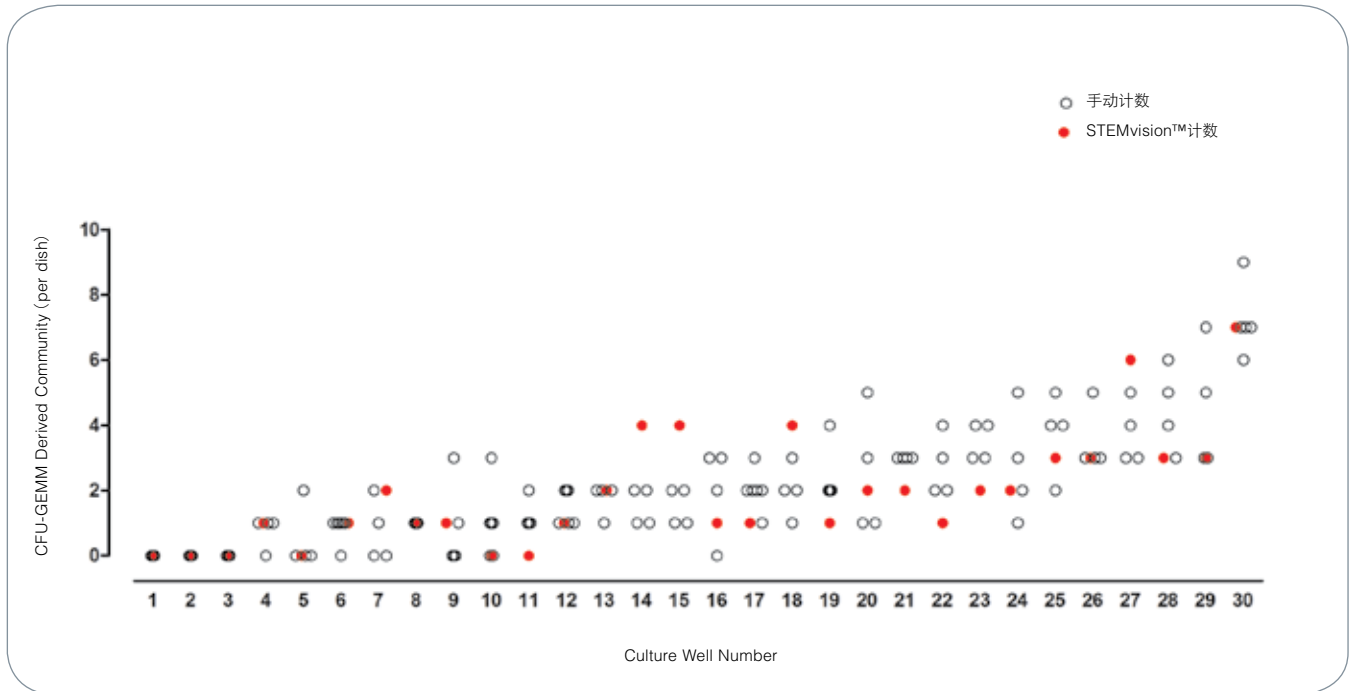


图4. 对于14天CB CFU检测，使用STEMvision™对混合集落进行自动计数的结果在手动计数结果范围内。

由3到7个不同的实验室研究人员对30个14天CB CFU检测进行计数（检测总数 n=51）。黑色圆圈表示对每个培养皿中的混合集落（由CFU-GEMM祖细胞生成）进行手动计数的结果。对于大多数样品，手动对CFU-GEMM计数的结果因操作人员的不同而产生差异。针对相同样品用STEMvision™进行CFU-GEMM计数（红色圆圈）的结果通常在手动计数结果的范围以内。

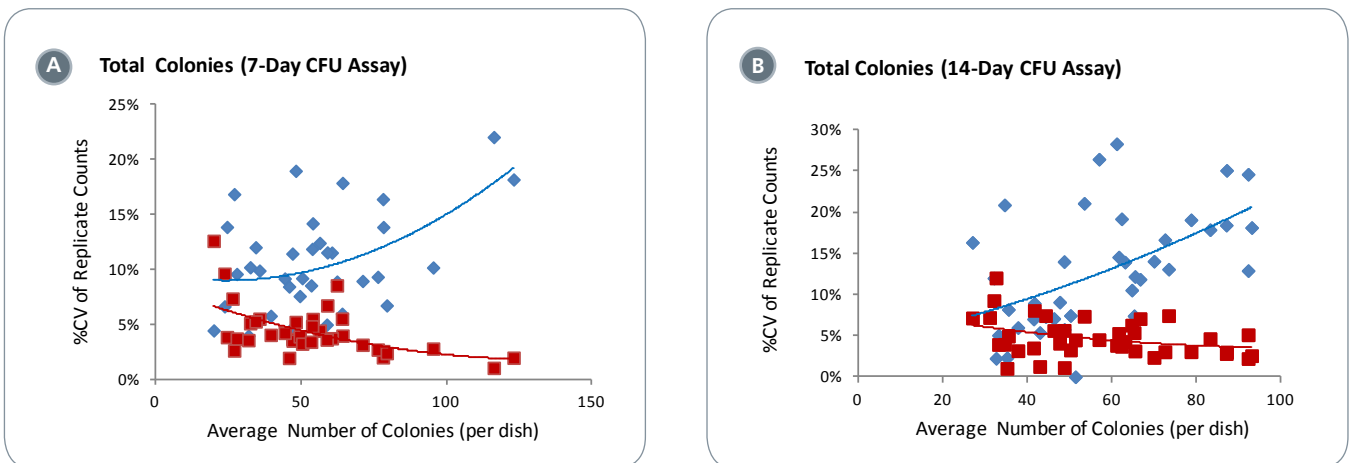


图5. 对于7天 (A) 和14天 (B) CB CFU 检测，使用STEMvision™进行的自动集落计数的重复性优于手动计数。

由3-5个不同的实验研究人员（蓝色菱形）或3-5台STEMvision™设备（红色方形）对相同培养皿中的CB细胞样品，分别以手动和自动的方式，通过7天CFU检测 (A) 和14天CFU检测 (B) 进行总集落计数，得到两者间的差异系数 (CV)。手动进行的7天和14天总集落计数的平均CV分别为11%和12%，用STEMvision™进行的7天和14天检测的平均CV均为5%。



## STEMvision™ CFU检测报告

STEMvision™可形成两种形式的打印报告, 描述相关脐血 (CB) 单位的详细信息和集落形成单位 (CFU) 检测的结果 (图6)。打印报告所包含的重要信息, 可用于脐血库进行样品记录, 移植实验室进行样品处理, 另外还可提供给家长 (可选)。打印报告的内容包括:

- 脐血库地址和联系信息
- 病人和医生的基本信息
- CB样品和CFU检测的ID号
- 每100,000个有核细胞中活性祖细胞的数量
- 每 mL CB中活性祖细胞的数量
- 脐血单位中活性祖细胞的总数
- 在14天CFU检测报告上列出BFU-E, CFU-G/M/GM和CFU-GEMM的数量

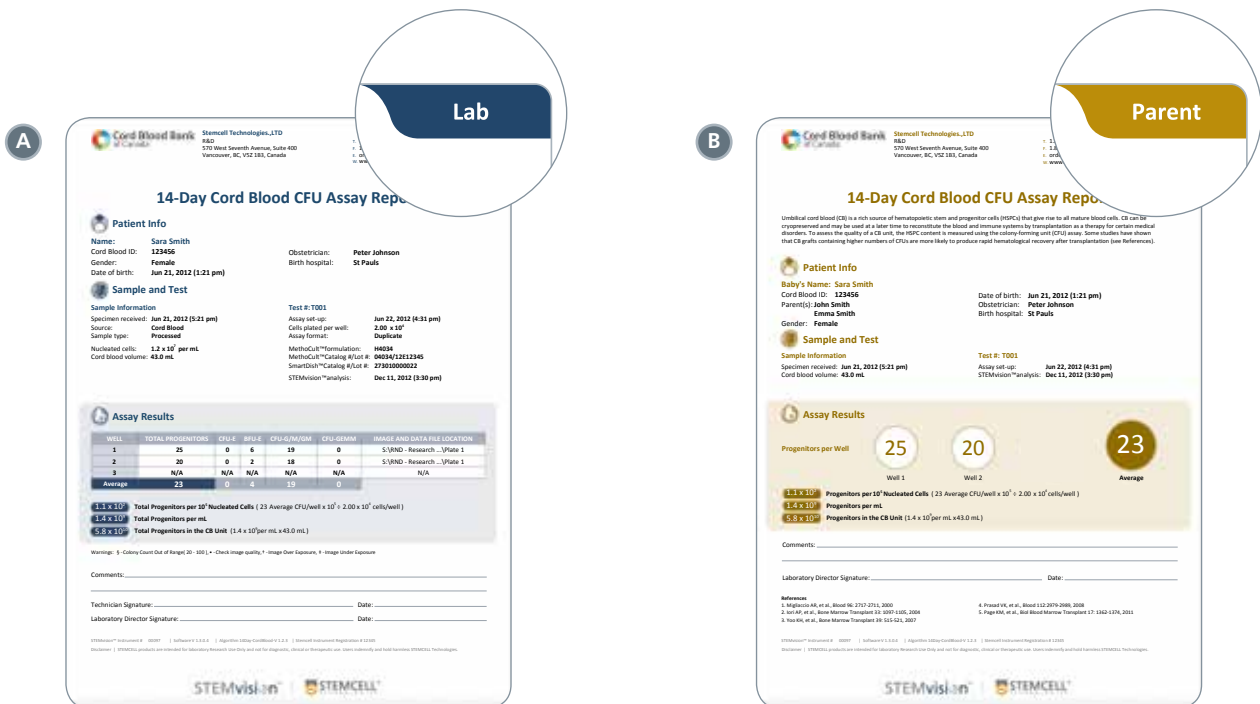


图6. 使用STEMvision™检测14天CFU的报告示例。  
打印报告可分别提供给脐血库或移植实验室 (A) 和家长 (B)。

# HetaSep™

## 用于去除红细胞



### HetaSep™

产品名称: HetaSep™  
产品号 #: 07806 20 mL/瓶  
07906 100 mL/瓶



如果集落形成单位 (CFU) 检测中存在大量红细胞 (RBCs), 那么无论用手动方法还是用STEMvision™, 都会对造血集落的准确计数造成影响 (见图7)。因此必须先将红细胞从新鲜的CB样本 (全血或经处理过的血液) 中去除后再进行CFU检测。至于冻存样品中的红细胞则无需去除, 因为经冷冻和解冻处理后红细胞的存活率通常会很低。

HetaSep™是一种可促使红细胞发生聚积的试剂, 可将有核细胞从红细胞中快速分离。它的原理是使聚积的红细胞的沉淀速度远远快于分散细胞的沉淀速度。

使用HetaSep™不会影响祖细胞的数目, 在去除了RBC的样品中97%的CFU可被回收。使用HetaSep™去除RBC既快速且只需使用50 μL的CB, 因此易于被纳入实验室工作流程中。

更多这方面的信息, 请查看HetaSep™实验技术公告 (文档号 #29541)  
: [www.stemcell.com/hetasep\\_protocol](http://www.stemcell.com/hetasep_protocol)。

### HetaSep™的优点:

- 提高集落计数的准确性
- 使CFU回收率超过97%
- 作用快速且易于操作
- 所需血液样本量少, 可用于50 ul 血液

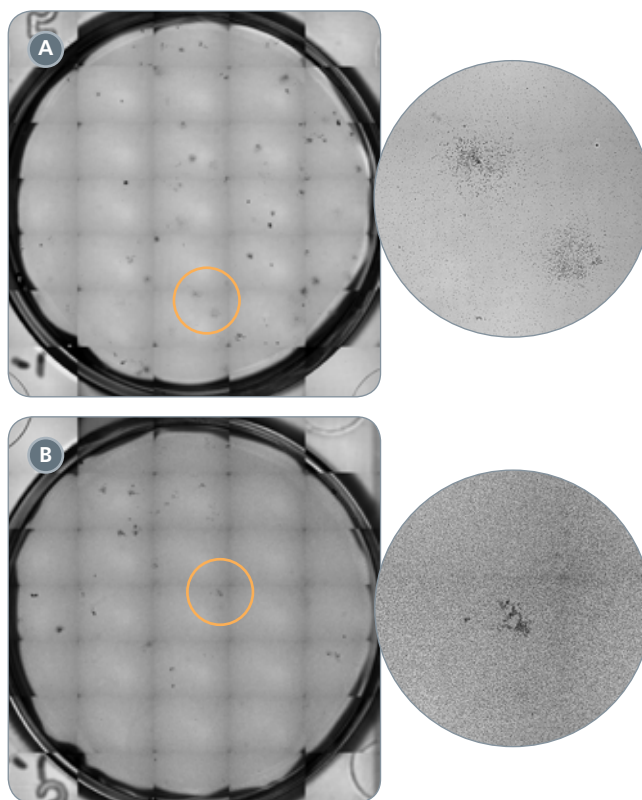


图7. 在进行CFU检测前, 使用了HetaSep™ (A) 和没有使用HetaSep™ (B) 去除红细胞的新鲜CB样品。

- (A) CFU检测较清晰的背景 (少量的红细胞)。  
(B) CFU检测模糊杂乱的背景。请注意, 由于RBC背景的影响, 可见的集落较少。

## MethoCult™ Optimum 用于14天CFU检测的甲基纤维素培养基



在MethoCult™ Optimum培养基中培养14天后，分别由BFU-E、CFU-GM和CFU-GEMM祖细胞生成的集落的图像。

STEMvision™人脐血14天分析软件包是为与MethoCult™ Optimum培养基配合使用而设计的（产品号 #04034/04044）。该培养基被认为是造血领域的金标准，并在全球广泛应用于这一类实验的性能测试。MethoCult™ Optimum支持BFU-E、CFU-E、CFU-G/M/GM和CFU-GEMM的最佳增殖和分化。更多详细信息请访问：[www.stemcell.com/CFUwallchart](http://www.stemcell.com/CFUwallchart)。

MethoCult™ Optimum在欧盟（European Union, EU）通过了用于体外诊断（IVD）的CE认证。CE认证表明该培养基符合欧盟关于IVD医疗器械的安全、环保和质量标准要求。它符合欧洲议会关于体外诊断医疗器械的98/79/EC指令和欧洲理事会1998年10月27日制定的指令，并在其适用的国家（地区）执行。

在欧盟以外的国家和地区，除非另有规定，MethoCult™ Optimum只用于研究，而不可用于治疗或诊断。

### MethoCult™ Optimum培养基的优点：

- 该配方可用于脐血、骨髓、动员后的外周血、白细胞去除术样品、CD34<sup>+</sup>富集细胞和单个核细胞
- 在多项应用上进行了优化
- 有含EPO的配方和不含EPO的配方供选择



#### 技术公告

“潜能”检测，用于检测造血干细胞和祖细胞的植入潜能  
[www.stemcell.com/potency\\_assay](http://www.stemcell.com/potency_assay)



#### 技术公告

脐血CFU检测  
[www.stemcell.com/cfu\\_cordblood](http://www.stemcell.com/cfu_cordblood)

METHOCULT™ 产品	产品号 #	规格	组分				应用
			甲基纤维素	胎牛血清	牛血清白蛋白	生长因子	
MethoCult™ Optimum	04034/84434* 04044/84444*	100 mL 24 x 3 mL	✓	✓	✓	细胞因子，包括促红细胞生成素（EPO）	支持CFU-E、BFU-E、CFU-G、CFU-M、CFU-GM和CFU-GEMM的生长

\*在欧盟通过IVD的CE认证。

# MethoCult™ Express

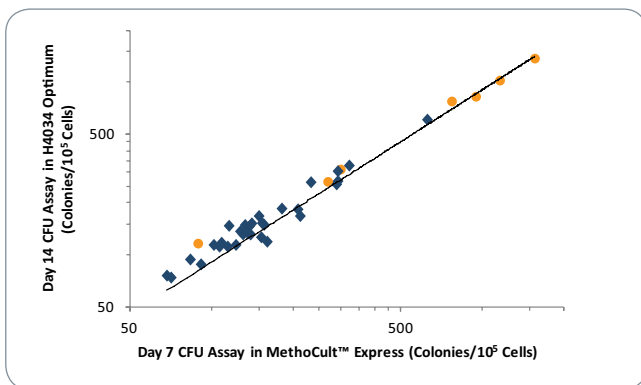
## 用于7天CFU检测的甲基纤维素培养基



在MethoCult™ Express中生长的造血集落，分别在第7天（左）和第14天（右）的图像。

按照常规方法，人细胞集落形成单位（CFU）的计数需要在培养14天后进行。这使祖细胞有足够的时间分化成不同的造血谱系，从而可将各CFU亚型分别进行计数。虽然很多实验室首选这种14天检测方法，但如果只需简单地检测CFU的数量、活性与功能性，则无需14天的培养时间。

人脐血STEMvision™7天分析软件包是为与MethoCult™ Express（产品号 #04437/04447）配合使用而设计的。该培养基的配方可加速造血祖细胞的增殖，使集落在7天后即可进行计数；比常规的14天CFU检测快了一个星期。这种方法可更简单、更快地鉴定一个脐血（CB）单位中具有功能性和活性的祖细胞总数。一些临床研究已经表明：一个脐血单位中CFU的总数与CB移植后细胞植入的效果具有强烈的相关性<sup>1-5</sup>。



### MethoCult™ Express的优点：

- 该配方可加快祖细胞的增殖和集落形成
- 只需7天即可对CB中CFU的总数进行计数

使用MethoCult™ Express培养基经7天培养后CB中CFU的总数，与使用MethoCult™ Optimum培养基（产品号 #04034/04044；图8），或如MethoCult™ Classic（产品号 #04434/04444）和MethoCult™ Enriched（产品号 #04435/04445）等其它培养基配方经14天培养后的CFU总数具有强烈相关性。

MethoCult™ Express在欧盟通过了用于IVD的CE认证。CE认证表明该培养基符合欧盟关于IVD医疗器械的安全、环保和质量标准要求。它符合欧洲议会关于体外诊断医疗器械的98/79/EC指令和欧洲理事会1998年10月27日制定的指令，并在其适用的国家（地区）执行。

在欧盟以外的国家和地区，除非另有规定，MethoCult™ Express只用于研究，而不可用于治疗或诊断。

**图8. 使用MethoCult™ Express进行7天CFU检测，与使用MethoCult™ Optimum进行14天CFU检测所测得集落总数的相关性。** 使用HetaSep™去除CB样品中的红细胞，然后再接种于MethoCult™ Express或MethoCult™ Optimum培养基中进行CFU检测。

分别在第7天或第14天使用倒置显微镜手动计数（蓝色菱形，n=32），或使用STEMvision™自动计数（橙色圆圈，n=7）。第7天和第14天CFU检测的皮尔森积差相关系数为0.997，P < 0.0001。

METHOCULT™ 产品	产品号 #	规格	组分				应用
			甲基纤维素	胎牛血清	牛血清白蛋白	生长因子	
MethoCult™ Express	04437* 04447*	100 mL 24 x 3 mL	✓	✓	✓	细胞因子，包括促红细胞生成素（EPO）	只用7天即可对脐血中的CFU总数进行测定

\*在欧盟通过IVD的CE认证。

## SmartDish™

为造血集落提供计数更可靠的无弯月面培养皿



用于造血集落形成单位 (CFU) 检测的传统培养皿有一个缺点, 即培养孔边缘的培养基会形成弯月面。这一弯月面会导致在培养皿的边缘有更多培养基堆积, 而造成大部分集落形成于周边部位。此外, 弯月面引起的光学扭曲也会使培养皿边缘处的集落更加难以识别 (图9A)。这可能会发生集落漏检而导致CFU计数不准确。

SmartDish™ 6孔培养板的设计可以阻止弯月面的形成, 使培养基更均匀地分布, 并降低光学扭曲 (图9B), 最终使集落可以更均匀地分布于整个35 mm培养孔。SmartDish™ 培养皿是为配合与STEMvision™ 共同使用而设计的, 用于对CFU检测中的造血集落进行自动计数, 其检测结果不但准确且重复性好。

### SmartDish™ 的优点\*:

- 集落在整个培养皿上均匀分布
- 消除培养皿边缘处的阴影和光学扭曲
- 更易于对培养皿边缘的集落进行计数
- 提高集落计数的精确度

### SmartDish™ 无弯月面培养皿

产品:	SmartDish™ (6孔板)	
产品号 #:	27301 5个/包	
	27302 50个/包	

#### 建议:

- 通过CFU检测更轻松且准确地对造血集落进行计数
- 与STEMvision™ 共同使用实现自动化集落计数

\*专利申请中

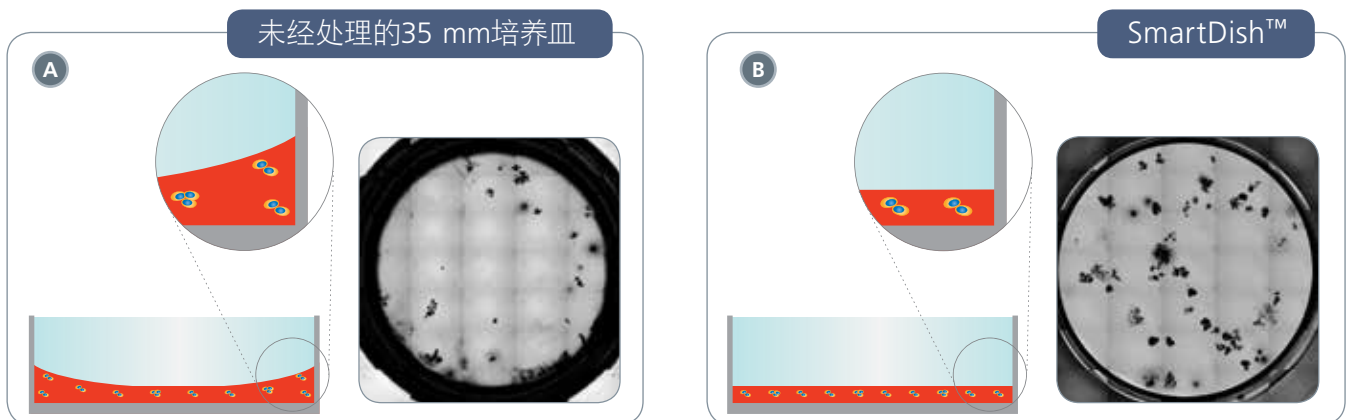


图9. 在标准培养板和SmartDish™ 6孔培养板中进行的CFU检测。

STEMvision™ 对以上两种培养板中35 mm孔成像后的图像。(A) 标准培养板中形成的弯月面导致更多的集落形成于培养基厚度较深的边缘部位。光学扭曲导致这些集落被阴影遮盖, 使其更难以计数。(B) SmartDish™ 6孔培养板因经过了消除弯月面的处理, 其边缘部位的集落更易计数。

# STEMvision™

## 产品信息

产品: STEMvision™仪器  
产品号 #: 22000/22000E

产品: STEMvision™人脐血  
7天CFU分析软件包  
产品号 #: 22001

产品: STEMvision™人脐血  
14天CFU检测软件包  
产品号 #: 22002

### 系统配置:

- STEMvision™仪器 (#22000)
- 电脑和显示器
- 图像采集、分析和查看软件 (产品号 #22001或 #22002供选)
- 一或两年保修期

### 系统配置:

- HetaSep™ (见第10页)
- MethoCult™ Optimum (见第11页)
- MethoCult™ Express (见第12页)
- SmartDish™无弯月面培养皿 (见第13页)

### 性能指标:

- 每次可检测一块6孔SmartDish™培养板
- 6孔SmartDish™中每孔的成像耗时约为30秒
- 对每孔图像的评估分析耗时约为3分钟,也可稍后进行

### 尺寸:

- 478 mm (长) x 335 mm (宽) x 347 mm (高)
- 18.82 in (长) x 13.19 in (宽) x 13.66 in (高)

### 重量:

- STEMvision™: 59 lbs, 或27 kg
- 电脑: 28 lbs, 或12 kg

### 电源要求:

- 120 V, 60 Hz, 1.5 A或240 V, 50 Hz, 1.5 A
- 保险丝 F2AL 2A / 250VAC

### 最佳操作环境:

- 15 - 30° C
- 相对湿度 20 - 85%
- 不可在培养箱中使用
- 无需置于生物安全柜中
- 仅限室内使用
- 不可在低温室内使用

### 保存条件:

- -30° C - 50° C
- 相对湿度10 - 90%

## 参考文献

1. Migliaccio AR, et al. Blood 96: 2717-2722, 2000
2. Iori AP, et al. Bone Marrow Transplantation 33: 1097-1105, 2004
3. Yoo KH, et al. Bone Marrow Transplantation 39: 515-521, 2007
4. Prasad VK, et al. Blood 112: 2979-2989, 2008
5. Page KM, et al. Biol Blood Marrow Transplant 17: 1362-1374, 2011



Scientists Helping Scientists™ | [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

STEMCELL Technologies China Co. Ltd.

中国上海市黄浦区南昌路45号城汇大厦17楼B单元，邮编200020

电话: 400 885 9050 • E-MAIL: [INFO.CN@STEMCELL.COM](mailto:INFO.CN@STEMCELL.COM)

欲了解全球联系方式，请访问公司网站。

STEMCELL Technologies Inc.的质量管理体系已经过ISO 13485医疗器械标准认证。产品仅供研究使用。

除非另行说明，不可用于人或动物的诊断或治疗。

文档号 #28004CN 版本 6.0.4 2016年4月

