



## 目录

#### 3 Your Ideas. Our Tools.

#### 4 细胞来源与分选

人原代造血细胞 细胞分选产品及平台 ErythroClear™ HetaSep™ 冷冻保存液

#### 15 扩增与分化

StemSpan™扩增培养基及添加物 重组细胞因子 小分子

### 20 分析

MyeloCult™
MethoCult™
STEMvision™
SmartDish™和STEMgrid™-6
MegaCult™
抗体和ELISA试剂盒
ALDH□r检测试剂盒

### 33 辅助产品

组织培养试剂和耗材

### 34 标准化工具

Proficiency Testing (熟练度测试) 和QC试剂盒培训课程 教学材料

### 36 合同服务 (Contract Assay Services)

### 38 参考文献

# Your Ideas. Our Tools.

## 为您提供造血干细胞和祖细胞研究各个步骤的相关产品

STEMCELL Technologies是血液学相关研究工具的世界领导者。我们在该领域的产品线包括:不同来源的细胞,用于细胞分离、扩增和分 化,以及对造血干细胞和祖细胞(HSPCs)进行分析等一系列全方位的产品。在您研究的整个过程使用STEMCELL的全线产品,将确保您的 HSPC研究的标准化。



## 可用于HSPC研究中各个步骤的STEMCELL产品

细胞来源及分选	扩增与分化	检测分析
人原代造血细胞	StemSpan™无血清培养基	抗体和ELISA试剂盒
细胞分选产品及平台	StemSpan™扩增添加物	MyeloCult™
∘ EasySep™	重组细胞因子	MethoCult™
• RoboSep™	小分子	STEMvision™
<ul> <li>SepMate<sup>™</sup></li> </ul>	303 3	MegaCult™
<ul> <li>RosetteSep™</li> </ul>		Megacan
<ul> <li>ErythroClear™</li> </ul>		ALDH <sup>br</sup> 检测试剂盒
• HetaSep™		Proficiency Testing Programs
冷冻保存液		合同服务

欲查看用于HSPC研究的完整产品列表,请访问www.stemcell.com/HSPCworkflow。

# 人原代造血细胞

### 一切均开始于使用正确的细胞

以正确的原代细胞作为开展实验的基础是实验迈向成功的第一步。STEMCELL Technologies提供一系列新鲜和冻存的人原代细胞,以满足您的下游应用\*。

STEMCELL冻存的造血细胞可从人脐带血、骨髓、外周血和动员的外周血中获得。如果用户需要新鲜、未经处理的组织,我们也提供全骨髓、全外周血和白细胞单采术样本。所有产品的纯度和细胞活率均经过验证,以确保在整个过程中多个实验的结果具有可重复性。

欲查看单个核细胞、已分选的细胞亚群、血浆和未经处理的组织的完整产品列表,请访问www.stemcell.com/primarycells。

### 供者的标准和筛选

所有人原代细胞产品均在具有知情同意书 (ICF) 及食品和药物管理局 (FDA) 或机构审查委员会 (IRB) 批准的方案进行采购,确保个人信息和供者匿名保护。捐赠在美国进行,并依据适用的联邦、州和地方法律、法规和指南。供者的一般健康状况和病毒状态,包括HIV-1、HIV-2、乙型肝炎和丙型肝炎\*\*均有经过预先筛查。

### 为何使用STEMCELL提供的原代细胞?

**更具生理相关性。**选择的细胞更能代表体内细胞的生理特性。

**获得稀有或难以分选的细胞类型。**轻松获得稀有的细胞群,包括造血干细胞和祖细胞。

**方便。**根据您的日程安排开始实验,不受组织样本的限制。

**灵活。**为您保留大量同一批次的冻存细胞,以便您在特定应用中进行预筛选。

**高效。**使用已分选的原代细胞可减少用于收集和培养原代细胞所耗费的时间。



图1. 新鲜的全骨髓

使用肝素作为抗凝剂收集全骨髓(产品号 #70502, 100mL/瓶)。

#### 产品保障

STEMCELL Technologies保证在严格遵循相应的操作流程时. 其原代细胞产品符合描述的产品规格(包括具活性细胞的数量和纯度)。 STEMCELL Technologies保证具活性的细胞数及回收率数值准确, 前提为必须严格按照我们对解冻复苏和计数的说明进行操作(可访问**www.stemcell.com**进行查询)。 若研究机构将产品用于自己单独使用的实验系统, 则STEMCELL Technologies对其生物功能或其他与细胞性能相关的属性不予保证。

<sup>\*</sup>一些新鲜或冻存产品仅可在部分地区销售。欲了解更多信息,请发邮件至info.cn@stemcell.com与我们联系。

<sup>\*\*</sup>白细胞单采术样本、全血和骨髓(LP, WB and BM)供者筛查:供者已经过HIV(182)、乙型肝炎、丙型肝炎的筛查。冻存LP、BM和WB:产品发货时随附供者筛查的阴性检测结果,该检测是在收集样本后的90天内完成。新鲜LP、BM和WB:如果供者在提供捐助后的90天内进行了筛查,产品将随附筛查的阴性检测结果。如果在90天内未进行筛查,则会在捐助时获取一份检测样本,产品则在样本的筛查检测出结果前发货。一旦出现筛查出阳性这一可能性极小的结果时,我们会第一时间联系客户(通常在发货后的2-4个工作日内)。脐带血(CB)供者筛查:仅对母体血液样本和捐赠的脐带血样本进行HIV(182)、乙型肝炎和丙型肝炎筛查。冻存CB:产品发货时随附供者筛查的阴性检测结果。

# 产品列表1

## 冻存的人外周血产品

说明	规格	产品号#
	15 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70025.1
DDMC 2	25 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70025.2
PBMCs <sup>2</sup>	50 x 106个细胞	70025.3
	100 x 106个细胞	70025
	0.2 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70040
CD34 <sup>+</sup> 细胞	0.5 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70040.1
	1 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70040.2
D T/M #5	20 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70024
Pan-T细胞	40 x 106个细胞	70024.1
CD4 <sup>+</sup> T细胞	15 x 106个细胞	70026
CD4⁺CD25⁺ T细胞	2 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70028
CD4+CD45RA+ T细胞	5 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70029
CD4 <sup>+</sup> CD45RO <sup>+</sup> T细胞	5 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70031
CD8+ T细胞	10 x 106个细胞	70027
CD8+CD45RA+ T细胞	5 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70030
D/III 9/2	10 x 106个细胞	70023
B细胞	20 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70023.1
CD19+CD27- Naïve B细胞	1 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70032
CD19⁺ B细胞	10 x 106个细胞	70033
单核细胞	10 x 106个细胞	70034
	10 x 106个细胞	70035.1
CD14⁺单核细胞	20 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70035.2
	40 x 106个细胞	70035
NK细胞	5 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70036
CD56⁺ NK细胞	5 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70037
巨噬细胞	1.5 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70042
BDCA4 <sup>+</sup> 细胞	0.5 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70038
未成熟的树突状细胞	1.5 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70041
浆细胞样树突状细胞	0.5 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70046

## 冻存的人脐带血产品

说明	规格	产品号#
	15 x 106个细胞	70007.1
单个核细胞 (MNCs)	50 x 106个细胞	70007.2
	150 x 106个细胞	70007
	0.2 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70008.1
CD34+细胞(来自多个供者)	0.5 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70008.3
CD34"细胞(木日多年"供有)	1 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70008
	5 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70008.6
	0.2 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70008.2
CD34 <sup>+</sup> 细胞(来自一个供者)	0.5 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70008.4
	1 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70008.5
CD36+细胞 <sup>3</sup>	1 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70009
	1 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70013
CD19⁺ B细胞	2.5 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70013.1
	5 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70013.2
Pan-T细胞	15 x 106个细胞	70014
CD4⁺ T细胞	15 x 106个细胞	70015
CD4+CD45RA+ T细胞	15 x 106个细胞	70017
CD8+ T细胞	5 x 106个细胞	70016
CD14 <sup>+</sup> 单核细胞	5 x 106个细胞	70018
CD56⁺ NK细胞	1 x 10 <sup>6</sup> 个细胞	70019

<sup>1.</sup> 新鲜的产品目前只在美国和加拿大(魁北克省除外)有售。中国区仅可提供冻存的人原代细胞。欲了解更多信息,请发邮件至info.cn@stemcell.com与技术支持部门联系。 2. 可根据要求提供高分辨率HLA分型和CMV状态。 3. 经过培养的细胞产品。

# 细胞分选产品及平台

### 快速、简单分离造血干细胞和祖细胞

我们结合多年来在造血干细胞研究方面积累的专业技能和功能强大的细胞分选系统,研发出一系列优化的造血干细胞和祖细胞(HSPC)分选产品。我们的创新型细胞分选平台能提供快速、简单而有效的方法,用以实现高纯度和高回收率的HSPCs分离。

# EasySep™

### 使用免疫磁珠法分离祖细胞

由于HSPCs在组织中的比例较低,所以对其进行分离并不容易。EasySepTM无柱免疫磁珠细胞分选技术是对HSPCs进行温和、高纯度分离的理想之选,适用于脐带血、全血和骨髓等各种来源的样本。

使用EasySep™, 可基于CD34 (人细胞)、c-KIT和SCA-1 (小鼠细胞)等谱系特异性标记的表达简单快捷地分离HSPCs。此过程可使用EasySep™手动完成, 也可使用RoboSep™全自动细胞分选仪自动完成。

## 为何使用EasySep™?

**快速而简单。**短至8分钟,即可通过一次简单的倾倒分离细胞。

**高纯度。**分离细胞的纯度高达99%,且具有高回收率。

**无柱系统。**无需分离柱或清洗细胞,即可获得高活率的功能性细胞。

**灵活。**从几乎所有样本来源中分离细胞,包括全血和白细胞单采术样本。



第 将试管放置在 EasySep™磁极中并 孵育\*



4

收集目的细胞

负选:

目的细胞未经标记,从倒出的上清液中收集。

正选:

目的细胞保留在磁极中。 EasySep<sup>TM</sup>磁珠不会干扰细胞的 下游应用。

\*每款试剂盒所需的时间取决于各自的分选流程。

图2. EasySep™分选人细胞的操作流程

# RoboSep™

RoboSep<sup>TM</sup>是一款真正实现"walk-away"(免操作)的全自动化免疫磁珠细胞分选仪。加入EasySep<sup>TM</sup>试剂后,RoboSep<sup>TM</sup>-S和RoboSep<sup>TM</sup>-16可分别对多达4个和16个样本进行细胞标记和磁珠分选,样本处理时间被缩减至最短。该无柱分选系统使用一次性枪头,可避免交叉污染,并能确保分选出的目的细胞可立即用于下游应用。



RoboSep™-S



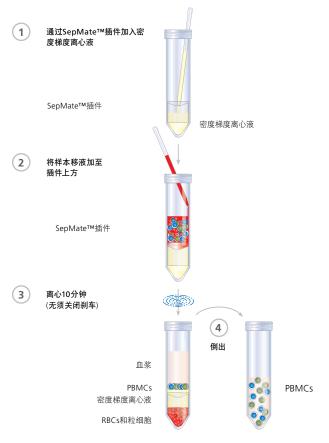
RoboSep™-16

# SepMate™

### 轻松分选PBMC

SepMate<sup>TM</sup>是一种专门用于在15分钟内简单、快速地分离外周血单个核细胞(PBMC)的离心管。该离心管内置一个独特的插件,可防止密度梯度离心液(如: Lymphoprep<sup>TM</sup>)和血液样本之间发生混合。将密度梯度离心液通过插件中央的小孔移液加入离心管中,而样本可被迅速移液或倾倒于插件上方。因此无需直接将样本小心翼翼地加至密度梯度离心液之上,也省去了该步骤所耗费的时间和大量的劳动力。离心步骤只需要10分钟,且无须关闭离心机刹车,进一步节省了用于分选的总时间。离心后可将血浆和PBMCs轻松倒入新的试管中。

SepMate™可单独使用,仅需15分钟即可分选PBMCs; 也可与RosetteSep™配合使用,以短至25分钟的时间从全血中直接富集特定的细胞亚型(包括CD34\*细胞)。SepMate™有15 mL和50 mL两种规格,可用于分选体积为0.5 - 17 mL的样本。



RBCs: 红细胞

图3. SepMate™流程

### 为何使用SepMate™?

**简便。**无需缓慢而费力地将样本加于密度梯度离心液面上。

快速。仅需离心10分钟(开启离心机刹车),即可将 PBMCs简单倾倒至新的试管中。

**一致性。**消除误差,最大限度地减小不同密度梯度离心分选实验间的差异。

**多功能。**与RosetteSep™配合使用时,仅需25分钟即可从全血中分离高纯度的细胞亚群。



#### 产品

产品名称		处理的血液体积	规格
SepMate™-15 (IVD¹)	85415	0.5 - 5 mL	
SepMate <sup>™</sup> -15 (RUO²)	86415	0.5 - 5 IIIL	100支管
SepMate <sup>™</sup> -50 (IVD¹)	85450	4 - 17 mL	100文目
SepMate <sup>™</sup> -50 (RUO²)	86450	4 - 17 IIIL	
产品名称		密度	规格
	07801		250 mL
Lymphoprep™	07851	1.077 g/mL <sup>3</sup>	500 mL
7 1 1 1 1 1	07811	J. 1.	4 x 250 mL
	07861		6 x 500 mL

- 1. SepMate™ 85415/85450仅在加拿大、美国、欧洲和澳大利亚被注册为体外诊断 (IVD) 设备,以用于通过密度梯度离心从人全血、脐带血和骨髓中分离出单个核细胞。该产品也在中国出售,被中国食品药品监督管理局 (CFDA) 认定为非医疗器械,因此可被用于一般实验室设备
- 2. SepMate™ 86415/86450在未被注册为IVD设备的区域仅供研究使用 (RUO = Research Use Only)。
- 3. Lymphoprep™与Ficoll-Paque®具有相同的密度,可代替Ficoll-Paque®而无需改变现有的实验流程。Lymphoprep™仅供研究使用(RUO)。

# RosetteSep™

## 独特的免疫密度梯度离心分选(非磁珠分选)

RosetteSep™是一种简单、快速的免疫密度梯度分选方法, 用于直 接从全血中分离未经标记的细胞。通过将非目的细胞与样本中存在 的红细胞相交联,形成免疫玫瑰花结状结构(图4)。这些免疫玫瑰 花结状结构在密度梯度离心过程中会沉淀 (如:使用Ficoll-Paque® 或LymphoprepTM), 使未经标记且高纯度的目的细胞留在血浆和密 度梯度离心液之间的界面。例如, RosetteSep™可用于通过去除血 液或骨髓中的谱系定向细胞来富集CD34+细胞。

结合使用RosetteSep™和SepMate™, 轻松分离细胞 亚群

新型SepMate™离心管使RosetteSep™的操作变得更加迅速而简 单。SepMate™插件在样本和密度梯度离心液之间形成一道物理屏 障,样本可迅速由移液管移入或倾倒入试管。离心时间减少到仅需 10分钟,并且高纯度的目的细胞可直接被倾倒入新的试管中。

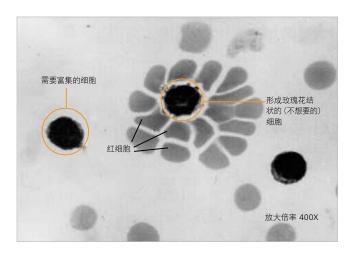


图4. 加入RosetteSep™试剂后,进行密度梯度离心之前的血液样本。

### 为何使用RosetteSep™?

快速简单。通过标准密度梯度离心步骤直接从全血分离出未经标记的细胞亚群。

**多功能。**提供一系列RosetteSep™试剂以便您分离出您需要的细胞亚群。

**高纯度。**获得的高纯度、未经标记的活细胞,可立即用于下游分析。

**灵活。**RosetteSep™和SepMate™结合使用,最小化不同分选之间的差异。

#### RosetteSep™和SepMate™的操作流程



将RosetteSep™试剂加入血液样本,并在室温下孵



样本用移液管移入或直接倾倒于插件之上。



在SepMate™离心管中加入密度梯度离心液后,迅速将 经过离心后(不用关闭刹车),将高纯度的目的细胞倒 入新试管中。

25分钟

## 通过正选分离人CD34+造血祖细胞

### 应用

- 从不同组织中分离人CD34+细胞。
- 获得用于下游实验的高纯度的CD34+细胞群。

来源	产品名称	纯度1	规格	产品号#
动员后的	EasySep™人CD34正选试剂盒	84 - 99%	用于标记多达5 x 10 <sup>9</sup> 个细胞	18056²
PBMCs、CBMCs、BMMCs	RoboSep™人CD34正选试剂盒	84 - 99%	用于标记多处3 X 10 行细胞	18056RF <sup>2</sup>
全血、白膜层	EasySep™人全血CD34正选试剂盒	26 - 41%	用于标记75 mL全血(37 mL	18086
III. HIKIA	RoboSep™人全血CD34正选试剂盒	20 4170	白膜层)	18086RF
全血	人全血CD34 <sup>+</sup> 细胞完全试剂盒	79 - 95%	用于标记120 mL全血	15086
<b>土皿</b>	RoboSep™人全血CD34⁺细胞完全试剂盒	79 - 95%	用于标论120 ML至皿	15086RF
	EasySep™人脐带血CD34正选试剂盒Ⅱ	91 ± 9%		17896 <sup>3,4</sup>
新鲜脐带血	RoboSep™人脐带血CD34正选试剂盒Ⅱ	91±970	田工長71000   欧#加	17896RF <sup>3,4</sup>
利 計加( 中 加	EasySep™人脐带血CD34正选试剂盒Ⅲ	87 ± 12%	用于标记1000 mL脐带血	17897 <sup>4</sup>
	RoboSep™人脐带血CD34正选试剂盒Ⅲ	87 ± 12%		17897RF <sup>4</sup>
hESC和hiPSC培养物	EasySep™ hESC衍生CD34正选试剂盒	84 - 99%	用于标记多达5 x 10°个细胞	18167
PBMCs、脐带血、骨髓	StansSanIM LCD24工件技术组合物	07 . 20/	用于标记多达2 x 10°个细胞	14756
FDIVIOS、脐带皿、脊髓	│ StemSep™人CD34正选抗体混合物 │	97 ± 2%	用于标记多达1 x 10 <sup>10</sup> 个细胞	14766

PBMC - 外周血单个核细胞; CBMC - 脐带血单个核细胞; BMMC - 骨髓单个核细胞; hESC - 人胚胎干细胞; hiPSC - 人诱导多能干细胞 在使用各种人CD34正选试剂盒分选后进行标记时,请使用抗人CD34抗体,克隆581(产品号 #60013)。

- 1. 纯度表示为平均值 ± 标准误差。18056、18086和15086的纯度值为具活性CD45\*细胞的百分比。
- 2. 这些试剂盒适用于新鲜或预先冻存的PBMC、BMMC,以及预先冻存的脐带血单个核细胞。如果从新鲜脐带血中分选CD34′细胞,请使用18096、18096RF、17896、17896RF、17897或17897RF。
- 3. 这些试剂盒是新版的18096和18096RF, 其性能已经过改进。
- 4. 关于如何选择用于脐带血样本的CD34\*分选试剂盒的详细信息, 请查阅我们的技术公告(文档号 #27003)。

欲了解细胞分选工具和试剂的全部产品列表,请访问www.stemcell.com/HSPCworkflow下的"细胞来源及分选"页面。

## 通过负选分离人造血祖细胞

### 应用

- 通过使用针对特定细胞表面抗原的单克隆抗体去除非目的成熟细胞类型(即: 谱系去除), 以富集人造血祖细胞(即: CD34\*细胞)
- 获取未经标记的、祖细胞富集的细胞群[即: 谱系阴性(Lin)细胞]

来源	产品名称	纯度 <sup>1</sup>	规格	产品号#
动员后的	EasySep™人祖细胞富集试剂盒	   42 ± 5倍的CD34 <sup>+</sup> 细胞富	 	19056
PBMCs、BMMCs	RoboSep™人祖细胞富集试剂盒	集(骨髓)	用于你比多处   X   10 1   细胞	19056RF
PBMCs、CBMCs	去除血小板的EasySep™人祖细胞富集试剂盒	50 - 75%	田工坛江夕计1、109人加购	19356²
PBINIOS. UBINIOS	去除血小板的RoboSep™人祖细胞富集试剂盒	50 - 75%	用于标记多达1 x 10 <sup>9</sup> 个细胞 	19356RF <sup>2</sup>
骨髓	Posetto ConIMI	25 ± 10倍的CD34 <sup>+</sup>	用于标记40 mL骨髓	15027
月 腿	RosetteSep™人骨髓祖细胞预富集抗体混合物	细胞富集	用于标记200 mL骨髓	15067
		29 ± 9%	用于标记40 mL脐带血	15026
脐带血	RosetteSep™人造血祖细胞富集抗体混合物		用于标记200 mL脐带血	15066
	RosetteSep™人脐带血祖细胞富集完全 试剂盒	29 ± 9%	用于处理500 mL脐带血	15276
PBMCs		74 - 88%	用于标记多达1 x 10°个细胞	14056
BMMCs CBMCs	StemSep™人造血祖细胞富集试剂盒	30 - 50% 45 - 61%	用于标记多达5 x 10 <sup>9</sup> 个细胞	14066
脐带血	Decetted colline 改类如长尔克纳	F . 10/(CD2.4+/Ⅲ段)	用于标记40 mL脐带血	15126³
עון דען וווו	RosetteSep™人脐带血减积抗体混合物	5 ± 1% (CD34 <sup>+</sup> 细胞)	用于标记200 mL脐带血	15166³

PBMC - 外周血单个核细胞; BMMC - 骨髓单个核细胞; CBMC - 脐带血单个核细胞

标记抗体请使用抗人CD34抗体 (产品号 #60013)、抗人CD45抗体 (产品号 #60018) 和抗葡聚糖抗体 (产品号 #60026)。

- 1. CD34\*细胞纯度表示为范围或平均值 ± 标准误差。19056的CD34\*细胞纯度值为相对于起始样本中具活性的CD45\*细胞。
- 2. 本产品适用于含有大量血小板的样本。
- 3. 本产品推荐用于在冻存前对脐带血的谱系阳性细胞进行减积。

欲了解细胞分选工具和试剂的全部产品列表,请访问www.stemcell.com/HSPCworkflow下的"细胞来源及分选"页面。

## 通过正选分离小鼠造血祖细胞

### 应用

- 通过正选分离小鼠造血祖细胞
- 通过针对特定细胞表面抗原(与祖细胞表型相关, 如: SCA1\*、c-KIT\*、AA4.1\*)的单克隆抗体分选小鼠造血祖细胞

细胞类型	来源	产品名称	纯度	规格	可兼容的标记抗体	产品号#
SCA1 <sup>+</sup> 细胞 骨髓		EasySep™小鼠SCA1正选 试剂盒	97 979/	用于标记多达2 x	抗小鼠SCA1抗体	18756
SCAT 细胞	A1 <sup>+</sup> 细胞 骨髓 RoboSep™小鼠SCA1正选 37 - 97% 10 <sup>9</sup> 个细胞 试剂盒	(产品号 #60032)	18756RF			
CD117+ (C-KIT) 骨髓	EasySep™小鼠CD117 (c-KIT)正选试剂盒	00 050/	88 - 95%	用于标记多达2 x	抗小鼠CD117 (c-KIT)抗体 (产品号 #60025)	18757
细胞		RoboSep™小鼠CD117 (c-KIT)正选试剂盒	88 - 95%	10°个细胞	抗小鼠CD117 (c-KIT)抗体 (产品号 #60034)	18757RF

## 通过负选分离小鼠造血祖细胞

#### 应用

- 通过使用针对特定细胞表面抗原的单克隆抗体去除非目的成熟细胞类型(即: 谱系去除), 以富集小鼠造血祖细胞(包括 Lin-SCA1+c-KIT+或LSK细胞)
- 获取未经标记的、祖细胞富集的细胞群[即: 谱系阴性(Lin-)细胞]

细胞类型	来源	产品名称	纯度	规格	可兼容的标记抗体	产品号#
		EasySep™小鼠造血祖细 胞分选试剂盒	60 - 84%	用于标记多达	抗小鼠CD11b抗体 (产品号 #60001) 抗小鼠CD19抗体 (产品号 #60006)	19856
	RoboSep™小鼠造血祖细 胞分选试剂盒	60 - 84%	1 x 109个细胞	抗小鼠CD3抗体 (产品号 #60015) 抗小鼠CD45R抗体 (产品号 #60019)	19856RF	
	StemSep™小鼠造血祖细 胞富集试剂盒 用于标记多达 1 x 10°个细胞		抗小鼠Gr-1抗体 (产品号 #60028) 抗小鼠TER119抗体 (产品号 #60033)	13056		

欲了解用于小鼠细胞的分选工具和试剂的全部产品列表,请访问www.stemcell.com/HSPCworkflow下的"细胞来源及分选"页面(通过关 键词"小鼠"筛选)。

# **ErythroClear**™

## 从小体积脐带血样本中去除红细胞



ErythroClear™红细胞去除试剂和磁极

产品名称		规格
ErythroClear™红细胞去除	01739	1个磁极和 2 x 2 mL试剂*
试剂盒 	01738	2 x 2 mL试剂*

<sup>\*</sup>每个试剂盒适用于处理2 mL脐带血, 制备成20 x 100  $\mu$ L的样本。

脐带血样本中存在的大量红细胞 (RBCs) 会降低造血干细胞和祖细胞 (HSPCs) 检测的准确度, 如; 集落形成单元 (CFU) 检测, 和用于测定表达CD34或乙醛脱氢酶 (ALDH) 活性的流式细胞术。这些方法可评估脐带血单位的质量, 通常被脐血库用于在储存脐带血之前为质量控制而进行的冻存流程的一部分, 或以其辅助选择合适的脐带血单位用于移植。

用于去除RBCs的方法通常包括长期孵育或离心的步骤,它们未必适合于冻存的样本,而对于小体积样本(如:附着于脐血袋上的部分)也十分难以操作。

作为一整套用于CFU标准化检测工具中的一部分, STEMCELL Technologies开发了ErythroClear™红细胞去除试剂盒。该试剂 盒能一次性从多达16个小体积(50-100μL)脐带血样本中去除 RBCs。ErythroClear™试剂含有与血型糖蛋白A/B(GlyAB<sup>+</sup>)表达细胞相结合的免疫磁珠, 在ErythroClear™磁极孵育后, 这些被标记的细胞会被选择性地去除。

### 为何使用ErythroClear™?

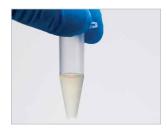
快速。仅需很短的时间即可一次性处理多达16个样本。

灵活。适用于新鲜或冷冻脐带血。

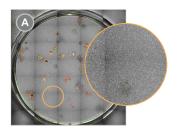
适合小体积样本。优化用于小体积样本(50 - 100 µL)。

**高效。**去除99%的GlyAB\* RBCs,而不改变祖细胞的比例。





使用ErythroClear™试剂去除RBCs的脐带血样本(右)和未去除RBCs的脐带血样本(左)



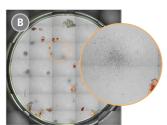


图5. CFU检测中(A)不去除和(B)去除红细胞的脐带血来源的集落图像

欲了解可用于脐带血库的完整产品列表,请访问www.stemcell.com/CBworkflow。

# HetaSep™



HetaSep™

产品名称	产品号 #	规格
HetaSep™	07806	20 mL
	07906	100 mL

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 (图6)。因此必须先将红细胞从新鲜脐带血、骨髓和动员后的外周血样本(全血或经处理过的血液)中去除后再进行CFU检测。

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 $^{TM}$ 不会影响祖细胞的数目,在去除了RBC的样本中97%的CFU可被回收(图7)。使用HetaSep $^{TM}$ 去除RBC既快速且只需使用50  $\mu$ L的样本,因此易于被纳入实验室工作流程中。

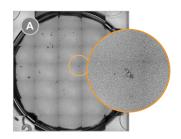
欲了解更多信息,请查看HetaSep™实验技术公告(文档号 #29541): www.stemcell.com/hetasep\_protocol。

### 为何使用HetaSep™?

准确。通过去除RBC背景提高集落计数的准确性.

一致。集落回收率超过97%。

**快速。**易于操作,无需离心。仅需50 μL样本。



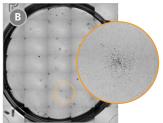


图6. 预先使用HetaSep™去除和不去除RBCs的新鲜脐带血样本在接种于MethoCult™ Express培养基中进行7天CFU检测后分别得到的STEMvision™图像

(A) 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。 (B) CFU检测较清晰的背景(少量的红细胞)。

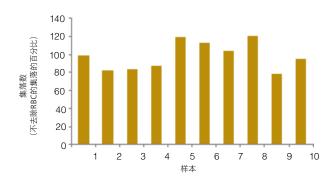


图7. 使用HetaSep™去除RBC后,集落形成单位的平均回收率达到

将脐带血样本 (n = 10) 分成两个部分,将其中一部分不去除RBC的样本接种用于CFU检测,另一部分在接种前使用HetaSep™去除了RBCs。将每个样本类型都重复接种。通过手动计数,得出来自同一供体的样本,各自在每个去除RBC的组分中的集落回收率百分比与不去除红细胞的CFU检测结果的比值。

# 冷冻保存液

## 经cGMP级别标准生产,以USP级的成分配制的冷冻液和保存液

对造血细胞的冷冻保存以及后续的储存是造血干细胞和祖细胞研究的重要步骤。STEMCELLTechnologies所提供的以cGMP级别标准生产的、无蛋白、无血清的冷冻保存产品系列可使长期储存的细胞保持高存活率,且可使其回收率达到最高。HypoThermosol®产品则可将细胞保存在2-8°C下进行短期储存和运输。



## CryoStor®冷冻保存液

- 细胞类型:脐带血及脐带组织、外周血。
- 用于减轻冷冻和解冻复苏期间由温度引起的分子应激反应。
- 分别以2%、5%,或10% USP级的二甲基亚砜 (DMSO) 预先 配制。
- 已注册美国FDA药物主文件(DMF)



## BloodStor®冷冻保存液

- 细胞类型: 脐带血及脐带组织、外周血和骨髓。
- BloodStor® 55-5以55%(质量/体积)的DMSO(USP级)、5%(质量/体积)的葡聚糖-40(USP级)和注射液级别的水(WFI)预先配制。
- BloodStor® 100含有100% (重量/体积)的DMSO (USP级)。



## HypoThermosol® FRS保存液

- 细胞类型:包括造血干细胞和祖细胞的所有细胞和组织。
- 用于短期储存和/或在2-8℃下运输(而非低温冻存)。
- 已注册美国FDA药物主文件(DMF)

#### 产品信息

产品	产品号 #	规格
	07930	100 mL
	07955	100 mL袋装
	07940	1000 mL袋装
CryoStor® CS10	07931	5 x 16 mL 小管包装
	07959	5 x 10 mL 小管包装
	07952	6 x 10 mL 小管包装
	07933	100 mL
CryoStor® CS5	07953	100 mL袋装
	07949	5 x 10 mL 小管包装
CryoStor® CS2	07932	100 mL
	07935	100 mL
	07936	500 mL
HypoThermosol® FRS	07945	500 mL袋装
	07934	16 x 10 mL 小管包装
	07950	1000 mL袋装
BloodStor® 55-5	07937	16 x 7.2 mL 小管包装
	07951	50 mL
BloodStor® 100	07939	100 mL
	07938	5 x 100 mL

# StemSpan™扩增培养基及添加物

## 用于扩增和分化造血干细胞和祖细胞

StemSpanTM扩增培养基包括无血清、无异种成分且无动物源成分的配方。StemSpanTM培养基不含任何细胞因子,使研究人员可灵活制备能够满足其实验特定需求的培养基。StemSpanTM扩增添加物是将重组人细胞因子和其他添加物经过预混合的混合物,当加入StemSpanTM培养基时,用于选择性地扩增CD34+造血干细胞与祖细胞(HSPCs),和/或刺激其分化为特定细胞系的成熟细胞。

#### 应用

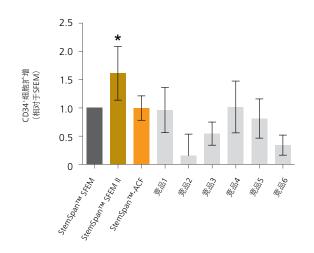
- 体外扩增HSPCs<sup>1,2</sup>
- 鉴定新的HSPCs造血调节因子3-7
- 在体外生成大量成熟血细胞3.8-9
- 生成靶细胞以进行重编程, 用于制备诱导多能干细胞10
- 转基因至HSPCs<sup>11,12</sup>

#### 无血清扩增培养基

培养基	产品名称	产品号 # (规格)	推荐用于	组分	
StemSpan™ SFEM		09600 (100 mL) 09650 (500 mL)	培养人HSPCs 培养小鼠、大鼠和非人灵长类的HSPCs	IMDM中加入了经预测试的	
无血清	StemSpan™ SFEM II	09605 (100 mL) 09655 (500 mL)	扩增人HSPCs 通过对人HSPCs的扩增和谱系特异性分化生成成熟 血细胞	BSA、胰岛素、转铁蛋白和添加物	
无动物源成分	StemSpan™-ACF	09855 (500 mL)	在不含人或动物源组分中培养人HSPCs	仅含重组和合成组分	
无异种成分	StemSpan™ H3000	09850 (500 mL)	在不含动物源的组分中培养人HSPCs*	IMDM中加入了人源或重组人 蛋白	

BSA: 牛血清白蛋白, IMDM:Iscove's Modified Dulbecco's Medium。

<sup>\*</sup>包含预测试的人源和重组人蛋白。



# 图8. 相比于其它同时测试的培养基,含CD34\*扩增添加物的StemSpan™ SFEM II无血清扩增培养基可更好地支持人CD34\*细胞的扩增

在StemSpan™ SFEM(深灰色柱形图)、SFEM II(金色柱形图)和ACF(橙色柱形图),以及来自其它供应商的另外6种培养基(浅灰色柱形图;竞品1 - 6(顺序随机)中将纯化的CD34\*CB细胞培养7天之后,6种竞品培养基包括: X-VIVO™15(Lonza)、HP01(Macopharma)、StemPro®-34(LifeTechnologies)、CellGro®SCGM(Cellgenix)、Stemline II™(Sigma)和HPGM™(Lonza),然后将各培养基中CD34\*细胞的扩增倍数与StemSpan™ SFEM培养基中获得的扩增倍数进行归一化。所有培养基中均添加StemSpan™ CD34\*扩增添加物。竖线表示95%的置信区间。在StemSpan™ SFEM II中生成的细胞数量显著高于在其它培养基中生成的细胞数量(\*p < 0.001;成对t检验,n = 6)。

### CD34<sup>+</sup>细胞扩增添加物

产品名称	产品号 # (规格)	推荐用于	组分
StemSpan™ CC100	02690 (1 mL, 100X)	含早期和晚期作用的细胞因子 刺激生成大量人造血细胞,包括CD34 <sup>+</sup> 祖细胞	rhFlt3L, rhSCF, rhIL-3, rhIL-6
StemSpan™ CC110	02697 (1 mL, 100X)	含早期作用的细胞因子 与CC100对CD34 <sup>+</sup> 细胞扩增的刺激类似, 但具有更 高的纯度	rhFlt3L, rhSCF, rhTPO
StemSpan™ CD34 <sup>+</sup> 扩增添加物	02691 (10 mL, 10X)	推荐用于选择性扩增人CD34 <sup>+</sup> HSPCs 比CC100和CC110对CD34 <sup>+</sup> 细胞的扩增能力更好	rhFlt3L, rhSCF, rhIL-6, rhTPO 其他添加物

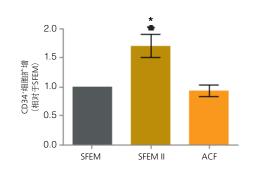
rh - 重组人细胞因。欲了解HSPCs扩增和分化的完整产品列表,请访问www.stemcell.com/HSPCworkflow

### 扩增和谱系特异性分化添加物及试剂盒

细胞类型	产品名称	产品号 # (规格)	推荐用于	组分
红系祖细胞	StemSpan™红系细胞扩 增添加物	02692 (1 mL, 100X)	通过对人HPCs的扩增和谱系特异性分 化刺激生成人红系细胞	rhSCF, rhIL-3, rhEPO
巨核细胞	StemSpan™巨核细胞扩 增添加物	02696 (1 mL, 100X)	通过对人HPCs的扩增和谱系特异性分 化刺激生成人巨核细胞	rhSCF, rhTPO, rhIL-6, rhIL-9
粒细胞	StemSpan™髓系细胞扩增添加物	02693 (1 mL, 100X)	通过对人HPCs的扩增和谱系特异性分 化刺激生成人粒细胞	rhSCF, rhTPO, rhG-CSF, rhGM-CSF
单核细胞	StemSpan™髓系细胞扩 增添加物Ⅱ	02694 (1 mL, 100X)	通过对人HPCs的扩增和谱系特异性分 化刺激生成人单核细胞	rhFlt3L, rhSCF, rhTPO, rhM-CSF, rhGM-CSF及添加物
T细胞	StemSpan™ T细胞生成 试剂盒	09940 (试剂盒包装, 多规格)	在无基质条件下,通过对人HSPCs的 扩增和谱系特异性分化刺激生成人 T细胞	SFEM II 淋巴祖细胞扩增添加物(10X) 淋巴细胞分化包被材料(100X) T细胞祖细胞成熟添加物(10X)
髓性白血病 细胞	StemSpanTM白血病细胞 培养试剂盒	09720 (试剂盒包装, 多规格)	刺激生成人髓性白血病细胞, 可扩增、 培养恶性细胞并将其用于药物筛选。	SFEM II CD34 <sup>+</sup> 扩增添加物 UM729, UM1171
NK细胞	StemSpan™ NK细胞 生成试剂盒	09960	在无基质条件下, 通过扩增和分化人CD34+ HSPCs刺激生成人NK细胞	SFEM II 淋巴祖细胞扩增添加物(10X) 淋巴细胞分化包被材料(100X) NK细胞分化添加物 (100X)

rh - 重组人细胞因。欲了解HSPCs扩增和分化的完整产品列表,请访问www.stemcell.com/HSPCworkflow

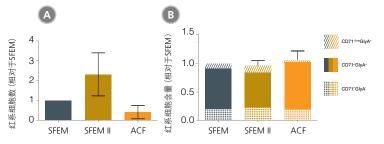
# 对培养的人CD34<sup>+</sup>细胞进行扩增

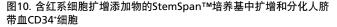


# 图9. 含CD34\*扩增添加物的StemSpan™培养基中扩增人脐带血CD34\*细胞

将纯化的人CD34\* CB细胞以10,000个/mL的浓度悬浮培养于含CD34\* 扩增添加物(产品号 #02691)的StemSpanTM SFEM(灰色柱形图)、SFEM II(金色柱形图)和ACF(橙色柱形图)中。7天后,对细胞进行计数并用流式细胞仪检测CD34的表达。图中所示为每个输入CD34+细胞所生成的CD34\*细胞的扩增倍数(n=6)。竖线表示95%的置信区间。在StemSpanTM SFEM II中生成的细胞数量显著高于在SFEM中生成的细胞数量(\*p < 0.001; 成对t检验,n=6)。

### 对培养的人祖细胞进行分化





在含红系细胞扩增添加物的StemSpan™ SFEM (灰色柱形图)、SFEM II (金色柱形图) 或ACF (橙色柱形图) 培养基中将纯化的脐带血CD34\*细胞 (n = 6) 培养14天,然后将各培养基中红系细胞的平均数 (A) 和比例 (B) 与StemSpan™ SFEM培养基中获得的结果进行归一化。竖线表示95%的置信区间。在SFEM II中生成的红系细胞数量显著高于在ACF中的数量 (p< 0.01)。6个脐带血样本中有5个在SFEM II中生成的红系细胞数量也显著高于在SFEM中的数量 (p< 0.05)。

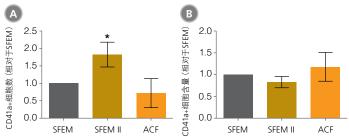
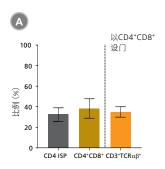
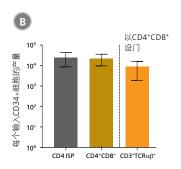
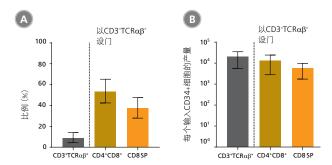


图11. 在含巨核细胞扩增添加物的StemSpan™培养基中扩增和分化的人脐带血CD34\*细胞

在含巨核细胞扩增添加物的StemSpanTMSFEM(灰色柱形图)、SFEMII(金色柱形图)和ACF(橙色柱形图)培养基中将纯化的脐带血CD34\*细胞(n = 6)培养14天,然后将在各培养基中巨核细胞的平均数(A)和CD41a\*巨核细胞的比例(B)与StemSpanTMSFEM培养基中获得的结果进行归一化。竖线表示95%的置信区间。在SFEMII中生成的CD41a\*细胞数量显著高于在SFEM和ACF中生成的细胞数量(\*p < 0.01;成对t检验, n = 6)。







# 图12. 培养42天后CD4未成熟单阳性细胞和CD4\*CD8\*双阳性细胞的比例和产量

CD34<sup>\*</sup>脐带血细胞在StemSpan™ T细胞生成试剂盒 (产品号 #09940) 中培养42天。图中所示为CD4未成熟单阳性细胞、CD4<sup>\*</sup>CD8<sup>\*</sup>双阳性细胞和表达 CD3<sup>\*</sup>TCRαβ<sup>\*</sup>的双阳性细胞 (CD4<sup>\*</sup>CD8<sup>\*</sup>CD3<sup>\*</sup>TCRαβ<sup>\*</sup>) 的平均 (A) 比例和 (B) 产量。竖线表示95%的置信区间 (n=31)。大体上,CD4<sup>\*</sup>CD8<sup>\*</sup>双阳性细胞占总活细胞数量的38%,其中35%共表达CD3和TCRαβ。每个输入的CD34<sup>\*</sup>细胞的双阳性细胞总数约为23,000。

#### 图13.培养49天后CD8单阳性T细胞比例和产量

在含T细胞祖细胞成熟化添加物 (产品号 #09930)、IL-15 (产品号 #78031) 和 ImmunoCult™ CD3/CD28/CD2 T细胞激活剂 (产品号 #10970) 的StemSpan™ SFEM II培养基中继续培养CD4\*CD8\*双阳性细胞7天, 使其进一步成熟为CD8 单阳性T细胞。图中所示为表达CD3\*TCRαβ\*的细胞及其亚群的平均 (A) 比例和 (B) 产量。竖线表示95%的置信区间 (n-12)。大体上,CD3\*TCRαβ\*细胞中54%为CD4\*CD8\*双阳性细胞,38%为CD8单阳性细胞(CD4\*CD8\*)。

#### 表1. 在StemSpan™ SFEM II培养基(含髓系细胞扩增添加物或髓系细胞扩增添加物II)中培养人CD34\*脐带血细胞以生成髓系细胞

产品	每个输入的CD34+	髓系细胞			
) нн	细胞产生的TNCs	% CD13+	% CD14⁺	% CD15⁺	
StemSpan™髓系细胞扩增添加物(100X)(产品号 #02693)	5847 (2691 - 9003)	92 (89 - 95)	5 (3 - 8)	47 (39 - 55)	
StemSpan™髓系细胞扩增添加物II(100X)(产品号 #02694)	2099 (933 - 3264)	94 (90 - 97)	74 (68 - 80)	11 (7 - 15)	

上表所示为在含髓系细胞扩增添加物 (n=14) 或髓系细胞扩增添加物II (n=16) 的StemSpan™ SFEM II培养基中培养14天后, 每个输入的人CD34'脐带血细胞产生的总的有核细胞数量 (TNCs) 和髓系标记CD13、CD14和CD15为阳性的细胞比例。

<sup>\*</sup>平均值(95%的置信区间;通常95%的结果落在该范围内)。

# 重组细胞因子

## 重组人细胞因子

细胞因子	产品号#	规格
bFGF	78003	50 μg
BMP-2	78004	50 μg
BMP-4	02524	10 μg
EGF	78006	500 μg
EPO	78007	500 μg
FGF-4	78103	5 μg
FGF-7 (KGF)	78046	10 μg
FGF-8B	78008	10 μg
FGF-10 (KGF-2)	78037	10 μg
FGF-18	78041	10 μg
Flt3/Flk-2配体	78009	100 μg
G-CSF	78012	100 μg
GM-CSF	78015	100 µg
IFN-γ	78020	100 μg
IGF-I	78022	500 μg
IGF-II	78023	50 μg
IL-1ß	78034	100 μg
IL-2	78036	50 μg
IL-3	78040	100 μg
IL-4	78045	100 μg
IL-5	78048	100 μg
IL-6	78050	100 μg
IL-6Rα	78083	10 μg
IL-7	78053	100 µg
IL-10	78024	50 μg
IL-11	78025	100 µg
IL-12	78027	25 μg
IL-15	78031	100 µg
IL-21	78082	10 μg
M-CSF	78057	100 μg
MIP-1α (CCL3)	78088	10 μg
MIP-1β (CCL4)	78090	5 μg
抑瘤素M	78094	10 µg
PDGF-AB	78096	10 μg
PDGF-BB	78097	10 µg
SCF	78062	100 μg
TGF-ß1	78067	5 µg
TNF-α	78068	50 μg
TPO	78070	100 µg
VEGF-165	78073	50 μg

## 重组小鼠细胞因子

细胞因子	产品号 #	规格
EGF	78016	10 µg
Flt3/Flk-2配体	78011	100 µg
G-CSF	78014	100 µg
GM-CSF	78017	100 µg
IFN-γ	78021	100 µg
IL-1ß	78035	50 μg
IL-2	78081	20 µg
IL-3	78042	100 µg
IL-4	78047	100 µg
IL-5	78049	100 µg
IL-6	78052	100 µg
IL-7	78054	50 μg
IL-10	78079	10 µg
IL-11	78026	100 µg
IL-12	78028	100 µg
IL-13	78030	100 µg
IL-15	78080	10 µg
M-CSF	78059	100 µg
MIP-1α (CCL3)	78089	10 µg
MIP-1β (CCL4)	78091	10 µg
SCF	78064	100 µg
SDF-1α (CXCL12)	78121	5 μg
TNF-α	78069	100 µg
TPO	78072	50 μg
VEGF-164	78102	20 µg

这些高品质的细胞因子能确保各种造血细胞培养应用的可重复性和一致性。从多种细胞因子中选择适合的产品,并将其应用于您的研究工作流程。欲查看细胞因子的完整产品列表,请访问www.stemcell.com/cytokines。

# 用于人造血干细胞和祖细胞研究的小分子

## UM729 and StemRegenin 1

已有研究发现UM729和StemRegenin 1 (SR1) 是两种可在体外强化人造血干细胞和祖细胞自我更新和扩增的小分子<sup>13-15</sup>。UM729是pyrimido-[4,5-b]-indole的衍生物, 它的作用与造血系统的其他小分子刺激物(如: aryl hydrocarbon受体(AhR)拮抗剂SR1)

不同<sup>13-15</sup>。UM729最初是在筛选能促进人CD34<sup>+</sup>细胞扩增的化合物时被发现的,后来被用于优化结构-活性关系 (Structure-Activity Relationship, SAR) 以开发UM171<sup>14-15</sup>。另外, UM729和SR1已被证明可在培养中相互协同, 具有防止原代人急性髓系白血病 (AML) 细胞分化的作用<sup>15</sup>。

#### 图14. UM729和StemRegenin 1的化学结构。

(A) UM729: Methyl 4-((3-(piperidin-1-yl)propyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b] indole-7-carboxylate
(B) StemRegenin 1 (SR1): 4-[2-[[2-benzo[b]thien-3-yl-9-(1-methylethyl)-9H-purin-6-yl]amino]ethyl]-phenol

#### 产品信息

产品名称		规格	通路/靶点	
UM729	72332 72334	250 μg 1 mg	Pyrimido-indole衍生物, 加强HSC体外自我更新	在体外扩增人HSCs 与SR1配合使用时, 可维持LSC细胞的活性
StemRegenin 1	72342 72344	1 mg 5 mg	^~~	在体外维持和扩增人HSPCs
StemRegenin 1 (Hydrochloride)	72352 72354	1 mg 5 mg	Aryl hydrocarbon受体(AhR) 拮抗剂	将人CD34 <sup>+</sup> HPCs分化为功能性树突状细胞 与UM729配合使用时, 可维持LSC细胞的活性

HPCs: 造血祖细胞; HSCs: 造血干细胞; HSPCs: 造血干和祖细胞; LSCs: 白血病干细胞。

WWW.STEMCELL.COM

# MyeloCult™长期培养基

### 用干原始祖细胞的检测

#### 长期培养基

长期培养体系最初于20世纪70年代晚期为小鼠骨髓细胞研究而设计 16,随后成功应用于人细胞17,能在体外确立具有造血功能的关键细胞类型。当起始髓细胞密度相对较大时(>106个细胞/mL),长期培养体系能够形成一个由间充质细胞(包括内皮细胞、成纤维细胞和脂肪细胞)组成的贴壁基质层。只要加入适当的培养基和添加物、保证一定的孵育条件及更新培养体系的频率,与基质层相联的原始造血细胞便会在数周中生成髓系克隆祖细胞及成熟的粒细胞。

MyeloCult™是一种独特的长期培养基,可促进人或小鼠原代基质细胞层的形成,并支持原始造血祖细胞的增殖和分化。

#### 长期培养-启动细胞(LTC-IC)检测

长期培养体系的独特之处在于能够利用长期培养-启动细胞(LTC-IC)检测,以对与小鼠或人体内再生细胞具有相同表型和功能属性的原始造血细胞进行检测和定量<sup>18-20</sup>。在人长期培养过程中,5周后检测到的集落形成单位(CFU)代表了LTC-IC的后代,因为初始加入细胞悬浮液中的CFU此时已经完成了终末分化。

对实验细胞悬液中的LTC-IC进行定量分析时,需在受辐照过的骨髓细胞或适当的人或小鼠成纤维细胞系的支持饲养层上培养细胞<sup>21,22</sup>。有限稀释分析可用于确定LTC-IC的比例以及每个LTC-IC生成CFU的平均数目。只要确定了每个LTC-IC生成CFU的平均数目,则只要使用相同来源的测试细胞(如骨髓、脐带血、动员后的外周血)以及相同的检测条件,即可通过批量培养LTC-IC检测来确定样本的LTC-IC含量。通过使用CFU总产量除以每个LTC-IC生成的CFU平均数目,即可算出LTC-IC含量<sup>18</sup>。

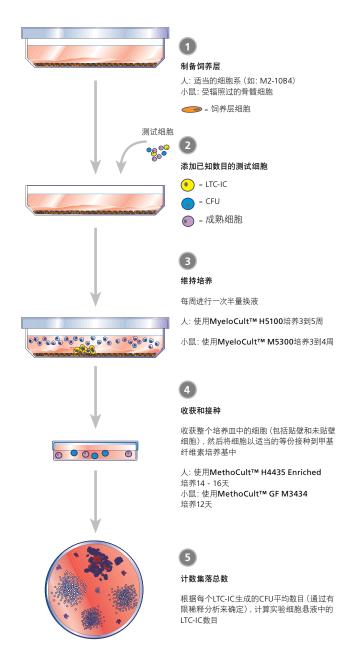


图15. 批量培养LTC-IC检测操作程序

#### 已发表的应用

定量分析LTC-IC的出现比例,并研究其表型和功能属性。能在长 期培养基中启动并维持造血功能数周的原始造血祖细胞称为长期 培养-启动细胞(LTC-IC)。人或小鼠样本中LTC-IC的出现比例可 通过LTC-IC检测加以确定<sup>18-19,23</sup>。使用MyeloCult™和相关产品进行 的实验表明,LTC-IC是在表型、细胞周期特性和扩增潜力各方面 均有差异的异质性细胞群24-29。

促进基因转移。在MyeloCult™中进行培养可促使逆转录病毒基因 转移到原始造血祖细胞上, 并使这些被转染的细胞得到 扩增<sup>30,31</sup>。

体外扩增多潜能造血细胞。在搅拌悬浮培养中使用MyeloCult™, 可扩增人集落形成单位(CFU)和LTC-IC<sup>32,33</sup>。小鼠全能造血细胞 在使用了MyeloCult™进行长期静态培养扩增后,能在辐照受体中 维持淋巴系和髓系的造血功能30。

评估调节造血功能的因子。可使用MyeloCult™长期培养对基质 衍生因子(正和/或负调节因子以及黏附分子)在调节造血功能方 面的作用进行评估34-37。

检查正常细胞与恶性细胞之间的差异。MyeloCult™已被用于培 养CML、AML和再生障碍性贫血患者的LTC-IC<sup>38-42</sup>。

研究CD34\*细胞向自然杀伤(NK)细胞的分化。在含有IL-2和 IL-7或干细胞因子(SCF)和IL-15的MyeloCult™培养基中培养 时,CD34<sup>+</sup>脐带血细胞的一个亚群可被诱导分化为NK细胞<sup>43</sup>。

培养自然杀伤细胞系。MyeloCult™已被用于人NK-92细胞系的 培养44。

## 

产品名称	产品号 #	规格	应用
MyeloCult™ H5100	05100 05150	100 mL 500 mL	支持人髓系造血祖细胞在基质细胞饲养层上的长期培养
MyeloCult™ M5300	05300 05350	100 mL 500 mL	支持小鼠髓系造血祖细胞在基质细胞饲养层上的长期培养

#### 用干评估每个LTC-IC生成的CFU数目的MethoCult™培养基

产品名称	产品号#	规格	应用
MethoCult™ H4435 Enriched	04435 04445	100 mL 24 x 3 mL	检测人LTC-IC衍生集落
MethoCult™ GF M3434	03434 03444	100 mL 24 x 3 mL	检测小鼠LTC-IC衍生集落

#### 辅助产品

产品名称	产品号#	规格	应用
Hydrocortisone	07904	100 mg	添加至MyeloCult™培养基中, 使最终浓度为10 <sup>-6</sup> M。适合作为LTC-IC分析专用的人(产品号 #05100/05150)和小鼠(产品号 #05300/05350) MyeloCult™培养基的添加物
M2-10B4 LTC-IC分析饲养层细胞系, 辐照	00370	3 x 10 <sup>6</sup> 细胞	在长期培养中基质细胞系支持人骨髓的生成
M2-10B4 (IL-3, G-CSF) + sl/sl (IL-3, SCF) LTC-IC分析混合饲养 层细胞系, 辐照	00371	3 x 10 <sup>6</sup> 细胞	经过基因改造的混合细胞系可产生IL-3和SCF以支持LTC-IC分析中人骨髓的生成
M2-10B4 (IL-3, G-CSF) + sl/sl (IL-3, SCF) + sl/sl (FL) LTC-IC 分析混合饲养层细胞系, 辐照	00372	3 x 10 <sup>6</sup> 细胞	经过基因改造的混合细胞系可产生IL-3、SCF和Flt-3配体以支持LTC-IC分析中人骨髓的生成
L-Calc <sup>TM</sup> 软件	28600	N/A	用于确定LTC-IC出现频率及其他应用的有限稀释分析 注意:L-Calc™软件可在 <b>www.stemcell.com</b> 上免费下载

# MethoCult™培养基

### 用于进行集落形成单位检测

集落形成单位(Colony-FormingUnit, CFU)检测是一种对骨髓、血液和其他造血组织中的多能性及谱系定向造血祖细胞(HPCs)的体外功能性检测方法。MethoCult™是一系列基于甲基纤维素的培养基,其配方优化于源于各物种(人、非人灵长类、小鼠、大鼠和犬类)的造血祖细胞的生长和分化。MethoCult™是举世公认对造血祖细胞进行检测和定量的CFU检测的"金标准"。

#### CFU检测的主要特点:

- 在含生长因子和添加物的MethoCult™培养基中,单个HPCs在培养期间会增殖和分化,生成成熟血细胞的集落。
- 不同谱系和成熟阶段的祖细胞生成具有不同大小、形态和细胞组分的集落。
- 每个集落均由单个祖细胞或单个CFU生成。集落数提供了进行 检测的细胞样本中具有活性和功能性的CFUs的数量(即:1个 集落 = 1个CFU)。
- 可对所有类型的髓系和/或红系祖细胞进行计数: 红系 (BFU-E 和CFU-E)、粒细胞-巨噬细胞 (CFU-GM、CFU-G和CFU-M) 和多能祖细胞 (CFU-GEMM)。

#### 为何使用MethoCult™?

标准化。用精心筛选的组分进行制备。

**一致性。**经过严格的性能测试,确保批次间具可重复性。

**便利性。**其即拆即用的配方可对总CFUs、红系细胞(CFU-E和BFU-E)、粒细胞/巨噬细胞(CFU-GM、CFU-G和CFU-M)以及多向(CFU-GEMM)祖细胞进行识别和计数。

**灵活性。**可提供允许在配方中添加自选成分的产品。也可按需要提供定制的配方和规格。

IVD。在部分地区已注册为体外诊断试剂(IVD)。

°CFU-E: 红细胞集落形成单位, BFU-E: 爆式红细胞集落形成单位, CFU-GM: 粒细胞/巨噬细胞 集落形成单位, CFU-G: 粒细胞集落形成单位, CFU-M: 巨噬细胞集落形成单位, CFU-GEMM: 粒细胞/红细胞/巨噬细胞/巨核细胞集落形成单位

#### 应用

- 人脐带血、动员后的外周血和骨髓中造血祖细胞的定量与定性 分析<sup>45</sup>
- 小鼠骨髓及其他细胞样本中造血祖细胞的定量与定性分析
- 人和小鼠长期培养-启动细胞 (LTC-IC) 检测中原始造血细胞的 定量<sup>19,21</sup>
- 评估胚胎干细胞和诱导多能干细胞的造血细胞分化能力
- 冻存、细胞处理和体外操作程序的质量控制<sup>46-54</sup>
- 支持临床血液学实验室中进行的患者诊断、预后和治疗55-60
- 支持对用于干细胞移植的捐献细胞样本(包括脐带血)的评估61-66
- 研究细胞因子、生长因子、激素或拟态药物对造血祖细胞的影响<sup>67-71</sup>
- 毒性实验或药物筛选实验72-75
- 优化基因转移程序<sup>76</sup>, 执行重复接种实验以研究髓系祖细胞在基因操作后的增殖和自我更新能力
- 体外扩增后的造血祖细胞的定量27.68



MethoCult™ H4034 Optimum培养基 (24 x 3 mL和100 mL)



1 制备细胞

处理人细胞的方法:

- 氯化铵裂解
- 使用ErythroClear™对红细 胞进行免疫磁珠去除(仅适 于CB)
- 使用HetaSep™和SepMate™ 进行密度梯度离心分离
- 用EasySep™、StemSep™、 RosetteSep™或流式细胞术 (如: 经由CD 34⁺, KIT⁺或 SCA1⁺) 进行祖细胞富集

清洗细胞(如在IMDM中加入2%的FBS),然后计数和调整细胞浓度。

**2 将细胞加入**MethoCult™中 将细胞加入MethoCult™中并涡 旋震荡。



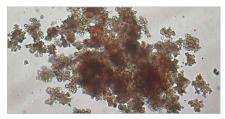
使用注射器和钝端针头将混合好的细胞接种到35 mm培养皿或 SmartDish<sup>TM</sup>中。

在37℃和5% CO₂的加湿培养箱中; 人细胞培养7 - 14天, 小鼠细胞则培养7 - 12天。

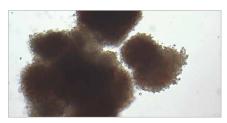
4 集落计数

使用倒置显微镜和STEMgrid™-6 计数网格手动计数和评估集落类型,此计数和评估过程也可通过 使用STEMvision™自动进行。

注意: 也可挑出单个集落进行常规染色、PCR或细胞遗传学分析。



人BFU-E (高倍镜)



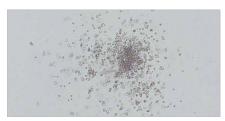
人BFU-E (高倍镜)



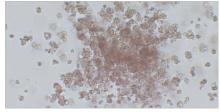
人CFU-GM (高倍镜)



人CFU-GEMM (中倍镜)



小鼠CFU-M (低倍镜)



小鼠BFU-E (高倍镜)

图17. 使用倒置显微镜观察到的人和小鼠集落图像

图16. 集落形成单位(CFU)检测流程

# 用于人和小鼠细胞的MethoCult™培养基

# 用于人细胞的MethoCult™培养基

	.sp.nepyivie							
METHOCULT™	产品号 #	规格				组分		) 应用
产品			MC	FBS	BSA	胰岛素+ 转铁蛋白	生长因子	
H4034 Optimum (GF H4034)	04034 04044	100 mL 24 x 3 mL	•	•	•		rhSCF, rhIL-3, rhG-CSF, rhEPO, rhGM-CSF	<ul> <li>在骨髓、脐带血、外周血、动员后的外周血中检测 CFU-E、BFU-E、CFU-GM和CFU-GEMM</li> <li>与STEMvision™兼容</li> </ul>
不含EPO的 H4035 Optimum (GF H4035)	04035 04045	100 mL 24 x 3 mL	•	•	•		rhSCF, rhIL-3 , rhG-CSF, rhGM-CSF; 不含rhEPO	<ul><li>在骨髓、脐带血、外周血、动员后的外周血中检测 CFU-GM</li><li>与STEMvision™兼容</li></ul>
H4434 Classic (GF H4434)	04434 04444	100 mL 24 x 3 mL	•	•	•		rhSCF, rhIL-3, rhEPO, rhGM-CSF	在骨髓、脐带血、外周血、动员后的外周血中检测CFU-E、BFU-E、CFU-GM和CFU-GEMM
不含EPO的 H4534 Classic (GF H4534)	04534 04544	100 mL 24 x 3 mL	•	•	•		rhSCF, rhIL-3, rhGM-CSF;不含rhEPO	在骨髓、脐带血、外周血、动员后的外周血中检测 CFU-GM
H4435 Enriched (GF+ H4435)	04435 04445	100 mL 24 x 3 mL	•	•	•		rhSCF, rhIL-3, rhIL-6, rhEPO, rhG-CSF, rhGM-CSF	<ul><li>在骨髓、脐带血、外周血、动员后的外周血中检测 CFU-E、BFU-E、CFU-GM和CFU-GEMM</li><li>推荐用于CD34<sup>*</sup>富集过的细胞以及通过其他方法 提纯的细胞</li></ul>
不含EPO的 H4535 Enriched (GF <sup>+</sup> H4535)	04535 04545	100 mL 24 x 3 mL	•	•	•		rhSCF, rhIL-3, rhIL-6, rhG-CSF, rhGM-CSF;不含rhEPO	<ul><li>在骨髓、脐带血、外周血、动员后的外周血中检测 CFU-GM</li><li>推荐用于CD34+富集过的细胞以及通过其他方法 提纯的细胞</li></ul>
SF H4436	04436	100 mL	•		•	•	rhSCF, rhIL-3, rhIL-6, rhEPO, rhG-CSF, rhGM-CSF	在骨髓、脐带血、外周血、动员后的外周血中检测CFU-E、BFU-E、CFU-GM和CFU-GEMM,并要求培养基成分确定
SF H4536	04536	100 mL	•		•	•	rhSCF, rhIL-3, rhIL-6, rhG-CSF, rhGM-CSF; 不含rhEPO	在骨髓、脐带血、外周血、动员后的外周血中检测CFU-GM,并要求培养基成分确定
SF H4636	04636	100 mL	•		•	•	rhEPO和其他细胞因子	<ul> <li>检测CFU-E、BFU-E、CFU-GM和CFU-GEMM</li> <li>推荐用于在确定无血清的条件下培养人hPSC来源的造血祖细胞</li> <li>用于从骨髓、脐带血、外周血、动员后的外周血分离的人原代造血祖细胞的CFU检测</li> </ul>
Express	04437 04447	100 mL 24 x 3 mL	•	•	•		rhEPO和其他细胞因子	ACB细胞的快速CFU检测。早在接种7天后即可进行总集落计数而无需识别集落类型。如果维持培养14 - 16天,则可对BFU-E、CFU-GM、CFU-M、CFU-GANCFU-GEMM集落进行计数。  ◆ STEMVision™兼容
H4431	04431	100 mL	•	•	•		Agar-LCM, rhEPO	<ul> <li>在骨髓、外周血中检测CFU-E、BFU-E、CFU-GM和CFU-GEMM</li> <li>适合作为MethoCult™ H4531的对照培养基,进行非EPO依赖型"的红系祖细胞检测</li> </ul>
H4531	04531	100 mL	•	•	•		Agar-LCM;不含rhEPO	在骨髓、外周血中检测CFU-GM    适用于"非EPO依赖型"的红系祖细胞检测
H4330	04330	90 mL	•	•	•		含血清、rhEPO;不含其他 细胞因子	
H4230	04230	80 mL	•	•	•		含血清, 不含其他细胞 因子	允许研究人员为以下应用添加自选细胞因子: 体外药物毒性试验
SF H4236	04236	80 mL	•		•	•	不含血清, 含血清替代物, 不含细胞因子	<ul><li>特异性造血祖细胞的检测</li><li>新因子的作用研究</li></ul>
H4100	04100	40 mL	•				基础培养基,不含血清、血清替代物或细胞因子	<ul><li>对其他物种进行的造血集落检测</li><li>转基因造血祖细胞的检测</li><li>非贴壁细胞系的克隆与选择</li></ul>

欲了解用于HSPCs分析的全部产品列表,请访问www.stemcell.com/HSPCworkflow下的"分析"页面。

# 用于人细胞的IVD MethoCult™培养基\*

MethoCult产品	产品号#	规格	生长因子	应用			
	84434 100 mL	100 mL		• 通过CFU检测,对骨髓、动员后的外周血、脐带血和外周血样本中的人造血祖细			
GF H84434	GF H84434		rhEPO、rhSCF、rhG- CSF、rhGM-CSF、rhIL-3	胞 (CFU-E、BFU-E、CFU-GM、CFU-G、CFU-M、CFU-GEMM) 进行检测和定量 外药物毒性试验 • 与STEMvision™兼容			
	84534	100 mL	LCCT LC CCT LCM	通过CFU检测,对骨髓、动员后的外周血、脐带血和外周血样本中的人造血祖细			
GF H84534	84544	24 x 3 mL	rhSCF、rhG-CSF、rhGM- CSF、rhIL-3	胞(CFU-GM、CFU-G、CFU-M)进行检测和定量 ● 与STEMvision™兼容			
GF H84435	84435	100 mL	rhEPO、rhSCF、rhIL-6	通过CFU检测,对骨髓、动员后的外周血、脐带血和外周血样本中的人造血袓细胞			
Gr H64433	84445	24 x 3 mL	rhG-CSF、rhGM-CSF	(CFU-E、BFU-E、CFU-GM、CFU-G、CFU-M、CFU-GEMM) 进行检测和定量			
GF H84535	84535	100 mL	rhSCF、rhIL-6、rhIL-3	通过CFU检测,对骨髓、动员后的外周血、脐带血和外周血样本中的人造血祖细胞			
	84545	24 x 3 mL	、rhG-CSF、rhGM-CSF	(CFU-GM、CFU-G、CFU-M)进行检测和定量			
细胞清洗缓冲液	87700	100 mL	n/a	细胞稀释和清洗缓冲液			

<sup>\*</sup>在部分地区已注册为体外诊断试剂 (IVD)。更多信息请访问www.stemcell.com/regulated-products。

# **乳** 用于小鼠细胞的MethoCult™培养基

						组分		
MethoCult产品	MethoCult产品 产品号 #	规格	МС	FBS	BSA	胰岛素+ 转铁蛋白	生长因子	应用
GF M3434	03434 03444	100 mL 24 x 3 mL	•	•	•	•	rhEPO、rmSCF、 rhIL-6、rmIL-3	• 用于检测小鼠骨髓、脾、外周血和胎肝中的造血祖细胞(BFU-E、CFU-GM、CFU-G、CFU-M和CFU-GEMM)
GF M3534	03534	100 mL	•	•	•	•	rmSCF、rhIL-6 、rmIL-3; 不含 rhEPO	<ul> <li>与STEMvision™兼容</li> <li>用于检测小鼠骨髓、脾、外周血和胎肝中的 造血祖细胞 (CFU-GM、CFU-G和CFU-M)</li> <li>与STEMvision™兼容</li> </ul>
M3630	03630	100 mL	•	•			rhIL-7	用于检测小鼠骨髓和Whitlock-Witte法长期培养物中的Pre-B集落祖细胞
SF M3236	03236	80 mL	•		•	•	不含细胞因子	用于检测小鼠骨髓、外周血、脾和胎肝的造血 祖细胞, 并要求培养基成分确定
SF M3436	03436	100 mL	•		•	•	rhEPO和细胞因子	<ul><li>用于检测小鼠骨髓及其他组织中的红系祖细胞(BFU-E)衍生集落</li><li>与STEMvision™兼容</li></ul>
M3334	03334	90 mL	•	•	•	•	含血清、rhEPO,不 含其他细胞因子	用于检测小鼠骨髓、脾和胎肝的CFU-E和成熟BFU-E
M3234	03234	80 mL	•	•	•	•	含血清, 不含细 胞因子	用于CFU检测的基础培养基,可添加自选生 长因子
M3231	03231	80 mL	•	•	•		含血清,不含胰岛 素或转铁蛋白,不 含细胞因子	用于CFU检测的基础培养基, 可添加自选生长 因子; 并可用于细胞系克隆
M3134	03134	40 mL	•				基础培养基, 不含 血清、血清替代物 或细胞因子	用于CFU检测的基础培养基,允许研究人员灵活添加需要的成分

MC: 甲基纤维素; FBS: 胎牛血清; BSA: 牛血清白蛋白; BM: 骨髓; PB: 外周血; MPB: 动员后的外周血; CB: 脐带血; LCM: 白细胞条件培养基; rh: 重组人; rm: 重组小鼠; CFU-E: 红细胞集落形成单位; BFU-E: 爆式红细胞集落形成单位; CFU-G: 粒细胞集落形成单位; CFU-M: 巨噬细胞集落形成单位; CFU-GM: 粒细胞/ 巨噬细胞集落形成单位; CFU-GEMM: 粒细胞/红细胞/巨噬细胞/巨核细胞集落形成单位

<sup>\*\*</sup>所有人细胞专用IVD MethoCultTM培养基中均含有MC、FBS和BSA。

# **STEMvision**™

### CFU检测的自动化和标准化计数

STEMvision™是一套仪器和软件系统,可在集落形成单位(CFU)中对造血集落自动成像和计数。

鉴定和计数集落时,用户只需将盛有用MethoCult™培养基所培养细胞的SmartDish™装载到STEMvision™上,而无需对集落进行手动计数。采集每一个含有人或小鼠细胞的35 mm培养孔的数字图像分别需要1分钟或30秒。检测分析人细胞的时间约需要1分钟,小鼠细胞约需要30秒;也可留待日后进行。

对于人细胞培养物,在使用MethoCult™ Optimum对由脐带血(CB)、骨髓和动员后的外周血中的红系、髓系和多潜能祖细胞(CFU-E、BFU-E、CFU-G/M/GM和CFU-GEMM)分选获得的集落进行14天CFU检测时,有三个STEMvision™分析软件包可用于对集落进行评估和计数。此外,还有另一个分析软件包可用于对在MethoCult Express™中将CB细胞培养7天后的集落总数进行计数(不进行CFU亚型分类识别)。

对于小鼠骨髓培养物,我们已开发了三个新的STEMvision™分析软件包,用于在MethoCult™ GF M3434、MethoCult™ GF M3534和MethoCult™ SF M3436中,分别对所有混合的髓系和红系祖细胞(BFU-E和CFU-G/M/GM)生成的集落总数、所有髓系祖细胞(CFU-G/M/GM)以及所有红系祖细胞(BFU-E)进行计数。

#### 系统配置:

- STEMvision™仪器
- 电脑和显示器
- 图像采集、分析和查看软件

#### 所需试剂:

- SmartDish™无弯月面培养皿
- MethoCult™培养基
- 红细胞去除试剂

#### 图像指标:

一块6孔SmartDish™培养板



STEMvision™仪器

### 为何使用STEMvision™?

提高准确率。比手动集落计数更快、更准确。

标准化。消除手动集落计数的主观性。

**方便。**轻松保存并分享您的结果。图像被自动保存以便记录。

### 用于人细胞检测的软件包

产品: STEMvision™人脐带血7天CFU检测软件包

**产品号 #:** 22001

产品: STEMvision™人脐带血14天CFU检测软件包

产品号 #: 22005

产品: STEMvision™人骨髓14天CFU检测软件包

产品号 #: 22006

产品: STEMvision™人动员后的外周血14天CFU

分析软件包

**产品号 #:** 22007

### 用于小鼠细胞检测的软件包

产品: STEMvision™小鼠总CFU分析软件包

**产品号 #:** 22008

产品: STEMvision™小鼠髓系细胞CFU分析软件包

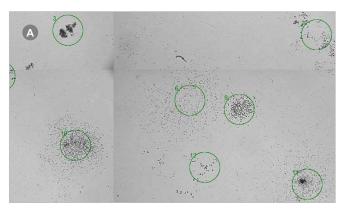
产品号 #: 22009

产品: STEMvision™小鼠红系细胞CFU分析软件包

**产品号 #:** 22011

欲了解更多信息,请访问www.STEMvision.com。

### 人脐带血CFU检测



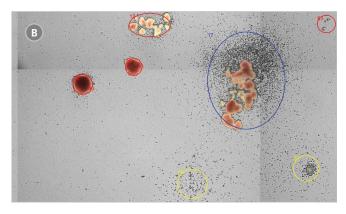


图18. 使用MethoCult™ Express经过7天培养,或使用MethoCult™ Optimum经过14天培养后,对人脐带血祖细胞生成集落的典型 STEMvision™扫描图像。

使用STEMvision™人脐带血(A)7天分析软件包(产品号 #22001)和(B)14天分析软件包(产品号 #22005)对图像进行分析。绿圈所示为仅对CFUs进行计数的7天CB CFU检测后的每个单个集落(A)。红圈所示为14天CB CFU检测中的红系细胞集落(由CFU-G、CFU-M或CFU-GM生成),蓝圈所示为为14天CB CFU检测中的混合集落(由CFU-GEMM生成)(B)。含血红细胞的红系和混合集落显示为红色。

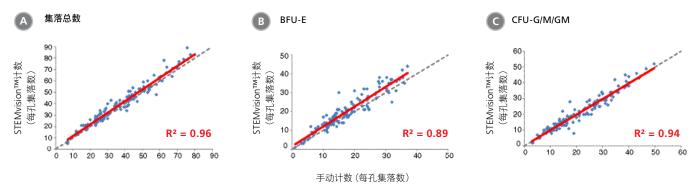
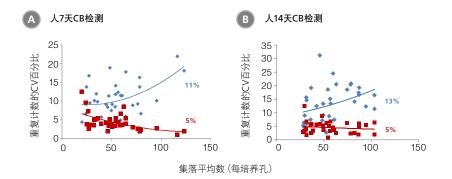


图19. 对于14天CB CFU检测,使用STEMvision™对集落总数、红系(BFU-E)和髓系(CFU-G/M/GM)集落进行自动化计数,其结果与手动计数的结果有很强的相关性。

将冻存CB样本解冻, 再接种于MethoCult™ Optimum培养基中培养14天, 然后分别用倒置显微镜进行手动计数和用STEMvision™进行自动计数。结果显示用STEMvision™自动计数和用手动计数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。

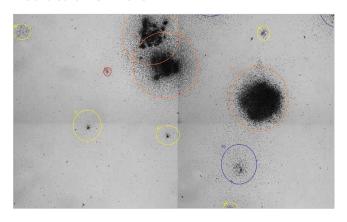


#### 图20.对于7天和14天CBCFU检测,使用 STEMvision™进行的自动集落计数的重复性优于手 动计数。

由3 - 5个不同的实验研究人员(蓝色菱形)和3 - 5台 STEMvision™设备(红色方形)对相同培养孔中的CB细胞 样本,分别以手动和自动的方式,通过(A)7天CFU检测和 (B) 14天CFU检测进行总集落计数,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13%,用STEMvision™进行的7天和14天检测的CV均 为5%。

## 小鼠骨髓CFU检测

#### MethoCult™ GF M3434



# 图21. 使用MethoCult™ GF M3434经过12天培养后,对小鼠骨髓祖细胞生成集落的典型STEMvision™扫描图像。

以STEMvision™采集在MethoCult™ GF M3434培养基中培养的小鼠骨髓细胞的图像。使用总CFU分析软件包(产品号#22008)进行图像分析。红圈内为识别的最小集落-大小为1级,黄圈内大小为2级,蓝圈内大小为3级,而橙色圈内为识别的最大集落 - 大小为4级。

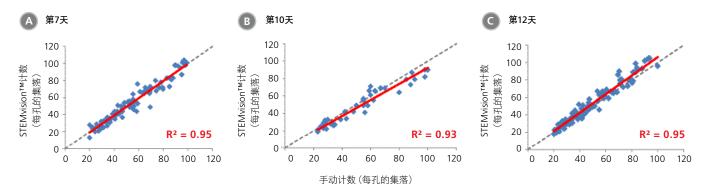
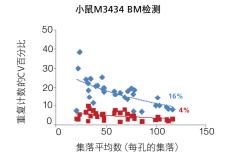


图22. 在第7、10和12天,使用STEMvision™对集落(髓系和红系)总数进行自动化计数,其结果与对小鼠骨髓细胞的手动计数结果有很强的相关性。

将骨髓细胞接种于MethoCult™ M3434中。在 (A) 第7天、(B) 第10天和 (C) 第12天, 分别用倒置显微镜进行手动计数, 和用STEMvision™小鼠总CFU分析软件包 (产品号#22008) 进行自动计数。我们建议在第10和第12天之间对接种于M3434中的小鼠祖细胞进行计数CFU检测。灰虚线代表两者间的理论最佳线性相关性, 红实线则代表两者间的实际线性相关性。各数据集 (A: n = 104 CFU检测, B: n = 38, C: n = 99) 的相关系数 (R²) 显示为红色。



# 图23. 对于小鼠细胞的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)和3 - 5台STEMvision™设备(红色方形),对相同培养板中以MethoCult™ GFM 3434培养的小鼠BM样本分别采用手动和自动的方式,通过CFU检测进行总集落计数,得到两者间的差异系数(CVs)。手动进行的总集落计数的平均CV为16%,用STEMvision™进行集落计数的平均CV为4%。

# SmartDish™和STEMgrid™-6

## 对造血集落进行更精确计数的无弯月面培养皿

当使用传统培养皿进行CFU检测时,培养基会在其边缘形成弯月面。位于弯月面的培养基厚度较深,导致较多的集落形成于培养板边缘部位(图24A),而这一位置的光学曲变效应会使集落鉴定的难度增加(图25A和25C),导致集落计数的精确度的降低(即:导致CFU计数值偏低)。

SmartDish™6孔培养板的设计在于:通过防止培养基弯月面的形成,使集落计数更加精确且具有重复性。消除弯月面的形成使培养基的分布更为均匀(图24B)。因此集落在整个35 mm培养孔中的分布更加均一。此外,随着弯月面的消失,光学曲变现象的问题得以解决,使培养板边缘部位的集落更易计数(图25B和25D)。

SmartDish™可与标准的倒置显微镜配合使用,进行手动计数(图 25B);也可用于STEMvision™,在造血CFU检测中实现自动计数(图 25D)。对于手动进行集落计数的造血CFU检测,SmartDish™可与STEMgrid™-6配合使用。STEMgrid™-6是一种可拆卸的计数网格装置,既方便对整个培养物表面进行定位,也可根据需要,将其划分为四个象限以进行部分计数。

#### SmartDish™无弯月面培养皿

产品: SmartDish™ (6孔板) 产品号 #: 27370 (5个/包)

27371 (50个/包)

#### 建议:

- 更加轻松、准确地进行计数
- 与STEMvision™共同使用可实现自动化集落计数(必要)

### STEMgrid™-6计数网格

**产品:** STEMgrid™-6计数网格 **产品号 #:** 27000 (1个/包)

#### 建议:

在倒置显微镜下使用SmartDish™培养皿进行手动计数

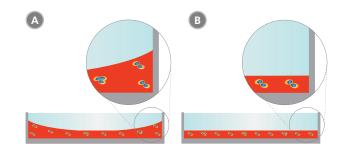
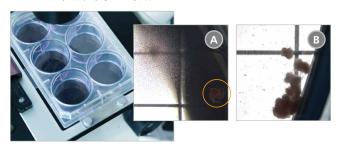


图24. 在标准培养板和SmartDish™培养板中的培养基和集落分布示意图。

(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较厚的边缘部位。 (B) SmartDish™ 6孔培养板中消除了弯月面, 确保了培养基和集落在整个培养孔中分布更均匀。

#### 造血CFU检测的手动计数



造血CFU检测的自动计数

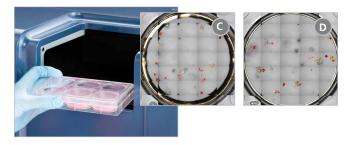


图25. 在未经处理的标准培养板和SmartDish™ 6孔培养板中进行的 14天人脐带血CFU检测。

图中所示为使用 (A, C) 未经处理的培养板, 或使用 (B, D) SmartDish™获得的 STEMvision™典型图像。在标准培养板中出现的弯月面导致在培养板边缘的培养 基更厚处形成更多集落 (A, C)。光学曲变使这些集落成像模糊不清, 使其更加难以计数。SmartDish™培养板因经过了消除弯月面的处理, 使集落分布更均匀 (B, D), 因此其边缘部位的集落更易被计数。

# MegaCult™胶原蛋白培养基

## 用于巨核祖细胞的检测和造血祖细胞分析的永久记录

## 【 人和小鼠MegaCult™-C培养基和染色试剂盒

产品名称		组分	应用
含细胞因子的 MegaCult™-C完全 试剂盒	04971	<ul><li>含重组细胞因子的无血清培养基(24 x 2 mL)</li><li>胶原蛋白溶液(35 mL)</li><li>CFU-Mk染色试剂盒</li><li>双室玻片(48)</li></ul>	对低密度分离或CD34 <sup>+</sup> 富集的骨髓、动员后的外周血、脐带血样本中的人巨核细胞进行检测和染色
不含细胞因子的 MegaCult™-C完全 试剂盒	04970	<ul><li>不含细胞因子的无血清培养基(24 x 1.7 mL)</li><li>胶原蛋白溶液(35 mL)</li><li>CFU-Mk染色试剂盒</li><li>双室玻片(48)</li></ul>	对低密度分离或CD34 <sup>+</sup> 富集的骨髓、动员后的外周血、脐带血样本中的人巨核细胞进行检测和染色(需添加适当的细胞因子)
MegaCult™-C胶原 蛋白和含细胞因子 培养基	04961	。含重组细胞因子的无血清培养基(24 x 2 mL) 。胶原蛋白溶液(35 mL)	对低密度分离或CD34 <sup>+</sup> 富集的骨髓、动员后的外周血、脐带血样本中的人巨核细胞进行检测
MegaCult™-C胶原 蛋白和不含细胞因 子培养基	04960	• 不含细胞因子的无血清培养基(24 x 1.7 mL) • 胶原蛋白溶液(35 mL)	对人或小鼠巨核细胞,或其他祖细胞进行检测(需添加适当的细胞因子)
MegaCult™-C胶 原蛋白和含脂肪的 培养基	04974	。含脂肪、不含细胞因子的无血清培养基 。胶原蛋白溶液 (35 mL)	对人或小鼠巨核细胞,或其他祖细胞进行检测(需添加适当的细胞因子)
CFU-Mk专用 MegaCult™-C染色 试剂盒	04962	<ul><li>抗CD41的一抗</li><li>抗TNP的对照抗体</li><li>生物素结合的二抗</li><li>碱性磷酸酶检测系统</li><li>稀释用的人血清和封闭用的BSA</li><li>伊文思蓝染液</li></ul>	对培养于MegaCult™-C的CFU-Mk和BFU-E/Mk中的人巨核细胞和血小板进行免疫细胞化学染色

CFU-Mk: 集落形成单位 - 巨核细胞, BFU-E/Mk: 爆式集落形成单位 - 红系细胞/巨核细胞

### 为何使用胶原蛋白培养基?

胶原蛋白培养基已被证实能够支持造血祖细胞的增殖<sup>77</sup>,而其培养物可以进行脱水和固定。这有利于巨核细胞的定量和定性检测,因为这些集落从形态上无法与巨噬细胞集落区分开来。巨核细胞的检测必须通过染色程序,以此鉴定其特异性表面标记的表达或酶的活性。如果用甲基纤维素培养基,对其培养物进行细胞、分子学分析时,必须对集落进行挑取和处理,耗时较长。相比而言,用胶原蛋白培养基,在染色前进行脱水和固定只需要大约30分钟。

脱水、固定和染色后的胶原蛋白培养物可长期保存, 而甲基纤维素培养物在培养期结束后仅可保存一周左右。

### 为何使用MegaCult™?

**方便。**培养和染色均可在同一个玻片上完成。可立即进行评估,或将其保存以供日后检验之用。

**优化。**无血清MegaCult™培养基可专门用于人巨核祖细胞的定量分析<sup>78,79</sup>。

**灵活。**同时提供不含细胞因子的无血清MegaCult™培养基,允许在对人或小鼠巨核祖细胞进行分析时,添加所需的细胞因子。

欲了解更多信息,请访问www.MegaCult.com

# 用于HSPC研究的抗体和ELISA试剂盒

使用经验证可与STEMCELL Technologies的细胞分选产品和培养试剂配合使用的抗体用于分选应用。这些高品质的一抗和二抗能确保下游对 原始细胞和扩增的祖细胞所进行的分析(包括表型分析和纯度评估)取得一致性的结果。

欲获取完整的抗体列表,包括二级抗体和同型对照,请访问www.stemcell.com/antibodies。欲了解可用于HSPCs研究的ELISA试剂盒,包括 促红细胞生成素 (EFO) ELISA试剂盒 (产品号 #01630),请访问www.stemcell.com/ELISA。

# 用于人造血细胞研究的抗体

抗体	克隆	抗体类型	标记	
	SK7	小鼠IgG <sub>1,</sub> kappa	FITC	60127
CD3	UCHT1	小鼠IgG <sub>1,</sub> kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE, PerCP, PerCP-Cy5.5	60011
CD11b	ICRF44	小鼠IgG <sub>1,</sub> kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE	60040
CD14	MoP9	小鼠IgG <sub>2b,</sub> kappa	FITC	60124
CD14	M5E2	小鼠IgG <sub>2a,</sub> kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE	60004
CD16	3G8	小鼠IgG <sub>1,</sub> kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE	60041
CD10	HIB19	小鼠IgG <sub>1,</sub> kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE, PerCP-Cy5.5	60005
CD19	6D5	大鼠IgG <sub>2a,</sub> kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, Pacific Blue™, PE	60006
CD20	2H7	小鼠IgG <sub>2b,</sub> kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE, PerCP-Cy5.5	60008
	8G12	小鼠IgG <sub>1,</sub> kappa	APC, FITC, PE	60121
CD34	563	小鼠IgG <sub>1,</sub> kappa	PE	60119
581		小鼠IgG <sub>1,</sub> kappa	未标记, Alexa Fluor <sup>®</sup> 488, APC, Biotin, FITC, PE	60013
CD20	AT-1	小鼠IgG <sub>1,</sub> kappa	FITC	60131
CD38	HIT2	小鼠IgG <sub>1,</sub> kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE	60014
	2D1	小鼠IgG <sub>1,</sub> kappa	FITC	60123
CD45	HI30	小鼠IgG <sub>1,</sub> kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, Pacific Blue™, PE, PerCP-Cy5.5	60018
CD71 (转铁蛋白受体)	OKT9	小鼠IgG <sub>1,</sub> kappa	未标记, APC, Biotin, FITC, PE	60106
CD90 (Thy-1)	5E10	小鼠IgG <sub>1,</sub> kappa	未标记, APC, Biotin, FITC, PE, PerCP-Cy5.5	60045
CD105	43A3105	小鼠IgG <sub>1,</sub> kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE	60039
CD117 (c-Kit)	104D2	小鼠IgG <sub>1,</sub> kappa	未标记, APC, Biotin, PE	60087
CD123 (IL-3Rα)	6H6	小鼠IgG <sub>1,</sub> kappa	未标记, APC, Biotin, FITC, PE, PerCP-Cy5.5	60110
CD235a (血型糖蛋白A)	2B7	小鼠IgG <sub>1,</sub> kappa	FITC	60152
CD235ab (血型糖蛋白A/B)	HIR2	小鼠IgG <sub>2b,</sub> kappa	未标记, APC, Biotin, FITC, PE	60111

# 1

### 用于小鼠造血细胞研究的抗体

 抗体	克隆	抗体类型	标记	产品号#
CD3e	145-2C11	Hamster (Armenian) IgG <sub>1</sub> , kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE, PerCP-Cy5.5	60015
CD4	RM4-5	大鼠IgG₂a, kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE, PerCP-Cy5.5	60017
CD4	RM4-4	大鼠IgG <sub>2b</sub> , kappa	APC, Biotin, FITC, PE	60029
CD8a	53-6.7	大鼠IgG <sub>2a</sub> , kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE, PerCP-Cy5.5	60023
CD11b	M1/70	大鼠IgG <sub>2b</sub> , kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, Pacific Blue™, PE, PerCP-Cy5.5	60001
CD19	6D5	大鼠IgG <sub>2a</sub> , kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, Pacific Blue™, PE	60006
CD43	R2/60	大鼠IgM, kappa	Biotin	60042
CD45.1	A20	大鼠IgG <sub>2a</sub> , kappa	Biotin	60117
CD45.2	104	大鼠IgG <sub>2a</sub> , kappa	Biotin	60118
CD45	30-F11	大鼠IgG <sub>2b</sub> , kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE, PerCP-Cy5.5	60030
CD48 (SLAMF2)	HM48-1	Hamster (Armenian) IgG <sub>1</sub> , lambda	APC	60162
CD45R (B220)	RA3-6B2	大鼠IgG <sub>2a</sub> , kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, Pacific Blue™, PE, PerCP-Cy5.5	60019
CD447 (- K:4)	2B8	大鼠IgG <sub>2b</sub> , kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE	60025
CD117 (c-Kit)	ACK2	大鼠IgG <sub>2b</sub> , kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, FITC, PE	60034
CD150 (SLAM)	TC15-12F12.2	大鼠IgG <sub>2a</sub> , lambda	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, PE, PE-Cyanine7	60036
EPCR (CD201)	RMEPCR1560	大鼠IgG <sub>2b</sub> , kappa	未标记, Biotin, FITC, PE	60038
Gr-1 (Ly-6G/Ly-6C)	RB6-8C5	大鼠IgG <sub>2b</sub> , kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE, PerCP-Cy5.5	60028
Ly-6G	1A8	大鼠IgG <sub>2a</sub> , kappa	未标记, APC, Biotin, FITC, Pacific Blue™, PE, PerCP-Cy5.5	60031
Sca1 (Ly-6A/E)	E13-161.7	大鼠IgG <sub>2a</sub> , kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE	60032
Dhasus	T3G6	小鼠IgG <sub>1</sub> , kappa	±470	60132
Rhesus	T4G6	小鼠IgG <sub>1</sub> , kappa	未标记	
TER119	TER-119	大鼠IgG <sub>2b</sub> , kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE, PerCP-Cy5.5	60033

# 对人脐带血HSPCs的检测

## ALDHbr检测试剂盒



ALDH<sup>br</sup>检测试剂盒 (产品号 #01711) 优化用于识别和定量人脐带血样本中表达高水平乙醛脱氢酶 (ALDH) 的CD34<sup>-</sup>细胞。

#### 产品信息

产品		组分
ALDH <sup>br</sup> 检测 试剂盒*	01711	ALDEFLUOR™试剂盒  ALDEFLUOR™试剂  ALDEFLUOR™ DEAB试剂  ALDEFLUOR™检测缓冲液  2N HCI  DMSO  活性染料及抗体  7-AAD活性染料  APC CD34抗体 (克隆581)  PE CD45抗体 (克隆HI30)  PE-Cyanine 5 CD235ab (GlyAB) 抗体 (克隆HIR2) "

<sup>\*</sup>适用于标记6 x 10<sup>7</sup>个细胞

欲查看相关实验数据和完整的操作流程,请访问www.stemcell.com/ALDHbrKit。

# 组织培养试剂和耗材

各种辅助产品均可与STEMCELL Technologies用途齐全的细胞分选产品和专业培养基配合使用。有关详情以及组织培养试剂和耗材的完整列表,请访问www.stemcell.com。

### 组织培养基

产品名称	产品号#	规格
含4500 mg/L右旋葡萄糖的DMEM	36250	500 mL
含1000 mg/L右旋葡萄糖的DMEM	36253	500 mL
DMEM/F-12	36254	500 mL
Iscove's MDM (IMDM)	36150	500 mL
含2% FBS的IMDM	07700	100 mL
McCoy的5A培养基(经改良)	36350	500 mL
含核甘酸的MEM Alpha	36450	500 mL
MEM	36550	500 mL

### 平衡盐溶液

产品名称	产品号#	规格
D-PBS	37350	500 mL
D-PBS, 10X	37354	500 mL
含2%FBS的D-PBS	07905	500 mL
HBSS, 不含Ca <sup>++</sup> 和Mg <sup>++</sup> 离子	37250	500 mL
HBSS, 不含酚红	37150	500 mL

### 添加物

产品名称	产品号#	规格
肝素	07980	2 mL
Hydrocortisone Powder	07904	100 mg
左旋谷酰胺, 200 mM	07100	100 mL
MEM非必需氨基酸, 100X	07600	100 mL
人低密度脂蛋白 (LDL)	02698	5 mg

### 酶

产品号#	规格
07902	5 mL
07900	1 mL
07400	100 mL
07901	500 mL
	07902 07900 07400

### 其他组织培养试剂

产品名称	产品号#	规格
含3%亚甲基蓝的乙酸	07060	100 mL
氯化铵溶液	07800 07850	100 mL 500 mL
台盼蓝	07050	100 mL

### 组织细胞培养皿和玻片

产品名称		规格			
用于在35mm培养板中进行CFU检测的其他种类培养皿,或 SmartDish™					
组织培养皿	38046	500个			
245 mm x 245 mm方形培养 皿,未处理	38020	4/包 16/箱			
非贴壁培养皿 <sup>*</sup> 建议配合MethoCult™用于CFU检测					
35 mm直径的培养皿	27100 27150	10/包 500/箱			
其他培养皿和玻片					
双室玻片	04963	48套双室玻片、 滤片和垫片			
60 mm栅格计数培养皿	27500	5/包			

### 其他组织培养耗材

产品名称	产品号#	规格
· 钟针头	28110	100/包
1817	28120	2000/箱
细胞过滤网, 40 μm	27305	50/箱
组织分离培养瓶, 玻璃, 250 mL	27300	1个
StemSpan™转瓶, 玻璃, 50 mL	28800	1个
低氧小室	27310	1套

### 血清替代产品

产品名称		规格
含10%牛血清白蛋白 (BSA) 的 Iscove's MDM	09300	100 mL
BIT 9500血清替代物: 含BSA、胰岛 素和转铁蛋白(每批次均经过预筛 选), 溶于Iscove's MDM	09500	100 mL

# 熟练度测试项目及质控试剂盒

STEMCELL Technologies致力于帮助您充分利用实验。我们有各种标准化工具包括熟练度测试项目,质量控制试剂盒,培训课程和说明材料,以便您更好地进行造血集落形成单位 (CFU) 检测。

### 熟练度测试项目

在我们的熟练度测试中,评估您进行CFU检测中所有步骤的能力,包括从复苏样本到将细胞接种至甲基纤维素培养基中。我们将提供给参与者一个细胞样本、MethoCult™培养基、其他试剂和耗材,以及进行CFU检测的详细步骤说明。最后根据ISO 13528中的指南,分析所有参与者的结果并将其与同类群组平均值进行比较(图26)。

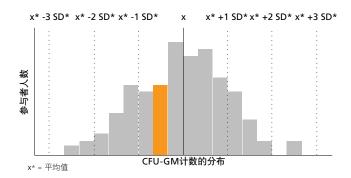


图26. 参与者实验数据实例

### 质量控制试剂盒

STEMCELL质量控制 (QC) 试剂盒推荐用于细胞处理实验室的技术人员对其造血集落形成单位 (CFU) 检测的重复设置和计数能力进行监控。



熟练度测试提供的所有材料

熟练度测试项目	产品号#
冻存的人骨髓 (BM)	00602
新鲜脐带血 (CBH)	00606
新鲜脐带血 (CBZ)	00608

欲了解后续项目开始信息及注册方法,请访问

www.ProficiencyTesting.com。



QC试剂盒提供的所有材料

QC试剂盒		应用
人骨髓 (BM)	00650	监测使用骨髓细胞进行集落 检测的可重复性
人脐带血(CB)	00651	监测使用脐带血细胞进行集 落检测的可重复性

# 培训课程和教学材料



我们的造血细胞检测培训课程非常全面,同时提供理论和实践培训。我们的讲师将与您分享其知识和专业技能,以帮助您解决实验设计和评估过程中遇到的挑战。



### 造血祖细胞检测培训课程

课程名称	产品号#	课程描述
造血祖细胞检测的标准化	00215	本课程为期2天,主要针对的内容是人样本的集落形成单位(CFU)检测的标准化:
造血祖细胞检测的应用	00217	本课程为期3天,主要针对的内容是人、小鼠、大鼠和犬样本的造血祖细胞检测,重点是将CFU检测应用于您的研究。您将学到:

STEMCELL Technologies可提供定制的培训课程,这对解决特定的研究挑战或标准化技术流程非常有益。定制的培训为您的团队提供技术专家的个性化指导,可在您指定的地点或我们的培训实验室举办。



产品号 #29940



产品号 #28700



产品号 #28760

#### 教学材料

产品名称	产品号#	说明
脐带血集落图谱	29940	该图谱详载了甲基纤维素培养基中生长的人脐带血祖细胞衍生的造血集落彩图。包括新鲜和冷冻样本的集落鉴定和计数简介与技巧。另外还阐释了红细胞背景和最佳接种密度等相关问题。
人造血集落图谱	28700	一本指导您顺利完成对甲基纤维素培养基中生长的人造血祖细胞衍生集落鉴定和评估过程的工具书。 其中载有160多张附有鉴定集落说明和指南的彩色集落照片。
健康与疾病状态下 的人造血集落	28760	介绍如何培养和鉴定甲基纤维素培养基中生长的人造血祖细胞衍生集落。230张彩色照片详细描绘了健康个体和血液病患者不同的集落形态。该书可指导您如何将集落检测用作对造血干细胞疾病的进程和诊断的辅助工具。

#### 用于造血祖细胞检测的技术手册

技术手册可为造血培养基产品和分析系统提供有力支持。手册中提供了详尽的试剂信息、逐步使用指导和极其宝贵的技巧与提示。各手册可应要求免费提供,也可登录www.stemcell.com自行下载。

定制培训课程可能要求最少的参与人数和专用设备。欲了解我们的培训课程或定制培训的更多信息,请访问www.stemcell.com/training或发邮件至info.cn@stemcell.com与我们联系。

# 合同服务



合同服务(CAS)是在STEMCELL Technologies的合同研究组织(CRO),其基于体外和体内的原代干细胞检测来提供服务。原代细胞被认为比细胞系更能代表体内功能,并且可以增加体外测定的生物学相关性。除了针对您的个性化需求的特征化检测和定制解决方案之外,CAS还专门为各种应用提供CFU检测(请参见下文)。自2000年以来,CAS已为全球120多家制药、生物技术、政府和生命科学学术组织执行多项研究,并通过频繁的沟通、优质的产品和无与伦比的专业知识提供了出色的服务。

#### 干细胞和祖细胞检测

我们有效的体外检测可帮助您确定化合物对造血祖细胞产生的抑制或刺激效果。

- 事实证明, 集落形成单位 (CFU) 检测对于评估各种化合物对造血祖细胞和间充质祖细胞的潜在抑制或刺激效果极为重要72,80-88
- CFU检测可用于评估造血祖细胞的扩增和分化,以确定IC50和IC90数值
- 髓系祖细胞CFU检测已经通过由欧洲替代方法验证中心(European Centre for the Validation of Alternative Methods, ECVAM)进行的确定其最大耐受剂量的验证
- CFU-GM和CFU-MK检测已被证明对临床结果具有预测作用,例如: 嗜中性粒白细胞减少症和血小板减少症<sup>72,81-82</sup>

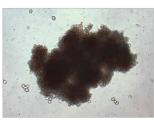
#### 我们提供的体内检测服务能够帮助您检测化合物对造血干细胞的影响。

- 评估造血干细胞动员到外周血的效果
- 确定造血祖细胞在骨髓抑制诱导之后的恢复动力学

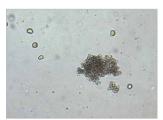


CFU-GM

BFU-E



含抑制物的CFU-GM



含抑制物的BFU-E

图27. 在加入抑制物后对人骨髓CFU-GM和BFU-E集落的影响

## 对合同服务感兴趣?

欲了解CAS如何帮助您实现研究目标的更多信息,请访问www.contractassay.com或发邮件至info.cn@stemcell.com与我们联系。

# CFU检测的附加信息

## 建议用于人CFU检测的细胞接种浓度

每35 mm培养皿中接种的细胞数
2 x 10 <sup>4</sup> - 1 x 10 <sup>5</sup>
1 - 5 x 10 <sup>4</sup>
5 x 10 <sup>3</sup> - 2 x 10 <sup>4</sup>
1 - 4 x 10 <sup>5</sup>
1 - 5 x 10 <sup>4</sup>
0.5 - 2 x 10 <sup>3**</sup>
0.15 - 1 x 10 <sup>3**</sup>

<sup>\*</sup>单个核细胞(MNC)由密度梯度离心法(密度,1.077 g/mL)分离获得。\*\*取决于CD34\*细胞的纯度。通常10 - 20%的CD34\*细胞会形成集落。

## 正常人样本中的典型祖细胞比例

	祖细胞类型			
一细胞来源 ————————————————————————————————————	CFU-E	BFU-E	CFU-GM	CFU-GEMM
每10 <sup>5</sup> 个经氯化铵处理的骨髓细胞 (n = 50)	31 (1 - 78)	115 (1 - 251)	100 (30 - 170)	5 (1 - 15)
每10 <sup>5</sup> 个骨髓单个核细胞* (n = 17)	188 (1 - 506)	175 (1 - 477)	408 (1 - 990)	10 (1 - 30)
每10 <sup>3</sup> 个富集的骨髓CD34 <sup>+</sup> 细胞 (n = 15)	30 (1 - 59)	34 (1 - 74)	54 (7 - 101)	2 (1 - 5)
每10 <sup>5</sup> 个脐带血单个核细胞* (n = 16)	9 (1 - 48)	104 (1 - 310)	115 (1 - 303)	25 (1 - 59)
每10 <sup>5</sup> 个正常外周血单个核细胞* (n = 30)	2 (1 - 10)	30 (1 - 62)	9 (1 - 18)	2 (1 - 5)
每10 <sup>5</sup> 个动员后的外周血细胞 (n = 19)	8 (1 - 27)	121 (1 - 257)	111 (1 - 257)	23 (1 - 67)

以上的CFU数目是使用MethoCult™ H4434 Classic确定的。数值表示的是平均数,而范围表示为平均值 生标准偏差。\*单个核细胞 (MNCs) 由密度梯度离心法 (密度, 1.077 g/mL) 分离获得。

## 建议用于小鼠CFU检测的细胞接种浓度

	CFU检测	MethoCult™培养基	每35 mm培养皿中接种的细胞数
小鼠骨髓	CFU-E、成熟BFU-E	M3334	1 - 2 x 10 <sup>5</sup>
小鼠骨髓	BFU-E、CFU-GM、CFU-GEMM	M3434	2 x 10 <sup>4</sup>
小鼠骨髓	CFU-Pre-B	M3630	1 - 2 x 10 <sup>5</sup>
成年小鼠脾脏和外周血	BFU-E、CFU-GM、CFU-GEMM	M3434	2 x 10 <sup>5</sup>
胎肝 (12 - 15 dpc)	BFU-E、CFU-GM、CFU-GEMM	M3434	2 x 10 <sup>4</sup>
Lin**	BFU-E、CFU-GM、CFU-GEMM	M3434	1 x 10 <sup>3</sup>
卵黄囊	BFU-E、CFU-GM、CFU-GEMM	M3434	5 x 10 <sup>4</sup>
小鼠骨髓	BFU-E	M3436	3 - 8 x 10 <sup>4</sup>

- 1. 使用C57BL/6品系建立以上的接种浓度。对于其他小鼠品系,如转基因或经处理的小鼠,建议以2-3个细胞密度接种,以此建立最佳接种浓度。
- 2. 通常不需要进行细胞纯化。通过氯化铵裂解液(产品号 #07800/07850)可将红细胞从脾脏和外周血样本中去除。

## 正常小鼠骨髓中的典型祖细胞比例

祖细胞	MethoCult™培养基	每10 <sup>6</sup> 个骨髓细胞中的CFU数量
CFU-E	M3334	1700 ± 400
BFU-E CFU-GEMM CFU-GM	M3434	400 ± 130 170 ± 70 3200 ± 800
CFU-Pre-B	M3630	1050 ± 30
BFU-E	M3436	720 ± 460

使用6-12周C57BL/6小鼠进行检测。数值表示的是平均数, 而范围表示为平均值 土标准偏差。

CFU-E: 红细胞集落形成单位; BFU-E: 爆式红细胞集落形成单位; CFU-GEMM: 粒细胞/红细胞/巨噬细胞/巨核细胞集落形成单位; CFU-GM: 粒细胞/巨噬细胞集落形成单位; CFU-Pre-B: pre-B细胞集落形成单位

<sup>\*</sup>使用EasySep™小鼠祖细胞分选试剂盒(产品号 #19856)分离小鼠骨髓和胎肝中Lin˙细胞。

#### 参考文献

- 1. Delaney C et al. (2010) Nat Med 16(2): 232-6.
- 2. Cutler C et al. (2013) Blood 122(17): 3074-81.
- 3. Leberbauer C et al. (2005) Blood 105(1): 85–94.
- 4. Cantù C et al. (2011) Blood 117(13): 3669-79.
- 5. Flygare J et al. (2011) Blood 117(12): 3435–44.
- 6. Heckl D et al. (2011) Blood 117(14): 3737-47.
- 7. Satchwell TJ et al. (2011) Blood 118 (1): 182-91.
- 8. Gaikwad A et al. (2007) Exp Hematol 35(4): 587–95.
- 9. Kumkhaek C et al. (2013) Blood 121(16): 3216-27.
- 10. Ohmine S et al. (2011) Stem Cell Res Ther 2(6): 46.
- 11. Lechman ER et al. (2012) Cell Stem Cell 11(6): 799-811.
- 12. Chin JY et al. (2013) Mol Ther 21(3): 580-7.
- 13. Boitano AE et al. (2010) Science 329(5997): 1345-8.
- 14. Fares I et al. (2014) Science 345(6203): 1509-12.
- 15. Pabst S et al. (2014) Nature Meth 11(4): 436-42.
- 16. Dexter TM et al. (1977) J Cell Physiol 91(3): 335-44.
- Gartner S & Kaplan HS (1980) Proc Natl Acad Sci USA 77(8): 4756–9.
- 18. Sutherland HJ et al. (1990) Proc Natl Acad Sci USA 87(9): 358-8.
- 19. Lemieux ME et al. (1995) Blood 86(4): 1339-74.
- Conneally E et al. (1997) Proc Natl Acad Sci USA 94(18): 9836–41.
- 21. Hogge DE et al. (1996) Blood 88(10): 3765-73.
- 22. Sutherland HJ et al. (1991) Blood 78(3): 666-72.
- 23. Ploemacher RE et al. (1991) Blood 78(10): 2527-33.
- 24. Sutherland HJ et al. (1989) Blood 74(5): 1563-70.
- 25. Prosper F et al. (1997) Blood 89(11): 3991-7.
- 26. Ponchio L et al. (1995) Blood 86(9): 3314-21.
- 27. Petzer AL et al. (1996) Proc Natl Acad Sci USA 93(4): 1470-4.
- 28. Petzer AL et al. (1996) J Exp Med 183(6): 2551-8.
- Zandstra PW et al. (1997) Proc Natl Acad Sci USA 94(9): 4698–703.
- 30. Fraser CC et al. (1990) Blood 76(6): 1071-6.
- 31. Stewart AK et al. (1997) Cancer Gene Ther 4(3): 148–56.
- 32. Zandstra PW et al. (1994) Biotechnology 12(9): 909-14.
- 33. Kogler G et al. (1998) Bone Marrow Transplant Suppl 3: S48–53.
- 34. Cashman JD et al. (1990) Blood 75(1): 96-101.
- 35. Eaves CJ et al. (1991) Blood 78(1): 110-7.

- 36. Verfaille CM (1993) Blood 82(7): 2045-53.
- 37. Ghaffari S et al. (1997) Br J Haematol 97(1): 22-8.
- 38. Udomsakdi C et al. (1992) Proc Natl Acad Sci USA 89(13): 6192-6.
- 39. Eaves CJ et al. (1993) Proc Natl Acad Sci USA 90(24): 12015-9.
- 40. Petzer AL et al. (1996) Blood 88(6): 2162-1.
- 41. Ailles LE et al. (1997) Blood 90(7): 2555-64.
- 42. Maciejewski JP et al. (1996) Blood 88(6): 1983-91.
- 43. Cavazzana-Calvo M et al. (1996) Blood 88(10): 3901-9.
- 44. Gong JH et al. (1994) Leukemia 8(4): 652-8.
- 45. Eaves CJ (1995) (E Beutler, MA Lichtman, BS Coller, TJ Kipps, eds.) Williams Hematology, Vol. 5: L22-6 McGraw-Hill, Inc.
- 46. Broxmeyer HE et al. (2003) Proc Natl Acad Sci USA 100(2): 645-50.
- 47. Guimond M et al. (2000) Blood 100(2): 375-82.
- 48. Itoh T et al. (2003) Transfusion 43(9): 1303-8.
- 49. Koliakos G et al. (2007) Cytotherapy 9(7): 654-9.
- 50. Rubinstein P et al. (1995) Proc Natl Acad Sci USA 92(22): 10119–22.
- 51. Slaper-Coretenbach IC et al. (1999) Rheumatology 38(8): 751-4.
- 52. Timeus F et al. (2003) Haematologica 88(1): 74-9.
- 53. Balducci E et al. (2003) Stem Cells 21(1): 33–40.
- 54. Ito CY et al. (2010) Blood 115(2): 257-60.
- 55. Douay L et al. (1986) Exp Hematol 14(5): 358-65.
- 56. Haas R et al. (1995) Blood 85(12): 3754-61.
- 57. Jagannath S et al. (1992) Blood 80(7): 1666–72.
- 58. Marit G et al. (1998) Leukemia 12(9): 1447–56.
- 59. Sagaster V et al. (2003) Haematologica 88(11): 1204–12.
- 60. Alonso JM 3rd et al. (2001) Cytotherapy 3(6): 429-33.
- 61. Spitzer G et al. (1980) Blood 55(2): 317-23.
- 62. Migliaccio AR et al. (2000) Blood 96(8): 2717–22.
- 63. Iori AP et al. (2004) Bone Marrow Transplant 33(11): 1097–105.
- 64. Yoo KH et al. (2007) Bone Marrow Transplant 39(9): 515–21.
- 65. Prasad VK et al. (2008) Blood 112(7): 2979-89.
- 66. Page KM et al. (2011) Biol Blood Marrow Transplant 17(9): 1362-74.
- 67. Frostad S et al. (1998) Stem Cells 16(5): 334-42.
- 68. Mayani H et al. (1993) Blood 81(12): 3252-8.
- 69. Qureshi SA et al. (1999) Proc Natl Acad Sci USA 96(21): 12156–61.
- 70. Schwartz GN et al. (1996) Stem Cells 14(3): 337-50.
- 71. Gribaldo L et al. (1999) Exp Hematol 27(11): 1593-8.
- 72. Pessina A et al. (2003) Toxicol Sci 75(2): 355-67.

- 73. Pessina A et al. (2001) Toxicol In Vitro 15(6): 729-40.
- 74. Volpe DA & Warren MK (2003) Toxicol In Vitro 17(3): 271-7.
- 75. Quintas-Cardama A et al. (2010) Blood 115(15): 3109-17.
- 76. Conneally E et al. (1996) Blood 87(2): 456-64.
- 77. Dobo I et al. (1995) J Hematother 4(4): 281–7.
- 78. Berthier R et al. (1993) Stem Cells 11(2): 120-9.
- 79. Hogge D et al. (1997) Br J Haematol 96(4): 790-800.
- 80. Casati S et al. (2003) Toxicol In Vitro 17(1): 69-75.
- 81. Pessina A et al. (2009) Toxicol In Vitro 23(1): 194-200.
- 82. Parent-Massin D (2001) Cell Biol Toxicol 17(2): 87–94.
- 83. Van den Heuvel RL et al. (2001) Cell Biol Toxicol 17(2): 107-16.
- 84. Pyatt DW et al. (2000) Mol Pharmacol 57(3): 512-8.
- 85. Freund YR et al. (2002) Toxicol Appl Pharmacol 181(1): 16–26.
- 86. Froquet R et al. (2001) Toxicol In Vitro 15(6): 691-9.
- 87. Gribaldo L et al. (2000) Toxicol Sci 58(1): 96-101.
- 88. Gonzalez-Cid M et al. (2000) Cell Biol Toxicol 16(4): 235-41.

版权所有® STEMCELL Technologies Inc. 2019。保留一切权利,包括图形和图像。STEMCELL Technologies和其设计及徽标,以及Scientists Helping Scientists、ErythroClear、HetaSep、StemSpan、MyeloCult、MethoCult、STEMvision、SmartDish、STEMgrid、MegaCult、EasySep、RoboSep、RosetteSep和Sepmate均是STEMCELL Technologies Inc.的注册商标。ALDEFLUOR是Aldagen、Inc的注册商标。Lymphoprep是AXIS-SHIELD的注册商标。CryoStor、HypoThermosol和BloodStor均是BioLife Solutions的注册商标。X-VIVO和HPGM是Lonza Group Ltd的注册商标。StemPro是Life Technologies Inc的注册商标。CellGro是CellGenix GmbH的注册商标。Stemline是Sigma-Aldrich Co. LLC的注册商标。其他注册商标为各自持有人的产权。STEMCELL及力确保STEMCELL及其供应商提供的信息正确无误,对此类信息的注册简格也完整性不作任何保证或声明。

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。

# YOUR IDEAS. OUR TOOLS.

为您提供造血干细胞和祖细胞研究各个 步骤的相关产品



STEMCELL Technologies China Co. Ltd. 电话: 400 885 9050 E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM 网站: WWW.STEMCELL.COM 微信ID: STEMCELLTech

