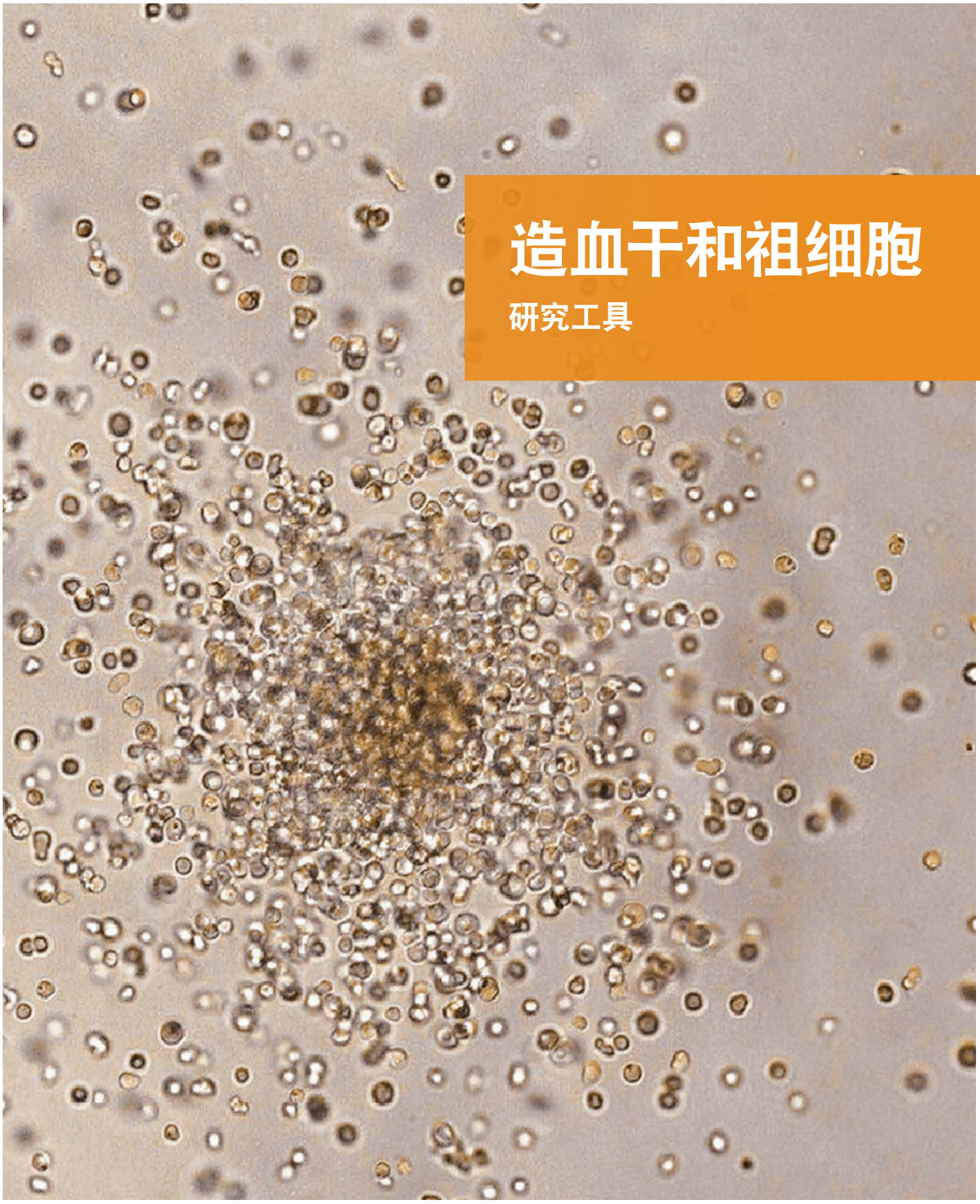


造血干和祖细胞

研究工具

STEMCELL™ TECHNOLOGIES

Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

目录

简介

4 总览
5 造血细胞治疗研究工作流程

细胞来源与分选

6 人原代造血细胞
8 细胞分选产品及平台
8 EasySep™
8 RoboSep™
9 SepMate™
10 RosetteSep™
14 EasySep™红细胞去除试剂
15 HetaSep™
16 冷冻保存液

扩增与分化

17 StemSpan™扩增培养基及添加物
18 cGMP StemSpan™培养基
22 小分子
23 STEMdiff™ 试剂盒
24 STEMdiff™ 巨核细胞试剂盒
24 STEMdiff™ 红细胞试剂盒
25 重组细胞因子

鉴定

26 MyeloCult™
28 MethoCult™
32 STEMvision™
35 SmartDish™和STEMgrid™-6
36 MegaCult™
37 抗体与ELISA试剂盒
38 ALDH检测试剂盒

产品支持与服务

39 组织培养试剂和耗材
40 Proficiency Testing（熟练度测试）和QC试剂盒
41 培训课程和教学材料
42 合同服务
44 细胞治疗定制服务

参考文献

45 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。

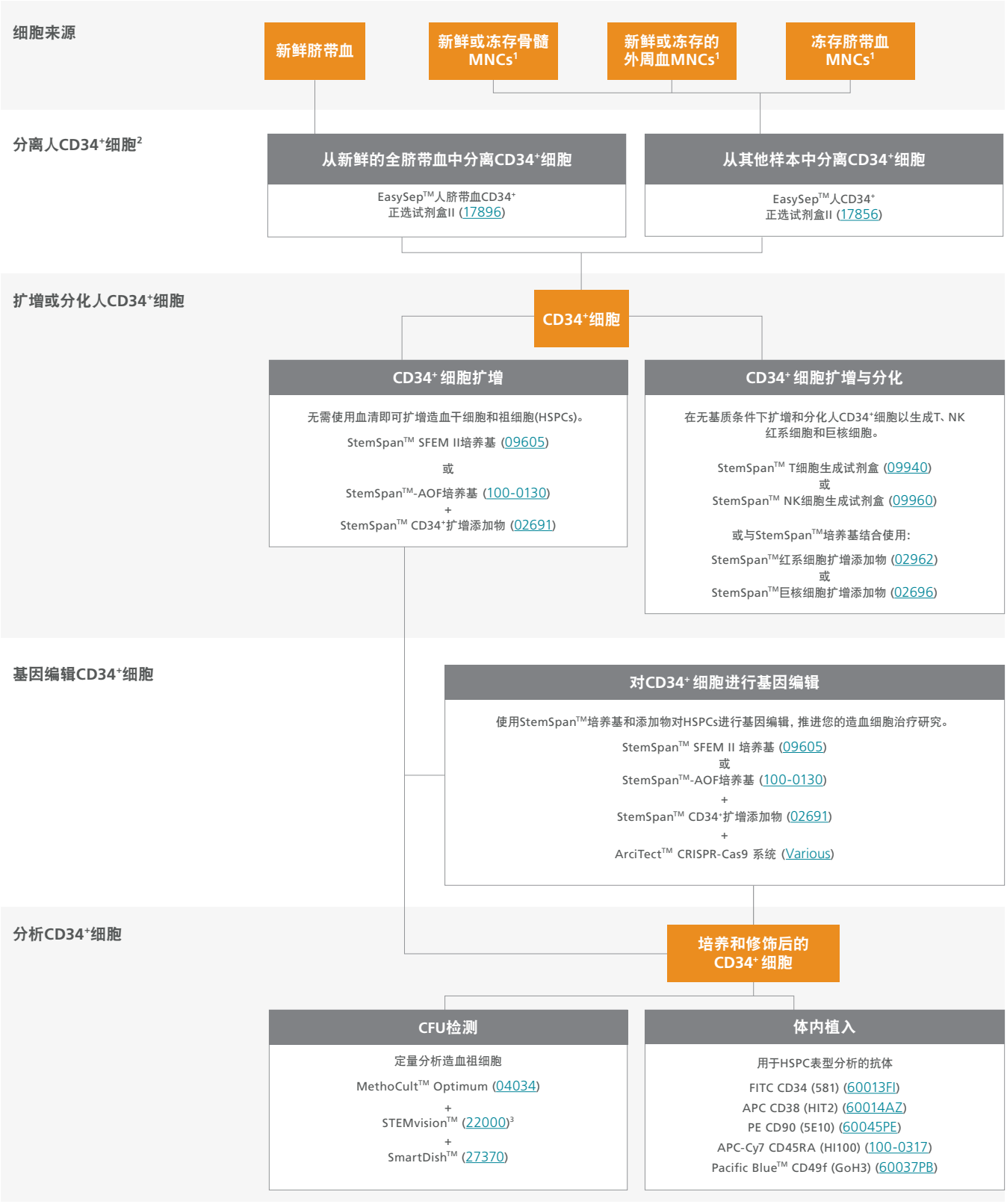
可用于HSPC研究中各个步骤的STEMCELL产品

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	MyeloCult™
细胞分选产品及平台 • EasySep™ • RoboSep™ • SepMate™ • RosetteSep™ • ErythroClear™ • HetaSep™	StemSpan™扩增添加物	MethoCult™
	用于将hPSCs[1]分化为造血祖细胞的STEMdiff™试剂盒	STEMvision™
冷冻保存液	重组细胞因子	MegaCult™
	小分子	ALDH[br]检测试剂盒
		抗体和ELISA试剂盒
		Proficiency Testing Programs
		合同服务

1. hPSCs: 人多能干细胞

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

造血细胞治疗研究工作流程



1. *MNCs:* 单个核细胞
2. 查看*Human CD34+ Cell Isolation Product Selection Infographic*, 获取完整的建议列表。
3. 可能需要对特定的应用进行额外验证。

人原代造血细胞

一切均开始于使用正确的细胞

细胞来源及分选 | **扩增与分化** | **检测分析**

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?

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。

符合伦理。在监管机构批准的同意书和方案下收集捐赠者样本。

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）。

资源

有关原代细胞的常见问题
www.stemcell.com/primarycellsfaqs

*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。

**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（1&2）、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（1&2）、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。

产品列表

冻存的人脐带血产品*

说明	规格	产品号 #
单个核细胞	15 x 10^6个细胞	70007.1
	50 x 10^6个细胞	70007.2
	150 x 10^6个细胞	70007
$CD34^+$细胞（来自多个捐赠者）	0.2 x 10^6个细胞	70008.1
	0.5 x 10^6个细胞	70008.3
	1 x 10^6个细胞	70008
	5 x 10^6个细胞	70008.6
$CD34^+$细胞（来自单个捐赠者）[3]	0.2 x 10^6个细胞	70008.2
	0.5 x 10^6个细胞	70008.4
	1 x 10^6个细胞	70008.5
$CD36^+$细胞[4]	1 x 10^6个细胞	70009

冻存的人骨髓产品*

说明	规格	产品号 #
单个核细胞	5 x 10^6个细胞	70007.1
	15 x 10^6个细胞	70007.2
	25 x 10^6个细胞	70001
	50 x 10^6个细胞	70001.3
	100 x 10^6个细胞	70001.4
$CD34^+$细胞[5]	0.1 x 10^6个细胞	70002.1
	0.3 x 10^6个细胞	70002.2
	0.5 x 10^6个细胞	70002.3
	1 x 10^6个细胞	70002
	2 x 10^6个细胞	70002.4
	5 x 10^6个细胞	70002.5
$CD36^+$细胞	1 x 10^6个细胞	70003

冻存的人外周血产品*

说明	规格	产品号 #
单个核细胞（MNCs）	15 x 10^6个细胞	70025.1
	25 x 10^6个细胞	70025.2
	50 x 10^6个细胞	70025.3
	100 x 10^6个细胞	70025
$CD34^+$细胞	0.2 x 10^6个细胞	70040
	0.5 x 10^6个细胞	70040.1
	1 x 10^6个细胞	70040.2

冻存的人动员外周血产品*

说明	规格	产品号 #
G-CSF动员单个核细胞	5 x 10^6个细胞	70049.4
	15 x 10^6个细胞	70049.2
	25 x 10^6个细胞	70049.3
	50 x 10^6个细胞	70049.1
	100 x 10^6个细胞	70049
G-CSF动员$CD34^+$细胞	0.2 x 10^6个细胞	70060.2
	1 x 10^6个细胞	70060.1
	5 x 10^6个细胞	70060
	10 x 10^6个细胞	70060.3
	20 x 10^6个细胞	70060.4
G-CSF和Plerixafor动员单个核细胞	5 x 10^6个细胞	70072.4
	15 x 10^6个细胞	70072.2
	25 x 10^6个细胞	70072.3
	50 x 10^6个细胞	70072.1
	100 x 10^6个细胞	70072
G-CSF和Plerixafor动员$CD34^+$细胞	0.2 x 10^6个细胞	70023.2
	1 x 10^6个细胞	70073.1
	5 x 10^6个细胞	70073
	10 x 10^6个细胞	70073.3
	20 x 10^6个细胞	70023.4
Plerixafor动员单个核细胞	5 x 10^6个细胞	70074.4
	15 x 10^6个细胞	70074.2
	25 x 10^6个细胞	70074.3
	50 x 10^6个细胞	70074.1
	100 x 10^6个细胞	70074
Plerixafor动员$CD34^+$细胞	0.2 x 10^6个细胞	70075.2
	1 x 10^6个细胞	70075.1
	5 x 10^6个细胞	70075
	10 x 10^6个细胞	70075.3
	20 x 10^6个细胞	70075.4

如需新鲜和冻存产品的完整列表，请访问 www.stemcell.com/human-primary-cells-products。

*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。

1. 完整规格的白细胞通常包含1.1 ± 0.3 x 10^{10}细胞，体积约为120 mL。
2. ACDA: 酸性柠檬酸葡萄糖溶液A (acid citrate dextrose solution A)。
3. 脐带血来源的$CD34^+$细胞（来自单个捐赠者）还可提供其他规格，例如60万个细胞、70万个细胞和80万个细胞。
4. 培养的细胞产品。
5. 对于骨髓来源的$CD34^+$细胞，还可提供其他规格，例如30万个细胞和50万个细胞。

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。EasySep™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。

*每款试剂盒所需的时间取决于各自的分选流程。下一代负选方案无需磁珠孵育步骤。

图2. EasySep™分选人细胞的操作流程

RoboSep™

RoboSep™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™试剂后，RoboSep™-S和RoboSep™-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™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™）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。

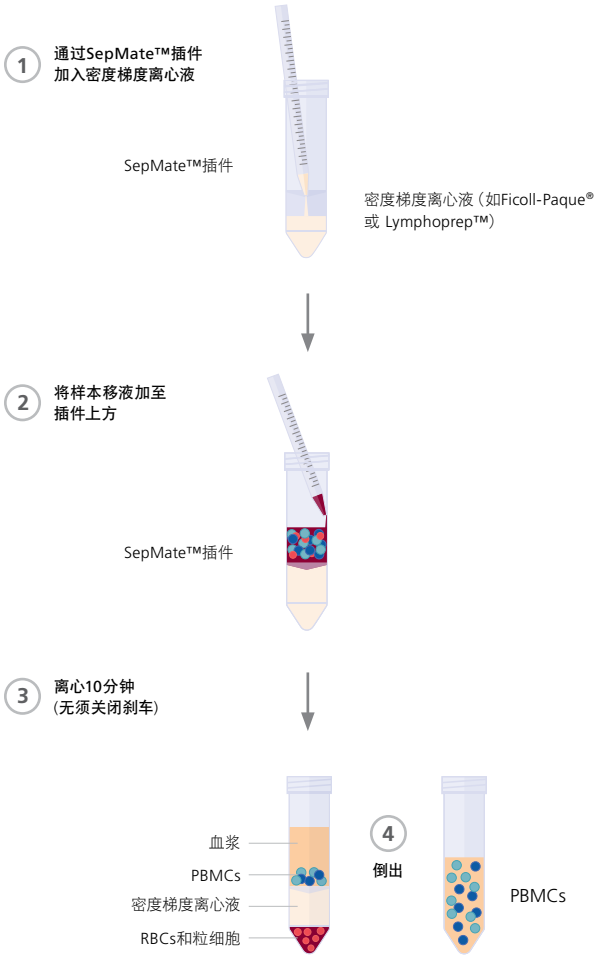


图3. SepMate™流程

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	产品号#	处理的血液体积	规格
SepMate™-15 (IVD[1])	85415	0.5 - 5 mL	100 tubes
SepMate™-15 (RUO[2])	86415		
SepMate™-50 (IVD[1])	85450	4 - 17 mL	
SepMate™-50 (RUO[2])	86450		
产品名称	**产品号#**	**密度**	**规格**
Lymphoprep™	07801 07851 07811 07861	1.077 g/mL[3]	250 mL 500 mL 4 x 250 mL 6 x 500 mL

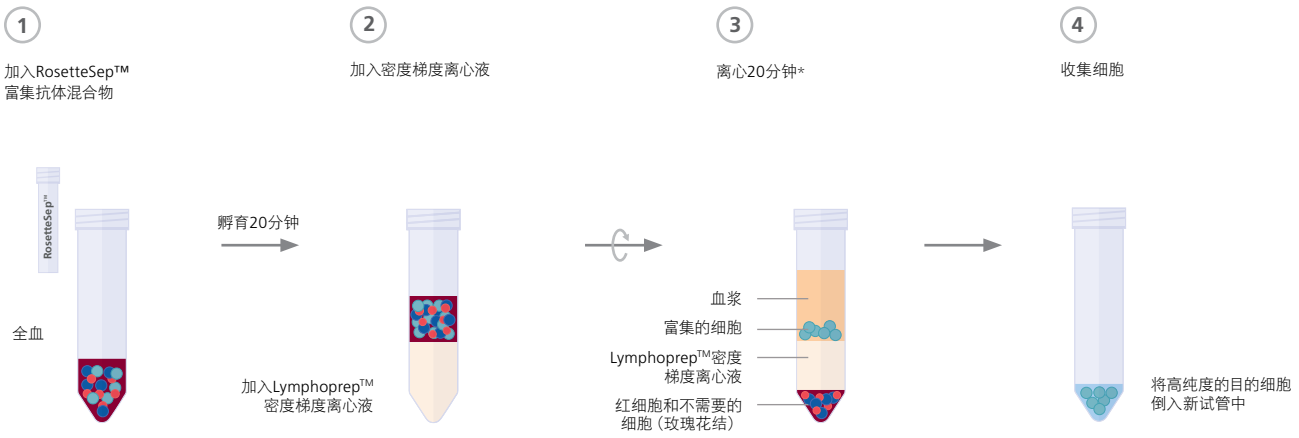
1. SepMate™（IVD）仅在加拿大、美国、欧洲和澳大利亚被注册为体外诊断（MD）设备，以用于通过密度梯度离心从人全血、脐带血和骨髓中分离出单个核细胞。该产品也在中国出售，被中国食品药品监督管理局（CFDA）认定为非医疗器械，因此可被用于一般实验室设备。
2. SepMate™ RUO在未被注册为IVD设备的区域仅供研究使用（RUO = Research Use Only）。
3. Lymphoprep™与Ficoll-Paque®具有相同的密度，可代替Ficoll-Paque®而无需改变现有的实验流程。Lymphoprep™仅供研究使用（RUO）。

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Lymphoprep™），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。

RosetteSep™使用流程



*使用SepMate™将离心时间缩短至10分钟（不关闭刹车）。

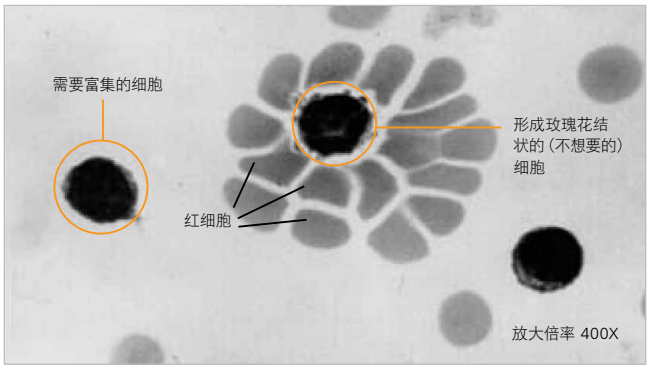


图4. 加入RosetteSep™试剂后，进行密度梯度离心之前的血液样本。

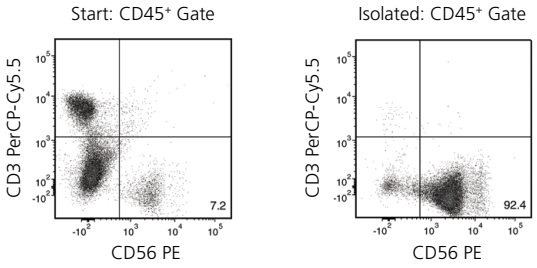


图5. RosetteSep™人NK 细胞富集抗体混合物（产品号#15025）。

从全外周血开始，富集分离后的NK细胞含量（以CD45⁺细胞为门）通常在80–98%范围内。如上图中，起始的NK细胞和分离后的NK细胞纯度分别为7.2%和92.4%。

RosetteSep™和SepMate™

简单和标准化的细胞分离

RosetteSep™可与SepMate™结合使用，快速、可重复地从全血中分离PBMC 亚型。通过使用独特的SepMate™管，可以提高样品通量，并避免与样品分层不当相关的错误。此外，操作者只需接受简单的培训，就能够通过密度梯度离心持续进行细胞分离。

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。

产品列表

来源	产品名称	纯度[1]	规格	产品号 #
动员后的 PBMCs、CBMCS、BMMCS	EasySep™人CD34正选试剂盒	84 – 99%	用于标记多达5 x 10^9个细胞	18056[2]
	EasySep™人CD34正选试剂盒II	93.5 ± 1.1%		17856, 17856RF
	RoboSep™人CD34正选试剂盒	84 – 99%		18056RF[2]
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白膜层）	18086
	EasySep™人全血CD34正选试剂盒II			17879, 17879RF
	RoboSep™人全血CD34正选试剂盒			18086RF
全血	人全血CD34$^+$细胞完全试剂盒	79 – 95%	用于标记120 mL全血	15086
	RoboSep™人全血CD34$^+$细胞完全试剂盒			15086RF
新鲜脐带血	EasySep™人脐带血CD34正选试剂盒II	91 ± 9%	用于标记1000 mL脐带血	17896[3, 4]
	RoboSep™人脐带血CD34正选试剂盒II			17896RF[3, 4]
	EasySep™人脐带血CD34正选试剂盒III	87 ± 12%		17897[4]
	RoboSep™人脐带血CD34正选试剂盒III			17897RF[4]
hESC和hiPSC培养	EasySep™ hESC来源CD34正选试剂盒	84 – 99%	用于标记多达5 x 10^9个细胞	18167

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]

产品列表

来源	产品名称	纯度[1]	规格	产品号 #
动员后的 PBMCs、BMMCs	EasySep™人祖细胞富集试剂盒	42 ± 5倍的$CD34^+$细胞富集（骨髓）	用于标记多达1 x 10^9个细胞	19056
	RoboSep™人祖细胞富集试剂盒			19056RF
PBMCs、CBMCs	去除血小板的EasySep™人祖细胞富集试剂盒	50 – 75%	用于标记多达1 x 10^9个细胞	19356[2]
	去除血小板的RoboSep™人祖细胞富集试剂盒			19356RF[2]
骨髓	RosetteSep™人骨髓祖细胞预富集抗体混合物	25 ± 10倍的$CD34^+$细胞富集	用于标记40 mL骨髓	15027
			用于标记200 mL骨髓	15067
脐带血	RosetteSep™人造血祖细胞富集抗体混合物II	77.5 ± 16.0%	1 x 10^9个细胞	15276
	RosetteSep™人造血祖细胞富集抗体混合物	29 ± 9%	用于标记40 mL脐带血	15026
			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%	用于标记500 mL脐带血	15276
PBMCs BMMCs CBMCs	StemSep™人造血祖细胞富集试剂盒	74 – 88% 30 – 50% 45 – 61%	用于标记多达1 x 10^9个细胞	14056
			用于标记多达5 x 10^9个细胞	14066
脐带血	RosetteSep™人脐带血减积抗体混合物	5 ± 1%（$CD34^+$细胞）	用于标记40 mL脐带血	15126[3]
			用于标记200 mL脐带血	15166[3]

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$^+$细胞	骨髓	EasySep™小鼠SCA1正选试剂盒	87 – 97%	用于标记多达2 x 10^9个细胞	60001抗小鼠CD11b抗体 60006抗小鼠CD19抗体 60015抗小鼠CD3抗体 60019抗小鼠CD45R抗体 60028抗小鼠Gr-1抗体 60033抗小鼠TER119抗体	18756
		RoboSep™小鼠SCA1正选试剂盒			60032抗小鼠SCA1抗体	18756RF
CD117$^+$（c-KIT）细胞	骨髓	EasySep™小鼠CD117（c-KIT）正选试剂盒	88 – 95%	用于标记多达2 x 10^9个细胞	60001抗小鼠CD11b抗体 60006抗小鼠CD19抗体 60015抗小鼠CD3抗体 60019抗小鼠CD45R抗体 60028抗小鼠Gr-1抗体 60033抗小鼠TER119抗体	18757
		RoboSep™小鼠CD117（c-KIT）正选试剂盒			60025抗小鼠CD117 (c-KIT)抗体 60034抗小鼠CD117 (c-KIT)抗体	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 #
造血祖细胞	骨髓	EasySep™小鼠造血祖细胞分选试剂盒	60 – 84%	用于标记多达1 x 10^9个细胞	60001抗小鼠CD11b抗体 60006抗小鼠CD19抗体 60015抗小鼠CD3抗体 60019抗小鼠CD45R抗体 60028抗小鼠Gr-1抗体 60033抗小鼠TER119抗体	19856
		RoboSep™小鼠造血祖细胞分选试剂盒				19856RF
		StemSep™小鼠造血祖细胞富集试剂盒	—	用于标记多达1 x 10^9个细胞		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）。

EasySep™红细胞去除试剂

温和、无需裂解的白细胞纯化

在许多实验室中，从人全血样本中获取白细胞的标准方案包括密度梯度离心或用氯化铵裂解红细胞（RBCs）。然而，这些方法可能非常耗时、难以自动化，并且残留的细胞碎片可能会改变细胞功能或干扰下游检测。

EasySep™红细胞去除试剂可通过免疫磁珠去除红细胞，无需裂解、洗涤或离心步骤。以此得到的高纯度白细胞无需处理即可用于下游应用，包括细胞培养、RNA提取或酶活性测试。EasySep™红细胞去除试剂还可用于脐带血、骨髓、白膜层（buffy coats）和白细胞单采术样本，以满足实验室分离白细胞的需求。

为何使用EasySep™红细胞去除试剂?

温和。避免裂解、离心或额外的洗涤步骤。

可靠。通过免疫磁珠去除99.9%的红细胞，避免留下可能干扰下游检测的细胞碎片。

快速。只需9分钟即可获得白细胞。

便捷。使用RoboSep™仪器自动处理血液样本，提高实验通量。

EasySep™红细胞去除试剂

产品名称	规格	产品号 #
EasySep™红细胞去除试剂	100 mL	18170
用于RoboSep™的 EasySep™红细胞去除试剂	100 mL	18170RF

欲了解更多信息，请访问
www.stemcell.com/RBCdepletion。

HetaSep™

红细胞聚积

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™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™去除RBC既快速且只需使用50 µL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。

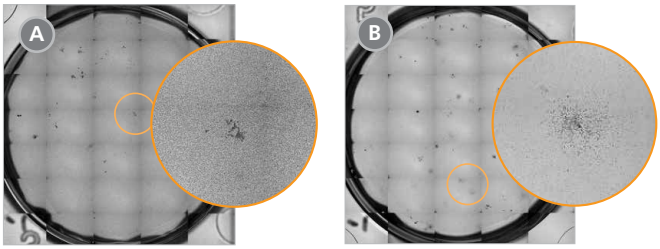


图6. 预先使用HetaSep™去除和不去除RBCs的新鲜脐带血样本在接种于MethoCult™ Express培养基中进行7天CFU检测后分别得到的STEMvision™图像

（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）。

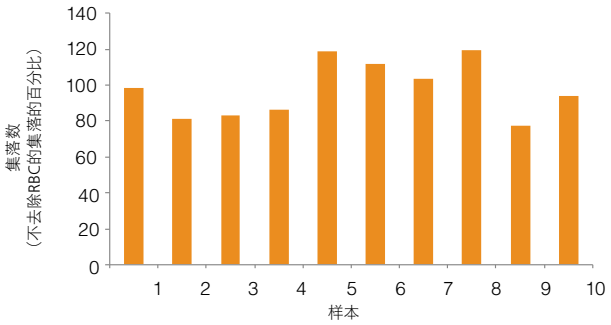


图7. 使用HetaSep™去除RBC后，集落形成单位的平均回收率达到97%

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。对CFU检测进行手动计数，计算每个去除RBC组分中集落的百分比（以来自同一供体的不去除红细胞的CFU检测结果为基准）。

冷冻保存液

经cGMP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。STEMCELL Technologies所提供的以cGMP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，且可使细胞复苏率达到最高。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。
- U.S. FDA Drug Master File（DMF）

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°C下运输（而非低温冻存）。
- U.S. FDA Drug Master File（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）。

产品信息

产品	产品号 #	规格
CryoStor® CS10	100-1061	100 mL
	07955	100 mL袋装
	07940	1000 mL袋装
	07931	5 x 16 mL小管包装
	07959	5 x 10 mL小管包装
	07952	16 x 10 mL小管包装
CryoStor® CS5	07933	100 mL
	07953	100 mL袋装
	07949	5 x 10 mL小管包装
CryoStor® CS2	07932	100 mL
HypoThermosol® FRS	07935	100 mL
	07936	500 mL
	07945	500 mL袋装
	07934	16 x 10 mL小管包装
BloodStor® 55-5	07950	1000 mL袋装
	07937	16 x 7.2 mL小管包装
BloodStor® 100	07951	50 mL
	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

StemSpan™扩增培养基包括无血清、无异源且无动物成分的配方。StemSpan™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。StemSpan™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StemSpan™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。[1,2]
- 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。[11,12]

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
无血清	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BSA、胰岛素、转铁蛋白和添加物
	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	
无动物源成分	StemSpan™-AOF	100-0130 (500 mL)	在不含人或动物源组分中培养和扩增人HSPCs，以满足更高的合规要求（比如：细胞治疗产品的生产）	IMDM中加入了重组蛋白和合成组分
无异源	StemSpan™-XF	100-0073 (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
无动物成分	StemSpan™-ACF 红系扩增培养基	09860 (500 mL)	在不含人或动物源成分的情况下培养和扩增人红系细胞	仅含重组和合成组分

BSA：牛血清白蛋白，IMDM:Iscove's Modified Dulbecco's Medium。
*包含预测试的人源和重组人蛋白。

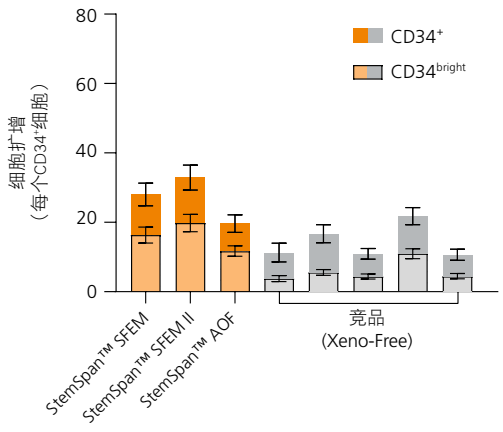


图8. 相比于其它同时测试的培养基，含CD34⁺扩增添加物的StemSpan™ SFEM II无血清扩增培养基可更好地支持人CD34⁺细胞和CD34^{bright}细胞的扩增

将纯化的CB来源的CD34⁺细胞在StemSpan™培养基（StemSpan™ SFEM、StemSpan™ SFEM II、StemSpan™–XF或StemSpan™–AOF，橙色条）以及来自以下公司的5种无异源培养基中培养7天，5种商业培养基（灰色条）包括（随机顺序）CTS™ StemPro™ HSC（Thermo）、SCGM（Cellgenix）、X–VIVO™ 15（Lonza）、Stemline™ II（Sigma）和StemPro™–34（Thermo）。所有培养基均添加有StemSpan™ CD34⁺扩增添加物和UM171*。根据活细胞计数和流式细胞术检测培养物中具有活性的CD34⁺和CD34^{bright}细胞的扩增情况。结果显示，在StemSpan™中培养的CD34⁺和CD34^{bright}细胞的扩增显著较高，而StemSpan™–AOF是唯一一种无动物源配方，其表现出与所有测试的无异源商业培养基相当的性能。呈现的数据为平均值±SEM (n = 8)。

注意：所示的StemSpan™–AOF数据是使用原始的含酚红版本的StemSpan™–ACF（产品号 #09855）生成的。然而，内部测试表明，新的不含酚红、cGMP生产的StemSpan™–AOF（产品号 #100 0130）与StemSpan™–ACF具有相似的性能。

*当使用终浓度为1µM的UM729（产品号 #72332）时，预计会得到类似的结果。有关更多信息，包括比较UM171和UM729的数据，请参阅Fares et al., 2014。

StemSpan™–AOF

以cGMP标准生产，用于细胞治疗研究

造血干细胞和祖细胞（HSPCs）广泛应用于细胞和基因治疗。当培养HSPCs用于细胞治疗研究时，非常重要的一点是尽量保证细胞培养基的稳定性，减少细胞体外培养的风险，从而确保细胞治疗的一致性、可重复性和安全性。无论您正在进行基础研究或是准备向临床转化，StemSpan™–AOF培养基都将最大限度地降低细胞治疗研究中病毒污染的风险。StemSpan™–AOF根据相关cGMP标准生产，确保最高的质量和一致性，从而获得可重复的结果。此外，StemSpan™–AOF仅包含重组蛋白和合成组分，不含血清或人动物来源的成分，为您规避法规上的监管阻碍，使之更容易向临床转化。

StemSpan™–AOF用于基因编辑应用

对HSPCs进行基因编辑的能力可以极大地促进我们对造血调节机制的理解，并有助于开发新型细胞疗法。StemSpan ™–AOF能够支持对造血干细胞进行CRISPR Cas9基因编辑，让您的细胞治疗研究达到更高的水准。

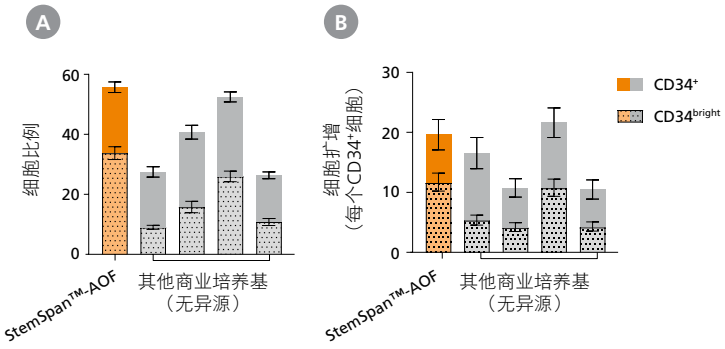


图9. StemSpan™–AOF相较于其他商业培养基，具有相当或更好的人CD34⁺和CD34^{bright}细胞扩增能力

纯化的脐带血（CB）来源的CD34⁺细胞在StemSpan™–AOF（橙色条）和其他供应商提供的四种无异源培养基（灰色条）中培养7天。图9所示分别为通过活细胞计数和流式细胞术检测的CD34⁺和CD34^{bright}细胞的（A）比例和（B）细胞扩增结果。StemSpan™–AOF是唯一的一种无动物源配方培养基，其性能与所有测试的无异源培养基相当，并提供了成分更确定的培养条件。所有培养基均添加了StemSpan™ CD34⁺扩增添加物和UM171*。

为什么在细胞治疗研究中使用StemSpan™–AOF?

安全。使用不含任何动物源的初级或次级原材料的培养基，最大限度地降低病毒污染的风险。

高效稳定。使用无血清和无动物源的培养条件确保实验的一致性。

灵活。通过添加StemSpan™扩增添加物、特殊的细胞因子或添加物来定制您的细胞培养条件，以满足您特定的细胞治疗研究需求。

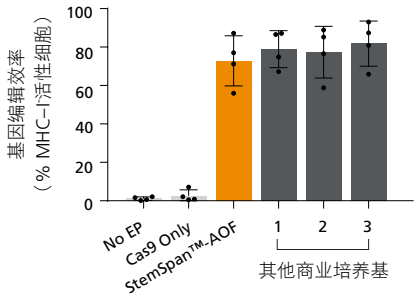


图9. 与其他测试的培养基相比，在StemSpan™–AOF中培养的人CD34⁺细胞显示出相当的基因编辑效率

在StemSpan™–AOF（橙色条）或不含异源的商业培养基（灰色条）中培养2天细胞，每种培养基均添加StemSpan™ CD34扩增添加物和175 nM UM171*，然后用包含crRNA的CRISPR–Cas9 RNP复合物进行电转（crRNA：靶向β2微球蛋白（B2M）的tracrRNA）。非电转（无EP）细胞和用Cas9电转的细胞（仅Cas9）在添加有StemSpan™ CD34⁺扩增添加物和175 nM UM171*的StemSpan™ SFEM II中培养。使用荧光团耦合的抗MHC–I抗体通过流式细胞术监测B2M敲除效率（% MHC–I⁻活性细胞）。

*当使用终浓度为1μM的UM729（产品号 #72332）时，预计会得到类似的结果。有关更多信息，包括比较UM171和UM729的数据，请参阅Fares et al., Science, 2014。

HSPCs的体内移植

判断造血细胞治疗产品质量的最佳方法之一是评估其静脉注射至免疫缺陷小鼠（例NSG小鼠）后的移植和多谱系分化潜力。HSPCs的"干性"可能受到许多参数的影响，例如用于扩增和基因编辑的细胞处理方法和培养条件，这可能会影响细胞成功移植的能力。StemSpan™–AOF是市场上唯一的无动物源的cGMP培养基，与未培养的细胞相比，在StemSpan™–AOF中培养的CD34⁺细胞具有同等或更好的多谱系移植能力。

接下来继续了解StemSpan™–AOF如何支持NSG小鼠中脐带血来源的CD34⁺细胞的移植和扩增:

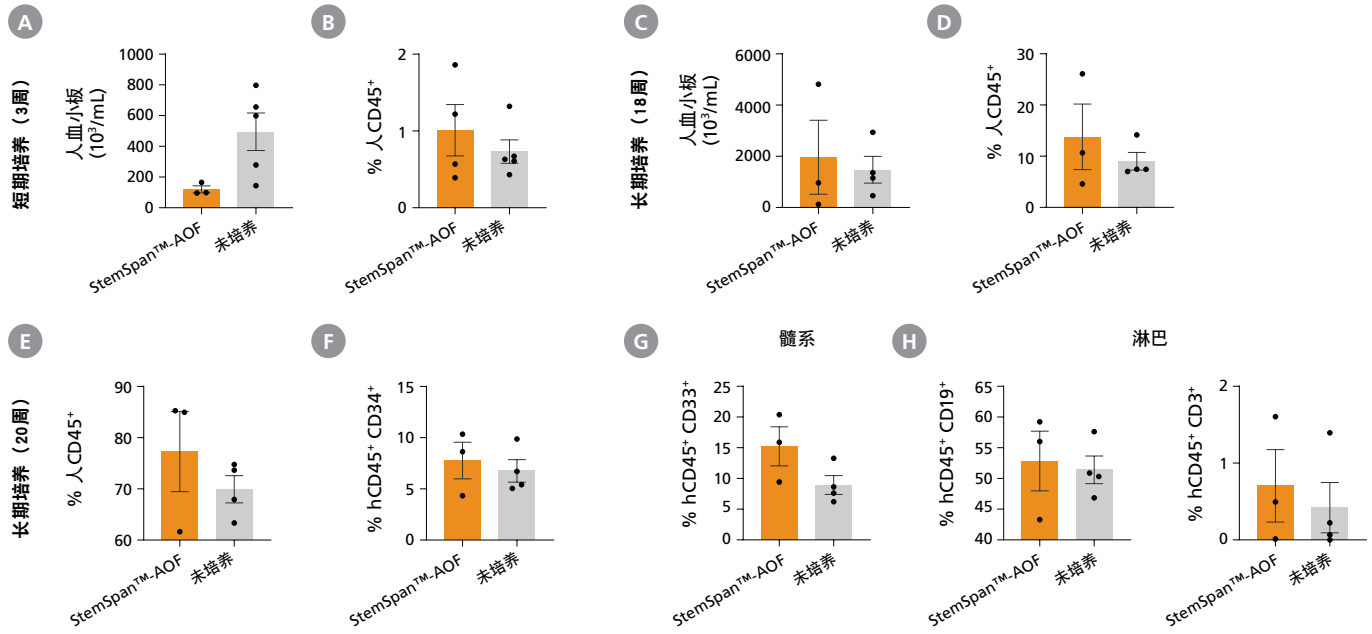


图9. 与其他测试的培养基相比，在StemSpan™–AOF中培养的人CD34⁺细胞显示出相当的基因编辑效率

将纯化的脐带血来源的CD34⁺细胞在添加有StemSpan™ CD34⁺扩增添加物和UM729（1 µM）的StemSpan™–AOF中培养7天。扩增7天后，将10,000个新鲜或未培养的CD34⁺子代细胞移植到亚致死辐射的NSG小鼠中。（A–D）移植后的第3周和18周，检测外周血中人血小板的数量和表达CD45的人细胞比例。图中显示的数据为平均值±SEM（n = 3–5 只小鼠）。（A）3 周时，与注射未培养细胞的小鼠相比，注射了经StemSpan™–AOF培养细胞的小鼠体内人血小板的移植率更低。（C）第18周时，扩增细胞和未培养细胞之间的血小板移植率没有显著差异。（B, D）移植了经StemSpan™–AOF培养细胞的小鼠与未培养细胞的小鼠中，人CD45⁺具有相似的细胞比例。（E–H）在第20周，在接受移植的NSG小鼠的骨髓中测定长期多谱系植入。显示的数据为平均值±SEM（n = 3–4 只小鼠）。（E, F）与移植未培养细胞的小鼠相比，移植StemSpan™–AOF扩增细胞的小鼠在小鼠骨髓中显示出相似的人CD45⁺和CD34⁺细胞比例。（G, H）与未培养的细胞相比，用StemSpan™–AOF扩增的细胞表现出相似的骨髓细胞（CD45⁺ CD33⁺）和淋巴细胞（CD45⁺ 19⁺ B 细胞和CD45⁺ CD3⁺ T细胞）植入水平。

将您的研究向临床转化

STEMCELL的细胞治疗定制服务拥有一支专家团队，他们可以通过提供个性化的解决方案（例如质量文档、附加产品测试和定制产品生产）来帮助支持您的监管备案。若想详细了解我们如何支持您的临床前和临床研究需求，请访问我们的网站:
www.stemcell.com/services/cell-therapy.html。

细胞治疗学习中心

查看更多资源，帮助您更好地临床转化
www.stemcell.com/hsc-learning

CD34⁺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⁺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⁺细胞扩增的刺激类似，但具有更高的纯度	rhFlt3L, rhSCF, rhTPO
StemSpan™ CD34⁺ 扩增添加物	02691 (10 mL, 10X)	推荐用于选择性扩增人CD34⁺ HSPCs 比CC100和CC110对CD34⁺细胞的扩增能力更好	rhFlt3L, rhSCF, rhIL-6, rhTPO 其他添加物

rh – 重组人。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	StemSpan™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⁺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。欲了解HSPCs扩增和分化的完整产品列表，请访问**www.stemcell.com/HSPCworkflow**

对培养的人祖细胞进行分化

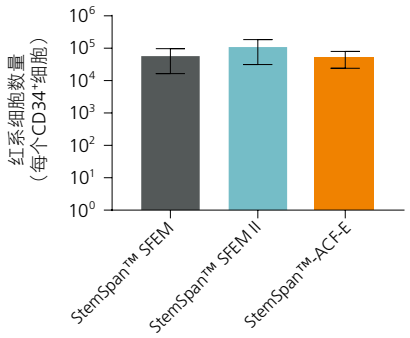


图12. 含红系细胞扩增添加物的StemSpan™培养基中扩增和分化人脐带血CD34⁺细胞

在含有StemSpan™红系细胞扩增添加物（产品号 0269202692）的StemSpan™ SFEM（黑色柱形图）、SFEM II（蓝色柱形图）或StemSpan™–ACF红系细胞扩增培养基（ACF–E，橙色柱形图）中培养纯化的CD34⁺ CB细胞（n = 5），14 天后统计产生的红系细胞平均数量。如图显示的是每个CD34⁺细胞对应的表达CD71和/或Glycophorin A（GlyA）的红系细胞数量。

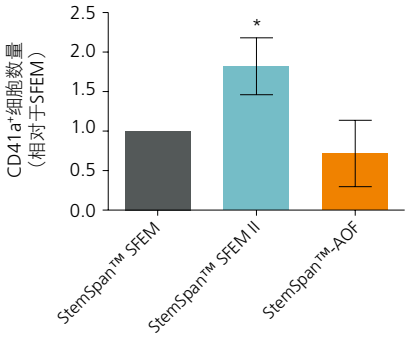


图13. 在含巨核细胞扩增添加物的StemSpan™培养基中扩增和分化的人脐带血CD34⁺细胞

在含巨核细胞扩增添加物的StemSpan™ SFEM（灰色柱形图）、SFEM II（蓝色柱形图）和AOF（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CD41a⁺细胞数量显著高于在SFEM和AOF中生成的细胞数量（*p < 0.01；成对t检验，n = 6）。

注意：StemSpan™–AOF数据是使用原始的含酚红版本的StemSpan™–ACF（产品号 #09855）生成的。然而，内部测试表明，新的不含酚红、cGMP制造版本的StemSpan™–AOF（产品号 #100–0130）与StemSpan™–ACF 具有相似的性能。

淋巴扩增与分化

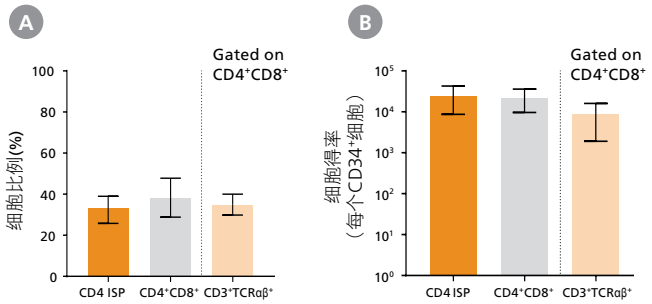


图14. 培养42天后CD4未成熟单阳性细胞和CD4⁺CD8⁺双阳性细胞的比例和得率

CD34⁺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⁺CD8⁺双阳性细胞和表达CD3⁺TCRαβ⁺的双阳性细胞（CD4⁺CD8⁺CD3⁺TCRαβ⁺）的平均（A）比例和（B）得率。竖线表示95%的置信区间（n=31）。大体上，CD4⁺CD8⁺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⁺细胞的双阳性细胞总数约为23,000。

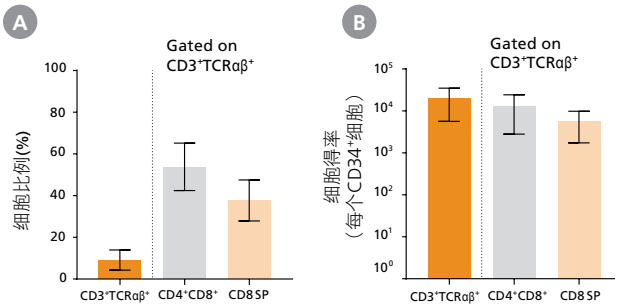


图15. 培养49天后CD8单阳性T细胞比例和得率

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）得率。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⁺）。

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[13-15]。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[13-15]。UM729最初是在筛选能促进人$CD34^+$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-ActivityRelationship，SAR）以开发UM171[14-15]。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[15]。

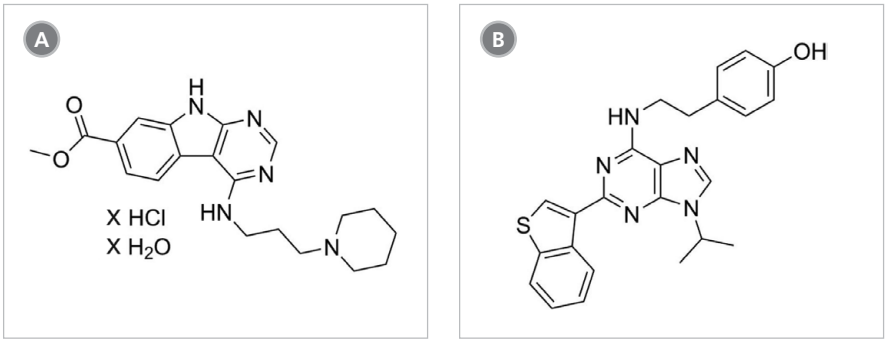


图16. UM729和StemRegenin 1的化学结构

(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	产品号 #	规格	通路/靶点	应用
UM729	72332	250 µg	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	Aryl hydrocarbon受体（AhR）拮抗剂	• 在体外维持和扩增人HSPCs • 将人$CD34^+$ 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
StemRegenin 1 (Hydrochloride)	72352 72354	1 mg 5 mg		

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。

用于多能干细胞造血分化的STEMdiff™试剂盒

从人胚胎干细胞和诱导多能干细胞生成造血祖细胞、免疫细胞和血细胞

STEMdiff™造血试剂盒由无血清基础培养基和添加物组成，用于生成造血祖细胞（HPCs）。该试剂盒针对标准化12天分化方案进行了优化，支持人多能干细胞（hPSCs）的高效稳定分化，包括人胚胎干（ES）和诱导多能干（iPS）细胞。诱导生成的HPCs可以通过检测CD34和CD45的表达以及形成多个谱系的造血集落的能力进行鉴定。

生成的HPCs可用于下游测定，或使用MethoCult™ SF H4636（产品号#04636）培养基（专为与hPSC来源的HPCs一起使用而设计）或MethoCult™ H4435（产品号#04435）富集培养基在CFU检测中进行定量。使用STEMdiff™造血试剂盒生成的HPCs可以使用STEMdiff™小胶质细胞分化试剂盒或STEMdiff™单核细胞试剂盒进一步分化。红系或巨核细胞谱系中的HPCs和下游细胞可以使用STEMdiff™红系细胞或巨核细胞试剂盒直接获得，淋巴谱系中的HPCs和免疫细胞类型可以使用STEMdiff™ NK和T细胞试剂盒获得。

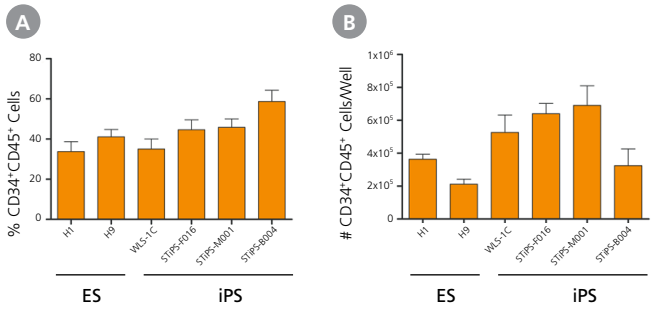


图17. 高效、稳定地生成CD34⁺ CD45⁺ HPCs

使用STEMdiff™造血试剂盒在12孔板的单孔中培养人ES和iPS细胞12天。在培养结束时，收获悬浮细胞，然后染色并通过流式细胞术分析造血细胞表面标记物CD34和CD45的表达。图中显示了6个细胞系的人ES或iPS细胞中CD34⁺ CD45⁺细胞的（A）百分比和（B）总数。数据显示为平均值±SEM；n≥3。

为什么使用STEMdiff™造血试剂盒？

一致性。通过无血清和无饲养层的配方提高实验一致性。

便于实验。通过简单的单层培养方案生成悬浮HPCs，便于轻松获得。

迅速。12天内生成HPCs。

高得率。使用一套试剂盒生成400 – 1800 万个CD34⁺ CD45⁺ HPCs。

灵活。可从多种人ES和iPS细胞系生成HPCs。

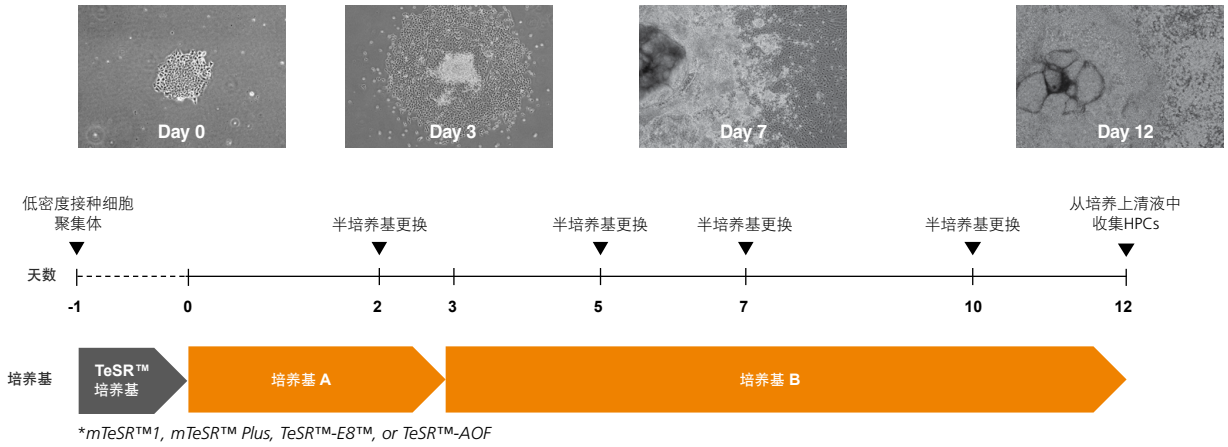


图18. 造血分化示意图

在分化前一天，收集hPSC集落并以小聚集体（直径100–200 µm）的形式以10–20个聚集体/cm²接种在TeSR™维持培养基中（mTeSR™ Plus、mTeSR™1或TeSR™–E8™）。一天后，用培养基A替换TeSR™培养基，开始诱导细胞进入中胚层样状态（第0天）。第2天，用新鲜培养基A进行半培养基更换。第3天，将培养基更换为培养基B，并在第5、7和10天进行半培养基更换，以促进进一步的造血分化。通常到第12天，可以从培养上清液中收获大量HPCs。

查看更多信息，请访问**www.stemcell.com/STEMdiffHeme**。

STEMdiff™巨核细胞试剂盒

STEMdiff™巨核细胞试剂盒不含血清和饲养层，用于将人胚胎干（hES）和诱导多能干（iPS）细胞分化为表达CD41a和CD42b的巨核细胞。这种优化的二维和两阶段培养方案能够在17天内从每个hES或iPS生成高得率的巨核细胞。得到的巨核细胞表现出高倍性和血小板脱落能力，并且也适合大规模培养。

为什么使用STEMdiff™巨核细胞试剂盒？

一致性。通过无血清和无饲养层的配方提高实验一致性。

高得率。在巨核细胞分化过程中，hES和iPS细胞扩增 > 400倍，CD41a 和CD42b巨核细胞的得率> 70%。

便于使用。优化的二维培养方案能在17天内生成巨核细胞。

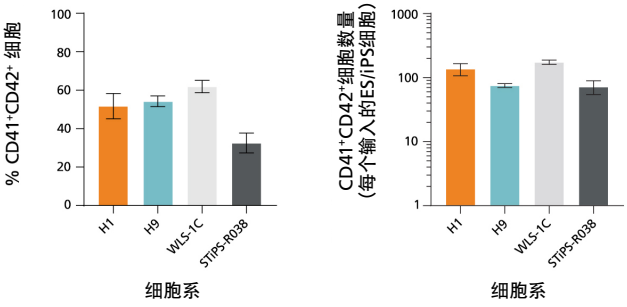


图19. 人iPS和ES细胞来源的造血祖细胞有效扩增并分化为CD41a⁺CD42b⁺巨核细胞

两个hES细胞系（H1和H9）和两个hiPS细胞系（WLS–1C和STiPS–R038）的每个细胞对应生成CD41a⁺CD42b⁺ MK的比例和数量。第17天时，具有活性的CD41a⁺CD42b⁺细胞的平均比例在56%至77%之间。每个输入细胞生成的CD41a⁺CD42b⁺ MK的平均数量范围在223和425之间。数据显示为平均值±SEM（H1的n = 12，H9的n = 29，WLS–1C的n = 27，STiPS–R038的n = 12）。

查看更多信息，请访问

www.stemcell.com/megakaryocyte-diff。

STEMdiff™红系试剂盒

STEMdiff™红系试剂盒不含血清和饲养层，用于将hES和iPS细胞分化为表达CD71和CD235ab的红系细胞。这种优化的二维和两阶段培养方案支持在24天内生成高得率的红系细胞。

将人多能干细胞（hPSCs）分化为表达Glycophorin A和CD71的红系细胞（成红血细胞）。人ES或iPS细胞被诱导为红系倾向性的造血祖细胞，然后进一步分化为红系祖细胞（第10–24天）。使用STEMdiff™红系试剂盒生成的细胞一旦转移至适当的成熟培养条件，即可进一步成熟为幼红细胞和网织红细胞。

为什么使用STEMdiff™红系试剂盒？

一致性。分两个阶段分化为成红血细胞，无需饲养层或血清。

高得率。在红系分化过程中，造血祖细胞扩增 > 200倍，CD71⁺ GlyA⁺成红细胞的产量 > 70%。

多功能。使用StemSpan™ SFEM II培养基和适当的添加物可以进一步使人iPS/ES细胞来源的成红血细胞成熟。

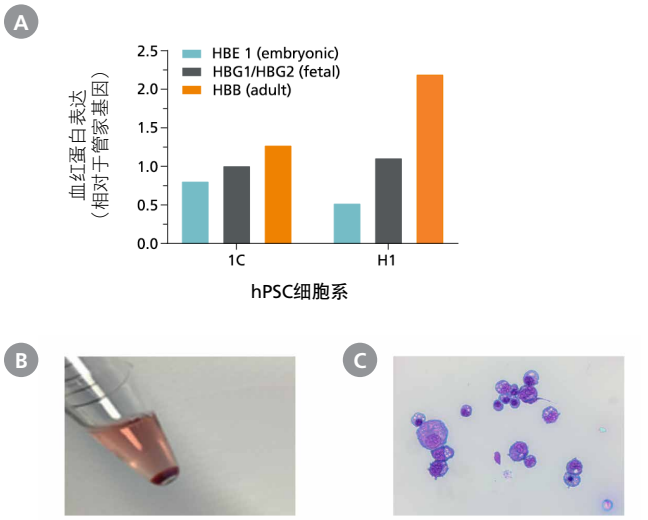


图19. hES和iPS细胞来源的红系细胞被血红蛋白化并显示出典型的红系形态

（A）使用STEMdiff™红系试剂盒生成的红系细胞表达原始（胚胎）和定形（胎儿、成人）血红蛋白的混合物。图中显示的是培养24天后球蛋白基因表达的qPCR分析结果。（B）细胞沉淀的图片显示培养中产生的细胞已血红蛋白化。（C）使用STEMdiff™红系试剂盒（40倍放大倍率；May–Grunwald Giemsa染色）培养24天后，细胞显示出典型的嗜碱性成红血细胞形态。

查看更多信息，请访问**www.stemcell.com/erythro-diff**。

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	78211	20 µg
EGF*	78006	500 µg
EPO	78007	50 µg
FGF-4	78103	25 µg
FGF-7 (KGF)*	78046	10 µg
FGF-8B*	78008.1	50 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 (CHO-expressed)	78190	10 µg
GM-CSF (E. coli-expressed)	78015	100 µg
IFN-g	78020	100 µg
IGF-I*	78022	500 µg
IGF-II	78023	50 µg
IL-1ß*	78034	100 µg
IL-2 (CHO-expressed)*	78036	50 µg
IL-2 (E. coli-expressed)*	78220	10 µg
IL-3 (CHO-expressed)*	78194	10 µg
IL-3 (E. coli-expressed)*	78040	100 µg
IL-4*	78045	100 µg
IL-5	78048.1	10 µg
IL-6	78050	100 µg
IL-6Rα	78083.1	50 µg
IL-7*	78053	100 µg
IL-10*	78024	50 µg
IL-11	78025	100 µg
IL-12	78027	25 µg
IL-13	78029	100 µg
IL-15*	78031	100 µg
IL-21*	78082	10 µg
IL-31	78216	25 µg
M-CSF*	78057	100 µg
MIP-1β (CCL4)	78090	5 µg
抑瘤素M*	78094	10 µg
PDGF-AB	78096	10 µg
PDGF-BB*	78097	10 µg
PDGF-CC	78168	10 µg
PDGF-DD	78222	25 µg
R-Spondin-1	78213	25 µg
SCF*	78062	100 µg
TGF-ß1	78067	5 µg
TNF-a*	78068	50 µg
TPO	78210	25 µg
VEGF-121	78127	10 µg
VEGF-165*	78073	50 µg

*可提供无动物成分(ACF)的版本

重组小鼠细胞因子

细胞因子	产品号 #	规格
BMP-2, ACF	78135	10 µg
EGF	78016	10 µg
FGF-8B, ACF	78204	25 µg
FGF-21	78108.1	50 µg
Flt3/Flk-2配体	78011	100 µg
G-CSF	78014	100 µg
GM-CSF (CHO-expressed)	78206	10 µg
IFN-g	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	78049.1	25 µg
IL-6	78052	100 µg
IL-7	78054	50 µg
IL-10	78079	10 µg
IL-11	78026	100 µg
IL-12	78028.1	10 µg
IL-13	78030.1	10 µg
M-CSF	78059	100 µg
MIP-1α (CCL3)	78089	10 µg
MIP-1β (CCL4)	78091	10 µg
PDGF-BB	78178	10 µg
SCF	78064	100 µg
SDF-1α (CXCL12)	78121	5 µg
TNF-a	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**。

MyeloCult™长期培养基

用于原始祖细胞的检测

细胞来源及分选 | 扩增与分化 | 检测分析

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（>10^6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[18-20]。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[21,22]。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总数量除以每个LTC-IC生成的CFU平均数目，即可算出LTC-IC含量[18]。

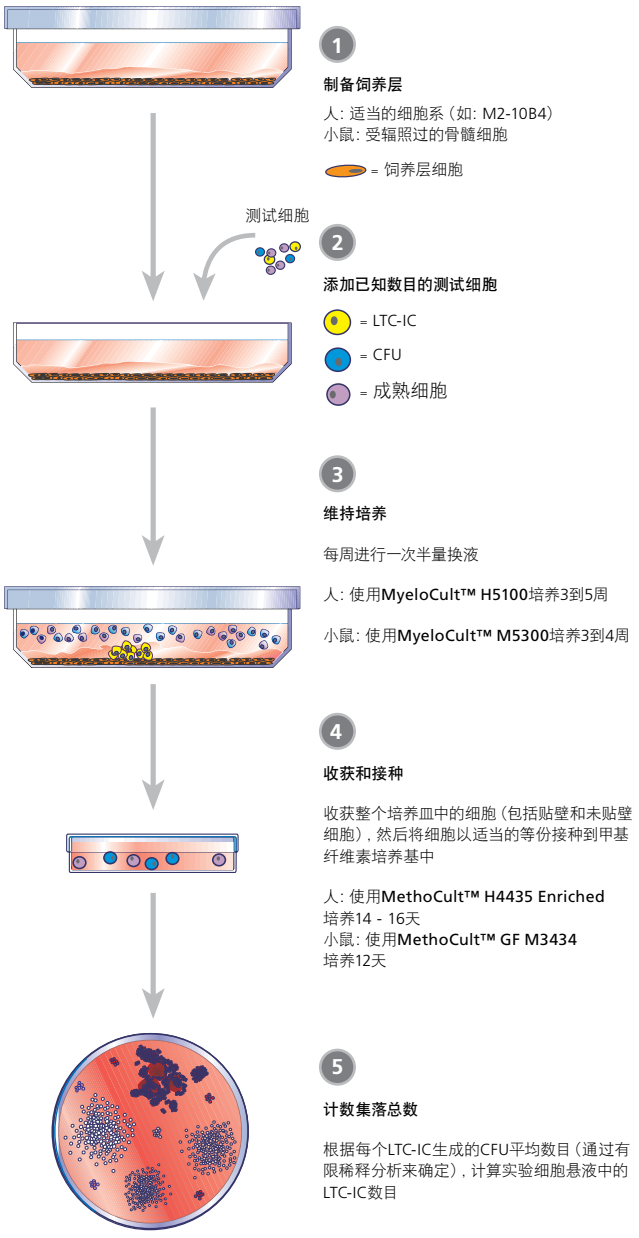


图21. 批量培养LTC-IC检测操作流程

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[18-19, 23]。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[30, 31]。

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[32, 33]。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[38 - 42]。

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，$CD34^+$脐带血细胞的一个亚群可被诱导分化为NK细胞[43]。

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

髓系长期培养物启动与维持的MyeloCult™培养基

产品名称	产品号 #	规格	应用
MyeloCult™ H5100	05150	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

用于评估每个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来源集落
MethoCult™ GF M3434	03434 03444	100 mL 24 x 3 mL	检测小鼠LTC-IC来源集落

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^{-6} M。适合作为LTC-IC分析专用的人（产品号 #05150）和小鼠（产品号 #05350）MyeloCult™培养基的添加物
L-Calc™软件	28600	N/A	用于确定LTC-IC比例及其他应用的有限稀释分析 注意：L-Calc™软件可在**www.stemcell.com/l-calc-software.html**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，旨在促进不同物种（人、非人灵长类、小鼠、大鼠和犬类）的造血祖细胞的最佳生长和分化。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™?

高效稳定。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）以及多谱系（CFU-GEMM）祖细胞进行识别和计数。

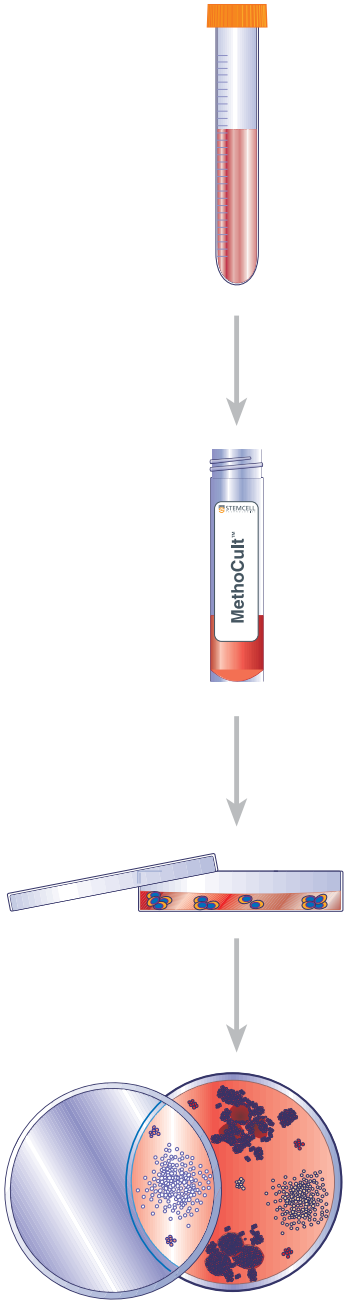
灵活性。可提供允许在配方中添加自选成分的产品。也可按需要提供定制的配方和规格。

*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[45]
- 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[19,21]
- 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[46-54]
- 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供体样本（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[67-71]
- 毒性实验或药物筛选实验[72-75]
- 优化基因转移程序[76]，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。

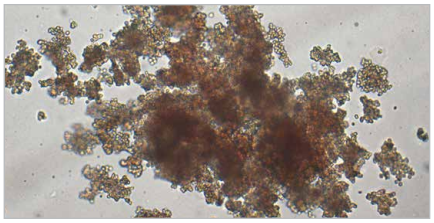
3 接种和培养
使用注射器和钝端针头将混合好的细胞接种到35 mm培养皿或SmartDish™中。

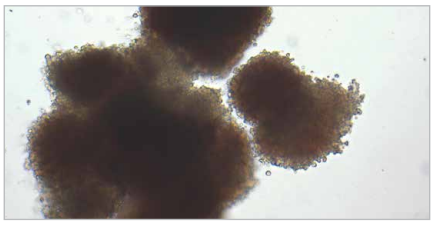
在37°C和5% CO_2的加湿培养箱中; 人细胞培养7 – 14天, 小鼠细胞则培养7 – 12天。

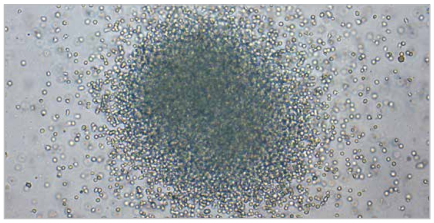
4 集落计数
使用倒置显微镜和STEMgrid™-6计数网格手动计数和评估集落类型，此计数和评估过程也可通过使用STEMvision™自动进行。

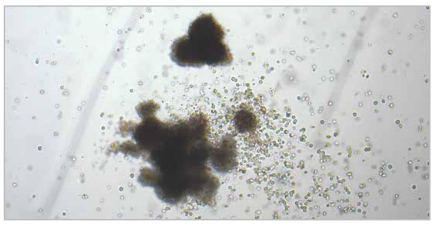
注意: 也可挑出单个集落进行常规染色、PCR或细胞遗传学分析。

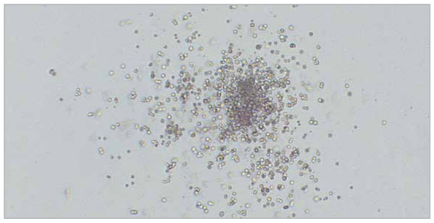
图16. 集落形成单位（CFU）检测流程


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）

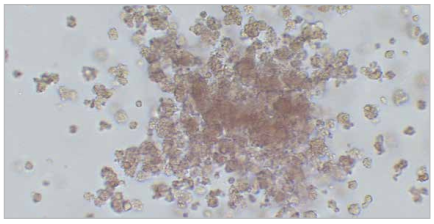

小鼠BFU-E（高倍镜）

图17. 使用倒置显微镜观察到的人和小鼠集落图像

CFU点播课程
www.stemcell.com/hsc-learning

用于人和小鼠细胞的MethoCult™培养基

用于人细胞的MethoCult™培养基

METHOCULT™ 产品	产品号 #	规格	组分					应用
			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	• 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 • 与STEMvision™兼容
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	• 在骨髓、脐带血、外周血、动员后的外周血中检测CFU-GM • 与STEMvision™兼容
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	• 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 • 推荐用于CD34⁺富集过的细胞以及通过其他方法提纯的细胞
不含EPO的H4535 Enriched (GF⁺ H4535)	04535 04545	100 mL 24 x 3 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 • 推荐用于CD34+富集过的细胞以及通过其他方法提纯的细胞
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	• 检测CFU-E、BFU-E、CFU-GM和CFU-GEMM • 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 • 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
SFH4636 Without EPO	100-0945	100 mL	•		•	•	rhSCF,rhIL-3, rhG-CSF, rhGM-CSF; no rhEPO	• 检测CFU-GM • 用于从BM、MPB、PB和CB分离的人原代造血祖细胞的CFU检测
Express	04437 04447	100 mL 24 x 3 mL	•	•	•		rhEPO和其他细胞因子	• 人CB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-G和CFU-GEMM集落进行计数。 • 与STEMvision™兼容
H4431	04431	100 mL	•	•	•		Agar-LCM, rhEPO	• 在骨髓、外周血中检测CFU-E、BFU-E、CFU-GM和CFU-GEMM • 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
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	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 • 特异性造血祖细胞的检测 • 新因子的作用研究 • 对其他物种进行的造血集落检测 • 转基因造血祖细胞的检测 • 非贴壁细胞系的克隆与选择
H4230	04230	80 mL	•	•	•		含血清，不含其他细胞因子	
SF H4236	04236	80 mL	•		•	•	不含血清，含血清替代物，不含细胞因子	
H4100	04100	40 mL	•				基础培养基，不含血清、血清替代物或细胞因子	

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。

*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-GEMM：粒细胞/红细胞/巨噬细胞/巨核细胞集落形成单位，BM：骨髓，MPB：动员的外周血，PB：动员外周血，CB：脐带血，hPSC：人多能干细胞，EPO：促红细胞生成素。

用于小鼠细胞的MethoCult™培养基

MethoCult产品	产品号 #	规格	组分					应用
			MC	FBS	BSA	胰岛素+转铁蛋白	生长因子	
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） • 与STEMvision™兼容
GF M3534	03534	100 mL	•	•	•	•	rmSCF、rhIL-6、rmIL-3；不含rhEPO	• 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） • 与STEMvision™兼容
M3630	03630	100 mL	•	•			rhIL-7	用于检测小鼠骨髓和Whitlock-Witte法长期培养的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	• 用于检测小鼠骨髓及其他组织中的红系祖细胞（BFU-E）来源集落 • 与STEMvision™兼容
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

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，用户只需将含有用MethoCult™培养的细胞的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

质量管理软件

产品：	STEMvision™ 21 CFR Part 11合规软件附加组件
产品号 #：	500-0110

欲了解更多信息，请访问**www.STEMvision.com**。

人脐带血CFU检测

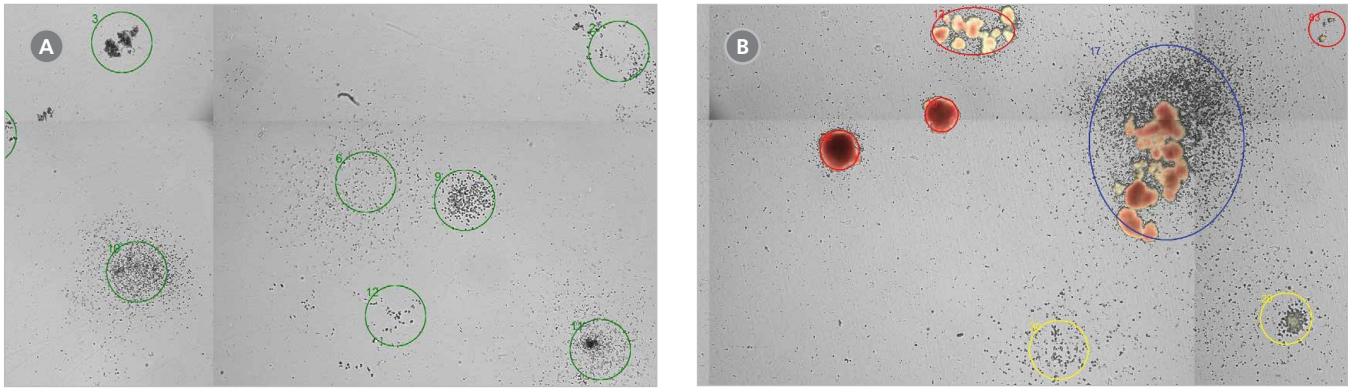


图24. 使用MethoCult™ Express经过7天培养，或使用MethoCult™ Optimum经过14天培养后，对人脐带血祖细胞生成集落的典型STEMvision™扫描图像。

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。

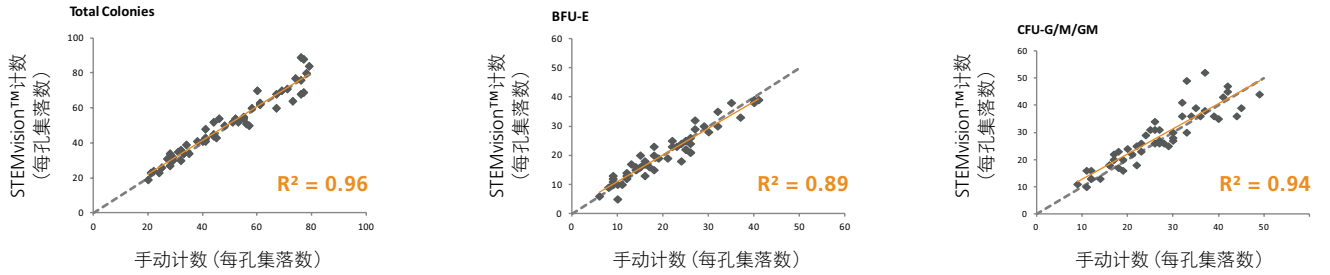


图 25. 对于14天CB CFU检测，使用STEMvision™对集落总数、红系（BFU-E）和髓系（CFU-G/M/GM）集落进行自动化计数，其结果与手动计数的结果有很强的相关性。

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，橙色实线则代表两者间的实际线性相关性。

（n = 130 CFU 检测）

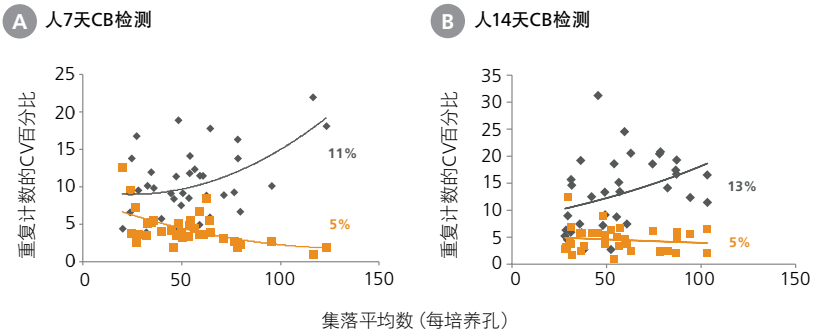


图26.对于7天和14天CB CFU检测，使用STEMvision™进行的自动集落计数的重复性优于手动计数。

由3 - 5个不同的实验研究人员（蓝色菱形）和3 - 5台STEMvision™设备（橙色方形）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

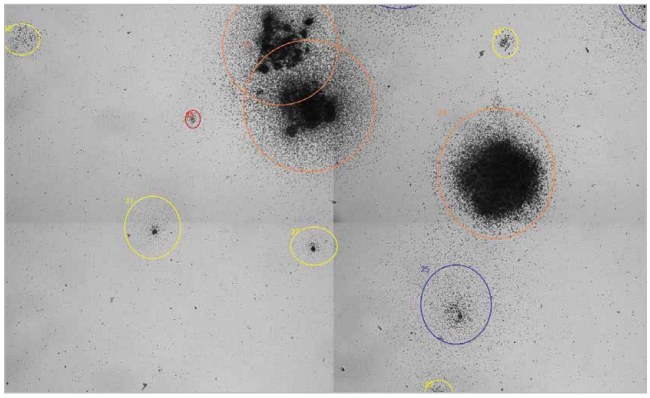


图27. 使用MethoCult™ GF M3434经过12天培养后，对小鼠骨髓祖细胞生成集落的典型STEMvision™扫描图像。

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。

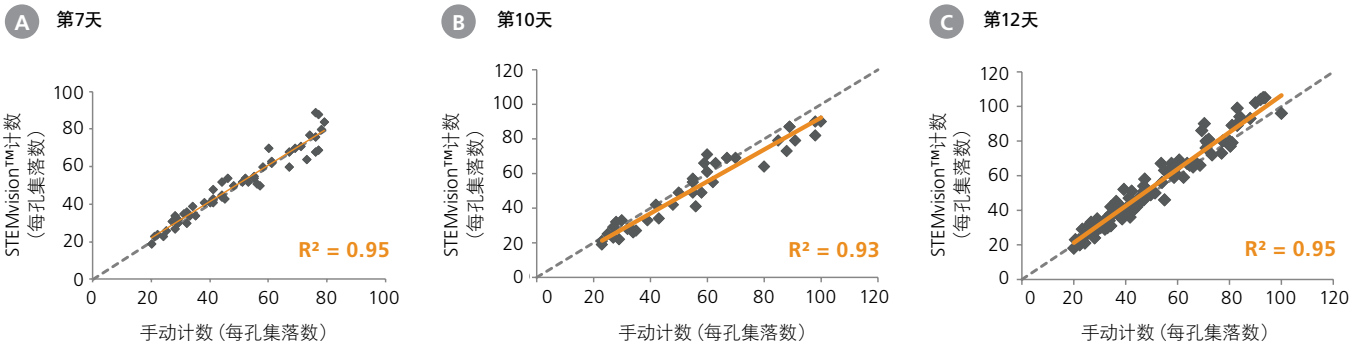


图28. 在第7、10和12天，使用STEMvision™对集落（髓系和红系）总数进行自动化计数，其结果与对小鼠骨髓细胞的手动计数结果有很强的相关性。

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，橙色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（R^2）显示为橙色。

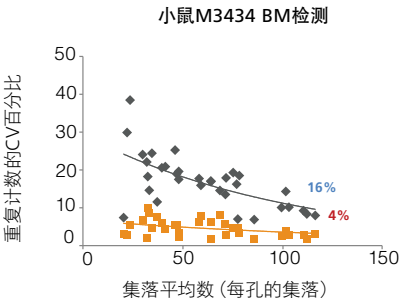


图29. 对于小鼠细胞的CFU检测，使用STEMvision™进行的自动集落计数的重复性优于手动计数。

由3 - 5个不同的实验研究人员（蓝色菱形）和3 - 5台STEMvision™设备（橙色方形），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30A），而这一位置的光学曲变效应会使集落鉴定的难度增加（图31A和31C），导致集落计数的精确度降低（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31B）。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32B和32D）。

SmartDish™可与标准的倒置显微镜配合使用，进行手动计数（图32B）；也可使用STEMvision™，在造血CFU检测中实现自动计数（图32D）。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

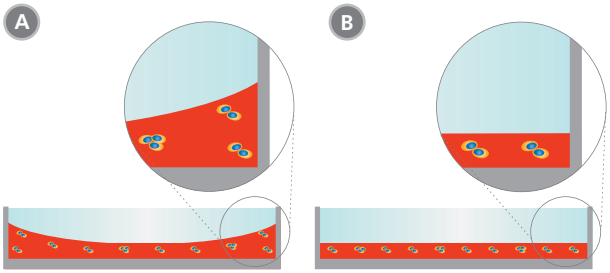
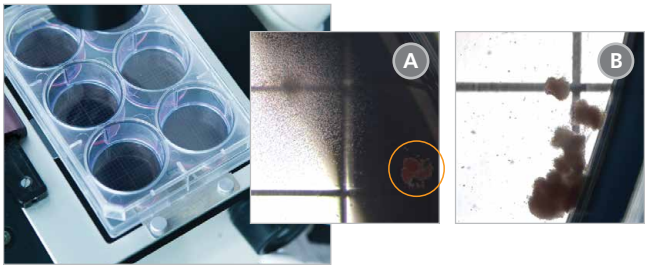


图30. 在标准培养板和SmartDish™培养板中的培养基和集落分布示意图。

(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

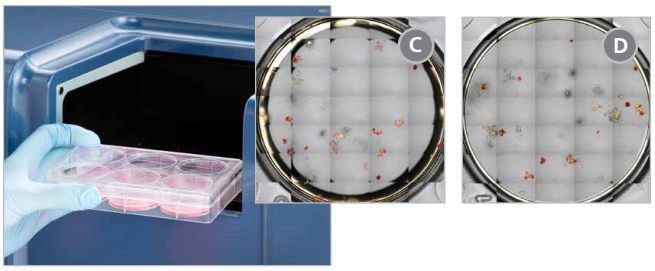


图31. 在未经处理的标准培养板和SmartDish™ 6孔培养板中进行的14天人脐带血CFU检测。

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™培养基和染色试剂盒

产品名称	产品号 #	组分	应用
含细胞因子的MegaCult™-C完全试剂盒	04971	• 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) • CFU-Mk染色试剂盒 • 双室玻片 (48)	对低密度分离或CD34⁺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	• 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) • CFU-Mk染色试剂盒 • 双室玻片 (48)	对低密度分离或CD34⁺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⁺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	• 抗CD41的一抗 • 抗TNP的对照抗体 • 生物素结合的二抗 • 碱性磷酸酶检测系统 • 稀释用的人血清和封闭用的BSA • 伊文思蓝染液	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, BM: 骨髓, MPB: 动员的外周血, CB: 脐带血

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[77]，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志物的表达或酶的活性。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，必须对集落进行挑选和处理，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。

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	产品号 #
CD3	SK7	小鼠IgG$_{1,}$ kappa	FITC	60127
	UCHT1	小鼠IgG$_{1,}$ kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE, PerCP, PerCP-Cy5.5	60011
CD11b	ICRF44	小鼠IgG$_{1,}$ kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE	60040
	M1/70	小鼠IgG$_{2b,}$ kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, Pacific Blue™, PE, PerCP-Cy5.5	60001
CD14	MoP9	小鼠IgG$_{2b,}$ kappa	FITC	60124
	M5E2	小鼠IgG$_{2a,}$ kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE	60004
CD16	3G8	小鼠IgG$_{1,}$ kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE	60041
CD19	HIB19	小鼠IgG$_{1,}$ kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE, PerCP-Cy5.5	60005
	6D5	大鼠IgG$_{2a,}$ kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, Pacific Blue™, PE	60006
CD20	2H7	小鼠IgG$_{2b,}$ kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE, PerCP-Cy5.5	60008
CD34	8G12	小鼠IgG$_{1,}$ kappa	APC, FITC, PE	60121
	563	小鼠IgG$_{1,}$ kappa	PE	60119
	581	小鼠IgG$_{1,}$ kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE	60013
CD38	AT-1	小鼠IgG$_{1,}$ kappa	FITC	60131
	HIT2	小鼠IgG$_{1,}$ kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE	60014
CD45	2D1	小鼠IgG$_{1,}$ kappa	FITC	60123
	HI30	小鼠IgG$_{1,}$ kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, Pacific Blue™, PE, PerCP-Cy5.5	60018
CD45RA	HI100	小鼠IgG$_{2b,}$ kappa	未标记, APC-Cyanine7, Biotin, PE	100-0318
CD71 (转铁蛋白受体)	OKT9	小鼠IgG$_{1,}$ kappa	未标记, APC, Biotin, FITC, PE	60106
CD90 (Thy-1)	5E10	小鼠IgG$_{1,}$ kappa	未标记, APC, Biotin, FITC, PE, PerCP-Cy5.5	60045
CD105	43A3105	小鼠IgG$_{1,}$ kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE	60039
CD117 (c-Kit)	104D2	小鼠IgG$_{1,}$ kappa	未标记, APC, Biotin, PE	60087
CD123 (IL-3Rα)	6H6	小鼠IgG$_{1,}$ kappa	未标记, APC, Biotin, FITC, PE, PerCP-Cy5.5	60110
CD235a (血型糖蛋白A)	2B7	小鼠IgG$_{1,}$ kappa	FITC	60152
CD235ab (血型糖蛋白A/B)	HIR2	小鼠IgG$_{2b,}$ kappa	未标记, APC, Biotin, FITC, PE	60111

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_1, kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE, PerCP-Cy5.5	60015
CD4	RM4-5	大鼠IgG_{2a}, kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE, PerCP-Cy5.5	60017
	RM4-4	大鼠IgG_{2b}, kappa	APC, Biotin, FITC, PE	60029
CD8a	53-6.7	大鼠IgG_{2a}, kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE, PerCP-Cy5.5	60023
CD11b	M1/70	大鼠IgG_{2b}, kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, Pacific Blue™, PE, PerCP-Cy5.5	60001
CD19	6D5	大鼠IgG_{2a}, 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_{2a}, kappa	Biotin	60117
CD45.2	104	大鼠IgG_{2a}, kappa	Biotin	60118
CD45	30-F11	大鼠IgG_{2b}, kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE, PerCP-Cy5.5	60030
CD45.1	A20	小鼠IgG_{2a}, kappa	Biotin	60117
6911	104	小鼠IgG_{2a}, kappa	Biotin	60118
CD48 (SLAMF2)	HM48-1	Hamster (Armenian) IgG_1, lambda	APC	60162
CD45R (B220)	RA3-6B2	大鼠IgG_{2a}, kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, Pacific Blue™, PE, PerCP-Cy5.5	60019
CD117 (c-Kit)	2B8	大鼠IgG_{2b}, kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE	60025
	ACK2	大鼠IgG_{2b}, kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, FITC, PE	60034
CD150 (SLAM)	TC15-12F12.2	大鼠IgG_{2a}, lambda	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, PE, PE-Cyanine7	60036
EPCR (CD201)	RMEPCR1560	大鼠IgG_{2b}, kappa	未标记, PE	60038
Gr-1 (Ly-6G/Ly-6C)	RB6-8C5	大鼠IgG_{2b}, kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE, PerCP-Cy5.5	60028
Ly-6G	1A8	大鼠IgG_{2a}, kappa	未标记, APC, Biotin, FITC, Pacific Blue™, PE, PerCP-Cy5.5	60031
Sca1 (Ly-6A/E)	E13-161.7	大鼠IgG_{2a}, kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE	60032
Rhesus	T3G6	小鼠IgG_1, kappa	未标记	60132
	T4G6	小鼠IgG_1, kappa		60133
TER119	TER-119	大鼠IgG_{2b}, kappa	未标记, Alexa Fluor® 488, APC, Biotin, FITC, PE, PerCP-Cy5.5	60033

对人脐带血HSPCs的检测

ALDH^{br}检测试剂盒

ALDH^{br}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$^+$细胞。

产品信息

产品	产品号 #	组分
ALDH^{br}检测试剂盒*	01711	ALDEFLUOR™试剂盒 • ALDEFLUOR™试剂 • ALDEFLUOR™ DEAB试剂 • ALDEFLUOR™检测缓冲液 • 2N HCl • 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）”

*适用于标记6 x 10^7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
琼脂白细胞条件培养基	02300	25 mL
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
不含核甘酸的MEM Alpha	36453	500 mL
含Earle's & NEAA的MEM	36550	500 mL
ReproTeSR™ (2-组分)	05926	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^{++}和Mg^{++}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

产品名称	产品号 #	规格
胶原蛋白酶 (0.25%)	07902	5 mL
DNase I, 1 mg/mL	07900	1 mL
胰蛋白酶柠檬酸盐溶液 (0.25%)	07400	100 mL
胰蛋白酶-EDTA (0.25%)	07901	500 mL
胰蛋白酶-EDTA (0.05%)	07910	500 mL

血清替代品

产品名称	产品号 #	规格
含有10% 牛血清白蛋白 (BSA) 的 Iscove's MDM	09300	100 mL
BIT 9500血清替代品	09500	100 mL

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
7-AAD (7-Aminoactinomycin D)	75001	500 tests
氯化铵溶液	07800 07850	100 mL 500 mL
DAPI (Hydrochloride)	75004	10 mg
Hydrocortisone	74142 74144	100 mg 1 g
碘化丙啶(PI)	75002	10 mg
台盼蓝	07050	100 mL

组织细胞培养皿和玻片

产品名称	产品号 #	规格
用于CFU 检测的外培养皿		
Corning® 245 mm方形培养皿, 未经处理	38020	4/包 16/箱
非贴壁培养皿 *建议配合MethoCult™用于CFU检测		
35 mm直径的培养皿	27100 27150	10个 500个
SmartDish™	27370 27371	5/包 50/包
其他培养皿和玻片		
245mm方形培养皿, 经Tissue Culture处理	38039 100-0084	16个 4个
Corning® 60 mm栅格计数培养皿	38068 100-0085	500个 20个
Corning®一次性锥形瓶500mL	38013	25个
Corning®一次性锥形瓶250mL	38012	50个
Corning®一次性锥形瓶125mL	38011	50个
双室玻片	04963	48套双室玻片、滤片和垫片
Falcon® 24孔平底板, 经Tissue Culture处理	38021	50个
Falcon® 96孔平底微孔板, 经 Tissue Culture处理	38022	50个
Falcon®圆底管, 14mL	38008	500个
TC处理的培养皿, 100 mm	38046 100-0082	500个 20个
TC处理的培养皿, 100 mm	27125 27127	10个 240个

其他组织培养耗材

产品名称	产品号 #	规格
3 cc 注射器	28240	100支/包
钝针头	28110 28120	100/包 2000/箱
可逆过滤器, 37 µm	27215 27250	小的, 50/箱 大的, 25/箱
缺氧小室	27310	1套

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32）。

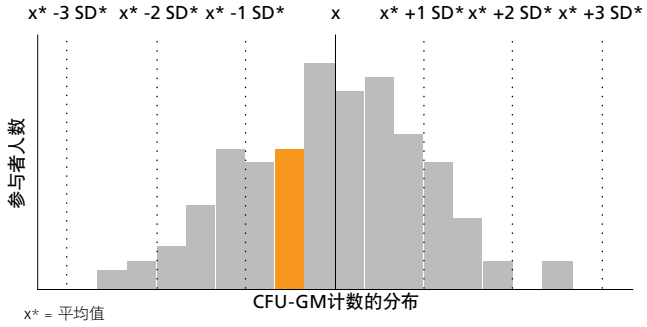


图32. 参与者实验数据实例

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）	春季 秋季	100-0926 100-0928
新鲜脐带血（CBH）	春季	00606
新鲜脐带血（CBZ）	春季 秋季	100-0950 100-0952

欲了解后续项目开始信息及注册方法，请访问 **www.ProficiencyTesting.com**。

质量控制试剂盒

STEMCELL质量控制（QC）试剂盒推荐用于细胞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检测。使用标准化培养基和来自单一来源的相同等分的细胞可以最大限度地减少与这些检测成分相关的潜在变异性，从而可以更准确地评估个体的技术。每个试剂盒均包含足够的耗材，可在1年内每月进行CFU检测。

QC试剂盒提供的所有材料

QC试剂盒	产品号 #	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。

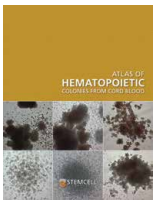
集落计数需要帮助

访问我们的免费CFU检测培训课程
www.stemcell.com/hsc-learning

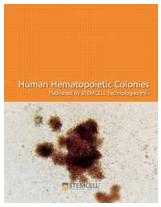
造血祖细胞检测培训课程

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： • 您将增加使用MethoCult™设计、鉴定和对造血祖细胞计数的动手经验。
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： • 有效设计体内外实验以了解生物途径对造血稳态的影响 • 使用不同的小鼠模型评估化合物对血液和骨髓的影响 • CFU检测在药物开发和预测毒性试验中的应用

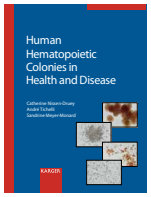
STEMCELL Technologies可提供定制的培训课程，这对解决特定的研究挑战或标准化技术流程非常有益。定制的培训为您的团队提供技术专家的个性化指导，可在您指定的地点或我们的培训实验室举办。
定制培训课程可能要求最少的参与人数和专用设备。欲了解我们的培训课程或定制培训的更多信息，请访问**www.stemcell.com/training**或发邮件至**info.cn@stemcell.com**与我们联系。



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来源的造血集落彩图。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来源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来源集落。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/technical-resources/product-information.html**自行下载。

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，并通过高效的沟通、优质的产品和专业知识提供了出色的服务。

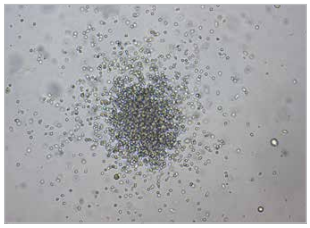
干细胞和祖细胞检测

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。

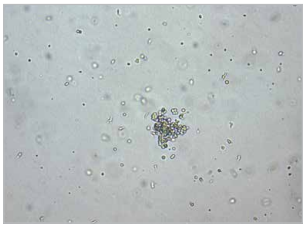
- 事实证明，集落形成单位（CFU）检测对于评估各种化合物对造血祖细胞和间充质祖细胞的潜在抑制或刺激效果极为重要[72,78-86]
- CFU检测可用于评估造血祖细胞的扩增和分化，以确定IC_{50}和IC_{90}数值
- 髓系祖细胞CFU检测已经通过由欧洲替代方法验证中心（European Centre for the Validation of Alternative Methods，ECVAM）进行的确定其最大耐受剂量的验证
- CFU-GM和CFU-MK检测已被证明对临床结果具有预测作用，例如：嗜中性粒白细胞减少症和血小板减少症[72, 81-82]

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

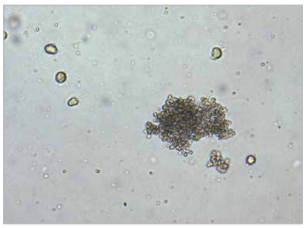


CFU-GM



含抑制物的CFU-GM

BFU-E



含抑制物的BFU-E

图33. 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?

了解更多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

细胞来源	每35 mm培养皿中接种的细胞数
骨髓 - 经氯化铵处理	2 x 10^4 - 1 x 10^5
骨髓 - 单个核细胞*	1 - 5 x 10^4
脐带血 - 单个核细胞*	5 x 10^3 - 2 x 10^4
正常外周血 - 单个核细胞*	1 - 4 x 10^5
动员后的外周血	1 - 5 x 10^4
来自骨髓、脐带血和动员后的外周血，经谱系去除法而富集的CD34+细胞	0.5 - 2 x 10^{3**}
纯化的CD34+细胞（来自骨髓、脐带血和动员后的外周血）	0.15 - 1 x 10^{3**}

*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

细胞来源	祖细胞类型			
	CFU-E	BFU-E	CFU-GM	CFU-GEMM
每10^5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10^5个骨髓单个核细胞*（n = 17）	188 (1 - 506)	175 (1 - 477)	408 (1 - 990)	10 (1 - 30)
每10^3个富集的骨髓CD34+细胞（n = 15）	30 (1 - 59)	34 (1 - 74)	54 (7 - 101)	2 (1 - 5)
每10^5个脐带血单个核细胞*（n = 16）	9 (1 - 48)	104 (1 - 310)	115 (1 - 303)	25 (1 - 59)
每10^5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10^5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±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

细胞来源	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 10^5
小鼠骨髓	BFU-E、CFU-GM、CFU-GEMM	M3434	2 x 10^4
小鼠骨髓	CFU-Pre-B	M3630	1 - 2 x 10^5
成年小鼠脾脏和外周血	BFU-E、CFU-GM、CFU-GEMM	M3434	2 x 10^5
胎肝（12 - 15 dpc）	BFU-E、CFU-GM、CFU-GEMM	M3434	2 x 10^4
Lin-*	BFU-E、CFU-GM、CFU-GEMM	M3434	1 x 10^3
卵黄囊	BFU-E、CFU-GM、CFU-GEMM	M3434	5 x 10^4
小鼠骨髓	BFU-E	M3436	3 - 8 x 10^4

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。
*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。

正常小鼠骨髓中的典型祖细胞比例

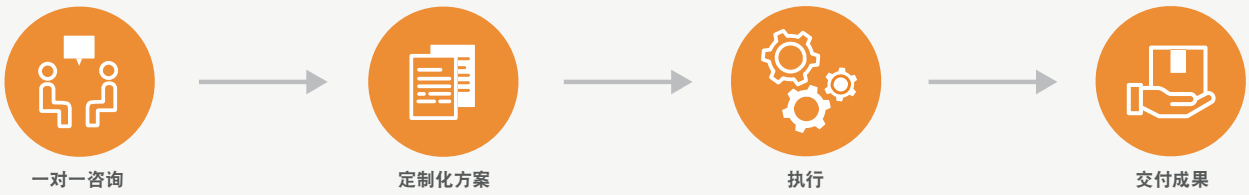
祖细胞	MethoCult™培养基	每10^6个骨髓细胞中的CFU数量
CFU-E	M3334	1700 ± 400
BFU-E CFU-GEMM CFU-GM	M3434	400 ± 130 170 ± 70 3200 ± 800
CFU-Pre-B	M3630	1050 ± 30
BFU-E	M3436	720 ± 460

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±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

细胞治疗定制服务

如果您希望使用STEMCELL Technologies的产品作为造血细胞治疗产品生产中的辅助材料（AM）或原材料，我们可以与您合作开发满足您特定需求的解决方案，例如定制产品开发、更高合规性的产品生产、监管支持和客户文档。根据细胞治疗定制服务，STEMCELL能够支持在已批准的新药临床试验申请（IND）、临床试验授权 申请（CTA）或同等监管备案下将我们的产品用作辅助材料（定义见USP第<1043>章或欧洲药典通则5.2.12）。我们已成功支持全球60多项临床试验。

STEMCELL的细胞治疗定制服务概述



并行进行合同协商

随时与您的专职项目经理沟通

为什么选择细胞治疗定制服务?

丰富的经验。我们与全球各地的客户合作，以满足他们所在国家或地区特定的监管要求。

可靠。我们严格的供应商资格和管理流程确保始终如一的质量以及可靠的材料和服务供应。

前沿。我们可以使用创新、专业的试剂从始至终支持您的工作流程。

高品质。根据相关cGMP进行产品的内部生产和测试，能够支持USP第<1043>章或欧洲药典通则5.2.12规定下的AM认证。

便捷。我们完善的经销网络使我们的产品能够在全球范围内交付。

想要将您的研究向临床转化

STEMCELL的细胞治疗定制服务拥有一支专家团队，他们可以通过提供个性化的解决方案（例如质量文档、附加产品测试和定制产品生产）来帮助支持您的监管备案。想要详细了解我们如何支持您的临床前和临床研究需求，请访问我们的网站：**www.stemcell.com/services/cell-therapy.html**。

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.
17. 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.
20. 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.
29. 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. Casati S et al. (2003) Toxicol In Vitro 17(1): 69–75.
79. Pessina A et al. (2009) Toxicol In Vitro 23(1): 194–200.
80. Parent-Massin D (2001) Cell Biol Toxicol 17(2): 87–94.
81. Van den Heuvel RL et al. (2001) Cell Biol Toxicol 17(2): 107–16.
82. Pyatt DW et al. (2000) Mol Pharmacol 57(3): 512–8.
83. Freund YR et al. (2002) Toxicol Appl Pharmacol 181(1): 16–26.
84. Froquet R et al. (2001) Toxicol In Vitro 15(6): 691–9.
85. Gribaldo L et al. (2000) Toxicol Sci 58(1): 96–101.
86. Gonzalez-Cid M et al. (2000) Cell Biol Toxicol 16(4): 235–41.

版权所有© STEMCELL Technologies Inc. 2023。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尽力确保STEMCELL及其供应商提供的信息正确无误，对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。

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。有关STEMCELL质量控制的更多信息，请参阅WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE。

造血和干祖细胞

研究工具

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

文档号 #29054CN　版本 7.0.2　2023年09月