

质量保证测试报告

博雅干细胞库承诺定期公布干细胞质量检测报告（不少于一年一次），并定期通过网站公布质量测试结果。借此增加实验室对外的透明度，务求让每一位客户了解我们实验室对样本质量控制的高要求，使客户对本公司的干细胞保存服务增加信心。

为了确保样本从处理至冻存后一直维持高水平的质量，博雅干细胞库会定期从液氮存储罐中挑选合适的样本，进行相关的质量检测。

1. 脐带血

冻存的脐带血造血干细胞样本在复苏后会进行细胞存活能力恢复率和细胞集落形成单位的测试，以验证细胞的活性及自我增殖和分化能力。

在 2013 年 12 月份，我们从液氮存储罐提取了两个样本进行质量测试。以下是测试的结果：

样本编号	质量测试日期	低温保存时间	解冻后细胞存活能力恢复率	冻存脐带血有核细胞浓度 ($10^6/ml$)	冻存脐血细胞集落形成单位浓度 (colony/ml)
脐带血-A	2013.12.09	1 年 7 个月	97.7 %	16.1	1.06×10^3
脐带血-B	2013.12.09	1 年 4 个月	98.4 %	17.1	1.37×10^3

质量测试结果证明脐带血里面的造血干细胞在一定时间的超低温冷藏后仍能维持高活性，而且细胞集落形成单位测试结果也证明了造血干细胞经过一定时间的冻存后依然能保持自我增殖和分化的能力。从以上数据可以证明长期的冷冻保存对脐带血来源造血干细胞的活性和功能不会造成影响。

备注：上表中“冻存脐血细胞集落形成单位”表明造血干细胞经过一段时间的冻存后、依然能保持自我增值及分化能力。由于当时存储的每个样本的细胞浓度有差异，所以其细胞集落形成单位的浓度也存在差异，但其不代表自我增值及分化能力的差异。

质量保证测试报告

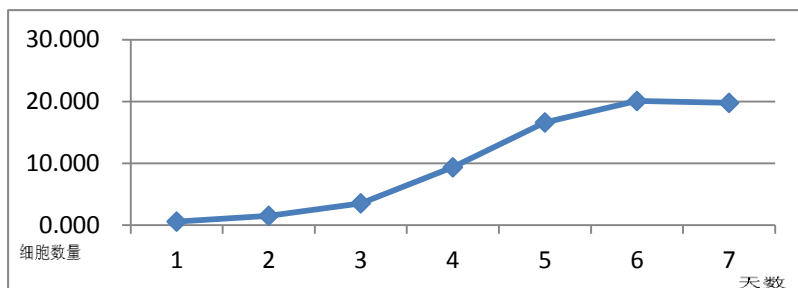
2. 脐带和胎盘

冻存的脐带、胎盘样本在复苏后会进行细胞存活率、生长曲线、间充质干细胞培养形态、细胞表面抗原表达流式检测及诱导分化成脂、成骨等相关检测，以验证脐带、胎盘来源的间充质干细胞在冻存复苏后还能维持其细胞特异性、活性、自我增殖能力及多向分化潜能。

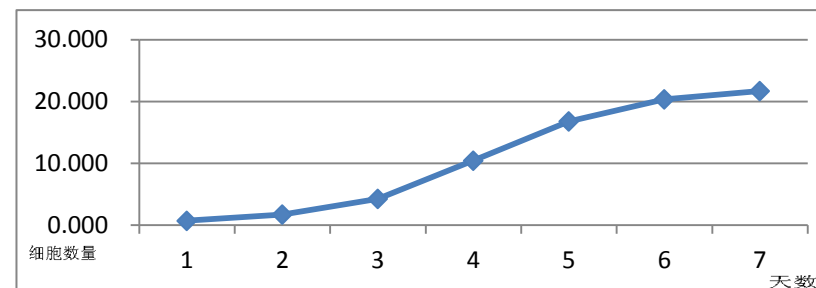
在 2013 年 10 月份，我们从液氮储存罐分别提取了两个脐带样本以及两个胎盘样本进行质量测试。以下是测试的结果：

样本编号	质量测试日期	低温保存时间	细胞存活率	间充质干细胞表面标志物检测
脐带-A	2013.10.11	1 年 2 个月	99.0%	标记物 CD73、CD90、CD105 表达阳性 标记物 CD14、CD34、CD45 表达阴性
脐带-B	2013.10.11	1 年 1 个月	98.3%	标记物 CD73、CD90、CD105 表达阳性 标记物 CD14、CD34、CD45 表达阴性

(脐带-A 间充质干细胞生长曲线)



(脐带-B 间充质干细胞生长曲线)

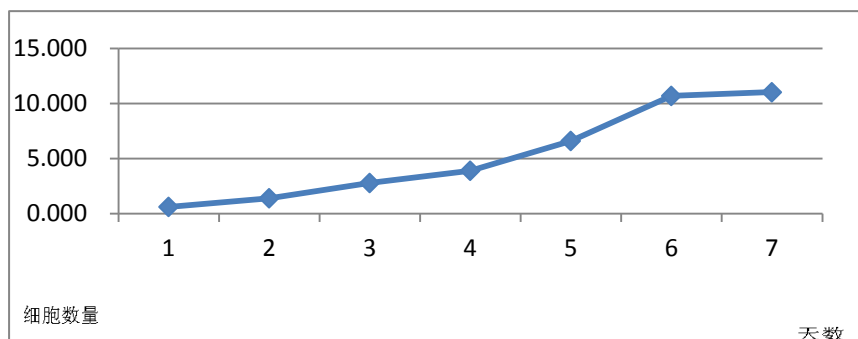


人脐带间充质干细胞(hUCMSCs)诱导分化成脂肪细胞、成骨细胞结果：人脐带间充质干细胞通过原代培养、传代培养后，分别加入成脂诱导剂和成骨诱导剂培养，采用倒置显微镜观察诱导后的细胞形态变化，并通过油红 O 染色和茜素红染色法对其脂肪细胞和成骨细胞表型进行鉴定，结果显示：经油红 O 染色，细胞质内出现红色脂滴（脂肪细胞）；茜素红染色表明聚集的细胞团中央能形成钙化结节，表现为桔红色沉积（成骨细胞）。说明 hUCMSCs 经体外诱导培养后可向脂肪细胞和成骨细胞分化，并具有明显的成脂和成骨表型，表明 hUCMSCs 具有多向分化潜能。

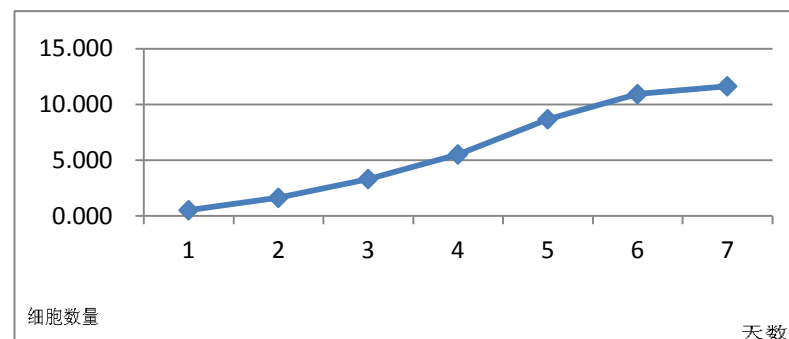
质量保证测试报告

样本编号	质量测试日期	低温保存时间	细胞存活率	间充质干细胞表面标志物检测
胎盘-A	2013.10.11	8 个月	98.5%	标记物 CD73、CD90、CD105 表达阳性 标记物 CD14、CD34、CD45 表达阴性
胎盘-B	2013.10.11	9 个月	99.3%	标记物 CD73、CD90、CD105 表达阳性 标记物 CD14、CD34、CD45 表达阴性

(胎盘-A 间充质干细胞生长曲线)



(胎盘-B 间充质干细胞生长曲线)



人胎盘源间充质干细胞(hPMSCs)诱导分化成脂细胞、成骨细胞结果: 人胎盘间充质干细胞通过原代培养、传代培养后, 分别加入成脂诱导剂和成骨诱导剂培养, 采用倒置显微镜观察诱导后的细胞形态变化, 并通过油红 O 染色和茜素红染色法对其脂肪细胞和成骨细胞表型进行鉴定, 结果显示: 经油红 O 染色, 细胞质内出现红色脂滴 (脂肪细胞); 茜素红染色表明聚集的细胞团中央能形成钙化结节, 表现为桔红色沉积 (成骨细胞)。说明 hPMSCs 经体外诱导培养后可向脂肪细胞和成骨细胞分化, 并具有明显的成脂和成骨表型, 表明 hPMSCs 具有多向分化潜能。

质量测试结果证明脐带或是胎盘来源的间充质干细胞在一定时间的超低温冷藏后仍能维持高活性, 间充质干细胞生长曲线测试也证明了干细胞经过一定时间的冻存后依然能保持自我增殖的能力。脐带或是胎盘来源的间充质干细胞诱导分化为脂肪细胞、成骨细胞表明间充质干细胞具有多向分化潜能。脐带或是胎盘来源的间充质干细胞表面标志物检测以及培养形态测试结果也符合国外 ISCT 制定的间充质干细胞特异性标准。^[1] 从以上数据可以证明长期的冷冻保存对脐带或是胎盘来源的间充质干细胞的活性和功能不会造成影响。

备注: 以上测试的样本为实验室内部的虚拟样本, 其处理的过程和冻存的环境跟客户样本相同。未得到客户的许可, 客户的样本不会用作任何的实验室测试。

参考文献:

1. Dominici, M; Le Blanc, K; Mueller, I; Slaper-Cortenbach, I; Marini, Fc; Krause, Ds; Deans, Rj; Keating, A; Prockop, Dj; Horwitz, Em (1 January 2006). "Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement". *Cytotherapy* 8 (4): 315–317

单位 (盖章): 博雅干细胞科技有限公司