









羊水细胞培养基 含有庆大霉素和L-谷氨酰胺

目录号: 99473

100 mL, 500 mL

用于体外诊断

符号词汇表*:

	目录号
	批号
	使用无菌工艺技术 (过滤) 灭菌
	有效期至: 年-月-日
	注意, 请参阅随附文件
	请参阅使用说明
	贮存温度 低于-10°C
	不可重复灭菌。
	如果包装损坏, 切勿使用
	生产商
	CE 标志
	Emergo Europe - Prinsessegracht 20, 2514 AP The Hague, The Netherlands

*符号参考-EN ISO 15223-1, 符号用于医疗器械-医疗器械标签和贴标。

预期用途

本产品的预期用途如下:

1. 羊水细胞的原代培养
2. 羊水细胞的传代培养
3. 固体羊膜组织绒毛取样。

该培养基设计用于CO₂培养箱 (培养物用5%-8%CO₂气体环境平衡)。

最终pH值必须在6.65-7.44之间, 请参阅使用说明。

产品描述

本产品是一种即用型完全培养基, 用于羊水细胞 (AFC) 原代培养, 绒毛膜绒毛取样 (CVS) 和受孕产物 (POC)。培养后的细胞或样品用于核型分析和其他产前基因检测。该产品针对培养瓶方法和原位培养方法均已进行了优化。该产品含有抗生素硫酸庆大霉素 (50 µg/mL)

成分

<u>缓冲液</u>	<u>pH指示剂</u>
碳酸氢钠	酚红
<u>抗氧化剂</u>	<u>能量物质</u>
硫酸	葡萄糖
<u>抗生素</u>	丙酮酸盐
硫酸庆大霉素	肌醇
<u>氨基酸</u>	<u>盐和离子</u>
丙氨酸	氯化钠
精氨酸	亚硝酸钠
门冬酰胺	氯化钙
门冬氨酸	氯化胆碱
半胱氨酸	氯化钾
谷氨酸	磷酸氢二钾
谷氨酰胺	硫酸镁
甘氨酸	磷酸钠
组氨酸	<u>核酸</u>
异亮氨酸	脱氧腺苷
亮氨酸	脱氧胞苷
赖氨酸	脱氧鸟苷
甲硫氨酸	腺苷
苯丙氨酸	胞苷
脯氨酸	鸟苷
丝氨酸	胸苷
苏氨酸	尿苷
色氨酸	<u>其他</u>
酪氨酸	乙醇
缬氨酸	甲状腺原氨酸
<u>蛋白质、激素和生长因子</u>	<u>维生素和微量元素</u>
子	抗坏血酸
胎牛血清 (FBS)	叶酸
新生牛血清	烟酰胺
人转铁蛋白	核黄素
成纤维细胞生长因子 (FGF)	硫酸素
胰岛素	泛酸
孕酮	钴胺素
睾酮	吡哆醇
β雌二醇	生物素

质量保证

无菌性

用于生产本产品的血清已经根据CFR 第9章, 第113.53部分进行了病毒污染测试。同时也进行了支原体污染的筛查。本产品使用0.1微米滤膜过滤除菌。根据现行USP检测<71>无菌试验中描述的无菌试验方法对本产品进行可能的细菌污染检测。

使用前的准备

在37°C水浴中轻轻晃动试剂瓶来快速解冻本产品。

本产品中含有庆大霉素 (50 mg/L,) 如果需要, 可以额外添加抗生素

本产品的分装

1. 根据说明书的方法解冻本产品。
2. 在无菌条件下分装到合适大小的等分试样并再次冷冻。
3. 使用前, 在37°C水浴中解冻等分试样。

使用说明

使用本产品进行原代培养: 原位培养方法

1. 在约1200 rpm下将羊水离心10分钟以浓缩细胞。
2. 从离心管中吸出上清液, 在细胞沉淀的上方留下约0.5mL (或约沉淀体积的2倍) 的羊水。如果有必要, 分装上清液 (如果可能, 至少1 mL) 用于甲胎蛋白 (AFP) 和乙酰胆碱酯酶测定。如果标本是血性的, 准备另外的等分试样进一步测试。将细胞沉淀重悬于少量患者自身的羊水中。向浓缩的细胞悬浮液中加入足够的本产品, 使每个盖玻片 (总共4个盖玻片, 取决于细胞沉淀的大小) 的最终接种量为0.5mL或每个培养瓶2mL。如果标本来自于妊娠第9个月的患者, 则细胞沉淀可能较大但活细胞含量较少, 因此需要浓度较大的接种 (少于正常量的培养基)。
3. 在37°C, 5%-8%CO₂环境条件下静置孵育培养物。
4. 在第2天添加2mL 本产品浸没培养物。

FUJIFILM Irvine Scientific, Inc.

2511 Daimler Street, Santa Ana, California 92705 USA

电话: 1 949 261 7800 • 1 800 437 5706

传真: 1 949 261 6522 • www.irvinesci.com

PN 40965-CH Rev.0

- 4到5天后检查培养物的生长。一旦观察到生长应当更换培养基。通过除去所有培养物上清液并用2mL新鲜的本产品进行培养基更换。建议每2天对更换培养基。对于血性标本，培养物可能需要更频繁的培养基更换。
- 在第5天/或之后检查培养物的生长情况，并在观察到足够的群落时收获。
- 在收获前一天更换培养基可以获得最佳结果。

使用本产品进行原代培养：培养瓶培养方法

1. 在约1200 rpm下将羊水离心10分钟以浓缩细胞。
2. 从离心管中吸出上清液，在细胞沉淀的上方留下约0.5mL（或约沉淀体积的2倍）的羊水。如果有必要，分装上清液（如果可能，至少1 mL）用于甲胎蛋白（AFP）和乙酰胆碱酯酶测定。如果标本是血性的，准备另外的等分试样进一步测试。将细胞沉淀重悬于少量患者自身的羊水中。加入4 mL本产品使得每个培养瓶中总体积为5 mL。如果标本来自于妊娠第9个月的患者，则细胞沉淀可能较大但活细胞含量较少，因此需要浓度较大的接种（少于正常量的培养基）。
3. 在37°C，5%-8%CO₂环境条件下静置孵育培养物。
4. 第5天检查生长情况。如果观察到足够的细胞生长，则用2 mL新鲜的本产品进行培养基更换。
5. 检查培养物的生长情况，然后每天彻底更换培养基，直至观察到足够的群落并准备收获。对于血性标本，培养物可能需要更频繁的培养基更换。
6. 在收获前一天更换培养基可以获得最佳结果。

使用本产品培养传代的羊水细胞：

在操作细胞传代时，用细胞在常规培养基中生长时通常所用的胰蛋白酶（或链霉蛋白酶等）处理培养物。但应仔细监控蛋白酶的处理。与常规培养基中生长的羊水细胞相比，在本产品中生长的羊水细胞对蛋白酶处理更敏感。您可能需要考虑修改实验方法。

注：用于培养的培养基pH值必须在6.65-7.44之间（即培养基必须是略带黄色的鲑鱼色）。通过将培养基置于5%-8%CO₂培养箱中，稍微拧松瓶盖约30分钟，可以很容易地调节pH值。

使用本产品进行CVS解剖：

1. 取一个100mm×15mm的较大培养皿，划分成2个分区，另取一个60 mm×15 mm较小的培养皿。在较小的培养皿中加入2 mL培养基（不含血清）。将4mL培养基加入到大培养皿的一个分区中，将6mL培养基加入到同一培养皿的另一个分区中。
2. 小心地从含有患者样品的原始离心管中吸出培养基和绒毛。将培养基和绒毛加到较大培养皿中含有4 mL培养基的分区内。
3. 在倒置显微镜下，使用两个无菌镊子去除血液凝块和绒毛膜绒毛外部存在的任何母体蜕膜。小心避免损坏脆弱的绒毛。将清洁过的绒毛转移到较大培养皿的6 mL分区中。
4. 进行最后的清洁，使用镊子抓住绒毛并轻轻晃动，同时浸入培养基中以去除任何多余的蜕膜、血凝块或碎片。如果可能，选择具有可见分枝和静脉的绒毛。确定存在的绒毛量以准备最佳培养物数量（5 mg是使用每个培养物的最佳用量；不要超过20 mg绒毛）。
5. 使用镊子将清洁过的绒毛放入较小的培养皿中，加入2 mL培养基（不含血清），然后将绒毛和培养基转移到15 mL离心管中。

使用本产品进行CVS培养：

1. 加入4滴抗生素（即硫酸庆大霉素，50µg/ mL）至离心管中，静置30分钟。
2. 将绒毛在约1400rpm下离心5分钟。
3. 从离心管中吸出上清液，在细胞沉淀的上方留下约0.5mL（或约沉淀体积的2倍）的培养基。
4. 轻柔地重悬细胞沉淀。向离心管中加入2 mL 本产品。
5. 重复步骤2-3。加入2mL胰蛋白酶，在37°C，5%-8%CO₂气体环境中静置孵育培养物10分钟。从培养箱中取出离心管，重悬沉淀并再次置于培养箱中10分钟。
6. 从培养箱中取出离心管，重悬沉淀并在1400 rpm下离心8-10分钟。
7. 从离心管中吸取并移除上清液。重悬沉淀，然后将1 mL胶原蛋白酶加入试管中，置于培养箱中5分钟。
8. 从培养箱中取出并目视检查沉淀是否混浊且看不到明显的单个绒毛。如果沉淀没有浑浊，重新放入培养箱5分钟。
9. 重复步骤8直至沉淀浑浊。在离心管中加入3mL本产品以终止胶原蛋白酶作用。
10. 在1,400 rpm转速下离心试管8-10分钟。
11. 从离心管中吸出上清液，在细胞沉淀的上方留下约0.5mL（或约沉淀体积的2倍）的培养基。重悬沉淀。
12. 设置最佳培养物数量（大约每5mg绒毛作为一个培养物），对于每个有盖玻片的培养皿，为每个培养物添加0.5 mL的本产品
13. 在37°C，5%-8%CO₂环境条件下静置孵育培养物。
14. 在第2天通过添加1.5mL 本产品浸没培养物。
15. 4天后检查培养物的生长。如果观察到生长，则除去培养基并向每个盖玻片上加入2mL新鲜的本产品。然后应每2天更换培养基。对于血性标本，培养物可能需要更频繁的培养基更换。
16. 在第5天检查培养物的生长情况，并在观察到足够的群落时收获。
17. 在收获前一天更换培养基可以获得最佳结果。

贮藏和稳定性

低于-10°C冷冻保存时，产品在瓶签标示的失效日期之前可以保持稳定。可以将未使用的产品分装到工作等分试样中并重新冷冻以备后用，或者盖紧盖子并在2°C至8°C下可以储存长达30天，最多可以冷冻两次。避光保存。

注意事项和警告

本品供接受过相关（包括本品适用范围）培训的人员使用。

切勿使用无菌包装已经被损坏的产品。

请勿在标签上指示的失效日期之后使用本产品。