

## 外周血淋巴细胞培养基 CHANG Medium MF 无有丝分裂原

目录号: 91005

100 mL, 500 mL

用于体外诊断

### 预期用途

#### 预期用途

本产品用于外周血细胞以及其他样本的培养，培养后的细胞用于细胞遗传学分析。

#### 产品描述

本产品是一种无有丝分裂原的即用型培养基，由含有20%FBS、2mM谷氨酰胺、20mM HEPES缓冲液和抗生素硫酸庆大霉素（35µg/mL）的RPMI组成。本产品中可能需要添加促有丝分裂剂，例如植物血凝素（PHA），以优化外周血细胞和其他细胞的生长。PHA（或其他有丝分裂原）的所需浓度应由各个实验室确定。

#### 成分

##### 氨基酸

精氨酸  
门冬酰胺  
门冬氨酸  
胱氨酸  
谷氨酸  
谷氨酰胺  
甘氨酸  
组氨酸  
异亮氨酸  
亮氨酸  
赖氨酸  
甲硫氨酸  
苯丙氨酸  
脯氨酸  
丝氨酸  
苏氨酸  
色氨酸  
酪氨酸  
缬氨酸

##### 其他

生物素  
羟脯氨酸  
谷胱甘肽  
缓冲液  
碳酸氢钠  
HEPES  
能量物质  
葡萄糖  
肌醇  
盐和离子  
氯化钠  
氯化胆碱  
硝酸钙  
氯化钾  
硫酸镁  
磷酸钠  
抗生素  
硫酸庆大霉素  
维生素和微量元素  
叶酸  
烟酰胺  
核黄素  
硫胺素  
泛酸  
钴胺素  
吡哆醇  
氨基苯甲酸

##### 水

注射用水质量/

##### 蛋白质、激素和生长因子

胎牛血清（FBS）

##### pH指示剂

酚红

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：<br>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 -<br>Prinsessegracht 20, 2514 AP<br>The Hague, The Netherlands<br>*符号参考-EN ISO 15223-1, 符号用于医疗器械-<br>医疗器械标签和贴标。 |

### 参考文献

1. Arakaki, D.T. and Sparkes, R.S. (1963). *Cytogenetics*, 2, 57-60.
2. Li, J.G. et Osgood, E.E. (1949). *Blood*, 4, 670
3. Maluish, A.E. and Strong, D. M. (1986). In *Manual of Clinical Laboratory Immunology*, pp. 274-281, 3rd Edition, Eds. N.R. Rose, H. Friedman and J.L. Fahey. *American Society for Microbiology*, Washington, D.C.
4. Nowell, P. C. (1960). *Cancer Research* 20, 462-466.
5. Waithe, W. I. And Hirschorn, K. (1978). In *Handbook of Experimental Immunology*, 3rd Edition, D. M. Weir, Ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford, Chapter 26- Lymphocyte responses to activators.
6. Watt, J.L. and Stephen G.S. (1986). In *Human Cytogenetics: a practical approach*, pp. 39-55. Eds.D. E. Rooney and B.H. Czepulkowski, IRL Press Ltd., Oxford.
7. A proposed Standard System of Nomenclature of Human Mitotic Chromosomes. (1960) *Lancet*, 1, 1063.

 **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 40747-CH Rev.01

#### 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案，对本产品进行可能的细菌污染检测。

包括样品来源、培养条件和试剂选择在内的一些因素可以影响所获得的结果。建议用户在常规使用之前，将每批新试剂与已知性能的对照培养基平行使用。

本产品的每一批次都通过外周血培养，对有丝分裂指数、染色体长度和质量进行了评估，的评估，并且与一对对照培养基进行对比。结果报告在每一批的分析证书上。

#### 需要但未提供的材料和设备

1. Phytohemagglutinin (PHA) 溶液 (9 mg/mL)，无菌
2. 不含酚的肝素
3. Colcemid 溶液 25 µg/mL
4. 氯化钾溶液，75 mM
5. 乙酸乙醇，1份冰醋酸：3份甲醇（分析纯试剂级）
6. Giemsa或2%乙酸 - orcein

7. 铬酸
8. 封固
9. 玻璃载玻片和盖玻片
10. 塑料离心管
11. CO<sub>2</sub>培养箱
12. 台式离心机
13. 涡旋混合器
14. 光学显微镜

#### 样品采集及处理

用于细胞遗传学分析的全血培养物的成功与否受到取样时具有正常功能的淋巴细胞水平的影 响。由于这一水平可能受到感染和药物的影响，因此细胞遗传学研究的 可能受试者在采集血液进行测试前7天不应服用药物。类似地，在某些疾病（例如霍奇金病，结节病等）的无反应阶段会大大降低有丝分裂指数，并且在妊娠后期的正常个体中，有丝分裂指数会降至较低程度。不得在血液样本中加入防腐剂进行淋巴细胞培养。无菌技术是至关重要的。

如果可能，应立即对血液样品进行检测。绝对需要时，血液样本可以在2℃至8℃下储存48小时以内。

#### 使用前的准备

本产品应在冰箱（2-8℃）中解冻过夜，然后轻轻混合以确保均一性。在无菌培养瓶中无菌分装10mL培养基并平衡至37℃以立即用于骨髓培养。

注：本产品中通常会形成草酸钙晶体通常在CHANG培养基MF中形。没有发现这些晶体的存在会对产品性能产生任何不利影响。

#### 使用说明

全血或分离的白细胞是细胞遗传学研究的材料，但前者是常规研究中最简单和最广泛使用的。与其他细胞培养过程相同，最佳结果取决于是否提供了较为适当的培养条件。由于活性PHA的相对含量可能在不同批次之间略有不同，因此最好对两种浓度的PHA进行测试。

关于使用这些产品的更多详细信息，每个实验室应该参考其为自己的医疗计划所专门开发并优化的实验室规程和方法。

#### A. 全血微培养物的制备

1. 采集5-20 mL新鲜血液在无菌肝素的试管内，颠倒混匀。
2. 使用无菌注射器加入5 mL无菌蒸馏水，复溶PHA。
3. 采用无菌操作技术，为每5mL血液样本准备所需体积的培养基（少量培养基）。
4. 将微量培养基分装至正确标记的无菌螺旋盖试管中，并无菌添加0.1mL复溶PHA。
5. 在培养前，立即使用1 mL无菌移液管加入0.4 mL肝素化血液。婴儿和儿童使用0.3 mL血液，孕妇使用0.5 mL血液。
6. 在37℃下孵育培养物72小时。婴儿和儿童的样品，在37℃下将两个培养物中的一个孵育48小时。对于孕妇，两个培养物中的一个可以在37℃下孵育96小时。每天颠倒混匀每个样品。
7. 在加入胸苷之前16-18小时向每种培养物中加入0.05 mL（50μL）/5mL甲氨蝶呤的工作溶液。
8. 在完成甲氨蝶呤同步（收获前5-6小时）后，向每种培养物中加入0.1mL（100μL）/5mL胸苷的工作溶液。

#### B. 收获培养物：

1. 在收获前，在37℃水浴中预热低渗溶液（75 mM氯化钾）。
2. 向每种培养物中加入0.5 μL的Colcemid溶液。
3. 轻柔混匀后重新放入37℃培养箱。
4. 30分钟后从培养箱中取出培养物。
5. 用台式离心机1000 rpm转速离心培养物10分钟。
6. 去除大部分上清液并丢弃。
7. 将沉淀重悬于6至8 mL预热至37℃的75 mM氯化钾溶液中10分钟。
8. 按照步骤5离心并弃去上清液。
9. 使用巴斯德吸管缓慢向沉淀加入6至8 mL新鲜制备的改良Carnoy's固定剂（3份无水甲醇：1份冰醋酸），同时在涡旋混合器上不断振摇。首先一滴滴加入固定剂，然后缓慢细流滴入，以减少细胞损伤和小块形成。
10. 置于室温下10分钟。
11. 按照步骤5离心并如前所述除去上清液，并缓慢加入另外5mL固定剂以重悬沉淀。
12. 重复步骤11两次以上，最后重悬于0.5 mL固定剂之中。使用该细胞悬液制备载玻片用于检查。必须妥善处理，避免细胞搅动。

#### c. 载玻片的制备：

1. 载玻片必须及其干净。恰当的清洁程序是将载玻片浸泡在铬酸中过夜，之后应在流水中冲洗至少半小时并用玻璃布擦亮。

2. 向载玻片中心加入1或2滴重悬细胞悬液，从载玻片上方3-4英寸处的玻璃载玻片中心处滴加细胞悬液并使其扩散。
3. 用滤纸擦去载玻片边缘多余的固定剂。
4. 首次出现牛顿环时，轻轻吹气，以加速载玻片的最终干燥。
5. 用吉姆萨染液染色并封片。

#### 临床应用

人类染色体数目是46。人类染色体已根据其长度和着丝粒的位置进行分类（丹佛分类）。染色体结构的异常与许多先天性疾病有关，例如唐氏综合症（通常带有额外的小常染色体）和与不确定性行为相关的综合征（其中发现性染色体异常的特纳氏综合征，克氏综合征等）。可以在慢性粒细胞白血病中的一部分白细胞中检测到获得性染色体异常（“费城”染色体），并且可以通过追踪该标志评估治疗进展。随着放射治疗中的耐受极限的接近，具有异常的染色体构成的细胞的比例显著增加，且这些细胞外观已被用作给药剂量的指导。

#### 贮藏和稳定性

将本产品放置低于-10℃冷冻，直至准备使用。本产品 在冷冻保存时，在瓶签标示的失效日期之前可以保持稳定。解冻后，可以将任何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（不超过两次），或者盖紧盖子并在2℃-8℃下可以储存长达30天。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。

本产品含有 FBS，使用时应遵守通用的实验室预防措施。培养基中含有抗生素（硫酸庆大霉素），以减少细菌污染的可能性，但在操作培养基时应始终使用无菌技术。请勿使用任何非红色的培养基。

#### 基本信息

##### 备案人/生产企业

名称： FUJIFILM Irvine Scientific, Inc.富士胶片欧文科技有限公司  
住所： 2511 Daimler Street, Santa Ana, CA 92705, USA  
生产地址： 2511 Daimler Street, Santa Ana, CA 92705, USA  
联系方式： +1 949 261 7800, +1 800 437 5706,  
传真：+1 949 261 6522  
[www.irvinesci.com](http://www.irvinesci.com)

##### 代理人 /售后服务单位

名称：富士胶片（中国）投资有限公司  
住所：上海市浦东新区平家桥路100弄 6号 7号楼 601单元  
联系方式：  
电话：+86-21-50106000  
传真：+86-21-50106750

医疗器械备案凭证编号 /产品技术要求编号  
国械备20160843号

##### 说明书核准及修改日期

2021年4月25日