

淋巴细胞培养基说明书

【产品名称】

通用名称：淋巴细胞培养基

英文名称：Lymphocyte Medium

【包装规格】 5ml/支，50支/盒

【预期用途】

本产品为细胞标本前处理试剂，仅用于细胞增殖培养，不具备对细胞的选择、诱导、分化功能，培养后的细胞用于体外诊断。

【主要组成成分】

基础培养基、植物血球凝集素（PHA）、胎牛血清等

【储存条件及有效期】

4-8℃保存，有效期1个月；-5℃以下保存，有效期12个月。

【使用方法】

1、准备：如细胞培养基储存在-5℃以下冰箱，应按所需的量提前半天至一天转移至4℃冰箱保存；种血前把培养基取出放置室温，使培养基升至室温（约25-30℃）。

2、采血：由专业人员用无菌采血针抽取外周血1-3ml至肝素钠（锂）真空采血管，轻柔颠倒混匀血（注意：消毒时需脱碘）。

3、种血：在无菌条件下，种血0.3-0.5ml（脐带血及小儿可略少）至细胞培养基内。

4、培养：将细胞培养基放入37℃培养箱中，平放培养管（以液体刚好未触及胶塞为佳），培养68-72小时，培养期间注意观察培养基有无凝血、溶血或长菌的现象（可培养24小时后将培养基轻摇匀一次，以便细胞可获得充分的营养）。

5、制片：

5.1 秋水仙素处理：

在终止培养前，加入浓度为20ug/ml的秋水仙素2-3滴（7#针头竖直滴入）后，继续培养2-3小时。

5.2 收获细胞：将培养完成的细胞培养基放入离心机，以1500rpm离心5-10分钟，弃上清，留沉淀细胞；

5.3 低渗：向培养管内加入37℃预温的低渗液（0.075mol/L氯化钾溶液）8ml，用吸管反复吹打均匀（约50次左右），置37℃水箱中低渗处理25-35分钟；

淋巴细胞培养基说明书

5.4 预固定：向低渗的细胞悬液内沿管壁缓慢加入固定液（新鲜配制，甲醇和乙酸按3:1的比例混合）1ml左右，轻轻混匀后置室温下固定5-10分钟后，1500rpm离心5-10分钟，弃上清，留沉淀细胞；

5.5 固定：沿管壁缓慢加入固定液6-8ml，轻轻混匀后置室温下固定5-10分钟，然后1500rpm离心5-10分钟，弃上清；留下沉淀细胞；

5.6 再固定：重复第5.5步；

5.7 滴片：用新鲜固定液将沉淀调成细胞悬液（不宜太浓，一般加固定液至0.5ml）在冰片上滴片，每张片上滴2滴。（加固定液的量应根据沉淀物的量和制片后细胞的分布情况调整）；过火晾干。

5.8 烤片：立即放入75℃烤箱中烤片3小时。

6、染色体显带：

将经烤片处理的载玻片放入37℃的0.25%胰酶溶液中（PH=7.2-7.4）消化1分钟左右（根据显带效果调整胰酶作用时间，每次作用时间并不完全相同。可先试一张片子，再根据显带效果调整胰酶作用时间）再用0.9%NaCl溶液（预温至37℃）漂洗两次，在预温至37℃的吉姆萨溶液中染色约3-10分钟，自来水冲洗干净，风干后，即可阅片。

【注意事项】

1、本实验方法中所指室温条件均为：温度25-30度；湿度50%-60%。

2、采集的外周血若立即接种则无需加肝素抗凝，如需保存标本，应加肝素抗凝。

3、采集的外周血在冰箱4℃保存，保存期不能超过一周。

4、弃上清时，注意细胞与上清的分界，留0.1-0.2ml上清。

【生产企业】

广州达晖生物技术股份有限公司

注册地址：广州市越秀区先烈中路80号2808房*

生产地址：广州高新技术产业开发区科学城开源大道11号
A8栋第四层A单元

电话：020-37636953、020-37636935

技术服务：18903062660 传真：020-37636953-616

【医疗器械生产备案号】粤穗食药监械生产备20150068号

【医疗器械产品备案号】粤穗械备20150158号

【说明书批准及修改日期】2018年8月2日