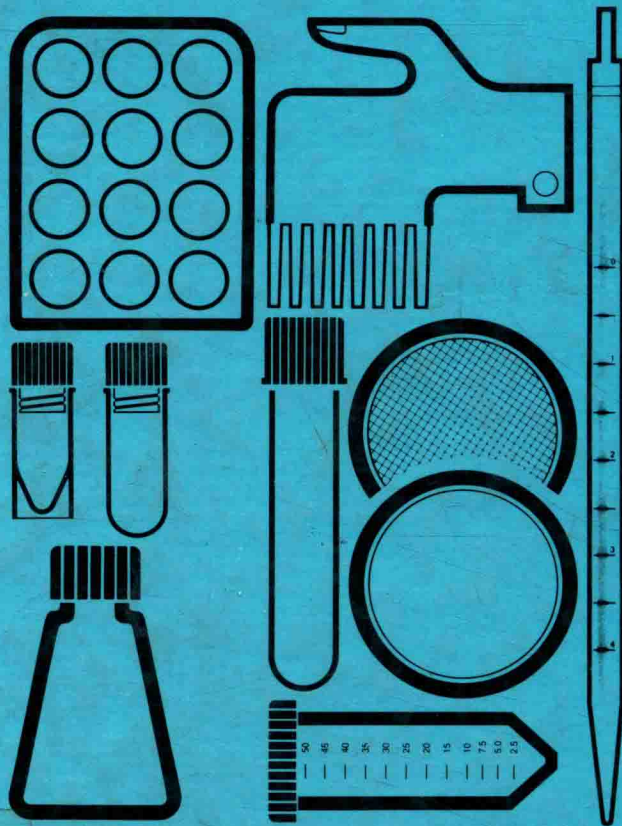


組織培養技術

日本組織培養學會 編著
上野洋一郎 編譯
辛致煒 編校



藝軒圖書出版社印行

組織培養技術

日本組織培養學會 編著
上野洋一郎 編譯
辛致煒 編校



藝軒圖書出版社印行

版權所有※翻印必究
著作權執照臺內著字第 號

新聞局出版事業登記證
局版台業字第一六八七號

組織培養技術

特價新台幣 350 元整

編著者：日 本 組 織 培 養 學 會

編譯者：上 野 洋 一 郎

編校者：辛 致 煒

發行所：藝 軒 圖 書 出 版 社

臺北市羅斯福路四段 50 號 2 樓 之 2

發行人：彭 賽 蓮

總經銷：藝 軒 圖 書 文 具 有 限 公 司

臺北市羅斯福路三段 316 巷 3 號 107

電 話：396-7824；397-2611

郵政劃撥：0106292-8


中 華 民 國 七 十 五 年 五 月 初 版

中 華 民 國 七 十 七 年 十 月 再 版

譯序

筆者進入臺灣大學動物研究所攻讀碩士時，首次接觸組織培養這門技術，其間受陳秀男教授指導受益良多。畢業後，返回輔仁大學生物學系以書報討論方式教授這方面的技術。有鑒於近年來生物技術的發展，組織培養已成為一普遍之技術，雖然坊間有許多關於組織培養的書籍，但大多為原文，在教學時頗感不便，故決定着手翻譯本書。在翻譯其間有關此一方面的理論、技術、儀器及應用等方面均有長足進步，但本書仍著重於基本技術的訓練培養，於操作實驗時可以從旁輔助。

最後，感謝杜詩亭、陳秀玲及劉淑美幫忙校對，及藝軒圖書出版社給予出版的機會，謹此致謝。

上野洋一郎 

中華民國七十五年四月

序 言

關於組織培養技術，早在 19 世紀末，已有幾個萌芽性的研究，然而目前則是以 1907 年 R.G. Harrison 所發表的研究報告來建立組織培養的技術。換句話說，組織培養是一門 20 世紀的學問，該項技術是一項和現代社會以同一步調相互配合進步的研究技術。

在早期的研究，並沒有所謂“無菌操作”的技術，只能做到由活體內切出組織在體外做初代培養而已。直到外科醫生 A. Carrel 引進無菌操作技術後，方可進行長時間的培養組織細胞。但是在那個時候一般的學者認為，組織培養是一項只有 Carrel 做得到的特殊技術，而懷疑是否可以以科學的技術為一般性的推廣。我們無法否認的是在從前組織培養是一種專門的技術，有些人則視組織培養為某一部分研究者的玩具罷了。因此，有許多人一直把組織培養視為一項特殊的研究部門而不敢輕易嘗試接觸。這些觀念在目前均被視為現代的神話。反觀現在，組織培養已被公認為研究細胞生物學的必要方法之一。

若以哺乳類等多細胞生物而言，構成組織的細胞，其性質受到細胞間之相互作用，活體內之控制系統的影響等因素均直接影響到我們所欲研究的細胞。有鑒於此，組織培養法便提供只限於細胞和其周圍培養基形成很簡單之實驗條件。因此，我們可以很容易的分析細胞所具有的性狀。另一方面，可以利用活體內之控制系統來作為組織培養基內之增殖因素，來研究其間之交互作用。

因此，在目前組織培養便成為研究哺乳類細胞的分子生物學，細胞分化上不可或缺的一門技術。更確立了在細胞生物學上的地位，也成為一般研究者所採用的最普遍的研究方法。

關於如何把這種現代化組織培養技術，不單單只限於研究者，而推廣到一般的教育及訓練方面的問題，則在梅田 誠委員長為中心的日本組織培養學會所用之教育研究方法，及委員會數年來的熱心檢討及實驗心得。其成果之一便是本書的發行。

這本書是組織培養的實習教材，也可以以自修的方式研讀，而來動手做實驗。更是一本淺顯易懂的組織培養入門書。但是以單就組織培養技術的實驗課本而言，最具代表性的是 D. J. Merchant 等所著的“Handbook of cell and Organ Culture” (Burgess Publ. Co., Minneapolis 1965)。但在上述的課本只有雙數頁印刷文字，單數頁呈空白，故可用做筆記用。其文字內容是先有很短的 Introduction, 接下來為 Materials, Procedure。因此把這本書放在實驗台上，邊看邊進

行實驗，也可以紀錄實驗之測定值及結果。若單就實驗課本來說，是本十分良好的教材。因此，在每年的4月，作者利用此書來訓練一批批的新生。可惜的是，這本書發行超過15年以上，而在其間組織培養技術已有長足的進步。因而其中有些部分已經不適合目前實驗上的要求。故有追加及修正的必要。

這本“組織培養的技術”，其內容已包括新的技術，且利用淺顯之文字，立刻可以得到之材料為主。可是，由於內容太多，若採取單頁印刷，則太厚。而不適合做為實驗課本，故採雙頁印刷。在基本上則採取Merchant等的課本上相同的主旨，希望讀者多多利用。

最後，要附註的是這本書是在日本組織培養學會負責下編輯的第一本書。今後會陸續發行有關此類的書籍。

1982年1月

本日本組織培養學會會長
山田 正篤
(東京大學藥學系教授)

目 錄

第一章 緒 論

1-1	各種培養法的種類	1
1-2	培養方法的發展	1
1-3	培養基的種類	2
1-4	初代培養 (primary culture)	3
1-5	株化細胞 (established cell line)	4
1-6	培養細胞的功能	5
1-7	培養方法的應用	5

第二章 培養前的準備及基本知識

2-1	設備、儀器	7
2-1-1	無菌室、無菌操作枱 (laminar flow) 無菌箱	7
2-1-2	儀器類	8
2-1-3	器具類	9
2-2	器具等之清洗及滅菌	11
2-2-1	清洗	11
2-2-2	滅菌	12
2-3	培養基 (medium) 及各科溶液類	
2-3-1	天然培養基 (natural media)	14
2-3-2	人工培養基 (synthetic media)	15
2-3-3	增殖培養基 (growth media)	15
2-3-4	維持培養基 (maintenance media)	15
2-3-5	培養基類之滅菌	15
2-3-6	培養基類之試驗	16
2-3-7	鹽類溶液 (balanced salt solution; BSS)	16
2-3-8	0.2% phenol red 溶液	19
2-3-9	7.5% 碳酸氫鈉 (NaHCO ₃) 溶液	19
2-3-10	0.25% 胰蛋白酶 (trypsin) 溶液	19
2-3-11	2% 中性的 EDTA (ethylene diamine tetraacetic acid)	19

2-3-12 人工培養基 (synthetic media) 之配法	19
2-4 無菌操作法 (aseptic techniques)	21

第三章 基本技術

3-1 細胞計算法	26
3-2 細胞之繼代培養法	29
3-3 增殖曲線 (growth curve)	31
3-4 形態觀察法	33
3-5 染色體標本製作法	36
3-6 群落 (colony) 形成法	40
3-7 軟瓊脂 (softagar) 內群落 (colony) 形成法	42
3-8 移植片培養法—雞胚胎心臟片之培養	43
3-9 初代細胞分散培養法	47
3-10 冷凍保存法	49

第四章 化學、物理性實驗法

4-11 細胞分割法	53
4-12 DNA、RNA，蛋白質定量法	57
4-13 放射性先驅物質之吸收法	63
4-14 利用比色法來做酵素活性之測定法	66
4-15 同位素之酵素測定法	68

第五章 各種培養技術

5-16 S期之同步培養法	73
5-17 M期之同步培養法	79
5-18 細胞融合及雜種細胞形成法	81
5-19 大量培養法 (mass culture)	85

第六章 培養內功能、分化的發現

6-20 腎上腺腫瘤株化細胞之甾類激素 (steroid hormone)	87
6-21 肝癌株化細胞中之酪氨酸轉氨酶 (tyrosine aminotransferase; TAT) 之誘導	90
6-22 Friend 白血病細胞之分化	92

第七章 各科器官的細胞培養法

- 7-23 肝細胞的培養法..... 95
- 7-24 腎臟細胞的培養法..... 99
- 7-25 腦細胞的培養法..... 102
- 7-26 胰島細胞的培養法..... 106
- 7-27 骨髓細胞的培養法..... 111
- 7-28 軟骨細胞的培養法..... 115
- 7-29 器官培養法—雞胚胎大腿骨的器官培養..... 117

第八章 人體細胞之培養法

- 8-30 人體雙倍體纖維芽細胞的培養法..... 121
- 8-31 人體皮膚角化細胞的培養法..... 125
- 8-32 人體癌症細胞的培養法..... 129

第九章 病毒實驗法

- 9-33 病毒感染所引起的細胞形態變化之觀學..... 135
- 9-34 以細胞病變效應 (CPE) 來定量分析單純疱疹病毒 (Simple Herpes Virus)..... 137
- 9-35 以病毒斑法來定量研究單純疱疹病毒..... 141
- 9-36 人體血清中之抗單純疱疹病毒抗體之測定..... 143
- 9-37 SV40 所引起的培養細胞之性狀轉變..... 145
- 9-38 脊髓灰質炎病毒 (poliovirus) 之分離與鑑定..... 148

第十章 免疫實驗法

- 10-39 小白鼠的抗原專一性淋巴球之幼小化反應 (blastogenesis)..... 152
- 10-40 小白鼠淋巴球細胞之抗體產生檢驗法..... 155
- 10-41 人體淋巴球之分離培養法..... 157
- 10-42 人體之T淋巴球, B淋巴球之分離測定法..... 159
- 10-43 融合瘤 (hybridoma) 形成法..... 161

第十一章 毒性及遺傳毒性檢查法

- 11-44 化學物質的簡易毒性試驗法 (改變 Panel 法)..... 168
- 11-45 染色體異常試驗法..... 173

11-46	不定期 DNA 合成試驗法	179
11-47	姊妹染色體互換試驗法	181
11-48	突變實驗法	185
11-49	試管內致癌實驗法(用 C3H10T 1/2 細胞的病灶法)	188
11-50	輻射線效果測定法	193

附 錄

附錄 1	質菌屬 (mycoplasma) 檢驗法	199
附錄 2	統計處理法	205
附錄 3	工作記錄的寫法	213
附錄 4	培養基的組成	219
附錄 5	株化細胞	223
附錄 6	染色法	229
附錄 7	閃爍計數液 (scintillator)	235
附錄 8	顯微鏡觀察	237
附錄 9	顯微照相與照片的沖洗法	239

參考文獻	241
------	-----

後 記	245
-----	-----

資料部分	247
------	-----

索 引	293
-----	-----

第 1 章

緒論

1-1 各種培養法的種類：

將活體內取出的一部分，置於含有適當培養基的培養器中進行培養的技術，稱之為組織培養法 (tissue culture)。利用組織培養法，可以將器官，組織，甚至於細胞的生存情形，增殖動態，用來和體內複雜控制機構無關的單純環境下，或是人為的各種條件下進行觀察，分析。換句話說，組織培養法便是在試管內，以器官，組織，細胞為單位，分析生命現象的最佳實驗方法之一。

一般所謂的組織培養法 (tissue culture)，器官培養法 (organ culture)，細胞培養法 (cell culture) 等，均廣義的稱為組織培養法。

欲維持組織在體內的原來狀態而進行的培養法稱為組織培養法 (tissue culture)。欲維持器官在體內具有原來狀態而進行的培養法稱為器官培養法 (organ culture)。這些培養方法就目前而言，尤其是在胚胎的形成，激素 (hormone) 及其他各方面成爲一項很重要的工具。

另外一方面，將一個個的細胞從組織中打散，而來進行培養，此種培養法稱之為細胞培養法 (cell culture)。依着細胞培養法技術的進步，可以把視爲活體中獨立的一種“微生物”。就是以細胞為單位的個體，將其分化過程，致癌機制，物質的代謝及老化程度等之功能予以定量化。再利用細菌學方面的知識及技術上的配合作為基礎，可以利用作為研究哺乳類細胞的種種探討。此乃細胞培養的最大意義。

在細胞培養法中，細胞附着於培養器的表面上時，細胞質會展開而進行增殖，此稱為單層培養 (monolayer culture)。然而，大多數的細胞都是以這種方式來進行增殖。另一方面，若細胞不附着於培養器表面，保持球狀的形態而進行增殖的，此類稱之為懸浮培養 (suspension culture)。例如：血液中之白血球及腹水細胞等，則都以此法來進行增殖。

1-2 培養方法的發展：

自從 19 世紀末以後，有許多人嘗試着去探討在培養器內把由動物體內或身上取出來的內臟器官，組織，細胞，加以維持，或更進一步的使其發育。但是在實際

上，首先在培養器內以原始細胞利用再現性的狀態表現出來，且成功地培養出來的是Harrison (1907)。他在青蛙的淋巴液裡，成功地培養出由青蛙的神經胚胎中取出的神經管。Harrison 在顯微鏡下發現，神經纖維會自神經芽細胞中伸出。利用這種方法，他證實了神經纖維實際上是神經細胞本身的一部分。

在這之後，外科醫生 Carrel 引進了無菌操作的技術。他發現了活體內的組織或細胞可以在體外長時間的增殖。接着 Strangeway 等將上列技術應用於器官培養上，Maitland 和 Maitland 及 Enders 等更將該項技術廣泛地應用在病毒學的研究上。Earle 等人建立了小白鼠纖維芽細胞 L 株及細胞無性繁殖系 (clone)。Evans 等人則致力於開發同型培養 (replicate cell culture)。Dulbecco 及 Moscona 等人首先採用 trypsin 建立細胞培養的方法。Puck 則成功地開發出群落 (colony) 形成培養法，該項方法乃是以 Eagle 為首的人工培養基為主而加以改良得到。由於有上述學者努力經營的結果，及不斷地開發出新的培養技術。尤其是在 1950 年代，在美國已大量開發出小兒麻痺疫苗 (poliovaccine)。在往後便利用小兒麻痺疫苗開發之法為起點，再配合目前已被廣泛採用的培養液及培養技術為實驗的手段。如今，組織培養法已在醫學上，藥學上，生物學等和細胞研究有相關連的種種研究方面，成為利用價值頗高且實用的技術。

1-3 培養基的種類：

培養法的基本原理是在名叫培養基的營養物質之中來培養細胞。目前一般所採用的培養基則是在生理緩衝液 (buffer) 中添加氨基酸 (amino acid)，維他命 (vitamin)，碳水化合物 (carbohydrate) 等而形成人工培養基，再添加血清而成的。人工培養基的目的在於適合實驗目的所需以及配合實驗所欲培養的細胞，一般所需的必要成分配合而成的。至於血清方面，一般約可分成：牛胚胎血清，小牛血清，馬血清等。而由這些血清中選出最適合實驗材料者，加入人工培養基中，開始培養。但是，有時候如此做細胞生長的情形不佳時，在有些報告中提出添加 epidermal growth factor (EGF) 等一些增殖因子 (growth factor) 後 (詳細部分請參閱資料部分 p. 289)，或胰島素 (insulin) 等各種激素 (hormone)，霍亂毒素 (cholera toxin)，人體臍帶血血清，腹水之上層澄清液，母乳或 bactopectone 及酵母抽出液 (yeast extract) 等，細胞的生長情形將會好些。利用上述培養基的開發及改良以後，便可提供來培養各種細胞生長所需。

然而在另一方面，有些人則主張應該停止添加血清等一些成分不清楚的添加物於培養基之中。而嘗試利用只添加牛血清白蛋白 V 部分 (bovine albumin fraction V)，(參閱資料部分 p. 285) 和一些已知成分的無血清培養基。有些學者則開發出只

添加少許已知成分而仍可進行培養的完全人工培養基。但是另外又有些報告中指出添加 fibronectin，各種增殖因子及激素等可以用來取代血清的部分。

而在培養基中添加抗生素 (antibiotics)，便可用來預防雜菌之污染。如此一來，便使得組織培養法更容易進行，故其對細胞培養具有舉足輕重的地位。就細菌的培養而言，若該實驗被其他的細菌所污染，我們也可以行分離培養法而來加以分離，而可以得到和原來相同細菌的純培養。再則，若以組織培養來看，一旦受到細菌的污染，便很難自細胞中排除細菌。雖然，抗生素在預防感染上發揮其效果。但是，我們無法說抗生素是萬能的。所以一方面改善並充實實驗室的設備，並同時培養研究者本身學會無菌操作的技術。這些都是在做組織培養研究上不可或缺的技术。

1-4 初代培養(primary culture):

由於培養技術進步的結果，目前已經可以培養出各種的組織及細胞。可是，到目前為止並沒有一種特定或依據的方法一定可以培養出任何的組織或細胞。所以目前的情況則是依據各種組織，器官而加以改良的方法來培養，以建立適用於各種組織，器官的培養方法。

就一般而言，胎兒的組織比較容易培養出來。關於成體組織的培養，從前是認為纖維芽細胞比較容易培養，但是上皮細胞就較其它細胞困難。可是到了最近，成體細胞中已分化完全而且具有特殊功能者，例如：肝臟，皮膚的上皮細胞 (epithelial cell) 等也可以進行細胞培養。(詳情請參閱第七、八章)

一般來說，若以組織為材料而來做細胞培養的話，其間含有各種起源不同的細胞，所以在培養之前則必需留意我們所欲培養出的細胞為何，而選擇最適合的培養方法。

因為癌症組織的增殖能力較一般的組織為強，因而一般認為癌症組織較易培養，但是實際上有些正常組織反而容易培養，當培養癌症細胞時，也逐漸地開發出適合於各種癌症組織的培養方法。根據最近的報告中指出，有關癌症組織的培養，只有 1/3 能夠進行長期的繼代培養。

一般來說，從整塊組織中培養出來的細胞，即使可以進行繼代培養，但是也無法保持該細胞可以依原來正常細胞的形態長期不斷的行繼代培養。以人類胎兒的肺臟組織中纖維芽細胞而言，差不多經過 50 代左右的繼代培養後，該細胞一定會死滅。就小白鼠 (mouse) 及倉鼠 (hamster) 來說，其胚胎 (embryo) 的細胞，大約經過 20 代左右的繼代培養之後，便無法再行繼代培養下去，就上述的現象說來，在組織培養下的細胞也有所謂的培養壽命的現象。而這種老化過程的模式也成為當今一門很重要之研究課題。

1-5 株化細胞(established cell line):

如同上一節所說的，自活體中取出來組織，經過培養而得的細胞，大部分在繼代培養的過程中會死滅（有限增殖，finite growth），但是有些細胞則可以繼續以繼代培養的方法培養下去，而且可以達到無限制地增殖階段（無限增殖，infinite growth）。這些就是所謂的株化細胞(established cell line)(註1)。株化細胞具有很穩定的增殖能力，容易行繼代培養而且可以大量的來培養細胞。若就操作技術而言並不困難，可是就一般來說，經過建立的株化細胞，其染色體(chromosome)的組成已引起變化而呈現出染色體異數性(heteroploid)，就連由正常組織中來的細胞也大多有惡性化(註2)的現象發生。而利用特殊的繼代培養方式所得到的3T3，或C3H 10T 1/2等細胞均會呈現增殖接觸阻止現象(contact inhibition of cell growth)：由於細胞增殖的結果，使得細胞充滿在培養器的表面，每個細胞彼此均相互接觸，所發生的增殖阻止現象)。這些株化細胞會保持原來正常細胞中的某些性質，也可以用來作為性狀轉換(transformation)的實驗及其它各種的目的之用。雖然這些株化細胞已呈現出染色體異數性(heteroploid)。

註1：有些人建議，一般可以培養數代以上的細胞，稱為株化細胞(cell line)。已獲得無限制增殖能力的株化細胞稱之為建立株化細胞(established cell line)，而這些株化細胞的性狀為人們研究得很徹底，且得以穩定的生長者，此種株化細胞稱之為細胞株(cell strain)。但這些專有名稱常常被人誤用而引起混亂，故應多加注意。

註2：在一般培養的細胞之中，有些會出現形狀及行為的變化。而且這些形狀及行為均會維持在穩定的情況。這是由於細胞引起性狀轉換(transformation)。性狀轉換(transformation)原來在遺傳學上是指細菌吸收了外來的DNA而導致該菌體特性(character)的變化。但是在細胞培養上，並不只限於吸收外來的DNA而引起特性(character)上的變化。而改採用廣義的解釋。細胞的性狀轉換(transformation)大多指細胞隨着接觸阻止現象(contact inhibition of cell growth)的消失而引起的惡性轉換。有時候，這種現象也稱之為malignant或neoplastic transformation而來區別和細菌的性狀轉換。關於其它的翻釋也尚未統一，有人釋為變換，(特性)變換，(特性)轉換，轉化，細胞特性轉換等等。有些人則認為應該調查是引起那種的變化，而可以記成為形態轉換，惡性轉變等。在這本書中，一般則稱之為特性轉換，特別是指在惡性化時，稱之為惡性特性轉換。

1-6 培養細胞的功能：

在活體組織內的細胞，依照其分化階段的不同，在功能上所扮演角色也不同。因此，在細胞培養法上，最好能夠維持每個細胞在活體內的功能加以培養。推而廣之，如果是器官培養的話，則必需維持其在活體內的功能而來加以培養作為目的。

一般說來，如果經過長期繼代培養的株化細胞，大部分都已失去其源起組織中所具有的特殊功能。但是，有些細胞仍然可以維持原來的功能，例如可以產生激素，或合成特殊的蛋白質，以保持其原有的功能而來做繼代培養。這種細胞，為了要了解其功能及機制上的問題，便成為十分重要的實驗材料。而在本書的第6章會提到有關此類的株化細胞。

另一方面，如果剛從活體組織中培養出來的初代培養細胞，這些細胞往往大多能夠保持原來存在活體組織中的特性。雖然，在數天或數週後，其功能大致上會消失，但是却能給研究此類特殊功能的研究人員，提供一項很好的實驗材料。在本書的第7、8章會詳細說明此類細胞的培養法。

1-7 培養方法的應用：

細胞培養法在細胞生物學上的貢獻很大，隨着細胞培養法的進步，一些新設立的研究部門發展也相對的顯着起來。現今已經可以進行單一細胞的培養，純系複製（cloning；單獨分離來自於同一個細胞，此類細胞在遺傳的特性是來自於同一個細胞，此種技術屬於純系複製的操作）（參考實驗3-6）之可行性，在細胞生物學上的基礎研究方面有十分重大的意義。再加上，細胞周期分析法，同步培養法（參考實驗5-16，5-17）等之改進，也同時帶動對於該方面知識發展上有很大的助益。

同時，如果為了細胞培養而開發出的某一種技術，也會有前所未料的研究部門發展。再則利用細胞融合（hybridoma）和雜種（hybrid）形成的技術（參考實驗5-18），把來自人類和小白鼠的細胞融合成爲一個新的細胞，而使其不斷的增殖。製作染色體輿圖（chromosome map）。解析遺傳因子呈現的機制，融合瘤（hybridoma）的形成（參考實驗10-43）等。體細胞遺傳學（soma togenetics），細胞工程學（cytoengineering）上，均可以細胞培養來作為研究的工具。另外，在免疫學（immunology）上的進步是，原先認為無法再行分裂的小淋巴球（small lymphocyte），但是經過培養的結果發現，小淋巴球（small lymphocyte）再受到各種刺激後仍可旺盛地分裂下去。此種淋巴球培養技術，除了在免疫學上以外，對於人類遺傳性疾病的了解（參考第10章）上也有很重要的應用。就病毒學（Virology）的

立場上而言，細胞是提供病毒增殖的場所，在病毒學的研究上，必須將寄主細胞控制於最單純的情形下進行細胞培養（參考第9章），而此種培養技術在近來使得病毒在分子生物學上的研究有着不可磨滅的貢獻。

在人類的歷史上，早已存在的毒性物質，及近代人類文明進步後所產生的許多化學物質，以及輻射線對生物可能引起的不良影響。爲了研究的安全起見，以及安全的使用這些物質，同時站在毒性學（toxicology）的立場上而言，也有必要充分地來調查這些物質。爲了這方面的目的，細胞培養法便提供了調查毒性時所需的簡便篩選法（screening）或作爲機制上研究，其間的意義是很重大的。今後，此類的發展及應用會有不斷的進步。在本書的第11章，會有關於這一方面應用的實例。

正如上述所說，利用一般的株化細胞，特殊的株化細胞，或是胎兒，成體的組織其初代或數代的繼代培養細胞，甚至於器官培養法等，諸如此類的方法必須根據實驗的目的而來選擇最適當的方法。除此之外，細胞培養技術可以應用在生物學，醫學，藥學等方面的研究。在這本書裡面關於基本的實驗方法，會有很詳細的說明。有關其具體的應用實例，也會逐項一一介紹。但是，較詳細的事情，則請參考各種參考書籍及個個的實驗結論。

第 2 章

培養前的準備及基本知識

2-1 設備、儀器：

2-1-1 無菌室，無菌操作枱 (Laminar flow)，無菌箱：

當在進行組織或細胞培養時，通常必需要防止雜菌的污染。爲了這個目的，在實驗的操作過程及實驗操作的地方，應儘量減少雜菌的存在。因此最好使用無菌室，無菌操作枱 (Laminar flow)，(參考資料部分 p. 255)或無菌箱。然而在學生的實習過程中，不得已而在無上述設備的地方進行實驗，否則每個人必須小心地學會 2-4 的無菌操作項目中的每一部分。

a. 無菌室：

無菌室建造的目的是爲了進行無菌操作而設置成大小約 10 m^2 之房間。進入此房間的空氣必須經過過濾。並且應較其它實驗室的大氣壓力爲高些。並且必須裝有自來水，瓦斯，真空線管等設施。爲了減少許多死角，故殺菌燈是實驗室裏常設的儀器。而且實驗室中只可放置實驗台，椅子等。使用無菌室的順序如下：

- (1) 按照實驗計劃所需，將所需的材料，器具等藥品儀器放置於籃子中。
- (2) 穿上經過高壓滅菌的實驗衣。
- (3) 關掉殺菌燈。打開燈後帶進入實驗所需要的東西。(儘量地減少進出無菌室的次數)。
- (4) 消毒手後，開始進行實驗。
- (5) 結束實驗後，將所帶進來的東西都要帶出去。
- (6) 清理實驗枱後離去，將殺菌燈打開。

b. 無菌操作枱 (Laminar flow)：

無菌操作枱的寬度約在 $120 \sim 160 \text{ cm}$ 之間，深度約爲 90 cm ，高度約 180 cm 左右的箱子型實驗枱。經過過濾板過濾後的空氣由上面或由正面流進來。有一面或兩面可以上下移動的玻璃窗。在實驗枱上，裝有瓦斯開關，抽氣所用的真空線管。也裝設有插座，可以在必要時放入顯微鏡，或者小型恒溫水浴箱。如果採用 chemohazard，及 biohazard 的，那是最理想不過的。