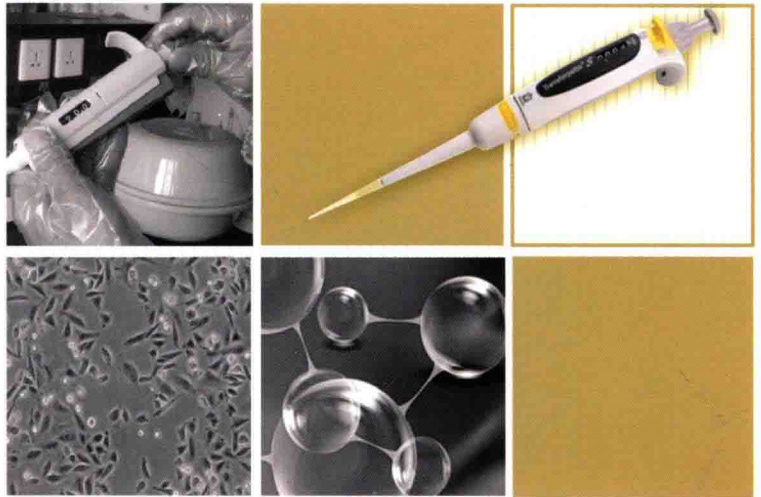




北京农业职业学院教材出版基金资助

动物细胞培养技术



杨新建 主编

Dongwu Xibao Peiyang Jishu



中国农业大学出版社

CHINA AGRICULTURAL UNIVERSITY PRESS

北京农业职业学院教材出版基金资助

动物细胞培养技术

杨新建 主编

中国农业大学出版社

· 北京 ·

内 容 简 介

在遵循学生职业能力培养规律的基础上,本教材以真实工作任务及其工作过程为依据,按照学生从初学者、有能力者、熟练者到专家的职业生涯层次,将其内容整合、序化为5个情境、16个任务。

情境1:动物细胞培养的准备工作的准备工作,包括动物细胞培养常用设备和器材的使用与保养,动物细胞培养用品的清洗、包装和灭菌,动物细胞培养液及培养用液的配制三项任务;

情境2:动物细胞培养,包括动物细胞的取材与分离、动物细胞的原代培养、动物细胞的传代培养,动物细胞的常规检查四项任务;

情境3:动物细胞的冻存和复苏,包括动物细胞的冻存和动物冻存细胞的复苏两项任务;

情境4:病毒的细胞培养与鉴定,包括病毒的细胞培养和病毒的鉴定技术两项任务;

情境5:单克隆抗体制备,包括动物免疫,细胞融合及杂交瘤细胞的筛选,单克隆抗体的筛选与检测,杂交瘤细胞克隆化,单克隆抗体的大量制备与鉴定五项任务。

同时,教材内容中的每一个任务,均按照认知与解读、操作与体验、检查与评价、分析与思考、拓展与链接5个模块进行编排,实现了学习目标工作化、课程内容综合化、学习过程行动化、评价反馈过程化的基本特点,便于教师的教学安排以及学生的自主学习。

图书在版编目(CIP)数据

动物细胞培养技术/杨新建主编. —北京:中国农业大学出版社,2013. 7

ISBN 978-7-5655-0745-8

I. ①动… II. ①杨… III. ①动物-细胞培养-教材 IV. ①Q954. 6

中国版本图书馆CIP数据核字(2013)第134169号

书 名 动物细胞培养技术

作 者 杨新建 主编

策划编辑 陈 阳 伍 斌

封面设计 郑 川

出版发行 中国农业大学出版社

社 址 北京市海淀区圆明园西路2号

电 话 发行部 010-62818525,8625

编辑部 010-62732617,2618

网 址 <http://www.cau.edu.cn/caup>

经 销 新华书店

印 刷 北京时代华都印刷有限公司

版 次 2013年8月第1版 2013年8月第1次印刷

规 格 787×1092 16开本 17.5印张 429千字

定 价 33.00元

责任编辑 梁爱荣

责任校对 陈 莹 王晓凤

邮政编码 100193

读者服务部 010-62732336

出 版 部 010-62733440

e-mail: cbsszs @ cau.edu.cn

图书如有质量问题本社发行部负责调换



编审人员

主 编 杨新建(北京农业职业学院)

副主编 段素云(北京农业职业学院)
王艳华(北京科技职业学院)

参 编 (按姓氏拼音排序)

郭 彤(北京农业职业学院)

霍思伟(军事医学科学院)

凌连军(基点生物科技(北京)有限公司)

刘 刚(唐山职业技术学院)

田 锦(北京农业职业学院)

王建霞(北欧生物科技(北京)有限公司)

魏银萍(湖北生物科技职业学院)

张 君(广东科技贸易职业学院)

主 审 步卫东(北京市农林科学院)

前 言

细胞培养技术是生物技术的重要组成部分,是生物学各研究领域的基本技术和技能,现已广泛应用在生物学、医学、生物制药等各个领域。尤其是动物细胞培养作为进行细胞研究和细胞生产的重要技术,已经成功地应用于生物制药产业,成为各国进行新药研发的优先发展方向。目前,在我国的图书市场上,关于细胞培养方面的书籍有几十本之多,但大多属于本科类教材,内容宽泛,理论性强,而实践性差。而有限的几本高职高专教材中,一些也是本科类教材的压缩版,无法体现高职高专培养高技能人才的基本理念。本教材是根据《关于实施国家示范性高等职业院校建设计划,加快高等职业教育改革与发展的意见》(教育部、财政部教高[2006]14号)、《关于全面提高高等职业教育教学质量的若干意见》(教高[2006]16号)、《关于进一步加强高技能人才工作的意见》(中办发[2006]15号)以及示范性院校建设和教学评估对教材建设的要求等相关精神,以实际工作过程的先后顺序为主线,以实际的工作任务为主要内容,在理论知识“必需、够用”的原则下,编撰而成的“工作过程导向性”教材。本教材主要有以下特点:第一,加强知识的实用性,放弃理论体系的完整性;第二,教材形式新颖,体现工学结合一体化、理论与实践一体化的主导思想;第三,以工作过程为纲,实现课程内容与工作任务相一致,学习过程与工作过程相一致,学习环境与工作场景相一致;第四,教材内容的编写形式与项目教学法的实施过程相辅相成,便于学生的自学和教师的讲授。

本教材按照工作过程的先后共分5个情境,情境1:动物细胞培养的准备工作的准备工作,包括动物细胞培养常用设备和器材的使用与保护,动物细胞培养用品的清洗、包装和灭菌,动物细胞培养液及培养用液的配制三项任务;情境2:动物细胞培养,包括动物细胞的取材与分离,动物细胞的原代培养,动物细胞的传代培养,动物细胞的常规检查四项任务;情境3:动物细胞的冻存和复苏,包括动物细胞的冻存和动物冻存细胞的复苏两项任务;情境4:病毒的细胞培养与鉴定,包括病毒的细胞培养和病毒的鉴定技术两项任务;情境5:单克隆抗体制备,包括动物免疫,细胞融合及杂交瘤细胞的筛选,单克隆抗体的筛选与检测,杂交瘤细胞克隆化,单克隆抗体的大量制备与鉴定五项任务。

本教材是北京农业职业学院国家级示范校建设优质核心课程建设成果的进一步固化和延伸,全书共分5个情境、16项任务,由北京农业职业学院杨新建主编,并负责编写情景1任务三。另外,基点生物科技(北京)有限公司凌连军技术专员负责编写情景1任务二;军事医学科学院霍思伟博士负责编写情景2任务三和任务四;北欧生物科技(北京)有限公司王建霞项目经理负责编写情景5任务四和任务五;北京农业职业学院段素云老师负责编写情景5任务一

以及最后的统稿、校稿；田锦老师负责编写情景 3；郭彤老师负责编写情景 1 任务一；北京科技职业学院的王艳华老师负责编写情景 4；广东科技贸易职业学院的张君老师负责编写情景 5 任务二和任务三；湖北生物科技职业学院的魏银萍老师负责编写情景 2 任务一；唐山职业技术学院的刘刚老师负责编写情景 2 任务二。尤其需要说明的是，北京市农林科学院步卫东副研究员对本书的内容进行了审定，提出了很多合理化的建议和意见，尤其在工学结合一体化方面提出了许多建设性意见，为本教材的科学性和实用性提供了保证。在此，向他们一并表示由衷的感谢！

由于作者的经验和水平有限，书中难免会有疏漏与不足之处，敬请广大读者与同仁批评指正。

编者

2013 年 4 月

目 录

学习情境 1 动物细胞培养的准备工作的准备工作	1
任务一 动物细胞培养常用设备和器材的使用与保养	1
认知与解读	1
一、动物细胞培养实验室的设置	1
二、动物细胞培养常用设备	2
三、动物细胞培养常用器材	4
操作与体验	6
技能一 动物细胞培养常用设备的使用与维护	6
技能二 动物细胞培养常用器材的使用与维护	16
检查与评价	20
一、检查	20
二、评价	21
分析与思考	24
拓展与链接	24
一、动物细胞培养的发展简史	24
二、动物细胞培养的概念	26
任务二 动物细胞培养用品的清洗、包装和灭菌	27
认知与解读	27
一、培养用品的清洗	27
二、培养用品的包装	30
三、培养用品的消毒灭菌	31
操作与体验	32
技能一 清洗液的配制	32
技能二 动物细胞培养用品的清洗、包装和灭菌	33
检查与评价	38
一、检查	38
二、评价	39
分析与思考	41
拓展与链接	42
一、细胞培养的优缺点	42

二、细胞培养的基本要求	43
任务三 动物细胞培养液及培养用液的配制	44
认知与解读	44
一、平衡盐溶液	44
二、天然培养基	44
三、合成培养基	45
四、细胞消化液	47
五、pH 调整液	47
六、抗生素溶液	48
七、无血清培养基	48
操作与体验	48
技能一 常用 BSS 液的配制	48
技能二 常用细胞消化液的配制	50
技能三 常用 pH 调整液的配制	51
技能四 常用抗生素溶液的配制	52
技能五 常用天然培养基的制备	53
技能六 常用合成培养基的配制	56
检查与评价	58
一、检查	58
二、评价	59
分析与思考	61
拓展与链接	61
一、动物细胞体外培养的营养条件	61
二、动物细胞体外培养的环境条件	63
学习情境 2 动物细胞培养	65
任务一 动物细胞的取材与分离	65
认知与解读	65
一、原代细胞的取材	65
二、原代细胞的分离	66
操作与体验	68
技能一 机械分散法分离原代细胞	68
技能二 消化法分离原代细胞	69
技能三 细胞计数及活力测定	70
检查与评价	72
一、检查	72
二、评价	72

分析与思考	74
拓展与链接	75
一、培养操作基本要领和要求	75
二、其他组织的取材	77
任务二 动物细胞的原代培养	78
认知与解读	78
一、组织培养法	78
二、消化培养法	79
操作与体验	80
技能一 鸡胚成纤维细胞原代培养——组织培养法	80
技能二 鸡胚成纤维细胞原代培养——消化培养法	82
检查与评价	84
一、检查	84
二、评价	84
分析与思考	86
拓展与链接	87
一、小鼠胎儿细胞的原代培养	87
二、其他细胞的培养	89
任务三 动物细胞的传代培养	94
认知与解读	94
一、原代培养的首次传代	94
二、细胞传代方法	95
三、培养细胞的纯化	96
四、培养细胞的克隆化	96
操作与体验	97
技能一 鸡胚成纤维细胞的传代培养	97
技能二 培养细胞的纯化	99
技能三 培养细胞的克隆化	100
检查与评价	103
一、检查	103
二、评价	104
分析与思考	105
拓展与链接	106
一、传代细胞的建系和维持	106
二、培养细胞的其他纯化方法	107

任务四 动物细胞的常规检查	108
认知与解读	108
一、培养细胞常规检查内容和方法	108
二、培养细胞的污染	109
操作与体验	111
技能一 细胞生长曲线的测定	111
技能二 检查培养细胞的常用手段	112
技能三 培养细胞的常规检查	115
技能四 细胞活性检查	118
检查与评价	119
一、检查	119
二、评价	120
分析与思考	122
拓展与链接	123
一、培养细胞的生长类型和形态特征	123
二、培养细胞的生长特点	125
三、培养细胞的生长和增殖过程	127
学习情境 3 动物细胞的冷冻和复苏	130
任务一 动物细胞的冻存	130
认知与解读	130
一、细胞的冻存和复苏	130
二、细胞的运输	133
操作与体验	133
技能一 培养细胞的冻存	133
技能二 特殊培养细胞的冻存	135
检查与评价	136
一、检查	136
二、评价	136
分析与思考	139
拓展与链接	140
一、培养细胞冷冻保存概述	140
二、冷冻保存方法	141
任务二 动物冻存细胞的复苏	142
认知与解读	142
一、细胞复苏基本知识	142
二、细胞的常规复苏法	142
三、杂交瘤的复苏	142

操作与体验	142
技能一 冻存细胞的常规复苏技术	142
技能二 杂交瘤细胞的复苏技术	144
检查与评价	146
一、检查	146
二、评价	146
分析与思考	149
拓展与链接	150
一、细胞冻存的发展历史	150
二、细胞冻存的应用	150
三、细胞的运输	151
学习情境 4 病毒的细胞培养与鉴定	153
任务一 病毒的细胞培养	153
认知与解读	153
一、细胞培养用于病毒研究的优点	153
二、用细胞培养技术分离病毒	154
三、用细胞培养病毒基本条件	155
四、用细胞培养病毒时的注意事项	156
操作与体验	156
技能一 MDCK 细胞分离流感病毒	156
技能二 人胚肾细胞分离脊髓灰质炎病毒	158
技能三 侵染病毒(病变)细胞的观察与判断	159
检查与评价	161
一、检查	161
二、评价	162
分析与思考	163
拓展与链接	164
一、病毒细胞培养的发展简史	164
二、病毒概述	164
任务二 病毒的鉴定技术	169
认知与解读	169
一、病毒蚀斑技术	169
二、病毒蚀斑抑制试验	171
三、细胞培养系统中的中和试验	171
四、用细胞培养法制备病毒血清学抗原应注意的问题	172
操作与体验	172
技能一 病毒的蚀斑鉴定技术	172

技能二 病毒蚀斑抑制试验·····	175
技能三 病毒的中和试验鉴定技术·····	176
检查与评价·····	178
一、检查·····	178
二、评价·····	178
分析与思考·····	180
拓展与链接·····	181
一、病毒毒价的测定·····	181
二、病毒毒价的测定(微量法)·····	182
学习情境 5 单克隆抗体制备 ·····	184
任务一 动物免疫·····	184
认知与解读·····	184
一、抗原制备·····	184
二、免疫动物的选择·····	184
三、免疫程序的确定·····	184
四、抗体检测·····	185
操作与体验·····	185
技能一 小鼠捕捉、注射与采血技术·····	185
技能二 动物免疫技术·····	188
技能三 免疫小鼠血清效价测定技术·····	190
检查与评价·····	193
一、检查·····	193
二、评价·····	193
分析与思考·····	196
拓展与链接·····	197
一、单克隆抗体的概念·····	197
二、杂交瘤技术制备单克隆抗体的基本原理·····	198
三、杂交瘤技术制备单克隆抗体的主要过程·····	198
四、各种免疫方法的比较·····	198
任务二 细胞融合及杂交瘤细胞的筛选·····	199
认知与解读·····	199
一、骨髓瘤细胞·····	199
二、饲养细胞·····	200
三、脾细胞·····	200
四、细胞融合·····	201
五、杂交瘤细胞的培养、观察与筛选·····	201

操作与体验	203
技能一 细胞融合主要试剂的配制	203
技能二 骨髓瘤细胞悬液的制备	205
技能三 饲养细胞的制备	205
技能四 免疫脾细胞悬液的制备	207
技能五 细胞融合	208
技能六 融合后混合细胞的培养及杂交瘤细胞的筛选与观察	210
检查与评价	212
一、检查	212
二、评价	212
分析与思考	214
拓展与链接	215
一、细胞融合	215
二、融合细胞的早期观察及其异常结果分析	219
任务三 单克隆抗体的筛选与检测	220
认知与解读	220
一、概述	220
二、酶联免疫技术(ELISA)	221
操作与体验	224
技能一 可溶性抗原的 ELISA 间接法筛选杂交瘤阳性克隆	224
检查与评价	226
一、检查	226
二、评价	226
分析与思考	229
拓展与链接	229
其他常用的抗体检测方法	229
任务四 杂交瘤细胞克隆化	233
认知与解读	233
一、杂交瘤克隆化概述	233
二、杂交瘤克隆化的方法	234
操作与体验	235
技能一 有限稀释法克隆化杂交瘤细胞	235
技能二 软琼脂法克隆化杂交瘤细胞	236
检查与评价	237
一、检查	237
二、评价	238

分析与思考·····	239
拓展与链接·····	240
杂交瘤细胞的冻存与复苏(详参情境三)·····	240
任务五 单克隆抗体的大量制备与鉴定·····	241
认知与解读·····	241
一、单克隆抗体的大规模制备·····	241
二、单克隆抗体的纯化·····	243
三、单抗特性的鉴定·····	244
操作与体验·····	245
技能一 动物体内大量生产单克隆抗体·····	245
技能二 单克隆抗体的初步纯化·····	246
技能三 单克隆抗体的鉴定·····	248
检查与评价·····	250
一、检查·····	250
二、评价·····	251
分析与思考·····	253
拓展与链接·····	254
一、单抗的标记·····	254
二、单克隆抗体生产的影响因素、失败原因分析·····	257
附录·····	259
附录一·····	259
附录二·····	260
附录三·····	261
附录四·····	262
参考文献·····	263

学习情境 1 动物细胞培养的准备工作

任务一 动物细胞培养常用设备和器材的使用与保养

◆ 认知与解读

一、动物细胞培养实验室的设置

动物细胞培养要求无菌操作,工作环境和条件必须保证无微生物污染和不受其他有害因素的影响。因此,动物细胞培养实验室设计时应掌握以下原则:第一,环境清洁、空气清新、干燥和无烟尘。第二,室内要布局合理,无菌操作室一般是设在室内较少走动的内侧,最好能单独设置或与其他区域隔开;常规操作和封闭培养位于中部,并相连以便于工作;而洗刷、消毒在外侧,单独设置或隔开,避免干扰和污染。

标准的动物细胞培养实验室一般应包括以下几个部分,即常规操作区、无菌操作区、培养区、储藏区、清洗和消毒灭菌区。近年来,由于超净工作台等先进净化设备的使用,动物细胞培养实验室的设计趋向简化,各区之间的界限相对淡化。但不管如何简化,动物细胞培养实验室的设计仍要遵循上述原则。

1. 常规操作区

常规操作区主要进行培养液及有关培养用的液体的制备。主要放置普通培养箱、离心机、水浴锅、定时钟、普通天平及日常分析处理物等。

2. 无菌操作区

无菌操作区是只限于细胞培养及其他无菌操作的区域,最好能与外界隔离,不能穿行或受其他干扰。理想的无菌操作室应划为三部分:

(1)更衣室 供更换衣服、鞋子及戴帽子和口罩。

(2)缓冲间 位于更衣间与操作间之间,目的是为了保证操作间的无菌环境,因此要求清洁、干燥和不通风,并设置紫外灯(距地面不超过 2.5 m)等必要的环境消毒设备,同时可放置恒温培养箱、某些必需的小型仪器及消毒好的无菌物品。在实验室空间较小的情况下,可同时作为更衣室使用。

(3)无菌操作间 专用于无菌操作、细胞培养。其大小要适当,且其顶部不宜过高(不超过 2.5 m)以保证紫外线的有效灭菌效果;墙壁光滑无死角以便清洁和消毒。工作台安置不应靠墙壁,台面要光滑压塑作表面,漆成白色或灰色以利于解剖组织及酚红显示 pH 的观察。主要放置离心机、超净工作台、倒置显微镜、CO₂ 培养箱、水浴锅、三氧消毒杀菌机、4℃ 冰箱等设备。另外还应有放置无菌器具的橱柜和一定的操作空间。

为保持无菌状态,经常消毒是必要的,通常采用每日(使用前)紫外照射(1~2 h),每周甲醛、乳酸、过氧乙酸熏蒸(2 h)和每月新洁尔灭擦拭地面和墙壁一次的方式进行消毒。实际工

作中,要根据无菌室建筑材料的差异来选择合适的消毒方法。

此外,还应注意防止无菌室的污染。为此还要做到:

- (1)紫外灯无人时就要打开;
- (2)进无菌室要穿无菌服、戴帽子和口罩;
- (3)所用物品要以外科手术方式严格消毒;
- (4)室内台面要保持洁净,做完实验后,用75%酒精或0.3%新洁尔灭棉球擦拭超净工作台的台内、边台的台面、倒置显微镜的载物台等;
- (5)所用物品要一次性准备好;
- (6)瓶口要用酒精火焰消毒;
- (7)尽量减少出入,因进出无菌室时,会使外界空气直接对流进无菌室的操作间。

3. 培养区

培养区对无菌的要求虽不比无菌区严格,但仍需清洁无尘。培养区要完全密闭,保持恒定的温度,在设计上要注意:①位置应设置在干扰少而非来往穿行的区域,最好设在阴面,阳光不能直接照射的地方,防止室内温度增高;②天花板的高度不要超过2.5 m,以保证紫外灯的有效杀菌效应;③门一般用拉门,以防止空气流动;④天花板、地板和四周墙壁要光滑无死角,要镶瓷砖或涂油漆,这样设计,便于清洗和消毒,另外也不易在墙角堆积灰尘。目前,培养在一般实验室多采用培养箱进行。

4. 储藏区

储藏区要取放方便,多与普通操作区相连,其环境也要求清洁无尘。主要放置冰箱、液氮罐、干燥箱、普通培养箱等设备,以存放细胞株、试剂、酶、培养基、无菌培养液、培养瓶等物品。

5. 清洗和消毒灭菌区

清洗和消毒灭菌区主要进行所有细胞培养用器皿和器械等物品的清洗、消毒、烘干、准备及三蒸水制备等工作,在位置上应与其他区分开。主要放置蒸馏水处理器、酸缸、高压灭菌锅、烤箱以及存放物品台等设备。

需要注意的是,该区用水用电较大,因此地面应设置地漏,电路要单独配备。

二、动物细胞培养常用设备

动物细胞培养常用设备可分为两大类:第一类为基本设备;第二类为特殊设备。

1. 基本设备

(1)倒置显微镜 细胞培养的器皿厚度较大,传统的正置显微镜焦距不够,所以无法观察到贴在培养器皿底部的细胞,这时需要倒置显微镜的帮助。有些倒置显微镜带有照相系统,可以随时拍摄和记录细胞的生长情况;对于一些荧光免疫细胞实验(IF),则还需要倒置的荧光显微镜。在细胞培养过程中,倒置显微镜主要用于观察细胞的生长情况以及有无污染。

(2)超净工作台 细胞培养需要无菌要求高的环境,在进行操作细胞的实验时,需要在空气洁净度为100级的空气下进行,超净工作台就是能提供这样环境的无菌操作装置。超净工作台的工作原理通常是将室内空气经粗过滤器初滤,由离心风机压入静压箱,再经高效空气过滤器精滤,由此送出的洁净气流以一定的均匀的断面风速通过无菌区,从而形成无尘无菌的高洁净度工作环境。根据气流方向的不同可将超净工作台分为侧流式(或称垂直式)、外流式(或

称水平层流式)两种:①侧流式工作台:空气净化后的气流由左或右侧通过工作台面流向对侧,也有从上向下或从下向上流向对侧,形成气流屏障保持工作区无菌。工作台结构为封闭式。②外流式工作台:净化后的空气面向操作者流动,因而外方气流不致混入操作,但进行有害物质实验操作则对操作者不利。工作台结构为开放式,已少用。

如果操作的实验具有生物危险性,则应选择较之超净台更加高级的生物安全柜。安全柜和超净台在使用上没有多大区别,但是安全柜对人员具有保护,适用于那些对人体有害的病毒或细胞细菌等实验。需要说明的是,超净台或安全柜的摆放应当避开房门、空调等扰动附近气流的地方。

(3)CO₂培养箱 通常来说,细胞培养所用的缓冲体系是碳酸氢钠+HEPES体系,所以需要一定量的CO₂(常用浓度为5%)提供缓冲能力维持pH。目前,CO₂培养箱在多数细胞培养室已广泛使用。CO₂培养箱分为气套式和水套式,所谓的气套式就是直接的电热丝加热,箱体升温较快,但是温度精度及保温效果会稍差;而水套式则利用浸泡在水中的电热丝加热包裹在箱体内胆外的水套来达到控温的效果,其升温慢但是保温的效果良好,即使短时间发生断电也不怕影响箱体内部的细胞生长。

培养细胞的器皿可用培养皿、培养板或培养瓶。使用培养瓶时,可将瓶盖略微旋松,使培养瓶内与外界保持通气状态。由于这种培养方法中培养器皿内部与外界相通,培养箱内空气必须保持清洁,应定期以紫外线照射或酒精消毒。同时培养箱内应放置盛有无菌蒸馏水的水槽,防止培养液蒸发,使箱内相对湿度始终保持为100%。

(4)水纯化系统 细胞培养还需要水纯化系统,因为配制细胞培养用的培养基和试剂均需使用三蒸水或超纯水;即使是用于玻璃器皿的冲洗,也应使用二次以上蒸馏水。目前国内使用较多的是自动双重纯水蒸馏器(石英管加热),使用方便、安全,蒸馏速度快。

细胞培养用水除了超纯以外,最主要对内毒素有严格的要求,所以细胞培养室所用水纯化系统应含有超滤组件。

(5)电热干燥箱 电热干燥箱主要用于某些器械、器皿的烘干和玻璃器皿等的干热消毒。干热消毒时,电热干燥箱升温较高,一般需达到160℃以上。通常使用鼓风式电热干燥箱。其优点是温度均匀、效果较好,缺点是升温过程较慢。使用电热干燥箱时应注意:①升温时,不能先升温后鼓风而应鼓风与升温同时开始,至100℃时,停止鼓风。因为升温较高时再鼓风,鼓风时带人的新鲜空气会引起局部高温,致使包裹器皿的纸或棉花烧焦,烧焦的碎屑可影响细胞的生长;有时会导致玻璃器皿破裂。②消毒后,不能立即打开箱门,以免骤冷而导致玻璃器皿损坏,应待温度自然下降至60~70℃方可开门。

(6)冰箱 培养室内的普通冰箱或冷藏柜,用于储存培养液、生理盐水、Hank's液试剂、消化液等培养用液及短期保存组织标本。-80℃低温冰箱用于储存需要冷冻保持生物活性及较长时期存放的制剂,如酶、血清等;另外细胞冻存时也需要-80℃低温冰箱,因为细胞在冻存时需要存放-80~-70℃过夜再放入液氮罐。低温冰箱可放在实验室内,不必放在培养室内。细胞培养室的冰箱应属专用,不得存放易挥发、易燃烧等对细胞有害的物质,且应保持清洁。

(7)离心机 在细胞培养过程中,制备细胞悬液、调整细胞密度、洗涤、收集细胞等工作需要使用离心机。这些工作所需的转速一般在1000~1500 r/min,常规配置4000 r/min的国产台式常温离心机即可满足要求。例如细胞沉降,80~100 g的离心力即可,离心力过大有时