

细胞培养技术 (Cell Culture)
及细胞培养室使用规则培训

演讲人：钱成
汇报时间：2018.5.27

第一部分 细胞培养的基本知识

第二部分 细胞生存的环境条件

第三部分 细胞培养的基本技术（见视频）

第一部分

基本知识

摘要

- 细胞培养的基本概念
- 细胞培养的类型及特点

细胞培养的基本概念

What is cell culture ?

细胞培养是指从生物体中取出细胞，在体外模拟体内生理环境，在无菌、适当温度、pH和一定营养条件下进行孵育培养，使之生存和生长并维持其结构和功能的技术。



细胞培养的基本概念

➤ **原代培养:**

取自体内新鲜组织并置于体外条件下生长的细胞在传代之前称为原代培养。

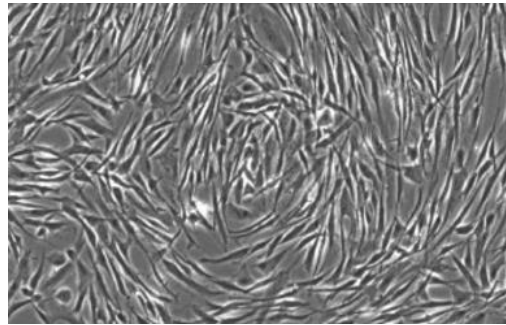
➤ **传代培养:**

细胞在培养器皿中生长一定时间后，被分开接种到新的培养器皿中称为传代培养。

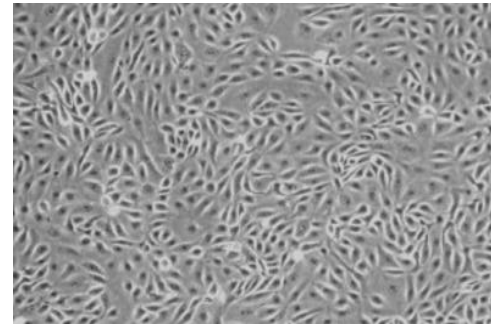
细胞培养的类型及特点

(一) 贴壁型细胞:
大多数细胞属此类型。如成纤维细胞、上皮细胞、多形型、游走型细胞等。

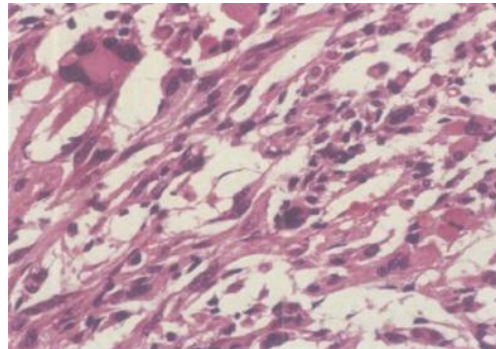
成纤维细胞



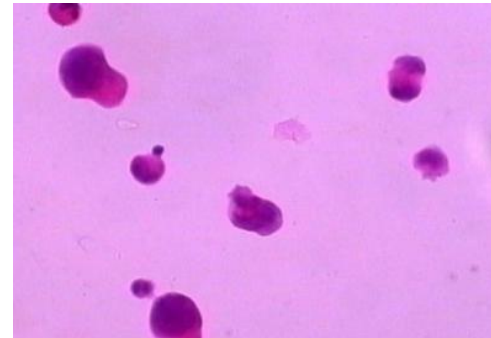
肾小管上皮细胞



多形型黄色瘤细胞

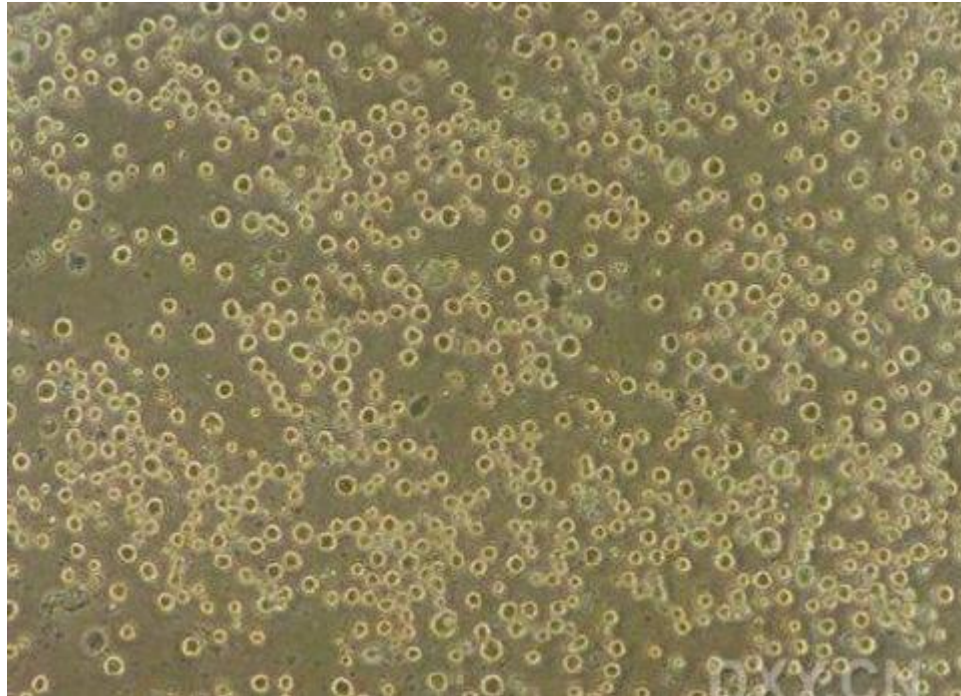


游走型巨噬细胞



细胞培养的类型及特点

(二) 悬浮型细胞:
悬浮生长，单个分散或成团。如各种源自血液中的细胞、骨髓和脾细胞。



第二部分

细胞生长的环境条件

摘要

- 细胞培养室简介
- 细胞培养室设备简介
- 细胞培养室使用规则
- 细胞培养室使用注意事项
- 细胞培养室污染如何处理

细胞培养室简介

净化层流细胞间



- ✓ 科研实验中心细胞培养室位于综合楼2506房间。净化等级“万级”。要求空气洁净度更高。
- ✓ 为保证无菌环境，细胞培养室一次进入的人越少越好（建议3-5人/次）。培养细胞时尽量不要说话，脑海里始终要有严格无菌操作的意识。

细胞培养室简介

传代细胞培养室



原代细胞培养室



细胞培养室使用规则

细胞培养室使用细则（试行）

第一条 细胞培养室及相关仪器由专人管理。使用人员须预约审核后参加培训并通过考核，方可获准进入细胞培养室进行实验，严禁未经许可擅自进入细胞培养室或使用相关设备。

第二条 实验人员进入细胞培养室必须更换并穿戴好工作服、鞋、手套和口罩，实验前进行登记。

第三条 实验人员在进行实验前必须熟悉实验内容、操作步骤及各类仪器的性能和操作方法，并做好必要的安全防护。

第四条 人员进出须通过风淋间，进出培养室的器械和样品应通过传递窗，严禁随身带入。实验用品尽量一次带入，禁止将与实验无关的物品带入细胞培养室。

第五条 培养箱内专人专区，未经许可，禁止翻看或移动他人样品。

第六条 细胞培养室内不得进行微生物等其它易污染物的培养，禁止从事任何高危生化实验。

第七条 超净台使用前用紫外灯照射20分钟灭菌，使用前、后用酒精棉球擦拭工作区消毒，超净台上严禁堆放过多物品，以免影响风路平衡，不同超净台内物品严禁交换使用。

第八条 点燃酒精灯前需检查瓶中酒精是否足够，液面应占瓶高1/3-2/3。实验人员完成实验后必须熄灭酒精灯，防止出现火灾事故。

第九条 离开细胞室或较长时间不使用时，实验人员应及时关上显微镜电源，延长灯泡寿命。

第十条 使用离心机时要严格配平，盖好离心管盖，避免液体飞溅出来。

第十一条 实验人员存放于冰箱内的试剂、样品应注明姓名、配制日期、样品名称等，特殊试剂须获得细胞培养室管理人员同意后方可放置。管理人员若发现无标记或过期试剂等违规物品有权将其清除。

第十二条 每次实验结束后，及时清理并消毒桌面和超净台面，整理好用过的实验器材。使用过培养箱后，须观察培养箱中二氧化碳的浓度、温度、供气压力等参数，待正常后方可离开，并将废液等物品全部带走。

第十三条 细胞培养室内的仪器未经许可不得随意更改技术参数。仪器设备出现故障或发生事故，应立即向负责人报告。

第十四条 实验人员须密切注意培养箱内情况，如出现霉变、菌斑、支原体等污染迹象，立即通知管理员。

第十五条 实验室如发生火灾、气体泄漏、漏电等紧急情况，室内人员应迅速通过安全出口离开实验室，并立即向管理人员报告。

第十六条 本细则自公布之日起生效。科研实验中心对本细则具有最终解释权。



安徽医科大学科研实验中心
Center for Scientific Research of Anhui Medical University

使用细胞培养室（原代、传代） 必须严格遵守科研实验中心细 胞培养室的使用规则。

请注意：



你已进入
24小时监控区域

细胞培养室（原代、传代）装 有24h监控设备。

细胞培养室设备简介



双荧光细胞分析仪

冰箱

超净台

离心机

细胞培养箱

显微镜

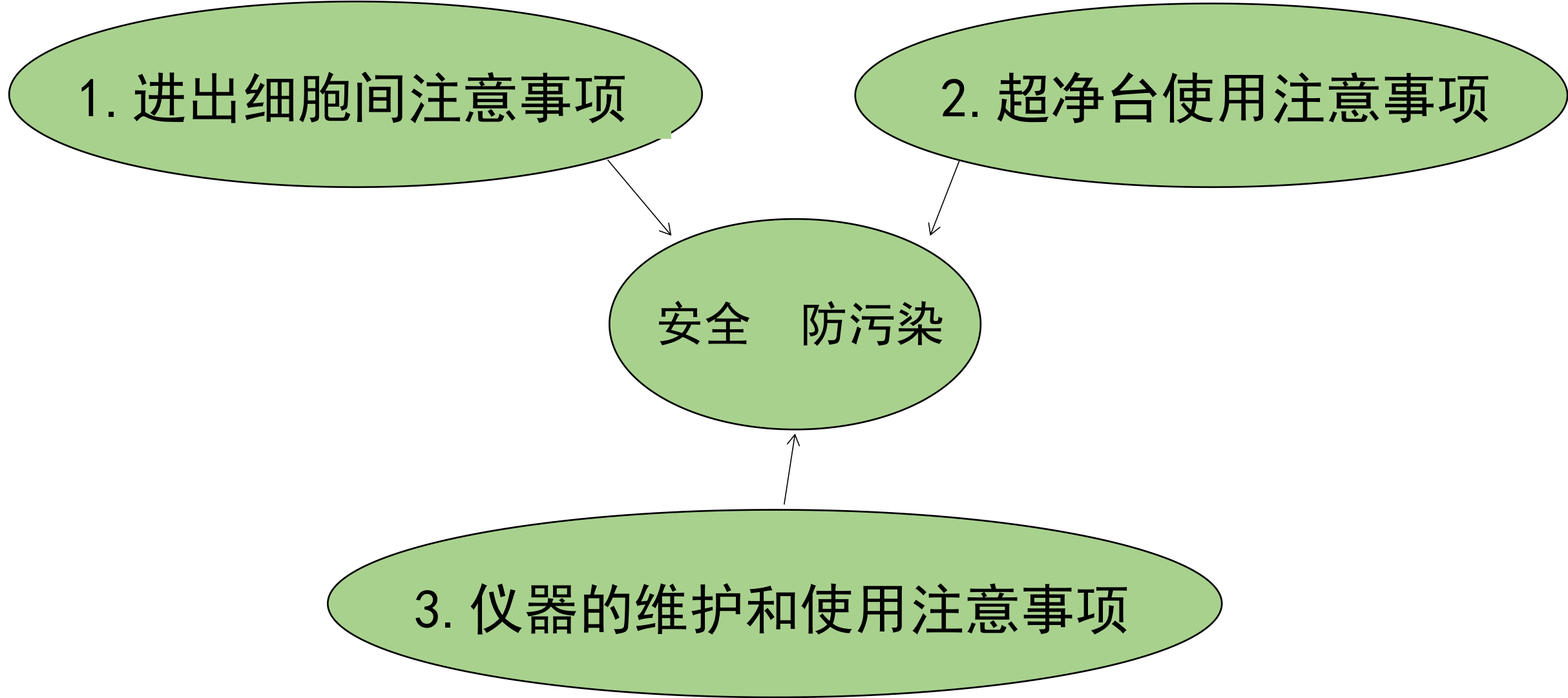
细胞培养室的使用注意事项

1. 进出细胞间注意事项

2. 超净台使用注意事项

安全 防污染

3. 仪器的维护和使用注意事项



细胞培养室的使用注意事项

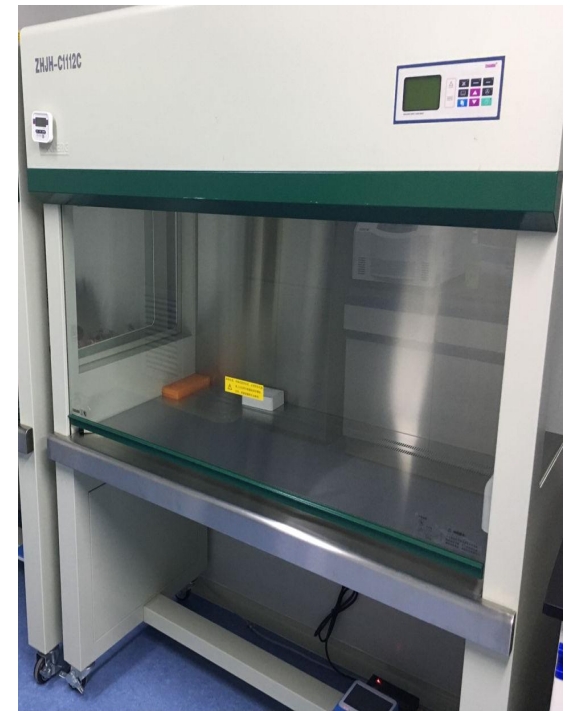
1. 进出细胞间注意事项

- ① 进入细胞培养室前须更换并穿戴好工作服、鞋套、手套和口罩，并进行登记。
- ② 进出细胞培养室须通过风淋间，进出培养室的器械和样品应通过传递窗。
- ③ 禁止将与实验无关的物品带入细胞培养室。



2. 超净台使用注意事项

- ① 使用超净台须提前预约。
- ② 超净台使用前用紫外灯照射20分钟灭菌。
- ③ 超净台内严禁堆放过多物品，以免影响风路平衡。
- ④ 不同超净台内物品严禁交换使用，避免交叉污染。
- ⑤ 每次实验结束后，及时清理并用酒精消毒超净台面。



3. 仪器的维护和使用注意事项

低速离心机：

- ①离心机使用前应先检查设置的转速、时间等参数是否正确。
- ②离心管要严格配平，盖好离心管盖再启动离心。
- ③离心机完全停止后才可开盖取管。
- ④离心筒应注意清洁，避免损坏和污染



3. 仪器的维护和使用注意事项

培养箱：

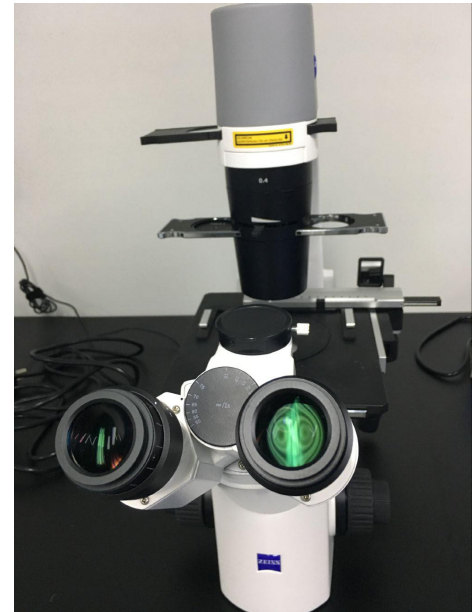
- ①培养箱需要定期用70%乙醇擦拭内表面进行消毒。
- ②培养箱底部的水盘每月应定期换水。
- ③实验人员须密切注意培养箱内情况，如出现霉变、菌斑、支原体等污染迹象，立即通知管理员。
- ④使用过培养箱后，须观察培养箱中二氧化碳的浓度、温度、供气压力等参数，待正常后方可离开。



3. 仪器的维护和使用注意事项

显微镜：

- ①显微镜镜头有污染时要用擦净纸擦拭，以免划伤。
- ②离开细胞室或较长时间不使用时，应关上显微镜电源，注意先将灯的强度调至最小再关电源。



3. 仪器的维护和使用注意事项

冰箱：

- ① 放于冰箱内的试剂、样品应注明姓名、配制日期、样品名称等。
- ② 冰箱门打开后要及时关上。



细胞培养室污染后的处理

第一步. 确认同批次细胞是否也被污染



第二步. 确认培养液、血清等培养用液是否也被污染



第三步. 用70%乙醇溶液和84充分擦洗培养箱



第四步. 整个细胞室用紫外灯照射12h



门户首页

我的基本信息

我的信用分

我所在的课题组

我可使用的账户

我的预约

我要预约

我已预约

全部

未授权资格

普通资格

资深资格

我的收藏

请输入仪器名称

只显示我可预约的仪器

MoFlo XDP 分选流式细胞仪

按时预约

委托预约

超速离心机

按时预约

委托预约

多功能酶标仪-1

按时预约

委托预约

冰冻切片机

按时预约

委托预约

分析天平

按时预约

委托预约

凝胶成像系统

按时预约

委托预约

膜片钳和钙离子成像系统

按时预约

委托预约

石蜡切片机

按时预约

委托预约

荧光定量PCR-ABI

按时预约

委托预约

全自动数码凝胶图像分析系统

按时预约

委托预约

电子天平

按时预约

委托预约

双荧光细胞分析仪-2

按时预约

委托预约

细胞间1-1

按时预约

委托预约

细胞间2-1

按时预约

委托预约

液相色谱一三重四级杆质谱联用

按时预约

委托预约

CytoFLEX分析流式细胞仪

按时预约

委托预约

高速离心机

按时预约

委托预约

多功能酶标仪-2

按时预约

委托预约

组织脱水机

按时预约

委托预约

激光共聚焦显微镜880

按时预约

委托预约

智能正置荧光显微镜

按时预约

委托预约

荧光定量PCR-罗氏

按时预约

委托预约

石蜡包埋机

按时预约

委托预约

荧光定量PCR-伯乐

按时预约

委托预约

全自动化学发光成像系统

按时预约

委托预约

双荧光细胞分析仪-1

按时预约

委托预约

倒置荧光显微镜

按时预约

委托预约

细胞间1-2

按时预约

委托预约

细胞间2-2

按时预约

委托预约

→ 传代细胞培养室

→ 原代细胞培养室

细胞培养室预约注意事项：

- 1、需要提前6h预约。
- 2、最小预约时段是1个小时。
- 3、最大预约时段不得超过4个小时。
- 4、严禁占用他人预约时间！

第三部分

基本技术（视频）

摘要

- 细胞复苏（速融）
- 细胞传代（胰酶消化时间是关键）
- 细胞冻存（慢冻）

欢迎来校科研实验中心 预约使用仪器！

