



实验七 动物细胞培养的无菌化操作

思维导图



一、实验目的



- (1) 掌握动物细胞培养室的基本设置和仪器配置。
- (2) 了解动物细胞培养相关的试剂。
- (3) 掌握细胞培养无菌化准备流程：房间，仪器，试剂。





二、实验原理

- 无菌操作技术是细胞工程相关技术操作中的重要实验条件，只有在无菌的条件下，才能正确的模拟动物细胞、组织、器官等生物学材料正常生长、发育、改造所需的各种环境。
- 无菌操作，是指在无菌室或超净台中进行以防止微生物进入人体或污染供试菌的操作技术。
- 无菌操作是各种生物实验和生产实践中一项重要的基本操作。
- 无菌操作的要求是：操作前将操作空间中的细菌和病毒等微生物杀灭；操作过程中保证操作空间与外界隔离，避免微生物的侵入。



三、实验试剂及器械

- (1) 试剂：洁而灭、甲酚皂，现配现用。
- (2) 仪器：倒置显微镜、二氧化碳恒温培养箱、超净工作台等
- (3) 器皿：滴管、离心管
- (4) 自制酒精棉球



四、实验步骤

第一次课：完成器皿清洗工作

第二次课：操作台准备，无菌室无菌化，相关器皿消毒

每个操作台	酒精灯	2
	试管架	2
	大的广口瓶	2
	培养瓶	1条
	PE手套	1袋
	大镊子	1
	95%酒精	1
	打火机	1
	记号笔	2
	手推车	1



(1) 使用过的玻璃器皿,耐酸塑料的清洗



- ① 使用过的培养用品应立即浸入清水,加入洗涤剂,避免干涸难洗。
- ② 清洗玻璃器皿,自来水清洗数遍,倒置自然干燥。
- ③ 浸酸性洗液,浸没, **过夜**。
- ④ 从酸性洗液捞出后,自来水冲洗**10-15次**去除残余酸液,去离子水涮洗5次。
- ⑤ 倒置烘干。
- ⑥ 包装(牛皮纸或医用饭盒)。
- ⑦ 灭菌,贮存备用。

(2) 无菌室的无菌化

(1) 清洁纱布沾取洁而灭第一次擦拭，除灰

无菌室内一切台面及仪器，按照超净台内部、倒置显微镜、桌面、离心机的顺序，二氧化碳培养箱需要单独擦拭，先内后外的原则。

(2) 第二次擦拭，消毒

按照上述顺序，纱布不能反复使用为原则。

(3) 甲酚皂清理地面

二次，分别由里至外，不要反复。



(3) 湿热灭菌后，移入无菌室，紫外照射30min.

- ①首先查看高压锅内的水是否充足，放入物品盖好盖。
- ②加热灭菌锅。将放气阀打开，放气5—10 min，以排除锅内的冷空气。
- ③落下放气阀继续升温升压，玻璃器皿等用15磅(121℃)30 min，胶塞、塑料制品、溶液等可用10磅(115℃)20 min。
- ④停止加热，待压力自然下降至0再打开放气阀排汽，开盖，取出高压灭菌的物品烘干。

五、注意事项

- 房间打扫彻底，紫外照射。
- 注意用酸安全，清洗彻底，勿徒手拿浸酸后的器皿；
- 包装时，注意带手套，勿恣意聊天。
- 注意灭菌锅水位！
- 酒精棉球大小合适，酒精切勿过多。
- 按组操作，各人使用各人物品。



今日工作



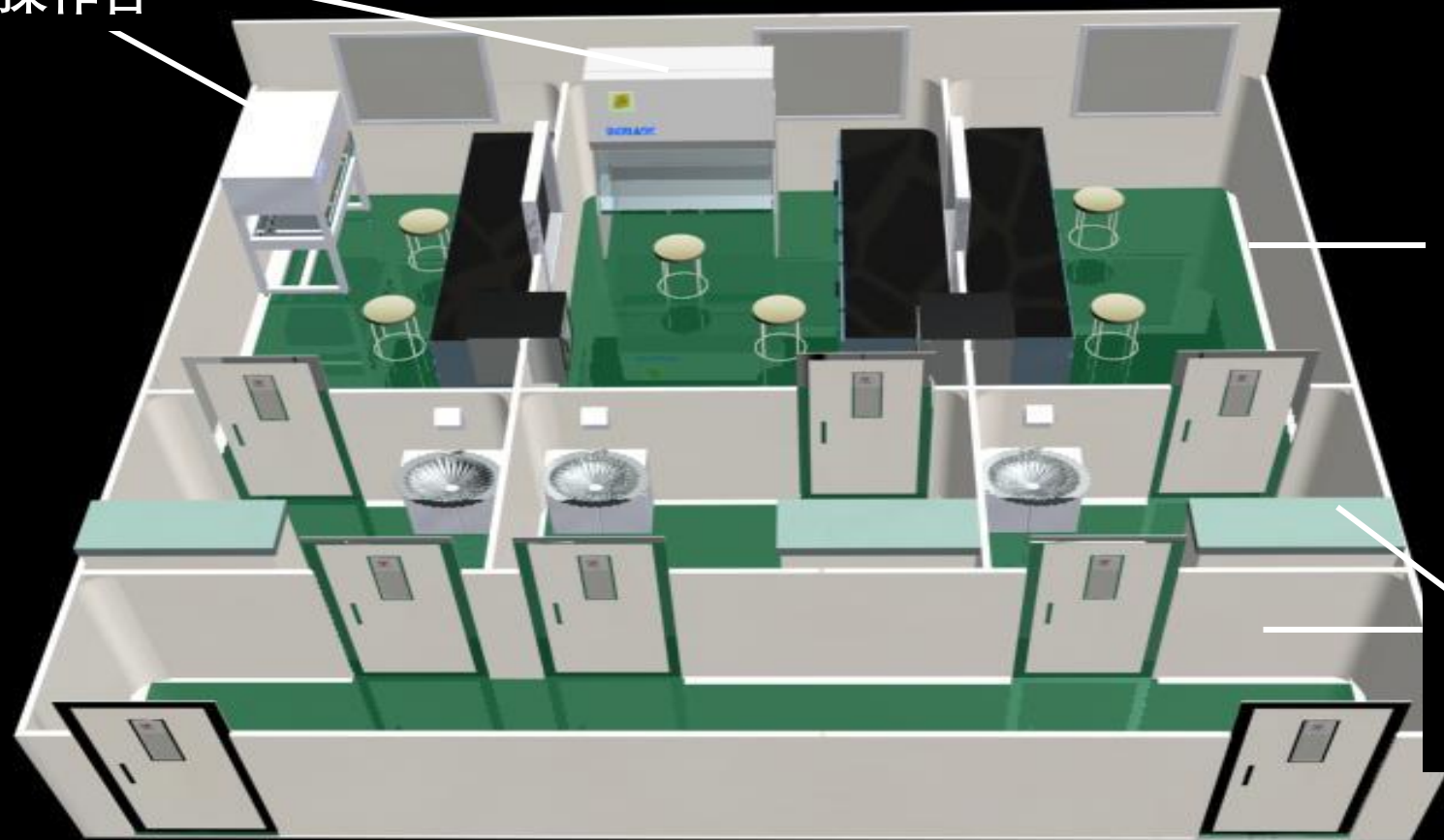
任务	项目	标准
任务1 无菌室检查备品	酒精灯，酒精棉球等	是否齐备，够用
任务2 包装灭菌	两个饭盒带出来 废液缸不用	1. 滴管补充满； 2. 放冻存管5个，先灭菌。
任务3 无菌室保洁	台面 地面	台面洁尔灭 地面甲酚皂（男生）



- 认真听课！并把听到的内容用起来！
- 无菌室的门！
- 无菌室不能留垃圾！



无菌操作台



接种区

缓冲准备区

六、作业

① 记录无菌化准备的基本流程，试写出可行性技术路线图；

注意：两次课（8学时），一次报告册

