

# 一 细胞培养室管理规程

细胞培养室是进行各种细胞培养的净化级实验室，所有进入实验室的人员都必须遵守实验室有关的规章制度，接受实验室负责人的管理，按培养室管理规定操作。

## 第一章 总则

第一条 细胞培养室主要由团队内相关科研人员使用，原则上不对外开放，其他人员如确实需使用细胞室必须预先征得实验室负责人同意，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 进出细胞室实验需要严格登记。如有不符合实验室工作和生物安全要求的，实验室负责人和细胞室工作人员有权责令整改。

第三条 细胞培养室正常使用过程中，人员进出应通过缓冲间；进出实验室的器械和样品需进入缓冲间后需经紫外照射 30 分钟。实验用品应尽量一次带入，严禁将与实验无关的物品带入实验室，在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。

第五条 实验人员应爱护实验室各类仪器，按照规则使用并保持设备清洁。实验中的昂贵设备，未经许可不得擅自开关。精密仪器需经专门培训后方可操作未经许可不得改变设备仪器的预设参数。设备仪器出现故障或发生事故，应及时向实验室负责人报告，安排专业人员进行检修。

## 第二章 细则

### 第一条 常规操作

1. 穿着专用实验服。实验人员必须在细胞室缓冲间内更换细胞室专用实验服，严禁不穿实验服或直接穿着普通实验室实验服进入细胞室。
2. 穿着专用拖鞋。在准备间换下自己的鞋子，尽量避免在缓冲间走动、停留。
3. 细胞室最多可 2 个人同时使用。
4. 实验过程中严禁喧哗，闲聊，反复进出培养室。

## 第二条 培养箱使用规则

1. 从培养箱取放物品前，用酒精清洁双手（或手套），尽量缩短开门时间和减少开门次数。

注：培养箱中的空气是经过过滤的洁净空气。长时间敞开或频繁开关培养箱，容易造成污染。

2. 从培养箱拿取细胞时轻拿轻放，动作迅速，随手关紧培养箱门。未经允许，禁止翻看、移动他人细胞或样品，如有特殊需要的，请联系实验室负责人协调。

3. 培养瓶皿放入培养箱前，用酒精消毒表面，并稍等至酒精挥发后再放入，以免培养箱内滞留过多乙醇蒸气。

4. 培养箱内细胞培养的放置需整洁有序，方便查找，同时应尽量提高培养箱的使用效率，负责老师可视实验情况启用或停止空培养箱的使用，节约资源。

5. 普通培养中的细胞，若非实验特殊需要，每瓶/板细胞每天只需要观察生长状态一次，2人以上共用的细胞，可约好时间一起观察。

注：频繁将细胞拿出观察，容易给培养箱造成污染，同时也会影响细胞生长条件的恒定。

6. 实验室工作人员应经常注意检查培养箱温度、CO<sub>2</sub>气体量是否相符设定值。密切注意培养箱内的增湿盘，定期更换无菌水并进行消毒。密切注意培养箱内情况，如出现霉变、菌斑、支原体和衣原体感染或其他明显染菌迹象，应立即通知实验室负责人及其它使用者。

## 第三条 显微镜使用规则

1. 显微镜使用前，用酒精棉从中间至周围擦拭载物台。

2. 离开细胞室时或较长时间不需使用时，及时关上电源，延长灯泡寿命。尽量避免频繁开关显微镜电源。

3. 一次细胞实验使用完毕后，在显微镜使用记录本上登记。

## 第四条 超净台相关操作规则

1. 超净台使用遵循登记原则，在细胞室内填写使用登记。

2. 超净台使用前用紫外灯照射 30 分钟灭菌，使用前、后需用酒精棉球擦拭工作

区消毒，所有物品放入超净台内使用前均应消毒，超净台内严禁堆放过多物品影响风路平衡，不同超净台内物品严禁频繁交换使用。

3. 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。

注：消毒用 75%的酒精，酒精灯用 95%以上的酒精，向喷壶或灯内添加酒精时请留意。

4. 超净台中应摆放废液杯，用于暂时存放废弃物，实验结束后将杯内废液垃圾倒入水池并同时用水冲释，固体垃圾倒入生物样品专用垃圾桶中。

注：废液缸应及时处理，严禁长时间放置，以免留有大量培养液滋生细菌。

5. 细胞实验后任何含有细胞培养污物的培养瓶，离心管，移液管等必须及时带出细胞房。

### **第五条 器具的清洗规则**

1. 可回收的移液管、离心管、培养瓶皿等，放入装有清水的塑料桶中浸泡，桶内需有足量的清水以没过浸泡物品。

注：可回收器皿必要时先初步涮洗后再放入桶内，尤其是培养瓶或血清管中有大量高营养的液体残留时，容易使桶内的清水长菌。保证浸泡的瓶、管内完全被清水充满，而不是在装有大量空气的情况下被压倒桶底。

2. 清水冲洗后及时放入酸缸浸泡，应由使用者本人及时清洗晾干备用，操作时请注意带橡胶手套，小心操作。

注：禁止长时间浸泡于清水中，此时细菌可能已在桶中生长并释放内毒素。细菌内毒素很难通过常规湿热灭菌步骤去除干净，即使干烤也不能保证其完全失活。内毒素对细胞生长及多种实验均有较大影响。

洗涤程序：清水冲十次以上去除重金属残留，然后冲去离子水 5 次，再用超纯水 5 次，倒置于烘箱中晾干。并及时包扎灭菌。

### **第六条 冰箱、试剂等相关操作规则**

1. 从冰箱取放物品动作要迅速，关门时要检查门是否关好。按类别存放试剂。严禁长时间敞开冰箱门。

2. 各人存放于冰箱内的培养液、生化试剂、样品要注明姓名、配制日期、样品名称，特殊试剂需获得细胞室管理人员同意后方可放置。不得使用他人的培养液

或其他生化试剂。

3. 分装好的血清长时间保存于-20℃，使用前放于4℃预解冻。原则上解冻好的血清应全部配成含血清的培养基备用，若有剩余，则暂存于4℃并尽快使用。尽量不要使用他人开过的血清，以免交叉污染。
4. 细胞室内的冰箱空间有限，尽量仅放置使用频率较高的试剂。请勿将一些闲置试剂，污染试剂长期放置在细胞室。
5. 工作人员会定期对冰箱进行清理，发现无标记，过期试剂等违规物品将全部清除出去，并且查找试剂配置人给予警告。

### **第七条 进入细胞室物品控制**

1. 所有进入细胞室的物品需经过缓冲间，一定要经过紫外照射，酒精表面消毒。
2. 严禁将可能含有污染物或病原菌的实验物品带入细胞室。
3. 细胞室内仅放置少量实验必须耗材即可，不得整箱搬入，出现洁净室内物品堆积状况。
4. 细胞室内储物柜的物品放置由相关管理人员安排，并做标记。

### **第八条 细胞室清洁守则**

1. 每周值日生时间从周一开始，至周日结束。
2. 日常维护：注意培养箱显示正常，显微镜，冰箱，超净台的正常使用与维护。细胞室内以及门口生物样品专用垃圾桶的及时清理。
3. 每周大清洁：每周五下午用新洁尔灭打扫细胞室。

清洁顺序：擦超净台（用酒精棉球）；用新洁尔灭擦桌面，培养箱，超净台以及冰箱外壁，及桌上的仪器，细胞室墙面，缓冲间；给水浴锅加水或换水，细胞室衣柜和拖鞋摆放整齐，拖地，紫外消毒细胞室30分钟。

注：若上周值日生及时给培养箱内水槽加足水，根据经验未来一周内培养箱不会干水，但值日生仍应经常检查，以便及时发现异常情况。切记给培养箱加灭菌水。

4. 在没有出现问题的情况下，每2个月清洁一次培养箱：先将培养箱中的物品取出暂存于超净台内，对于比较敏感的细胞可以暂存于另一个培养箱；将培养箱内的不锈钢板取出，用酒精棉球清洁钢板和培养箱内壁。