

# 细胞培养房操作流程

## 实验准备：

进入细胞房内要穿鞋套、白大衣，带手套。75%乙醇喷手消毒，并用 75%酒精棉球对超净台消毒

## L929 细胞的消化步骤：

- (1) 进入操作台，点燃酒精灯，用镊子夹取 75%酒精棉球擦拭移液枪，并轻轻甩干移液枪上的 75%的酒精，将其置于移液枪架上。
- (2) 将相应试剂（完全培养基、胰酶细胞消化液、PBS）在酒精灯上过一下火，取下盖子，放在手不易触碰的地方，试剂放在架子上。
- (3) 从 CO<sub>2</sub> 培养箱内取出一盘细胞培养皿，进入超净试验台。
- (4) 取移液枪，装上枪头。取细胞培养皿的盖子，将其置于手不易触碰到的地方（最好放在左手边的位置），将细胞培养皿倾斜 45°，用移液枪将原有培养基吸掉，将培养基打到废液缸内。
- (5) 换上新枪头，吸取 2ml PBS 于培养皿中，加入时，沿壁轻轻加入，以免将细胞冲下，轻轻摇晃培养皿，将培养皿倾斜 45°，用 1ml 枪吸弃至废液缸中。重复两次，第二次将培养皿的盖子盖上，将其置于显微镜下，观察细胞形态，用电脑拍下照片。
- (6) 返回超净台，取下培养皿的盖子，吸取 PBS 至废液缸中。

装上新枪头，吸取 1ml 胰酶于培养皿中，盖上培养皿的盖子，轻轻摇匀，使消化液流遍所有细胞表面。（消化最好在 37 度 CO<sub>2</sub> 培养箱环境中进行，消化时间 1min），从 CO<sub>2</sub> 培养箱中取出培养皿，放在显微镜下观察细胞形态的变化（由梭形变成球形），调好镜头，用电脑拍下照片。

- (7) 返回到超净台，换上新的枪头。取下培养皿的盖子，吸取 2ml 带有 10% FBS-DMEM 的完全培养基终止消化。用移液枪反复的轻轻吹打，盖上培养皿的盖子。
- (8) 取一个 15ml 的无菌离心管，取下盖子，将盖子置于手不易触碰的地方。离心管置于架子上。将消化下来的细胞悬液放入 15ml 的无菌离心管中，盖上盖子。进行离心（2000rpm, 5min）记得配平。
- (9) 5min 后，取出离心管，进入超净台，将离心管过一下火。取下盖子，轻轻倾弃废液，收集下层的细胞沉淀。此后的操作离开细胞房进行。