

TC4-SOP 0-6 細胞培養

Myeloma Hybridoma 名稱: _____

MATERIALS:

- 10% DMEMX
10 % FBS, 1 mM Pyruvate in DMEM
- Flasks T25 or T80
- 無菌塑膠滴管
- 250 mL 燒杯
- 37°C 水浴槽
- CO₂ incubator
- Laminar flow

METHODS:

- 操作前 10 min 準備：
- DMEMX 置於 37°C 水浴槽回溫
 - 檢查已滅菌塑膠滴管是否充足，並準備一 250 mL 燒杯(噴過 75 % 酒精)
 - 以 75 % 酒精擦拭 Laminar flow 桌面後開 UV 至開始操作時關閉

洗手，雙手噴酒精消毒。自 CO₂ incubator 取出 Flask，鎖緊蓋子。

安全提示：雙手應經常以 75% 酒精擦拭消毒，小鼠 myeloma、splenocytes 及 hybridomas 細胞操作無生物危害，故本實驗選擇不戴手套工作，以保持需要的靈敏度。

- 觀察上清液是否黃色澄清，以顯微鏡鏡檢，健康細胞應又圓又亮且佈滿底部。
- 打開 Flask 蓋子夾於指間或置於乾淨桌面，以無菌滴管伸入，吸起原有 medium，盡量沖下壁上細胞。(“僅換上清液”省略此步驟；沖細胞儘可能勿起泡；勿接觸滴管伸入部分)
- 根據細胞生長狀況決定換 medium 方式：
- 只換上清液：不沖，輕輕搖晃後倒掉上清液至 250 mL 燒杯
 - 全換：倒掉大部分沖後之 medium
 - 換一半：倒掉一半沖後之 medium

打開回溫之 DMEMX，蓋子開口朝下置於乾淨桌面，瓶口不接觸下小心倒入 Flask (T25 加入約 5 mL；T80 加入約 20 mL，不要過多以免橫放時溢出)，若不慎液體沾到瓶口外側，以酒精噴濕紙巾，折疊後切齊瓶口擦拭。

安全提示：在水平式或垂直式 laminar flow 中，勿使用酒精燈或噴燈進行灼燒，因為火焰會破壞層流，且在實驗操作時需要時常以酒精擦拭消毒，明火可能會引起火災。

- 鎖緊 DMEMX 瓶蓋，若尚未用完則標上名字及日期，並以石蠟膜封住放回冰箱，以防他人誤用導致污染。
- Flask 放進 CO₂ incubator 前務必鬆開瓶蓋 (目前有些 Flask 瓶蓋附有 filter，可不需此步驟)。
- 收拾 Laminar flow 桌面並以 75 % 酒精擦拭消毒，關掉水浴槽。

* 正常狀況，每隔 2~3 天換一次 medium

* 小鼠骨髓瘤細胞 (SP2/0-Ag14) 細胞倍增時間約為 30-40 小時

Note:

日期	操作者	QC