

中国科学院神经科学研究所 P2 实验室操作手册

目 录

中国科学院神经科学研究所 P2 实验室操作手册.....	1
进入规定.....	1
人员防护.....	2
操作规范.....	2
仪器使用.....	4
离心机的使用.....	4
生物安全柜的使用.....	5
移液管和移液辅助器的使用.....	6
废弃物处理.....	7
实验操作过程污染物溢出处理.....	7
紧急事故处理.....	8
压缩气体和液化气.....	9
实验室消防.....	9
实验室用电安全.....	9

(干细胞平台 张敏)

进入规定

1. 该实验室为神经科学研究所操作病毒包装，纯化的场所，需进入该实验室进行相关实验的人员首先向该实验室的管理人员提出申请，由管理人员安排相关培训后方可进入实验。
2. 只有经过批准的人员才可进入该实验室工作区域，非实验有关人员和物品不得进入实验室。
3. 实验室工作人员、外来合作者、进修和学习人员进入实验室参观学习必须经过相关人员批准，且由准入人员的带领才可进入该实验室。
4. 实验所用材料，包括细胞株，包装病毒材料需经批准带入该实验

室，实验动物不得带入该实验室。

5. 实验记录本等相关实验物品需通过橱窗紫外消毒后才能带入实验室，带出实验室时必须保证没有收到污染。

人员防护

1. 进入实验室，在入口处换实验服，配戴口罩，帽子、手套和鞋套，必要时戴安全眼镜，面具或者其他防护设备。
2. 不得在实验室内穿露脚趾的鞋子。
3. 在实验室工作时，任何时候都必须穿工作服。实验过程中可能接触到感染性材料，必须戴双层手套操作，实验完成后，先消毒再摘除外层手套，随后必须洗手。
4. 严禁穿实验室防护服离开实验室，（如去餐厅,图书馆，休息室和卫生间）
5. 禁止在实验室工作区域饮水，进食和处理隐形眼镜。
6. 门禁卡只限本人使用，任何情况不得外借。

操作规范

1. 本实验室的开放时间为早上 9：00，晚上 6：00，周末照常开放。
每天凌晨 5:00 至 6:00 是紫外自动灭菌的时间，请不要安排实验。
2. 本实验室实行预约制度，在进行实验前请先 107 门上的预约表上

预约，按照预约时间准时开始实验。

3. 实验开始前，安全柜需经紫外照射 15~30 分钟消毒。
4. 所有接触感染物的操作必须佩带双重手套，穿一次性手术反穿衣，手离开安全柜前应脱弃外层手套，防止污染安全柜以外区域。操作者应尽量避免反复移出和伸进手臂。
5. 所有的技术操作要按尽量减少气溶胶和微小液滴形成的方式进行。
6. 生物安全柜内物品摆放整齐，不得摆放实验无关物品。实验室只保存满足日常使用量的化学品，化学品不能只按照字母顺序摆放，而应该按照其相容性放置：如碱金属，如钠、钾、铯以及锂不与二氧化碳、氯代烃、水一起放置，醋酸、硫化氢、苯胺、烃、硫酸等不得与氧化剂，如铬酸、硝酸、过氧化物、高锰酸盐放置一起，以免发生危险。
7. 废弃物的处理严格遵循分类原则。废液置于废液缸中或吸入真空泵中；与污染物接触的固体废物不得随意丢弃，必须放置于安全柜中的固体废弃盒中；刀片、注射针头等危险废弃物应弃于专门的针头废弃缸中，按照相关程序收集集中销毁。各种废弃物严格分开，不得混放。
8. 实验完成后，所有物品还原至原来位置。安全柜请用酒精擦拭，物品摆放整齐，紫外消毒 60min，并登记使用记录
9. 实验完成后，实验室需再次经紫外消毒 1h。（步骤：实验间和缓冲间的紫外现在均由安置在更衣间的自动控制器统一控制，平时我们设置在“自动”档上，每天早上 5:00-6:00 之间自动开启消毒一小时。病毒浓缩分装后需

额外消毒时，只要按动控制器上绿色的键（手动/自动 AUTO/MANU），将屏幕显示时间下方的黑色箭头调至“开”，紫外灯打开。消毒结束后还是按绿色的键，请先调至“关”，并记得再按一下，使得箭头指在“自动”档上。）

仪器使用

离心机的使用

1. 离心管和盛放离心标本的容器应当由厚壁玻璃制成，或最好为塑料制品，并且在使用前应检查是否破损。
2. 按照操作指南中给出液面距离离心管管口需要留出的空间大小。
3. 离心桶的装载、平衡、密封和打开必须在生物安全柜内进行。套管拧的时候，切勿拧挂钩处（40s的转头套管更加要注意使用方法，用白色扳手拧盖子底部，切不可拧挂钩）。
4. 离心桶和十字轴应按重量配对，并在装载离心管后正确平衡。
5. 离心前务必再次检查每个套管是否拧好（圆点对圆点），离心管盖与离心管套是否一套，对号挂在转头上后要检查是否挂好。
6. 转头放入的时候，一定要手稳，轻轻放入，不能滑下去，砸弯转轴。
7. 离心机在转速升至1000左右时，会有一个停顿，离心机识别转头及设定参数；离心机在转速升至4000左右时，会有一个抽真空过程，请耐心等待；实验操作人员必须等离心机转速达到设定的转速时方可离开。
8. 转头底部的一圈要保护好，避免碰撞或接触磁性物质；取出转头

时一定要轻放放在塑料架子上。

9. 每天最后一个实验者用完离心机后，请按DEF（作用：去除离心机中的冷凝水，过程约15分钟左右），结束之后（离心机没有声音），关闭电源。
10. 每次使用后，要清除离心桶、转子和离心机腔的污染。
11. 离心机出现问题请及时与管理人员联系。

生物安全柜的使用

1. 生物安全柜运行正常时才能使用。
2. 生物安全柜在使用中不能打开玻璃观察挡板。
3. 安全柜内应尽量少放置器材或标本，不能影响后部压力排风系统的气流循环。
4. 安全柜内不能使用酒精灯，否则燃烧产生的热量会干扰气流并可能损坏过滤器。
5. 所有工作必须在工作台面的中后部进行，并能够通过玻璃观察挡板看到。
6. 尽量减少操作者身后的人员活动。
7. 操作者不应反复移出和伸进手臂以免干扰气流。
8. 不要使实验记录本、移液管以及其他物品阻挡空气格栅，因为这将干扰气体流动，引起物品的潜在污染和操作者的暴露。在生物安全柜内操作时，不能进行文字工作。

9. 在安全柜内的工作开始前和结束后，安全柜的风机应至少运行 5min。
10. 工作完成后，应将安全柜内物品整理干净，恢复使用前的原样（如下图所示），并使用酒精对生物安全柜的表面进行擦拭。



移液管和移液辅助器的使用

1. 应使用移液辅助器，严禁用口吸取。
2. 不能向含有感染性物质的溶液中吹入气体。
3. 感染性物质不能使用移液管反复吹吸混合。
4. 污染的移液管应该完全浸泡在盛有适当消毒液的防碎容器中。移液管应当在消毒剂中浸泡适当时间后再进行处理。

5. 盛放废弃移液管的容器不能放在外面，应当放在生物安全柜内。
6. 为了避免感染性物质从移液管中滴出而扩散，在工作台面应当放置一块浸有消毒液的布或吸有消毒液的纸，使用后将其按感染性废弃物处理。

废弃物处理

1. 废液置于废液缸中或吸入真空泵中（废液缸及真空泵中应加有10%的巴斯消毒液）。
2. 与污染物接触的固体废物不得随意丢弃，必须放置于安全柜中的固体废弃盒中。
3. 刀片、注射针头等危险废弃物应弃于专门的针头废弃缸中
4. 所有废弃物按照相关程序收集集中销毁。

各种废弃物严格分开，不得混放。

实验操作过程污染物溢出处理

- 1、戴手套，穿防护服，必要时需进行脸和眼睛防护。
- 2、用布或纸巾覆盖并吸收溢出物。
- 3、向纸巾上喷洒适当的消毒剂，并立即覆盖周围区域（通常可以使用5%漂白剂溶液）。**装有消毒剂的喷壶在安全柜右侧地上。**
- 4、使用消毒剂时，从溢出区域的外围开始，朝向中心进行处理。

- 5、作用适当时间后（例如30 min），将所处理物质清理掉。如果含有碎玻璃或其他锐器，则要使用簸箕或硬的厚纸板来收集处理过的物品，并将它们置于可防刺透的容器中以待处理。
- 6、对溢出区域再次清洁并消毒（如有必要，重复第2~5步）。
- 7、将污染材料置于防漏、防穿透的废弃物处理容器中。
- 8、在成功消毒后，通知主管部门目前溢出区域的清除污染工作已经完成。

紧急事故处理

1. P2实验室第二缓冲间内的架子上放有急救箱，内有常用的消毒棉签，碘伏，眼药水等。若实验中出现意外伤害，紧急处理后请立刻就医。



压缩气体和液化气

1. 安全地固定（例如用铁链锁住）在墙上或坚固的实验台上，以确保钢瓶不会因为自然灾害而移动或者倾倒。
2. 钢瓶不应放置在散热器、明火或其他热源或会产生电火花的电器附近，也不应置于阳光直晒下。
3. 压缩气体钢瓶及其高压阀和减压阀定期进行检查，定期进行维护。

实验室消防

1. 消防器材应放置在靠近实验室的门边，以及走廊和过道的适当位置。
2. 灭火器要定期进行检查和维护，使其维持在有效期内

灭火器的类型和用途		
种类	可应用于	不能应用于
水	纸、木质纤维	电路和电器火灾、易燃液体、金属燃烧
CO ₂ 气体灭火器	易燃液体和气体、碱金属、电路和电器火灾	可重复使用的仪器和设备，因为其残渣难以清除干净
泡沫	易燃液体	电火灾

实验室用电安全

1. 所有电器设备都必须定期进行检查和测试，包括接地系统。
2. 实验室的所有电器均应接地，最好采用三相插头。

3. 在实验室电路中要配置断路器和漏电保护器。断路器不能保护人，只是用来保护线路不发生电流超负荷从而避免火灾。漏电保护器用于保护人员避免触电。