

准备工作

一、制定培养方案

当我们准备培养一个菌株之前，首先要了解这个菌株的生长特性，确定该菌株的营养需求、生长温度、气体环境、渗透压、酸碱度及嗜盐性等条件，选择合适的培养基和培养环境，制定活化培养方案。通常购买的菌株都附带说明书，按照说明书推荐的培养基和培养条件来准备。若没有说明书，可通过查阅文献(推荐查看伯杰细菌手册或常见细菌鉴定手册)等方式确认菌株的生长条件，再制定方案。

二、菌株处理

获得菌株后，原则上应尽早进行活化和保存。若不能立即活化，应按照说明书放入相应的环境中进行保存。若菌株为厌氧菌，请按厌氧菌培养要求在厌氧环境中操作。

(1) 若保存的菌株为冻干粉形式，可加入少量生理盐水或非选择性肉汤培养基进行溶解悬浮，用划线或涂布方式接种至平板，或吸取菌液至液体培养基中进行培养。

(2) 若保存的菌株为甘油冻存或液体保存形式，可在室温速融后划线或涂布接种至平板，或直接加入到液体培养基中进行培养。

(4) 若保存的菌株为斜面或半固体形式，可直接挑取菌苔转接至平板或液体培养基中进行培养。

三、活化菌株使用的培养基的成分通常包括以下几个组分：

(1) 基本营养成分，如蛋白胨、牛肉浸粉、酵母浸粉等，主要提供碳源、氮源及微量元素等。

(2) 氯化钠：维持一定的渗透压环境。

(3) 磷酸盐：维持 pH 的相对稳定。

(4) 特殊成分：如血清、半胱氨酸、氯化血红素等，促进特定菌的生长。

根据菌株的生长特性，选择合适的培养基或对特定的培养基添加成分进行改良，以满足菌株的生长需求。

冻干管打管说明

一、打管复活操作步骤

1. 产品说明



2. 用 75%酒精棉擦拭冻干管表面进行消毒，将管顶端于酒精灯外焰上均匀加热。



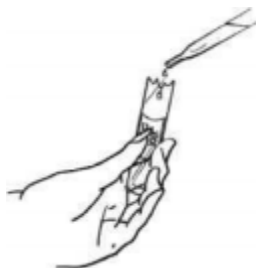
3. 立即滴 2~3 滴无菌水于加热部位，使管壁破裂。



4. 用镊子或其它适宜工具敲下破裂处。



5. 用无菌吸管吸取 0.5ml 左右液体培养基(《菌种说明书》中固体培养基去掉琼脂即可)于冻干管中将冻干菌粉全部溶解。



6. 将溶解后的菌悬液转移至盛有 4~5mL 液体培养基的试管中混匀，可将残留在吸管中的 1-2 滴菌悬液转接至固体培养基上。

7. 将液体试管和斜面试管于推荐条件下静置培养，以液体培养结果为准。

二、注意事项

1. 打管操作需由专业微生物技术人员在相应防护设备中进行，生物危害程度为三类的菌种应在生物安全柜中操作。打管时冻干管应远离面部，并适当保护眼睛。
2. 打管操作应在烧杯或托盘上方进行，用完的冻干管应高压灭菌处理后丢弃。
3. 冻干管打开后需一次用完，不能留存。
4. 菌种经过冻干保藏后，处于休眠状态，一代菌种需适当延长培养时间，转接至 2-3 代恢复活力。

甘油形式(培养基、培养条件同上)

甘油菌接种：

1. 从-80 冰箱中取出甘油菌种，立即放置在 37-45℃ 水浴中快速融化并适当摇动，直至管内甘油菌液全部溶解。
2. 无菌操作下打开甘油管，用无菌滴管将菌种转移到新鲜的培养基上进行培养。
3. 建议一管甘油菌种接种两个 15cm 试管斜面或两个 90mm 平板。
4. 避免反复冻融。

甘油菌制备：

1. 配置百分之 20 的甘油(20ml 丙三醇加入蒸馏水，定容到 100ml)，121 度 15min 灭菌后备用。
2. 无菌滴管吸取甘油把培养基表面的菌种冲洗下来，形成菌悬液。
3. 吸取菌悬液，分装到冻存管中，放入负 80 度冰箱。
4. 制备的用到的所有耗材，都要 121 度 15min 灭菌。

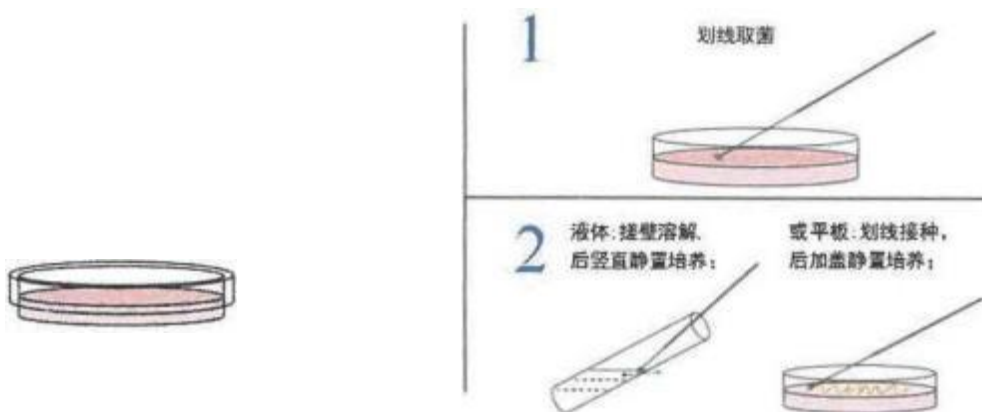
活化形式(培养基、培养条件同上)

一、平板

储藏条件：2~8℃ 产品形式：90mm 平板 有效期：10 天。

使用事项：

1. 本菌株已经活化好，可直接使用。若暂不使用，应按上述条件要求进行保存。
2. 长时间存放，会导致活力下降，需转接活化一次再使用。
3. 转接方法(如下图)：在无菌环境下，用无菌接种环挑取平板菌落 1-2 环，转接到新的固体或液体培养基中，按要求培养完成即可。
4. 请在 5 代以内使用，5 代后建议销毁。
5. 菌株收到后应当在有效期内使用。

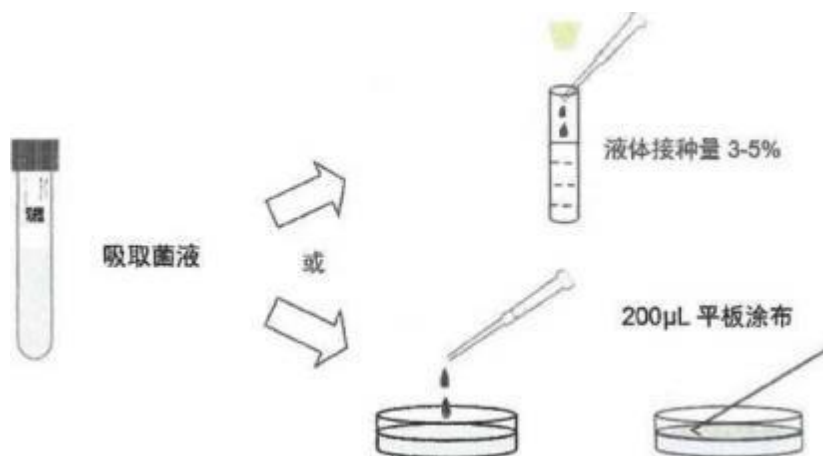


二、菌液

储藏条件：2~8℃ 产品形式：10mL 菌液 有效期：10 天。

使用事项：

1. 本菌株已经活化好，可直接使用。若暂不使用，应按上述条件要求进行保存。
2. 长时间存放，会导致活力下降，需转接活化一次再使用。
3. 转接方法(如下图)：在无菌环境下，移液枪或吸管吸取菌液转接到新的固体或液体培养基中，按要求培养完成即可。
4. 请在 5 代以内使用，5 代后建议销毁。
5. 菌株收到后应当在有效期内使用。



斜面转接方法：丝状真菌

丝状真菌斜面不同于细菌、酵母等，用传统的划线方法很难将菌丝挑起，并且接种效果差。因此丝状真菌斜面转接通常采用切块法。切块转接需要的工具有：①接种铲、②接种锄。

- (1) 将接种铲和接种锄用酒精棉擦拭干净，风干后在酒精灯外焰前后翻转灼烧 10s, 放置冷却。
- (2) 打开试管，将试管口边缘灼烧一圈。
- (3) 用冷却的接种锄在试管中，相距 0.5cm 切两条平行线(与试管垂直)。
- (4) 用冷却的接种铲在两条平行线之间，相距 0.5cm 切两条平行线(与试管平行)，形成 $0.5 \times 0.5 \text{cm}^2$ 的正方形菌块。
- (5) 接种铲直接插入菌块底部挑起，平放到新的平板(固体琼脂表面)上。
- (6) 平板正置放入培养箱，如无特殊要求，培养温度 25-28℃。



图 1. 接种工具

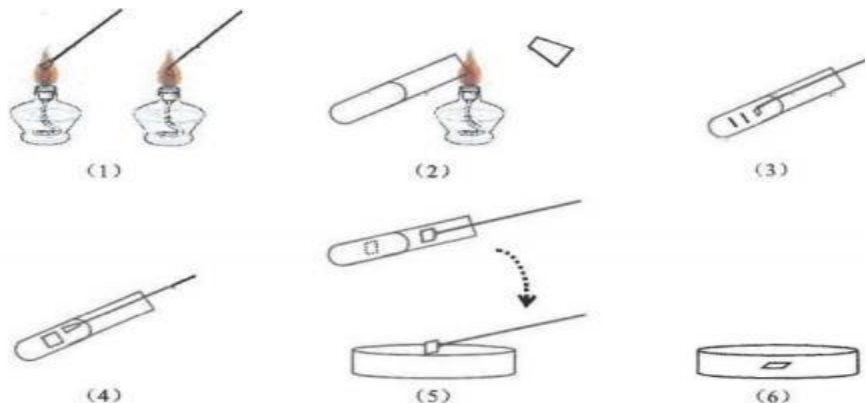


图 2. 接种流程

注意事项：

1. 接种铲、接种锄确保冷却后操作。
2. 试管塞必须使用硅胶塞或棉塞，确保透气。
3. 接种完的原试管种，用保鲜膜密封，4 度保藏期一个月，期间无污染可继续使用。

免责声明：本公司将不为任何不正常使用此产品时所发生的意外负责。

北京伊事达科技有限公司

电话: 13564444959

官网: www.followme-shop.com

地址: 北京市海淀区东北旺西路 58 号尚科办公社区 C 区一楼



公众号

客服