

## 菌种处理方法

### 斜面或平板：

1. 拿到平板形式提供的菌种后请及时使用，或置 4-15 °C 条件下暂存，一般不超过一周，我们随附的空白平板供您应急使用。
2. 若是多次使用，应制做成甘油管，放置在-70°C至-80°C冰箱或液氮中保藏。方法见下。

### 冻干管：

冻干管若暂不使用，可放 4°C 存放。若需活化，可按以下步骤：

1. 将安瓿管上部（非样品一端）在酒精灯上先均匀烧灼表面，然后再烧灼上部一侧；
2. 灭菌水棉球点烧灼部位，出现裂纹后（注意安瓿管不要倒置）；用灭菌镊子敲开安瓿管；
3. 加入液体培养基约 100 μL（注意管壁可能会很烫，可冷却后再加液），打匀取少许接种至适宜培养基。

### 附：-80°C和液氮保藏方法：

- (1) 培养：将菌种接种于合适培养基，培养基用固体或液体均可，对生长较快（如大部分弧菌、希瓦氏菌）和生长较慢的菌株用液体培养基培养比较好。培养时期掌握在对数生长期或对数生长后期。
- (2) 收集菌体（建议优先使用平板）：液体培养时，离心弃去上清液；以平板或斜面培养时，刮取菌体。
- (3) 保护剂：20%甘油（或 20%甘油+5%海藻糖保藏效果更好）灭菌。
- (4) 分装：将菌体与保护剂混匀，菌体用量不能太少，混匀后看上去要浑浊；分装到若干冻存管。
- (5) 降温：及时放冰箱，先放-20°C，1-2 小时后转移至-70°C至-80°C。如放入液氮中保藏，须注意样品温度降至-40°C以下再放。
- (6) 活化：从冰箱或液氮中取出甘油管后，立即放置在 40°C 温水中摇晃使冰融化，约需 50 秒-100 秒；吸取适量内容物至适宜培养基培养。  
\*也可从冰箱或液氮中取出后，用低温冰盒保温，牙签刮取少许冰接种至合适培养基，甘油管可再放回原处低温保藏（注意动作要快避免过度升温）。

### 常用培养基

1. 培养基名称：2216E
2. 配方可在网站 <http://mccc.org.cn/> 搜索菌株编号，点击菌株编号查看 护照信息，点击培养基编号即可下载。