

冷凍乾燥管之臨時存放及開封活化說明

A. 冷凍乾燥管之臨時存放

未開封之冷凍乾燥管，請冷藏於 4°C 清潔環境，**切勿冷凍保存**。

B. 冷凍乾燥管之開封方式：**應在無菌環境下操作**

1. 以沾有 70% 酒精的棉花擦拭外管，在火焰上加熱外管頂端（菌體處不可遇熱）。
2. 立即滴數滴無菌水於加熱處，使外管頂端龜裂，再以鑷子敲破。
3. 取出隔熱纖維紙和內管，以滅菌過的鑷子取出內管之棉塞。
4. 製作懸浮菌液

限一次性溶解使用，不能分次

a. 適用於細菌(含放線菌)、酵母菌

用無菌吸管，吸取 0.3~0.5 mL **指定液體培養基**，滴入內管內，使乾燥菌塊、或沾黏於管壁、或包覆在玻璃珠上的菌體（有些厭氧菌以菌液直接乾燥或玻璃珠包覆方式製成凍乾管，不會有明顯固體物存在）溶解，可用無菌吸管協助，直至均勻懸浮。

b. 適用於絲狀真菌

用無菌吸管，吸取 0.3~0.5 mL **無菌水**，滴入內管內，使乾燥菌塊溶解（有些菌株以菌液直接乾燥製成乾燥管，不會有明顯菌塊存在），可用無菌吸管協助，直至均勻懸浮後，靜置 30 至 60 分鐘。

C. 菌株活化：**應在無菌環境下操作**

1. 儘快吸取 0.1~0.2 mL 之懸浮菌液滴入**指定平板培養基**的某一邊緣，以 **四區劃線法** 接種於平板培養基，以檢驗菌株之純度及活化情形。所剩懸浮菌液加入 5~10 mL **指定液體培養基**（絲狀真菌：將所剩之懸浮菌液加入 5~10 mL **無菌水或指定液體培養基**），兩者同時置於**指定溫度**進行培養。
2. **培養基配製和菌株之詳細培養資料請參閱產品說明書**（如無厭氧氣體之特別說明，厭氧菌的液體培養基自開封至接種完成，均需以純氮氣體充填，以保持厭氧狀態）。
3. 某些菌株經過冷凍乾燥保存後，遲滯期（lag period）較長，必須等培養二倍時間後才能長出，且再經過一到二次繼代培養（subculture）後才能恢復正常生長。經過以上的努力後仍培養失敗，才視為不能活化。

D. 服務說明

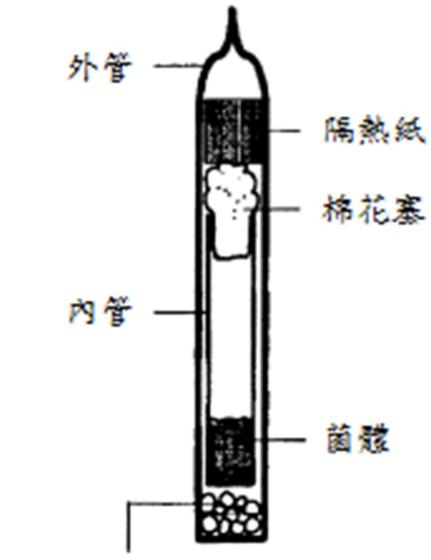
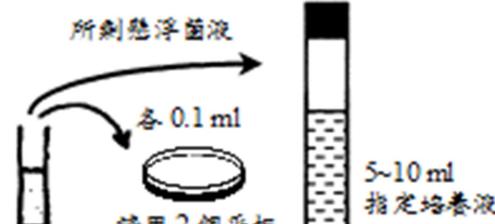
1. 若對於培養菌株的相關條件不熟悉、或是菌株未能生長、或是對活化之菌落有疑問時，**請於收到菌株 1 個月內，透過 BCRC 客戶服務系統之客戶線上諮詢系統反應問題，即進行處理。**
2. 本中心可提供各類菌種活化培養相關技術訓練，依顧客需求安排客製化人員代訓課程，意者請洽詢服務窗口李小姐 (03-5223191 轉 511)。

四區劃線法

1. 手持無菌接種環，以環沾黏菌滴，由培養基邊緣向中央輕輕橫劃緊接的平行線，直到涵蓋 1/3 培養基為止（如圖 I 區）。
2. 更新無菌接種環，旋轉培養基自 I 區塗佈的邊緣再橫劃數條線到未接種的區域（如圖 II 區）。
3. 重複 2. 的動作，完成如圖 III 區與 IV 區。



菌瓶開封及菌株活化

<p>菌瓶雙層管結構</p>	<p>3. 以鑷子取出隔熱紙及內管</p>
 <p>外管</p> <p>隔熱紙</p> <p>棉花塞</p> <p>內管</p> <p>菌體</p> <p>濕度指示劑</p>	<p>4. 以鑷子取出內管之棉花塞</p> 
<p>1. 加熱外管頂端 (菌體處不可過熱)</p>  <p>hot!</p>	<p>5. 滴加 0.3~0.5 ml 指定培養液於內管中，使菌體溶解成懸浮菌液</p>  <p>0.3~0.5 ml 指定培養液</p>
<p>2. 立即滴加無菌水，並以鑷子敲破玻璃外管</p>  <p>小心傷手!!</p>	<p>6. 取出 0.1 ml 懸浮菌液培養於指定平板培養基，所剩懸浮菌液加入原指定培養液，兩者同時置於指定溫度培養</p>  <p>所剩懸浮菌液</p> <p>各 0.1 ml</p> <p>請用 2 個平板</p> <p>5~10 ml 指定培養液</p>

※ 菌瓶開封及菌株活化之所有操作過程均需“無菌操作”