

凍結・解凍標品 及び L-乾燥標品 の復元方法

微生物株（標品）がお手元に届きましたら、下記の「到着後の取扱い」を参照の上、2ページ目以降の復元方法を参考にして培養を開始してください。

到着後の取扱い

解凍品（プラスチックチューブ）

到着後、直ちに新鮮な培地に接種し、培養してください。数日以内に培養を開始できない場合は、冷蔵（4℃）で保管してください。通常、1週間程度は保存可能です。

L-乾燥標品（ガラスアンプル）

直ちに復元作業を開始しない場合は、冷蔵（4℃）で保管してください。常温でも1週間程度であれば死滅することはありません。

培養品（試験管、バイアル瓶など）

到着後、直ちに新鮮な培地に接種し、培養してください。生菌についての添付書類がありましたら、そちらをご参照ください。

（注1）なお、復元に関するご相談は、微生物株発送後60日以内をお願いします。

■IFO 番号と NBRC 番号について

NBRC は、財団法人発酵研究所（IFO）が行っていた微生物株の分譲業務を、2002年7月1日に引き継ぎました。ご依頼者様の利便性を考慮し、NBRC における微生物株の識別番号（NBRC 番号）は、IFO 番号を踏襲しております。例のように、IFO と NBRC の記号が異なるだけで、番号は一致しております。

例：*Staphylococcus aureus* IFO 12732

↓

Staphylococcus aureus NBRC 12732

また、お送りした微生物株には、IFO 番号で表記したものが含まれていることがありますが、NBRC の微生物株としてお取り扱いください。

独立行政法人製品評価技術基盤機構

バイオテクノロジーセンター 生物資源利用促進課

〒292-0818 千葉県木更津市かずさ鎌足2-5-8

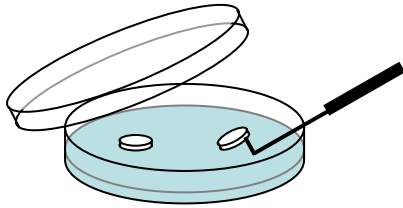
TEL 0438-20-5763 FAX 0438-52-2329



凍結・解凍標品（プラスチックチューブ）の復元方法

プラスチックチューブ内の菌体ディスクは、寒天培地で培養した菌株を、寒天ごと打ち抜いて凍結保護液に入れて凍結保存したものです。発送直前に急速解凍しています。この標品の復元は以下のように行ってください。

1. 復元用培地（処方は標品に同封）を用意します。
2. 本チューブの表面を、75%エタノール液を浸したガーゼなどで消毒します。
3. チューブ内の凍結保護液に浸された菌体ディスク2個をかぎ状白金線又は白金耳で取り出し、復元用培地に移植します。



（注2）菌体ディスクをできるだけ崩さないようにそのまま培地に載せてください。

4. 指定温度で1週間以上培養します（菌種に応じて2週間以上；培地組成の下欄のコメントを参照にしてください）。

L-乾燥標品（ガラスアンプル）の開封と復元の方法

ガラスアンプルに封入されているのは保護液に懸濁してから乾燥させた微生物菌体（又はバクテリオファージ（ファージ））です。保護液が透明なため菌体が見えにくい場合があります。この標品の復元は次ページの図（L-乾燥標品の開封と復元の方法）を参照して次のように行ってください。

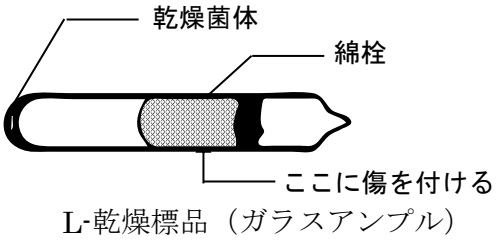
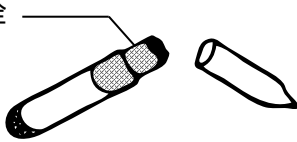
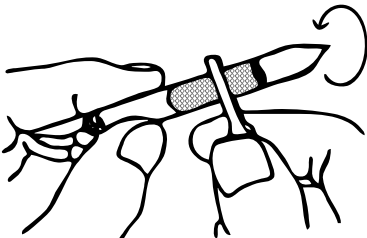
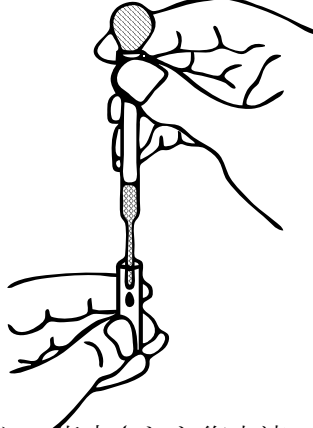
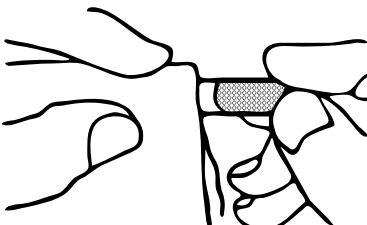
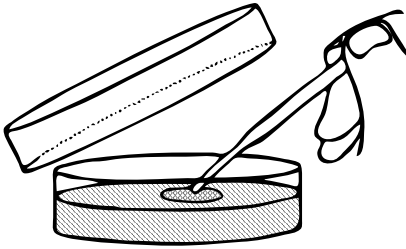
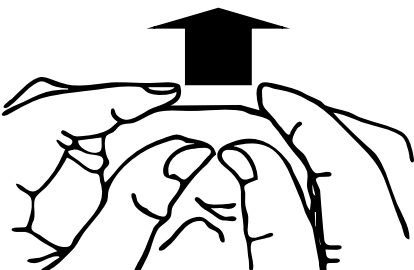
1. 復水液と復元用培地（処方は標品に同封）を用意します。
[ファージの復元には宿主菌が必要です。該当宿主菌もNBRCから入手可能です。]
2. ガラスアンプルに封入された綿栓の中央部に、やすり又はダイヤモンドアンプルカッター^(注3)で傷を付けます（図①）。
3. 傷を入れたガラスアンプルを75%エタノール液で浸したガーゼなどで消毒した後（図②）、乾熱などで滅菌したガーゼなどに包み、注意深く折ります（図③と④）。
[ガラスアンプル内は真空になっており、折る際にエタノール液で湿ったガーゼなどを用いるとガラスアンプル内にエタノール液が入り、乾燥菌体が死滅するおそれがありますので注意してください。]
4. 開封後、滅菌したパスツールピペットなどを用いて、復水液約0.2 mlを加えます。数分間置いてから、攪拌して菌体を懸濁させた後（図⑤）、指定された復元用培地に菌液を接種します（細菌・アーキア・酵母の場合は液体培地にも接種します。液体培地でのみ復元できる菌株があります。）（図⑥）。

[ファージの復元方法は4.（図⑤）まで同一です。宿主菌をソフトアガー（0.7%）とともに復元用培地にまきます。固形化後、ソフトアガー上にファージ懸濁液を重層してください。溶菌斑が判別しにくい場合もありますので、全体に重層するのではなく、一部残しておきます。]

（次ページに続きます）

5. 至適条件で培養を開始します。生育に長期間を要する菌株もありますので、必要に応じて2週間以上培養します。
6. 使用後のガラスアンプルは滅菌して捨ててください。

図：L-乾燥標品の開封と復元の方法

 <p>乾燥菌体 綿栓 ここに傷を付ける L-乾燥標品（ガラスアンプル）</p>	<p>④</p>  <p>綿栓</p>
<p>①</p>  <p>やすり又はダイヤモンドアンプルカッター^(注3)で約半周傷を付けます。</p>	<p>⑤</p>  <p>綿栓をとり、指定された復水液 0.2 ml を滅菌したパスツールピペットなどで加え、数分間置いてから標品をよく懸濁します。</p>
<p>②</p>  <p>75%エタノール液を含ませたガーゼなどでガラスアンプルを消毒します。</p>	<p>⑥</p>  <p>指定された復元用培地に菌液を接種します（細菌・アーキア・酵母の場合は液体培地にも接種します。液体培地でのみ復元できる菌株があります。）。</p>
<p>③</p>  <p>乾熱などで滅菌したガーゼなど（死滅の恐れがありますので、エタノール液で浸ったガーゼなどは使用しない）に包み、傷側を外に向けて折ります。</p>	

(注3) ダイヤモンドアンプルカッターについては下記の取扱会社などへお問い合わせください。

取扱会社 (例)	問い合わせ先 (TEL)	ダイヤモンドアンプルカッター型番
東西通商株式会社	03-3502-8231	DAC-11
岩田硝子工業株式会社	06-6902-9391	APC-003
株式会社マルエム	06-6931-4793	Bタイプ

トラブルシューティング（復元培養が上手くいかないときは・・・）

まずは下記項目をご確認ください。

指定された復水液、培地、温度で培養していますか？

指定されている復水液や培地、温度以外の条件では生育しない場合があります。

指定された宿主菌を使用していますか？

ファージや菌寄生菌を培養する際は、対応する宿主菌が必要です。

適した気相条件で培養していますか？

偏性嫌気性菌や一部の通性嫌気性菌（乳酸菌など）は嫌気条件下で培養する必要があります。

培養に光が必要ではありませんか？

光合成細菌や微細藻類は、培養に光が必要です。

培養日数は十分ですか？

凍結・解凍標品や L-乾燥標品などの休眠状態を経た細胞は、最初の復元時は継代培養時よりも生育に時間がかかる場合があります。

（注 4）電話やメールでご相談の際は、微生物の種類と NBRC 番号に併せて、上記の項目の状況を一緒にお知らせください。

電話：0438-20-5763

e-mail：nbrc@nite.go.jp

NBRC ホームページで微生物株の培養と保存方法や FAQ を公開しています。

■ 微生物株の培養と保存

NITE HOME > バイオテクノロジー> 生物遺伝資源の提供・寄託 > テクニカルサポート> 微生物株の培養と保存

<https://www.nite.go.jp/nbrc/cultures/support/teq.html>

■ FAQ

NITE HOME > バイオテクノロジー> 生物遺伝資源の提供・寄託 > FAQ

<https://www.nite.go.jp/nbrc/cultures/faq/faq.html>