

第九节 工业微生物菌种保藏技术



在生产发酵中，具有高产有重要经济价值的某一期待代谢产物主能力的微生物菌种的保存和长期保藏，对于一成功的工业发酵过程极为重要。

一、理想的菌种保藏方法应具备的条件

- (1) 经长期保藏后菌种存活健在；
- (2) 保证高产突变株不改变表型和基因型，特别是不改变初级代谢产物和次级代谢产物生产的高产能力。
- (3) 菌种保藏的基本措施是低温、干燥、真空。

一、微生物菌种保藏

基本要求:

在一定时间内使菌种不死、不变、不乱

基本方法:

生活态

培养基传代培养

斜面、平板

寄主传代培养

休眠态

冷冻

液氮、低温冰箱

干燥

沙土管、冷冻真空干燥

由于微生物的多样性，不同的微生物往往对不同的保藏方法有不同的适应性，因此，在具体选择保藏方法时必须对被保藏菌株的特性、保藏物的使用特点及现有条件等进行综合考虑。

对于一些比较重要的微生物菌株，则要尽可能多的采用各种不同的手段进行保藏，以免因某种方法的失败而导致菌种的丧失。

国际重要菌种保藏机构

缩写	名称
ATCC	美国标准菌种保藏所，美国马里兰州，罗克维尔市
CBS	真菌中心收藏所，荷兰，巴尔恩市
NCTC	国立标准菌种保藏所，英国，伦敦

中国菌种保藏单位

缩写	名称	缩写	名称
ACCC	中国农业微生物菌种保藏管理中心	ISF	中国农业科学院土壤肥料研究所
SH	上海市农业科学院食用菌研究所	CACC	抗菌素菌种保藏管理中心
IA	中国医学科学院抗菌素研究所	SIA	四川抗菌素工业研究所
CCGM C	普通微生物菌种保藏管理中心	AS	中国科学院微生物研究所
AS-IV	中国科学院武汉病毒研究所	CFCC	林业微生物菌种保藏管理中心
CAF	中国林业科学院菌种保藏管理中心	CICC	工业微生物菌种保藏管理中心
IFFI	轻工业部食品发酵工业科学研究所	CMCC	医学微生物菌种保藏管理中心
ID	中国医学科学院皮肤病研究所	NICPB	卫生部药品生物制品监察所
IV	中国医学科学院病毒研究所	CVCC	兽医微生物菌种保藏管理中心
CIVBP	中国兽医药品监察所	YM	云南省微生物研究所

中国微生物菌种保藏管理委员会组织机构

中国微生物菌种保藏管理委员会办事处(CCCCM):

中国科学院微生物研究所内, 北京(AS), 100080

1. 普通微生物菌种保藏管理中心(CCGMC)

中国科学院微生物研究所, 北京(AS), 100080: 真菌、细菌

中国科学院武汉病毒研究所, 武汉(AS-IV), 430071: 病毒

2. 农业微生物菌种保藏管理中心(ACCC)

中国农业科学院土壤肥料研究所, 北京(ISF), 100081

3. 工业微生物菌种保藏管理中心(CICC)

轻工业部食品发酵工业科学研究所, 北京(IFFI), 100027

4. 医学微生物菌种保藏管理中心(CMCC)

中国医学科学院皮肤病研究所, 南京(ID), 210042: 真菌

中国药品生物制品检定所, 北京(NICBP), 100050: 细菌

中国医学科学院病毒研究所, 北京(IV), 100052: 病毒

5. 抗菌素菌种保藏管理中心(CACC)

中国医学科学院抗菌素研究所, 北京(IA), 100050

四川抗菌素工业研究所, 成都(SIA), 610051: 新抗菌素菌种

华北制药厂抗菌素研究所, 石家庄(IANP), 050015: 生产用抗菌素菌种

6. 兽医微生物菌种保藏管理中心(CVCC)

农业部兽医药品监察所, 北京(CIVBP), 100081

7. 林业微生物菌种保藏管理中心(CFCC)

中国林业科学院, 北京(CAF), 100091



二、工业微生物菌种保藏技术

- (1) 超低温或在液氮中冷冻保藏;
- (2) 冷冻干燥或真空干燥保藏;
- (3) 转接培养或斜面传代保藏;
- (4) 土壤或陶瓷珠等载体干燥保藏。

菌种保藏方法

暂时保藏法



斜面传代法

穿刺法

藏法

法

长期保

液体石蜡

甘油管法

砂管保藏法

砂土管保藏法

滤纸片保藏法

冷冻干燥保藏法

液氮冷冻法

2.1 冷冻保藏

- 冷冻保藏为保藏微生物菌种的最简单而有效的方法。
- 通过冷冻，使微生物代谢活动停止。一般而言，冷冻温度愈低，效果愈好。为了获得满意的冷冻结果，通常应在培养物中加入一定的**冷冻保护剂**。冷冻保藏时温度要求在 -20°C 以下，同时应认真掌握好冷冻速度和解冻速变。
- 冷冻深藏的缺点之一是培养物运输较困难。