

# 『vipキット 1/2MS (BA、NAA、2,4-D)』

をお買い上げ頂き、誠にありがとうございます。

以下の内容物をまず最初にお確かめください。

「『vipキット 1/2MS (BA、NAA、2,4-D)』をお買い上げ頂き、誠にありがとうございます」(本紙)  
「vipキットのご使用方法 (Try以外共通)」A4 2枚

- ①結束タイ×1袋 ②800mL 柄付き計量器×1 ③プラコップ大 (420mL) ×3
- ④100mLコスメスプレー×1 ⑤プラコップ小 (60mL) ×1袋
- ⑥紙皿×1袋



- ⑦ポリエチレン袋×1 ⑧スプーン×2 ⑨マドラー×2
- ⑩次亜塩素酸カルシウム剤 (10g) 小袋×1
- ⑪スティック砂糖 (5g) ×5を封入した袋×1
- ⑫vipSupporter 4mL瓶×1
- ⑬siVIP G 20gの小袋と透明小さじ・クリップを同封した袋×1
- ⑭剃刀の小袋×1 (両刃×1と片刃×2)
- ⑮eVIP培地1/2MSゲランガム1.4ショ糖20 500mL分小袋×5とクリップ×1を封入した袋×1
- ⑯pggVIPタブレット下記 各×2を封入した袋×1  
BA 0.2mg、NAA 0.2mg、2,4-D 0.2mg

破損・欠品・取り違いなど、瑕疵がありましたら、  
ヴィトロプラント (06-6606-8099、[claim@vitroplantslab.com](mailto:claim@vitroplantslab.com)) まで、ご連絡ください。  
直ちに同等品とお取り替えいたします。

ただし、熱シールされた袋を1つでも開封・破損した場合はお取り替えしないことがあります。お気をつけ下さい。

# 『vipキット 1/2MS (BA、NAA、2,4-D) 簡素化版』

をお買い上げ頂き、誠にありがとうございます。

以下の内容物をまず最初にお確かめください。

「『vipキット 1/2MS (BA、NAA、2,4-D) 』をお買い上げ頂き、誠にありがとうございます」(本紙)  
「vipキットのご使用方法 (Try以外共通)」A4 2枚

- ①結束タイ×1袋 ~~②800mL 柄付き計量器×1~~ ~~③プラコップ大 (420mL) ×3~~  
~~④100mL コスメスプレー×1~~ ~~⑤プラコップ小 (60mL) ×1袋~~  
~~⑥紙皿×1袋~~ (②～⑥は付録しておりません。別途、相当品をご用意下さい)



- ⑦ポリエチレン袋×1 ⑧スプーン×2 ⑨マドラー×2  
⑩次亜塩素酸カルシウム剤 (10g) 小袋×1  
⑪スティック砂糖 (5g) ×5を封入した袋×1  
⑫vipSupporter 4mL瓶×1  
⑬vip G 20gの小袋と透明小さじ・クリップを同封した袋×1  
⑭剃刀の小袋×1 (両刃×1と片刃×2)  
⑮eVIP培地1/2MSゲランガム1.4ショ糖20 500mL分小袋×5とクリップ×1を封入した袋×1  
⑯vip VIPタブレット下記 各×2を封入した袋×1  
BA 0.2mg、NAA 0.2mg、2,4-D 0.2mg

破損・欠品・取り違いなど、瑕疵がありましたら、

ヴィトロプラント (06-6606-8099、[claim@vitroplantslab.com](mailto:claim@vitroplantslab.com)) まで、ご連絡ください。

直ちに同等品とお取り替えいたします。

ただし、熱シールされた袋を1つでも開封・破損した場合はお取り替えしないことがあります。お気をつけ下さい。

# VIPキット シリーズ 共通概要: どこでも無菌培養! のオールインワンキット

(培養棚・インキュベータなどの人工気象装置は含みません)

98℃以上の熱湯が得られるならどこでも滅菌培地が作成でき、外植体を置床できます。

沸いた湯があれば、培地作成&分注は1分、冷却固化は1時間、置床1分のスピード!

少量の継代なら隙間時間で可能。培養容器もカミソリもワンセット。もちろん初代培養も可能です。

植物成長調節物質 (PGR、植物ホルモン) も付録。

多数相手の学生実習、野外遺伝資源探索、ラン播種やニンジンのカルス化などの趣味や学習にも便利。

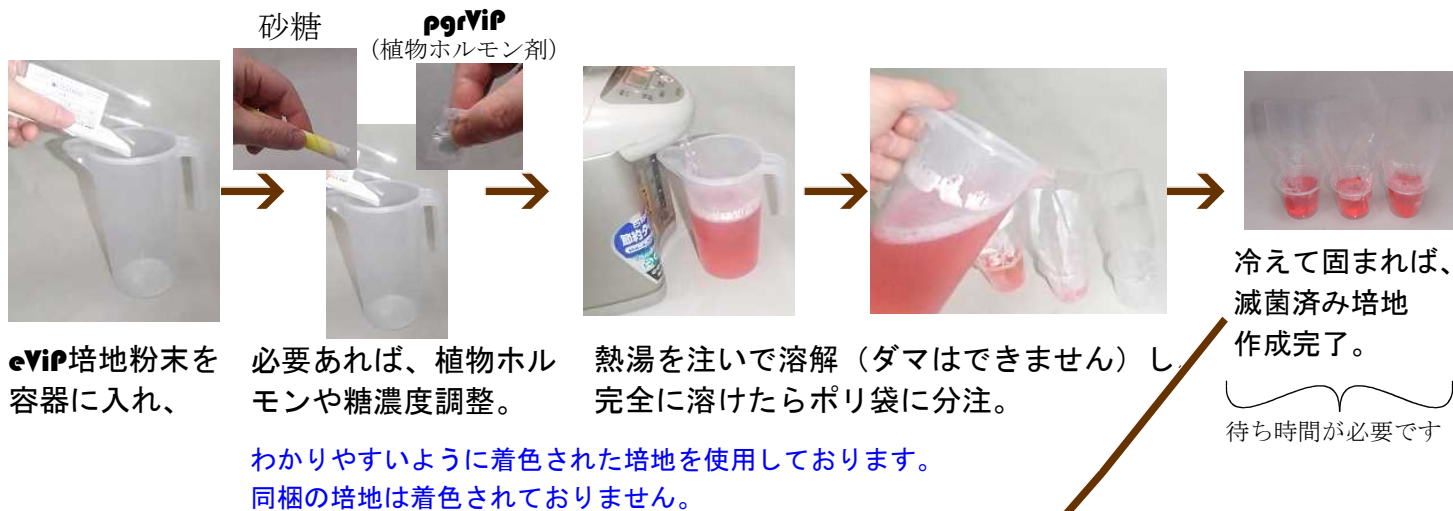
**eVIP培地**や、**sirVIP**、**msVIP**、**pgrVIP** シリーズのお試し版としてもどうぞ。

下図は**VIPキット**内容物での作業概要です (湯沸かしポット、ピンセット、ハサミおよび外植体以外)。



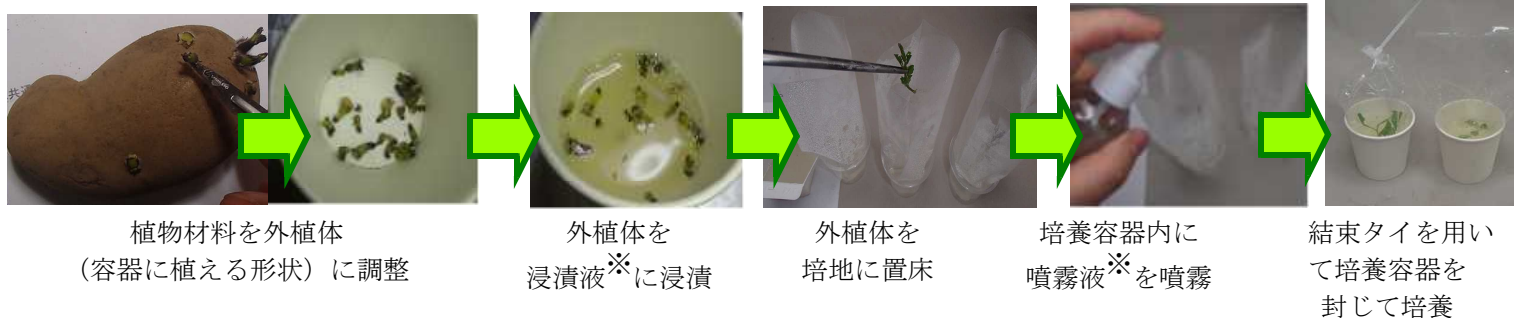
## 本キットの操作概略 (詳しくは別紙をご覧ください)

**培地作成:** 培地粉末を熱湯を注げばpHまで調整済みの滅菌された固形培地ができます!



**外植体の置床:** 作成した培地に植物を植えます。

浸漬液に浸けて容器に入れ、噴霧液をスプレーするだけ!



※: 浸漬液 噴霧液の組成・作成方法は別紙をご覧ください。

# VIPキットご使用方法 (Try 以外共通)

最初は本マニュアルの I から順番に番号順に操作して下さい。操作内容把握後は、作成量を変更する、培養容器を変更する、培地作成と外植体除菌を別に行うなど適宜アレンジして下さい。

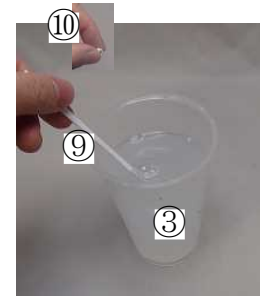
## 本キット以外に用意するもの:

98℃以上の熱湯500mL、常温の水500mL (水道水や蒸留水などの清浄なもの)、植える植物

### I (塩素液作成):

- ⑩次亜塩素酸カルシウム3粒 (割れ・欠けのないもの) を
- ③の420mLプラコップに入れ、
- 水道水を300mL入れる。

粒崩壊に時間がかかるので、この操作はVIの外植体置床 (植物を培養容器に入れること) の30分以上前に行う。光で分解するので、保存時はなるべく暗いところに置き作成後3日以内に使用すること。屋外では作成後すぐに使用すること。Ⅲ記載の培地作成直前・直後に行うと待ち時間が少ない。急ぐ場合は粒を棒等で砕く。



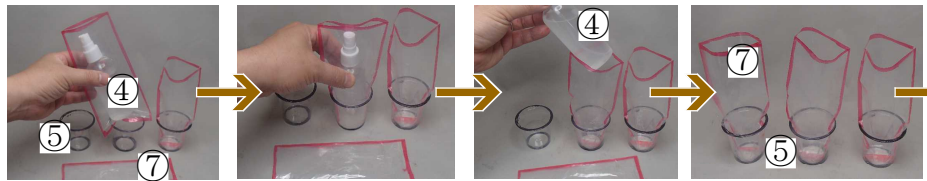
⑩の粒の崩壊を確認した後、攪拌。

→ Vへ

### II (培養容器作成):

- ⑤プラコップの内側に⑦のポリエチレン袋を装着する。

試験管、フラスコなどの従来の培養容器や、他のプラスチック容器も使用可能。ただし、培養育成時の微生物再汚染の少なさを適度な通気などの面で同梱のポリ袋 (HEIKO 600シリーズ) の使用をウイトロプランツは推奨。



わかりやすいように一部着色された容器を使用。同梱の容器は無着色。

④のコスメスプレーに⑦のポリ袋をかぶせてから⑤のコップに入れると入れやすい。コスメスプレーに塩素液が入っていても問題はない。

→ IIIへ

### III (培地作成・分注):

- ⑮eVIP培地 1袋、
- ⑫vipSupporter 1滴 (約0.05mL)、
- 必要があれば
- ⑪砂糖 (1本5gを入れる毎に培地500mL中のショ糖濃度10g/L上昇) や、
- ⑯pgrVIPタブレット
- (下記表参照) を、
- ②の800mL計量容器に入れ、
- 500mL量の熱湯で溶解する。



培地が500mLならば8~16容器 (容器あたり30~60mL) 程度がよい。冷却固化すれば、置床可。

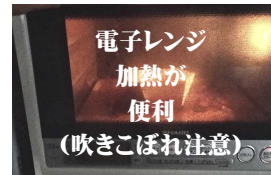
わかりやすいように着色された培地を使用。同梱の培地は無着色。

目安30分~2時間。置床方法は裏面参照。

→ VIへ

#### アドバイス

作業の遅延・果物ジュース投入 (無保証) など培地温度の大幅な低下 (目安70℃以下) を招いた場合は、電子レンジ、鍋などで再加熱し煮沸して下さい。



### eVIP培地 1袋 (500mL) 分に入れる⑯pgrVIPタブレットと培地内植物ホルモン (PGR) 濃度の対応表

タブレット種類 (mg)	PGR濃度 (mg/L) * 増加	ショ糖濃度 (g/L) * 増加
無添加	+0	+0.0
0.05	+0.1 *	+2.6 *
0.2	+0.4	+2.6
1	+2	+2.6

\* 例えば1mg1錠を500mLのショ糖濃度20g/Lの培地に添加した時、PGR (植物ホルモン) は2mg/Lに、ショ糖は22.6g/Lの濃度になります。この程度の培地中ショ糖濃度増加は植物の成長にはほとんど影響せず、無視できます。多剤を投入されたときは、添付の砂糖で調整して下さい。

- BAは芽の数を増やし、再分化を促進。
- NAAは発根と再分化を促進。  
1/2MS (BA, NAA, 2,4-D) のみ同封
- 2,4-Dはカルス化 (脱分化) を強力に促進。  
1/2MS (BA, NAA, 2,4-D) のみ同封
- BAとNAAを低濃度 (0.05~0.2mg/L) で組み合わせると成長と再分化を促進。  
(同封のpgrタブレットで行うときは、少量の熱湯に溶かし一部のみ入れるなどする)  
(上記は一般論です)

植物を直ちに植えない場合、培養容器を解放した状態で数日以上、仮封状態で2週間以上の貯蔵が可能です。

(仮封とは培養容器の開口部をラップで覆ったり、培養袋の口を折り曲げただけなどの状態を指します。乾燥等による変質に注意)

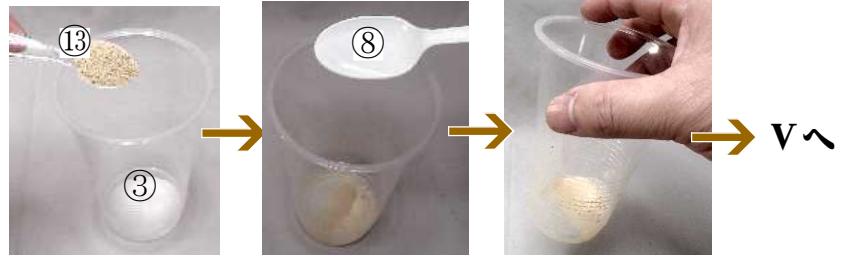
長期貯蔵は容器を密封した場合に可能です。

# ViPキットご使用方法 (Try 以外共通)

最初は本マニュアルの I (本面の裏に記載) から順番に、番号順に操作して下さい。

## IV *siViP G* 液 作成 (植物を植える直前に行うこと!)

③の420mLプラコップに  
⑬*siViP G* を付属の透明小さじすり  
切り1杯 (約1g)、  
水道水を⑧さじ1杯 (約10mL) を  
入れ、  
コップを回して、コップ底に固まり  
がおおよそなくなる程度まで攪拌す  
る。



(溶解しません。黄白濁液。水と混合後、8時間以内に使用すること)

## V 植えられる植物に合わせた浸漬液と噴霧液を作成します (よくわからない場合は「Bセット」をお選びください)。

	対象植物例	浸漬液 (浸漬時間)	噴霧液
	健全な傷の無いものを用いる ことが重要。  生育旺盛な季節に培養すると うまくいくことが多い。	外植体表面すべてが液に馴染む ことが重要 (植物が液を撥じく 場合はなじむまで待つ)。 微細種子などでは培地に播種後 の噴霧も可。	容器内全面を濡らすことが重 要。  容器内の余剰液は噴霧後に捨 てても良い。
<b>Aセット</b> Bセットでは微 生物汚染が激し い時に	地下茎や球根、 花茎や枝など	<b>IV <i>siViP G</i> 液そのまま</b> (数時間~数日浸漬) 長期浸漬でも葉害は少ない	塩素液そのまま
<b>Bセット</b> まず最初は、 Bセットで!	無菌播種 (ランを含む) 健康な成長中の若い葉や 茎、花茎や萌芽 無菌→無菌の継代培養 (除菌重視)	<b>IV <i>siViP G</i> 液そのまま</b> (一瞬~数時間浸漬)	塩素液そのまま
<b>Cセット</b>	Bセットでは葉害が強 い時、dセットでは微 生物汚染が多い時に	<b>IV <i>siViP G</i> 液そのまま</b> (一瞬~数時間浸漬)	<b>IV <i>siViP G</i> 液に</b> 水道水約160mL→ <b>I 塩素液約20~30mL</b> (⑧さじ3杯) を この順で加える。
<b>dセット</b> 継代培養時 の標準除菌 &置床方法	切り出した形成層など 植物内部組織や 未開朔内未熟種子など <b>無菌→無菌の継代培養</b> (通常)	同右の液 (一瞬~数時間浸漬)	<b>IV <i>siViP G</i> 液に</b> 水道水約160mL→ <b>I 塩素液約20~30mL</b> (⑧さじ3杯) を この順で加える。
<b>eセット</b>	切り出した形成層など 植物内部組織や 未開朔内未熟種子など 無菌→無菌の継代培養 (葉害軽減重視)	同右の液 (一瞬~数時間浸漬)	<b>IV <i>siViP G</i> 液に</b> 水道水約180mL→ <b>I 塩素液約10mL</b> (⑧さじ1杯) を この順で加える。
<b>fセット</b>	茎頂、葯、胚珠など無菌 とみなせる微細な組織	同右の液 (なし~数時間浸漬)	<b>IV <i>siViP G</i> 液に</b> 水道水約190mL→ <b>I 塩素液約5mL</b> (⑧さじ0.5杯) を この順で加える。

Aセット、Bセットなら、培養容器内の微生物汚染も高率で取り除けます。

詳しくは*siViP G*の説明書 (<http://vitroplantslab.jp/manualpdf/sirViPGmanual.pdf>)

や除染データ集 (<http://vitroplantslab.jp/manualpdf/eliminatedata.pdf>)

をご覧ください。

# VIPキットご使用方法（外植体の除菌と置床）

## VI 外植体の置床: IIIで作成した培地に、Vで作成した浸漬液と噴霧液を用いて植物を植えます。

浸漬液に浸けて容器に入れ、噴霧液をスプレーするだけ！



植物材料を外植体  
(容器に植える形状) に調整

外植体を  
浸漬液に浸漬  
(浸漬時間はV参照。表面が全部  
濡れれば良く、浸る必要はない)

IIIで作成した培地に  
外植体を置床

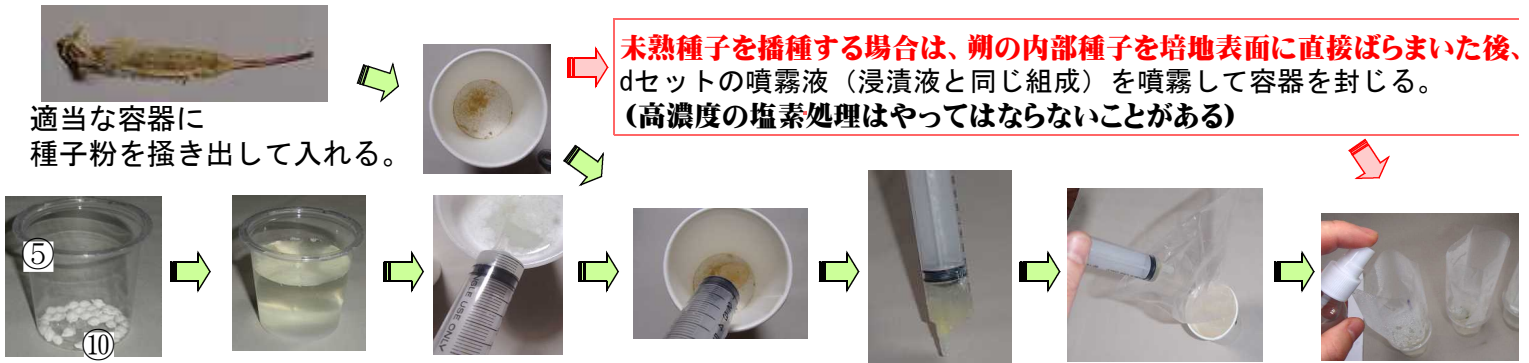
④コスメスプレーで  
培養容器内に  
噴霧液を噴霧

①結束タイを用  
いて培養容器を  
封じて培養

## VII 培養器を直射日光の当たらない、明るい窓際などで培養します。

### 少し特殊な組織での操作応用例

#### コショウランの完熟し開いた朔から採取した種子の休眠打破操作と播種を同時に行うときの例



適当な容器に  
種子粉を掻き出して入れる。

未熟種子を播種する場合は、朔の内部種子を培地表面に直接ばらまいた後、  
dセットの噴霧液（浸漬液と同じ組成）を噴霧して容器を封じる。  
(高濃度の塩素処理はやってはならないことがある)

⑩次亜塩素酸カルシウム約30~45粒（3g）  
を⑤プラコップ（50mL）に入れ水道水で満  
たす。  
静置して粒が全て崩壊したら攪拌し、さら  
に静置。  
上に澄んだ黄色液ができたならその部分をシ  
リンジやスポイトで採取する。

種子粉を入れた容器中で  
黄色液を出し入れすることで  
種子とよく混合しなるべく  
多くの種子をシリンジ中に吸  
い込んでからシリンジを立て  
て5分静置。

種子が下部に沈殿するので  
その部分を培地表面に1~2  
滴つつ落とす。  
その後、コスメスプレーで、  
Bセットの浸漬液と噴霧液を  
この順で噴霧して容器を封じる。

無菌播種をする場合は、浸漬液に浸漬前に別途、休眠打破などの必要があることがあります。

上の例で上げた、コショウランの完熟種子では、最初の濃厚次亜塩素酸カルシウム溶液への浸漬処理が休眠打破処理にあたります。ハイターやアンチホルミンの5~10倍液でも問題ありません。未熟種子では休眠していませんので通常は必要ありません。  
休眠打破には、ジベレリン浸漬や超音波洗浄、種皮の機械的な傷付け、高濃度の塩水中での貯蔵、流水さらしなどが有効なものもあります。

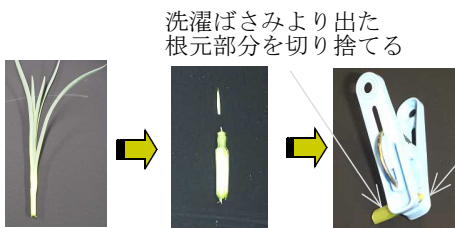
#### 茎頂・根端部などの微細組織（例はカーネーション茎頂 茎頂摘出・培養共に比較的容易かつ栽培も容易で練習に適します）

別紙Vの『fセット』の  
噴霧液を用意する。

培養容器内全面に噴霧液を十分  
噴霧し、容器内に溜まった液を捨てる。  
この時、培地面を指で押さえるなどしてなるべく液を残さないようにする。

メス先で培地を切るような感じで培地上に茎頂部を乗せる。  
(よく見れば肉眼で乗ったことが確認できる)

その後、すぐに容器を封ずる。  
(噴霧はしない)



洗濯ばさみより出た  
根元部分を切り捨てる



茎頂部



肉眼と素手で取り除ける葉を全て取り除く

洗濯ばさみに茎頂部に面を合わせ  
て夾み、下部の茎は洗濯ばさみに  
合わせて切り落とす。

(洗濯ばさみが強すぎて茎が潰れる場合は、夾み面に茎径程度の縦穴を開けておく)

実体顕微鏡下で茎頂を摘出し  
茎頂部（直径0.1~0.4mm程度）  
を切り取ってメス先に乗せる。

ランの種子や、茎頂、胚珠、薬のような微細な組織では、噴霧するのみで、組織表面全面が十分に液濡れします。

従って、培地に外植体を置床後、置床前に浸漬液を噴霧しても問題ありません。

# オートクレープス、クリーンベンチレス事例集

(本キットで可能であることを示しません。また、同一の組み合わせにおける同様の結果の保証はいたしません)



容器の大きさの影響 (カーネーション)  
←ハイパーハイドリシティ 正常→

糖濃度の影響 (カーネーション)  
←ハイパーハイドリシティ 正常→

ボトルフラワー事例

eViP培地MS格蘭ガム1.4ショ糖40  
培地量40mL  
ヘイコーポリ (ポリエチレン袋)  
601:0.06×80×120mm  
602:0.06×90×170mm  
604:0.06×70×100mm

左: eViP培地MS格蘭ガム1.4ショ糖20  
右: eViP培地MS格蘭ガム1.4ショ糖40  
培地量40mL  
ヘイコーポリ 602、カップは2オンス

(ロベリア、ペチュニア、ナデシコ、ニチニチソウ、アゲラタム)



立ち木枝→無菌増殖  
(ベニカナメ、ヒラドツツジ、ヤクスギ)



胚軸切り出し→カルス  
(ダイズ)



鉢花茎→増殖  
(コチョウラン)



無菌播種  
(レタス、シュンギク、ニンジン、  
ダイコン、マリーゴールド、ヒュウガナツ)

熱シールミス以外の微生物汚染は非常に少ない (写真は置床1ヶ月程度後の部分)



カルス化



紙コップでセルトレイを支え、積み重ねて培養  
通常温室内の栽培ベンチでの培養風景



小植物再分化



(各容器の蓋は開いたまま  
すぐ使用可能)

培地貯蔵  
(1~2月以内程度)



外植体置床

(置床後、塩素液噴霧して熱シール)

花茎*ViP*浸漬



eViP培地作成・分注

容器作成 (50穴セルトレイ+ポリエチレン袋)

## 温室内での培養事例

植物はハオルチア花茎。当該の同一温室内で全操作。  
オートクレープ、クリーンベンチ、清潔な培養棚の全てが不要

(具体的な培地種類、花茎齢、部位、品種などは守秘事項につき、  
お問い合わせ頂いてもお答えできません)



花茎調整



花茎除菌