『ViPキット　V2MS（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　V2MS　（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
「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×1　⑨マドラー×2
⑩次亜塩素酸カルシウム剤（10g）小袋×１
⑪ステイック砂糖（5g）×５を封入した袋×１
⑫vipSupporter 4mL瓶×１
⑬sirViP 5g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を封入した袋×１
⑯pgrViP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

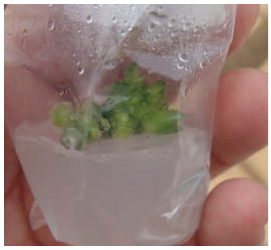
破損・欠品・取り違えなど、瑕疵がありましたならば、
ヴィトロプランツ（075-606-1861、claim@vitroplantslab.com）まで、ご連絡ください。
直ちに同等品とお取り替えいたします。

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）

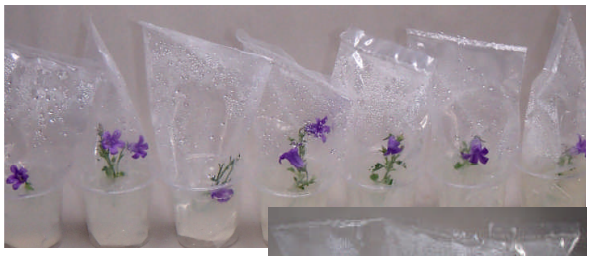
98℃以上の熱湯が得られるならどこでも滅菌培地が作成でき、外植体を置床できます。
沸いた湯があれば、培地作成＆分注は1分、冷却固化は1時間、置床1分のスピード！
少量の継代なら隙間時間で可能。培養容器もカミソリもワンセット。もちろん初代培養も可能です。
植物成長調節物質（PGR、植物ホルモン）も付録。
多数相手の学生実習、野外遺伝資源探索、ラン播種やニンジンのカルス化などの趣味や学習にも便利。
eViP培地や、**siriViP**、**msViPシリーズ**のお試し版としてもどうぞ。
下図は**ViPキット**内容物での作業概要です（湯沸かしポット、ピンセット、ハサミおよび外植体以外）。


ハオルチア

アジサイ

コチョウラン

ヤクスギ


カンパニュラ

本キットの操作概略（詳しくは別紙をご覧下さい）

外植体の置床（同梱の**siriViP**）：どこでも置床可能！　素手もＯＫ！

siriViPを混ぜた水道水に、調整後の外植体をまとめて浸漬。
あとは培養容器に入れ、封じる前に霧吹きで一吹。
（下記例は外の植物→容器内へ無菌導入時。
無菌→無菌の継代時は４ 植物体調整　以降から操作）

まずは手をきれいに洗いましょう（重要）

１：植物を採取

２：**siriViP**水和液に浸漬

３：塩素液に浸漬

待ち時間が必要です

４：植物体調整（必要時のみ）

５：**siriViP**水和液に再び浸漬

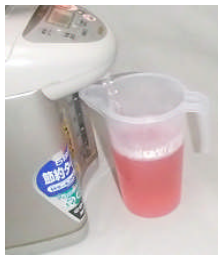
６：容器内に植えて塩素液を噴霧

７：容器を封じて培養

培地作成（同梱の**eViP**培地シリーズ）：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！
作成した培地は、置床前の貯蔵時にはほとんど微生物に再汚染されません（外植体置床後は再汚染されます）。

eViP培地粉末を容器に入れ、

必要あれば、植物ホルモンや糖濃度調整。


熱湯を注いで溶解（ダマはできません）し、完全に溶けたらポリ袋に分注。

冷えて固まれば、滅菌済み培地作成完了。

待ち時間が必要です

わかりやすいように着色された培地を使用しております。
明記されていないかぎり、同梱の培地は着色されておりません。

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、作成培地量を変更する、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。

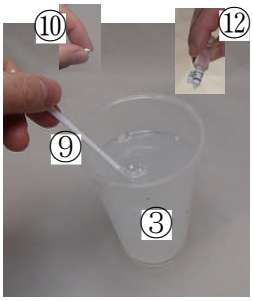
本キット以外に用意するもの：

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粒と
⑫vipSupporterを3～4滴を
③の420mLプラコップに入れ、
水道水を300mL入れる。

この操作は外植体置床（植物を培養容器に入れること）の30分以上前に行い、作成後3日以内に使用すること。
Ⅲ記載の培地作成直前・直後に行うとよい。



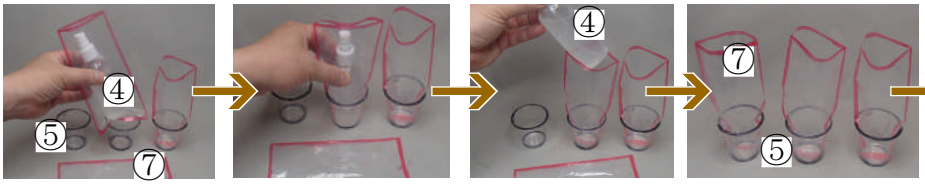
→ Vへ

⑪の粒の崩壊を確認した後、攪拌。　一部の塩素液を④のコスメスプレーに入れる。

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、他のプラスティ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や適度な通気などの面で同梱のポリ袋（HEIKO　600シリーズ）の使用をヴィトロプランツは推奨。



→ Ⅲへ

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。
なお、培地が500mLならば8～16容器（容器あたり30～60mL）程度がよい。

Ⅲ（培地作成・分注）：

⑮eVIP培地１袋、
⑫vipSupporter１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。

その後、Ⅱで作成した培養容器に分注し、冷却固化する。

vipSupporterは培地250mL～1Lの間で１滴程度が適量（植物により変わります）。

→

→

→ Vへ

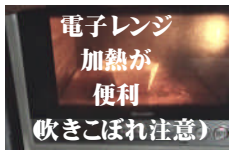
Ⅱから

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。

アドバイス

この段階までにショ糖や植物成長調節物質を加えて、培地組成のアレンジができます（その場合はヴィトロプランツは結果の責を負いません）。

ただし、作業の遅延・果物ジュース投入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。



煮沸しながらの分注も可

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）

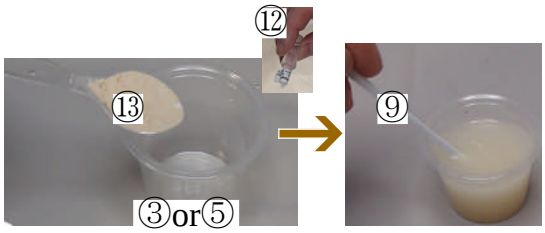
長期貯蔵は容器を密封した場合に可能です。

ViPキットご使用方法（T ry　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（外植体除菌用siViP液作成）：植物の種類や組織によっては使わない場合もありますので、作業前に次のVをお読みください。

③もしくは⑤のプラコップに
⑬siViPを付属の透明小さじすじ切り1杯あたり、
⑫vipSupporterを１～２滴、
水道水を約25～50mLを入れる。
使用直前によく攪拌する。



（溶解しません。白濁液。水と混合後、8時間以内に使用すること）

なんで除菌剤が２つ？

siViPは細菌やカビの防御壁である細胞膜を壊す薬や膜の修理を妨害する薬が入っています。

その壊れた城壁から入って塩素やvipSupporterの成分が入ります。
そして塩素は薬の一部も壊してしまうので一緒には入れない方がよいのです。

Ⅴ（外植体除菌・置床）：外植体（容器に入れる部分のみを取り出した植物）を除菌し、容器内に置床します。

とりあえず何でもよいから手近な植物でやってみたいですか？　⇨　「C:容器外植物」をご覧下さい。
キク・ユリ・カーネーション等の生花調製時のあまり部分やユリネ鱗片一枚からの再生や、お気に入りの花の枝（裏の例の花が好適）の一部を切ってきてボトルフラワーに

器内培養をしてみたい対象植物がもう決まっていますか？　⇨　下記の流れ図に従ってください。

アドバイス　対象植物・組織において、外植体除菌方法が確立されているときは、その除菌法を下記の外植体除菌操作部分と置き換えても問題ありません。
ラン種子など微細種子も含め種子において確立されている除菌法がある場合は、その方法で除菌することを推奨します。
硬実の打破や発芽阻止物質の除去処理などが種子除菌法に含まれていることがあります。

A:微細種子
ラン種子など
→ Yes：別紙のラン種子など微小種子播種法を参照
（ⅣのsiViP液は使いません）

No ↓

B:微細組織
茎頂・根端など
→ Yes：別紙の茎頂・根端など微小組織培養法を参照
（ⅣのsiViP液は使いません。カルスなどで**薬害が激しいときもB:微細組織**）

No ↓

C:容器外植物
（容器内微生物汚染植物を含む）

まず外植体を除菌し、次に置床操作を行います。

Yes →

植物を採取　→　ⅣのsiViP液に浸漬　→　Ⅰの塩素液に浸漬

全体が浸かるように

植物による塩素消費が無視できないため十分な液量を確保

推奨4時間 １～8時間	推奨1時間 15分～2時間

（木本、草本によらず。
微生物汚染容器内植物の除菌もこの程度）

推奨8時間 4～12時間	推奨2時間 １～12時間

（果実型種子、真の種子、乾燥種子、未乾燥種子によらず）

推奨12時間 8～48時間	推奨12時間 8～24時間

（球全体、一部、発芽発根によらず。新萌芽部のみを導入する時を含む。
長期浸漬時は8～12時間を目安に適宜液を交換すること）

植物の除菌行程ここまで

→ **D:無菌植物**へ進む。

従来のエタノールやアンチホルミンの濃厚液を利用した除菌法と比べ、植物によりダメージが少なく、より強力に除菌します。

実績のある除菌法ご存じの場合は、その方法で置き換えても問題ありません。

ヴィトロプランツで把握している
外部からの導入が極めて困難な植物例

微生物除去困難
- パンジー地上部（他の部位未検証）
- シクラメン地上部・地下部（種子は可）
- ジャガイモ塊茎（地上部、萌芽部は可）
- サトイモ塊茎（萌芽部は可）

植物薬害枯死
- マツ新梢（他の部位未検証）
- ベゴニア類地上部（他の部位未検証）
- インパチエンス類地上部（他の部位未検証）

No ↓

D:無菌植物
（種子を含む）
除菌済みの植物や髄部や形成層、未熟杯、裂果していない果実内部の種子など無菌と見なせる内部組織も含む。

無菌植物は外植体除菌をせずに置床操作のみを行います。

Yes →

無菌植物を調整
（継代培養はここから）

C:容器外植物から
不要部分や薬剤が侵入した切り口部などを切り捨て、大きさを整える。

（ハサミとピンセットは付属しておりません。
無い場合は⑭剃刀で切断し素手で容器内へ入れて下さい）

siViP液に浸漬

全体を浸漬する。
一瞬で充分。

Ⅲの容器内に植え、Ⅰの塩素液を噴霧

（噴霧液量は容器内全体が濡れる程度。
植物の障害が激しいときは塩素液の次亜塩素酸カルシウム濃度を下げる。
1/10まで低下可能）

（**C:容器外植物**で使用したsiViP液の使い回し可。ただし作成8時間以内）

容器を封じ培養

熱シール推奨。
シーラーが無い場合は同梱の①結束タイできつく結束。

ViPキットご使用方法（外植体の除菌と置床）

ラン種子や茎頂・根端などの微細組織の置床：初代培養（通常の容器外植物は別紙Ⅴ（外植体除菌・置床）を参照）

ラン種子など微小種子や茎頂・根端など顕微鏡下でないと操作できないような微細組織は
それぞれ外植体除菌操作方法が植物種・部位によって異なります。
専門書などでお調べの上、下記の操作と合わせて下さい。なおsirViP水和液は使用しない場合もあります。

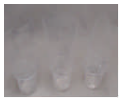
（図中において顕微鏡・シリンジ・メスなど本キットに含まれない物があります。これらは別途ご用意ください。なお外植体調整用に剃刀は付属しています）

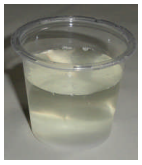
A：ランなど微細種子無菌播種（例はコチョウラン種子）

交配後３か月以上経過した朔から適当な容器（写真では紙コップ）に種子粉を掻き出して入れる。

なお、写真では朔は開朔しているが、多くのランで開朔前が望ましいとされている。
ただし、未熟種子を使用する場合は、朔をC:容器外植物で殺菌し、その後に内部種子をB:の微細組織に準じて置床する。

培地作成は別紙Ⅲを参照





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（ここまで外植体除菌操作）。

種子が下部に沈殿するのでその部分を培地表面に１～２滴づつ落とす。
その後コスメスプレーでＩ塩素液を噴霧して容器を封じる。

別紙Ⅰ（塩素液作成）と同じ

⑩次亜塩素酸カルシウム1粒を④のコスメスプレー（100mL）に、入れ水道水で満たす。

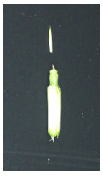
この操作は外植体置床（植物を培養容器に入れること）の30分以上前に行い、作成後3日以内に使用してください。

置床時の微生物汚染をより小さくしたい場合は⑫vipSupporterを1～2滴添加

30分程度経過後に粒の崩壊を確認した後、攪拌。
（コスメスプレーをよく振る）

B：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）

必要であればその植物に適当な方法で除菌
別紙ⅣのC:容器外植物の外植体除菌法など（通常不要）。



肉眼と素手で取り除ける葉を全て取り除く

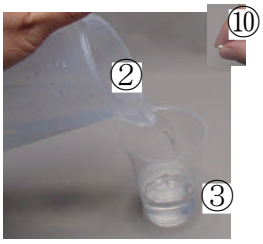
洗濯ばさみより出た根元部分を切り捨てる

洗濯ばさみに茎頂部につら面を合わせて夾み、下部はつら面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上に乗せ

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。（次亜塩素酸カルシウム液の噴霧はしない）



②の計量器と③のコップ用いて、水道水100mLあたり⑩次亜塩素酸カルシウム約1粒（0.06~0.1g）を溶かす。静置して粒が全て崩壊したらよく攪拌し、②の計量器を利用してさらに10～40倍に薄める。

培地容器に次亜塩素酸カルシウム液を入れ（容器内全てを濡らす。噴霧でもよい）、余剰液を捨てる。この時、培地面を指で押さえるなどしてなるべく余剰液を残さないようにする。
（判りやすいように着色培地を使用）

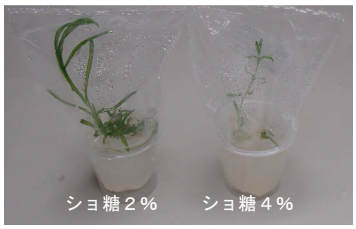
培地作成は別紙Ⅲを参照

オートクレーブレス、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→

eVip培地MSグランガム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



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→

左：eVip培地MSグランガム1.4ショ糖20
右：eVip培地MSグランガム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

ボトルフラワー事例

（ロベリア、ペチュニア、ナデシコ、ニチニチソウ、アゲラタム）

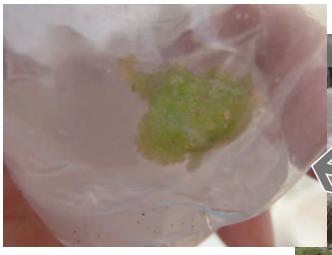
立ち木枝→無菌増殖
（ベニカナメ、ヒラドツツジ、ヤクスギ）

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）

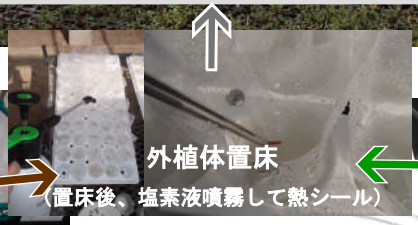
熱シールミス以外の微生物汚染は非常に少ない（写真は置床１ヶ月程度後の部分）

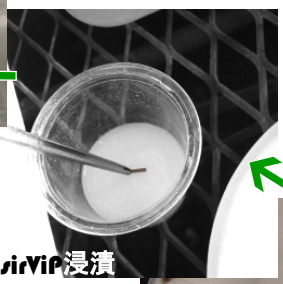


カルス化

小植物再分化

（各容器の蓋は開いたまま
すぐ使用可能）





花茎siRVip浸漬

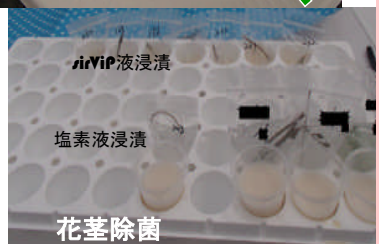
花茎調整

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。
オートクレーブ、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）

容器作成（50穴セルトレイ＋ポリエチレン袋）



花茎除菌