

III. 培地

◎ 神戸大学海藻類系統コレクションの系統株は基本的に、プロバゾリの強化海水培地 (Provasoli's Enriched Sea water: PESI or PES) および人工海水培地 ASP₁₂ 中で保存培養されています。

1. 強化海水培地の作成

- (1) 清浄海水を採取し、フィルターにより濾過する。
- (2) 濾過海水をオートクレーブ滅菌 (121°C, 20分) する。
- (3) 滅菌海水 1000 ml に 20 ml の PESI または PES stock solution(後述) を加え、攪拌する。

PESI stock solution の作成 (Tatewaki 1966; Kawai et al. 2005)

- i) 300 ml 程度の蒸留水に Tris, NaNO₃, Na₂-glycerophosphate, Fe stock solution, P-2 metal mix, KI stock solution を組成表 (APPENDIX) どおり加え、溶解させる。
- ii) pH を 7.8 に調整し、蒸留水を加え 1000 ml とする。
- iii) PESI stock solution をねじ口容器に 20 ml ずつ分注し、オートクレーブ滅菌 (121°C, 20分) する。滅菌 PESI stock solution は 4°C で冷蔵保存する。

PES stock solution の作成 (Provasoli 1996; Kawai et al. 2005)

- i) 300 ml 程度の蒸留水に Tris, NaNO₃, Na₂-glycerophosphate, Fe stock solution, P-2 metal mix, Vitamine B₁₂ stock solution, Thiamine-HCl stock solution, Biotine stock solution を組成表 (APPENDIX) どおり加え、溶解させる。
- ii) pH を 7.8 に調整し、蒸留水を加え 1000 ml とする。
- iii) PESI stock solution をねじ口容器に 20 ml ずつ分注し、オートクレーブ滅菌 (121°C, 20分) する。滅菌 PESI stock solution は 4°C で冷蔵保存する。

Fe stock solution の作成

- i) 450 ml の蒸留水に Na₂-EDTA·2H₂O, Fe(NH₄)₂(SO₄)₂·6H₂O を組成表 (APPENDIX) どおり、所定量順番に加え溶解させる。(加える試薬の順番を誤ると沈殿をおこすので注意する。)
- ii) 蒸留水を加え 500 ml とする。Fe stock solution は 4°C で冷蔵保存する。

P-2 metal mix の作成

- i) 450 ml の蒸留水に Na₂-EDTA·2H₂O, H₃BO₃, FeCl₃·6H₂O, MnSO₄·4H₂O, CoSO₄·7H₂O, ZnSO₄·7H₂O を組成表 (APPENDIX) どおり、所定量順番に加え溶解させる。(加える試薬の順番を誤ると沈殿をおこすので注意する。)
- ii) 蒸留水を加え 500 ml とする。P-2 metal mix は 4°C で冷蔵保存する。

参照:

Kawai, H., Motomura, T. and Okuda, K. Isolation and Purification Techniques for Macroalgae. In: Andersen, R.A. [Eds] Algal culturing techniques. 2005. Elsevier Academic Press, San Diego, California. Chapter 9, pp. 133-143.

Provasoli, L. 1966. Media and prospects for the cultivation of marine algae. In: Watanabe, A. and Hattori, A. [Eds] Cultures and Collections of algae. Proceedings of the US-Japan conference held at Hakone, 12-15 Sept. 1966. Jpn. Soc. Plant., Physiol., pp. 63-75.

Tatewaki, M. 1966. Formation of crustaceous sporophyte with unilocular sporangia in *Scytosiphon lomentaria*. Phycologia 6: 62-66.

2. ASP₁₂ 培地の作成

- (1) 900 ml 程度の蒸留水に組成表 (APPENDIX) どおり試薬を加え, 十分溶解させる。
- (2) pH を 7.8 に調整し, 蒸留水を加え 1000 ml とする。
- (3) オートクレーブ滅菌 (121° C, 20 分) する。培地は 4° C で冷蔵保存する。

参照:

千原光雄, 西沢一俊 (編) 1979. 藻類研究法 pp. 287-288. 共立出版, 東京

IV. 系統株のリスト

1. データ項目の解説

◎系統株のリストは網ごとに, それぞれ学名のアルファベット順に配置し, また同一種内では, 株番号順に配置しています。リストのデータ項目の内容は以下を参照してください。

例)

Schizocladia ischiensis E.C. Henry, Okuda et Kawai¹⁾

Strain: KU-333²⁾. Origin: Ischia Isl., Naples, Italy (1987-10-21)³⁾. Leg./Isol. E. Henry⁴⁾. Culture: PES; 10°C⁵⁾.

Note: Type culture; 18S rDNA, *rbcL*⁶⁾. Reference: Kawai et al. (2003)⁷⁾

1) 学名と原著者名

2) 株番号: KU- の後に数字を付して使用する。

3) 採集地, () 内は採集年月日

4) 採集者 / 単離者

5) コレクションで用いられている培地・培養温度

6) 株情報 (世代, 性および Type culture など), DNA 塩基配列解析による同定, 保存株のタグ化のために用いた分子マーカー, 凍結保存状況 (凍結保存株が存在する場合は “cryopreserved” と記入) . 当該株が北海道大学から移転されたものである場合, 北大の株番号 [HOK code] を先頭に付してあります。

7) 参考文献 (当該系統株を利用して行われた研究成果論文のリストで, 詳細は巻末に掲載)