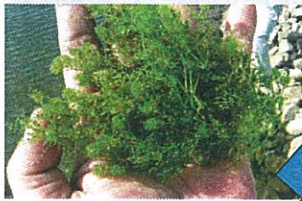


凍結保存技術開発

•自然サンプル中の卵胞子



•栄養繁殖器官(ムカゴ)



保冷剤を加え、プログラムフリーザーを用いた2段階凍結法により凍結させる。

•培養株中の卵胞子



•シャーレに成熟卵胞子を回収

•エッペンチューブで次亜塩素酸ナトリウム処理



(Day et al. 2008, Molecular Biomethods Handbook, 2nd Ed., pp. 915-945; 笠井ら 2009, NIESコレクション保存株リスト 第8版. 国立環境研究所微生物系統保存株評価委員会)

解凍した接合子サンプル・ムカゴサンプルを、培地にまき、発芽率と生長率を計測する。

19

卵胞子凍結保存条件と発芽率



凍結処理後発芽サンプル

予備実験

	乾燥(常温)	滅菌処理	凍結	凍結防護剤 10%DMSO	ヒートショック処理	発芽率
条件A(control)	-	-	-	-	+	3% (n=600)
条件B	+	-	-	-	+	1.5% (n=600)
条件C	+	-	+	-	+	1% (n=600)
条件D	-	-	+	+	+	0% (n=600)
条件E	-	+	-	-	+	0% (n=300)
条件F	+	+	-	-	+	1.3% (n=300)
条件G	+	+	+	-	+	0.7% (n=300)
条件H	-	+	+	+	+	0.3% (n=300)

発芽条件を再検討(生育地の土を使用)

	乾燥(常温)	滅菌処理	凍結	凍結防護剤 10%DMSO	ヒートショック処理	発芽率
条件B (control)	+	-	-	-	+	25-52.5% (n=600)
条件C	+	-	+	-	+	21.5-23.5% (n=600)

+ は処理を行ったこと、- は未処理を示す。

20