

課題番号 : F-17-NM-0106  
利用形態 : 技術補助  
利用課題名(日本語) : 糸状菌培養のための微小流体デバイスの作製  
Program Title (English) : Fabrication of microfluidic devices for culture of filamentous fungus  
利用者名(日本語) : 島宗悠太郎  
Username (English) : Y. Shimamune  
所属名(日本語) : 筑波大学大学院 数理物質研究科  
Affiliation (English) : Graduate school of pure and applied sciences, University of Tsukuba  
キーワード/Keyword : 微小流体デバイス、灌流培養、リソグラフィ・露光・描画装置

## 1. 概要(Summary)

麴菌に代表される糸状菌は、古来より日本の発酵・醸造産業に利用されている。ここで利用される多くのカビは好気性であるため、通気が適当でないと低酸素ストレス等の要因によって生育が阻害され、産物の生産効率低下に繋がる。従って、その産業応用において、培養環境下におけるカビの代謝を正確に理解することは重要である。また、糸状菌は低酸素環境下において遺伝子発現を変化させていることが知られている。しかしながら、その遺伝子の中には機能未知なものも多く、解明が待たれている。

そこで本研究では、様々な生育環境下における糸状菌の生理活性やその動態の解析を目的に、還流培養によって糸状菌の生育環境を変化させることのできる微小流体デバイスの開発を行った。デバイスは、SU-8の微細パターンを鋳型としたソフトリソグラフィにより作製し、流路内に糸状菌を1細胞ずつトラップし、層流を利用して溶液環境を自由に変化させることが出来るよう設計してある。このデバイスを用いて、培養環境を変化させた際の糸状菌の応答を評価した。

## 2. 実験(Experimental)

### 【利用した主な装置】

・ マスクアライナー (MA6 BSA, SUSS MicroTec)

### 【実験方法】

NIMS 微細加工 PF において、3 inch シリコンウエハ上に SU-8 を塗布し、マスクアライナーを用いてパターンニングし、デバイスの鋳型を作製した。その後、ポリジメチルシロキサン (PDMS) を鋳型に流し込み、レプリカを作製し、それをスライドガラスと接合することでデバイスを作製した。作製したデバイスの形状はレーザー顕微鏡により評価した。また、作製したデバイス内に糸状菌の胞子を導入し、灌流培養を行った。

## 3. 結果と考察 (Results and Discussion)

露光条件の最適化により、最小線幅  $3\ \mu\text{m}$ 、厚さ  $9\ \mu\text{m}$  (アスペクト比 3:1) の SU-8 鋳型を作製した。この鋳型を元に作製したデバイス (Fig. 1) を用いて、直径  $2\sim 3\ \mu\text{m}$  の糸状菌の胞子をデバイス中央に設置したトラップ構造で捕捉し、その後、灌流培養下における菌糸の成長を確認した。また、左右に設置したインレット B および C から異なる培地を導入し、捕捉された糸状菌周囲の培養環境を自在に変化させることが出来た。今後は、開発したデバイスをプラットフォームとし、培養環境変化に対する糸状菌の応答を分析していく。

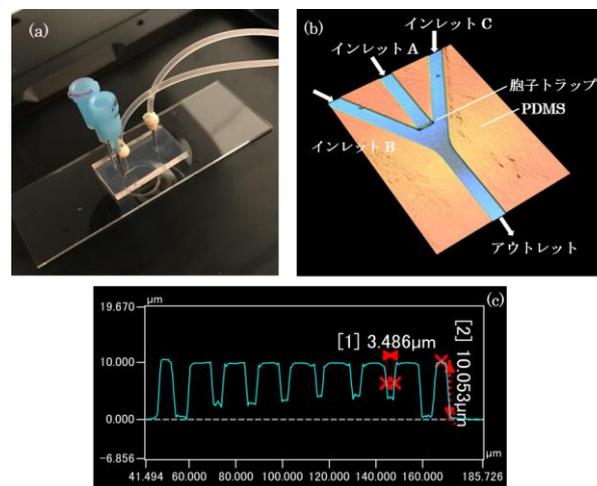


Fig. 1 (a) Photography of the fabricated device. (b) Surface topographic image of micro flow channels. (c) Cross sectional profile of the cell trapping site.

## 4. その他・特記事項 (Others)

なし

## 5. 論文・学会発表 (Publication/Presentation)

なし

## 6. 関連特許 (Patent)

なし