

課題番号 : F-17-WS-0039  
 利用形態 : 技術代行  
 利用課題名(日本語) : 微小流路を用いたバクテリアの長期培養・観察系の開発  
 Program Title (English) : Development of a microfluidics system for long-term culture and observation of bacteria  
 利用者名(日本語) : 石原潤一  
 Username (English) : J. Ishihara  
 所属名(日本語) : 千葉大学真菌医学研究センター  
 Affiliation (English) : Medical Mycology Research Center, Chiba University  
 キーワード/Keyword : リソグラフィ・露光、Micro Fluidics、フォトレジスト、PDMS(ポリジメチルシロキサン)

## 1. 概要(Summary)

バクテリア(大腸菌)の分裂や遺伝子発現を、顕微鏡下で長期にわたって観察するため、幅  $1\text{-}2\ \mu\text{m}$  × 高さ  $1\text{-}2\ \mu\text{m}$  程度の微小流路(growth channel)を作製し、そこに大腸菌を閉じ込めて培養液を流し続ける培養デバイスを構築したいと考えている(Fig.1)。このようなデバイスは、以下の2工程によって作製される:①利用者がデザインした流路をフォトリソグラフィによってシリコン基板に実装する「鋳型作製」、②流路構造を鋳型からPDMS樹脂にモールドイングし、プラズマ照射によってガラス基板に接合する「デバイス作製」。今回、利用者は、流路デザインを描いたフォトマスクのCAD設計、および①の工程を技術代行として依頼した。

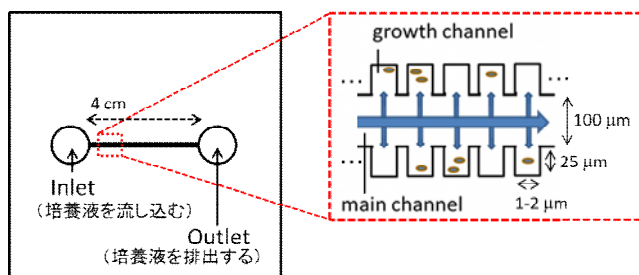


Fig.1 A schematic figure of the device.

なお、growth channelの幅  $1\text{-}2\ \mu\text{m}$  × 高さ  $1\text{-}2\ \mu\text{m}$  を実現できるかに重点を置いたため、main channelの高さも同じスケールで作製した(将来的に、main channelの高さを  $10\text{-}30\ \mu\text{m}$  程度で作製することも検討する)。

## 2. 実験(Experimental)

### 【利用した主な装置】

両面マスクアライナ

### 【実験方法】

シリコン基板上に流路デザインを凸構造として実装する

ため、2種類のフォトレジスト(SU8-2002、AZ-5214-E)を使用した。

## 3. 結果と考察(Results and Discussion)

現像後のフォトレジストの高さ(膜厚)は、SU8-2002を使用すると  $1.52\ \mu\text{m}$ 、AZ-5214-Eを使用すると  $0.760\ \mu\text{m}$  となった(Fig.2)。growth channelの流路幅は、両者ともに  $1.1\ \mu\text{m}$  となった(Fig.2 B, D)。以上のことから、目標としたgrowth channelの高さと幅を実装することができた。

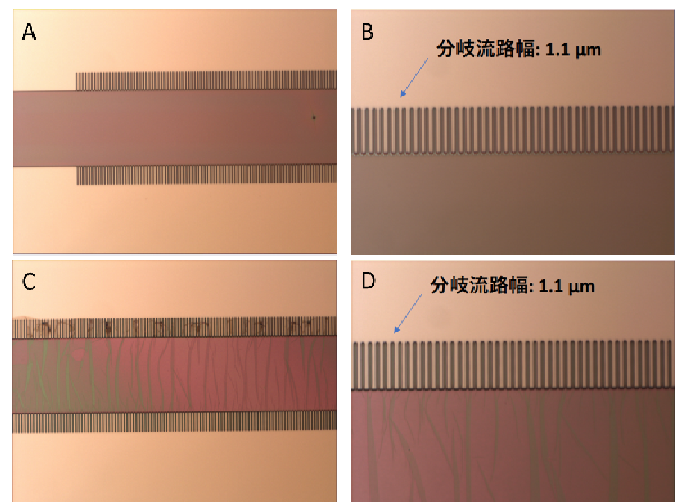


Fig.2 Microscopic pictures of the photoresist patterning after the development. (A) and (B) are patterning made by SU8-2002, (C) and (D) are those made by AZ-5214-E.

並行して、main channelに支柱を設けた流路デザインの鋳型も作製した(Fig.3)。この支柱は、フォトレジストの膜厚がたわむことを防ぐために設けた。先ほどと同様に、SU8-2002とAZ-5214-Eを使用し、現像後の膜厚を計測すると、それぞれ  $1.52\ \mu\text{m}$ 、 $0.760\ \mu\text{m}$  となった。growth channelの流路幅は、両者ともに  $1.1\ \mu\text{m}$  となった。

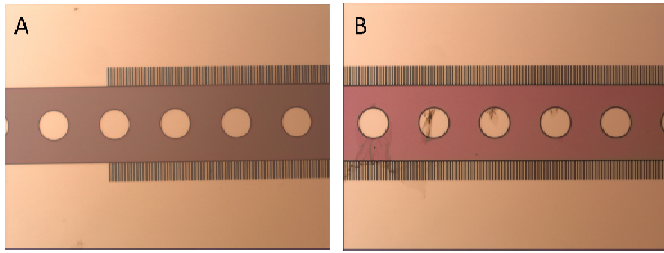


Fig.3 Microscopic pictures of the photoresist patterning after the development. In the main channel, pole-like structures are constructed. (A) and (B) are patterning made by SU8-2002 and AZ-5214-E.

次に、千葉大学にて、膜厚が  $0.760\ \mu\text{m}$  の鋳型を用いて PDMS にモールドイングした後、ガラス基板に接合した。その結果、Inlet(Outlet)付近の流路が押しつぶされており、液体を流し込むことができなかった。これは、支柱構造の有無に関係なく起こってしまった。

さらに、膜厚が  $1.52\ \mu\text{m}$  の鋳型を用いて、同様の操作を行ったところ、やはり Inlet(Outlet) 付近の流路が押しつぶされており、液体を流し込むことができなかった。

このような問題は、硬化した PDMS をガラス基板に接合する際、指圧によって多少なりとも押し付けることが原因と考えられる。一般に、PDMS を硬化させる際、その温度を高くすることで、PDMS の弾力性が少なくなるため、指圧によってたわまないような条件を探索した。温度を  $75\sim 95^{\circ}\text{C}$  の範囲で  $5^{\circ}\text{C}$  ずつ変化させ、1~2 時間をかけて PDMS を硬化させたが、いずれも上記の問題を克服することはできなかった。

今後、main channel の高さを変えることで、流路内に液体が流れやすくなるデバイスを作製する。

#### 4. その他・特記事項(Others)

・技術代行をお願いした田中大器 研究助手、関口哲志 教授に感謝申し上げます。

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

なし。

#### 6. 関連特許(Patent)

なし。