

課題番号 : F-18-NM-0006  
利用形態 : 機器利用  
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 : バイオ&ライフサイエンス、リソグラフィ・露光・描画装置、微小流体デバイス、還流培養、糸状菌

## 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、外部の栄養環境に応じて生長の速度、方向を制御しており、これまでに複数の栄養源の過剰投与において、顕著なコロニー拡大速度の上昇が確認されている。しかし、コロニー観察においては、菌糸の栄養に対するアプローチを一細胞レベルで解析することが難しく、さらなる詳細なメカニズムの解明には、外部の栄養環境を瞬時に変化させることができる培養チャンバーと、細胞レベルで菌糸の挙動をリアルタイムに追跡できるシステムが不可欠である。

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 では、3 inch シリコンウエハ上に SU-8 を塗布後、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)

マスクアライナーによる露光条件最適化により、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 PDMS デバイス (Fig. 1) を用いて、直径  $2\sim 3\ \mu\text{m}$  の糸状菌胞子をデバイス中央に位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 から様々な栄養源等の溶液を導入することで、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基盤とし、培養環境変化に対する糸状菌の応答を分析していく。

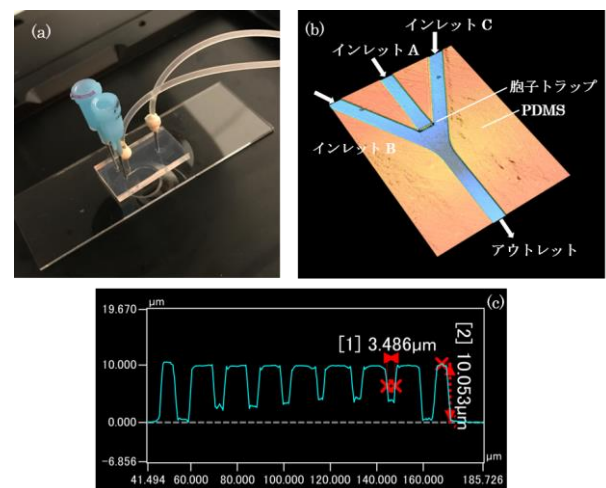


Fig. 1 (a) Photography of a fabricated device. (b) Surface topographic image of micro flow channels. (c) Cross sectional profile of the cell trapping site.

## 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。