

課題番号 : F-18-WS-0038  
 利用形態 : 機器利用  
 利用課題名(日本語) : 大腸菌遺伝子回路が生成する時空間パターン解析用マイクロ流体デバイスの作製  
 Program Title(English) : Fabrication of microfluidics device for analysis of spatio-temporal patterns that genetic circuit generate in E. coli.  
 利用者名(日本語) : 高橋義一  
 Username(English) : Y. Takahashi  
 所属名(日本語) : 早稲田大学 先進理工学部 電気・情報生命工学科  
 Affiliation(English) : Department of Electrical Engineering and Bioscience, School of Advance Science and Engineering, Waseda University  
 キーワード/Keyword : リソグラフィ・露光・描画装置, マイクロ流体デバイス, 形状・形態観察・分析

### 1. 概要(Summary)

合成生物学の目標の一つは、コンピュータモデルにより設計された遺伝子回路の細胞内の挙動を予測し、構築をすることである [1][2]。これを実現するためには、タンパク質や細胞の形質の変化を観察し、蛍光度、増殖速度、発現量などのパラメータを測定して、実験とコンピュータモデルの一致を評価する必要がある。大腸菌個々のタンパク質発現や形質のパターンを定量的に解析するために、マイクロ流体デバイスが用いられている。本研究では、研究室でマイクロ流体デバイスを作製できるようにすることに加え、研究室で既に構築されているが、その遺伝子発現の挙動を詳細に調べていない遺伝子回路の解析するためのマイクロ流体デバイスを作製した。

### 2. 実験(Experimental)

#### 【利用した主な装置】

- ・両面マスクアライナ
- ・表面極微細構造測定装置
- ・簡易 SEM
- ・ダイシングソー

#### 【実験方法】

Fig.1, 2 のような 2 種類のマイクロ流体デバイスを作製した。マイクロ流体デバイス作製では、UV フォトリソグラフィにより作製した。まず、6inch シリコン基板を 45 × 55 mm にカットし、ネガティブ型フォトレジストである SU-8 をスピコートによりコーティングする。1 重露光、または、2 重露光し、鋳型を作製する。その後、鋳型に PDMS 樹脂を流し込む。固まったら、Inlet, Outlet のための穴を開け、スライドガラスをプラズマ接着する。最後

に流路に疎水コーティングを施す。

マイクロ流体デバイスの鋳型をそれぞれ Table.1, 2 の設定で作成した。膜厚を狙い通りに作製するために SU-8 のデータシート [3][4]を参考にした。

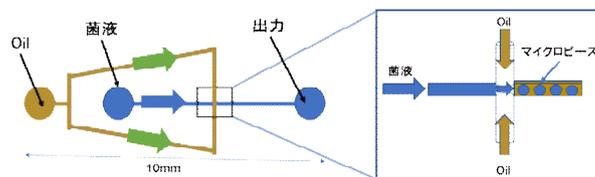


Fig. 1 Overview of microfluidics device 1.

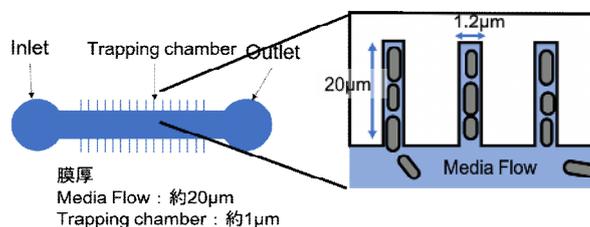


Fig. 2 Overview of microfluidics device 2.

Table.1 Setting for fabrication of microfluidics device 1

膜厚 [µm]	20	30	50	100
フォトレジスト	SU-8 3025	SU-8 3025	SU-8 3050	SU-8 3050
スピコート回転速度 [rpm]	4000	2400	2500	1300
露光時間 [s]	6.5	6.5	6.5	6.5

Table.2 Setting for fabrication of microfluidics device 2

膜厚 [µm]	1	20
フォトレジスト	SU-8 2002	SU-8 3025
スピコート回転速度 [rpm]	3000	4000
露光時間 [s]	2.0	6.5

### 3. 結果と考察(Results and Discussion)

マイクロビーズ作製用マイクロ流体デバイスを一重の UV フォトリソグラフィで作製した鋳型作製した鋳型を電子

顕微鏡 (SEM) で fig.3 のように撮影した。鋳型から実験方法でマイクロ流体デバイスを作製した。Fig.4 にマイクロ流体デバイスを示す。このように、UV 露光により、パターンが形成され、マイクロ流体デバイス作製時においても、パターンが形成されていることがわかる。

GFP 発現を観察するデバイスを二重の UV フォトリソグラフィを用いて作製した鋳型を電子顕微鏡 (SEM) で fig.5 のように撮影した。鋳型から実験方法でマイクロ流体デバイスを作製した。Fig.6 にマイクロ流体デバイスを示す。このように、UV 露光により、パターンが形成され、マイクロ流体デバイス作製時においても、パターンが形成されていることがわかる。

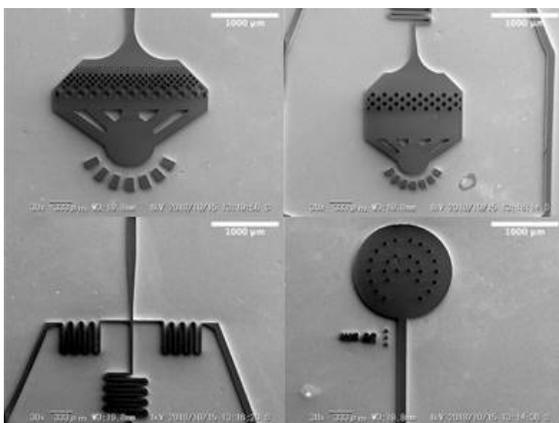


Fig. 3 SEM images of templates for microfluidics 1 (Inlet(Oil), Inlet(sample), fabrication of micro beads, Outlet).

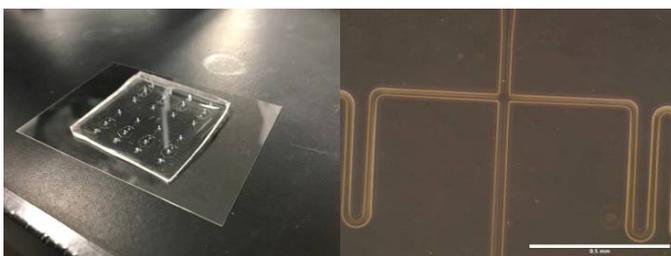


Fig. 4 Images of microfluidics device 1.

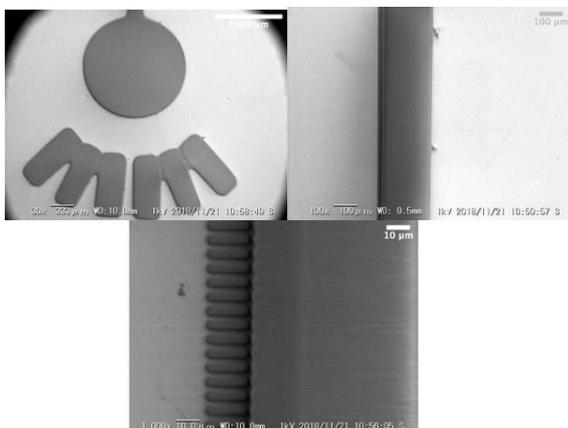


Fig. 5 SEM images of templates for microfluidics 1 (Inlet, media flow, Trapping chamber).



Fig. 6 Images of microfluidics device 2.

#### 4. 参考文献

- [1] Stricker, J., Cookson, S., Bennett, M. R., Mather, W. H., Tsimring, L. S., and Hasty, J. (2008). A fast, robust and tunable synthetic gene oscillator. *Nature*, 456(7221), 516-519.
- [2] Danino, T., Mondragon-Palomino, O., Tsimring, L., and Hasty, J. (2010). A synchronized quorum of genetic clocks. *Nature*, 463(7279), 326-330.
- [3] KAYAKU MICROCHEM, "SU-8 3000 Permanent Epoxy Negative Photoresist", <http://microchem.com/pdf/SU-8%203000%20Data%20Sheet.pdf>, 2018/12/22.
- [4] KAYAKU MICROCHEM, "SU-8 2000 Permanent Epoxy Negative Photoresist", <http://microchem.com/pdf/SU-82000DataSheet20005thru2015Ver4.pdf>, 2018/12/22.

・本課題を行うにあたり、多くの方々にご指導とご協力を頂き、心より御礼申し上げます。ナノ・ライフ創新研究機構 田中先生に深く感謝いたします。

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

なし。

#### 6. 関連特許 (Patent)

なし。