

課題番号 : F-18-WS-0043
 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¹, 板寺健悟^{1,2}, 高橋弘喜¹
 Username (English) : Jun-ichi Ishihara¹), Kengo Itadera^{1,2}), Hiroki Takahashi¹)
 所属名(日本語) : 1) 千葉大学真菌医学研究センター, 2) 東京理科大学基礎工学部生物工学科
 Affiliation (English) : 1) Medical Mycology Research Center, Chiba University, 2) Biological Science and Technology, Tokyo University of Science
 キーワード/Keyword : リソグラフィ・露光・描画装置, Micro Fluidics, フォトレジスト, バイオ&ライフサイエンス

1. 概要(Summary)

バクテリア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 1-4 μm×高さ 1-2 μm 程度の微小流路 (growth channel) を作製し、そこにバクテリア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)。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、およびフォトリソグラフィによってシリコン基板上に流路を実装する「鋳型作製」を依頼した。この鋳型から培養デバイスを作製し、各流路幅の growth channel にバクテリア (大腸菌、サルモネラ、黄色ブドウ球菌、枯草菌) を閉じ込めたうえで、液体培地を適切な速度で流し続け、各バクテリアの生長や分裂の様子を観察した。その結果、各バクテリアの分裂時間は、既存の方法で計測される分裂時間と等しかったことから、標的バクテリアの一細胞タイムラプス計測系の開発に弾みがついたと考えている。

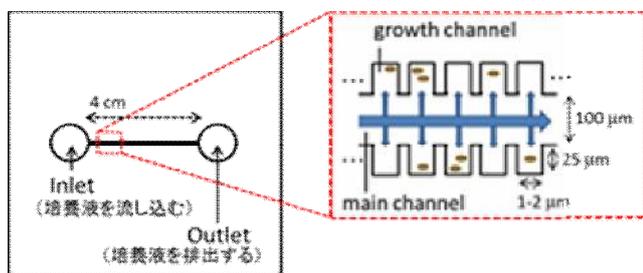


Fig.1 A schematic figure of the device.

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、SU8-3010) を使用した。

3. 結果と考察 (Results and Discussion)

作製を依頼した鋳型に PDMS をモールドイングすることで、実際に実験で使用する培養デバイスが得られる。この流路の幅と高さを計測したところ、誤差が 1×10^{-8} m のオーダーに収まっており、CAD でデザインした寸法を精度よく作製できたと言える。特に、サルモネラ (短軸約 1 μm×長軸約 2 μm×厚み約 1 μm) を growth channel に流し込むと、各流路幅に応じて横側に並列する細胞の数が異なった。具体的に、幅 1 μm の流路では並列する細胞が 1 つであり、幅 2 μm の流路では 2 つ、幅 3 μm の流路では 3 つ、幅 4 μm の流路では 4 つとなった (Fig. 2)。さらに、細胞が分裂して増加しても、growth channel の中で細胞同士が重ならなかったため、細胞分裂の様子や細胞面積の変化などを詳細にタイムラプス解析することができた。実際、デバイス内で培養を試みたサルモネラ、大腸菌、黄色ブドウ球菌、枯草菌の分裂周期を計測すると、既存の方法で計測された分裂時間と等しかった。以上の結果を踏まえ、デバイス内で培養することがバクテリアにストレスを与えることはない判断し、一細胞タイムラプス計測系の新たな培養方法を提案できたと考えている。

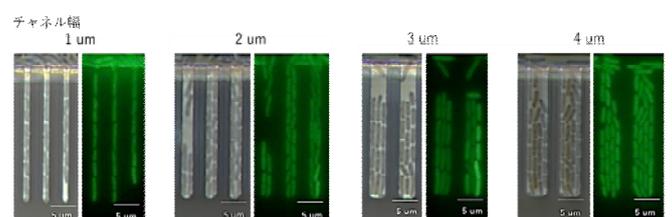


Fig.2 Cultivation of *Salmonella* in the device.

4. その他・特記事項(Others)

- ・共同研究者:千葉大学真菌医学研究センター 高橋弘喜 准教授。
- ・技術代行をお願いした早稲田大学ナノライフ創新研究機構田中大器 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。