

課題番号 : F-18-WS-0084
利用形態 : 機器利用
利用課題名(日本語) : persister の分子機構の解析
Program Title (English) : Analysis of molecular mechanism underlying persister formation
利用者名(日本語) : 山本尚輝¹⁾
Username (English) : Naoki Yamamoto¹⁾
所属名(日本語) : 1) 早稲田大学大学院先進理工学研究科生命医科学専攻
Affiliation (English) : 1) Department of Life Science and Medical Bioscience, Graduate School of
Advanced 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, persister

1. 概要(Summary)

近年、一部の細菌では増殖の遅い細菌が一定の確率で存在している。これらの細菌は増殖には不利であるが、抗菌薬などのストレスから生き残る表現型を獲得することで種の絶滅を防いでいる。本研究では、表現型の変化によって抗菌薬抵抗性を持つ細菌である persister に着目しているが、集団レベルで観察することが難しいため、シングルセルで対象を観察する必要がある。

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, スピンコーター

【実験方法】

流路の設計は、培地が流れる 10 μm 程度の部分と、細菌が固定される 1 μm 程度の部分を設置した。まず、スピンコーターを用いてシリコンウエハー上に 1 層目のレジスト SU-8 2002 を 5000 rpm で回転させ、1 μm 程度の厚さになるように調整した。つぎに、設計したマスクを通して UV 露光させた。その後、2 層目のレジスト SU-8 3010 を 3000 rpm で回転させ、10 μm 程度の厚さになるように塗布した後、1 層目とアライメントさせた。UV 露光させた後、SU-8 developer および IPA を用いて露光後の基板を現像した。作成した基板は表面極微細構造測定装置で膜厚を測定した後、走査型電子顕微鏡で基板表面を観察した。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

本実験では、細菌が移動するのを防ぐために、箱型のトラップに細菌を捕捉することができるようにデバイスを設計した。まず、2 段露光で作成したデバイスの鋳型の膜厚

を測定した結果、1 層目と 2 層目における膜厚の合計が 11.5 μm 程度、1 層目の膜厚が 1.5 μm 程度であった。また、作成した鋳型を走査型電子顕微鏡で観察したところ、各流路および流路内のトラップが正しく現像されている様子が確認された (Fig. 1)。



Fig. 1 SEM images of microfluidic mold

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