

課題番号 : F-18-WS-0085  
利用形態 : 機器利用  
利用課題名(日本語) : シングルセルレベル観察によって明らかにする硝化菌増殖速度のばらつき  
Program Title (English) : Analysis of growth rate heterogeneity in nitrifiers using Single cell level observation  
利用者名(日本語) : 一色理乃  
Username (English) : R. Isshiki  
所属名(日本語) : 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) : Department of Life Science and Medical Bioscience, 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, バイオ&ライフサイエンス, マイクロ流体デバイス

### 1. 概要(Summary)

近年、不均一性の高い細菌集団をマイクロ流体デバイスで観察する手法が注目されている。多くの細菌は、運動性が高いため経時的に観察する手段が限られているが、マイクロ流体デバイスを用いることでシングルセルレベルでのタイムラプス観察が可能になる。しかし、地球上の窒素循環を担う硝化菌ではマイクロ流体デバイスを用いた観察手法が開発されていない。そこで、硝化菌の経時的観察系を構築するため PDMS 製マイクロ流体デバイスを試作した。

### 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

#### **【実験方法】**

流路の設計は、高さ 10  $\mu\text{m}$  程度の主に液体の流れる部分と高さ 1  $\mu\text{m}$  程度の細菌が固定され液体が拡散して供給される部分の 2 か所を設置した。はじめに、Si 基板上に SU-8 2002 を 5000 rpm で塗布した。その後、両面マスクアライナを用いてパターンを転写した。続いて、SU-8 3010 を 3000 rpm で塗布し、両面マスクアライナでパターンを転写した。現像処理を行い、デバイスの鋳型を作製した。作製した鋳型は、膜厚の測定と簡易 SEM での撮影を行った。さらに、鋳型に PDMS を流し込み作製した流路を、プラズマ接合を用いてカバーガラスと接着させてマイクロ流体デバイスを完成させた。

### 3. 結果と考察(Results and Discussion)

まず、鋳型の膜厚を測定した結果、膜厚 10  $\mu\text{m}$  を予定した部分は 10.5-11.5  $\mu\text{m}$  程度であった。PDMS を流し込んで固めて縮んだ際に 10  $\mu\text{m}$  程度になると予想される。また、膜厚 1  $\mu\text{m}$  を予定した部分は 1.5  $\mu\text{m}$  程度となった。Fig. 1 に汎用 SEM で得たデバイスの一部分を示す。設計どおりのデザインが形成されていることを確認できた。

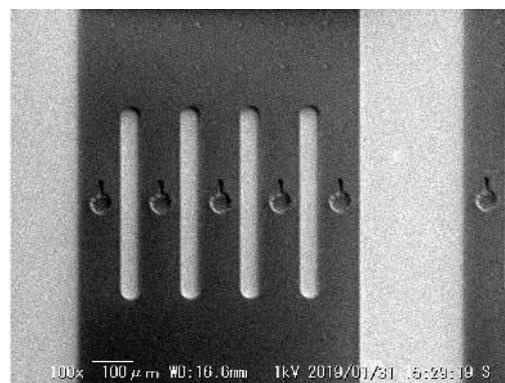


Fig.1 SEM image of micro fluidics mold.

今後、細菌をデバイスに導入し、増殖を経時的に観察する。

### 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。