

課題番号 : F-20-WS-0149
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 先進理工学部 生命医科学科
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, マイクロ流体デバイス

1. 概要(Summary)

近年、細菌集団はゲノムレベルで同じ配列を持っていたとしても、表現型レベルで不均一であることが知られてきた。不均一性を持つことで様々な生存戦略をとることが明らかにされてきているが、未知のメカニズムも多く、個々の細胞レベルでの解析が求められている。しかし、多くの細菌は、運動性が高いため経時的に観察する手段に限られている。そこで、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、微生物の中でも知見の少ない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。そのために、直径 65 μm 、高さ 0.7-0.9 μm の円形培養チャンバーでパターン化されたカバーガラスを作製した。

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 (テンコール)
- ・プラズマリアクター (ヤマト科学製/PR500)

【実験方法】

はじめに、カバーガラス上に SU-8 2000.5 を 5sec SLOPE→30sec RPM 500rpm→5sec SLOPE→30sec or 1 min RPM 750rpm→slope 5sec→4000rpm 1sec→slope 15sec→end の条件で塗布した。その後、マスクアライナを用いて露光時間 1.5 秒でパターンを転写した。つづいて現像は、SU-8 developer 45sec を 2 回、IPA を 30sec と 1min で実施した。カバーガラスの膜厚は、テンコールを用いて測定した。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

高さ 0.7-1.0 μm の膜厚を形成することに成功した。目的の高さ 0.7-0.9 μm よりやや高い 0.9-1.0 μm の部位も一部形成されたが、硝化菌の観察に大きな影響はないと考え、観察実験に進めることとした。そこで、作製したカバーガラスを用いて、まずはモデル微生物として大腸菌 *Escherichia coli* JM109 株を観察した (Fig. 1)。大腸菌は、円形培養チャンバー内に閉じこまれたまま長時間観察することが可能であった。今後は、目的の硝化菌での観察を試みる。

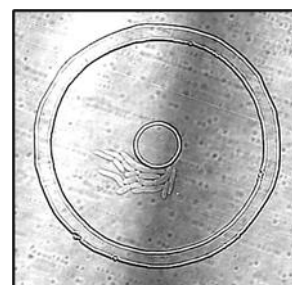


Fig. 1 *E. coli* microscopic observation image using a microfluidic device.

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。