

課題番号 : F-21-WS-0077
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微生物増殖速度のばらつき
Program Title (English) : Analysis of growth rate heterogeneity in bacteria 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)

単一菌種のクローナルな微生物集団は、従来すべての細胞が同じ性質を持っていると考えられてきたが、実際には表現型レベルで不均一性であり、増殖速度や物質生産能には個々の細胞レベルでばらつきがある。不均一性の大きな微生物集団では、物質生産性が下がる可能性がある。実際に、大腸菌における遊離脂肪酸合成において、集団全体のわずか 15% の高性能な亜集団のみで 55% 以上の脂肪酸が合成されていることが明らかにされ、他の亜集団の物質生産に対する寄与率は非常に低いことから不均一性が問題視されている。

そこで、まずは各種微生物における不均一性の大きさを評価し、さらに不均一性の大きさを縮小する因子を解明することで不均一性の制御を目指す。評価系として、多種多様な微生物の経時的観察系を構築するため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 (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、カバーガラス上に両面マスクアライナを用いて 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、同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)

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。実際に膜厚を測定し、高さ 0.7-1.0 μm の膜厚を形成できていることを確認した。作製したカバーガラスを用いて、*Corynebacterium glutamicum* を観察した (Fig. 1)。細胞は、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。

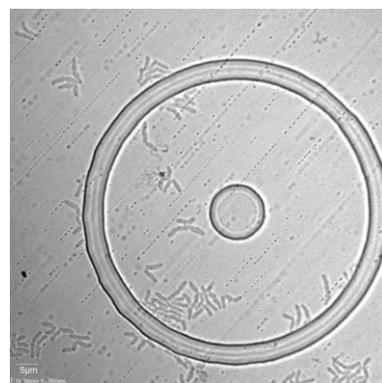


Fig. 1 *Corynebacterium* microscopic observation image using a microfluidic device

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。