

マテリアル先端リサーチインフラ利用報告書

ARIM User's Report

[Release : 2023.07.28] [Update : 2023.05.29]

課題データ / Project Data

課題番号 Project Issue Number	22AT0007
利用課題名 Title	微生物解析に向けたピコリットル培養器の開発
利用した実施機関 Support Institute	産業技術総合研究所 / AIST
機関外・機関内の利用 External or Internal Use	内部利用 (ARIM事業参画者以外) / Internal Use (by non ARIM members)
ARIM半導体基盤PF 関連課題 Related to ARIM-SETI	指定なし / No Designation
横断技術領域 Cross-Technology Area	加工・デバイスプロセス/Nanofabrication
重要技術領域 Important Technology Area	次世代バイオマテリアル/Next-generation biomaterials
キーワード Keywords	環境微生物マイクロウェルアレイ大腸菌懸濁溶液,菌増殖,自家蛍光

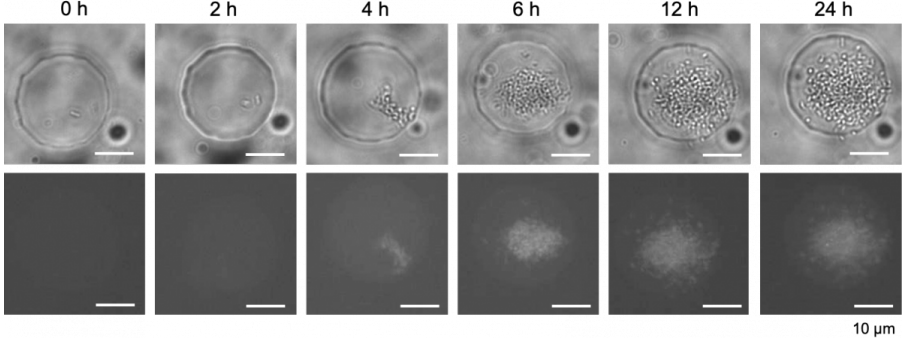
利用者と利用形態 / User and Support Type

利用者名 (課題申請者) User Name (Project Applicant)	南木 創
所属名 Affiliation	産業技術総合研究所
共同利用者氏名 Names of Collaborators Excluding Supporters in the Hub and Spoke Institutes	
ARIM実施機関支援担当者 Names of Supporters in the Hub and Spoke Institutes	
利用形態 Support Type	機器利用/Equipment Utilization

利用した主な設備 / Equipment Used in This Project

利用した主な設備 Equipment ID & Name	AT-006 : マスクレス露光装置
---------------------------------	--------------------

報告書データ / Report

<p>概要（目的・用途・実施内容） Abstract (Aim, Use Applications and Contents)</p>	<p>生物資源としての利用が期待される環境微生物の活性や培養能の評価には、マイクロプレート法が一般に用いられている。しかしながら、当該手法は大量の培地・サンプルを要し、スループットの向上が求められている。そこで本研究では、微細加工技術を用いた作製された微小な培養器アレイを活用し、高スループットかつ定量的な微生物評価基盤の構築に取り組んだ。</p>
<p>実験 Experimental</p>	<p>【利用した主な装置】 【NPF006】マスクレス露光装置、【NPF008】スピコーター</p> <p>【実験方法】 アレイを構成するマイクロパターン形成にあたっては、はじめにフォトリソグラフィ法を用いガラス基板上にネガフォトレジストの鋳型を形成した。その後、ポリジメチルシロキサン（PDMS）に当該レジストパターンを転写・硬化することで、直径30 μm・容積pLオーダーのマイクロウェルアレイを形成した。その後、作製したマイクロウェルアレイ中に前培養した大腸菌懸濁液を滴下し、ボトムガラスディッシュにアレイを貼付した後に、菌の増殖挙動を顕微鏡によって観察した。</p>
<p>結果と考察 Results and Discussion</p>	<p>大腸菌を封入したマイクロウェル中において、明視野観察によって増殖挙動を評価した（Fig.1・上）。大腸菌懸濁液の希釈率を調節することで、各ウェルには0ないし1個の大腸菌がポアソン分布に従う形で封入されることを確認した。また、培養時間の経過に伴いウェル内での菌増殖が確認された。このことから、作製したマイクロウェルアレイが微小な培養器・観察器として機能することを実証した。続いて、菌の増殖挙動を非侵襲かつ定量的に評価するため、産生酵素が有する自家蛍光を観察した。その結果、明視野観察でみられた菌の増殖に伴い蛍光強度も増強することがわかった。本蛍光像を解析することで、マイクロウェル内における微生物の増殖挙動を数値化・定量化し得ることが分かった。</p>
<p>図・表・数式 1 Figures, Tables and Equations 1</p>	<div style="text-align: center;">  </div> <p>Fig.1培養時間の経過に伴う大腸菌増殖の様子。（上）明視野観察像。（下）蛍光観察像。</p>
<p>その他・特記事項（参考文献・謝辞等） Remarks(References and Acknowledgements)</p>	<p>本研究の一部は、内閣府 戦略的イノベーション創造プログラム(SIP)「次世代農林水産業創造技術」（管理法人：生研支援センター）の支援によって実施された。</p>

成果発表・成果利用 / Publication and Patents

<p>DOI（論文・プロシーディング） DOI (Publication and Proceedings)</p>	
<p>口頭発表、ポスター発表および、その他の論文 Oral Presentations etc.</p>	

特許出願件数 Number of Patent Applications	0件
特許登録件数 Number of Registered Patents	0件