

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 : 2026.04.02] [Update : 2026.04.02]

課題データ / Project Data

課題番号 Project Issue Number	23WS0121
利用課題名 Title	難培養性微生物である硝化菌の持つ不均一性の解明
利用した実施機関 Support Institute	早稲田大学 / Waseda Univ.
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	リソグラフィ / Lithography, 流路デバイス / Fluidec Device, 光リソグラフィ / Photolithgraphy, 細胞培養デバイス / Cell Culture Device

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)	常田 聡
所属名 Affiliation	早稲田大学 先進理工学部 生命医科学科
共同利用者氏名 Names of Collaborators Excluding Supporters in the Hub and Spoke Institutes	池田 秀斗
ARIM実施機関支援担当者 Names of Supporters in the Hub and Spoke Institutes	野崎 義人, 加藤 篤
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	WS-006 : プラズマアッシャー WS-014 : 紫外線露光装置 WS-021 : 触針式段差計
---------------------------------	---

報告書データ / Report

概要 (目的・用途・実施内容) Abstract (Aim, Use Applications and Contents)	<p>・目的 現在でも実験室環境で培養に成功している微生物は少なく、99%の微生物は未培養であるとされている。培養化には単離プロセス、培養プロセスの両プロセスが重要であるが、特に培養に関わる微生物の増殖に「表現型不均一性」が関与していることが多数報告されている。そこで本研究では、難培養性微生物である硝化菌に着目し、その表現型不均一性と増殖ならびに実験室環境での培養性との関連性を調査することを目指している。</p> <p>・用途・実施内容 硝化菌を個体レベルで観察するためには、マイクロ流体デバイスを用いたシングルセル観察が欠かせない。そこでNTRCのリソグラフィー技術を用いて、カバーガラス上に円形のチャンバー（直径65 μm、高さ0.7 μm - 0.9 μm）を構築し、硝化菌のシングルセル観察を実施した。</p>
実験 Experimental	<p>使用前にプラズマアッシャー（WS-006）を用いてカバーガラス上の不要な成分を炭化除去した。次にカバーガラス上にSU-8 2000.5を 5 sec SLOPE→30 sec RPM 500 rpm→5 sec SLOPE→30 sec RPM 750 rpm→slope 5 sec→4000 rpm 1 sec→slope 15 sec→endの条件で塗布した。その後、UVマスクアライナ（WS-014）を用いて105 mJ/cm^2でパターンを転写した。最後にSU-8 developer 45 secを2回、IPAを30 secと1 minで、現像を実施した。カバーガラスの膜厚は、テンコール（WS-021）を用いて測定した。</p>
結果と考察 Results and Discussion	<p>高さ0.7 μm - 1.0 μmの膜厚を形成することに成功した。一部では、膜厚が0.5 μmや1.2 μmとなる場合があった。作成したカバーガラスと、別途用意したプラスチック製の端材を組み合わせ、連続的に培地を流し込む系（マイクロ流体デバイス）を構築することで、シングルセルタイムラプス観察を実現した。数日間にわたって、硝化菌Nitrosomonasを個体レベルで観察することに成功している。</p>
図・表・数式 Figures, Tables and Equations	
その他・特記事項 (参考文献・謝辞等) Remarks(References and Acknowledgements)	

成果発表・成果利用 / Publication and Patents

DOI (論文・プロシーディング) DOI (Publication and Proceedings)	
口頭発表、ポスター発表および、その他の論文[1] Oral Presentations etc.	<p>Shuto Ikeda, Hirotsugu Fujitani, Satoshi Tsuneda. “Growth heterogeneity of divided cells affects the culturability of ammonia-oxidizing bacteria”, The Eighth International Conference on Nitrification and Related Processes, 204, Princeton, USA, 2023年7-8月.</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