課題番号　:F-17-RO-0006
利用形態　:機器利用
利用課題名（日本語）　:微生物を分離培養する新規なデバイスの開発
Program Title (English)　:Development of a new device for isolating microorganisms
利用者名（日本語）　:青井議輝, 杉山周, Jung Dawoon
Username (English)　:Y. Aoi, S. Sugiyama, J. Dawoon
所属名（日本語）　:広島大学大学院　先端物質科学研究科
Affiliation (English)　:Graduate School of Graduate School of Advanced Sciences of Matter, Hiroshima University
キーワード／Keyword　:微生物、分離培養、細胞、ナノ構造、培養チャンバー、接合

## 1. 概要（Summary）

地球上には、極限環境から人の体内にまで膨大な数・種類の微生物（細菌・古細菌）が存在しているが、それら環境中の微生物の 99%以上は未だ培養できないことが知られている。そこで、本研究では環境中に設置するだけで複数菌株を（選択的、または非選択的に）その場で分離・純粋培養操作を行うことが可能という、新しいコンセプトに基づく手法の開発、実証、汎用的使用を目指した検討を行った。培養デバイスの鍵となる構造は、培地が充填された培養チャンバーとそこから外部につながる1本の細い管：ナノチャンネル（微生物細胞と同等の大きさの貫通孔（直径 1 μm 程度））から形成される。外部環境（実環境中）に存在する微生物は、ナノチャンネルの入り口付近で増殖を開始し、分裂を繰り返して最終的に培養チャンバーに到達する。外部に存在する別の微生物は既に増殖した細胞にブロックされて侵入できないため、結果として培養チャンバー内では単一の菌種（クローナルな培養株）のみが増殖する（Fig. 1）（Tandogan and Aoi et al.）。

## 2. 実験（Experimental）

【利用した主な装置】

PDMS 加工装置（プラズマエッチング）

【実験方法】

シリコンウエハ上に形成した構造体の上に PDMS を材料として作成した部位を上記の PDMS 加工装置（プラズマエッチング）を用いて、所定の位置に接合することで、分離培養デバイスの全体構造を作成した。

## 3. 結果と考察（Results and Discussion）

大腸菌（*Echerichia coli*）をモデル微生物に用いて、同装置の性能試験を行った。*E. coli* の培養液をサンプルとして培養チャンバーの外部環境（ナノチャンネルの入り口が存在）に供試したところ、培地が充填された培養チャンバー内で数日後に増殖が確認できたことから、想定どおりにナノチャンネルを微生物（*E.coli*）が通過し、チャンバー内部で増殖したと判断した。ただし、模擬複合系（E.coli と *Micrococcus leuteus* の混合）をサンプルとして用いた場合に、純粋菌株が得られない場合が少なくないため、構造または、培養方法にさらなる改善が必要であることが判明した。現在、培養プロセスの再構築やデバイスのデザインの変更などを検討中である。

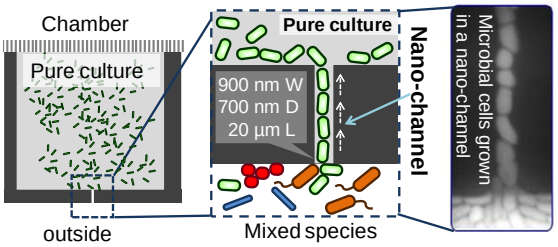


Fig. 1 Conceptual image for microbial isolation from the mixture of multiple microbial types.

## 4. その他・特記事項（Others）

【参考文献】

Tandogan and Aoi et al., Isolation of Microorganisms Using Sub-Micrometer Constrictions. PLOS One, 9, e101429, (2014).

【謝辞】

本研究課題は広島大学ナノデバイス・融合科学研究所の岡田和志研究員の協力を得て行った。また、科学研究費補助金（若手研究 A）「極小空間のデザインで実現する未培養微生物獲得手法の革新」の研究成果の一部である。ここに記して謝意を表する。

## 5. 論文・学会発表（Publication/Presentation）

なし

## 6. 関連特許（Patent）

なし