

微生物培養制御のための寒天培地表面パターンニング

Patterning of Agar Surface for Cultivation Control of Bacteria

理研 ○磯島 隆史, 内山 茂, 伊藤 嘉浩, 中村 振一郎

RIKEN, *Takashi ISOSHIMA, Shigeru UCHIYAMA, Yoshihiro ITO, Shinichiro NAKAMURA

E-mail: isoshima@riken.jp

【はじめに】 微生物の培養制御は、有用な新規微生物の発見とその利用や、有害な微生物の増殖抑制などに不可欠である。これまで培養制御は、培養温度や、培地に添加する成分などの(生)化学的手法によって行われてきた。心筋細胞や神経細胞などの動物細胞の接触型培養では、表面の構造パターンニングにより培養制御を行っている例が報告されているが、微生物の培養においてはこれまで検討されてこなかった。もし培地表面構造による増殖制御が実現できれば、新規微生物の探索やコロニー培養試験といった基礎研究のみならず、抗菌剤などの化学的手段を用いない抗菌表面の実現といった実用的な産業応用まで幅広い展開が見込まれる。そこで本研究では、培地表面構造による微生物の増殖制御の可能性を検討している。本発表では、寒天培地表面のパターンニングと微生物培養の予備実験について報告する。

【寒天培地表面パターンニング】 スライドガラス基板上にフォトレジスト(AZ1500)を 3-4 μm 厚で塗布し、フォトリソグラフィにより 10 μm 幅ライン&スペースパターンを形成した。パターンサイズを 10 μm としたのは、微生物の典型的な形状が幅サブ μm 長さ数 μm の棒状であるためである。このパターン原型を高精細シリコーン樹脂(PDMS, poly(dimethylsiloxane), 信越化学 SIM-240)に転写した。この際、パターンのある領域と平坦な領域が PDMS 表面にできるようにし、パターンの有無による培養速度の違いを容易に比較できるようにした。この PDMS 型を加熱溶解した寒天培地(寒天濃度 3~4%)上に接触させて自然冷却し、培地固化後に PDMS 型を剥離した。反射型レーザ共焦点顕微鏡(オリンパス OLS4100)によって測定した各段階の表面形状を図 1 に示す。寒天培地表面ではパターン深さが減少し形状も変化しているが、これは疎水的な PDMS 表面と寒天培地との密着性があまり良くないためであると考えられる。表面形状をより原形に近づけるための転写条件の最適化を現在行っている。

【微生物培養実験】 酵母菌や枯草菌などを用いて培養予備実験を行っている。24 時間の培養で枯草菌では図 2 に示すようにコロニー形状に顕著な異方性が生じている。パターンサイズや培養条件の影響を現在検討しており、結果は当日報告する。

【謝辞】 本研究は科研費(課題番号 15K14703)の支援を受けている。

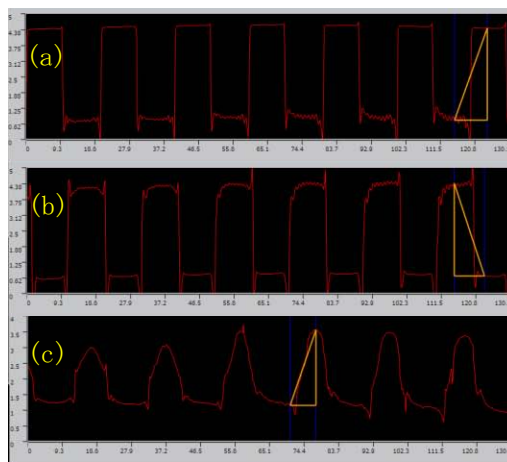


図 1. 各段階の表面形状。(a)フォトレジスト原型、深さ 3.7 μm 。(b)PDMS 型、深さ 3.7 μm 。(c)寒天培地、深さ 2.4 μm 。

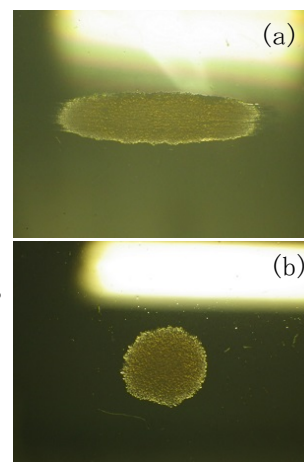


図 2. 枯草菌の 24 時間培養時のコロニー形状。(a)パターンあり面 (b)平滑面