微細構造を有するマイクロ流路デバイスの大腸菌リアルタイム観察への応用

Microfluidic devices with microstructure application to real-time observation of *E. coli*

東工大　未来研 [1], 東工大　生命理工学院 [2] ○(M1) 坂内 雄太 [1], 山田　哲也 [1], 横山　友基 [2],
和地　正明 [2] , 柳田 保子 [1]

IIR,Tokyo Tech [1], School of Life Science and Technology,Tokyo Tech [2]

°Yuta Sakauchi[1], Tetsuya Yamada[1], Yuki Yokoyama[2],Masaaki Wachi[2] , Yasuko Yanagida[1]

E-mail: yanagida.y.aa@m.titech.ac.jp

緒言

大腸菌の中には腸管出血性大腸菌などの病原性を有するものが存在し，人間の体内に入り込むことで食中毒を引き起こす．こういった大腸菌を検査や分析することは重要である．現在の大腸菌の観察方法は主にスライドガラス上で行われる．試薬を添加後にスライドガラス上に塗布して観察する方法[1]では細胞の瞬時の反応や経時的な変化を観察することが困難である．そこで本研究では，大腸菌を微細構造にトラップさせて細胞のリアルタイムな観察を可能にすることを目的としたマイクロ流路デバイスを作製した．今回は大腸菌の酸耐性機構に関連した TnaA と呼ばれるタンパク質に着目し，微細構造を持つマイクロ流路内で大腸菌のリアルタイム観察を行った．

実験方法

フォトリソグラフィ法で流路側面に長さ 50，100，250，500，1000 μm の矩形の溝を並べ，流速の低減を利用することで溝の内部に菌をトラップできる構造を作った．また，マイクロ流路デバイスは生体適合性の高い PDMS で作製した(Fig.1)．マイクロ流路デバイスに 37℃，pH7.0 に調製した大腸菌を含む培養液を流し込み，約 10 分間静置することで大腸菌を流路内で沈ませ，溝の内部にトラップさせた．その後 pH8.0 または pH 5.5 に調製した培養液を，流量 6 mL/h で流し込み，酸性条件下で細胞内の TnaA が拡散する様子を経時的に観察した．

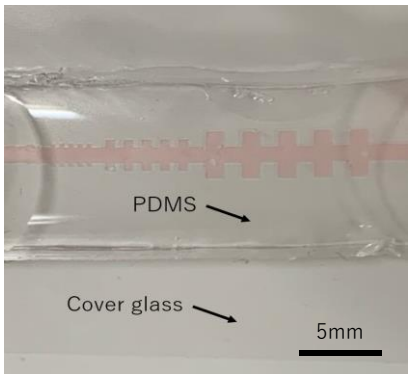

Fig.1 Picture of fluidic device.

結果

流路側面の溝で大腸菌が培養液に流されることなくトラップされ, pH 5.5 の酸性条件下に移行した際に見られる TnaA の拡散を，蛍光顕微鏡でタイムラプスを用いて観察することができた(Fig.2)．また pH8.0 の培養液を流した際には，細胞内の TnaA が拡散しない様子が観察できた．この実験によって，プレパラート上では観察することができなかった酸性条件下での TnaA の拡散の様子を，経時的に観察することができた．

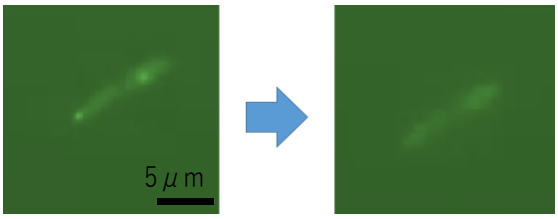

Fig.2 Diffusion of TnaA in the cell.

[1] 福田 真嗣，もっとよくわかる！腸内細菌叢　健康と疾患を司る"もうひとつの臓器" (2019) , pp.96-100