

2025年1月24日 開催

POSTER SESSION

発表資料・要旨 アーカイブ集



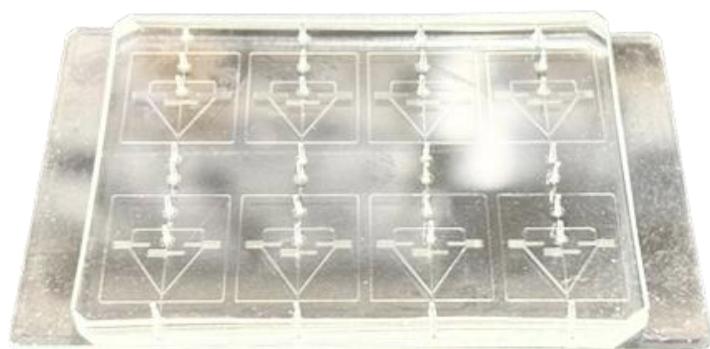
株式会社オンチップ・バイオテクノロジーズ

Achieve Precise & Uniform Reactions!

標準チップでは、異なるサンプルを1つのリザーバーに入れ、同じ流路よりドロップレットへ封入していたため、サンプルがドロップレットに封入される前に不要な反応を起こしてしまうリスクがありました。

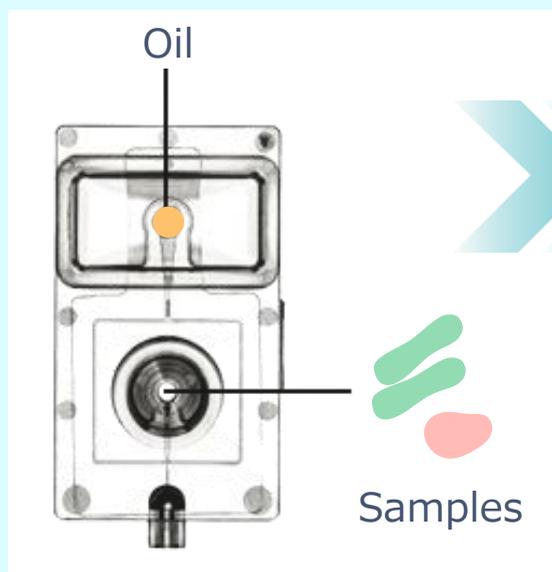
2液混合チップを使用すると、2種類の異なるサンプルを別々の流路から同時にドロップレットへ封入することで、正確で均一な反応を捉える実験が可能となります。

酵素と基質のリアルタイム反応評価、細胞と薬剤を組み合わせたスクリーニングなどドロップレット内でより複雑な反応の構築を実現します。

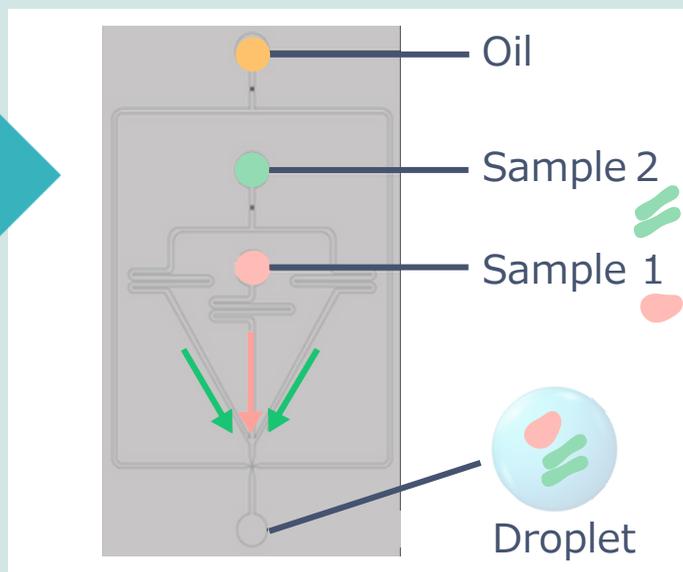


2D Chip-CU001DG

標準チップ



2液混合チップ



製品名	材質	流路幅	適応製品	Unit
2液混合チップ	PDMS	30 -100 μ m	Droplet Generator	5 chips / 1 box



Contact Us
info@on-chipbio.com



Visit Our Website
<https://on-chipbio.com/>

2025年 1月24（金）、秋葉原UDXにてドロップレット技術関連の研究発表やドロップレット研究者の交流などを目的としたユーザーミーティングを開催致しました。

本アーカイブ集では、当日発表いただいた講演者の皆様の発表資料（ポスター）やご講演中の動画、要旨などをご紹介します。

PRESENTATIONS

当日発表されたポスターの題目／当日の講演者情報を掲載しております。

ポスター資料が公開されているものには 、動画が公開されているものには 、要旨が公開されているものには  のアイコンが付与されています。アイコンがないものは、演題と講演者名のみ（敬称略）のご紹介となります。

Water-in-oilドロップレットを使用した環境試料からの乳酸菌の獲得

森 浩二 NITE NBRC  

Ultra-high-throughput Screening of Protease-deficient *Trichoderma reesei* Strains Using a Droplet-based microfluidic

Nguyen Huyen Anh 
Nagaoka Univ. of Technol., Dept. Sci. of Tech. Innovation

w/o dropletを用いたリパーゼ生産微生物のスクリーニング法の構築

海野 蒼生 長岡技術科学大学 物質生物工学分野 

ドロップレットから「漏れない基質」の開発

中村 彰宏 長岡技術科学大学 技学研究院 技術科学イノベーション系  

高速セルソーティングに向けた三次元マイクロ流路の開発と性能評価

神谷 周吾 中央大学 理工学部 

DNA凝集体形成ダイナミクスの定量的評価

小久保 直紀 中央大学 理工学部  

マイクロ流路を用いた単分散ポリマーベシクルの作製

宮下 大輝 中央大学 理工学部   

糸状菌のGMD培養への最適化

石井 智子 東北大学大学院農学研究科   

ドロップレットを用いたアミロイド阻害剤の評価

福山 真央 東北大学 多元物質科学研究所 

GMDによるスクリーニング

町田 雅之 金沢工業大学 ゲノム生物工学研究所   

マイクロ流路チップ型セルソーターを用いた *Dehalococcoides* 属細菌の単離

井口 智樹 東京農工大学  

未培養微生物におけるシングルセルゲノミクスの活用法

瀬尾 英雄 bitBiome, Inc. 事業開発部   

魚醤樽の微生物叢の微生物の代謝活性の評価システム開発

奥野 貴士 山形大学・理学部  

論文紹介：新規B抗原切断酵素探索のための超ハイスループットドロップレットスクリーニング

大田 悠里 (株) オンチップ・バイオテクノロジーズ 

ミリオンスクリーニングプラットフォーム構築の取り組み

森田 雅宗 産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門 

環境微生物を対象とした高浸透圧耐性微生物のドロップレットスクリーニング

松倉 智子 産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門 

膜染色試薬を用いたドロップレット内における微生物増殖検出

佐々木 章 産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門  

Water-in-oilドロップレット技術を用いた土壌からのアミラーゼ産生菌の
ハイスループットスクリーニング

小林 純怜 東京大学大学院 新領域創成科学研究科 

Water-in-oilドロップレットを用いた環境中からのPET分解性微生物スクリーニング

白坂 姫乃 東京大学大学院 新領域創成科学研究科 

Water-in-oilドロップレット技術を用いた超高効率なバクテリオファージスクリーニングの手法

星野 美羽 東京大学大学院 新領域創成科学研究科   

Water-in-oil (w/o)ドロップレット培養技術を用いた微生物破砕物を栄養源とする
微生物培養手法の開発と応用

大野 沙予 東大院 新領域 

W/Oドロップレットによる微生物機能解析に向けた新評価手法の提案

高井 亮吾 株式会社島津製作所

酸化還元応答性ハイドロゲルビーズを用いた標的細胞ならびに高機能化酵素の
迅速選抜法の開発

古賀 大晴 九州大学大学院 工学研究院  

微小液滴作製技術を用いたハイスループットスクリーニングによるクルマエビ類病原性
*Vibrio harveyi*に対する拮抗細菌候補株の単離

湯浅 壱 東京海洋大学大学院 海洋科学技術研究科   

1精子由来の塩基配列情報を用いた染色体レベルのゲノム配列決定手法の確立

瀬端 音寧 摂南大学海洋生物学研究室  

海産微細藻類における有用餌料種スクリーニングの高効率化

山本 慧史 水産研究・教育機構 水産技術研究所 

SELEX法とドロップレットを用いた蛍光RNAアプタマーの選別と解析

田山 智嵩 東京大学 大学院理学系研究科 生物科学専攻   

ドロップレット内の微生物増殖を指標とした酵素遺伝子探索法の開発

逸見 文香 東京大学 大学院理学系研究科 生物科学専攻

ドロップレット単離流路の開発と性能評価

大石 龍一 中央大学 理工学部



マイクロドロップレット法による光合成細菌のスクリーニング

矢部 修平 理化学研究所 バイオリソース研究センター



要
旨

P. 7 ~ P. 20 にて要旨原文・発表者名・所属・共同著者等
が掲載されています。

POSTER

P. 21 ~ P. 33 に掲載されています。

画像の文字や図が見えにくい場合は、下記カタログ／アプリケーション
紹介ページにて、元原稿をダウンロードいただきご覧ください。

<https://on-chipbio.com/document/>



動画マークがついている演題については、下記URLまたは右の
QRコードよりプレゼン動画をご視聴いただけます。

https://youtu.be/r3kwHwDE_G4





森 浩二¹、渡邊 瑞貴¹、南里 啓子¹、松倉 智子²、
大田 悠里^{2,3}、本間 宣行³、野田 尚宏²

¹NITE NBRC、²産業技術総合研究所 バイオメディカル
³オンチップ・バイオテクノロジーズ

乳酸菌は、産業界で最も利用される微生物群のひとつであり、寒天培地中に加えたCaCO₃が増殖後に溶解することを目印として分離することが一般的に行われている。この乳酸菌の培養をwater-in-oilドロップレットで再現し、乳酸菌が培養されたドロップレットだけをCaCO₃の消失を利用してハイスループットに獲得する方法を開発した。本方法は、クリアゾーン形成を指標とした様々な微生物分離方法にも応用可能な技術である。

本研究は戦略的イノベーション創造プログラム（S I P）第2期（2018-2022年度）「スマートバイオ産業・農業基盤技術」において実施したものである。

Mori *et al.* (2024). *Frontiers in Microbiology* doi: 10.3389/fmicb.2024.1452573.

Ultra-high-throughput Screening of Protease-deficient *Trichoderma reesei* Strains Using a Droplet-based microfluidic

Nguyen Huyen Anh¹, Akihiro Nakamura¹, Yosuke Shida², Ogasawara Wataru¹
¹Nagaoka Univ. of Technol., Dept. Sci. of Tech. Innovation.
²Nagaoka Univ. of Technol., Dept. Materials and Bioengineer.

In *Trichoderma reesei*, secreted proteases were one of the factors leading to cellulase activity drops, however, the regulation mechanism of protease production remains unclear. Discovering protease-deficient mutants is key to understanding protease production and boosting *T.reesei* applications.

While protease-deficient strains can be generated through random mutations, traditional agar plate screening is limited by the large, spreading colonies of filamentous fungi, which restricts the number of colonies that can be effectively screened. To address this, this study developed a droplet-based microfluidic system for high-throughput screening, successfully isolating two protease-deficient mutants for further analysis.

w/o dropletを用いたリパーゼ生産微生物のスクリーニング法の構築

海野 蒼生¹、中村 彰宏²、鈴木 義之²、志田 洋介¹、小笠原 渉²

¹長岡技術科学大学 物質生物工学分野、

²長岡技術科学大学 技術科学イノベーション系

リパーゼは脂肪酸の合成や医薬品など利用法が多岐にわたり、様々な特性を持つリパーゼ単離の需要は依然として高い。一般的にリパーゼスクリーニングに利用されているリパーゼ・エステラーゼ基質fluorescein dibutyrateは膜透過性が高く、細胞内酵素を検出可能だが、その疎水性の高さからw/o dropletでは利用できない。また、酵素認識部位が短鎖であるため長鎖脂肪酸を認識するリパーゼの基質特異性に基づく評価は困難である。そこで本研究では、親水性蛍光化合物を用いたw/o droplet内における油脂の分解活性の検出系の構築を試みた。本手法では、基質である天然油脂を任意に変更することで、様々な基質特異性を持つリパーゼへのアプローチが可能となる。

ドロップレットから「漏れない基質」の開発

POSTER
P.21

中村 彰宏、鈴木 義之、小笠原 渉

長岡技術科学大学 工学研究院 技術科学イノベーション系

フッ素系オイルを油相に用いた容積nL ~ pL程度の w/oドロップレットは、液体内で微生物培養、酵素反応の場として利用されている。w/oドロップレットは界面活性剤で区画化されているため、内部に含まれる物質の特性によってはドロップレット間を移動することがある。例えば、ペプチダーゼ/プロテアーゼなどの様々な蛍光基質に用いられるクマリンの誘導体7-アミノ-4-メチルクマリンは、高い疎水性からw/oドロップレット内部から外へ漏洩する。本研究ではw/oドロップレットから漏洩しない、クマリン系化合物を探索、新規基質を開発し、本基質を用いた環境微生物を対象とした大規模スクリーニングを実施した。

参考: A. Nakamura *et al.*, *Anal. Chem.*, **94** (5), 2416–2424, 2022.

高速セルソーティングに向けた三次元マイクロ流路の開発と性能評価

神谷周吾¹、鈴木宏明¹、小木曾竜盛²、青木大一郎²

¹中央大学 理工学部、²株式会社 オンチップ・バイオテクノロジーズ

セルソーターは特定の細胞集団を高速で分取する装置として、現在多くの研究施設などで利用されている。使い捨てのマイクロ流路を用いたセルソーターは、コンタミネーションフリーであること、小型化が可能であること、またドロップレットを含む多様なサンプルのソーティングができるという利点がある一方、既存のセルソーターに比べてスループットは劣る。オンチップのセルソーティングの高速化を目指す上で、流路内を流れる細胞の流下速度および流下位置の均一化が重要となる。

従来のマイクロ流路は二次元的な構造であるため、チップ面鉛直方向にパラボリックな速度分布が生じるため、壁面付近と流路中央付近を流れる細胞の速度にばらつきが生じる課題があった。

本研究では、上下および左右方向からシース流れによる絞り込みを行う二層構造の三次元流路を開発した。これにより高精度かつ高速なセルソーターを実現するための性能評価を行った。

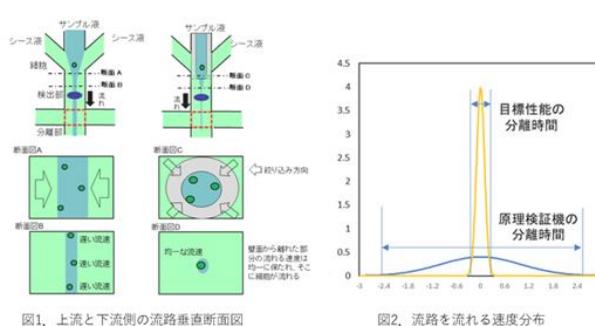


図1. 上流と下流側の流路垂直断面図

図2. 流路を流れる速度分布
青：原機検証機
黄：本開発（ばらつき1/10に）

DNA凝集体形成ダイナミクスの定量的評価

小久保直紀¹、Zhitai HUANG²、鈴木宏明^{1,2}

¹中央大学 理工学部、²中央大学大学院 理工学研究科

DNA液滴やDNAゲルなどのDNA凝集体は、DNAナノスターと呼ばれる複数のアームを持つナノ構造体の相互作用により、液液相分離系として構築される。塩基配列の設計や環境の塩濃度により、相互作用をプログラムすることが可能であるため、人工的な細胞模倣の構成要素としての利用が期待されている^[1]。

当研究室ではこれを用いて、2種類のDNA凝集体の接合によるヤヌス型凝集体（図1）の形成ダイナミクスを調べているが、これには結合させる2種類のDNAナノスターが同じ環境下において近いタイミングで凝集することが求められる。ここで、DNAの粘着末端の塩基数とそのペアの種類が同じでも、凝集体形成の速さに差が出るのが分かった。本研究では、DNAナノスターを構成する塩基配列と、温度変化に対する凝集のダイナミクスを詳細に調べた。

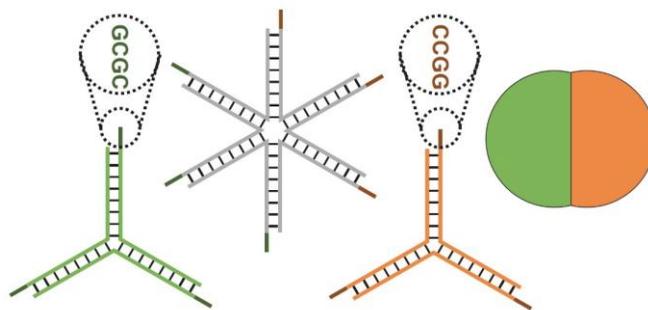


図1：DNA Yモチーフからのヤヌス型凝集体形成の模式図

参考文献

[1] Y. Sato, T. Sakamoto, M. Takinoue, "Sequence-based engineering of dynamic functions of micrometer-sized DNA droplets." *Sci. Adv.*, 6.23 (2020): eaba3471, pp. 1-12.



マイクロ流路を用いた単分散ポリマーベシクルの作製

宮下 大輝¹、南條 哲至²、権藤 悠貴¹、鈴木 宏明^{1, 2}
¹中央大学 理工学部、²中央大学大学院理工学研究科

近年、マイクロ流路を用いた人工ベシクルの作製に関する研究が盛んにおこなわれている。当研究室では、均一サイズのベシクルが作製可能であるマイクロ流路を開発した（図1a）^[1, 2]。この技術を発展させ、両親媒性高分子の膜で区画されたポリマーベシクルを同様に作製することが可能となった（図1b）。このマイクロサイズの容器は、脂質二重膜のベシクルと比べて安定性が高く、その内部でPCRを行うこともできるため、汎用的なマイクロリアクターとしての利用が期待されている。本研究では、実用化に向けて、フローサイトメトリーを用いた分析に供することができるように、本マイクロ流路におけるポリマーベシクルの作製数を増加させるための条件を検討した。

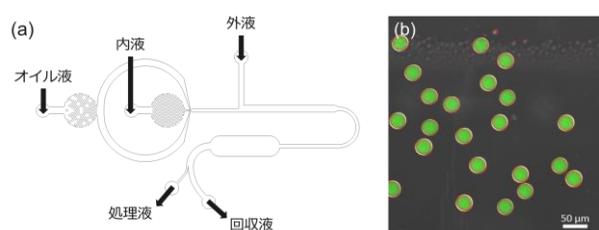


図1 (a) マイクロ流路のデザイン. (b) 生成された単分散ポリマーベシクルの顕微鏡画像（スケールバーは50μm）。

参考文献

- [1] R. Ushiyama et al., *Sens. Act. B: Chemical*, 355, 131281, 2022.
- [2] R. Ushiyama, S. Nanjo et al., *ACS Synth. Biol.*, 13(1), 68-76, 2024.



糸状菌のGMD培養への最適化

石井 智子¹、町田 雅之²、阿部 敬悦¹
¹東北大学大学院農学研究科、²金沢工業大学ゲノム生物工学研究所

糸状菌は地球上に300万種以上存在すると推定され、酵素や低分子化合物の高い生産能により産業利用されている。そのため、糸状菌の変異育種のニーズは高い(1)。GMD技術は微生物の変異育種において大規模スクリーニングに適する技術として利用されている。しかし、糸状菌は細胞が連なって糸状に生育する菌糸形態をとる多細胞微生物で、液体培養では菌糸同士が接着してペレットを形成するためGMDでの培養が困難である。本研究では産業糸状菌である麴菌を対象に、菌糸接着しない菌糸分散型変異麴菌(菌糸分散株)を用いて(1, 2)、分生子調製条件、分生子の選別、GMD培養条件の詳細な検討を行った。特に発芽に要するラグタイムと菌糸伸長の均一化を図ることで、糸状菌のGMD培養法を検討した。次いで、菌糸分散株を用いて酵素高生産変異株をスクリーニングすることを目的に、酵母レポーター株を使用してGMDを用いる麴菌のβガラクトシダーゼ高生産株を取得する系の構築を試みた。

- (1)阿部敬悦ら 生物工学会誌 **102** (8):406-409 (2024)
- (2)Miyazawa K. et al., *Frontiers in Microbiol.* **10**:2090. (2019)

ドロップレットを用いたアミロイド阻害剤の評価

福山 真央

東北大学 多元物質科学研究所

タンパク質凝集体、特に線維状凝集体であるアミロイド線維は、アルツハイマー病やパーキンソン病など多くの疾患発症メカニズムに関連していることが知られている。アミロイド線維形成は、一般的に核形成依存過程 (nucleation-dependent process) で記述される。この過程ではアミロイド核形成がアミロイド線維の成長に比べて非常に遅く、核形成がアミロイド線維形成の律速過程であると考えられている。近年、多くのアミロイド前駆タンパク質が細胞内で液-液相分離により濃縮相を形成することが報告されており、アミロイド核形成が濃縮相中で起こるといった経路が有力だと考えられ始めた。濃縮相からのアミロイド核生成の定量的な解析は、疾患発症メカニズムの理解や、アミロイド形成阻害剤開発など、多くの観点において重要であると考えられる。本発表では、マイクロ水滴を用いてアミロイド阻害剤が核形成に与える影響を検討した。

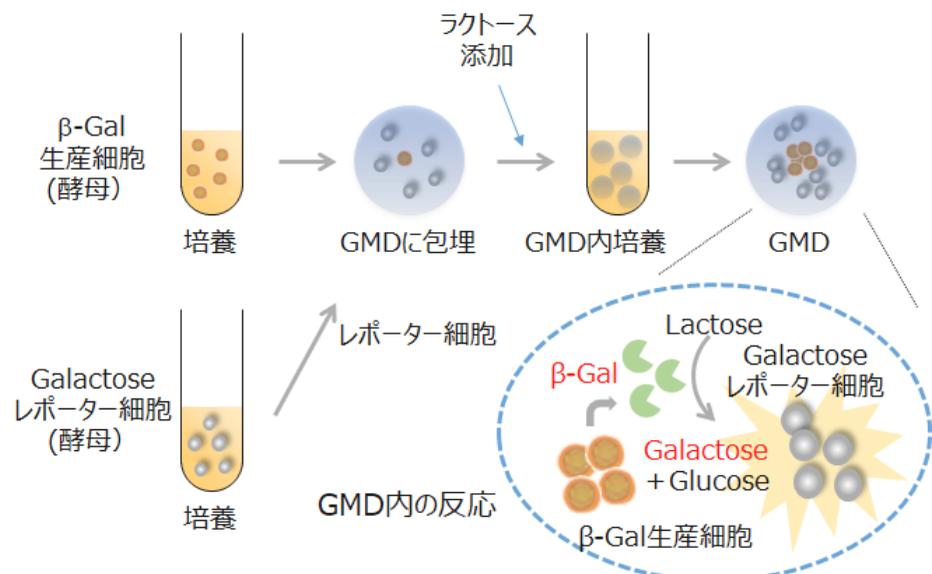


GMDによるスクリーニング

町田 雅之¹、北川 治恵¹、岡野 直子¹、佐野 元昭²、林 洋軌²、今城 紫龍²

¹金沢工業大学 ゲノム生物工学研究所、²金沢工業大学 バイオ・化学部

化合物誘導性プロモーター制御下でEGFPを発現するレポーター細胞によってGMD内で生産された化合物を検出する方法を用いて、Tryptophan、GABAなどの生産量が向上した大腸菌株、乳酸菌株などのスクリーニング系を開発した。また、酵素反応で生じる化合物の検出により、 β -galactosidaseの高生産株のスクリーニング系を開発した。生産株にランダム変異を導入後、レポーター細胞と混合してGMD中に包埋し、培養後に約 3×10^5 のGMDをソートした。得られた数百の候補株を個別に培養して生産量を解析したところ、50%程度の確率で2~4倍程度に生産量が向上した株が得られた。



マイクロ流路チップ型セルソーターを用いた *Dehalococcoides*属細菌の単離

POSTER
P. 26

井口 智樹¹、小川 貴弘²、養王田 正文³
東京農工大学¹ 工学部生命工学科、²工学府、³大学院工学研究院

環境中には多様な微生物が存在しますが、多くは培養が困難な難培養微生物です。*Dehalococcoides*属細菌は有機ハロゲン化合物を電子受容体とする脱ハロゲン呼吸を行い、汚染土壌や地下水の浄化への応用が期待されています。私たちは、汚染地下水から高い脱塩素能を持つ*Dehalococcoides*属細菌を見出し、製品評価技術基盤機構の内野博士の協力で、*Dehalococcoides* UCH-ATV1を単離し、他の微生物と共生させたコンソーシアを構築しました。このコンソーシアは「微生物によるバイオレメディエーション利用指針」に適合し、実用化を進めています。しかし、*Dehalococcoides*属などの嫌氣的微生物の単離は非常に困難で、これらの微生物の知見が乏しいのが現状です。私たちは、オンチップ・バイオテクノロジーズと共同で、マイクロ流路チップ型セルソーターを用いた効率的な単離技術の開発に取り組み、その進捗を報告します。

未培養微生物におけるシングルセルゲノミクスの活用法

POSTER
P. 27



瀬尾 英雄
bitBiome, Inc. 事業開発部

地球上のあらゆる環境には微生物が存在し、未知の微生物が有する機能性遺伝子は産業・医療・工業などの多様な分野において、資源としての応用が期待されています。一方、環境中の99.9%以上の微生物は、現在においても単離培養が困難であるため、その性状や機能を詳細に解析するためには培養法に依存しない解析技術が求められております。bitBiome社はDroplet技術を用いた独自の微生物シングルセルゲノム解析bit-MAP®を活用し、あらゆる環境の未培養微生物が保有する膨大な遺伝子情報を1細胞レベルで解析し、産業への活用を進めております。本発表ではbit-MAP®の基礎から多様な環境への応用例を踏まえながらご紹介します。



魚醤樽の微生物叢の微生物の代謝活性の評価システム開発

奥野 貴士
山形大学・理学部

山形県唯一の有人離島の飛島では、各家庭でイカの内蔵を材料とした魚醤を作る文化がある。魚醤の生成過程には、イカ由来のプロテアーゼがタンパク質を分解する熟成と、好塩・耐塩性細菌による発酵が寄与し、風味形成に微生物の関与が示唆されている。本研究は、魚醤の微生物叢中の個々の微生物の風味形成への寄与を明らかにすることを目的とし、微小空間に魚醤と微生物を封入・培養し、個々の微生物の風味形成への寄与を定量評価するシステム開発を開始した。今回、W/Oドロップレット内にイカ肝由来の沈殿物などの微粒子を確認することができた。

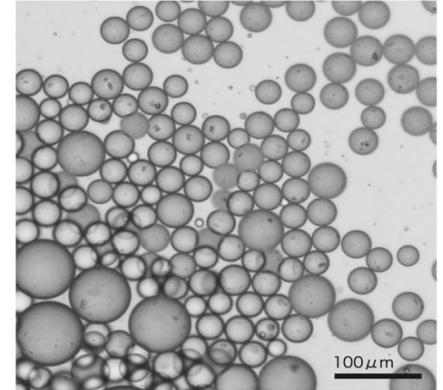


Fig. 1. Optical microscopy image of w/o droplets of fish sauce

W/Oドロップレットは、少なくとも2ヶ月は顕微鏡で確認できており、微生物の代謝による魚醤成分の変化を追跡できることが示唆された。

論文紹介：新規B抗原切断酵素探索のための超ハイスループットドロップレットスクリーニング

大田 悠里、本間 宣行、石毛真行
株式会社オンチップ・バイオテクノロジー

A抗原およびB抗原を持たないO型赤血球は、全ての血液型の患者に輸血できるため「万能血液型」として知られている。しかし、その輸血適合性の高さゆえ世界的に供給不足が課題である。そこで、B抗原の末端糖を除去することでB型赤血球をO型へ効率よく変換できる酵素の探索のため、water-in-oilドロップレットを用いた酵素スクリーニング手法を確立した。さらに、腸内細菌由来のメタゲノムライブラリから、これまでに最も比活性が高いと知られているB抗原切断酵素に匹敵する活性を示す新規酵素を獲得した。本発表は“Ultra-high-Throughput Single Emulsion Droplet Screening for the Discovery of New B Antigen Cleaving Enzymes” (Olagnon *et al.*, *ACS Catal.*, 14, 12884–94, 2024) を基にしている。

ミリオンスクリーニングプラットフォーム構築の取り組み

森田 雅宗、佐々木 章、松倉 智子、野田 尚宏
産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門

工業・エネルギー・食品・医薬・健康・環境分野など、微生物は人類と密接な関係の存在であり、様々な環境中に存在している。これら環境中から目的の機能を有する微生物を獲得する手法として、安定的かつミリオン以上のスケールでハイスループットに作製可能なマイクロサイズの油中水滴型ドロップレット (water-in-oil droplet, WODL) 技術に着目した。WODL内に微生物を1細胞レベルで閉じ込め、増殖・培養を試み、培養できたWODLを検出する技術の開発に着手し、培養から回収までの一連のスクリーニングプラットフォームシステム開発を進めてきた。本ポスターでは、我々が構築を進めているWODLを用いた微生物培養・スクリーニング技術を紹介する。

環境微生物を対象とした高浸透圧耐性微生物のドロップレットスクリーニング

松倉 智子、佐々木 章、森田 雅宗、野田 尚宏
産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門

浸透圧、pH、温度等の環境ストレスに対する耐性を持つ微生物のスクリーニング基盤技術の開発を目的として、Water-in-oil droplet (ドロップレット) とFNAP-sortを用いたスクリーニング手法を構築した。特に浸透圧ストレスに着目し、環境サンプルにスクリーニング系を適用して浸透圧ストレス耐性を持つと期待される微生物を含むドロップレット群を取得した。ドロップレット内部の微生物を培養して16S rRNA遺伝子を解析した結果、放線菌であることが示唆された。取得株とその近縁種の両方に浸透圧ストレス試験を実施したところ、取得株の一部はその近縁種よりも高い浸透圧ストレス耐性を有している可能性が示唆された。

膜染色試薬を用いたドロップレット内における微生物増殖検出

佐々木 章¹、星野 美羽^{1, 2}、大田 悠里^{1, 3}、森田 雅宗¹、横田 亜紀子¹、陶山 哲志¹、野田 尚宏^{1, 2}

¹産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門、

²東京大学大学院 新領域創成科学研究科、³（株）オンチップ・バイオテクノロジーズ

ドロップレットを用いたミリオンスクリーニングにおいて、微生物を含むドロップレットと含まないドロップレットを見分ける技術は計測評価の基盤となる。本研究では、微生物の膜成分を蛍光染色することでWater-in-oilドロップレット内での微生物の増殖の有無を判断する新規な方法を開発した。大腸菌をドロップレットに封入する際にTurn-on型の膜染色試薬（例：MiMe-stain試薬）を共存させることで、菌数に依存した蛍光強度を得ることが可能であった。当該方法によって様々な微生物が存在または増殖しているドロップレットを選択的に検出・分取できることを示したほか、増殖の度合いを定量的に評価できることが明らかになった。

Water-in-oilドロップレット技術を用いた土壌からのアミラーゼ産生菌のハイスループットスクリーニング

小林 純怜^{1, 2}、星野 美羽^{1, 2}、佐々木 章²、松倉 智子²、大田 悠里^{2, 3}、常田 聡⁴、野田 尚宏^{1, 2, 4}

¹東京大学大学院 新領域創成科学研究科、²産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門、

³オンチップ・バイオテクノロジーズ、⁴早稲田大学 先進理工学部

産業用酵素の一つであるアミラーゼの産生菌を土壌等の自然環境から探索することは有用である。本研究ではアミラーゼ産生菌を対象としてWater-in-oilドロップレット（以下、ドロップレット）技術を用いた二段階スクリーニングによるハイスループットな微生物探索手法を確立することを目指した。アミラーゼの蛍光基質と土壌細菌を共にドロップレットに封入して二段階でのスクリーニングを行ったところ、*Paraburkholderia acidiphila*と推定される細菌が獲得された。*P. acidiphila*はアミラーゼ遺伝子を有するがアミラーゼ産生菌としての報告例はなく、新奇な産生菌であることが示唆された。本手法はプロテアーゼなど他酵素の産生菌を獲得する際にも応用可能であると考えられる。

Water-in-oilドロップレットを用いた環境中からのPET分解性微生物スクリーニング

白坂 姫乃^{1, 2}、中村 彰伸²、星野 美羽^{1, 2}、佐々木 章²、野田 尚宏^{1, 2}

¹東京大学大学院 新領域創成科学研究科、

²産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門

近年、ポリエチレンテレフタレート(PET)分解酵素を利用して廃棄されたPET製品の再利用が注目されている。環境微生物の数の多さや多様性の高さを考慮すると、自然環境中から新たなPET分解酵素を持つ微生物を取得し、PET製品の再利用に貢献できる可能性がある。そこで、我々はwater-in-oil(w/o)ドロップレットを用いた環境中からのPET分解性微生物のスクリーニング手法を開発した。本研究では、土壌細菌液をPET分解性微生物検出用蛍光プローブfluorescein dibenzoate (FDBz)と共にw/oドロップレットに封入・培養した後、PETを分解する可能性がある土壌細菌の単離に成功した。この手法は100万個以上のドロップレットを容易に作製・評価できる高いスループット性を持つことから環境中での存在割合が低いPET分解性微生物の探索に有用であることが期待される。

Water-in-oilドロップレット技術を用いた超高効率なバクテリオファージスクリーニングの手法



星野美羽^{1, 2}、大田悠里^{2, 3}、陶山哲志²、常田聡⁴、野田尚宏^{1, 2, 4}

¹東京大学大学院 新領域創成科学研究科、²産総研 バイオメディカル研究部門、

³(株) オンチップ・バイオテクノロジーズ、⁴早稲田大学大学院 先進理工学研究科

バクテリオファージ(以下、「ファージ」)は宿主となる細菌に感染することで増殖するウイルスである。宿主細菌への特異性の高さや感染した細菌の増殖能を抑えられることからファージは新規の抗菌物質として注目されている。ファージは地球上に膨大な数存在し、ほとんどは未知である。これらのファージを効率よくスクリーニングする手法としてw/oドロップレットを用いた手法を提案する。

本手法ではファージ・宿主細菌とともにファージを優先的に染色する蛍光試薬をドロップレット内に共存させておく。ドロップレット内でファージの感染と増殖が起こると、子ファージがドロップレット内の色素で染色されてドロップレット全体としての蛍光強度が増加する。本手法では寒天培地上でのプラークアッセイを介さずに単一クローン由来のファージを獲得でき、力価の測定にも応用できる。

Water-in-oil (w/o)ドロップレット培養技術を用いた 微生物破砕物を栄養源とする微生物培養手法の開発と応用

大野 沙予^{1, 2}、星野 美羽^{1, 2}、松倉 智子²、佐々木 章²、大田 悠里^{2, 3}、常田 聡⁴、
野田 尚宏^{1, 2, 4}

¹東大院 新領域、²産総研 バイオメディカル、³(株) オンチップ・バイオテクノロジーズ、
⁴早大院 先進理工

未培養・難培養とされる微生物の培養を目指し、微生物が生育する環境であれば陸域・水域問わず広く存在すると考えられる“微生物の生体成分”を栄養源とする培地「微生物破砕培地」を開発した。また、区画化効果とハイスループット性という二つの利点を持つwater-in-oil (w/o) ドロップレット培養法を合わせて用いることで未培養微生物の培養可能性を検討した。「微生物破砕培地」と土壤細菌をw/oドロップレットに封入して、一定期間培養したのちw/oドロップレット内の微生物を回収し、16S rRNA遺伝子の系統解析をしたところ、開発した培養手法では非常に高い多様性を保ったまま培養可能であることが明らかになり、また、通常の非選択培地では増殖が確認されなかった未培養とされる微生物種についても増殖が確認された。

酸化還元応答性ハイドロゲルビーズを用いた標的細胞ならびに 高機能化酵素の迅速選抜法の開発

POSTER
P. 30

古賀 大晴¹、折田 兼成¹、Diah Anggraini Wulandari¹、神谷 典穂^{1, 2}
¹九州大学大学院 工学研究院、²九州大学 未来化学創造センター

近年、標的とする細胞を迅速に選抜できる技術として、Fluorescence-activated droplet sorting (FADS) が注目を集めている。我々は、ジスルフィド結合を架橋点とする酸化還元応答性ハイドロゲルビーズ (HBs) を人工区画として用い、FADSベースの選抜系を構築してきた。具体的には、CHO細胞やハイブリドーマ細胞の抗体分泌量や、架橋酵素の一種である微生物由来トランスグルタミナーゼの活性に応じて蛍光染色されたHBsをOn-chip® Sortにより選抜し、高い抗体分泌能を有する細胞の選抜や、高活性な酵素変異体の取得に成功した。

このようにHBsは、1細胞分析や無細胞反応に適切なマイクロ環境の提供が可能である。

微小液滴作製技術を用いたハイスループットスクリーニングによる クルマエビ類病原性*Vibrio harveyi*に対する拮抗細菌候補株の単離



湯浅 堯¹、大田 悠里²、小西 佳代¹、古川 美穂¹、野崎 玲子¹、小祝 敬一郎¹、
近藤 秀裕¹、廣野 育生¹

¹東京海洋大学大学院 海洋科学技術研究科、²オンチップ・バイオテクノロジーズ

クルマエビ類養殖で問題となっている細菌性感染症への対策として、病原細菌を増殖抑制・殺菌可能な拮抗細菌を利用した生物学的防除が注目されている。当研究室では、直径30-100 μmの微小液滴を活用した病原細菌に対するハイスループット拮抗細菌スクリーニング法の確立に取り組んでいる。遺伝子相同組換えによりマーカーとして緑色蛍光タンパク質を導入したクルマエビ類病原性*Vibrio harveyi*とクルマエビ飼育環境由来細菌を微小液滴内に共封入および共培養し、蛍光強度が相対的に低い液滴を個別に分注および再培養した。これまでに3属24株からなる拮抗細菌候補株の単離に成功し、一部の株において微小液滴内での*V. harveyi*に対する増殖抑制能を再確認した。今後はスクリーニング法および拮抗性再試験法の精度を向上させ、明らかな拮抗性を持つ有用細菌の単離を目指す。

1精子由来の塩基配列情報を用いた 染色体レベルのゲノム配列決定手法の確立



瀬端 音寧¹、白澤 健太³、吉武 和敏⁴、米澤 遼⁵、
廣野 育生²、近藤 秀裕²、増田 太郎¹、小祝 敬一郎²

¹摂南大学海洋生物学研究室 ²東京海洋大学ゲノム科学研究室

³かずさDNA研究所植物ゲノム・遺伝学研究室

⁴北里大学生物化学研究室 ⁵東京大学水圏生物工学研究室

現在、次世代シーケンサーの品質向上によって、様々な生物のゲノム配列が明らかになってきている。その一方で、染色体レベルのゲノム情報が決定された生物は数少ない。そこで、スキヤフォールド配列の方向や位置を決定することにより染色体レベルのゲノム配列を得ることを目的とし、AGM (agarose gel microcapsule) を用いて、多様な組換えが起こっていると考えられる配偶子の塩基配列を1細胞ずつ解析することとした。本プログラムでは、マイクロ流路を活用して調整したAGM内での1精子由来DNAの増幅効率について発表する。

海産微細藻類における有用餌料種スクリーニングの高効率化

山本 慧史¹、小祝 敬一郎²、吉村 和真²、小西 佳代²

¹水産研究・教育機構 水産技術研究所、²東京海洋大学 ゲノム科学研究室

海産増養殖業において、微細藻類はふ化直後の海産動物の餌として重要な存在である。しかし、高栄養で人工培養が可能な有用餌料種は、現状で十数種しか確認されておらず、十分でない。この背景には、海洋環境中の微細藻類の単離・特性解明技術が十分に効率化されていないことが挙げられる。

本研究は海産微細藻類を対象として、有用餌料種の探索を効率化するためのハイスループットスクリーニング技術を用いて開発することを目的とした。検討の第一段階として、種混合状態にある微細藻類の培養液をOn-chip® Droplet Generatorを用いて単一種毎に液滴内へ個別封入し、さらに液滴内培養を試みた。同時に、一連の作業による種多様度の変化を16S-rRNA領域を対象としたメタバーコーディング解析により確認した。本発表では、これらの成果について報告する。

SELEX法とドロップレットを用いた蛍光RNAアプタマーの選別と解析



田山 智嵩¹、伊藤 敬佑¹、上村 想太郎¹、飯塚 怜¹

¹東京大学 大学院理学系研究科 生物科学専攻

蛍光RNAアプタマーは、結合した色素の蛍光を劇的に増大するRNAであり、ライブセルRNAイメージングなどに利用されている。我々は、SELEX (Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment) 法とドロップレットを使用した選別を組み合わせ、新規アプタマーを効率的に取得することに成功した。本手法ではまず、ランダムライブラリを転写し、SELEX法により、色素TO1-Bに結合するRNAを濃縮した。その逆転写産物を新たなライブラリとしてTO1-Bとともに油中水滴に封入し、蛍光の強い油中水滴を回収した。内包されるDNAの配列を決定するとともに、高い蛍光増大能を示すアプタマーを特定した。カチオン選択性の解析から、アプタマーが形成するグアニン四重鎖構造がTO1-Bの蛍光増大に重要であることが示唆された。現在、構造解析を進めるとともに、より高い蛍光増大能を示す蛍光RNAアプタマーの設計・取得を目指している。

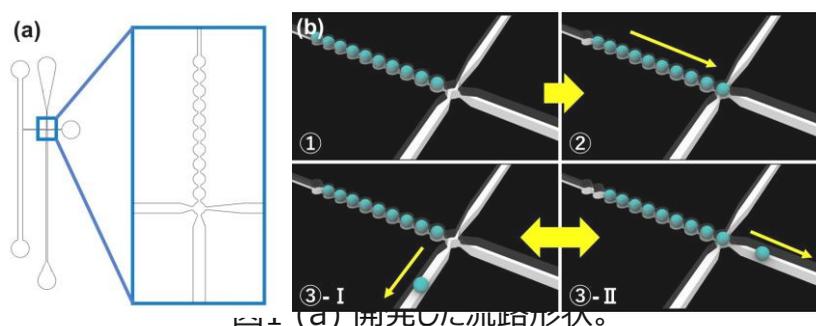


ドロップレット単離流路の開発と性能評価

大石 龍一¹、鈴木 宏明²、小木曾 竜盛²、青木 大一郎²

¹中央大学 理工学部、²株式会社 オンチップ・バイオテクノロジーズ

特定の細胞の分取を行うセルソーティング技術を応用し、細胞を封入したドロップレットのソーティング法も検討されている。その中でも、深層学習を援用した画像判定によってドロップレットの選別を行うイメージングソートでは、高精細な撮像を可能とするため、ドロップレットが撮像域に比較的均一な時間間隔で供給されることが好ましい。本研究では、細胞を封入したドロップレット画像の取得を容易にし、かつ任意のドロップレットを単離できるマイクロ流体デバイスの開発を目指した。具体的には、複数のドロップレットが特定位置に並ぶ房状流路を設置し(図1a)、その下流でパルス流を与えてソーティングする機構を設計した(図1b)。本報では、房状流路の形状がドロップレット動作および単離に与える影響を調べた。



(b) 開発した流路におけるドロップレットの動作の模式図



ドロップレットから「漏れない基質」の開発

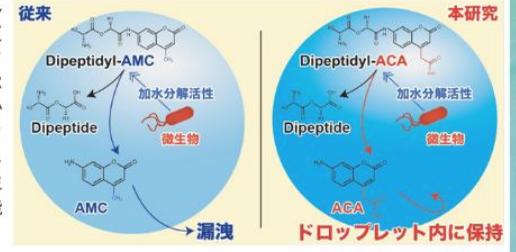
○中村彰宏、鈴木義之、小笠原渉

長岡技術科学大学 技術科学イノベーション系

Contact: 中村彰宏 (anakamura@vos.nagaokaut.ac.jp)

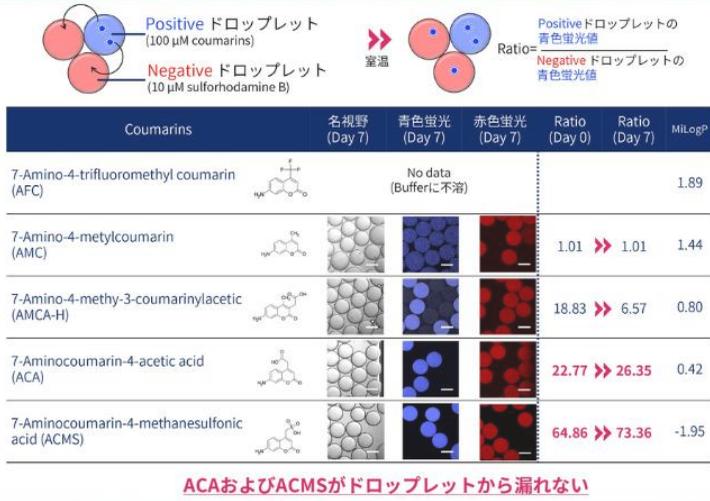
- 概要 -

ドロップレットとマイクロ流体デバイスを組み合わせたスクリーニング技術は、超高効率な生化学的アッセイや微生物探索のツールとして注目されている。特にフッ素系オイルを油相に用いた容積nL~pL程度のw/oドロップレットは、液体内で微生物培養、酵素反応の場として利用されている。w/oドロップレットは界面活性剤で区画化されているため、内部に含まれる物質の特性によってはドロップレット間を移動することがある。この現象はドロップレット内部で酵素反応を行い検出する際に障壁となり得る。例えば、ペプチダーゼ/プロテアーゼなどの様々な蛍光基質に用いられるクマリンの誘導体7-アミノ-4-メチルクマリン (AMC)は、高い疎水性からw/oドロップレット内部から外へ漏洩する。そのため、w/oドロップレットを用いたスクリーニング技術において、AMCは使用されてこなかった。本研究ではw/oドロップレットから漏洩しない、クマリン系化合物を探索し、新規基質を開発した。加えて開発した基質を用いて毎秒100ドロップレット以上の速度で16万個の液滴をスクリーニングし、環境中からペプチダーゼ活性を有する微生物を獲得することで、その有用性を確かめた。本研究によりw/oドロップレットを用いたマイクロ流体システムにおいて、検出可能な酵素種を大幅に拡大することに成功した。(参考文献 A. Nakamura et al., *Anal. Chem.*, 94 (5), 2416-2424, 2022.)

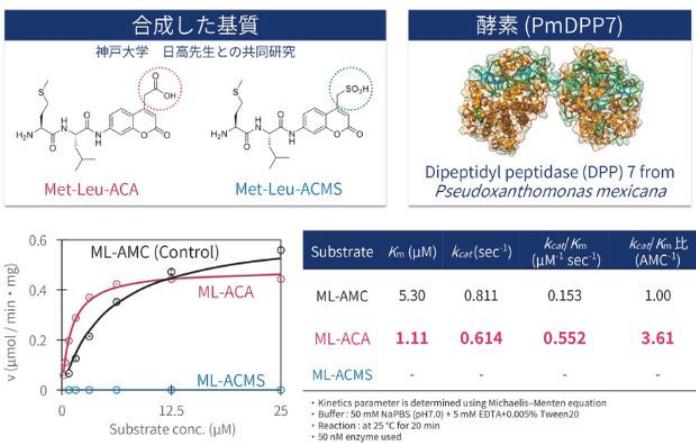


- 結果と考察 -

1. 漏れないクマリン系化合物の探索



2. ACAおよびACMSを用いた基質の開発



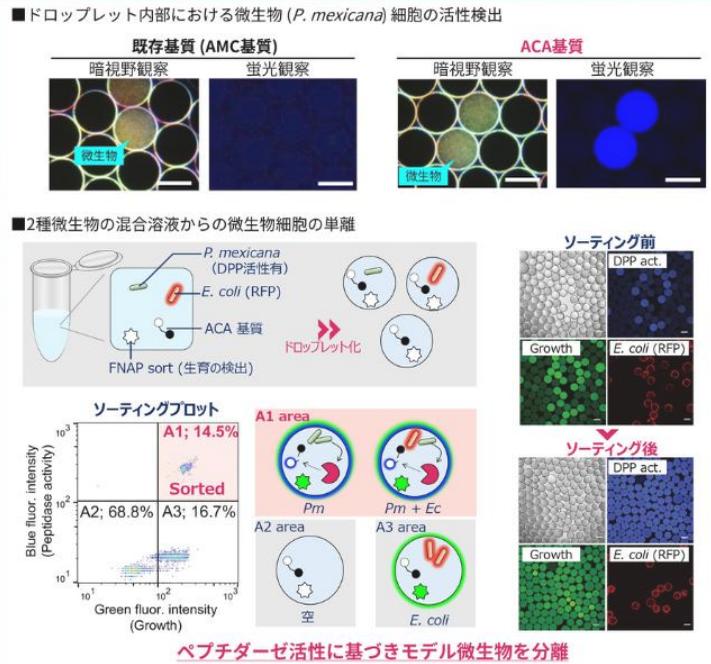
ACA基質で活性を検出

■他の酵素でも活性を検出できるか検証 (基質部分をLeu-Aspに置換した基質も用意)

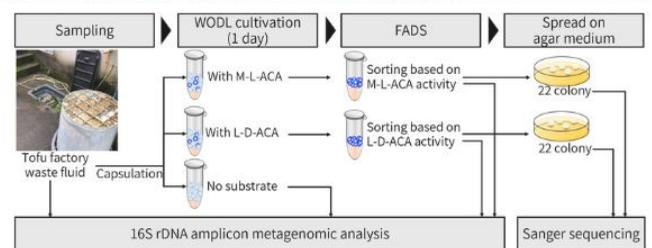
Enzymes	Substrates	K_m (μM)	k_{cat} (sec^{-1})	k_{cat}/K_m ($\mu\text{M}^{-1}\text{sec}^{-1}$)	k_{cat}/K_m 比 (AMC ⁻¹)
PmDPP7	Met-Leu-AMC	5.30	0.811	0.153	1.00
	Met-Leu-ACA	1.11	0.614	0.552	3.61
SmDPP7	Met-Leu-AMC	21.1	0.849	0.0402	1.00
	Met-Leu-ACA	4.09	0.647	0.158	3.94
PgDPP11	Leu-Asp-AMC	10.6	5.22	0.492	1.00
	Leu-Asp-ACA	10.1	3.90	0.386	0.785
SmDPP11	Leu-Asp-AMC	45.0	18.0	0.401	1.00
	Leu-Asp-ACA	12.2	22.8	1.88	4.68

今回検証した4つの酵素について、ACA基質で活性を検出

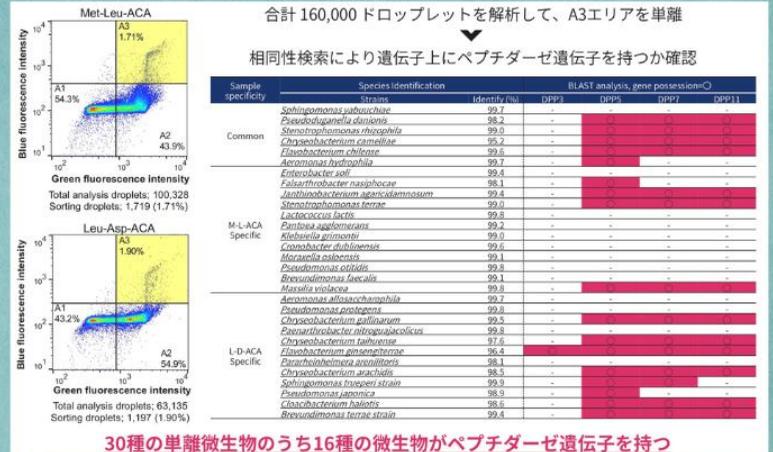
3. ACA基質を用いたモデル微生物の分離



4. ACA基質を用いた微生物スクリーニングの戦略スキーム



5. ACA基質を用いたペプチダーゼ生産微生物のスクリーニング



30種の単離微生物のうち16種の微生物がペプチダーゼ遺伝子を持つ

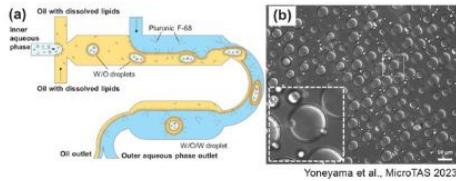
Conclusion

- 液滴で使用可能なクマリン系基質である7-アミノ-4-酢酸 (ACA) 基質を開発し、環境微生物のハイスループット・スクリーニングへの応用性を検証
- w/oドロップレットを用いたマイクロ流体システムにおいて、検出可能な酵素種を拡大

DNA凝集体形成ダイナミクスの定量的評価

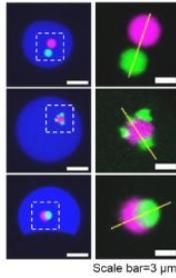
研究背景

マイクロ流路を用いた均一人工細胞の創成

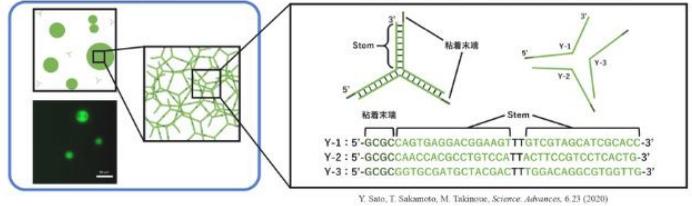


- ・マイクロ流路+オンチップ圧力ポンプを用いた均一W/O/W液滴からリポソームを製造
- ・リポソーム中に人工細胞の細胞質構成成分を封入→人工細胞核としてのDNA凝集体の形成

人口細胞内でのパッチ型・ヤヌス型凝集体の形成



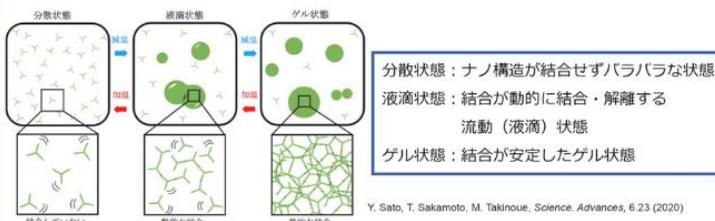
DNA凝集体とは



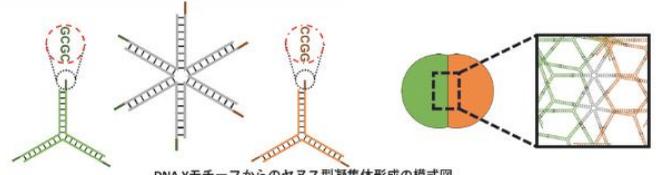
- ・DNA凝集体: DNAナノ構造(Yモチーフ)が凝集したソフトマテリアル
- ・配列設計によって、物性や相互作用をプログラム可能

生物模倣や人工分子システムなどの分野で利用が期待

DNAナノ構造は粘着末端の設計と温度により3つの状態に変化



パッチ型・ヤヌス型凝集体の作製



- ・リンカーモチーフの導入により異なるDNA凝集体の結合を制御可能
- ・それぞれのYモチーフの凝集速度が、最終的な凝集体形状に影響し重要
- ・Yモチーフの配列より凝集速度が異なるが、統一的理解ができていない

・配列空間と凝集温度の相図を作成⇒パッチ型・ヤヌス型DNA凝集体の設計指針に

目的

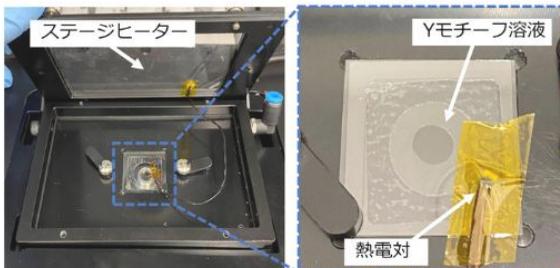
配列別のYモチーフの凝集温度の測定

実験方法

DNA溶液の組成

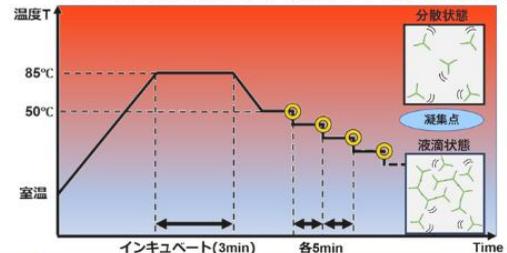
DNA Solution of Type.A	
Total	30 μL
Tris-HCL	40 mM
NaCl	100 mM
DNA-A1	10 μM
DNA-A2	9 μM
DNA-A3	10 μM
FAM	1 μM
MilliQ	-

実験系



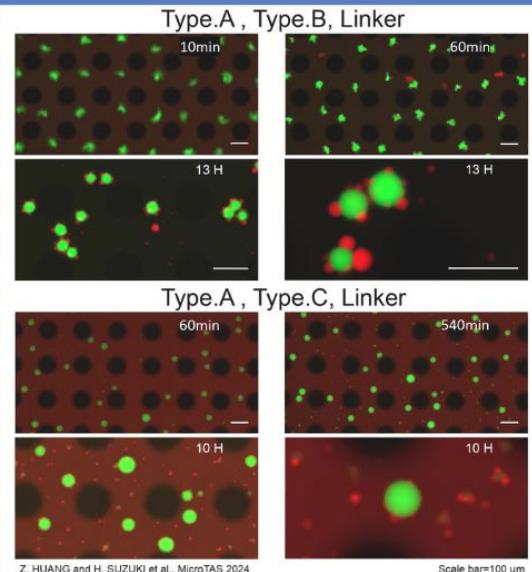
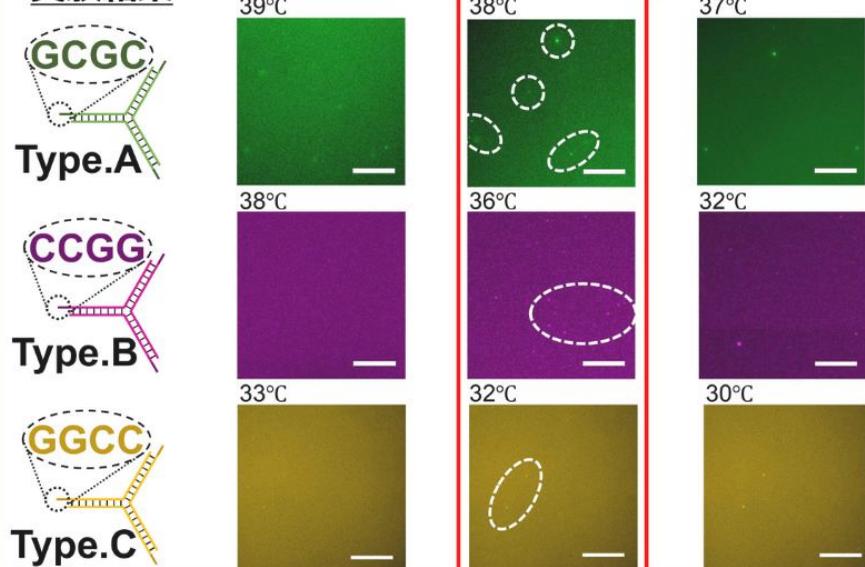
温度の操作方法

- ・85°Cで保温した後、温度降下と共に観察



Yモチーフが分散状態から液滴状態になった温度を測定する

実験結果



粘着末端がA(GCGC)、B(CCGG)、C(GGCC)の温度順で液滴状態に凝集することが測定された

凝集温度が違うペアを混合すると、先に凝集温度が高いタイプが凝集し、その後その周辺にペアの凝集体が付着するパッチ型DNA凝集体ができる

2 結言

- ・粘着末端のGCの並び方の違いによって、凝集温度が変わることが分かった
- ・パッチ状DNA凝集体の設計であれば、凝集温度の差があるペアを扱うことが推奨される



SUZUKI LAB

マイクロ流路を用いた 単分散ポリマーベシクルの作製

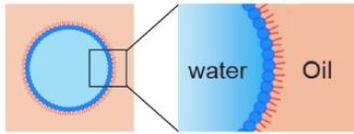


宮下大輝¹, 南條哲至², 権藤悠貴¹, 鈴木宏明^{1,2}
¹中央大学 理工学部, ²中央大学大学院理工学研究科

研究背景

□ マイクロドロプレット

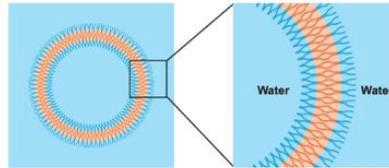
マイクロスケールで
生化学反応を起こす反応容器。
迅速かつ効率的な反応が可能。



✓ 一般的に用いられているW/O液滴は
外液相がオイルであるため、扱いづらい

□ ポリマーベシクル

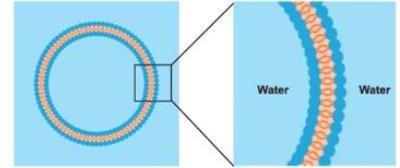
両親媒性高分子が二重膜を構成する
マイクロスケールのベシクル



◎ 熱や物理的な安定性が高い

□ リポソーム

リン脂質が二重膜を構成する
マイクロスケールのベシクル

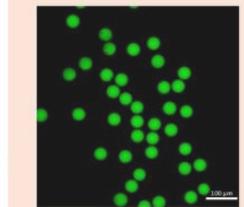
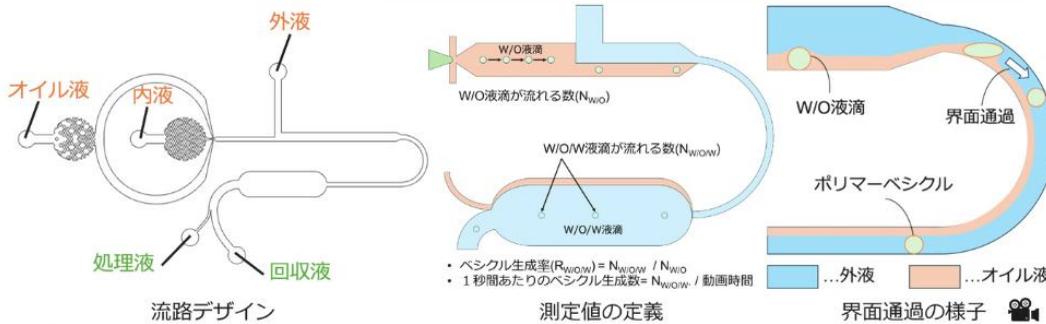


△ 熱や物理的な安定性が低い

研究目的 ポリマーベシクルの作製及びマイクロリアクターへの活用

実験方法

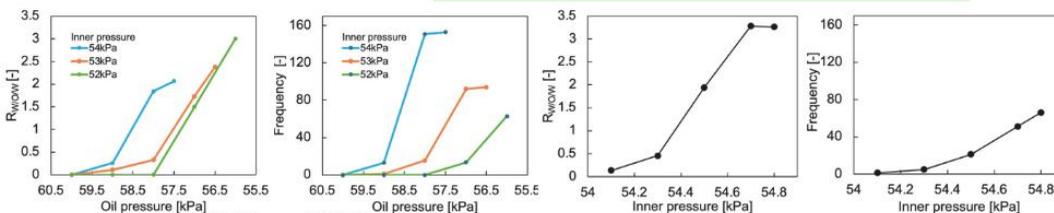
● マイクロ流路を用いた単分散ポリマーベシクルの作製



✓ 実験操作が容易
✓ 均一サイズの
ベシクルが作製可能

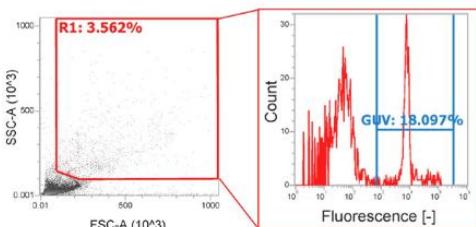
結果

● 送液圧力とポリマーベシクル生成数の関係



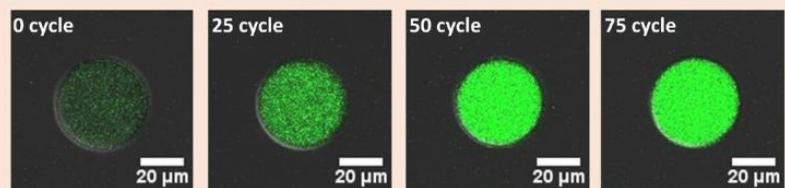
✓ 送液圧力の調整により
界面通過率が向上
✓ 1秒間あたり、約100個
のベシクルが作製可能

● FCMを用いたポリマーベシクルの評価



✓ 蛍光試料を内包した
ポリマーベシクルをFCMで確認。

● ベシクル内部での定量PCR



ベシクル内部に反応液を封入し、温度制御を行った
✓ ポリマーベシクル内部での定量PCRに成功

結論

- ✓ ポリマーベシクルを大量生成する方法を確立
- ✓ 水分散性マイクロリアクターとしての活用可能性

展望

ddPCRや細胞培養など他の反応が内部で可能
であるか調査し、汎用的なマイクロリアクター
の創生を目指す

糸状菌のGMD培養への最適化

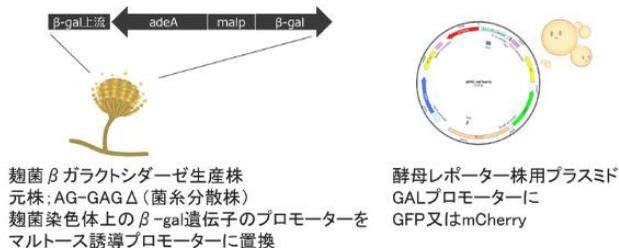
○石井智子¹、町田雅之²、阿部敬悦¹

¹東北大学大学院農学研究所、²金沢工業大学ゲノム生物学工学研究所

要旨

糸状菌は地球上に300万種以上存在すると推定され、酵素や低分子化合物の高い生産能により産業利用されている。そのため、糸状菌の変異育種のニーズは高い。GMD技術は微生物の変異育種において大規模スクリーニングに適する技術として利用されている。しかし、糸状菌は細胞が連なって糸状に生育する菌糸形態をとる多細胞微生物で、液体培養では菌糸同士が接着してペレットを形成するためGMDでの培養が困難である。本研究では産業糸状菌である麹菌を対象に、菌糸接着しない菌糸分散型変異麹菌(菌糸分散株)を用いて、分生子調製条件、分生子の選別、GMD培養条件の詳細な検討を行った。特に発芽に要するラグタイムと菌糸伸長の均一化を図ることで、糸状菌のGMD培養法を検討した。次いで、菌糸分散株を用いて酵素高生産変異株をスクリーニングすることを目的に、酵母レポーター株を使用してGMDを用いる麹菌のβガラクトシダーゼ高生産株を取得する系の構築を試みた。

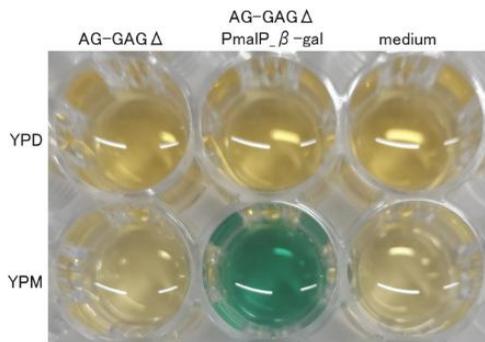
麹菌βガラクトシダーゼ生産の酵母レポーターによる検出



↓ 共培養

培地中のマルトースにより麹菌のβガラクトシダーゼが産生され、培地中のラクトースがガラクトースとグルコースに分解されることで、酵母レポーター株がGFPまたはmCherryで発光する

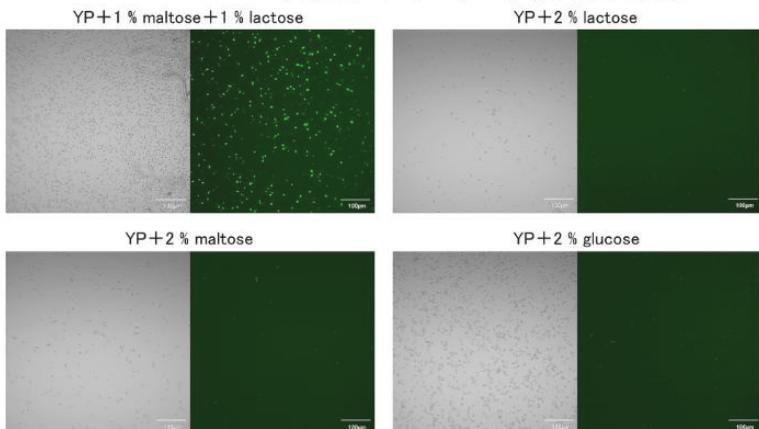
培養上清のβガラクトシダーゼ確認



50 mLの液体培地に胞子を植菌
↓
30℃で24時間左右に振とう培養
↓
培養液を回収
↓
1 mLの培養液に5 μLの40 mg/mL Xgalを加える
↓
遮光して室温で1.5時間静置

Maltose特異的にβガラクトシダーゼが誘導された

AG-GAGΔ Pmal-βgal株とレポーター株(酵母)共培養



各培地に菌株を植菌し30℃、一晚振とう培養

麹菌においてマルトースで誘導産生されたβガラクトシダーゼが、培地中のラクトースを分解してガラクトースが生成し、そのガラクトースが酵母Gal1 promoter下のGFPの発現を誘導した

麹菌胞子とレポーター酵母を包埋したGMDを作製

ドロップレットジェネレーター、2D Chip-1060DGを使用



麹菌
プレート培養で胞子形成させる
↓
胞子懸濁液を作製し胞子数をカウント

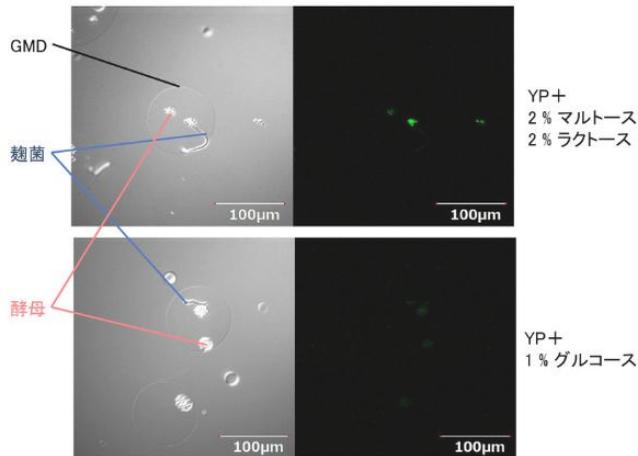
酵母
SD-ura液体培地で一晚培養する
↓
細胞数をカウント



麹菌 5 × 10⁶ 個
酵母 1 × 10⁷ 個
1つのチューブに加え、1 mLの液体培地に懸濁する

2%アガロースゲル溶液(培地にアガロースを溶解したもの)と細胞懸濁液を1:1で混ぜ合わせGMDを作製する
氷上でアガロースを固めた後、エマルジョン状態のまま30℃で振とう培養する
GMDを回収し顕微鏡観察とソーターにかける

麹菌βガラクトシダーゼ生産株と酵母レポーター株のGMD培養



麹菌βガラクトシダーゼ生産株と酵母レポーター株を混ぜ合わせてGMDを作製
↓
エマルジョン状態で30℃、8時間振とう培養
↓
培養後、エマルジョンを破壊してGMDをとりだし顕微鏡で観察

まとめ

麹菌のβガラクトシダーゼ生産株を作製し、その生産を確認した
酵母レポーター株と一緒に培養をおこない、βガラクトシダーゼの生産によりレポーター株が反応することを確認した
GMDに麹菌と酵母を包埋し、培養をおこなった
GMD内でも麹菌のβガラクトシダーゼ生産により、レポーター酵母が光ることを確認した

今後の予定

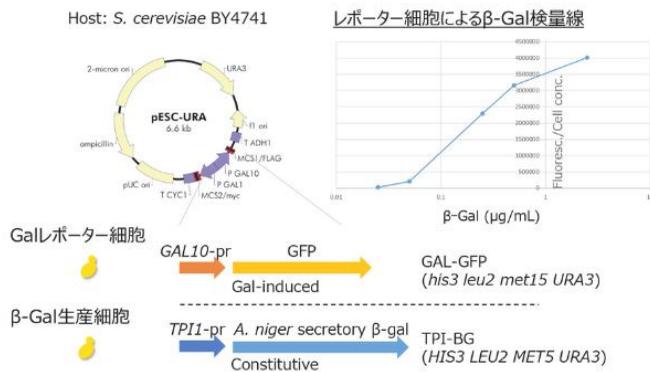
オンチップソーターで検出できるか確認をおこなう
ソートをおこない、目的とするGMDが回収できるか試す
UV等により麹菌の変異処理をおこない、βガラクトシダーゼの高生産株を取得する

GMDによる生産向上変異株の高速スクリーニング

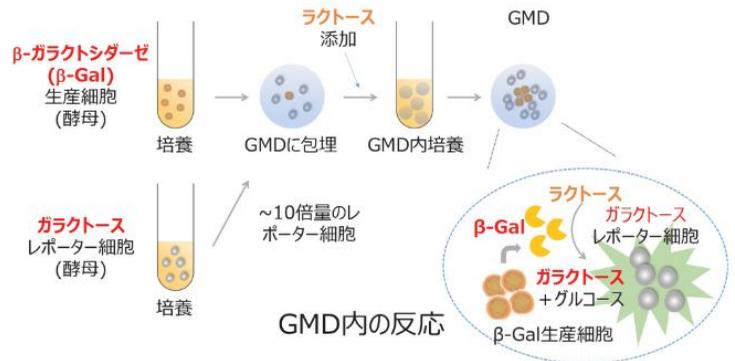
○ 町田雅之、北川治恵、岡野直子、佐野元昭*、林洋軌*、今城紫龍*(ゲノム生物工学研究所、*バイオ・化学部)

【要旨】 化合物誘導性プロモーター制御下でEGFPを発現するレポーター細胞によってGMD内で生産された化合物を検出する方法を用いて、Tryptophan、GABAなどの生産量が向上した大腸菌株、乳酸菌株などのスクリーニング系を開発した。また、酵素反応で生じる化合物の検出により、β-galactosidaseの高生産株のスクリーニング系を開発した。生産株にランダム変異を導入後、レポーター細胞と混合してGMD中に包埋し、培養後に約 3×10^5 のGMDをソートした。得られた数百の候補株を個別に培養して生産量を解析したところ、50%程度の確率で2~4倍程度に生産量が向上した株が得られた。

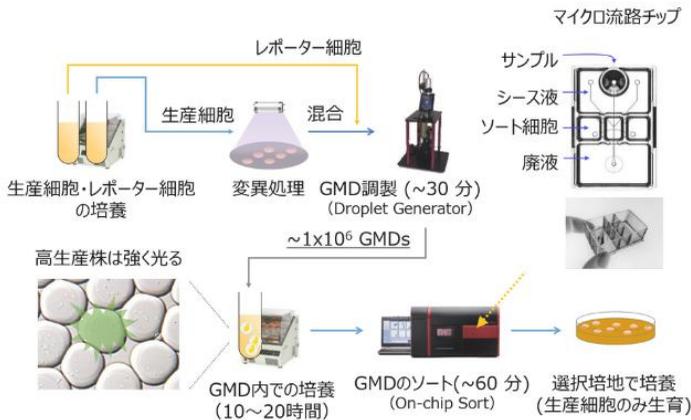
1. β-Gal生産細胞・Galレポーター細胞の構築



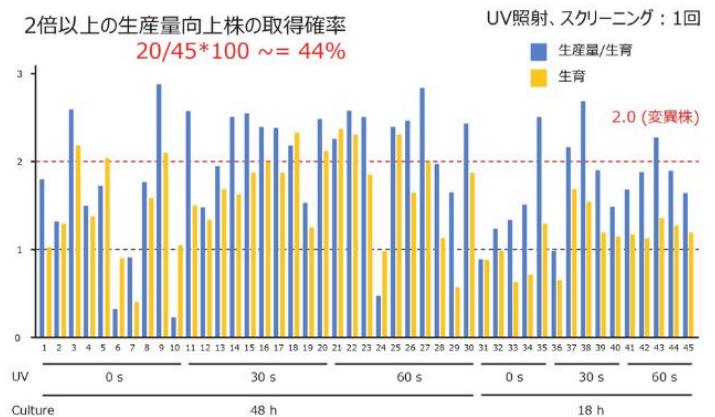
2. レポーター細胞によるβ-GalのGMD内検出



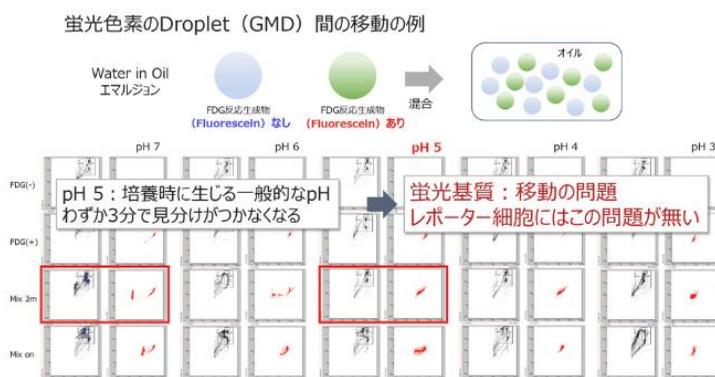
3. レポーター細胞によるスクリーニング操作



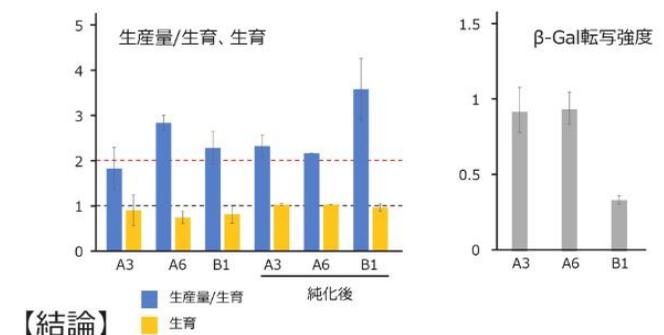
4. 取得されたβ-Gal高生産株の個別解析



5. 蛍光色素のDroplet (GMD) 間の移動の例



6. 高生産細胞の純化と転写解析



【結論】

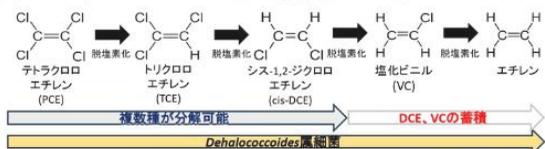
- 1週間以内に数倍の分泌生産変異株を獲得
- 多数の生産向上株から適した変位株を選別可能
- GABA、Trp、Glcなど高性能なレポーター細胞作製済み (新規作製、スクリーニング条件検討で2ヶ月程度)

マイクロ流路チップ型セルソーターを用いた *Dehalococcoides*属細菌の単離

井口智樹¹、小川貴弘²、養王田正文³
¹東京農工大学工学部生命工学科、²工学府、³大学院工学研究院

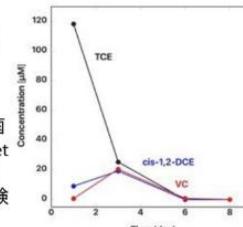
Introduction

近年、クロロエチレン類による土壌・地下水汚染が深刻な問題となっており、発がん性、神経障害等、人体への影響もあるため浄化が必要である。その浄化の手法として、微生物を用いて、汚染物質を分解するバイオレメディエーションが注目されている。クロロエチレン類は、様々な嫌気性分解菌の還元的脱塩素化反応によって分解されるが、ジクロロエチレンや塩化ビニルを無害なエチレンまで完全に脱塩素化が可能な嫌気性微生物は *Dehalococcoides* 属細菌のみである。そのため、*Dehalococcoides* 属細菌はバイオレメディエーションへの応用が期待されている。



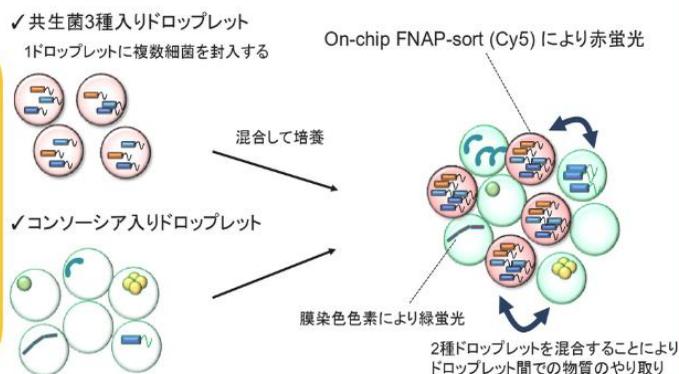
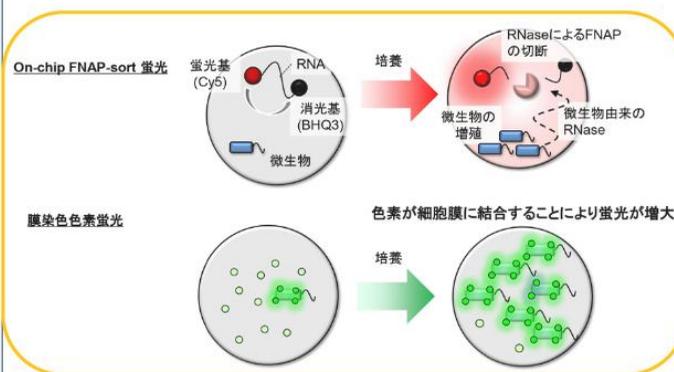
Dehalococcoides 属細菌は、単体では分解活性、生育速度ともに極めて低く、単離が困難であり、これらの活性には共生菌が必要であることがわかっている。しかし、生物学的な種々の性質を明らかにするには、単離は重要である。

私たちは、千葉県某所のクロロエチレン類を含む汚染サイトから高いTCE分解活性を持つ新規コンソーシアを構築した(右図)。また、既知のTCE分解活性を持つコンソーシアから *Dehalococcoides* 属細菌の共生菌と思われる3菌株を分離した(下図)。そこで、私たちは、Dropletと共生微生物を利用したコンソーシアからの新規 *Dehalococcoides* 属細菌の獲得を目指し、実験を行った。

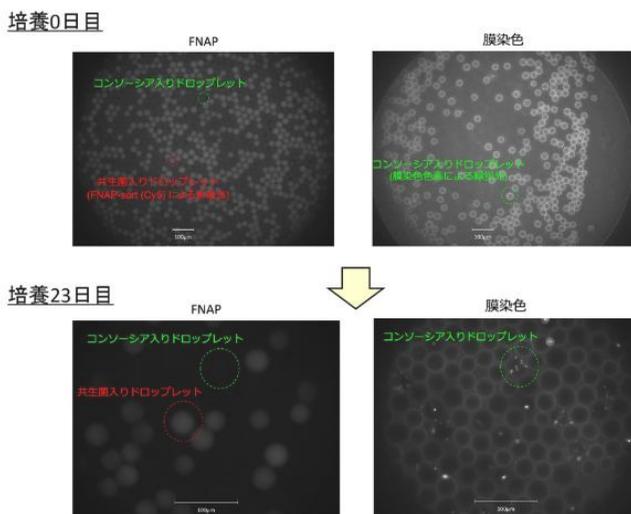


- Youngiibacter* sp.
 - Petrimonas sulfuriphila* IBARAKI
 - Desulfovibrio desulfuricans*
- 今回利用した共生微生物

Method

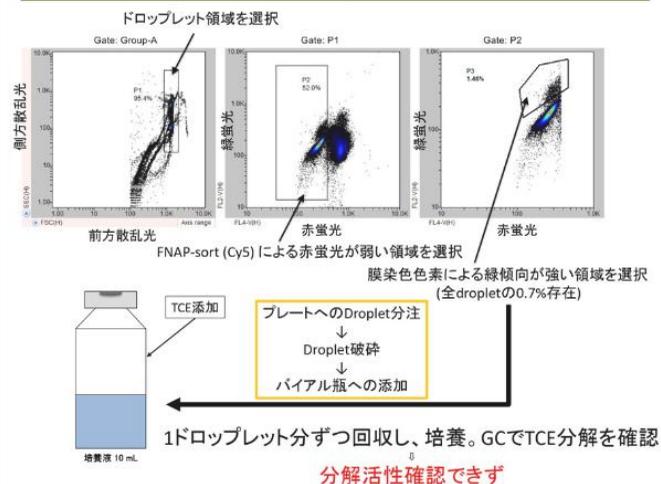


ドロップレット培養



ドロップレットの共培養により、コンソーシア入りドロップレット内での菌体の生育が確認できた
 ↓
 共生微生物入りドロップレットとの相互作用

ソーティング



Conclusion

- ✓ 共生菌入りドロップレットとの共培養でコンソーシア入りドロップレット内での菌体の生育が確認できた
- ✓ バイアル瓶での分解活性は確認できなかった
- ✓ 培地が合っていない(共生菌が生産する成分が必要、etc...)等、培養環境を見直す必要がある

膜染色試薬を用いた ドロップレット内における微生物増殖検出

～ダイレクトな微生物染色により菌体数を反映した検出が可能～

▶ Turn-on型膜染色色素を用いた細胞膜の染色による細胞数依存的な検出系

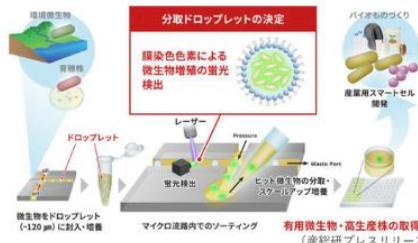
- ・ 膜染色色素と一緒に封入するだけでドロップレット内の増殖微生物を蛍光染色
- ・ ドロップレット内に存在する微生物数を指標とするスクリーニングへの応用
- ・ 細胞膜は原核、真核問わずに存在するためユニバーサルな検出系として機能

要旨

ドロップレットを用いたミリオンスクリーニングにおいて、微生物を含むドロップレットと含まないドロップレットを見分ける技術は計測評価の基盤となる。本研究では、微生物の膜成分を蛍光染色することでWater-in-oilドロップレット内での微生物の増殖の有無を判断する新規な方法を開発した。大腸菌をドロップレットに封入する際にTurn-on型の膜染色試薬（例：MiMe-stain試薬）を共存させることで、菌数に依存した蛍光強度を得ることが可能であった。当該方法によって様々な微生物が存在または増殖しているドロップレットを選択的に検出・分取できることを示したほか、増殖の度合いを定量的に評価できることが明らかになった。

WODL内における微生物増殖検出

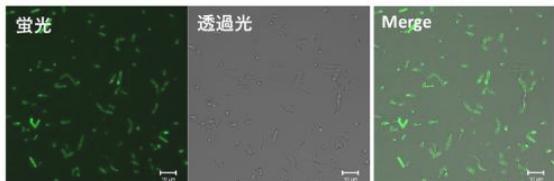
シングルセルレベルでの増殖性の評価はドロップレットの強みの一つ



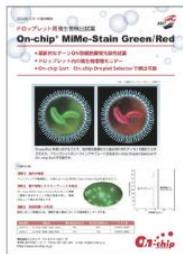
FNAP-sort: 感度が高いが、培地成分等によるバックグラウンドに課題、必ずしも微生物数を直接反映していない

膜染色色素の特徴

- ・ 膜に局在したときに蛍光強度が著しく上昇する蛍光試薬
- ・ どの微生物・細胞にも膜成分は存在するため、種類を問わない
- ・ 一定の特異性があり、微生物でないものを除ける可能性がある
- ・ 細胞の数と膜成分の量は相関するため、細胞数依存的な検出
- ・ 他の指標との組み合わせで、細胞数を規格化した考察が可能
- ・ 細胞への毒性が低い



膜染色色素 (Red) によって染色された土壌微生物の共焦点顕微鏡画像

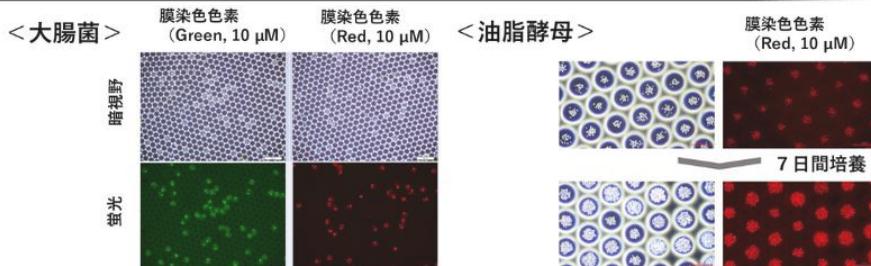


ドロップレット用微生物検出試薬 On-chip MiMe-Stain Green/Red

オンチップ・バイオテクノロジーズより
販売中 (2024年10月1日)

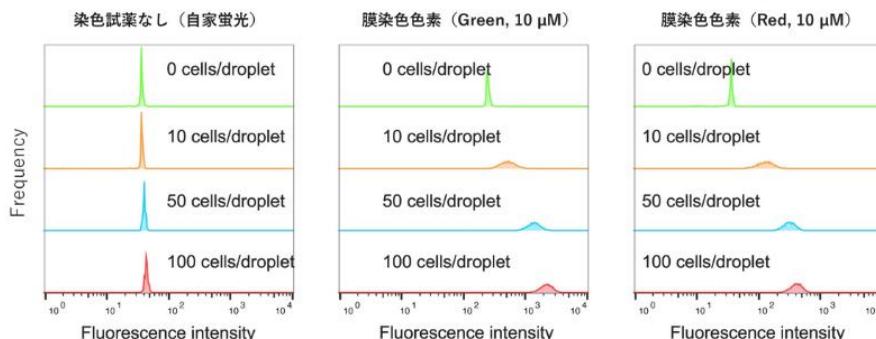
謝辞: この成果は、国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO) の委託業務 (JPNP20011) の結果得られたものです。

ドロップレット内での微生物染色例



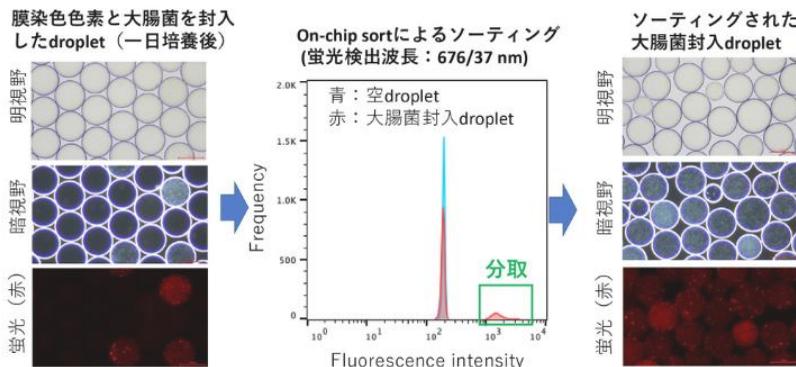
▶ 細胞が増殖しているドロップレットを蛍光検出することが可能

ドロップレットソーターによる細胞数依存的な蛍光強度の検出 (大腸菌)



▶ ドロップレット内に封入された大腸菌細胞数に依存した蛍光強度を示す

膜染色色素によるドロップレットソーティングと分取



$\lambda=0.2$ でdropletに封入した大腸菌 (膜染色色素 20 μM final conc.) を一日培養した後のソーティング結果と分取前後のdropletの顕微鏡像

▶ 膜染色色素の蛍光を指標に、微生物が増殖したドロップレットを分取可能

(特開2024-018130)

○佐々木章¹、星野美羽^{1,2}、大田悠里^{1,3}、森田雅宗¹、横田亜紀子¹、陶山哲志¹、野田尚宏^{1,2}

¹産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門、²東京大学大学院 新領域創成科学研究科、

³(株) オンチップ・バイオテクノロジーズ

28

連絡先: akira.sasaki@aist.go.jp

産総研
ともに挑む。つぎを創る。

Water-in-oilドロップレット技術を用いた超高効率なバクテリオファージスクリーニングの手法

○Miu Hoshino^{1,2}, Yuri Ota^{2,3}, Tetsushi Suyama², Satoshi Tsuneda⁴, Naohiro Noda^{1,2,4}
¹University of Tokyo, Grad. Sch. Frontier Science, ²AIST BMRI, ³On-chip Biotechnologies Co. Ltd.,
⁴Waseda University, Grad. Sch. Advanced Science and Engineering



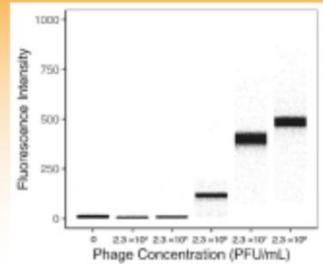
Contact: Miu Hoshino (miu-hoshino@aist.go.jp)
 Naohiro Noda (noda-naohiro@aist.go.jp)

Background and Outline

- Water-in-oil droplets are miniscule drops of water dispersed in oil. Each droplet acts as an individual compartment.
- The high throughput of droplet technology is extremely suitable for use in screening experiments.
- Co-cultivation of T2 phage and host bacteria within droplets resulted in phage propagation within droplets. Progeny phage were detained in their respective droplets.
- Addition of YOYO-1 into droplets enabled differentiation of droplets with phage via droplet fluorescence intensity.
- Isolation of droplets enabled isolation of phage within.

Phage quantity and fluorescence

Fluorescence intensities of droplets containing YOYO-1 and various concentrations of T2 phage were measured.



Fluorescence intensity reflects quantity of phage within droplets

YOYO-1

- Cell membrane impermeant
- Nucleic acid intercalator



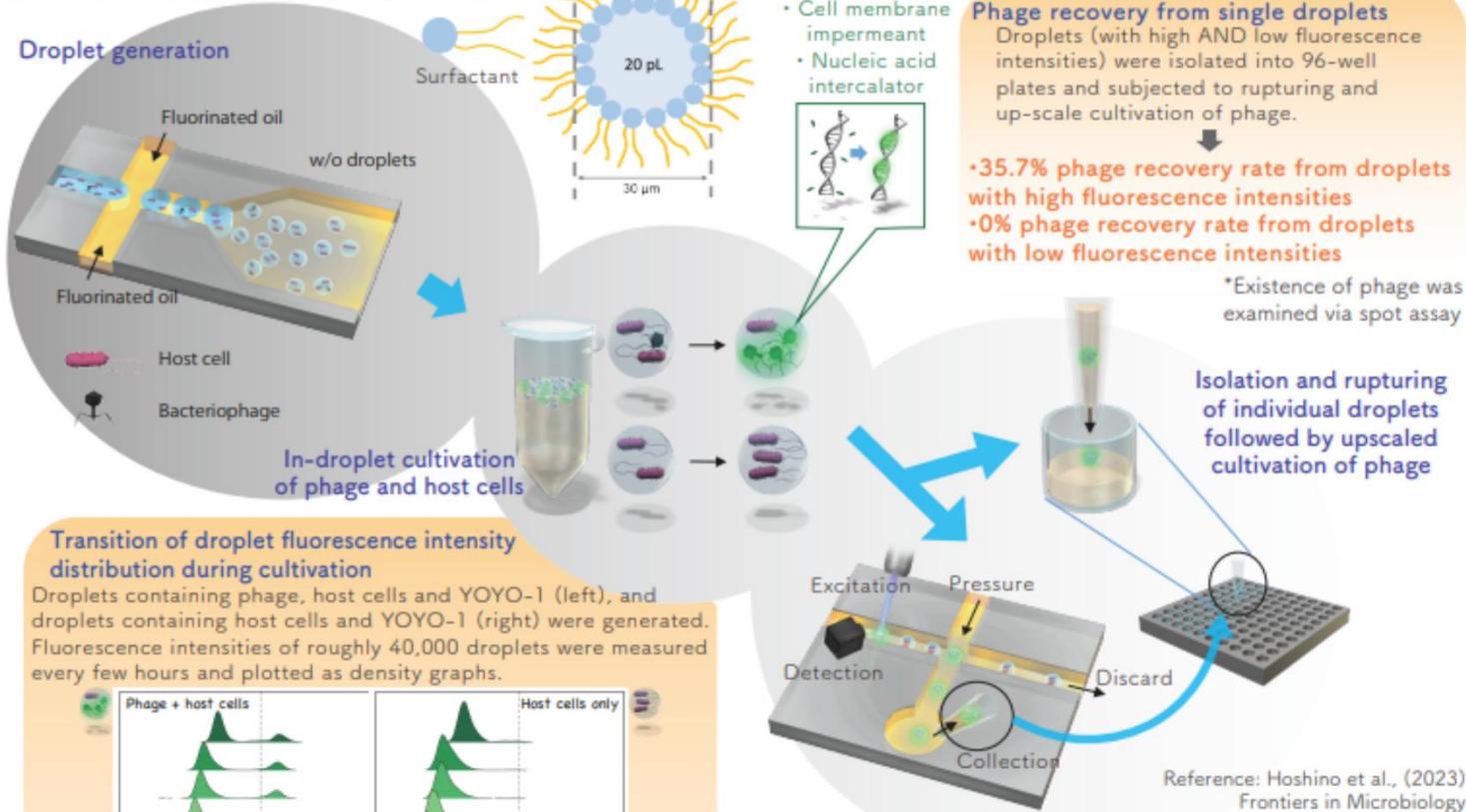
Phage recovery from single droplets

Droplets (with high AND low fluorescence intensities) were isolated into 96-well plates and subjected to rupturing and up-scale cultivation of phage.

- 35.7% phage recovery rate from droplets with high fluorescence intensities
- 0% phage recovery rate from droplets with low fluorescence intensities

*Existence of phage was examined via spot assay

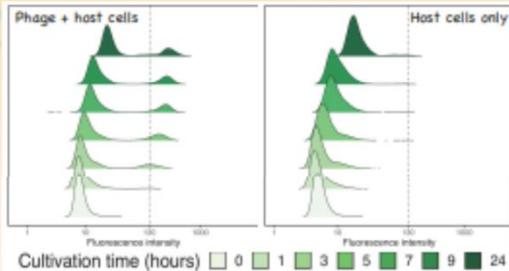
The finalized flow for phage screening



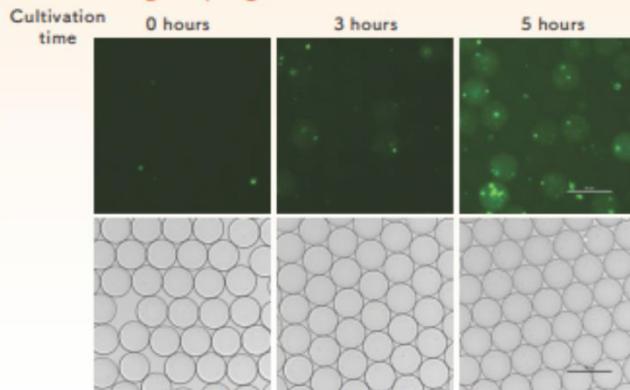
Reference: Hoshino et al., (2023) Frontiers in Microbiology

Transition of droplet fluorescence intensity distribution during cultivation

Droplets containing phage, host cells and YOYO-1 (left), and droplets containing host cells and YOYO-1 (right) were generated. Fluorescence intensities of roughly 40,000 droplets were measured every few hours and plotted as density graphs.



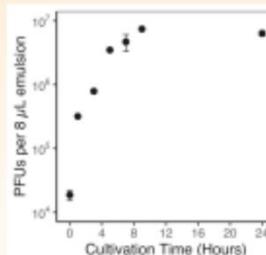
- Fluorescence intensities started increasing after only 3 hours of cultivation
- Proportion of non-fluorescent droplets can be used to calculate original phage titer



Droplets observed over time

Growth of in-droplet phage titer during cultivation

A fixed volume of emulsion was sampled from the droplets generated with phage, host cells and YOYO-1 every few hours. These were ruptured and the contents used to perform plaque assays.



- Phage propagated rapidly in the first few hours (~5hours) after segregation into droplets
- Phage stopped propagating after 9 hours

Conclusions and future directions

- This method can be used not only for isolation of phage, but also for determining titer of phage suspensions
- Phage recovery rate was 35.7% from fluorescent droplets, but none were recovered from non-fluorescent droplets
- Modifications may be necessary for screening non-lytic phage
- This method requires no cultivation on agar, which should simplify acquisition of phages infecting hard-to-culture hosts.

Acknowledgements -This work was supported by JST SPRING, Grant Number JPMJSP2108.
 -This work is based on results obtained from project, JPNP20011, commissioned by the New Energy and Industrial Technology Development Organization (NEDO).
 -This work was supported by Cabinet Office, Government of Japan, Cross-ministerial Strategic Innovation Promotion Program (SIP), "Technologies for Smart Bio-industry and Agriculture" (funding agency: Bio-oriented Technology Research Advancement Institution, NARO).

Introduction

■ 対象細胞・酵素の特徴

*1: R. Ariyoshi, N. Kamiya et al., *Bioconjugate Chem.*, 35, 340-350 (2024)

対象①: 抗体産生細胞 (ハイブリドーマ)



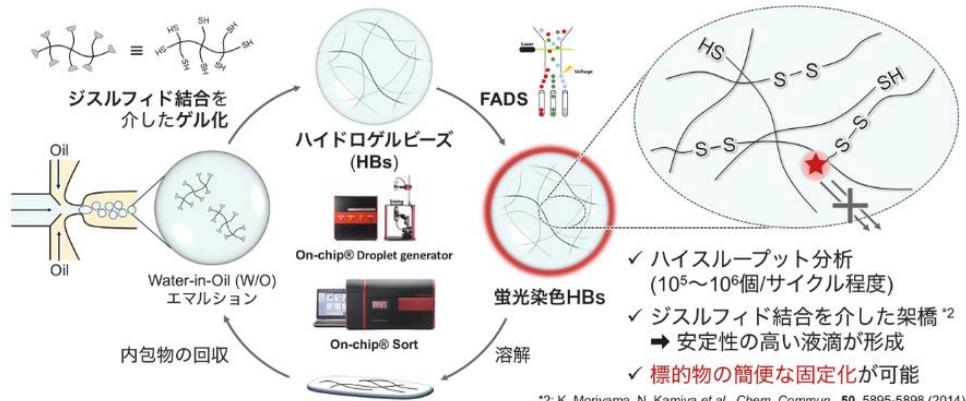
✓ 大量生産が可能 × 細胞株間での抗体産生量に差
高い抗体産生能を有する細胞株の取得が必須

対象②: 活性型微生物由来トランスグルタミナーゼ前駆体 (EzMTG)¹



✓ グルタミン (Q) と リジン (K) を架橋 × 活性に寄与する変異箇所
の特定が困難
高活性なEzMTGの取得と変異箇所の特定が必要

■ ハイドロゲルビーズ (HBs) × 蛍光活性液滴ソーティング (FADS) からの選抜系

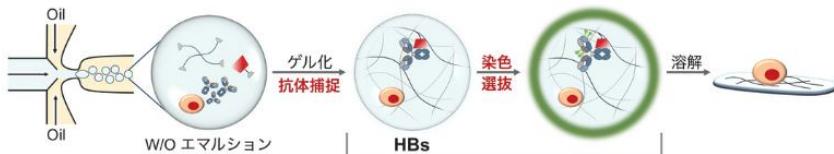


✓ ハイスループット分析 (10⁵~10⁶個/サイクル程度)
✓ ジスルフィド結合を介した架橋^{*2}
→ 安定性の高い液滴が形成
✓ 標的物の簡便な固定化が可能

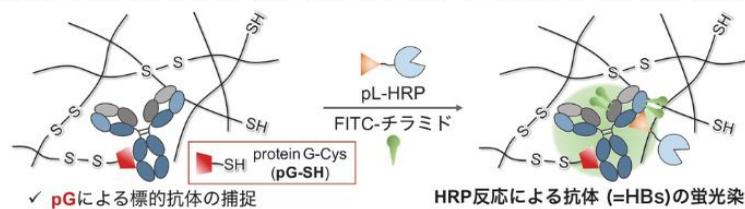
*2: K. Moriyama, N. Kamiya et al., *Chem. Commun.*, 50, 5895-5898 (2014).

Strategy & Experimental results

■ ハイドロゲルビーズ (HBs) を用いた抗体分泌細胞選抜系

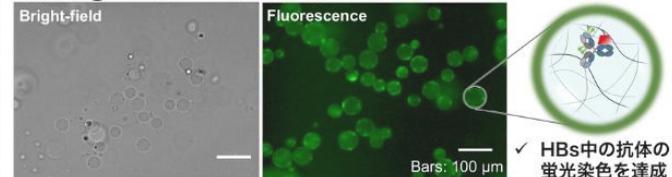


戦略: HBs内での抗体結合分子による抗体捕捉・TSA法に基づくHBsの蛍光染色^{*3,4}



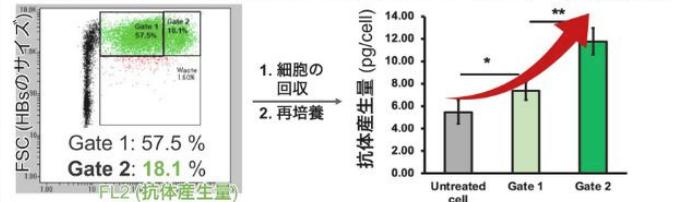
✓ pGによる標的抗体の捕捉
^{*3,4: D. A. Wulandari, N. Kamiya et al., *ACS Biomater. Sci. Eng.*, 10, 628-636 (2024); *J. Biosci. Bioeng.*, 138, 89-95 (2024).}

■ 精製IgGを用いた概念実証



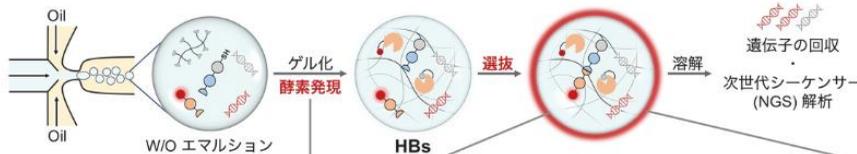
✓ HBs中の抗体の
蛍光染色を達成

■ 培養後のHBsの選抜および抗体産生量評価



高い抗体産生能を有するハイブリドーマの選抜・回収に成功

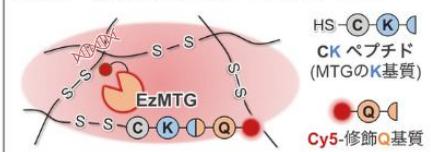
■ ハイドロゲルビーズ (HBs) を用いた酵素選抜系の構築



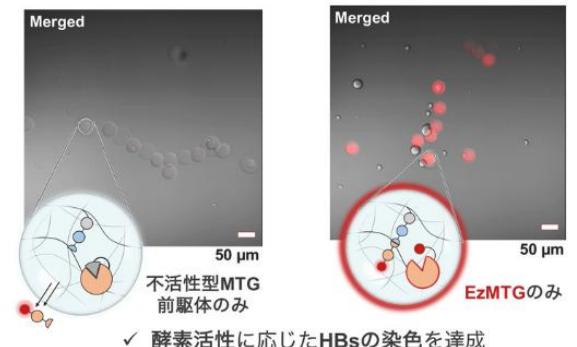
戦略①: 無細胞タンパク質合成 (CFPS)



戦略②: 酵素活性に基づいたHBsの染色

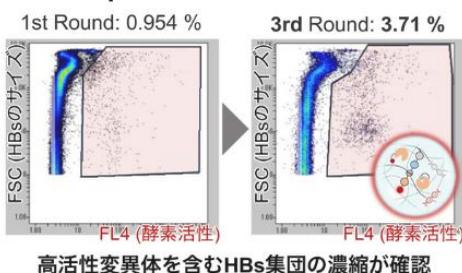


■ MTG活性に応じたHBsの染色



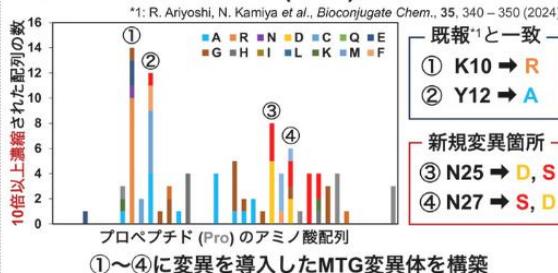
✓ 酵素活性に応じたHBsの染色を達成

■ On-chip® Sort を用いたHBsの選抜



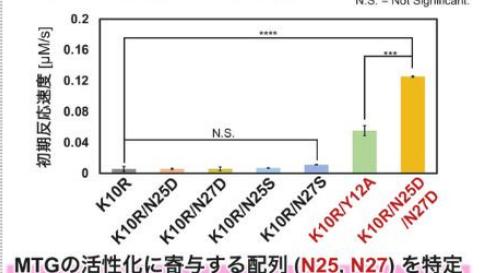
高活性変異体を含むHBs集団の濃縮が確認

■ 次世代シーケンサー (NGS) 解析



①~④に変異を導入したMTG変異体を構築

■ 獲得変異体の活性評価



MTGの活性化に寄与する配列 (N25, N27) を特定

酸化還元応答性HBs: 目的細胞・酵素選抜の場として機能 → FADSベースの選抜系における基盤技術の確立を目指す。

Conclusion

- ✓ HBs中で抗体を検出するためのシステムと抗体産生量の優れた細胞の取得に成功
- ✓ HBsとCFPSからなる酵素選抜系により優れた架橋活性を有する新規EzMTG変異体を取得

Acknowledgement

本研究はNEDOバイオものづくりプロジェクト (JPNP20011) ならびにJSPS科研費 (JP23H00247) により実施されました。

微小液滴作製技術を用いたハイスループットスクリーニングによる クルマエビ類病原性 *Vibrio harveyi* に対する拮抗細菌候補株の単離

○湯浅 啓 (海洋大)・大田 悠里 (オンチップ・バイオテクノロジー)
小西 佳代・古川 美穂・野崎 玲子・近藤 秀裕・廣野 育生・小祝 敬一郎 (海洋大)

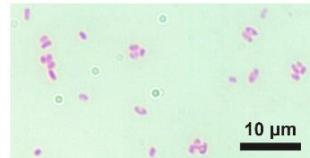
背景

クルマエビ類養殖では *Vibrio* 属菌などの病原細菌による細菌感染症が問題となっている。その対策として、病原細菌を増殖抑制・殺菌可能な拮抗細菌を利用した生物学的防除が注目されている。これまでに *Bacillus* 属菌や乳酸菌などの細菌が水産病原細菌に対して拮抗性を示すことが報告されている。一方で、寒天平板培地上での画線共培養による古典的拮抗細菌スクリーニング法の非効率性が本防除法を実用化する上でのボトルネックとなっている。

近年、直径30-100μmの微小液滴を作製する技術を用いたハイスループットな拮抗細菌スクリーニング法が報告されている。本手法は1分間に約10万個の液滴を作製できるため、従来のスクリーニング法に比べて高い効率性を期待できる。一方で、本スクリーニング法が適用された病原体は少なく、水産養殖対象生物で問題となっている病原細菌に対して適応された報告はない。

本研究では、微小液滴スクリーニング法を用いてクルマエビ類病原細菌に対する拮抗細菌のスクリーニング法を開発することを目的とし研究を行った。モデルケースとしてクルマエビ類病原細菌の一つである *Vibrio harveyi* を使用した。

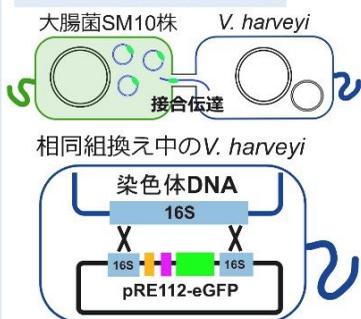
Vibrio harveyi TUMSAT-2019



- 2019年に沖縄県久米島のクルマエビ養殖場で単離、全ゲノムシークエンス済み (Yuasa, H et al., 2024)
- クルマエビ類に対してピブリオ病や急性肝臓臓壊死症などを引き起こす病原細菌

1. 蛍光発現 *Vibrio harveyi* の作出

相同組換え遺伝子導入



- *V. harveyi*由来の16S rDNAが組み込まれたベクターを大腸菌SM10株内に導入し、接合伝達によりベクターを *V. harveyi* に導入する。
- 16S rDNA同士の相同組換えにより目的遺伝子 (RiboJ-BCD2-eGFP) を *V. harveyi* の染色体上に導入する。
- RiboJおよびBCD2により、eGFPの発現を増強できる。

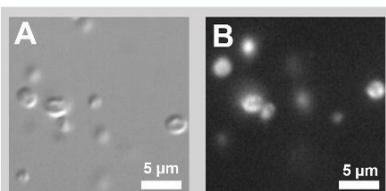


図1. 染色体上にGFP発現遺伝子を組み込んだ *V. harveyi*。(A) 明視野、(B) 蛍光視野。

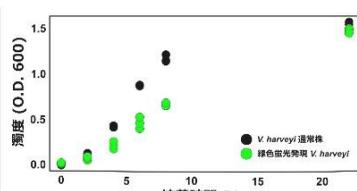


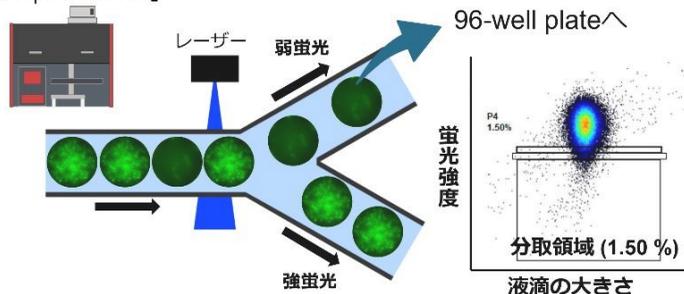
図2. 分光光度法に基づく通常株と蛍光株の増殖速度の比較。

- ✓ 緑色蛍光発現株の作出に成功したが、通常株に比べて増殖速度が遅くなった。
- ➡ 通常株との表現型の差が少ない蛍光株の作出を目指す。

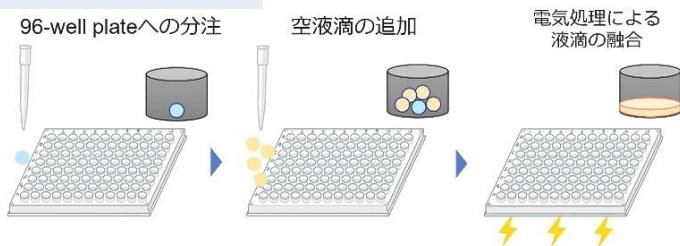
3. 消光液滴の分取

① 蛍光強度に基づく消光液滴の分取

オンチップ・バイオテクノロジー
「Droplet Selector」



② 液滴内細菌の再培養



2. 微小液滴内での共培養

① 共封入

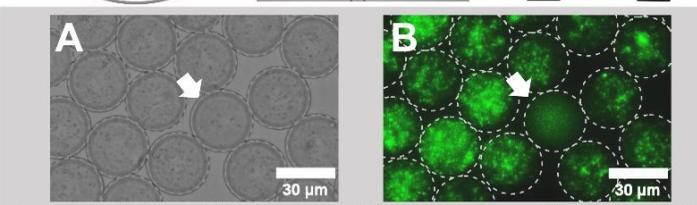
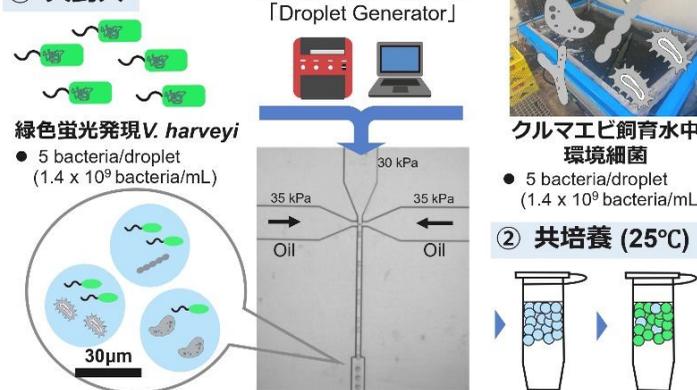


図3. 72時間共培養後のエビ飼育水微生物と蛍光発現 *V. harveyi* の様子。(A) 明視野、(B) 蛍光視野。

- ✓ クルマエビ飼育水中環境細菌との共培養により、蛍光強度が相対的に低くなった液滴を確認した。

4. 取得した拮抗細菌候補株の分析

① 16S rDNA 遺伝子シーケンス

- これまでに3属24株の拮抗細菌候補株を取得

② 拮抗性再評価



液滴内共培養

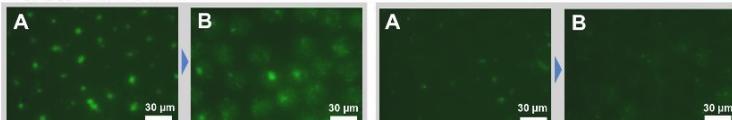


図4. 蛍光発現 *V. harveyi* のみを液滴内で培養した様子。(A) 0時間後、(B) 22時間後。

図5. 蛍光発現 *V. harveyi* と拮抗細菌候補株を液滴内で共培養した様子。(A) 0時間後、(B) 22時間後。

- ✓ 3属24株からなる拮抗細菌候補株の単離に成功し、一部の株の液滴内での *V. harveyi* に対する増殖抑制性を確認できた。一方で、寒天平板培地や液体培地を用いた場合の拮抗性は確認できていない。
- ➡ スクリーニング法および拮抗性再試験法を見直し、新規拮抗細菌候補株の取得を目指す。

謝辞

本研究の進行にあたり、株式会社オンチップ・バイオテクノロジー、長浜バイオ大学環境合成生物学研究室の石川聖人准教授、理化学研究所植物-微生物共生研究開発チームの市橋泰範チームリーダーおよび成川恵開発研究員より、貴重なご指導とご助言を承りました。心から感謝申し上げます。

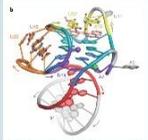
Selection of novel fluorogenic RNA aptamers by affinity- and fluorescence-based method and their characterization

Tomotaka Tayama, Keisuke Ito, Sotaro Uemura, and Ryo Iizuka

Dept. of Biological Sciences, Graduate School of Science, The University of Tokyo

Background

Fluorogenic RNA aptamers bind to fluorogenic molecules and dramatically enhance fluorescence. They are expected to be applied to RNA imaging in live cells, but the brightness is often insufficient. The demand for brighter fluorogenic RNA aptamers is increasing.



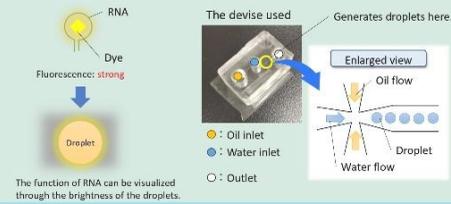
3D structure of Mango III Trachman et al. (2019) *Nat. Chem. Biol.* 15, 473



In vitro-transcribed Mango I enhances TO1-B fluorescence.

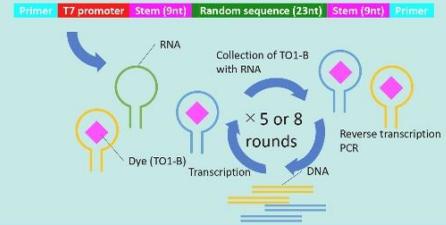
Outline of research

We performed affinity-based selection (systematic evolution of ligands by exponential enrichment: SELEX), followed by fluorescence-based selection using water-in-oil (w/o) droplets to obtain fluorogenic RNA aptamers.

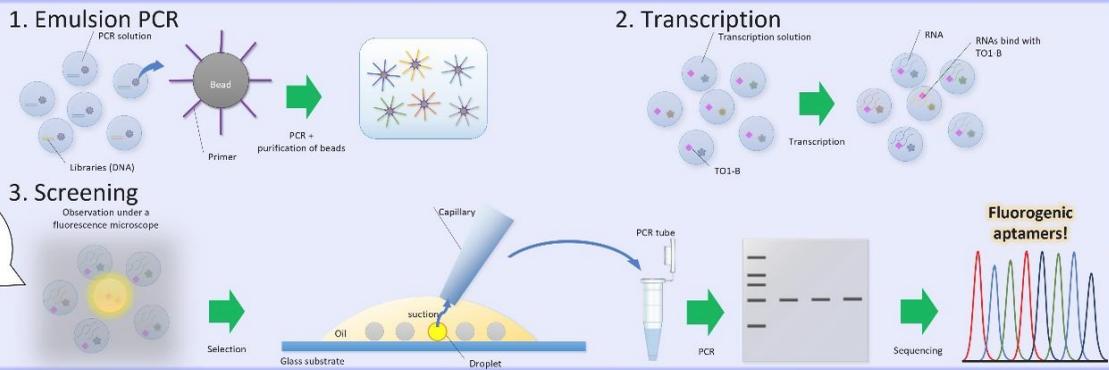


Procedures for affinity-based selection

Based on the structure of Mango I, a DNA library containing a 23-nucleotide randomized region flanked by constant stem-loop-forming sequences and primer-binding sites was prepared. SELEX was performed to enrich RNAs with binding affinity for the dye (TO1-B).

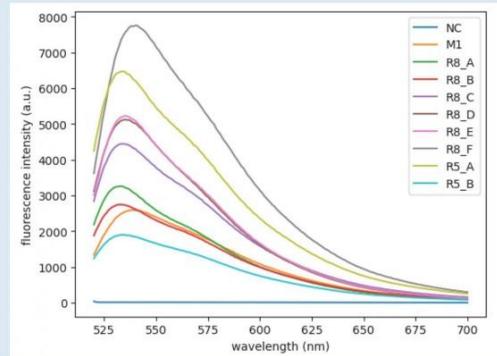


Procedures for fluorescence-based selection



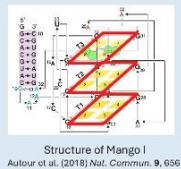
Results

Fluorescence spectra with and without purified RNAs



Sequences of obtained RNAs

Name	Sequence	Emission max wavelength (nm)	Relative fluorescence intensity
Mango I	GAAGGGACGGTGGAGAGGAGA	539	1.00
8_A	AGATTAGGTGGTGGTTGTTAGT	533	1.14
8_B	AGATTGGAGGGTGGTGGTTT	533	1.06
8_C	GTGGAGGGTAGGGAGGGATTAT	534	2.11
8_D	ATCAGGAGGGTGGTGGTTGTT	535	1.8
8_E	GAGTGGTGGTGGAGTGGGT	535	1.31
8_F	ATTGGTGGAGTGGAGTGGGTC	540	2.56
5_A	TGGGTGGTGGGTCGAGGGAC	534	2.58
5_B	TTAGGGAGGTGAGGGAGGGTTTA	534	0.69

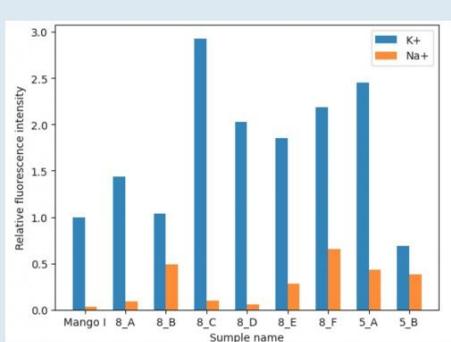


Structure of Mango I *Autor et al. (2018) Nat. Commun.* 9, 656

The fluorescence spectra of the obtained fluorogenic RNA aptamers were measured. Relative intensity refers to the comparison of fluorescence peak intensities to that observed in the presence of Mango I. R5 and R8 indicate the number of rounds of the SELEX selection. The presence of R8_F and R5_A resulted in about three times stronger fluorescence compared to that of Mango I. The results suggest that the combination of affinity- and fluorescence-based selections enables the identification of fluorogenic RNA aptamers with a high fluorescence enhancement capacity.

The Mango aptamers form a guanine quadruplex structure (G4 structure), where four guanines are arranged in a planar configuration, as shown in the figure on the right. The structure provides an appropriate surface for the binding of TO1-B with Mango aptamers. The RNAs contained four islands with at least two adjacent guanines, suggesting that they form a G4 structure.

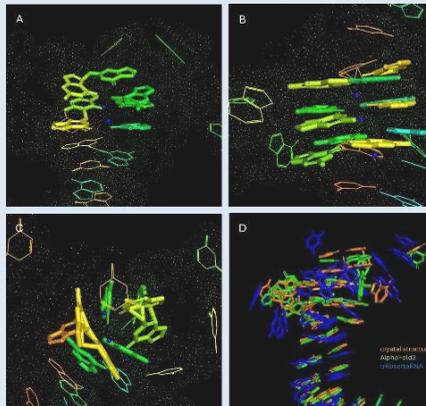
Potassium ion requirements for fluorescence enhancement



Potassium ions stabilize the G4 structures of Mango aptamers to enhance the fluorescence of TO1-B. The ion requirements of the fluorescent RNA aptamers were tested.

For all RNAs, TO1-B fluorescence was increased in the presence of potassium ions compared to that in the presence of sodium ions. The results suggest that potassium ions stabilize the structure of the obtained RNAs, enhancing TO1-B fluorescence.

Prediction of the 3D structures



The 3D structures of the RNAs were predicted using AlphaFold3. In the presence of potassium ions, some RNAs formed a G4 structure (A, B), while others did not (C).

D shows a comparison between the crystal and predicted structures of Mango III, a member of the Mango aptamers. The structure predicted by AlphaFold3 was in better agreement with the crystal structure, which was better than that predicted by trRosettaRNA.

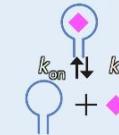
Future works

Determination of the 3D structure



Although the structure prediction suggests that the obtained RNAs form a G4 structure, it remains unclear whether these results accurately reflect the actual structure. Structure determination will be performed to confirm the actual structure.

Determination of kinetic parameters



The dissociation constants between the RNAs and TO1-B will be determined by titrating RNAs into solutions containing a fixed concentration of TO1-B. Additionally, the rate constants will be examined.

Design of new aptamers

Based on the structural information, the RNAs will be designed to have higher fluorogenic properties.

マイクロドロプレット法による光合成細菌のスクリーニング

矢部 修平¹、市橋泰範²

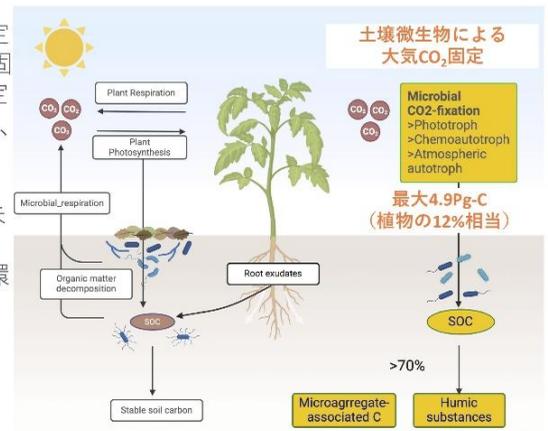
(¹ 理研BRC・植物微生物共生研究開発チーム、² 理研CSRS・ホロビオント・レジリエンス研究チーム)

研究背景

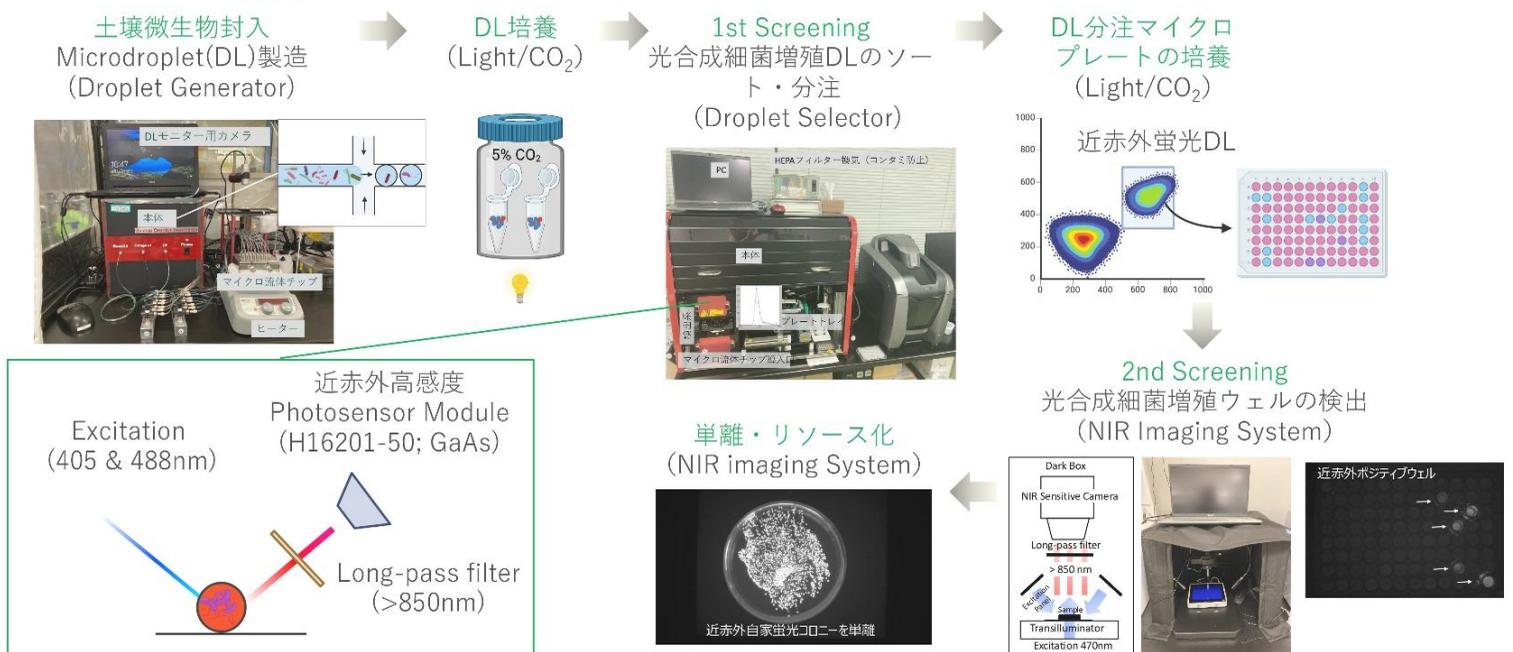
従来、大気CO₂の固定は主に植物が担うと考えられてきたが、土壌微生物による固定も年間4.9 Pg-Cと、植物の約12%に相当する規模であることが判明している。この固定されたCO₂は土壌有機炭素 (SOC) となり、その70%以上がフミン画分として安定化し、土壌構造の維持に寄与している (Xiao et al., 2021)。とりわけ光合成細菌は、土壌表面での大気CO₂固定において重要な役割を果たしていると考えられる。

近年、メタゲノム解析により、原核生物において門レベルで新しい光合成系統が発見され、一部は培養化されるなど (Yabe et al., ISME C, 2022)、陸上環境には未培養の多様な光合成系統が存在することが分かってきた。このような未培養の光合成細菌を培養化することは、大気CO₂固定を強化する微生物資材の開発や農業及び環境、人工光合成などへの応用のためのリソースとなることに留まらず、光合成進化の理解を深める上で重要な研究材料となる。

本研究では、バクテリオクロロフィルを持つ光合成細菌が発する800-900nmの近赤外自家蛍光を指標に、マイクロドロプレット法を用いて効率的に光合成細菌をスクリーニングする方法を開発することを目的とした (技術開発中)。



スクリーニング戦略



光合成細菌 *Rhodospseudomonas palustris* と *E. coli* を用いた検証

<方法>

ゲルの準備

- ・ 3% 低融点アガロースゲル (2×) を溶解

培養液の準備

- ・ 前培養
- ・ 80cells/DLに濃度調整

ゲルと培養液を混合

- ・ ゲルと培養液を等量混合
- ・ 5μmフィルター濾過

Droplet GeneratorでDL製造

- ・ 2D Chip-1100DGチップ

DL培養

- ・ w/o状態で培養 (光照射)

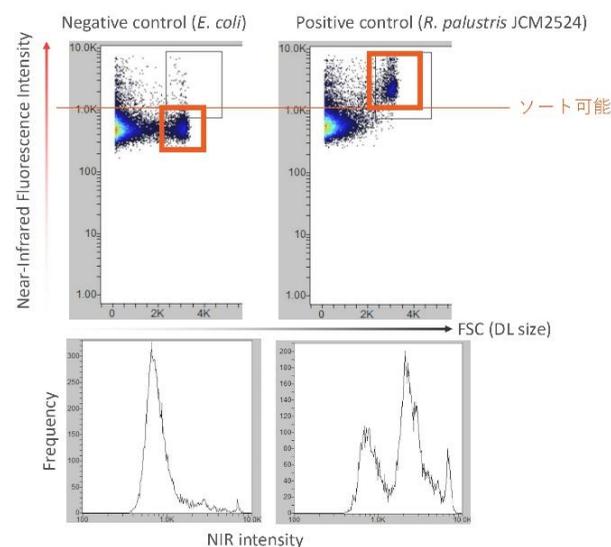
DLの破壊

- ・ DLと等量の10%PFOを添加・反転混和
- ・ DLと等量の培地を添加
- ・ プラズマボールで破壊
- ・ DL層を回収

Droplet Selectorでソート・分注

- ・ 近赤外検出系でソート可能か検証
- ・ マイクロプレートに分注し培養

<結果と課題>



Positive Controlの光合成細菌とNegative Controlの大腸菌を封入したDLは、導入したGaAs近赤外検出系でソートできるレベルで検出可能であった。

しかし、マイクロプレート分注・培養後に増殖が確認できなかった。ゲルドロプレットに封入されている細胞が培養液中に移行しなかった可能性、またはドロプレット破壊時のPFOで死滅した可能性が考えられた。



株式会社オンチップ・バイオテクノロジーズ

〒184-0012 東京都小金井市中町2丁目16-17

デモ、見積もり、技術に関するお問い合わせはこちら

✉ info@on-chip.co.jp

☎ 042-385-0461

🌐 <https://on-chip.co.jp/>

official site

