



MMCとは？



微量液滴 - 微生物培養システム(MMC)は、マイクロフルイディクス技術とドロップレット技術を融合したテクノロジーです。1本のシリコンチューブ内で最大200個のドロップレットを形成し、その中で様々な細菌の培養を行います。また、各ドロップレット内の培養条件を変えることで、ターゲットのスクリーニングを行うことも可能です。

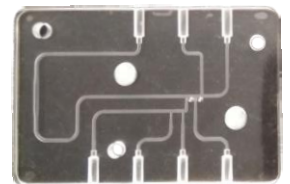
さらに、培養を行いながらODおよび蛍光強度を測定し、必要に応じて自動的に培地交換や継代、マイクロチューブにサンプルの回収を行います。

MMCのキーテクノロジー

マイクロフルイディクス技術

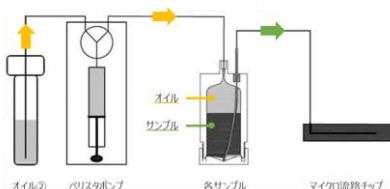
マイクロフルイディクス技術とは微量の流体を扱う技術の総称です。この技術を利用すれば、貴重なサンプルや培地の量を大幅に減らすことができ、大幅なコストダウンを実現できます。かつ、微量な液体 (2 μ l) の中で反応を行うので、極めて厳密に実験の制御が可能となります。そのため、細菌のハイスループットスクリーニング分野において幅広い応用が期待されている技術となります。

MMCのチップ(右図)も、マイクロフルイディクス技術を利用することで微量の液体を精度良く扱うことが可能となりました。



MMC専用チップ

ドロップレットの形成原理



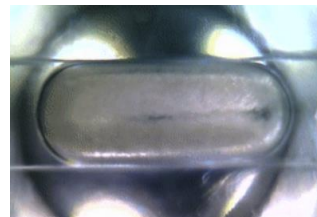
MMCはペリスタポンプを利用して送液制御を行っています。サンプルと同等量のオイルがペリスタポンプから押し出されることにより、サンプル瓶内のサンプルを同じ分マイクロ流路チップに移動させます。それにより、ドロップレットの形成を行います。

従来法(振盪培養)との比較

準備作業・培養

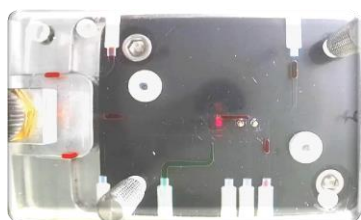
従来法の場合、フラスコ1つ1つに培地を充填し、菌液を添加、インキュベーターで培養を行うことから、かなりの手間とコストが必要になります。

一方、MMCは5秒間に1個のスピードで液滴を形成し、最大200個まで形成することが可能です。また通気性チューブ内を往復移動するため、安定した環境下で十分に酸素を供給しながら培養が実現できます。



液滴内で大腸菌の増殖が確認できた。

ODおよび蛍光の検出・継代培養



赤：液滴 緑：継代用培地

従来法の場合、一定時間経過後サンプルをインキュベーターから取り出し、少量の菌液を回収し生育状況の確認を行います。一度にかかる作業時間が長く、測定回数も限られてしまいます。

対してMMCは培養を行いながらODおよび蛍光強度を全自動で計測することが可能です。そのため、コンタミネーションのリスクも低く、高頻度でデータの取得が可能です。

スクリーニング・サンプル回収

従来法の場合、スクリーニングは添加剤の濃度を計算し、培地を調製しますが、細かく条件を分けるほど、準備する培地が増えてしまいます。

MMCでは全自動で添加剤の濃度勾配をかけることが可能で、濃度勾配は1~8段階で設定が可能です。さらに、MMCは目的の液滴のみを回収することも可能です。



従来の平板スクリーニングは不要である。

スクリーニング方法

スクリーニング方法を4つ設けており、お客様のご要望を柔軟にお答えいたします。

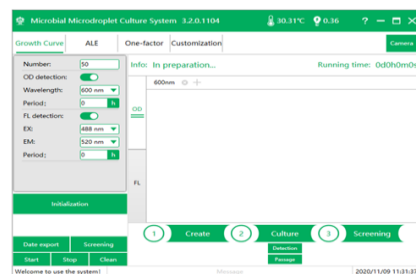
1つ目はGrowth curve：成長曲線を取得するモードです。

2つ目はALE(Adaptive evolution of E.coli)：継代培養を行うモードです。

3つ目はOne-factor：添加剤の濃度勾配をつけて培養するモードです。

4つ目はCustomize Interface：培養条件を独自に設定できるモードです。

ソフトウェアも簡単に操作ができるため、柔軟にスクリーニング方法を設定いただけます。



Application

Case 1 :

成長曲線の取得(*Pichia pastoris*)

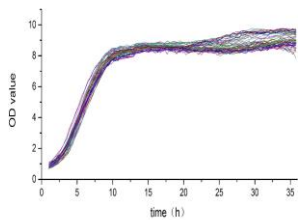
設定パラメータ

モード：Growth curve 形成液滴：50個

検出波長：600nm

培養期間：36時間

酵母の一種である *Pichia pastoris* の成長曲線の取得を行いました。一定条件下で36時間培養を行った結果、50個の液滴で均一で高い成長曲線が得られました。



一定条件下で36時間 *Pichia pastoris* を培養

Case 2 :

適応進化シュミレーション(*E.coli*)

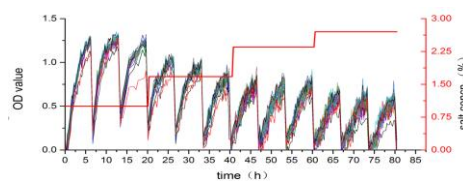
設定パラメータ

モード：ALE 形成液滴：20個

検出波長：600nm 添加因子：NaCl

継代期間：8時間/回

E.coli の適応進化のシュミレーションを行いました。8時間に1回継代を行い、3世代経過でNaCl濃度を0.75%ずつ上昇させたところ、高NaClに適応した *E.coli* が得られました。



8時間で継代し、3世代経過で NaCl濃度 を上昇させていった

Case 3 :

単一因子の影響評価(*E.coli*)

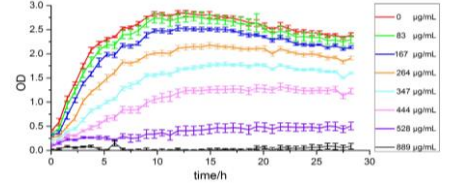
設定パラメータ

モード：One-factor

添加因子：カナマイシン

濃度勾配：8段階

E.coli にて単一因子が与える影響評価を行いました。8段階の濃度に分けたカナマイシンを添加して培養を行ったところ、濃度の違いは生育に影響を与えることが確認できました。

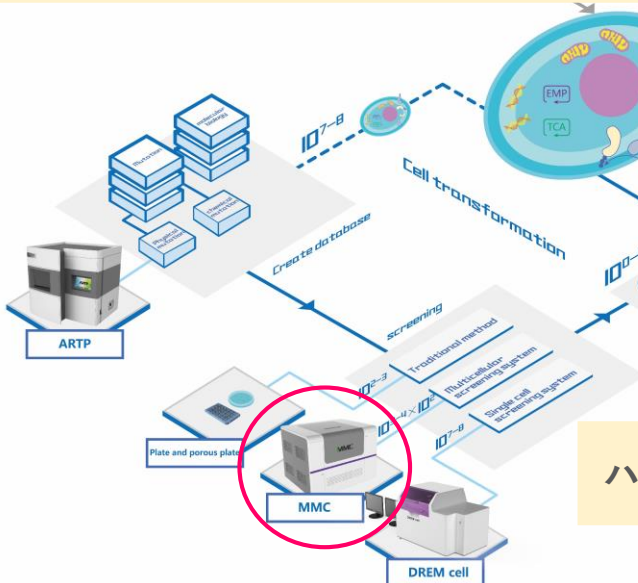


大腸菌に8段階の濃度に分けたカナマイシンを添加して培養

MMCを活用した育種フロー

TMAXTREE社では、次の3つのステップを中心に新技術の装置を開発し、一連の「ハイスループット突然変異育種プラットフォーム」を構築しています。

大規模突然変異ライブラリーの構築



生産ラインのモニタリング

ハイスループットスクリーニング



参考論文

■ High-Throughput Screening Technology in Industrial Biotechnology

(ScienceDirect, Pages888-906, 2020.08, ZENG Weizhu)

■ From nature to nurture: Essence and methods to isolate robust methanotrophic bacteria

(ScienceDirect, Pages173-178, 2020.08, Haritha Meruvua)

その他多数掲載あり

他製品(ARTP)との組合せ使用

TMAXTREE社の製品である、ARTP(常圧室温プラズマ放電誘発変異育種装置)はMMCと組み合わせて使用することが可能です。ARTPの産生するプラズマは高エネルギー活性粒子を含んでおりDNAに強いダメージを与えます。損傷したDNAは、SOS応答により修復されますが、その際ミスプライミングによって様々な変異が誘導されます。その変異体をMMCでスクリーニングすることで、優良株の樹立を従来法よりスピーディに行えます。



製品仕様

モデル	MMC – B1 (透過光モデル)	MMC – B2 (蛍光モデル)
形成液滴数	1~200 個	
液滴サイズ	2.0~3.0 μ l	
OD検出	波長：350~800 nm 検出レンジ：0~15	
励起蛍光	—	488 nm
検出方式	オンライン検出 (サンプリング不要)	
温度制御	25~40 $^{\circ}$ C (\pm 0.5 $^{\circ}$ C, 室温25 $^{\circ}$ C)	
自動化項目	継代培養 OD検出 添加剤の濃度勾配調整 スクリーニング	継代培養 OD, 蛍光検出 添加剤の濃度勾配調整 スクリーニング
制御項目	OD値に基づく選択的スクリーニング	
連続運転	最大 15日 or 100世代	
製品サイズ (W×D×H)	350×500×380mm	
重さ	30kg	
電源	220V 50Hz (日本電源仕様に変換する変圧器付)	



ライフサイエンスグループ

E-mail: bio@so.as-1.co.jp

URL: <https://axel.as-1.co.jp/contents/bio>

<本社>

〒550-8527 大阪府大阪市西区江戸堀2-1-27

TEL : 06-6447-8633 FAX : 06-6447-8939

<東京オフィス>

〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-23-1

TEL : 03-6222-0285 FAX : 03-6222-0270

■ ご利用は信用のある代理店へ