

## 油中水型ドロップレットにおける大腸菌培養とソーティング

### Introduction

近年、油中水型 (W/O) ドロップレットは、生化学反応のコンパートメント化に広く用いられています。一般的な W/Oドロップレットは、ピコリットルからナノリットルの容量となり各ドロップレットは個々のマイクロリアクターとして扱われます。W/Oドロップレットを使用することで、サンプルコストを削減し、少量反応の場合であることから信号強度を高めることができます。

W/Oドロップレット内で反応をおこなった後の分析・選別には、フローサイトメトリーが効率が良いとされています。しかし、従来のセルソーターは、非水溶性の懸濁液との互換性がないため、W/Oドロップレットを別の水相に封じ込め、油中水型の外側がさらに水型 (W/O/W) のダブルエマルジョンを形成する必要があります。ダブルエマルジョンは、シングルエマルジョンに比べて単分散性が低く、カプセル化の効率も低いため、選別の際に「活性のある」ダブルエマルジョンを効率的に選択することが重要になります。On-chip® Sortは、オイルをシーズ液として使用することが可能なため W/Oドロップレットをそのまま効率的に選別することができます。

### Methods

W/Oドロップレット (サイズ40 $\mu$ m) を生成し、Brain Heart液体培地に1~2個のGFP発現大腸菌を封入しました。サンプル中の乳化液滴の約50%に大腸菌が含まれていました。生成したドロップレットを室温で20時間放置した後、界面活性剤Span 80、Tween 80、Triton X-100を混合したミネラルオイルをシーズ液としてOn-chip® SortでGFP強度の高い大腸菌を含むドロップレットをソーティングしました (図1)。

※現在では、スループット・純度・回収率向上のためミネラルオイルではなくフッ素系オイルにおけるドロップレットの作製とソーティングをお薦めしています。

### Results

ソーティング後のドロップレットは、ほぼ100%大腸菌封入ドロップレットでした。以上の結果からOn-chip® Sortは、オイルをシーズ液としたW/Oドロップレットに封入された大腸菌を効率的に分離できると考えられます。

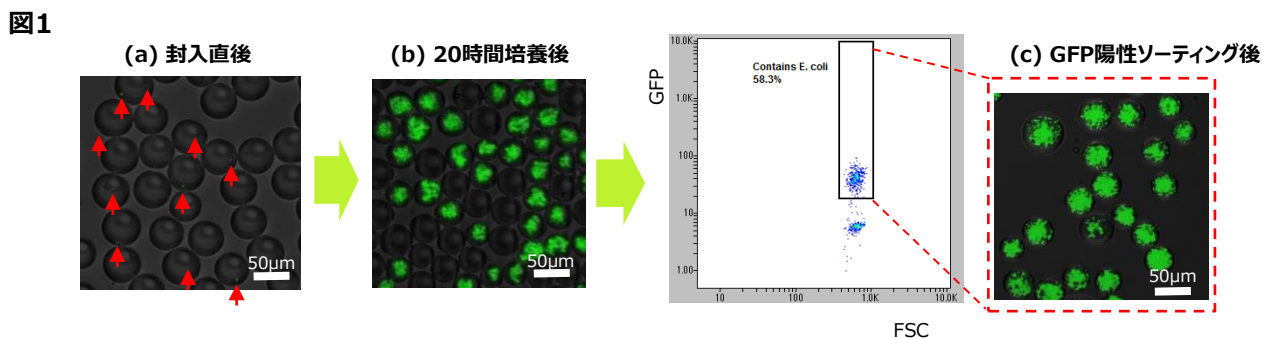


図1. (a) Brain Heart 液体培地懸濁GFP発現*E. coli* を1~2個になるようにW/Oドロップレットに封入後の顕微鏡写真。赤矢印はGFP発現*E. coli*。(b) 封入後20時間室温培養した顕微鏡写真 (c) On-chip® Sortでソーティング後の顕微鏡写真。