

発光細菌を固定化した 96 穴プレートの作製とその長期保存のための固定化条件

Immobilization of luminescent bacteria in 96 well plates and
the conditions of immobilization for long-term storage

1080014 大田黒 雄一

OHTAGURO YUICHI

[背景と目的]

環境有害物質検出の方法には機器分析（化学的分析）がある。機器分析は物質の同定や量・濃度を測定できる有用な方法であるが、コストや時間がかかる。そこで簡便なスクリーニング法として、有害物質による発光細菌の発光阻害を利用した検出方法がある。それをより実用的に使えるようにするため、多種のサンプルを同時に迅速測定できる発光細菌を固定化した 96 穴プレートの作製を試みた。従来の方法では固定化後発光が急速に減衰するため本研究では 3 日以上保存可能な固定化条件を見出すことを目的とした。

[方法]

発光細菌として海産の *Virio* sp. 402w9 株を使った。細菌を培養後、グルコースを加えた培養液に再懸濁し、培養液と 1.5%NaCl を加えたアルギン酸ナトリウム溶液を 2:1 の割合で混合し、その上に CaCl₂ を含む海水に重層してゲル化し、細菌を固定化した。CaCl₂ 海水を取り除きグルコースを加えた培養液を重層した。

[結果]

従来の方法では 24 時間後の発光量が 10 分の 1 以下になってしまったのに対し、新しい方法では 5 日目まで発光量を安定化させることができた。これは発光のエネルギー源であるグルコースを入れたことと、アルギン酸ナトリウム溶液に NaCl を加え、培養液とアルギン酸ナトリウム溶液の量を 2 : 1 にしたことで浸透圧を維持した結果、細菌が良好な状態で存在できる環境ができたからと考えている。