レジオネラ属菌の蛍光の励起光照射時間依存性の反応化学的解析

Chemical Kinetic Analysis for Temporal Variation of Fluorescence from *Legionella*

豊橋技科大 [1]，東工大 [2]，産業医科大学 [3]，福岡聖恵病院 [4]
○田中佐和子 [1]，大西脩平 [1]，石田誠 [1]，澤田和明 [1]，石井仁 [1]，
町田克之 [2]，益一哉 [2]，二階堂靖彦 [3]，齋藤光正 [3]，吉田眞一 [4]
Toyohashi Univ. of Technology[1], Tokyo Institute of Technology[2],
Univ. of Occupational and Environmental Health[3], and Fukuoka Megumi Hospital[4]
°S. Tanaka[1], S. Onishi[1], M. Ishida[1], K. Sawada[1], H. Ishii[1],
K. Machida[2], K. Masu[2], Y. Nikaido[3], M. Saito[3], and S. Yoshida[4]
E-mail: tanaka-sa@int.ee.tut.ac.jp

我々は細菌を培養することなく迅速検知可能な可搬型小型センサの実現を目標に検討を行っている．この検討の中でレジオネラ属菌が MEMS 流路内の微細空間で運動を制限され光刺激を受けると蛍光を発することを発見し，この蛍光を指標とした細菌センサ開発を行ってきた[1]．この検討の過程でレジオネラ・デュモフィの蛍光の減衰過程を反応速度論的に解析し，蛍光強度の励起光照射時間依存性が細菌識別の指標の一つとなることを示した[2]．今回はレジオネラ・ニューモフィラの蛍光強度の励起光照射時間依存性を反応速度論的に解析したので報告する．図 1 のプロットは PDMS 製の MEMS 流路内で運動制限され波長 365 nm の紫外光照射されたレジオネラ・ニューモフィラからの波長 460 nm の蛍光の強度の紫外光照射時間依存性を示す．この依存性は細胞内の生体物質（A）が励起光照射に伴って蛍光物質（B）が産生され光反応によって非蛍光物質（C）への変化を表すものと考えることできる．この過程を$A \overset{k_1}{\rightarrow} B \overset{k_2}{\rightarrow} C$と記述し，それぞれの反応速度定数を k_1, k_2 として，初期の生体物質濃度を［A_0］とすると蛍光物質の濃度の時間依存性，[B(t)]は反応速度論から以下の様に与えられる．

$$[\mathrm{B}(t)] = [A_0] \times \frac{k_1}{k_2 - k_1}\left(exp(-k_1 t) - exp(-k_2 t)\right)$$

この式を用いて最小二乗法によるカーブフィッティング行った．図 1 の実線はフィッティング結果を表しており上式の仮定がよく合っていることを示している．さらに反応速度定数は $k_1 = 2.92\times10^{-3}\ s^{-1}$，$k_2 = 2.95\times10^{-3}\ s^{-1}$ となり，k_1 と k_2 はほとんど等しくなることが分かった．このように生物化学反応を速度論的仮定に基づいて解析し反応速度定数を求めることは，細菌の蛍光物質産生に伴う生物化学的反応の特徴を定量的に抽出することに相当し細菌識別の方法となり得るものと考える．

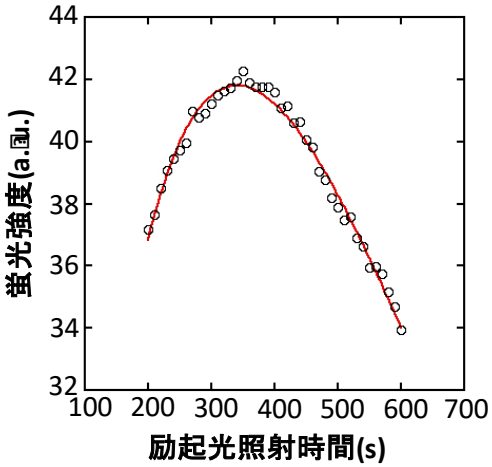

図 1. レジオネラ・ニューモフィラの蛍光強度の紫外光照射時間依存性

[1] 西村祐典他，第 62 回応用物理学会春季学術講演会 11p-A29-7
[2] 大西脩平他，第 78 回応用物理学会秋季学術講演会 8p-PA2-19