

遺伝子組換え生物発光大腸菌による呼吸阻害物質バイオセンサー応答性の向上

(京都光科学研究所¹・京工繊大環境科学センター²・京大宇治安全管理センター³)
○柄谷 肇¹・布施 泰朗²・水口 裕尊³

Improvement of responsiveness of the biosensor for detection of respiratory inhibitors using bioluminescent *Escherichia coli* (¹Kyoto Luminous Science Laboratory, ²Center of Environmental Science, Kyoto Institute of Technology., ³Environmental Safety Management Center, Kyoto University) ○Hajime Karatani,¹ Yasuro Fuse,² Hiroataka Mizuguchi³

The biosensor using bioluminescent *Escherichia coli* harboring a *katG'*, encoding the stress sensor protein (OxyR), fused *lux* genes of *Photobacterium phosphoreum* (*E. coli-katG':bmFPluxCDABFE*)¹⁾ has been studied to apply for the detection of respiratory inhibitors. In this study, antibacterial substance as well as respiratory inhibitor was targeted for the detection. In particular, to improve the responsiveness as a biosensor, the conditions of LB medium containing alginate were evaluated for the favorable gene expression. Based on the previous results, the effect of alginate on the bioluminescence induction was further studied using 2.6 mM isopropyl- β -D-thiogalactopyranoside (IPTG). As a result, it was found that the bioluminescence was favorably induced in the LB liquid medium containing around 0.7w/v% alginate.

Keywords: Bacterial bioluminescence, Lux gene, *Escherichia coli*, Stress sensor, Respiration

発光細菌ルシフェラーゼ遺伝子 (*lux* 遺伝子群)と大腸菌由来ストレス応答性タンパク質をコードする遺伝子 (*katG'*) を融合した遺伝子で大腸菌を形質転換(*E. coli-katG':bmFPluxCDABFE*)¹⁾ し、これを呼吸阻害毒性物質バイオセンサーとして活用する研究を進めている。今回、呼吸阻害性物質と共に過酸化水素産生作用を示す殺菌性抗生物質を検出対象とした。研究では特に、アルギン酸を添加した LB 培地における遺伝子発現能の改善に基づくセンサー応答性の向上を目指した。

アルギン酸を 2.5w/v%まで含む LB 液体培地をマイクロプレートに入れ、さらに、通常の LB 培地で対数増殖期まで成長した *E. coli-katG':bmFPluxCDABFE* を所定量接種した。次に各ウェルに IPTG が 2.7 mM となるように添加し、誘導される発光を時間を変数としてデジタルカメラで記録した。得られた結果から、1.7w/v%のアルギン酸を含む系では、IPTG 添加後数分以内に発光は誘導されるものの、減衰も比較的速いことがわかった。アルギン酸含量がおよそ 0.7w/v%の場合、誘導が速いだけでなく、発光は 1 時間以上持続しバイオセンサーとしての性能の改善が期待された。

1) Bioluminescence microplate assay of cyanide with *Escherichia coli* harboring a plasmid responsible for cyanide-dependent light emission in alginate microenvironment. H. Karatani, Y. Fuse, H. Mizuguchi, *et al.*, *Anal. Sci.* **2019**, 35, 821.