大腸菌懸濁液内でのANSの発光挙動

小林高臣, 小野松太郎, 藤井信行 長岡技術科学大学, 化学系

概 要

大腸菌懸濁液内での 8-Anilino-naphthalene-1-sulfonate sodium salt(ANS)の約 $400\sim600$ nm領域の発光を観測し、ANSプローブが取り込まれた細菌近傍の環境について評価した。ANS濃度と大腸菌濃度をそれぞれ、 $2\sim50\,\mu$ Mと $10^1\sim10^8$ (cells/ml) の範囲内で実験を行った。水系において528nmに観測できるANSの極大発光波長は、大腸菌濃度の増加とともにブルーシフトし、 10^8 と高い細菌濃度の場合には、約465nmとなる。この結果は、この濃度領域で細菌が会合し、疎水的な微環境場を形成していることを示唆している。また、ジオキサン-水系のデータより、それぞれの濃度における細菌環境の誘電率に相当する極性パラメーターを見積った。極大発光波長と大腸菌濃度との関係から、迅速な細菌濃度測定が可能であることが示唆された。

ANS Fluorescence in *E. coli* Suspension for the Cell Estimation

Takaomi KOBAYASHI, Matsutaro ONO and Nobuyuki FUJII

Department of Chemistry, Nagaoka University of Technology

Abstract

8-Anilino-naphthalene-1-sulfonate sodium salt(ANS) fluorescence behavior was studied in $E.\ coli$ Aqueous solution with $10^{1}\sim10^{8}(\text{cells/m}l)$ concentration. The emission

maximum wavelength(λ) of ANS, which is excited at 350 nm, shifts to blue region in $510 \sim 520$ nm as the cell concentration increases in the range of $10^1 \sim 10^6$ cells concentration. In $10^7 \sim 10^8$ concentration region, significant blue shift of λ occurs and the emission wavelength appears near about 460 nm. The blue shift means that the cell strongly aggregates with each other at high cell concentration and forms nonpolar environment in water. By using emission data of λ of ANS in dioxane-water vs. solvent polarity parameter (E(t)) following equation was obtained;

$$E(t) = -1585 + 6.139\lambda - 0.0057\lambda^{2}$$

The polarity of *E. Coli* microenvironment, in which the probe is present, was estimated from λ data to be about 65 and about $36\sim38$ for $10^1\sim10^6$ and $10^7\sim10^8$ concentration, respectively. Evidence was presented that ANS probes *E. coli* concentration by monitoring the λ of ANS emission spectra in only dilute probe concentration.

(1996年9月2日受理)