

## 青色レーザー光照射による生細胞の DNA 損傷

DNA damage of living cells caused by irradiating blue laser light

阪府大院・工<sup>1</sup>, 生環<sup>2</sup> ○金丸直弘<sup>1</sup>, 高橋圭介<sup>1</sup>,

松山哲也<sup>1</sup>, 和田健司<sup>1</sup>, 岡本晃一<sup>1</sup>, 川喜多愛<sup>2</sup>, 村田香織<sup>2</sup>, 杉本憲治<sup>2</sup>

Engineering<sup>1</sup>, Life and Environmental Sciences<sup>2</sup>, Osaka Pref. Univ., N. Kanamaru<sup>1</sup>, K. Takahashi<sup>1</sup>,

T. Matsuyama<sup>1</sup>, K. Wada<sup>1</sup>, K. Okamoto<sup>1</sup>, A. Kawakita<sup>2</sup>, K. Murata<sup>2</sup>, K. Sugimoto<sup>2</sup>

E-mail: kanamaru0617@pe.osakafu-u.ac.jp

### 1. はじめに

近年, 青色光網膜障害など青色光が人体に影響を及ぼすことが問題になっており, その機構の解明が求められている. 細胞内に存在する増殖細胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) は DNA 複製期に細胞核内で凝縮し, 細胞の DNA 修復に関わっている. 本研究では, 生きた細胞の動態をリアルタイム観察するライブセルイメージング法を用いて, PCNA の動態を観察することにより青色レーザー光照射が細胞へ与える影響について調べた.

### 2. 実験系

蛍光顕微鏡に半導体レーザー光源を組み込んだ実験系を Fig. 1 に示す. 励起フィルターで白色 LED の出力光から特定波長の光を選択し, ダイクロイックミラーにより反射した後, 対物レンズ (x60) で集光してシャーレ内の生細胞に照射した. シャーレ内の悪性黒色腫由来細胞 (MDA-MB-435S) の細胞核は蛍光タンパク質 mPlum (励起/蛍光波長: 560 nm/650 nm) により, PCNA は EGFP (励起/蛍光波長 484 nm/520 nm) により染色されている. 細胞からの蛍光は, 対物レンズ, ダイクロイックミラーを通過させ, 蛍光フィルターで励起光と分離した後, レンズで集光して EMCCD カメラで観察した. レーザー光はアテネーターで強度を調整した後, カバーガラスで反射して顕微鏡に入射させ, 観察視野内にある細胞の特定部位に照射した. レーザー光照射後の生細胞の動態観察は, 生細胞にダメージを与えない観察条件下で行った.

### 3. 実験結果

PCNA の凝縮の違いにより細胞周期を識別し, G1 期, S 期中期, S 期後期の細胞の細胞核中心に波長 405 nm, 450 nm, 強度 100 W/cm<sup>2</sup> のレーザー光を照射した後, PCNA の動態を 1 分ごとに画像取得した. 450 nm レーザー光照射直後, 5 分後, 10 分後の PCNA の蛍光像を Fig. 2 に示す. 蛍光強度の増大からレーザー光照射部に PCNA が集積していく様子が観測された. 405 nm レーザー光照射の場合も同様の結果が得られた. PCNA の集積は DNA 修復に関与することから, 生細胞への青色レーザー光照射により DNA 損傷が生じることがわかった.

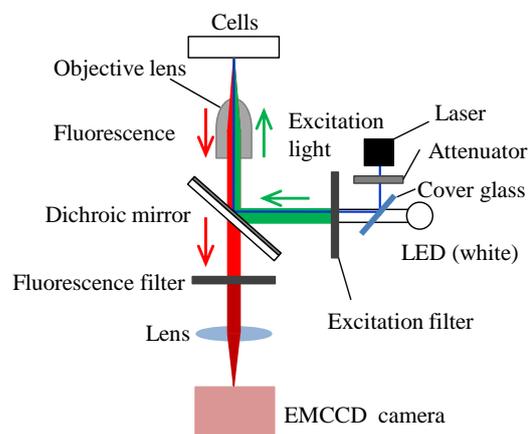


Fig. 1 Configuration of fluorescent microscope

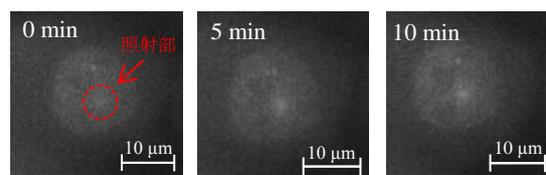


Fig. 2 Fluorescent images of PCNA after 450 nm laser irradiation