

大気圧低温プラズマ照射によって生じる細胞内核酸塩基修飾と除去修復

Production of modified bases and the excision repair in plasma-irradiated cells

豊橋技科大 [○](M2)荒井 寿美麗, (B)Bidbayasakh Khulan, (M2)福田 敦史, 高島 和則, 栗田 弘史

Toyohashi Univ. of Tech. [○]Sumire Arai, Khulan Bidbayasakh, Atsushi Fukuda, Kazunori Takashima,

Hirofumi Kurita

E-mail: arai.sumire.wp@tut.jp

大気圧低温プラズマの生体への照射は、抗腫瘍効果や止血など臨床への応用が期待されていることから近年盛んに研究されている。大気圧低温プラズマ照射は、DNA等の生体分子に酸化ストレスを与え、DNA損傷は遺伝毒性となり得るほか細胞死を誘導することがある。このことから、プラズマ照射によって生じるDNA損傷の解析は、プラズマ医療応用に関連する細胞応答機構の解明に寄与すると考えられる。

プラズマ照射によって細胞内に生じるDNA損傷のうち、鎖切断は広く研究されているが、塩基修飾に関する研究は少ない。本研究室では、細胞死を顕著に誘導しないようなプラズマ照射であっても、ゲノムDNA上に典型的な修飾塩基である8-オキシグアニン(8-oxoG)が生じることや、プラズマ照射後の生細胞内で8-oxoG除去修復反応が惹起されることを報告した[1]。しかし、8-oxoGが実際に除去修復されているかどうか、修復されているとすればどの遺伝子が機能しているのか明らかになっていない。本研究は、これらの問題の解決を目的とし、ヒト肺がん由来培養細胞にプラズマ照射し、8-oxoGの免疫染色による解析を試みた。

プラズマ源としてヘリウムプラズマジェットを用い、ヒト肺がん由来培養細胞株であるA549細胞をリン酸緩衝生理食塩水 (D-PBS)に懸濁し、プラズマ照射した。その後、遠心分離で上清を除去し、細胞を固定化した。固定化した細胞にRNase処理を施した後、細胞膜の透過処理を行った。この細胞を8-oxoGに結合する蛍光標識抗体で染色し、フローサイトメーターで細胞の蛍光強度を計測した。その結果、プラズマ未照射の細胞群と比較して、プラズマ照射した細胞群では蛍光強度が有意に増大した

(Fig. 1(a))。また、プラズマ照射後の細胞懸濁液を遠心してD-PBSを除去した後、細胞培養液に再懸濁して4時間培養後に同様の実験を行った。その結果、プラズマ未照射の細胞群とプラズマ照射した細胞群を比較して蛍光強度に変化が見られなかった (Fig. 1(b))。これらの結果は、プラズマ照射された細胞内に8-oxoGが生成されることを示しており、また、その細胞を培養することで8-oxoGが4時間以内に除去修復されることを示唆している。

講演では、8-oxoGを認識・塩基除去修復する8-オキシグアニングリコシラーゼ (OGG1)の発現レベルの解析、OGG1阻害剤処理した細胞の解析についても報告する予定である。

参考文献

[1] H. Kurita, *et al.*, *PLOS ONE*, **15**, e0232724 (2020)

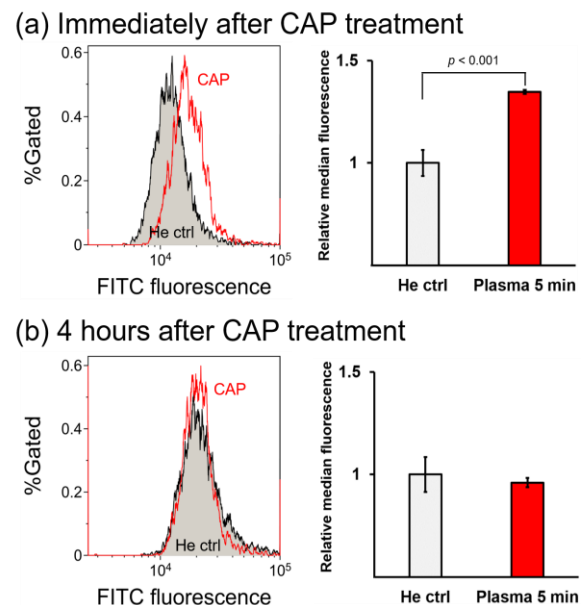


Fig. 1. Detection of 8-oxoG with immunofluorescence. (a) Immediately after CAP treatment. (b) 4 hours after CAP treatment. Data are expressed as mean±SD (n=3).