

## 活性酸素による DNA 二本鎖切断のその場計測：天然ポリフェノール、クロロゲン酸の抑制作用の定量的評価

(同志社<sup>1)</sup> ○小川 遥士<sup>1</sup>・西尾 天志<sup>1</sup>・吉川 祐子<sup>1</sup>・吉川 研一<sup>1</sup>・貞包 浩一朗<sup>1</sup>・剣持 貴弘<sup>1</sup>

Quantitative evaluation of DNA double-strand breaks induced by reactive oxygen through single molecule observation: protective effect of a natural polyphenol, chlorogenic acid (<sup>1</sup>*Doshisha University*) ○Haruto Ogawa,<sup>1</sup> Takashi Nishio,<sup>1</sup> Yuko Yoshikawa,<sup>1</sup> Kenichi Yoshikawa,<sup>1</sup> Koichiro Sadakane,<sup>1</sup> Takahiro Kenmotsu<sup>1</sup>

Double-strand breaks of DNA are regarded as quite serious in living cells. However, its quantitative evaluation has been rather difficult because of the limitation of available methodologies. Recently, we have shown that single DNA observation by use of fluorescence microscopy is useful to monitor the double-strand breaks of genome-sized DNA. Here, we have performed the measurements on double-strand breaks caused by reactive oxygen species through single DNA observation, in order to evaluate the protective effect of a natural polyphenol, chlorogenic acid. It is an ingredient in coffee and expected to have anti-aging effects. It was found that chlorogenic acid reduced the rate of DNA double-strand breaks to about 55% at low concentration of 1  $\mu$ M and about 5% at high concentration of 30  $\mu$ M. It became clear that chlorogenic acid has about 2.5 times greater antioxidant potency than ascorbic acid. The potency of such protective effect against DNA double-strand breaks will be discussed by comparing with other antioxidative chemicals.

**Keywords :** *Single DNA observation; Double-strand break of DNA; Antioxidant chlorogenic acid*

DNA 損傷の中で二本鎖切断は生体内に重篤な作用をもたらすが、二本鎖切断を定量的に評価できる実験方法は未確立であった。私たちは、DNA の一分子観察を活用することにより、二本鎖切断の計測を進めて来ている<sup>1)</sup>。今回は、コーヒーの成分であるアンチエイジング効果などの期待がなされている天然ポリフェノールのクロロゲン酸を取り上げ、活性酸素による DNA 二本鎖切断に対する抑制効果を調べ、アスコルビン酸などとの定量的な評価を行ったので報告する。

結果として、クロロゲン酸は 1  $\mu$ M の低濃度では、DNA 二重鎖切断の切断速度を約 55%にまで減少させ、30  $\mu$ M の高濃度では約 5%にまで減少させる作用があることが明らかとなった。また、クロロゲン酸の方がアスコルビン酸より抗酸化力が約 2.5 倍大きいことが明らかとなった。

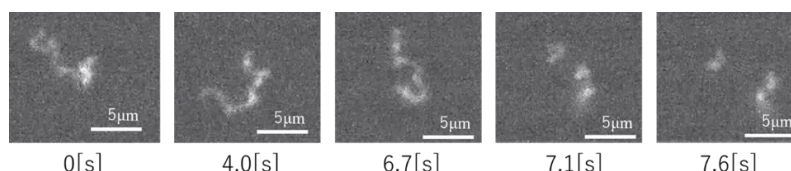


Fig. Real time observation of double-strand break on single T4GT7 DNA (166kb).

1) M. Usui, Y. Ma, Y. Yoshikawa, K. Yoshikawa, *Vitamins*, 92, 257-262 (2018).