

P-017 (O-14)

Numerical genotoxic effects of clustered 8-oxoguanine DNA adducts locally introduced into the genome

Akira Sassa, Nagisa Kamoshita, Yuki Kanemaru, Masamitsu Honma, Manabu Yasui

Division of Genetics and Mutagenesis, National Institute of Health Sciences

Clustered DNA damage is occasionally generated by ionizing radiation, in which oxidative DNA adducts clustered within a few helical turns of DNA. The repair mechanism for the clustered DNA damage and its genetic consequences in cells remain unclear. In this study, 1–4 molecules of 8-oxoguanine (8-oxoG), an oxidative DNA adduct, were locally introduced into the genome of TSCER122 derived from the human lymphoblastoid TK6 cells. The 1, 2, and 4 molecules of 8-oxoG induced mutations at a frequency of 12.9%, 32.2%, and 24.1%, respectively. Regardless of the number of 8-oxoG, a G:C→T:A mutation predominantly occurred. The combined frequency of one base deletion and insertion opposite 8-oxoG was 13.2% when 2 molecules of 8-oxoG were introduced, whereas the frequency was markedly decreased to 1.1% when 4 molecules were introduced. Differences in the mutation spectra suggest that distinct repair mechanisms (e.g., nucleotide excision repair) repair the damage depending on the number and position of 8-oxoG.

ゲノムに導入させた酸化了的クラスター DNA 損傷の数的遺伝毒性影響佐々 彰、鴨下 渚、兼丸 祐紀、本間 正充、安井 学
国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部

クラスター DNA 損傷は、電離放射線によってゲノムの狭い範囲（数ナノメートル）に密集して形成する数分子の酸化了的損傷である。この局所的なクラスター DNA 損傷に対する DNA 修復機構、および細胞への遺伝的影響については、未だ不明な点が多い。そこで本研究では、ヒトリンパ芽球細胞 TK6 由来の TSCER122 株のゲノムに、酸化了的 DNA 損傷である 8-オキソグアニン（8-oxoG）の 1～4 分子を局所的に導入し、クラスター DNA 損傷がもたらす突然変異の数的および質的影響を調べた。その結果、1, 2, 4 分子の 8-oxoG を導入したとき、それぞれ 12.9, 32.2, 24.1% の頻度で突然変異を誘発した。変異スペクトラムは、8-oxoG の分子数に関わらず G・C→T・A 変異が最も多く検出されたが、8-oxoG 対面の一塩基欠失と挿入の頻度が、2 分子 8-oxoG では合計 13.2% だったのに対して、4 分子 8-oxoG では 1.1% と顕著に減少した。その変異スペクトラムの違いから、8-oxoG の分子数や部位に応じて、異なる修復機構（例えばヌクレオチド除去修復など）が損傷を認識、修復していることが推察された。

P-018

Genotoxicity of perfluorooctanoic acid is due to oxidative stressShuji Tsuda¹, Naoto Shimizu², Tomomi Takahashi³, Norimitsu Saito¹, Yu F Sasaki^{3,4}¹Iwate Inst Environ Health Sci, ²Agilent Technologies,³Hachinohe Natl Co. Tech, ⁴Himeji Dokkyo Uni

We have already shown the genotoxic potential of perfluoroalkyl acids (PFAAs) by the comet and TK mutation assays. We, here, report possible mechanisms of genotoxic potential of perfluorooctanoic acid (PFOA), a representative PFAA. The induction of intracellular ROS was detected in TK6 cells exposed to PFOA, but the ROS was not detected in the presence of PPARα antagonist. Presently, the induction of 8OHdG but not oxidative products of dA, dT, and dC was detected in DNA from TK6 cells exposed to PFOA by sensitive 8OHdG analysis using LC/MS/MS. Therefore, it was clarified that the genotoxicity of PFOA is dependent on oxidative stress mediated by proliferator-activated receptor α (PPARα). To study why PFOA showed positive response in an acellular comet assay, we are now conducting 8OHdG analysis in extracted DNA directly exposed to PFOA.

パーフルオロアルキル酸の遺伝毒性は酸化ストレスによる津田 修治¹、清水 尚登²、高橋 知美³、齋藤 憲光¹、佐々木 有^{3,4}¹岩手県環境保健研究センター、²アジレントテクノロジー、³八戸高専・物質、⁴姫路獨協大・薬

昨年の本学会までにパーフルオロアルキル酸 (PFAA) は comet assay、TK 突然変異試験で遺伝毒性を示すことを報告してきた。PFAA の遺伝毒性機構を代表的な PFAA の PFOA について報告する。

comet assay が陽性となる条件で PFOA に暴露した TK6 細胞において細胞内 ROS の発生がみとめられ、PPAR α 拮抗剤存在下では comet assay の陽性は認められなかった。LC/MS/MS による高感度な 8OHdG 量の測定を行ったところ、PFOA で処理した細胞で 8OHdG 量の増加がみられた。しかし、dA、dT、dC の酸素 1 個の酸化物および dG の酸素 2 個の酸化物は検出されなかった。このことから、PFOA の遺伝毒性は PPAR α を介した酸化ストレスによっていることが明らかになった。しかし、acellular comet assay 陽性の結果は上記の機構では説明できず、PFOA が DNA に、直接、酸化損傷を形成している可能性も残されている。そこで、現在、無処理細胞から抽出した DNA を PFOA に直接暴露したものについて、8OHdG 量の測定を行っている。