

グアノシンの酸化能から推定するオゾン水の殺菌力と安全濃度

Sterilizing and safety dose of ozone in water assessed by oxidation of 2'-deoxyguanosine

高木 厚司¹⁾, 織田 美和²⁾, 塩田剛太郎³⁾

1) 九大・院・医・統合生理学, 2) (有限) 環境技術研究所, 3) (株) VMC

We have recently established a new assay system (HPLC + UV and ECD detectors) to measure both 2'-deoxyguanosine (dG) and its oxidized form (8OHdG), simultaneously (Patent pending, PCT/JP01/02095). Since 8OHdG induces G:C → T:A transversion in a replication of the DNA, increase of an 8OHdG/dG ratio by oxygen radicals means a risk for not only cell activity but host survival. In the present study, we have concluded that sterilizing potent such as ozonized water, hydrogenperoxide, and hypochloric acid was closely correlated to the dG/8OHdG induction index. This assay system seems to be very useful for the evaluation of oxidative damages directly related to the survival of the host.

【はじめに】

8 ヒドロキシデオキシグアニン (8OHdG) は, DNA の構成分子であるグアニン (dG) に, ヒドロキシラジカル (OH[•]) が 8 位の炭素に結合したものである。この 8OHdG は本来の塩基対であるシトシンではなくアデニンと結合して G:C → T:A トランスバージョンをおこすだけでなく, ミトコンドリア DNA に一定以上の頻度で発生すると, 細胞内のエネルギー供給が断たれ, 細胞死を誘導する。つまり dG/8OHdG 酸化誘導は細胞や個体の寿命に直結する最も基本的な生体酸化現象の一つである。一方, オゾンは水分子と反応して大量の OH[•] を発生させ, オゾン水の殺菌能はこの OH[•] の発生量に依存する。本研究では, オゾン水中での OH[•] 産生量を dG/8OHdG 酸化誘導反応で評価した。

【方 法】

- 1) オゾン水は水道水を軟水化処理 (Z ソフナー MS-10, 三浦工業) 後, シルバー精工社製のオゾン水生成器 (MCX2000) にて調製した。対象試薬として過酸化水素水及び次亜塩素酸水溶液を用いた。
- 2) 標準 dG (200 µg/ml, 2'-deoxyguanosine, 和光純薬) 10 µl を, 各濃度のオゾン水 90 µl に溶解し, 一定時間 (直後, 10, 30, 60 秒) 経過後, OH[•] のスカベンジャーであるメタノールを含有した抗酸化溶液 (特願 2000-74200) 100 µl を添加し酸化誘導反応を停止させた。
- 3) 被検溶液中の dG 及び 8OHdG 濃度は, 被検液中の核酸由来成分を ODS カラムで分離後, dG を吸光度 (254nm) 検出器, 8OHdG を電気化学検出器で同時定量した。
- 4) 酸化誘導性が強力な場合, 8OHdG が更に酸化され, 見かけ上の 8OHdG 含量が低くなる現象が見られた。そこで, 各濃度のオゾン水 90 µl に標準 8OHdG (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, フナコシ) 10 µl を溶解し, 同様の操作後に 8OHdG の減少率を測定後, その逆数を乗じて 8OHdG 値を補正した。

【結果と考察】

オゾン水, 過酸化水素水, 次亜塩素酸溶液のいずれも濃度依存的に dG/8OHdG を誘導した。本結果は, 生菌を使った殺菌効果評価とよく一致しており, 同法より格段に簡便で, 且つ, 合理的に殺菌能 (生体毒性) や安全性を評価できる事を示した。さらに, 本評価法は, (i) 各種化学物質の生物毒性スクリーニング, (ii) 各種排水や飲料水, 自然水の遺伝子変異源性評価等にも利用でき, 大変応用範囲が広いことも特筆される。