

음극전리수가 paraquat에 의한 사람 DNA의 산화적 손상에 미치는 효과

김윤경, 박은주**, 류근걸*, 이윤배*, 이종권*, 이미영
순천향대학교 자연과학대학 생명과학부, 공과대학 신소재화학공학부*
경남대학교 식품영양학과**
miyoung@sch.ac.kr

Effect of cathodic electrolyzed water on the paraquat-induced oxidative damage of human DNA

Yoon-Kyoung Kim, Eun-Ju Park**, Kun-Kul Ryoo*, Yoon-Bae Lee*, Jong-Kwon Lee* and Mi-Young Lee
Division of Life Sciences, Division of Material and Chemical Engineering*, Soonchunhyang University, Department of Food and Nutrition, Kyungnam University**

요 약

본 연구에서는 음극전리수가 paraquat에 의한 사람 임파구 DNA의 손상에 미치는 영향을 alkaline comet assay를 사용하여 조사하였다. 또한 음극전리수가 plasmid DNA 손상에 미치는 효과도 조사하였다. 사람 임파구에 다양한 농도의 paraquat을 처리한 후, 음극전리수를 첨가하여 반응시킨 결과 paraquat에 의한 임파구 DNA의 손상은 paraquat 농도증가에 의존적으로 증가하였다. 그러나 음극전리수를 처리한 결과 DNA의 산화적 손상이 paraquat 미처리 대조군 수준으로 거의 다 복구되었다.

1. 서론

Paraquat (1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridium dichloride)는 전세계적으로 광범위하게 사용되는 비선택적 접촉성 제초제로, 식물 광합성 반응에서 활성산소종(reactive oxygen species : ROS)을 생성하여 세포벽과 원형질을 파괴함으로써 제초효과를 나타낸다 [1]. Paraquat가 인체에 흡수되게 되면 체내에서 ROS가 극단적으로 급격히 증가하여 독성작용의 주요 원인으로 작용한다. ROS는 단백질 효소의 불활성화, 지질과산화물 및 DNA 분절화를 통해 세포 손상을 일으키게 된다고 잘 알려져 있다 [2]. 음극전리수는 당뇨와 화상 등의 질환치료에 매우 효과적이며 항암, 항노화 등의 효능이 있다고 보고되어 있는데 [3,4] 이러한 효과는 음극전리수가 가지고 있는 활성산소소거능에 기인할 것으로 추측되고 있다 [5]. 뿐만 아니라 음극전리수가 항산화활성을 가지고 있어서 활성산소 생성으로 인한 DNA 분해를 억제한다고

보고되었다 [5]. 본 연구에서는 paraquat에 의해 생성되는 활성산소종으로 인한 사람 임파구 DNA의 손상에 미치는 음극전리수의 보호효과를 Comet assay (single cell gel electrophoresis) [6]를 통하여 살펴보았다. 또한 음극전리수가 paraquat에 노출된 plasmid DNA의 구조적 안정화에 미치는 효과도 살펴보았다.

2. 실험재료 및 방법

2.1. 음극전리수의 제조

실험에 사용된 음극전리수를 제조하기 위하여 마이크로뱅크사의 Redox-water 생성기를 사용하였다. 전리수 제조장치에 사용된 물은 증류, 역삼투압(Reverse Osmosis, RO)을 거쳐 최종 3차수에 이르는 초순수(Deionized water, DIW)물이었다. 본 실험에서 사용한 음극전리수는 pH가 8.5~9.5, ORP는 -850~-800 mA가 유지되게 하였다.

2.2. 산화 스트레스의 유도

임파구 DNA에 paraquat에 의한 산화적 손상을 가하기 위해 paraquat의 최종 농도가 각각 0, 2.5, 5, 10과 20 μM 가 되도록 한 후 37°C에서 30 분간 반응시켰으며, 대조군으로는 PBS만을 처리하였다. 또한 음극전리수가 paraquat에 의한 임파구 DNA 손상에 미치는 영향을 살펴보기 위해서 10 μM paraquat으로 30 분 동안 처리된 임파구에 음극전리수를 각각 0, 200, 500과 800 μl 씩 30 분간 처리하였다.

2.3. Comet assay를 이용한 임파구 DNA의 산화적 손상 측정

Paraquat에 의한 DNA의 산화적 손상과 음극전리수 처리에 의한 DNA 손상의 억제정도를 확인하기 위해 Singh [6] 등의 방법을 변형하여 Comet assay를 실시하였다. Comet assay를 위하여 각 대상자당 100 개의 임파구에서 DNA 손상정도를 측정하였다.

3. 실험결과 및 고찰

본 연구에서는 Comet assay [6]를 사용하여 대표적인 비선택적 맹독성 제초제인 Paraquat에 의한 사람 임파구 DNA의 산화적 손상을 살펴보았으며 음극전리수 처리에 의한 임파구 DNA의 손상 회복효과를 분석하였다. Fig. 1에서는 10 μM paraquat을 처리한 후 손상된 임파구의 컴퓨터 이미지와 음극전리수 처리 후 거의 대다수 DNA 손상이 복구된 이미지를 보여주고 있다. Fig. 1(A)의 PBS 완충용액만을 처리한 대조군의 경우 임파구 DNA는 손상되지 않았으나, Fig. 1(B)의 10 μM paraquat으로 처리된 임파구의 경우 DNA 손상이 일어나 손상된 DNA 파편이 마치 혜성 꼬리처럼 퍼져있음을 볼 수 있었다. 그러나 음극전리수를 처리하였을 때에는 흥미롭게도 임파구의 DNA 손상이 복구되었다.

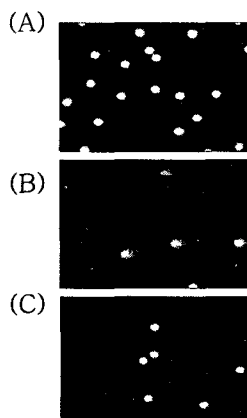


Fig. 1. Effect of cathodic electrolyzed water on the paraquat-induced oxidative damage of human DNA.

- A) Untreated lymphocyte
 B) 10 μM paraquat-treated lymphocyte
 C) 800 μl electrolyzed reduced water-treated lymphocyte following 10 μM paraquat treatment

감사의 글

본 연구는 과학기술부의 국가지정연구실사업 (N10302000029-04J000001400) 지원에 의해 수행되었습니다.

참고문헌

- [1] Lheureus, P., Leduc, D., Vanbinst, R. B. and Askenasi, R., "Survival in a case of massive paraquat ingestion", *Chest.*, 107, 285-289, 1995.
- [2] Lin, J. L., Leu, M. L., Liu, Y. C. and Chen, G. H., "A prospective clinical trial of pulse therapy with glucocorticoid and cyclophosphamide in moderate to severe paraquat-poisoned patients", *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 159, 357-360, 1999.
- [3] Huang, K. C. Yang, C. C., Lee, K. T. Chien, C. T., "Reduced hemodialysis-induced oxidative stress in end-stage renal disease patients by electrolyzed reduced water", *Kidney Int.*, 64, 704-714, 2003.
- [4] Xin, H., Zheng, Y. J., Hajime, N. and Han, Z. G., "Effect of electrolyzed water and hydrocolloid occlusive dressings on excised burn-wounds in rats", *Chin. J. Traumatol.*, 6, 234-237, 2003.
- [5] Lee, M. Y., Kim, Y. K., Park E. J., Lee, Y. B., Lee, J. K. and Ryoo, K. K., "Effects of electrolyzed reduced water on the damages of DNA, RNA and protein", *Mutagenesis*, submitted, 2005.
- [6] Singh, P. N., McCoy, M. T., Tice, R. R. and Schneider, E. L., "A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells", *Exp. Cell. Res.*, 175, 184-191, 1998.