

22I-pm01

有機水銀リアーゼ (MerB) を利用したメチル水銀の脱メチル化による細胞毒性評価

○中山 俊介¹, 高根沢 義一¹, 中村 亮介¹, 曾根 有香¹, 浦口 晋平¹, 足立 達美², 清野 正子¹ (¹北里大薬, ²千葉科学大薬)

【目的】無機水銀 (Hg) はメチル水銀 (MeHg) と異なり細胞透過性が低く、Hg を曝露させる実験系では、微量な Hg の細胞毒性を評価することが困難である。そこで本研究では、MeHg を Hg に変換する酵素活性を持つ水銀耐性菌由来の有機水銀リアーゼ (MerB) を利用し、MeHg を細胞内で Hg に変換する MerB 発現細胞株を樹立すると共に、樹立細胞の性状解析を行うことを目的とした。

【方法】水銀耐性菌 *Pseudomonas K-62* 由来の有機水銀リアーゼである *merB* 遺伝子を導入したヒト胎児由来腎臓細胞 (HEK293) を樹立した。MerB の活性は放射性メチル水銀 (¹⁴C)-MeHg の分解活性により測定した。また、Hg の測定は MeHg を分離後、加熱気化原子吸光度法により行った。メタロチオネイン及び抗酸化酵素群の遺伝子発現は Total RNA を抽出後、逆転写を行い、リアルタイム PCR 法により評価した。細胞生存率は MTT 法によって評価した。

【結果・考察】樹立した MerB 発現細胞では添加した [¹⁴C]-MeHg の放射活性が親株と比較して有意に減少した。また、加熱気化原子吸光度法においても時間依存的な Hg の産生が認められ、MerB による MeHg から Hg への分解活性が明らかとなった。この MerB 発現細胞では、MeHg の濃度依存的にメタロチオネイン遺伝子の発現が誘導された。さらに、MerB 発現細胞では MeHg 処理により、ヘムオキシゲナーゼ 1 遺伝子の発現誘導が顕著であり、Hg による Nrf2 経路の強い活性化が示唆された。また、MerB 発現細胞の MeHg に対する感受性を MTT 法により評価したところ、親株と比較して、MeHg 処理に対し脆弱であり、細胞内で生じる低濃度 Hg の高い細胞毒性が示唆された。今後、この細胞を用いて、低濃度 Hg による細胞死のメカニズムの解析を進める予定である。