

## SOD2 欠損株を用いたミトコンドリア DNA の損傷と修復機構の解析

理学部・生物化学科：妹尾聖典（修士1年）、池田正五（教員）

Keywords：ミトコンドリアDNA、酸化損傷、DNA修復、SOD、分裂酵母

### 1. 研究目的

細胞小器官のミトコンドリアには、電子伝達系のタンパク質をコードする独自の DNA（以下 mtDNA）がマルチコピー存在する。ミトコンドリアで発生した活性酸素種（ROS）は mtDNA を酸化損傷し、病気や老化の原因となる（図 1）。例えば、ミトコンドリア病、

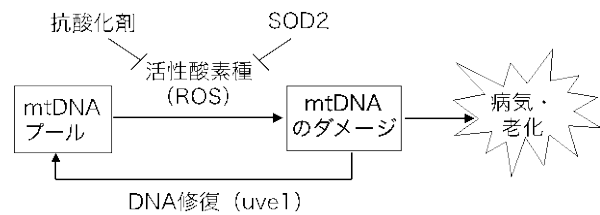


図 1. mtDNA の損傷と修復

糖尿病、がん、老化などで mtDNA の異常がしばしば見られる。ミトコンドリアには Mn をもつ SOD2 が局在し（表 1）、生体内外からの抗酸化剤と共に、ROS による DNA の酸化を防御している。

表 1. SOD の種類と局在

	活性中心金属	細胞内局在
SOD1	Cu,Zn	細胞質
SOD2	Mn	ミトコンドリア

さらに、mtDNA の損傷は DNA 修復系により修復されている。本研究では、SOD2 を欠損した分裂酵母株を用いて、mtDNA の損傷とその修復機構を解析する。この基礎研究を応用して、mtDNA の酸化防止に働く物質を食品素材中から検索するバイオセンサーの開発を目指す。

### 2. 分裂酵母の SOD2 欠損株の特徴

分裂酵母の SOD2 欠損株は酸化損傷剤であるパラコートなどに強い感受性を示す（図 2）。すなわち、SOD2 欠損株ではミトコンドリアで発生した ROS により、容易に細胞死が引き起こされる。分裂酵母の DNA 修復酵素でミトコンドリアに局在する Uve1p と

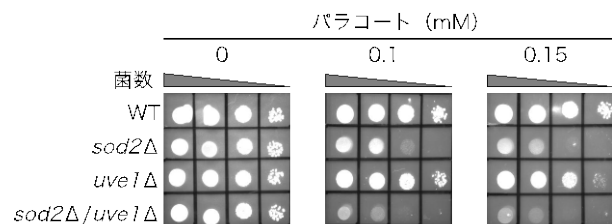


図 2. SOD2 欠損株のパラコート感受性

SOD2 の二重欠損株を作成し、様々な酸化剤による感受性の変化を調べている。現在、さらに mtDNA の酸化的損傷を調べるための実験系を開発している。すなわち分裂酵母の全 DNA を抽出し、Fpg（酸化 DNA を切断する大腸菌の DNA グリコシラーゼ）で処理し、アルカリアゲロスゲル電気泳動で分離した後、サザンハイブリダイゼーションで mtDNA を検出する。これらの材料や方法により、mtDNA の損傷とその修復機構を解析することが可能になると考える。