

## P309

アンプリファイヤーとなりうるDNA結合物質によるDNA損傷増強効果および塩基配列特異性の変化  
三重大・医 川西 正祐

【目的】多くの抗癌剤は特定の塩基配列でDNAを切断し、アポトーシスを誘導して癌細胞を死滅させるが、その一方で抗癌剤による副作用が化学療法における重要な問題である。我々は、副作用を軽減しながら効果的に癌を治療できる化学療法の確立を目的として、抗癌剤によるDNA切断の増強をもたらすDNA結合物質（アンプリファイヤー）を見い出すべく研究を行ってきた。最近では、ピロールトリアミドがプレオマイシンの一種であるペプレオマイシンによるDNA切断の増強および塩基配列特異性の変化をもたらすことを明らかにした(1)。また非縮合多環式化合物であるRW-12などがペプレオマイシンによる単離DNAの切断に加えてヒト培養細胞においてDNA切断およびアポトーシスをも増強することを見出した(2)。今回は、いくつかのDNA結合物質によるエンジイン化合物C1027によるDNA切断の増強および塩基配列特異性の変化について報告する。【方法】大腸菌でサブクロニングしたヒトがん遺伝子およびがん抑制遺伝子のDNA断片を単離し、 $^{32}\text{P}$ でT<sub>4</sub> polynucleotide kinaseにより5'末端を、あるいはKlenow fragmentで3'末端をラベルした。そのDNA断片をDNA結合試薬およびC1027と反応させ、Maxam-Gilbert法を応用して得られたオートラジオグラムをレーザーデンシトメーターで解析し、DNA結合試薬によるDNA損傷の塩基特異性の変化について検討した。【結果・考察】C1027はSH化合物に依存しない活性化（エンジイン環におけるdiradical生成）を受け、特に5'-AAAA-3', 5'-TTIT-3'でDNAを強く切断した。A・T-richな部位に結合するminor groove binderであるHoechst 33258およびHoechst 33342は5'-CCCI-3', 5'-AGQ-3', 5'-CCA-3', 5'-TGG-3', 5'-GGGGC-3'の配列におけるDNA切断を増強した。Distamycin Aも同様の配列でDNA切断を増強したが5'-GGGGC-3'などG・C-richな部位における損傷の増強は弱かった。またdistamycin AはAでの切断を増強した。これらのDNA結合物質は、相補鎖の切断が3'末端側へ2塩基離れた部位で起こるエンジイン化合物特有の二本鎖切断を増強することが明らかになった。以上の結果から、DNA結合試薬はDNAの立体構造を変化させ、抗癌剤のDNAにおける認識部位を変化させることによりDNA切断活性を増強し、また塩基配列特異性を変化させると考えられる。

[文献] (1) Hiraku, Y., Oikawa, S., Kuroki, K., Sugiyama, H., Saito, I., and Kawanishi, S. *Biochem. Pharmacol.* (in press)

(2) Kawanishi, S., Oikawa, S., Kawanishi, M., Sugiyama, H., Saito, I., Strekowski, L., and Wilson W. D. *Biochemistry* (in press)