

## 2P114

### 抗がん剤シスプラチン結合 DNA-ヒストン複合体(セル核内モデル)の DNA トポ I によるトポロジー不変量の異なる DNA の生成と構造

(昭和薬大) ○小林 茂樹, 小山 裕己, 金城 真理亜

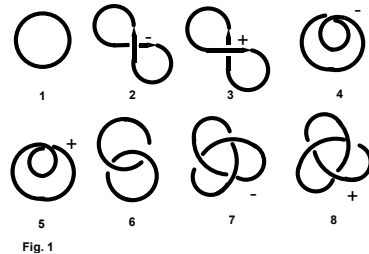
【序論】DNA トポイソメラーゼは DNA の複製や転写さらに組換えなどにおいて生成する複雑な絡み目を解消する働きを持っている。環状プラスミド DNA を用いた実験では負の超らせん構造は緩和されてリラックス構造になる。しかしながら、ガンの化学療法剤として臨床で使われているプラチナ (Pt) 抗がん剤であるシスプラチン (*cis*-DDP) が配位結合した環状プラスミド DNA を DNA トポイソメラーゼ I (DNA トポ I) で処理するとトレフォイル(3<sub>1</sub>)などの結び目 DNA が生成することを報告してきた。本発表では、より細胞核内に模して調製した DNA -ヒストン複合体を *cis*-DDP で作用させて得た *cis*-DDP 修飾 DNA -ヒストン複合体と DNA トポ I との反応を検討し、生成したトレフォイルや8の字ノットのほか、興味あることにミニ環状 DNA などの生成を初めて見出した。

これらの DNA の構造はトポロジー的に検討した。また、抗がん活性を持たない *cis*-DDP の幾何異性体であるトランスプラチン (*trans*-DDP) を同様に処理した結果と比較し、*trans*-DDP と *cis*-DDP の場合に大きな違いを見出したので報告する。

【実験方法】LNCaP 細胞 (あるいは MCF-7 細胞) から抽出したヒストンを濃度を変えて、一定量濃度の DNA ( $\phi$ X174DNA) の一定量濃度 (0.0096 $\mu$ g) とインキュベーションした。得られた複合体を最終濃度 ( $4.0 \times 10^{-5}$  mol/l) の *cis*-DDP あるいは *trans*-DDP と経時的に反応させた。得られた結果は 0.8%アガロースゲル電気泳動で分析し、また透過型電子顕微鏡で DNA の構造を解析した。スキャナーで取り込んだ電子顕微鏡写真を MicroAnalyzer ver.1.1d (Nihon Poladigital, K.K., Tokyo, Jpn) で解析し、DNA の長さや形状を統計的に処理した。

【結果】本実験の結果から、DNA のトポロジー的な解析が重要であることを示す。実験で用いた DNA は負の環状 DNA であるが、正や負の符号

は Fig.1 の 2 と 3 に示すように定義される。化合物 1-5 までは自明なノ



ットであるが、化合物 7 と 8 のトレフォイルは 1-5 とはトポロジー不変量の異なる DNA であることが示される。また、6 はカテナンであり、これは絡み目である。これらの DNA を解析するにあたり、White 則や Jones 多項式などを用いた。

Fig. 2 は実験で得られたトレフォイル 9 と 8 の字ノット 11 の電子顕微鏡写真である。そのスケッチを、それぞれ 10 と 12 に示した。

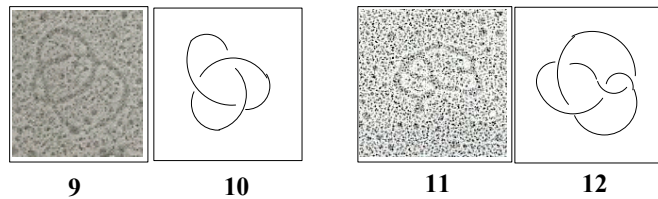


Fig.2

トレフォイル 9 と 8 の字ノット 11 のトポロジー不変量を求め 9 と 11 を定量的に区別するために Jones 多項式を求めた。その結果それぞれ  $V_K(t) = t + t^3 \cdot t$  および  $V_K(t) = t^2 + t^2 \cdot t \cdot t^1 + 1$  であることがわかる。それぞれの DNA の生成収率は観察した DNA 数から統計的に算出した。

*Cis*-DDP 結合 DNA-ヒストン複合体と *trans*-DDP 結合 DNA -ヒストン複合体の DNA トポIとの反応では、トポロジー不変量の異なる DNA の生成収率が大きく異なることを見出した。

【考察・議論】生成機構は、*cis*-DDP 結合により生成する内側ツイスト DNA と DNA トポIの組換え反応から説明できる。Fig.1 に示すような 4 あるいは 5 は、例えば、ライジング( $W_r$ )数が偶数 2 のとき、 $W_r$  数を増やす方向に組換えが起これば、トレフォイルが、また、 $W_r$  数を減らす方向に組換えが起これば自明な DNA1 が生成し、その Jones 多項式は  $V_K(t) = 1$  となることが判る。このように奇数・偶数則を見出した。