

Title	Structural Studies on the Interactions of Aureolic Acid Family Antitumor Antibiotics with DNA
Author(s)	片平, 律子
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41282
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	片 平 律 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 1 6 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 1 0 年 9 月 3 0 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 名	Structural Studies on the Interactions of Aureolic Acid Family Antitumor Antibiotics with DNA (オーレオリック酸類抗癌剤と DNA との相互作用の構造研究)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 京 極 好 正 (副査) 教 授 長 谷 純 宏 教 授 福 山 恵 一 教 授 後 藤 祐 児

論 文 内 容 の 要 旨

クロモマイシン A₃ などのオーレオリック酸類化合物は、Mg²⁺ 存在下で二量体を形成し DNA に結合する抗癌剤である。これらは DNA の GC 含量の高い塩基配列に結合し、Sp1 などの転写因子の DNA への結合を阻害することが知られている。

新規抗癌剤の探索過程において放線菌の培養液よりオーレオリック酸類に属する新規化合物 UCH9 を得た。NMR, MS および原子吸光分析の解析結果から、UCH9 は放線菌から単離された状態ですでに Mg²⁺ を介在した二量体を形成していることが示された。UCH9 の抗癌活性をクロモマイシン A₃ と比較すると、非常によく似た平面構造であるにもかかわらず、弱い活性しか示さないことがわかった。

UCH9 の抗癌活性がなぜクロモマイシン A₃ に比べて弱いかを調べるために、DNA に対する結合定数を比較したところ、両者ではほぼ同じであることが確認された。そこで、両薬剤結合による DNA の構造変化を、ゲルシフトアッセイを用いた DNA の巻戻り実験によって調べた結果、UCH9 はクロモマイシン A₃ に比べて DNA ラセンを巻き戻す効果が極めて小さいことがわかった。

DNA の巻戻り実験に関する結果をさらに詳しく解析するために、NMR によるクロモマイシン A₃-d (GGGGCCCC)₂ 複合体の立体構造解析を行った。DNA は単独の時には B 型ファミリーの構造であったが、クロモマイシン A₃ の結合に伴い、A 型ファミリーの構造に変化していることがわかった。嵩高いクロモマイシン A₃ の DNA 副溝への結合を可能にする為に、副溝が狭い B 型構造から、副溝が広い A 型構造への構造変化が生じたと考えられる。次に、UCH9 と d(TTGGCCAA)₂ の複合体の立体構造決定を NMR によって行った。UCH9 は DNA の中央部の GpC 配列に結合していたが、DNA 側の構造変化はクロモマイシン A₃ に比べ緩やかであることがわかった。UCH9 では、クロモマイシン A₃ にはないアグリコン部分の疎水側鎖と A, D, E 糖との間の相互作用により、クロモマイシン A₃ とは若干異なる二量体構造が形成されていた。この二量体構造の差の為に、UCH9 はクロモマイシン A₃ に比べ、DNA に小さな構造変化を生じさせるだけで、強く結合できる事が示唆された。

以上の結果より、薬剤結合に伴う DNA の構造変化が大きいほど抗癌活性も強いことがわかった。副溝が薬剤結合に

より押し広げられると、主溝は逆に狭められる。したがってこれらの薬剤は、副溝を広め主溝を狭める事により、Sp1 など DNA の主溝に結合する転写因子の DNA への結合を阻害し、抗癌作用を発揮している可能性が示唆された。これらの知見は今後の新たな抗癌剤の開発への重要な手がかりとなるものと期待される。

NMR の一つの手法である光 CIDNP 法は、蛋白質-DNA 複合体における蛋白質側の相互作用部位を検出するために広く応用されている。この方法を DNA に応用してみたところ、光 CIDNP のシグナルは、DNA の副溝が露出している時のみ観測される事を見出した。DNA の副溝に結合する薬剤であるクロモマイシン A₃ や UCH9 を加えたところ、それまで観測されていた光 CIDNP シグナルの消失が見られた。この結果は、光 CIDNP 法が薬剤の DNA 副溝への結合を検出する方法として応用できる事を示している。

論文審査の結果の要旨

片平律子さんは放線菌から新しい抗癌剤 UCH9 を単離、精製し、それがオーレオリック酸類化合物の一種であることを決定した。さらに既知の同系統の化合物クロモマイシン A₃ の示す活性の度合いとの違いの原因を探るために、DNA の巻き戻しを見る実験を行い、また、それぞれの DNA との複合体の構造を核磁気共鳴法を用いて決定し、比較検討した。その結果 UCH9、クロモマイシンともに DNA の副溝側から GC 塩基対に結合し、DNA を変形させているが、その度合いに違いがあり、その差異は両抗癌剤の糖の位置、側鎖の違いから生じることを明らかにした。これらの結果は、オーレオリック酸類抗癌剤の構造と機能との関係を明確に示したものであり、博士（理学）の学位論文として充分価値あるものと認める。