

令和元年 6 月 18 日	氏名： 佐野拓哉
【Journal】 <i>J. Am. Chem. Soc.</i> 2019 , <i>141</i> , 7842–7852	
【Title】 DNA Binding and Cleavage Modes of Shishijimicin A	
【Affiliation & Authors】 Hao Zhang, Ruofan Li, Sai Ba, Zhaoyong Lu, Emmanuel N. Pitsinos, Tianhu Li, and K. C. Nicolaou Department of Chemistry, BioScience Research Collaborative, Rice University	
【Abstract】 微生物が産生する enediyne 化合物は、生体内で 1,4-ベンゾジラジカルを形成し、DNA を切断することで細胞傷害活性を示す。Enediyne 化合物ファミリーの shishijimicin A も強力な活性を示すが、化合物の量的供給が困難なために、その詳しい作用機序は解明されていなかった。今回筆者らは、先行研究で、本化合物の効率的な全合成を達成したことから、shishijimicin A の作用機序の解析を検討した。まず、アガロース電気泳動法で shishijimicin A の DNA 切断活性を評価し、濃度依存的な 2 本鎖、1 本鎖 DNA の切断を確認した ($IC_{50} = 14.1 \text{ nM}$)。さらに、dithiothreitol (DTT) との併用時、DNA 切断活性が向上した。この結果は、本化合物の細胞傷害活性が enediyne に起因することを支持し、DDT 中のチオール基が化合物の 1,4-ベンゾジラジカル形成を活性化していることが示唆された。また、本化合物の DNA 塩基配列選択性および結合様式を、SDS-PAGE で検討した。その結果、本化合物は配列選択性を持たず、ランダムに DNA を切断することが判明した。この配列非選択性が、多くの細胞株に対し、強力な細胞傷害活性を示すことに関与すると考えられた。加えて、shishijimicin A 添加時、未添加時の DNA 断片のゲル上での移動度のガウス分布の比較により、 L_k 値に差が生じたこと、本化合物が DNA との混合溶液中で UV 吸収率が低下したことから、本化合物が DNA にインターカレーションを起こすことが示唆された。さらに、既知 DNA インターカレーターである netropsin、distamycin との同時添加で DNA 切断活性が減弱した。これは shishijimicin A の DNA への挿入が拮抗的に阻害されることに起因すると考えられ、本化合物が DNA にインターカレーションを起こしていることがさらに支持された。以上の評価から、shishijimicin A の作用機序は、DNA に点在する副溝にインターカレーションを起こし、DNA を切断することで活性を示していることが示唆された。本研究結果は、今後の多くの enediyne 化合物の作用機序解析の一つの指針になることが期待される。	