

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.13.044

G- 四链体 DNA 结合剂研究进展 *

郝 润 刘雅萌 张淑芬 罗云敬 钟儒刚[△]

(北京工业大学生命科学与生物工程学院 北京 100124)

摘要 富含鸟嘌呤的单链 DNA 序列可以缠绕折叠形成 G- 四链体结构。人类基因组中有 36,000 个以上的 DNA 序列有潜力生成 G- 四链体,如端粒末端重复序列,以及 c-myc、c-kit、bcl-2 等原癌基因启动子区域。G- 四链体是由四个鸟嘌呤之间通过 Hoogsteen 氢键形成 G- 四分体,相邻的 G- 四分体再通过 π - π 堆积作用,由糖-磷酸骨架相连而成。G- 四链体 DNA 的形成有着重要的生物学意义,它和相关基因表达水平密切相关,诱导和稳定 G- 四链体结构就有可能抑制癌基因的转录和表达,引起肿瘤细胞生物学功能的紊乱,从而抑制肿瘤细胞的增殖。G- 四链体结构作为新的抗肿瘤药物靶点引起了科学家的广泛关注,能够稳定 G- 四链体结构的配体包括二酰胺蒽醌类、茈类、阳离子卟啉类、金属配合物和天然产物等。本文对近年来以 G- 四链体为靶点的配体的研究进行了综述。

关键词 G- 四链体;端粒;原癌基因;抗肿瘤药物

中图分类号 R730.53 文献标识码 A 文章编号 :1673-6273(2014)13-2560-03

Progress in the Study of G-Quadruplex DNA Binders*

HAO Run, LIU Ya-meng, ZHANG Shu-fen, LUO Yun-jing, ZHONG Ru-gang[△]

(College of Life Science and Bioengineering of Beijing University of Technology, Beijing, 100124, China)

ABSTRACT: Guanine-rich DNA sequences can form G-quadruplex structure. More than 36,000 DNA sequences in the human genome has the potential to form G-quadruplex structure, such as telomeric chromosomal terminals and c-myc, c-kit, bcl-2 oncogene promoter region. G-quadruplex structure is composed of stacked guanine tetrads which is assembled via Hoogsteen hydrogen-bonding in a coplanar arrangement. The formation of DNA G-quadruplex have important biological significance and it is related to the level of gene expression. The induction and stabilization of G-quadruplex structure can lead to the biology disorder of tumor cell, thereby inhibiting the proliferation of tumor cell. G-quadruplex structure, as a new anticancer drug target, has caused much attention. The ligands which can stabilize the G-quadruplex structure include diamide anthraquinone, perylene, cationic porphyrins, metal complexes and natural products. This article briefly describes the formation and biological significance of G-quadruplex, also current developments in G-quadruplex targeted ligands were reviewed.

Key words: G-quadruplex; Telomere; Oncogene; Anti-cancer drugs

Chinese Library Classification(CLC): R730.53 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2014)13-2560-03

恶性肿瘤是危害人类健康的一类重大疾病,世界卫生组织调查统计,2005 年全球死于癌症的患者有 760 万例,死亡率较高的是胃癌、肺癌和肝癌^[1],预计到 2030 年,全球癌症患者将增加 50%^[2]。目前抗癌药物普遍存在两个问题,一是毒副作用,主要表现为骨髓毒性;二是肿瘤细胞对药物产生的耐药性。近年来,G- 四链体 DNA 作为抗癌药物靶点的研究为新的抗癌药物的开发提供了新思路。

1 G- 四链体 DNA 的结构

1962 年, Gellert 等人首次发现了 G- 四链体结构^[3]。G- 四链体是由四个鸟嘌呤之间通过 Hoogsteen 氢键形成 G- 四分体

(图 1) 相邻的 G- 四分体再通过 π - π 堆积作用,由糖-磷酸骨架相连形成 G- 四链体 DNA^[4]。根据构成 G- 四链体的链数的不同,G- 四链体可以分为三类(图 2): 单分子 G- 四链体:由一条包含 4 个或更多的鸟嘌呤重复序列 TTAGGG 的 DNA 链自身折叠形成的分子内 G- 四链体,可以形成篮状、椅状^[5]和螺旋桨状^[6]结构;双分子 G- 四链体:由两条含有 2 个或更多鸟嘌呤重复序列 TTAGGG 的 DNA 链先各自形成 G-G 发卡结构,在组合成双分子型 G- 四链体^[7];四分子 G- 四链体:由四条包含鸟嘌呤重复序列 TTAGGG 的单链 DNA 形成的分子间 G- 四链体,即平行型(parallel) G- 四链体^[8]。

* 基金项目 北京市教委科技计划重点项目(KZ201110005003)

作者简介 郝润(1985-) 男,博士研究生,主要从事 DNA 结构与癌症相关研究 E-mail hr006@emails.bjut.edu.cn

[△]通讯作者:钟儒刚 男 教授,主要从事化学致癌物构效关系与致癌作用机理、生物大分子的保护机制与药物分子设计、仿生催化剂的设计与应用、以及有关生命起源的化学进化过程等方面的研究工作 E-mail lifesci@bjut.edu.cn

(收稿日期 2013-10-23 接受日期 2013-11-18)

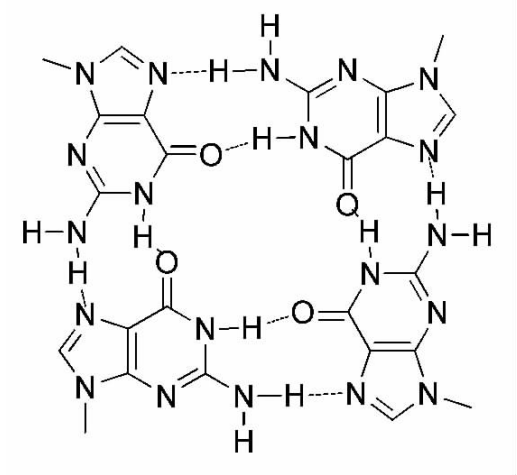


图 1 G-四分体结构

Fig. 1 Chemical structure of G-quartet

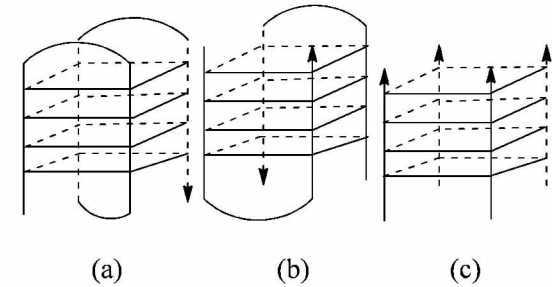


图 2 G-四链体示意图

(a) 单分子 G-四链体 (b) 双分子 G-四链体 (c) 四分子 G-四链体

Fig.2 Schematic representation of G-quadruplex structures

(a) intramolecular G-quadruplex (b) bimolecular G-quadruplex

(c) tetramolecular G-quadruplex

2 G-四链体生物学意义

G-四链体是由平面四分体通过 $\pi-\pi$ 堆积而成,由四个沟和一个带负电的通道组成^[9]。G-四链体 DNA 的出现与体内许多重要的生理过程密切相关。研究表明,人类基因组中有 36,000 个以上的 DNA 序列有潜力生成 G-四链体 DNA^[10]。人类染色体端粒末端形成的 G-四链体结构可以抑制在肿瘤细胞中高表达的端粒酶的活性^[11]。原癌基因启动子 c-myc 中的 Pu27 片段可以形成 G-四链体结构,此结构能显著下调与癌细胞相关的 c-myc 基因的转录水平^[12]。原癌基因启动子 c-kit 含有两个富含鸟嘌呤的大片段 c-kit1 和 c-kit2,其中 c-kit2 存在两种不同的平行 G-四链体结构,可能与原癌基因启动子的生物学功能相关^[13]。此外,原癌基因 k-ras、bcl-2 和 RET 中也都存在富含鸟嘌呤的序列,可以形成 G-四链体结构。G-四链体 DNA 的形成有着重要的生物学意义,它和相关基因表达水平密切相关^[14],能够引起与肿瘤细胞相关的生物学功能的紊乱^[15],从而抑制肿瘤的生长。G-四链体已经成为一个新的药物作用靶点^[16]。

3 以 G-四链体 DNA 为靶点的结合剂

3.1 二酰胺蒽醌类

Sun 等^[17]报道了第一个以 G-四链体为靶点的小分子端粒

酶抑制剂—2,6-二酰胺蒽醌衍生物 BSU 1051。最近, Giuseppe Zagotto 等^[17]在蒽醌系统上对称的引入了两个 N 末端的赖氨酸残基,并且通过引入甘氨酸、丙氨酸或苯丙氨酸来增加侧链的长度。实验结果表明,当侧链是一个碱性的赖氨酸和一个更加疏水的苯丙氨酸残基时,衍生物可以更有选择性的识别 G-四链体结构,特别是当侧链在 2,6 或者 2,7 位置上时,这种选择性进一步加大。

3.2 花类(perylenes)

花类具有长平面芳香结构,能与 G 四链体形成稳定的共轭结构。Pivetta 等^[18]用电泳迁移实验(EMSA)和圆二色光谱(CD)方法研究了一系列的花类衍生物与分子间或分子内形成的 G-四链体 DNA 的相互作用。侧链末端是环状胺基的花类衍生物与 G-四链体的结合能力较低,而侧链末端是线性胺基的衍生物与 G-四链体的结合能力较强,能够有效的诱导多倍体 DNA 的配对。Casagrande 等^[19]研究了一系列沟槽取代的花类衍生物作为新的 G-四链体配体。电喷雾质谱(ESI-MS)和荧光共振能量转移(FRET)实验表明这个系列的衍生物和 G-四链体结合能力很强并且有很高的选择性。生物学实验证明复合物 5 (PPL3C)可以引起转化细胞的损伤,但是并不引起正常细胞中端粒的损伤。

3.3 阳离子卟啉类

Kim^[20]等通过 EMSA 和聚合酶阻滞实验证明 TMpyP4 选择性的诱导分子间 G-四链体 DNA 的形成,抑制了端粒酶活性和 ALT 阳性细胞中端粒的增值。Mikami-Terao 等^[21]研究了 TMpyP4 对视网膜母细胞瘤的抗肿瘤活性机制。结果表明 TMpyP4 能够诱导肿瘤细胞中的端粒形成 G-四链体 DNA 结构,从而抑制端粒酶的活性,阻碍端粒的延长。

3.4 金属配合物

Kieltyka 等^[22]首先合成了新的对 G-四链体具有选择性的 phenanthroimidazolePtII 复合物。通过 UV/Vis 光谱和竞争平衡分离实验表明,phenanthroimidazolePtII 复合物与 G-四链体有显著的结合倾向性,与 G-四链体的结合常数比与双链 DNA 的结合常数高两个数量级。生物学和分子模拟的研究表明,平面正方形的 PtII 与 π 延伸的配体可以作为一种简单的模式来开发有效的选择性作用 G-四链体 DNA 的分子。

Castor 等^[23]研究了 phenanthroimidazoleplatinum(II)复合物与端粒形成的分子内 G-四链体 DNA 靶向结合的能力。通过 CD 光谱、荧光光谱和分子模拟实验,表明这些复合物可以稳定 G-四链体结构,其中 bipyridineethylenediamine platinum(II)稳定四链体能力最强($G4DC50=0.31 \mu\text{M}$)。初步的细胞实验表明 bipyridineethylenediamine platinum(II)对癌细胞有优先的毒性。

3.5 天然产物

Shu Yang 等^[24]研究了血根碱、两面针碱和白屈菜赤碱与单链的人端粒 DNA 的相互作用。虽然三种生物碱的结构式十分相似的,但是在诱导寡聚核苷酸 d(TTAGGG)₄(HT4)形成 G-四链体的能力上却有显著的差异。实验证明血根碱可以把 HT4 完全转化成反向平行的 G-四链体结构;两面针碱可以把 HT4 部分转变成混合的 G-四链体结构;白屈菜赤碱仅仅只能使一小部分 HT4 转变成反向平行的 G-四链体结构。CD 实验表明,这三种生物碱相对的诱导能力依次是血根碱>两面针碱>白

屈菜赤碱,造成这种差异的原因可能是分子框架的厚度和空间的位阻。

Hyun-Jin Kang 等^[25]研究了放射菌素 D 作为原癌基因 c-myc 启动子 G- 四链体 DNA 结合剂的分子机制。在聚合酶阻滞实验中,放射菌素 D 选择性的抑制了包含 c-myc 启动子序列的寡聚核苷酸的延长。UV/Vis 光谱和 CD 光谱实验表明,放射菌素 D 和 c-myc 启动子 G- 四链体 DNA 通过表面的末端堆积结合,诱导出现混合构象的 G- 四链体。

4 结语

G- 四链体作为一种特殊的 DNA 二级结构,具有重要的生物学功能。作为新的抗肿瘤药物靶点,科学家已经从多个方面筛选出多种对 G- 四链体 DNA 具有诱导和稳定作用的药物小分子,通过进一步的修饰作用,提高了与 G- 四链体 DNA 作用的能力。G- 四链体 DNA 的出现为抗肿瘤药物的研发开辟了一条新的途径,能够诱导和稳定 G- 四链体 DNA 的配体,都可能成为潜在抗肿瘤药物。随着对 G- 四链体 DNA 研究的不断深入,G- 四链体 DNA 的拓扑异构学以及与小分子配体间的作用机制进一步被揭示出来,为以 G- 四链体位靶点的抗肿瘤药物的研发奠定了一定的基础。在未来的研究中,开发出对 G- 四链体 DNA 具有高度选择性的小分子配体成为了科学家工作的重点:具有抗肿瘤活性的同时对正常的二倍体 DNA 没有毒副作用。以 G- 四链体 DNA 为药物靶点开发新的抗肿瘤药物,有望突破现有抗肿瘤药物瓶颈,在抗肿瘤药物研发中取得重大进步。

参考文献(References)

- [1] D. M. Parkin, F. Bray, J. Ferlay, et al. Global Cancer Statistics 2002 [J]. CA Cancer J Clin, 2005, 2, 74-108
- [2] P. Boyle, B. Levin. World cancer report 2008 [R]. Lyon: IARC, 2008, 1-524
- [3] Mata J E, Joshi S S, Palen B, et al. A hexameric phosphorothioate oligonucleotide telomerase inhibitor arrests growth of burkitt's lymphoma cells in vitro and in vivo [J]. Toxicol Appl Pharm, 1997, 144: 189-197
- [4] J. L. Huppert. Four-stranded DNA: cancer, gene regulation and drug development [J]. Philosophical Transactions of the Royal Society, 2007, 365: 2969-2984
- [5] Smith FW, Feigon J. Quadruplex structure of Oxytrichatellomeric DNA oligonucleotides [J]. Nature, 1992, 356(6365): 164-168
- [6] Parkinson GN, Lee MP, Neidle S. Crystal structure of parallel quadruplexes from human telomeric DNA [J]. Nature, 2002, 417 (6891): 876-880
- [7] Kang C, Zhang X, Ratliff R, et al. Crystal structure of four-stranded Oxytrichatellomeric DNA [J]. Nature, 1992, 356: 126-131
- [8] Wang Y, Patel DJ. Solution structure of a parallel 2-stranded G-Quadruplex DNA [J]. J Mol Biol, 1993, 234: 1171-1183
- [9] Gavathiotis E, Heald RA, Stevens MF, et al. Drug recognition and stabilisation of the parallel-stranded DNA quadruplex d (TTAGGGT)

- 4-containing the human telomeric repeat [J]. J Mol Biol, 2003, 334 (1): 25-36
- [10] Todd A K, Johnston M, Neidle S. Highly prevalent putative quadruplex sequence motifs in human DNA [J]. Nucleic Acids Res, 2005, 33: 2901-2907
- [11] Sun D, Thompson B, Cathers BE, et al. Inhibition of human telomerase by a G-quadruplex-interactive compound [J]. J Med Chem, 1997, 40: 2113-2116
- [12] J. Seenisamy, B. M. Rezler, T. J. Powell, et al. The dynamic character of the G-quadruplex element in the c-MYC promoter and modification by TMPyP4 [J]. Am. Chem. Soc. 2004, 126, 8702-8709
- [13] H. K. Plummer, G. H. Park, and G. W. Krystal. Selective Spl binding is critical for maximal activity of the human c-kit promoter [J]. Blood, 1998, 92: 4138-4149
- [14] Eddy J, Maizels N. Gene function correlates with potential for G4 DNA formation in the human genome [J]. Nucleic Acids Res, 2006, 34: 3887-3896
- [15] Oganessian L, Bryan T M. Physiological relevance of telomeric G-quadruplex formation: A potential drug target [J]. BioEssays, 2007, 29: 155-165
- [16] Mergny JL, Helene C. G-quadruplex DNA: a target for drug design [J]. Nat Med, 1998, 4: 1366-1367
- [17] Zagotto G, Ricci A, Vasquez E, et al. Tuning G-quadruplex vs double-stranded DNA recognition in regioisomeric lysyl-peptidyl-anthraquinone conjugates [J]. Bioconjug Chem, 2011, 22(10): 2126-2135
- [18] Pivetta C, Lucatello L, Krapcho AP, et al. Perylene side chains modulate G-quadruplex conformation in biologically relevant DNA sequences [J]. Bioorg Med Chem, 2008, 16(20): 9331-9339
- [19] Casagrande V, Salvati E, Alvino A, et al. N-cyclic bay-substituted perylene G-quadruplex ligands have selective antiproliferative effects on cancer cells and induce telomere damage [J]. J Med Chem, 2011, 54(5): 1140-1156
- [20] Kim, M. Y.; Gleason-Guzman, M.; Izbicka, E.; Nishioka, D.; Hurley, L. H [J]. Cancer Res. 2003, 63, 3247
- [21] Mikami-Terao, Y.; Akiyama, M.; Yuza, Y.; Yanagisawa, T.; Yamada, O.; Kawano, T.; Agawa, M.; Ida, H.; Yamada, H. Exp. Eye Res. 2009, 89, 200
- [22] Kieltyka R, Fakhoury J, Moitessier N, et al. Platinum phenanthroimidazole complexes as G-quadruplex DNA selective binders [J]. Chemistry, 2008, 14(4): 1145-1154
- [23] Castor KJ, Mancini J, Fakhoury J, et al. Platinum (II) phenanthroimidazoles for targeting telomeric G-quadruplexes [J]. ChemMedChem, 2012, 7(1): 85-94
- [24] Shu Yang, Junfeng Xiang, Qianfan Yang, et al. Formation of Human Telomeric G-quadruplex Structures Induced by the Quaternary Benzophenanthridine Alkaloids: Sanguinarine, Nitidine, and Chelerythrine [J]. Chinese Journal of Chemistry, 2010, 28(5): 771-780
- [25] Kang HJ, Park HJ. Novel molecular mechanism for actinomycin D activity as an oncogenic promoter G-quadruplex binder [J]. Biochemistry, 2009, 48(31): 7392-7398