

抗癌药物奥沙利铂与 DNA 分子相互作用的研究*

许凤杰^{1,2)} 刘瑞斯^{1,2)} 彪林海^{1,2)} 祖元刚^{1,2)} 刘志国^{1,2)**}

^① 东北林业大学生物资源生态利用国家地方联合工程实验室, 哈尔滨 150040;

^② 东北林业大学森林植物生态学教育部重点实验室, 哈尔滨 150040)

摘要 奥沙利铂被称为第三代铂类药物, 特别对胃肠道肿瘤具有较好的疗效。目前大多数的研究表明奥沙利铂的主要作用靶点是 DNA 分子, 但它与 DNA 分子形成的关键结构和作用机制仍处在探索阶段。本研究运用紫外可见吸收光谱和原子力显微镜观察探索奥沙利铂与 DNA 在活体外的相互作用过程, 从而揭示奥沙利铂产生抗癌作用的主要分子结构基础。首先使用紫外光谱研究了较高浓度奥沙利铂与 DNA 的作用过程。在此基础上, 进一步采用原子力显微镜在高定向热解石墨表面观察了不同浓度奥沙利铂与质粒 DNA 在 37℃ 条件下作用不同时间后的结构形貌变化, 分析了奥沙利铂与 DNA 相互作用的过程。高分辨原子力显微观察结果表明奥沙利铂与 DNA 作用后可导致质粒 DNA 的结构发生显著的变化。随着作用时间的增加, DNA 分子逐渐由伸展的链状变化为相互缠绕并带有许多结点的紧密结构, 最终变化为更紧密的球状结构。本研究结果表明奥沙利铂可通过化学键合作用和静电作用使质粒 DNA 逐渐凝集为紧密的球状结构, 这种结构可能对奥沙利铂的抗癌活性和毒性产生重要影响。

关键词 奥沙利铂, DNA, 高定向热解石墨, 原子力显微镜

学科分类号 Q6, R9

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0396

自从 1969 年美国科学家 Rosenberg 等^[1]发现顺铂具有抗癌活性以来, 各种铂类抗癌配合物的研发得到了迅速发展。铂类配合物在多种癌症的治疗中占有重要的地位, 大约有 50% 的癌症患者使用了铂类药物^[2]。奥沙利铂(化学名为(1R, 2R)-1, 2-二氨基环己烷草酸根合铂, Oxaliplatin)是第一个上市的以二氨基环己烷作为配体的抗癌手性铂配合物, 也被称为第三代铂类药物。奥沙利铂不仅改善了顺铂及卡铂的毒副作用, 而且扩大了它们的活性谱, 对许多耐顺铂或卡铂的细胞株具有活性。该药是对结、直肠转移癌有较好疗效的第一个铂类药物。

大量研究表明, 奥沙利铂的作用靶点是 DNA 分子, 但对于奥沙利铂和 DNA 分子所形成的结构和形貌及其各种物理化学性质变化等方面的认识还不够深入, 这些问题的解决是研发具有更高活性铂配合物的基础。在活体外, 可用于铂类药物与 DNA 相互作用的研究方法主要有 X 射线晶体衍射、核磁共振波谱、原子吸收光谱、质谱、圆二色谱法、紫外光谱等^[3]。利用波谱法所得到的结果是

大量分子的平均行为, 很难获得单分子的结构变化信息。原子力显微镜是分析单个生物大分子结构的工具, 目前, 使用原子力显微镜可实现对单个 DNA 分子、蛋白质分子和病毒的结构分析^[4-10]。

运用原子力显微镜可以观察铂类药物与 DNA 分子之间的相互作用, 通过观察与铂类配合物作用后的 DNA 结构和形貌的变化, 能够探索铂类抗癌药物和 DNA 分子相互作用的机理。近来, 研究者运用原子力显微镜研究了顺铂和长链 DNA 分子形成的各种高分辨结构^[11-14]。与顺铂相比, 奥沙利铂含有一个较大的具有手性的环己二胺配位体。探索奥沙利铂与长链 DNA 分子作用后能否显著改变 DNA 的自身结构和组装结构对于深入认识奥沙利

* 黑龙江省科学基金(LC2015008), 哈尔滨市创新人才项目(2015RQQXJ053)和电分析化学国家重点实验室开放课题(SKLEAC201507)资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 0451-82192224, E-mail: cn.zguoliu@yahoo.com

收稿日期: 2015-12-23, 接受日期: 2016-04-28

铂的抗癌活性机制非常重要。最近, Zhang 等^[15-16]对奥沙利铂与 2 kb 线形 DNA 形成的结构进行了观察研究, 结果显示高浓度奥沙利铂可导致 DNA 分子形成微环及大范围交联结构, 这一结果有助于认识奥沙利铂导致线形 DNA 分子凝集的动力学过程。由于 DNA 链在环状质粒内受到环的限制不能像线形 DNA 链那样容易转动, 因而推断奥沙利铂与质粒 DNA 分子可能形成一些特殊的未知结构。本研究主要对抗癌药物奥沙利铂与环状质粒 pUC19 DNA 相互作用进行探索, 揭示奥沙利铂对 DNA 结构的作用强度和影响程度, 从而在单分子水平上认识奥沙利铂与 DNA 作用形成的关键结构。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

原子力显微镜系统为 Molecular Imaging Picoplus II 型(Molecular Imaging, USA)。气相扫描使用 MI 公司生产的 100×100 μm^2 扫描头, 成像样品前经过标准样品校正。本研究使用 Mikromasch 生产的 NSC35 型探针, 针尖的曲率半径小于 10 nm, 针尖力常数为 4.5 N/m, 在轻敲成像模式下共振频率为 170 kHz 左右, 扫描速度为 1 lines/s 成像。原子力显微镜图片均为 512×512 分辨率下的原始数据, 使用仪器自带的 Picoscan5.3.3 软件进行数据处理, 高度值为至少 50 个不同位置测量点高度的平均值。使用岛津公司 UV-2550 的紫外可见分光光度计测定紫外光谱。试验用超纯水, 经 Milli-Q 系统纯化, 电阻率 > 18 $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$; 环状质粒 pUC19 DNA(2 686 bp), 购自上海生物工程有限公司; 小牛胸腺 DNA(calf-thymus DNA)为 Sigma 公司产品。奥沙利铂购于昆明贵研药业有限公司(原料药)。ZYB 级的高定向热解石墨片(highly oriented pyrolytic graphite, HOPG)为爱沙尼亚 Mikro Masch 公司产品。

1.2 实验方法

将奥沙利铂用超纯水溶解配制成 100、500 和 1 000 $\mu\text{mol/L}$ 的水溶液。取 250 μl 新配制的 2 mg/L pUC19 DNA 加入等体积的 100 $\mu\text{mol/L}$ (或 500 和 1000 $\mu\text{mol/L}$) 奥沙利铂, 混匀后, 放入 37℃ 水浴中避光保存。作用 4 h 和 24 h 后, 分别取出反应液 50 μl 滴加于新解离的 ZYB 级高定向热解石墨片上, 使其静置吸附 10 min, 然后将石墨片泡在纯水中 10 min, 取出后再用纯水冲洗数次用以去除未吸附牢固的 DNA 分子和铂盐, 最后用氩气吹干石墨

表面, 用于原子力显微镜成像前放置在干燥器中保存。

2 结果与分析

2.1 紫外光谱结果

如图 1 所示, 当 ct-DNA 中加入奥沙利铂之后, 随着反应时间的增加, DNA 的吸收峰逐渐红移并且产生明显的增色效应。依据此结果可以推断奥沙利铂与 DNA 分子产生了相互作用。DNA 吸收峰的红移和增色效应可以归结为 DNA 的碱基堆积结构发生了改变所致。奥沙利铂能与 DNA 分子中单链上相邻鸟嘌呤(N-7)间进行股内交联(包括 1, 2-GpG 和 1, 3-GpG)及其相邻腺嘌呤和鸟嘌呤的交联(1, 2-ApG)。高分辨 X 射线衍射结果显示, 形成一个 1, 2-GpG 股内交联结构可使相邻鸟嘌呤平面间形成大约 25°的二面角, 最终导致双螺旋结构向大沟方向弯曲大约 30°^[17]。奥沙利铂与 DNA 相互作用的紫外可见光谱吸收特点与其他铂类药物具有一定的相似性^[18-19]。此外, 从图 1 可以注意到, DNA 分子的铂化是一个时间依赖过程。在上述试验条件下, 大约 8 h 后 DNA-奥沙利铂的紫外吸收光谱逐渐趋于稳定。

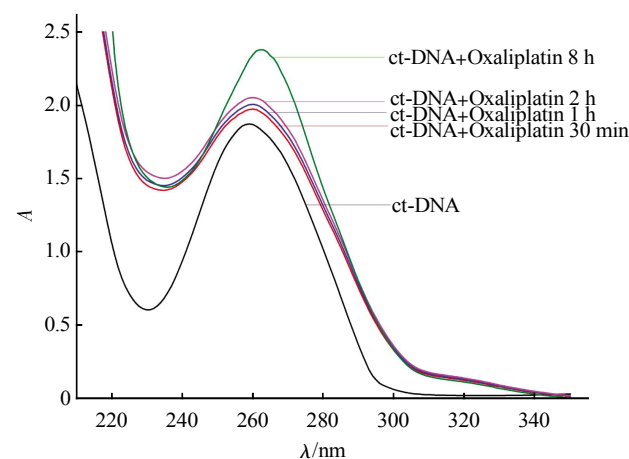


Fig. 1 UV absorption spectra of 100 mg/L ct-DNA solution and the mixed solution of 100 mg/L ct-DNA and 1 000 $\mu\text{mol/L}$ oxaliplatin incubated for 30 min, 1 h, 2 h, 8 h

2.2 pUC19 DNA 的显微结构

图 2a 为新解离石墨表面的典型成像。图中高度为 0.3~0.7 nm 的台阶为高定向热解石墨片

(HOPG)所特有的结构. 空白石墨表面具有较大的平整区域并且没有类似于 DNA 分子的结构, 因而可用于观察 DNA 与奥沙利铂的相互作用过程. 图 2b 为 pUC19 DNA 分子在石墨表面的成像, 由图可以清晰地看到环状的 DNA 链, 并且大部分链呈现为伸展的状态. 未折叠的 DNA 链测量平均高度为 (1.37 ± 0.18) nm. 这个高度值略小于 DNA 分子的理论直径(~ 2 nm). 这一结果可归因于原子力显微镜针尖对样品的挤压作用以及样品本身干燥脱水的效应. 需要说明的是在本研究中使用了 HOPG 作为观察基底. 使用 HOPG 作为观察基底的一个优点是在制作 DNA 样品时无需加入其他固定试剂或进行表面修饰. 在以前的研究中, 通常使用云母作为观察 DNA 分子的基底. 使用云母作为基底时, 一般需要加入二价阳离子或用硅烷化试剂修饰

云母表面来固定 DNA 分子用于原子力显微镜成像^[4]. 当使用二价阳离子作为固定方法时, 将会不可避免对抗癌药物奥沙利铂与质粒 DNA 分子的相互作用产生一定的影响. 我们探索了以云母为基底镁离子或镍离子为固定离子来观察奥沙利铂与 DNA 分子形成的结构. 初步结果显示在作用不同时间后产物都容易在云母表面形成大量的盐斑而影响高分辨观察. 此外, 在不同条件下以云母为基底时作用产物显微成像的重现性不是很好, 推测可能是外加的固定镁离子或镍离子产生的效应. 因而, 以云母为基底研究 DNA- 铂配合物的结构仍需进一步的探索. 我们研究小组对 DNA 分子在石墨表面的固定和成像进行了研究, 发现通过控制 DNA 分子的浓度、吸附时间和样品清洗方式, 可得到分散良好的 DNA 以及 DNA- 铂配合物的单分子成像.

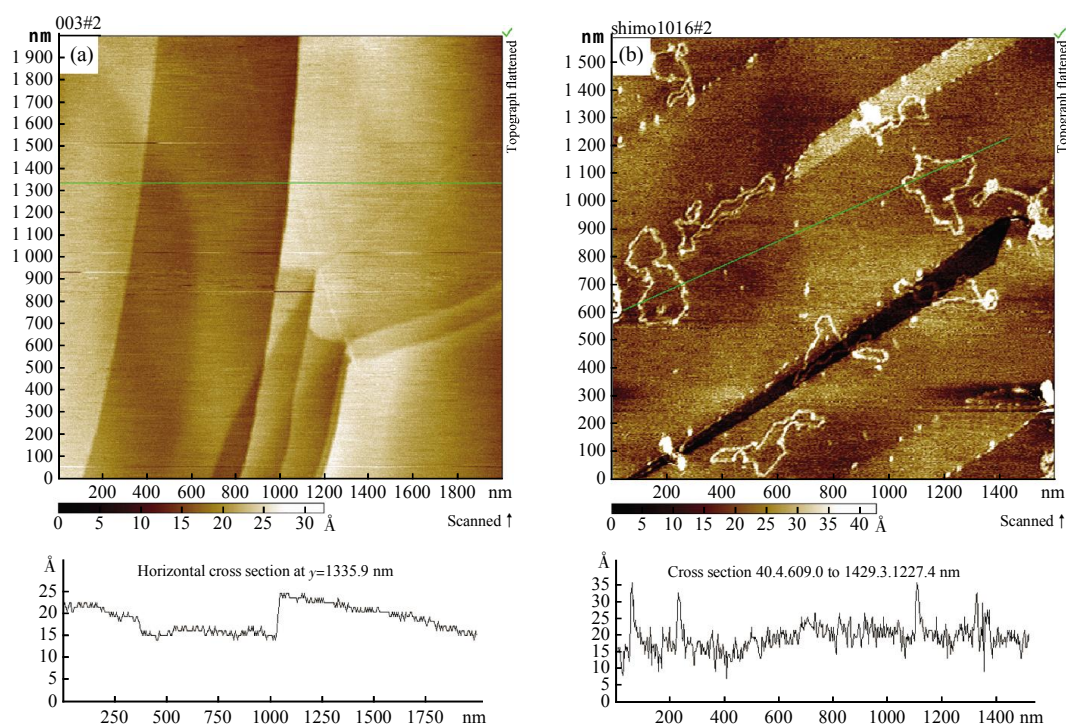


Fig. 2 The representative AFM image of HOPG surface (a) and pUC19DNA on HOPG surface (b)

2.3 奥沙利铂与 pUC19 DNA 作用不同时间后的显微结构

我们选取了不同时间间隔奥沙利铂与 pUC19 DNA 的作用产物, 用于原子力显微镜观察研究, 并选择出现显著变化的 DNA 结构进行报道. 当奥沙利铂和 DNA 分子的作用时间到 4 h 时(图 3a), pUC19 DNA 分子链相互缠绕形成了许多结点结

构, 此时观察到 DNA 链上的结点平均高度达到 (2.71 ± 0.16) nm. 奥沙利铂在水中可离解为铂合阳离子, 铂合阳离子能与 DNA 的嘌呤碱基上的(N7)配合, 形成铂合离子 /DNA 加合物. 正是由于铂合阳离子与 DNA 碱基间形成的股内交联和股间交联可使 DNA 的结构发生转变. 研究表明铂阳离子和 DNA 形成的 1, 2-GpG 股内交联产物会使 DNA 向

大沟方向发生弯曲并使 DNA 的螺旋结构发生一定程度的解旋^[20]. 此外, 随着大量铂阳离子结合到 DNA 链上后可使 DNA 链间的静电排斥作用减弱, 从而有利于形成相对紧密的链内和链间的结点结构.

当奥沙利铂和 DNA 分子的作用时间到 24 h 时(图 3b), DNA 分子已经完全变成为直径大约为

50 nm 的球状体, 平均高度为 (2.96 ± 0.11) nm. 根据球状体的体积判断, 每个球状体是由单个 pUC19 DNA 分子形成了紧密的结构. 这种高度紧密的结构与已报道的 DNA 凝集体相似^[21-22], DNA 的凝集体可通过静电作用而形成. 本研究中, 奥沙利铂和 DNA 分子间既有静电作用也有化学配合作用.

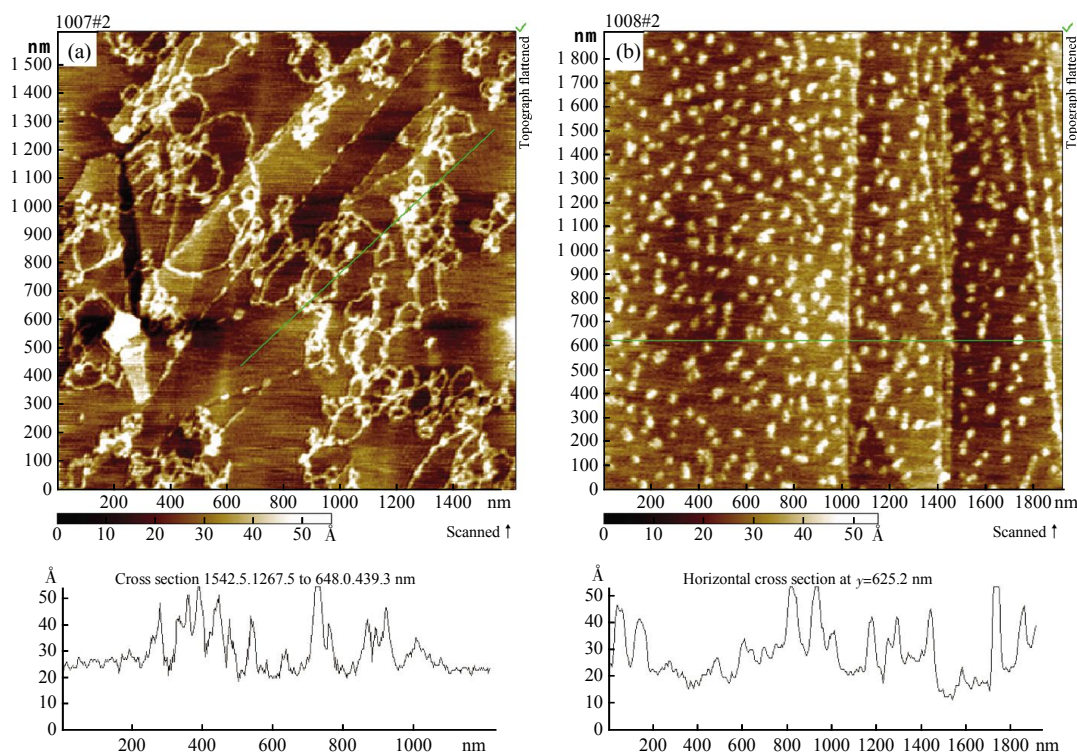


Fig. 3 The typical AFM images of pUC19 DNA after incubation with 100 $\mu\text{mol/L}$ oxaliplatin for the predefined time (a) 4 h. (b) 24 h.

在上述研究的基础上, 我们进一步研究了奥沙利铂浓度对它与 pUC19 DNA 分子相互作用的影响. 图 4a 和 4b 为 500 $\mu\text{mol/L}$ 和 1 000 $\mu\text{mol/L}$ 奥沙利铂与 pUC19 DNA 作用 4 h 后典型的原子力显微镜成像图. 图 4b 中的插图是球状结构的高分辨成像图, 在结构的边缘部分可观察到一些链状结构, 这证明它们是由 DNA 分子组装而成. 与图 3a 相比较, 随着奥沙利铂浓度的增高, pUC19 DNA 分子能形成更为紧密的球状结构. 特别是使用 1 000 $\mu\text{mol/L}$ 奥沙利铂时, 作用 4 h pUC19 DNA 分子基本上形成了球状结构, 这与使用 100 $\mu\text{mol/L}$ 奥沙利铂作用 24 h 后形成的结构相当. 这一结果说明高浓度的奥沙利铂能在更短的时间内使 DNA 分子变为球状结构. 奥沙利铂不仅能使环状质粒

DNA 分子产生显著变化, 而且也能使线状 DNA 分子产生类似的结构. 关于奥沙利铂与线状 DNA 分子产生的结构将另发文章详细介绍.

本研究中所有原子力显微镜成像都是在气相条件下获得的. 需要说明的是目前国内大多数关于铂配合物与 DNA 分子的结构研究都是在气相下进行的^[11-12, 14]. DNA 样品在气相条件下会受到脱水和干燥过程的影响. 对奥沙利铂与 DNA 分子的作用过程实现液相条件下实时观察仍是一个尚待解决的难题. 我们初步的探索结果表明结合了奥沙利铂后 DNA 分子在基底表面的吸附性质发生了一定的改变, 导致现有的液相下固定 DNA 分子的方法难以获得令人满意的结果. 因而, 目前需要发展液相下特异性固定 DNA- 铂化合物的新方法和技术.

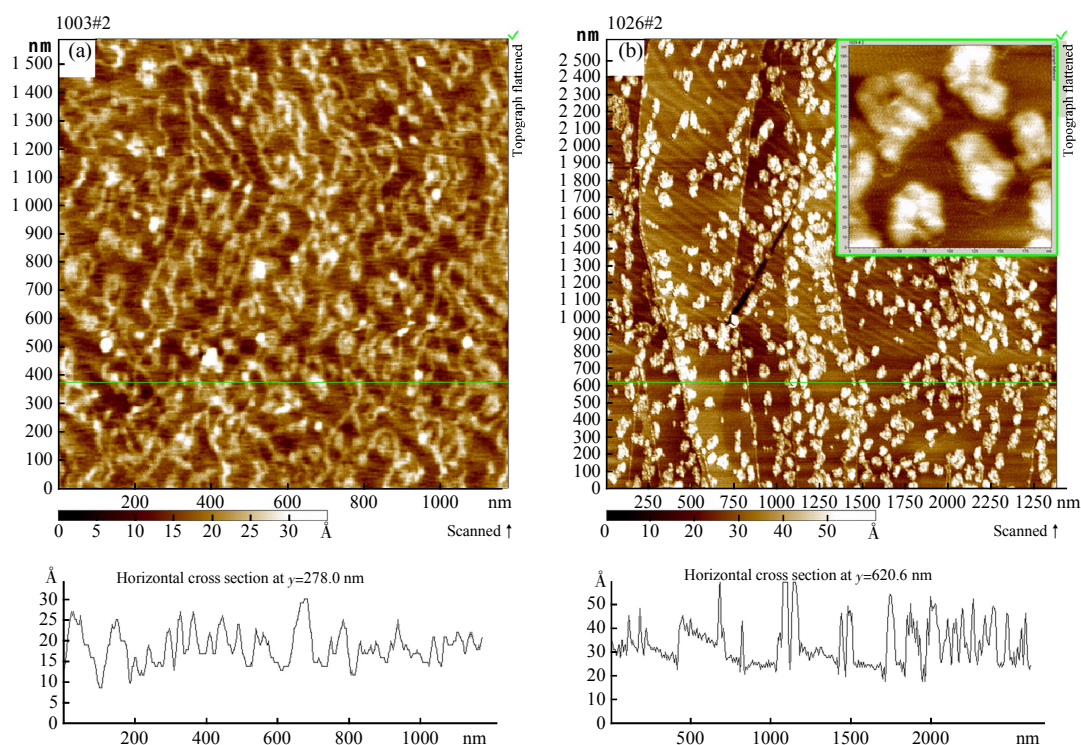


Fig. 4 The typical AFM images of pUC19 DNA after incubation with different concentrations of oxaliplatin for 4 h

(a) 500 $\mu\text{mol/L}$. (b) 1000 $\mu\text{mol/L}$.

2.4 奥沙利铂与 pUC19 DNA 产生相互作用的机制

奥沙利铂与 pUC19 DNA 作用所形成的结构与作用时间的长短密切相关. 使用较低浓度的奥沙利铂(100 $\mu\text{mol/L}$)大约 24 h 后可使质粒 pUC19 DNA 形成紧密的球体. 奥沙利铂与 pUC19 DNA 作用所形成的这种结构变化过程可解释如下: 在奥沙利铂的水溶液中首先要转变为活性的铂阳离子才能和 DNA 分子产生有效的作用, 因此奥沙利铂需要逐渐地水解掉它所带的羧酸配体, 然后这些带有二氨基环己烷的铂阳离子开始与 DNA 双螺旋分子中单链上相邻鸟嘌呤(N-7)间进行股内交联(包括 1, 2-GpG 和 1, 3-GpG)及其相邻腺嘌呤和鸟嘌呤的交联(1, 2-ApG), 上述这些作用都可归结为时间依赖过程. 其中 1, 2-GpG 和 1, 2-ApG 这两种股内交联方式是主要的加合物, 奥沙利铂的环己二胺载体配基很大, 形成的铂-DNA 加合物也很大, 而且疏水性较顺铂增强. 随着大量的铂阳离子结合到 DNA 分子上, DNA 分子内双链间的静电排斥作用会逐渐减弱, 这有利于 DNA 分子间形成紧密的聚集结构. 最终形成的球体结构与多价阳离子导致 DNA 形成的凝集体相似. 从机制上来分析, 铂阳离子与

DNA 分子形成的结构与其他多价阳离子(例如二价锰离子和三价的钴氨离子)导致的凝集体还存在一些差别^[23]. 二价锰离子和钴氨离子与 DNA 作用形成的凝集体主要是通过静电作用, 而铂阳离子与 DNA 分子的作用既有共价键合又有静电作用.

本研究中奥沙利铂导致的 DNA 分子结构变化过程与文献报道的顺铂和 DNA 的作用极为相似^[11]. 这种相似的主要原因是由于顺铂和奥沙利铂可与 DNA 分子上的靶点形成相同类型的股内和股间交联, 并且交联后形成的三维结构在几何尺寸上也非常相近^[17]. 高分辨晶体结构研究表明, 顺铂和奥沙利铂与同一寡聚核苷酸链形成的 1, 2-d(GpG)股内交联结构在三维尺度上非常接近, 但其中一处明显的不同是奥沙利铂配体(R, R)-DACH 中 NH 基团上的氢原子可与 d(GpG)中的 3'-G 中 O6 形成氢键. 这一差异也暗示了奥沙利铂的手性对它与 DNA 相互作用的重要性, 从而表明金属有机化合物的对映体与 DNA 分子的作用存在着手性识别关系.

高分辨晶体衍射结果表明, 奥沙利铂与寡聚核苷酸链形成 1, 2-d(GpG)股内交联可使 DNA 双链向

大沟方向大约弯曲 30° ^[17], 这一结果有助于深入认识奥沙利铂产生抗癌活性的分子结构基础。但需要强调的是, 这一结果源自于奥沙利铂与 DNA 分子形成的单个 1, 2-d(GpG) 股内交联产物的晶体结构。目前对于奥沙利铂与含有多靶点的环状长链 DNA 分子的作用仍然缺乏基础数据。当奥沙利铂与含有多靶点的 DNA 分子相互作用时, 既存在股内交联又存在股间交联, 并且相邻交联产物之间会产生相互影响, 除了上述的共价键合作用还有活性铂离子产生的静电作用。本实验中使用的质粒 pUC19 DNA 分子共包含有大约 250 多个 -GG- 和 -AG- 基团可作为奥沙利铂的作用靶点, 因而使用原子力显微镜观察到的结果与活体中的实际作用状况更为接近, 这一结果有助于在单分子水平认识奥沙利铂产生抗癌活性的分子结构基础。本研究中观察到的 DNA 紧密节点和球体结构可能会对随后一系列蛋白质应答过程产生重要影响, 如影响到核苷酸切除修复蛋白及错配修复蛋白等对铂合物造成损伤的识别和修复, 从而最终影响奥沙利铂的活性^[24]。

3 结 论

本研究使用紫外可见吸收光谱和原子力显微镜在高定向热解石墨表面观察了抗癌药物奥沙利铂与质粒 pUC19 DNA 的作用过程。研究结果表明, 随着作用时间的增加奥沙利铂可导致 pUC19 DNA 由伸展的链状结构逐渐转变为带有球状结点的结构并最终变化为更紧密的球状结构。使用较低浓度的奥沙利铂(100 $\mu\text{mol/L}$) 大约 24 h 后可使质粒 pUC19 DNA 形成紧密的球体, 而使用 1000 $\mu\text{mol/L}$ 奥沙利铂时, 大约作用 4 h 后 pUC19 DNA 分子基本上形成了球体结构。本研究中奥沙利铂导致的 DNA 分子显微结构变化过程与文献报道的顺铂与 DNA 的作用过程相似, 说明奥沙利铂和顺铂与 DNA 分子能形成相似的显微结构。本研究的结果为进一步在单分子水平上认识铂类抗癌配合物与 DNA 作用形成的关键结构提供了依据。

参 考 文 献

- [1] Rosenberg B, Camp L V, Trosko J E, *et al.* Platinum compound. a new class of potent antitumour agents. *Nature*, 1969, **222** (5191): 385-386
- [2] Klein A V, Hambley T W. Platinum drug distribution in cancer cells and tumors. *Chem Rev*, 2009, **109**(10): 4911-4920
- [3] Palchoudhuri R, Hergenrother P J. DNA as a target for anticancer compounds: methods to determine the mode of binding and the mechanism of action. *Curr Opin Biotech*, 2007, **18**(6): 497-503
- [4] Liu Z, Li Z, Zhou H, *et al.* Imaging DNA molecules on mica surface by atomic force microscopy in air and in liquid. *Microsc Res Techniq*, 2005, **66**(4): 179-185
- [5] Liu Z, Zu Y, Fu Y, *et al.* Assembling and imaging of his-Tag green fluorescent protein on mica surfaces studied by atomic force microscopy and fluorescence microscopy. *Microsc Res Techniq*, 2008, **71**(11): 802-809
- [6] Liu Z, Meng R, Zu Y, *et al.* Imaging and studying human topoisomerase I on mica surfaces in air and in liquid by atomic force microscopy. *Scanning*, 2009, **31**(4): 160-166
- [7] 汪新文, 白春礼, 田 芳, 等. 原子力显微镜研究不同温度下质粒 DNA 结构变化. *生物物理学报*, 1996, **12**(4): 554-558
Wang X, Bai C, Tian F, *et al.* *Acta Biophysica Sinica*, 1996, **12**(4): 554-558
- [8] 胡 钧, 张志鸿, 欧阳振乾, 等. 人工操纵病毒的原子力显微镜研究. *生物化学与生物物理进展*, 1998, **25**(2): 175-177
Hu J, Zhang Z H, Ouyang Z Q, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 1998, **25** (2): 175-177
- [9] 曹恩华, 陈 艾, 张晓嫣, 等. 补骨脂素 -UVA 对端粒 DNA 的直接作用及其原子力显微镜研究. *激光生物学报*, 2001, **10**(1): 1-6
Cao E H, Chen A, Zhang X Y, *et al.* *Acta Laser Biology Sinica*, 2001, **10**(1): 1-6
- [10] 汪 盛, 向 烨, 李根培, 等. 杜仲抗真菌蛋白晶体生长的原子力显微成像研究. *生物化学与生物物理进展*, 2003, **30**(5): 784-791
Wang S, Xiang Y, Li G P, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2003, **30**(5): 784-791
- [11] Liu Z, Tan S, Zu Y, *et al.* The interactions of cisplatin and DNA studied by atomic force microscopy. *Micron*, 2010, **41**(7): 833-839
- [12] Ji C, Zhang L Y, Dou S X, *et al.* Local conformation transitions of linear DNA induced by cisplatin. *Chin Sci Bull*, 2014, **59** (25): 3085-3089
- [13] Liu Y, Ji C, Zhang H, *et al.* Transplatin enhances effect of cisplatin on both single DNA molecules and live tumor cells. *Arch Biochem Biophys*, 2013, **536**(1): 12-24
- [14] Liu Z, Liu R, Zhou Z, *et al.* Structural changes of linear DNA molecules induced by cisplatin. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, **457**(4): 688-692
- [15] Zhang H Y, Ji C, Liu Y R, *et al.* Effects of pH on oxaliplatin-induced condensation of single DNA molecules. *Chin Phys Lett*, 2014, **31**(2): 028701
- [16] Zhang H, Liu Y, Ji C, *et al.* Oxaliplatin and its enantiomer induce different condensation dynamics of single DNA molecules. *PLoS One*, 2013, **8**(8): e71556
- [17] Spingler B, Whittington D A, Lippard S J. 2.4Å crystal structure of an oxaliplatin 1, 2-d (GpG) intrastrand cross-link in a DNA dodecamer duplex. *Inorg Chem*, 2001, **40**(22): 5596-5602
- [18] Inagaki K, Kidani Y. Ultraviolet difference spectral study of the interaction of DNA with platinum complexes. *Inorg Chim Acta*, 1980, **46**(1): 35-39
- [19] N'soukpoe-Kossi C N, Descoteaux C, Asselin E, *et al.* DNA interaction with novel antitumor estradiol-platinum (II) hybrid

- molecule: a comparative study with cisplatin drug. DNA Cell Biol, 2008, **27**(2): 101–107
- [20] Jamieson E R, Lippard S J. Structure, recognition, and processing of cisplatin-DNA adducts. Chem Rev, 1999, **99**(9): 2467–2498
- [21] Manning G S. Limiting laws and counterion condensation in polyelectrolyte solutions I. colligative properties. J Chem Phys, 1969, **51**(3): 924–933
- [22] Fang Y, Hoh J H. Early intermediates in spermidine-induced DNA condensation on the surface of mica. J Am Chem Soc, 1998, **120**(35): 8903–8909
- [23] Ma C, Bloomfield V A. Condensation of supercoiled DNA induced by Mn^{2+} . Biophys J, 1994, **67**(4): 1678–1681
- [24] Jung Y, Lippard S J. Direct cellular responses to platinum-induced DNA damage. Chem Rev, 2007, **107**(5): 1387–1403

Study on the Interactions Between Anti-Cancer Drug Oxaliplatin and DNA*

XU Feng-Jie^{1,2)}, LIU Rui-Si^{1,2)}, BIAO Lin-Hai^{1,2)}, ZU Yuan-Gang^{1,2)}, LIU Zhi-Guo^{1,2)**}

⁽¹⁾ State Engineering Laboratory of Bio-Resource Eco-Utilization, Harbin 150040, China;

⁽²⁾ Key Laboratory of Forest Plant Ecology of Ministry of Education, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract Oxaliplatin is a third-generation platinum derivative which is especially efficient for gastric and colorectal cancer treatment. Most studies revealed that the target of oxaliplatin is DNA molecule. However, the key structures formed by oxaliplatin and DNA still controversial so far. In this study, the interactions between oxaliplatin and DNA *in vitro* have been studied by UV spectra and atomic force microscopy (AFM) so as to reveal the structural basis of its anticancer activity. The structural characteristic after the incubation oxaliplatin at different concentrations with DNA for different time was investigated on freshly cleaved highly ordered pyrolytic graphite (HOPG) surface by atomic force microscopy (AFM). Based on the observed results, the interaction mechanism between oxaliplatin and DNA was proposed. High resolution AFM observation indicated that oxaliplatin can induce structural changes of pUC19 DNA from the extended chains to the intertangled structures with many nodes, and finally to a compact particle after 24 h incubation. The present results revealed that electrostatic and coordination interactions are important to condense plasmid DNA to a compact particle which may significantly influence the activity and cytotoxicity of oxaliplatin.

Key words oxaliplatin, DNA, highly ordered pyrolytic graphite, atomic force microscopy

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0396

*This work was supported by grants from Natural Science Fund of Heilongjiang Province (LC2015008), Harbin Innovation Talents Project (2015RQQXJ053) and Open Funds of the State Key Laboratory of Electroanalytical Chemistry (SKLEAC201507).

**Corresponding author.

Tel: 86-451-82192224, E-mail: cn.zguoliu@yahoo.com

Received: December 23, 2015 Accepted: April 28, 2016