

## アゾベンゼンで制御する光応答性DNAの反応ダイナミクス

<sup>1</sup>京大院理, <sup>2</sup>名大院工

○端村航<sup>1</sup>, 中曾根祐介<sup>1</sup>, 大威英晃<sup>2</sup>, 神谷由紀子<sup>2</sup>, 浅沼浩之<sup>2</sup>, 寺嶋正秀<sup>1</sup>

### Study on reaction dynamics of light responsive DNA utilizing photoisomerization of azobenzene

○Wataru Hashimura<sup>1</sup>, Yusuke Nakasone<sup>1</sup>, Hideaki Ooi<sup>2</sup>, Yukiko Kamiya<sup>2</sup>,

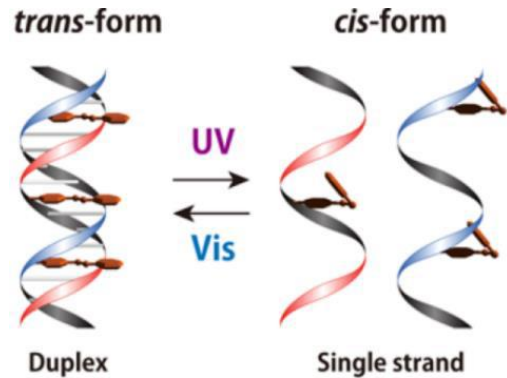
Hiroyuki Asanuma<sup>2</sup>, Masahide Terazima<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Chemistry, Kyoto University, Japan

<sup>2</sup> Department of Engineering, Nagoya University, Japan

**【Abstract】** Photoresponsive DNA modified with azobenzene is a kind of designed molecule. Isomerization of azobenzene induced by UV/Vis light enables us to control dissociation/association of DNA duplex repeatedly. Fundamental reaction dynamics of photoresponsive DNA which has an azobenzene in the center of DNA sequence has been reported [1]. In this study, we examined the reaction dynamics of newly designed DNA in which the position and adjacent sequence of inserted azobenzene are changed. By using the transient grating (TG) method, we found that the rate constant of dissociation of duplex is dependent on the position of insertion. When the inserted point is deviated from the center, the rate of dissociation is slowed down. We also found that the quantum yield of dissociation is affected by the adjacent sequence of inserted azobenzene. The isomerization of azobenzene has higher impact on the stability of duplex when it is intercalated between C-G pairs than A-T pairs.

**【序】** DNA の塩基間にアゾベンゼンを導入し、二重鎖の会合・解離を光でスイッチングできるようにした「光応答性 DNA」が開発されており、遺伝子発現の光制御や光駆動型 DNA ナノマシンなどへの応用が期待されている[2]。アゾベンゼンは trans 体から cis 体への異性化、cis 体から trans 体への異性化反応を、それぞれ紫外光、青色光で誘起することができる。このアゾベンゼンを DNA の側鎖にリンカーを介して導入すると、trans 体の状態では隣接する塩基対とのスタッキング相互作用により二重鎖を安定化するが、cis 体は非平面構造を持つため立体反発により二重鎖を不安定化する。したがって、このアゾベンゼンの光異性化を利用することによって可逆的に二重鎖の会合・解離を光制御することが可能となる(**Fig.1**)。本研究は構造の異なるいくつかの光応答性 DNA のサンプルに対して主に過渡回折格子法 (TG 法) を適用し、溶液中での分子拡散過程を時間分解で観測することにより、アゾベンゼンの異性化に加え、二重鎖の解離・会合における反応ダイナミクスを調べた。これらの結果を比較することで、アゾベンゼンの導入が反応ダイナミクスにどのような影響をもたらすかについて議論する。



**Fig. 1.** Illustration of Photoresponsive DNA

【実験】12塩基の中央にアゾベンゼンを1つ組み込んだ合成DNAと、その相補鎖となるノーマルなDNAを混合した試料を基本的なサンプル(*kihon*)として用意した。この他に、合成DNAのアゾベンゼンの導入位置を変えたもの(5-Azo,3-Azo)および、アゾベンゼン近傍の配列を変えたもの(CXA, TXA)を、それぞれ比較対象として用意した。相補鎖は各サンプルに対応したノーマルなDNAを使用している。

Table 1. Names and nucleotide sequences of samples. X=Azobenzene.

Sample name	Nucleotide sequence	3-Azo	5'-GGXTATCGCAATC-3'
<i>kihon</i>	5'-GGTATC <b>X</b> GCAATC-3'	CXA	5'-GGTATC <b>X</b> ACAATC-3'
5-Azo	5'-GGT <b>X</b> TATCGCAATC-3'	TXA	5'-GGTAT <b>T</b> XACAATC-3'

### 【結果・考察】アゾベンゼン導入位置によるTG信号の変化

*kihon*, 5-Azo, 3-Azoの各サンプルについて、同条件下での紫外光励起により得られたTG信号をFig.2に示す。10 ms~300 msにみられる分子拡散信号が、アゾベンゼン導入位置が中央から端に外れるほど減少している。さらに、格子波数 $q$ を変えてTG信号の時間変化を測定し、解析した結果、反応物、中間体、生成物の拡散係数 $D_r$ ,  $D_i$ ,  $D_p$ および、最終ステップの時定数 $k$ が求められた。その結果をTable 2に示す。5-Azoおよび3-Azoでは解離速度の減少が観測された。また反応物に対して中間体の拡散係数がわずかに減少しており、これは解離が不完全に進行した中間体の存在を示唆している。

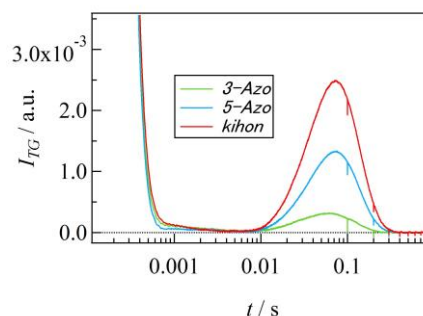


Fig.2. TG signals of *kihon*, 5-Azo, 3-Azo.

Table 2. Diffusion coefficients and reaction rate constants of *kihon*, 5-Azo, 3-Azo..

Sample	$D_r / \text{m}^2\text{s}^{-1}$	$D_i / \text{m}^2\text{s}^{-1}$	$D_p / \text{m}^2\text{s}^{-1}$	$k / \text{s}^{-1}$
<i>kihon</i>	$2.8 \times 10^{-10}$ [1]	$2.8 \times 10^{-10}$ [1]	$3.5 \times 10^{-10}$ [1]	$1.5 \times 10^3$ [1]
5-Azo	$2.9 \times 10^{-10}$	$2.7 \times 10^{-10}$	$3.6 \times 10^{-10}$	$1.3 \times 10^3$
3-Azo	$2.9 \times 10^{-10}$	$2.8 \times 10^{-10}$	$3.6 \times 10^{-10}$	$6.2 \times 10^2$

### アゾベンゼン近傍の配列によるTG信号の変化

*kihon*, CXA, TXAの各サンプルについて、同条件下での紫外光励起により得られたTG信号をFig.3に示す。10 ms~300 msにみられる分子拡散信号から、解離反応が起こった分子数の比を求めた。各サンプルの融解曲線から求めた平衡定数を利用し、二重鎖の存在濃度に補正を加えると、光解離反応の収率は *kihon*:CXA:TXA = 1:0.8:0.6 と求められた。アゾベンゼン近傍の配列がC-G pairよりもA-T pairである場合の方が解離反応の収率が低く、これはA-T pairの方が結合力が弱いため、アゾベンゼンの異性化が起こっても分子全体が解離する確率が低いためであると考えられる。

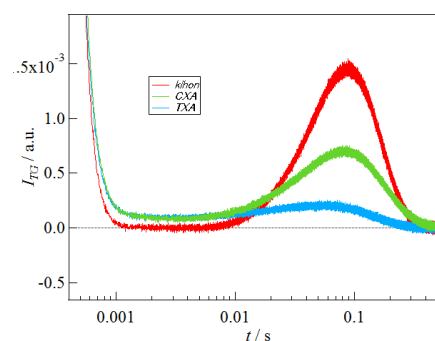


Fig.3. TG signals of *kihon*, CXA, TXA.

本討論会では、アゾベンゼンの位置やDNAの配列と反応収率・速度との関係性を議論する予定であり、これらはDNAの解離・会合反応の分子機構の理解を深める上で重要な知見であり、また効率的な光応答性DNAのデザインにも重要な情報となる。

### 【参考文献】

- [1] Nakasone et al. *J Am Chem Soc.* 2016 Jul 27;138(29):9001-4.
- [2] Kamiya et al. *Acc Chem Res.* 2014 ; 47(6):1663-72.