

## TG法による光応答性DNAの反応ダイナミクスの観測

(京大院理<sup>1</sup>、名大院工<sup>2</sup>) ○端村航<sup>1</sup>、中曽根祐介<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>

### Photoreaction dynamics of light responsive DNA studied by the transient grating method

(Kyoto Univ.<sup>1</sup>, Nagoya Univ.<sup>2</sup>) ○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>

**【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[1]。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(図1)。本研究はこの光応答性DNAに対して過渡回折格子法(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、解離・会合のダイナミクスを調べた。また、アゾベンゼンの導入数や導入位置を変えたサンプル同士の結果を比較することで、反応ダイナミクスについてどのような変化がみられるかを検討した。

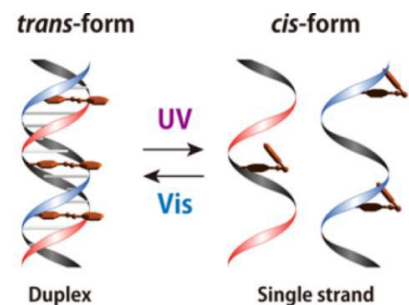


図1 アゾベンゼンの光異性化を利用したDNA二重鎖の形成・解離制御

**【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のアゾベンゼン導入個数を変えたもの(Azo2, Azo3)および、アゾベンゼンの導入位置を変えたもの(5-Azo, 3-Azo)を、それぞれ比較対象として用意し

サンプル名	配列
kihon	5'-GGTATC <b>X</b> GCAATC-3'
Azo2	5'-GGT <b>X</b> TCGC <b>X</b> AATC-3'
Azo3	5'-GGT <b>X</b> ATC <b>X</b> GCA <b>X</b> ATC-3'
5-Azo	5'-GGT <b>X</b> ATCGCAATC-3'
3-Azo	5'-GG <b>X</b> TATCGCAATC-3'

図2 合成DNAサンプルの配列(Xの位置にアゾベンゼンを挿入)

た。各サンプルの具体的な配列を図2に示している。各試料と混合する相補鎖はすべて同じものを使用した。

TG測定ではtrans体またはcis体を適切な光照射によって蓄積した後、trans体からcis体への異性化反応はYAGレーザーの3倍波(355nm)で、cis体からtrans体への異性化反応は色素レーザー(462nm)でトリガーした。プローブ光にはHe-Neレーザー(633nm)を使用した。

## 【結果と考察】アゾベンゼン導入個数および励起レーザーパワーによる TG 信号の変化

*Azo2* と *Azo3* について、異性化をトリガーするレーザーパワーを変えたときの TG 信号の変化を測定した (図 3)。測定温度は 45°C ( $T_m$  よりやや低い) であり、信号は異性化を起こしたアゾベンゼンの個数によって規格化している。

紫外光励起(trans 体→cis 体)により得られた TG 信号では、10~300 ms にみられる分子拡散信号の強度がレーザーパワーを増加させるとともに増大している。この結果は、会合反応を起こす分子数の割合が強光下で増加していることを示している。このパワー依存性は *Azo3* でも同様の傾向がみられた。一方、青色光励起(cis 体→trans 体)により得られた TG 信号では、解離反応の収率を示す分子拡散信号の強度がレーザーパワーの増加とともに減少している。この傾向は *Azo3* でも同様であった。比較用として行った *kihon* サンプルでは (Azo の個数が一個)、解離・会合反応ともにレーザーパワーに依存しなかったことから、上記の結果は異性化されるアゾベンゼンの個数に由来するものと考えられる。

これらの結果は、アゾベンゼンの異性化数と解離・会合反応の収率から説明できる。45°C という条件下では会合状態が安定であるため、アゾベンゼン導入個数を増やした場合、レーザーパワーを上げ DNA 鎖内でより多くのアゾベンゼンを異性化することが、解離反応を引き起こすために必要である。そのため、解離反応測定においてはレーザーパワーが強い程、分子拡散信号の強度が増大した。一方、会合反応については、DNA 鎖内のすべてのアゾベンゼンを異性化させずとも十分に反応が進行するため、レーザーパワーを上げた場合、アゾベンゼンの異性化数に対する DNA の会合反応数の比は減少するのである。現在は反応速度に対するアゾベンゼンの異性化数の影響を調べている。

### アゾベンゼン導入位置による TG 信号の変化

図 4 に、*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(trans 体→cis 体)により得られた TG 信号を示す。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外れるほど減少している。この結果はアゾベンゼン導入位置が中央に近いほど、解離反応が起こりやすいことを示している。

本討論会では、これらの結果に、別条件での結果を加えて、Azo の位置や個数と反応収率・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。

1. Kamiya et al. *Acc Chem Res.* 2014 ; 47(6):1663-72.

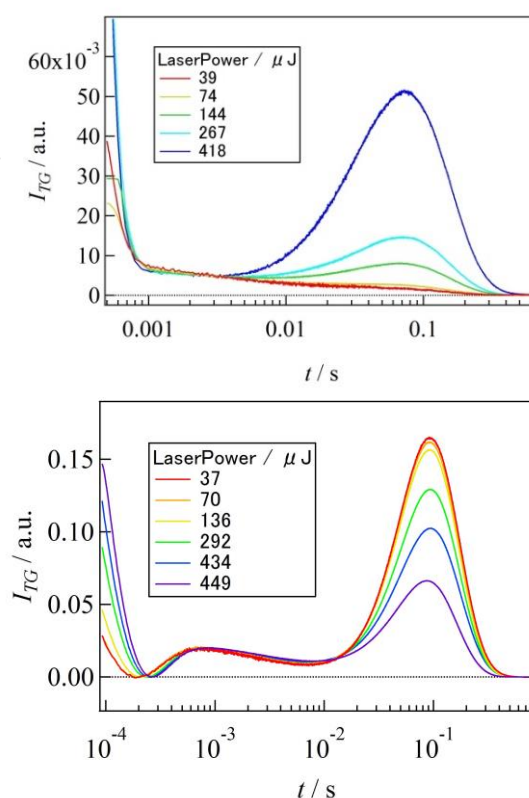


図 3 異なる励起レーザーパワーで測定した際の TG 信号。上) 紫外光励起による解離反応を捉えた信号。下) 青色光励起による会合反応を捉えた信号。

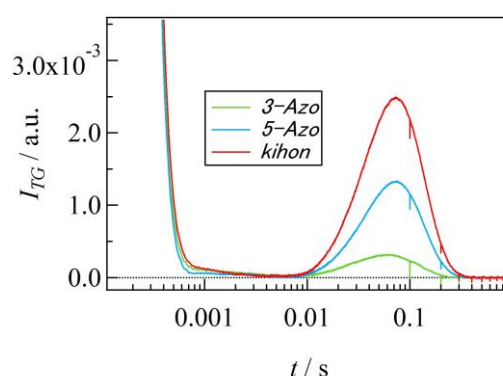


図 4 各サンプルを紫外光励起することで得られた TG 信号の比較