偶氮苯作用的核酸开关在生物体内的可逆光调控

孔德佳¹, 莫蒙武², 季禾茗⁴, 雷华军¹, 陈露⁴, 李元昊², 何裕建^{2,3}, 汤新景³, 郑鹏武^{1*}, 吴丽^{2,3*}

1. 江西科技师范大学药学院, 南昌 330013

2. 中国科学院大学化学科学学院, 北京 100049

3. 北京大学药学院, 天然药物与仿生药物国家重点实验室, 北京 100191

4. 沈阳化工大学应用化学学院, 沈阳 110142

*通讯作者, E-mail: zhengpw@126.com; wuli@ucas.ac.cn

收稿日期: 2018-03-14; 接受日期: 2018-05-03; 网络版发表日期: 2018-07-02

国家自然科学基金(编号: 21778054, 51772289)、国家重点研发计划(编号: 2016YFF0203703)、中国科学院大学校部青年教师科研启动基金(编号: Y55103HY00)、中国科学院大学大学生创新实践训练计划(编号: 118900EA12)和北京大学天然药物及仿生药物国家重点实验室开放课题(编号: K20150204)资助

摘要 随着人们对偶氮苯分子光异构化机理和特性认识的深入, 偶氮苯在核酸分子中的引入及其相关过程的可逆调控也受到了大量关注. 偶氮苯分子作为光响应元件不仅用于合成智能材料或分子机器, 而且正迅速渗透到化学生物学体系的分析和调控. 考虑到核酸分子包含的信息多样性, 小分子偶氮化合物引入到核酸分子中, 可实现开关核酸的结构、RNA沉默、基因表达、适配体识别、酶活性等, 也可用作核酸探针了解结构信息和分子之间的作用机理. 因而, 功能核酸的光可逆调控及其在生物领域中的应用, 成为核酸化学领域的热门课题. 本文主要阐述了偶氮苯与核酸结合的4种不同方式的设计原理及特点, 通过筛选一些有代表性的例子, 介绍偶氮苯类光敏分子的光异构化性能及其对核酸结构和功能的可逆调控在生物领域的研究进展, 并列举出现阶段可能存在的问题, 及对未来的发展前景进行展望.

关键词 偶氮苯, 核酸, 可逆调控, 结合方式, 生物应用

1 前言

可逆地控制生物分子的结构和功能对于研究或调控生命过程具有非常重要的意义. 光由于非入侵的方式、时间和空间上的高分辨及无污染等特点在生物应用中有着空前的优势, 因而通过改变光的波长和强度能够定性或定量地控制其在生物体系中的应用^[1,2]. 光

药物疗法特别适用于暴露部位的疾病, 如皮肤、眼睛等^[3,4]. 近年来, 光已经被广泛地应用到研究化学生物学、生命科学和医学等各个领域, 尤其是用光敏感核酸作为新的研究工具来调控基因的功能, 为分子水平上研究基因功能、基因表达网络以及疾病的发生和发展提供了一种新的策略和研究手段.

越来越多的光敏感分子被用作光控生命过程的开

引用格式: Kong D, Mo M, Ji H, Lei H, Chen L, Li Y, He Y, Tang X, Zheng P, Wu L. Reversible photoregulation in biological systems via introduction of azobenzene into nucleic acid. *Sci Sin Chem*, 2018, 48: 698–711, doi: 10.1360/N032018-00045

关^[5,6], 如偶氮苯^[7]、芪^[8]、半硫靛^[9]、螺吡喃^[10]、二芳基乙烯^[11]和俘精酸酐^[12]. 偶氮苯类化合物由于易于合成, 异构化效率高, 不易漂白成为研究最广泛的一类光致异构分子^[13,14]. 在偶氮苯的可逆异构化作用过程中, 其几何结构、吸收光谱、荧光发射、 π 共轭、电子传导、电磁性能、配位性能、偶极作用等物理化学性能实现了光调控, 因而偶氮苯分子作为光响应元件更多地用于智能材料的合成或分子机器的设计^[15,16]. 另一方面, 偶氮苯分子异构体之间的结构差异大, 且其中一种构型和核酸碱基大小和极性分布类似. 因而, 将偶氮苯引入到核酸分子中, 从时间和空间上来调控生物化学、医学和生理体系方面也引起了科研工作者的广泛兴趣及重点关注^[6,17,18]. 考虑到核酸分子携带生命的遗传信息并参与很多重要的生命活动, 通过偶氮苯调控核酸类分子的功能, 实现了分子水平上对靶向体系的生物活性或生命过程的调控. 光调控核酸的结构^[19,20]、RNA沉默^[21]、基因表达^[22]、适配体识别^[23]、酶活性^[24,25]等均有报道. 此外, 偶氮苯修饰的核酸分子也可用作核酸探针^[26]以及了解结构信息和分子之间的作用机理^[27]. 由于对生命过程靶向专一性的调控还没太多更好的方法, 偶氮苯类化合物调控核酸功能为在生物技术领域的应用提供了一种新的策略.

偶氮苯与核酸的结合方式通常有以下4种: (i) 偶氮苯衍生物的直接加入; (ii) 偶氮苯作为核苷酸的替代单元; (iii) 偶氮苯对核苷酸的修饰; (iv) 偶氮苯连接在核酸的骨架上. 因而, 按照不同的偶氮苯与核酸的结合方式概括了偶氮苯可逆调控核酸结构和功能的设计原理, 以及其应用于生物体系的进展. 随着人们对偶氮苯分子光异构化机理和特性认识的深入, 偶氮苯在核酸分子中的引入及其相关过程的可逆调控也受到了大量关注. 很多研究组曾综述了通过光敏感分子来改变核酸分子结构、结合性能及在不同领域的应用^[5,6,15,28,29]. 例如, 构建了许多光响应纳米材料和纳米机器^[30-33], 胸腺嘧啶3'-O位或5'-O位修饰偶氮苯还可以作为DNA探针和荧光共振能量转移(FRET)猝灭剂^[34].

本综述主要阐述了偶氮苯与核酸结合的4种不同方式的设计原理及优缺点, 通过筛选一些具有代表性的例子加以说明. 其次, 由于生命过程的可逆光调控越来越受关注, 虽然已有文献总结了偶氮苯修饰核酸的不同应用, 但主要集中在材料科学方面, 还没有报道对其在生命相关过程的调控进行概述, 因此, 本研

究着重把焦点放在近些年偶氮苯调控的核酸在生物体系中的应用, 并列举出现阶段可能存在的问题, 及对未来的发展前景进行展望.

2 偶氮苯作用的核酸开关及其在生物领域应用的研究现状

2.1 非共价结合偶氮苯的核酸开关

为了尽可能地保持核酸的天然结构, 又可以通过光照控制其活性, 科研工作者设计并合成了一些偶氮苯光敏分子, 直接将其加入到核酸体系中, 通过氢键或静电引力等非共价作用, 实现核酸结构或功能的光调控. 从合成的角度来看, 这种不连接在核酸分子上而直接添加的方法简单易行, 是非常值得关注的.

通常情况下, 将带有正电荷的季铵盐连接在偶氮苯的两端进行偶氮苯分子的改造. 季铵盐一方面可以增加偶氮苯的溶剂化, 另一方面是提供一个正电中心, 以便与带负电的磷酸骨架相作用. 早期人们发现多价阳离子^[35]、中性聚合物结合单价阳离子^[36]和阳离子表面活性剂^[37]由于携带的正电荷一方面可与核酸负电荷相互作用, 引起DNA的局部弯曲或变形, 降低核酸链之间的静电斥力, 另一方面可以减少不利的DNA片段间相互作用, 使得核酸链发生缩聚^[38]. 缩聚的核酸抗核酶能力增强, 可能容易通过内吞作用输送到细胞中, 但是这种缩聚状态, 核摄取量将降低, 因而, 对核酸缩聚的可逆调控将明显增加核酸实用性, 不仅使得更多核酸跨过细胞膜, 而且也将增加核的摄取量^[39]. 偶氮苯的三甲基溴化铵盐(AzoTAB)是一种光开关DNA的缩合剂(图1)^[40], 通过异构化作用, 改变其疏水性, 从而导致反式状态时呈缩聚状态. 此外, AzoTAB在紫外光照前后能够控制miRNA与mRNA-GFP的结合, 从而调控了GFP的基因表达^[22]. 随后, 人们考察了季铵盐尾巴的长度^[41-43]、阳离子的种类^[39]、季铵盐与偶氮苯之间的连接臂长度^[44]等因素对缩聚的影响. Santer和Hartmann等^[45]在2016年发现了一种新型的DNA缩合剂, 即一种含偶氮苯的多价阳离子肽类分子(Azo-PM) (图2). 与AzoTAB相比, 这种肽类分子呈现不同的缩合机理, 具有多价相反离子, 并提供了大量阳离子低聚酰胺骨架, 可与双链作用. 由于具有肽类骨架, 这种缩聚剂毒性较小, 更可能适用于生物体系中的基因输送.

图1 用作核酸开关的偶氮苯衍生物

Figure 1 Azobenzene derivatives used as nucleic acid switches

静电作用也可导致核酸聚集. Matczyszyn等^[20]发现, 偶氮苯一端被三乙基胺衍生化的Azo-3N (图1), 利于生理条件下质子化, 它的异构化作用导致DNA结构在B型和A型之间进行变化. Baigl等^[46]设计合成了一种两端带有胍盐(AzoDiGua)的偶氮苯衍生物, AzoDiGua是一种依赖结构的结合模式(图3), 反式异构体的分子尺寸与碱基间形成的氢键类似, 且两端的正电荷促使偶氮苯嵌入DNA双链中, 增加双链的稳定性. UV光照后, 顺式偶氮苯由于发生了扭转, AzoDiGua被顶出结合位点, 导致熔点温度降低至18℃.

除静电作用外, 氢键也是偶氮苯分子与核酸结合的重要作用力. Nakatani等^[47]用萘啶修饰偶氮苯(图1), NCDA可与鸟嘌呤形成氢键, 可逆调控了含GG错配的DNA分子胶.

通过外加偶氮苯分子调控四倍体结构为调控酶活性提供了一种可行方法. 例如, 2010年, 周等^[48]研究了两种两端含有阳离子的偶氮苯, 其中吡啶鎓盐连接的偶氮苯衍生物高效可逆地调控G四链体结构和双链结构, 且反式偶氮苯衍生物在无钾、镁等金属离子缓冲溶液中仍能够引发四链体地形成(图4(a)). 在此基础

上, 他们进一步研究了酶活性在蛋白水平的可逆调控(图4(b))^[49]. 以凝血酶-纤维蛋白原反应为模型, 在凝血酶的作用下, 纤维蛋白原转化为不溶性的纤维蛋白. 他们设计了一种DNA抑制剂, 即用人端粒的DNA序列将两种能与凝血酶结合的适配体(15Apt和29Apt)连接起来. 小分子偶氮苯衍生物可以专一地控制这种端粒的DNA序列形成四链体或链状结构, 从而压缩或松弛凝血酶结合的适配体, 以此来控制其与凝血酶的结合. 通过光散射、圆二色、共聚焦荧光光谱的测定, 表明了光照前后凝血酶的活性可被调控, 并通过对人血浆光调控实验, 发现紫外光照后偶氮苯体系作用下的凝血时间比光照前增加1倍左右, 而可见光照后, 凝血时间明显降低.

相比于直接修饰的生物大分子, 这种外加偶氮类光敏分子具有一定的优势. 例如, 合成步骤相对简单, 在生物体内容易穿过细胞膜, 且其浓度可在较大范围调整. 但是, DNA和偶氮苯分子结合形成的超分子体系主要依赖于DNA与光敏感分子的比例, 在生物体系中的应用比较受限. 此外, 外加光敏分子疏水性尾巴的长度可能会限制可逆调节的效率, 引起DNA折叠. 游

图 2 一种新型的DNA缩合剂Azo-PM. (a) Azo-PM的结构; (b) Azo-PM光照前后引发DNA的压缩和解(网络版彩图)

Figure 2 A novel DNA condensing agent (Azo-PM). (a) Structure of Azo-PM; (b) DNA condensation and decomposition induced by Azo-PM before and after light irradiation (color online)

离状态的光敏分子会对生物体系带来潜在毒副作用, 并且外加偶氮苯分子对于寡聚核酸局部结构的调控也很难提供详细的信息。

2.2 偶氮苯单元替代核苷的核酸开关

用偶氮苯单元替代核苷来控制核酸的结构和功能是应用最普遍的方法, 这部分工作主要由Komiyama和Asanuma等^[15,21,28,50-61]在20世纪90年代最先开展。他们利用二醇形成磷酸二酯键, 将偶氮苯从一侧连接在二醇上合成相应的亚磷酰胺单体, 然后以核苷的形式引入核酸主链(图5)。这种方法可以将其修饰在核酸链的任何位置, 并且实现多位点的修饰。核酸的修饰通常满足以下规则: 要引入的光控分子具有平面性、疏水性, 且与碱基大小相似, 才不会导致与相邻碱基空间位阻的增大而降低稳定性甚至影响生物活性。这种设计中偶氮苯在可见光下呈反式构型, 可插入到碱基对层间

空隙, 疏水性偶氮苯可增强碱基间堆积力, 提高DNA双螺旋结构的稳定性; 紫外光照后偶氮苯呈非平面的顺式构型, 空间位阻增加, 导致碱基间氢键作用减弱, 双螺旋结构容易被打开。大量的文献报道了DNA/DNA, DNA/RNA, RNA/RNA及DNA/PNA双链以及三链的杂交与解链都可以通过偶氮苯修饰实现光调控^[51,52,57-59]。偶氮苯通常借助一个骨架形成相应的亚磷酰胺单体结构, 光控效果普遍较好的是D-苏氨醇骨架(D-tAzo), 因为D-构型能够很好地匹配B-型DNA双链, 且使得右手螺旋更加稳定^[52,62]。然而, 这种设计在生物应用中存在的问题是在低温时异构化效率很低。例如, 偶氮苯修饰的互补双链在37℃时紫外光照后仅得到30%顺式产物^[28]。增加偶氮苯的数目, 尽管异构化效率有所改变, 也远不能满足生物体内的应用。Ginger等^[63,64]发现偶氮苯的异构化量子产率与局部序列有关。Terazima等^[65]还发现一些其他的细节, 如反式偶氮苯

图 3 两端带有胍盐的偶氮苯衍生物(AzoDiGua)对DNA杂交与解链的光控过程(网络版彩图)

Figure 3 Photomodulating DNA hybridization by the azobenzene derivative (AzoDiGua) with sulfonium salts at both ends (color online)

图 4 (a) 偶氮苯介导G四链体的可逆调控; (b) 凝血酶活性的光调控(网络版彩图)

Figure 4 (a) Reversible regulation of G-quadruplex induced by azobenzene; (b) photoregulation of thrombin activity (color online)

连接的双链解链在微秒内完成, 而偶氮苯从反式到顺式的异构化仅需要皮秒即可完成. 这说明异构化没有导致双链的立即解开, 而是增加了双链整体张力, 而逐渐地解开. 此外, 可能因为能垒的不同, 反式构型的

双链解链速率比稳定性差的顺式还要快.

尽管D-苏氨酸骨架(D-tAzo)连接的偶氮苯代替核苷修饰在核酸链中在很多方面能够成功地实现光调控, 科研人员仍在继续改进连接单元的骨架. 周和梁

图 5 偶氮苯引入核酸的常用链接单元

Figure 5 Azobenzene units introduced into nucleic acids

等^[66]在2013年发现一个更柔性的醚键连接单元(R-gAzo)代替D-tAzo中的酰胺键(图5), 这种骨架连接的偶氮苯可得到80%顺式和96%的反式异构体, 大大提升了光异构化的效率. Asanuma和Heckel等^[67]发现, 含有一个β-糖环的β-dAzo对核酸的骨架影响很小(图6(a)). 通过β-dAzo连接的偶氮苯修饰在RNA序列中, 在37℃时, 可以有效地完成异构化, 甚至在高温时异构化效率也能与D-tAzo修饰的RNA双链相比, 并且光照前后的 ΔT_m 变化更大. 然而在DNA序列中, β-dAzo连接偶氮苯修饰在14个碱基对双链中, 5/7双链显示更高一些的稳定性^[68], 这是因为反式偶氮苯插入在双链内与碱基形成堆积作用, 而顺式偶氮苯翻到双链的外部导致稳定性降低, 因而β-dAzo可能成为最佳光调控DNA的连接骨架. 在此基础上, 谭及同事^[69]在β-dAzo连接的偶氮苯的末端进行尺寸的扩大, 形成一个T碱基类似物, 可以通过氢键与腺嘧啶A作用, 选择性组装成双链(图6(b)). 通过UV光照, 双链也能够有效地解开, 为其在纳米材料上的应用提供了多样性.

酶活性的控制对许多重要的细胞和机体功能的调节是必不可少的, 而核酸的大多数生命过程都是在酶的参与下完成的, 因此偶氮苯分子引入到核酸适当的位置可实现体外对相关酶参与过程的光调控. Komiya等^[50]将与DNA模版链杂交的寡核苷酸的5'端连接偶氮苯, 通过偶氮苯的异构化使得寡核苷酸链与模版链杂交或解链, 在DNA聚合酶的作用下, 实现DNA延伸在任意位置的终止. 偶氮苯修饰在DNA模版链, 还可以影响T4 DNA连接酶的效率^[70]. 类似地, 偶氮苯修饰的寡核苷酸还可以实现光调控核糖核酸酶H (RNase

H)降解靶向RNA^[21,71]. 将偶氮苯引入RNA链或脱氧核糖核酶(DNAzyme)不同位置, 可改变酶与底物复合物的拓扑结构, 从而隐藏切割位点或改变RNA底物与酶的结合能力, 也可以实现对RNA降解的光调控^[25,72]. 谭等^[26]将偶氮苯引入与凝血酶适配体互补的DNA序列内, 然后通过聚乙二醇(PEG)接头连接适配体, 反式偶氮苯构象中的cDNA可以与适配体杂交, 不影响凝血酶与底物的结合, 而UV光照使得双链体解链, 导致适配体与酶结合, 从而实现对凝血酶活性的调控.

基因的特异性转录取决于酶与启动子能否有效地形成二元复合物, 将偶氮苯插入启动子识别结合区或解链区, 还可以控制聚合酶的转录活性. 例如, 将偶氮苯引入T7启动子, 通过T7 RNA聚合酶(T7 RNAP)进行转录反应的光调控^[54]. 研究表明, 反式偶氮苯引入聚合酶的结合区或解链区时, 转录被抑制, UV照射后转录活性提高了1.5~2.0倍. 当两个偶氮苯分别引入结合区和解链区, 转录活性甚至可以提高7.6倍, 但是将它们引入相同的区域反而会显著降低转录活性. 同样, 将两种不同的偶氮苯同时引入T7启动子的9位和3位^[56], 当两者都是顺式结构时转录活性最好, 可达到正常水平. 最近, Asanuma等^[73]设计合成了2,6-二甲基-4-甲硫基-偶氮苯-4'-甲酸(S-DM-Azo), 通过可见光可异构化为较为稳定的顺式构型(图7). 他们将两个S-DM-Azo修饰在T7启动子非模板链, PCR扩增后连接到GFP基因上, 实现了可逆光调控GFP基因的表达.

药物的释放也通过这类偶氮苯的修饰实现了在时间和空间的光调控^[74-76]. 偶氮苯修饰的ssDNA和cDNA被连接到水凝胶, 其宏观体积可通过UV/可见光下偶氮苯的异构化来控制, 从而控制载体的封装和释放, 为靶向治疗和生物技术应用中的药物递送提供了新的技术.

2.3 偶氮苯修饰核苷酸的分子开关

核苷酸由五碳糖、碱基和磷酸3个部分构成, 因此偶氮苯分子可分别引入在这3个部分上进行修饰. 这种修饰不会引起核酸天然结构的明显改变, 对氢键的影响也不大, 但是化学合成过程复杂, 所以早期报道的只有通过糖环的2'-位胺或磷酸酯骨架硫代, 将偶氮苯连接到核酸分子中. 例如, Vyle等^[24]将偶氮苯连接在尿苷的2'位来光控脱氧核酶对RNA的切割. Gupta等^[77]在磷酸酯上修饰偶氮苯, 稳定了DNA的双链结构. Heckel

图6 (a) 通过 β -dAzo连接的偶氮苯修饰在RNA序列中稳定双链结构; (b) 借助偶氮苯构建T碱基类似物, 可见光照射下与A配对形成双链(网络版彩图)

Figure 6 (a) Stabilizing double-stranded structure by β -dAzo-linked azobenzene modification in RNA sequence; (b) T-base analogues constructed using azobenzene, paired with A to form double-strand under visible light irradiation (color online)

图7 (a) 通过T7启动子结合区和解链区嵌入偶氮苯对转录活性的可逆光调控; (b) 光敏的T7启动子序列及所用的不同偶氮苯衍生物. 光开关分子(X)插入在T7启动子的指定区域(网络版彩图)

Figure 7 (a) Schematic illustration of the reversible photoswitching of transcription using an azobenzene-tethered T7 promoter; (b) sequences of photoresponsive T7 promoters and chemical structures of azobenzene derivatives used in this study are shown. Photoswitch molecules (X) were inserted at the indicated positions in the T7 promoter (color online)

等^[78]借助两种不同的方式将偶氮苯引入核酸序列, 构建了一种DNA环状结构, 在可见光照射下, 偶氮苯异

构化导致相邻碱基稳定性增加, 杂交形成DNA二聚环, 且偶氮苯的类型及引入方式均影响光控效率.

考虑到偶氮苯修饰的核苷需转化为相应的亚磷酰胺单体才可以连接在核酸链中, 该合成过程复杂, 因此科研工作者对偶氮苯引入核苷的方法进行了优化. 首先在核苷上连接一个把手, 再通过产率较高的Click反应连接偶氮苯(图8). 例如, 2014年, Obika等^[79]通过乙炔基将偶氮苯引入脱氧尿嘧啶C5位, 可逆光控了DNA/RNA双链的形成. 通过紫外光照形成的双链可以得到60%的顺式异构体, 且可见光照后顺式转变为反式的转化率也可达80%. 在此基础上, Obika等^[80]在偶氮苯的末端引入不同的官能团, 并没有改变这种光化学行为, 甚至吸电子基团的引入只得到14%~28%的顺式异构体(图9). 考虑到锁核酸具有明显增强的抗核酶能力和靶向结合力, Morihira和Obika等^[81]使用同样的方法将偶氮苯连接在锁尿嘧啶C5-位, 其稳定性比没有连接偶氮苯的核苷有所下降, 且5'-磷酸断开的能力下降了300倍.

除了碱基上的化学修饰, 糖环2-位修饰也经常是人们关注的修饰位点. Vyle和Heaney^[82]利用一氧化氮和炔基通过无催化的环加成反应将偶氮苯连接在2-位糖环的DNA序列中, 其中2-O-丙炔的亚磷酰胺单体通过固相合成仪合成到DNA序列中, 偶氮苯在DNA序列合成后再偶联, 这样不需要构建复杂的模块便可实现多样化. 这一研究主要集中在方法学上的合成, 而核酸的结合模式还有待进一步研究. 此外, 由于缺乏偶氮苯插入的可利用空间导致异构化效率和光开关能力均降低, 这种方法明显地破坏了偶氮苯反式到顺式的异构化.

mRNA的帽子结构在翻译过程中起重要作用, 能促进蛋白质的合成. 最近, Ogasawara等设计合成了一类偶氮修饰的“光敏帽子”(图10), 偶氮化合物修饰在鸟苷C2位的mRNA, 与一分子的鸟苷通过三磷酸酯连接, 再通过体外转录盖帽在mRNA上, 利用偶氮类异构化调控5'端帽子结构与eIF4E相互作用. 偶氮化合物修饰

RNA的5'端帽子结构, 在370和430 nm的光照下可发生偶氮苯异构化, 其中反式结构可沉默了斑马鱼(*Danio rerio*)胚胎中的翻译, 而顺式结构使得蛋白质翻译量提高7.1倍, 实现了可逆调控蛋白的翻译, 从而实现了斑马鱼胚胎发育的精确调控^[83]. 尽管末端的盖帽作用对双链的稳定性影响较小, 但是这种设计在生物领域开发了一种新的应用.

2.4 磷酸骨架上引入偶氮苯的发夹型核酸开关

偶氮苯作为连接单元可以引入到核酸的骨架中, 与偶氮苯单元代替核苷的核酸开关不同的是, 偶氮苯是作为一个整体的核酸骨架引入到核酸链中. 在这种设计中, 含有偶氮苯的核酸链与天然的核酸通常情况下没有形成双链, 而是形成稳定的发夹结构. 偶氮苯单元位于碱基对的顶端, 类似疏水性帽子连接在双链的两端, 在UV/Vis光照射下发生异构化作用, 对结构产生不同的影响^[84]. 如图11(a), 反式偶氮苯盖帽的五个茎碱基对的发夹核酸比其对应的未修饰发夹核酸稳定很多(热熔点温度增加17.7°C), 当偶氮苯发生异构化作用形成顺式结构后, 热熔点温度变化可达20.0°C.

此外, 通过亚甲基和亚乙基连接单元的比较, 他们发现偶氮苯连接单元的尺寸非常重要. 含亚甲基的偶氮苯单元反式结构与最稳定的发夹结构的环尺寸相近, 而它的顺式结构环尺寸明显变短, 形成扭曲的发夹, 因而异构化作用使得发夹结构的稳定性剧烈变化. 吴等^[85]进一步研究了偶氮苯类型, 相邻碱基, 序列对光控效果的影响, 并且这种设计进一步延伸到含有4~6个茎碱基对的发夹结构中, 通过UV/Vis照射均可实现发卡结构的打开或关闭, 从而说明这种发夹开关具有普遍适用性.

席等^[86]使用间位羟甲基偶氮苯链接单元也实现了核酸的结构从发夹到双链的变化, 较好地开关了DNA聚合酶的催化反应. 通过醚键使乙烯苯在发夹核酸中

图8 借助Click反应将偶氮苯高效地引入核酸2'位

Figure 8 Using Click reaction to efficiently introduce azobenzene into the 2'-position of nucleic acids

图9 将偶氮苯引入脱氧尿嘧啶C5位, 偶氮苯对位取代基影响光异构化效率

Figure 9 The photoisomerization efficiency are affected by the para substituent of azobenzene when azobenzene is introduced into the C5 position of deoxyuracil

盖帽的开关设计也有类似的开关效果^[87]. 然而Yamana等^[88]曾将酰胺键引入发夹核酸骨架位置上, 但偶氮苯的异构化作用没有能够开启核酸的结构. Schatz和Mirkin等^[89]将偶氮苯通过酰胺键修饰的发卡结构与原子力显微镜光端耦合, 证明了偶氮苯异构化影响分子的长度和DNA碱基对杂交能力, 从而实现结构的光调控.

最近, 吴等将4,4'-羟甲基偶氮苯修饰的发夹寡聚核酸应用在反义核酸的两端构建了一种哑铃型核酸(图11(b)). 室温下偶氮苯处于反式结构, 两端羟基间的长度与4个T碱基的一样, 因此偶氮苯相邻碱基互补配对不受影响, 哑铃型核酸形成非常稳定的发夹结构. 通过紫外光照, 偶氮苯异构化为非平面的顺式结构, 键长键角发生改变, 且偶氮苯相邻碱基空间位阻导致两端的发夹稳定性降低, 短保护链离去, 哑铃型核酸

中的反义寡聚核酸与靶向的RNA结合成更稳定的双链, 在RNase H的作用下可降解RNA. 并且, 通过适当长度的抑制链和反义链组合, 光照前后RNA降解可增加7.5倍^[90]. 这个结果与杨等^[91]曾报道的使用3个偶氮苯替代单元设计的DNA纳米剪进行DNA断裂的结果相当. 此外, 4,4'-羟甲基偶氮苯盖帽连接两对鸟嘌呤修饰的发夹寡聚核酸的效应也被Heckel和Schwalbe等^[92]开发应用到分子间最小的四链体结构中, 并通过圆二色、核磁和动力学模拟确定了形成的堆积四倍体结构.

在磷酸骨架上修饰偶氮苯开关设计简单, 单个偶氮苯的修饰通过异构化作用就能够导致很大的 ΔT_m 值变化, 开关效果较好. 但是因为需要形成发夹结构, 这种设计的应用是比较有限的. 考虑到这类核酸开关通常在反式构象中自身具有稳定的结构而不发挥功能调控, 而其顺式结构则具有靶向生物的功能, 因而更适用于调控其在生物体内的应用.

3 结论和展望

核酸功能的光调控在纳米材料领域已掀起了研究热潮, 但近几年, 通过不同的方式引入不同类型的偶氮类衍生物调控核酸的结构和功能, 为其在生物方面的应用提供了一种有潜力的方法^[18]. 本综述根据偶氮苯的4种不同引入方式概括了各种引入方式的设计原理、优缺点及在生物方面的应用. (i) 偶氮苯分子通

图10 “光敏帽子”可逆光控蛋白质翻译. 偶氮化合物修饰RNA的5'端帽子结构, 在370和430 nm的光照下偶氮苯异构化, 反式结构可沉默了斑马鱼胚胎中的翻译, 370 nm光照射后蛋白质翻译量提高7.1倍, 实现了蛋白翻译的可逆调控(网络版彩图)

Figure 10 Reversible regulation of protein translation by “photosensitive cap”. Azobenzene is modified at 5'-end cap of RNA, which isomerized at 370 and 430 nm illumination. Protein translation in zebrafish embryos is silenced by trans isomer, whereas translation increased 7.1 times after 370 nm light irradiation, leading to reversible regulation of protein translation (color online)

图 11 (a) 发卡结构的中间位置引入偶氮苯; (b) 偶氮苯引入寡核苷酸光控RNA的降解. 反式偶氮苯诱导寡核苷酸自身形成发卡结构, 不能与靶标RNA结合; UV光照偶氮苯异构化为顺式, 寡核苷酸与RNA结合, 在RNaseH的作用下降解(网络版彩图)

Figure 11 (a) The introduction of azobenzene in the middle of the hairpin structure; (b) Strategy for photoregulating RNA digestion using azobenzene linked dumbbell asODNs. Azo: 4,4'-bis(hydroxymethyl)-azobenzene. In the trans form of azobenzene loops, more stable hairpins were formed, and thereby the antisense ODN strands were temporally sequestered. UV irradiation induced the distortion of azobenzene at the loop position of the hairpin and destabilized ODN hairpins, allowing asODN fragments to hybridize their complementary target RNA, and thus leading to RNA digestion (color online)

过非共价作用直接加入核酸体系, 避免了生物大分子的繁琐合成步骤, 但由于DNA和偶氮苯分子需按一定比例结合, 因而在生命体内的应用比较受限. (ii) 偶氮苯单元替代核苷是最普遍的方法, 但偶氮苯分子的进一步修饰比较困难, 目前这类设计还没有进行活体功能的调控. (iii) 偶氮苯修饰核苷酸的分子开关可借助亚磷酸胺单体或Click反应合成, 但是核苷上的修饰位点有限, 对结构的影响较小. (iv) 偶氮苯直接引入到核酸的骨架中形成发夹结构, 设计简单, 但生物方面的应用有待于进一步开发.

将偶氮苯引入核酸分子并通过光照调控生命相关过程将是未来的研究热点之一. 然而, 偶氮化合物开关的光控多数需要在UV光下发生异构、顺式结构热稳定性不足、光调节效率太低、容易被体内的谷胱甘肽酶还原而无法发挥活性, 限制了其在生命科学领域的应用, 且基于偶氮苯的功能核酸分子的光调控多数限于在溶液中的开关性能研究. 因此, 生物体内的偶氮苯核酸开关未来的研究重点也将围绕以下方面进行. (i) 寻找可见光调控的偶氮苯衍生物, 解决UV光毒性, 增加偶氮苯衍生物的光异构化效率和顺式热稳定性^[5,13,18,93-95]. 例如, Woolley等发现4个邻位甲氧基取代的偶氮苯衍生物^[96]和邻位硫乙基取代偶氮苯^[93]均在可见光区域进行光开关行为. Hecht等^[97]报道的邻位4个

氟取代的偶氮苯衍生物顺式结构具有长达700天的半衰期. Bléger及其同事^[98]借助邻位氟取代的偶氮苯衍生物, 成功开发出在可见光下调控的光敏水凝胶, 为其在生物领域的应用打下了基础. 此外, 白等^[99]还系统探究了邻位氟取代位置及个数对光行为的影响, 发现取代基的引入主要影响偶氮苯的共轭体系, 导致顺反异构体 $n-\pi^*$ 分离度增加, 且随着共轭体系键合度的增加, 顺反异构化速度加快. 由此可见, 通过在偶氮苯的邻位引入不同的取代基团, 可显著改善其顺式稳定性, 增加耐还原性和改变光异构化激发波长. (ii) 改善偶氮类核酸的谷胱甘肽酶还原性. 一方面可以通过邻位取代基的引入增加其耐还原性; 另一方面, 可以设计一些酶敏的偶氮核酸^[100,101], 使其在偶氮还原酶裂解后才能发挥活性. 因此功能核酸在细胞水平和活体小动物中的应用是非常具有前景的. (iii) 设计合成一些合适的偶氮苯衍生物以适用于生物体内的可逆光调控. 目前, 仅有少数几个研究组将这类开关用于生物体系中功能的调控. 例如, Irsen和Famulok^[102]设计了一种靶向肝细胞生长因子受体(cMet)的药物递送系统, 由cMet适配体和富含GC的偶氮苯功能化发夹结构包裹阿霉素构成, UV光照后阿霉素被释放, 成功光控了H1838肿瘤细胞的凋亡. Woolley等^[101]将邻位甲氧基取代的偶氮苯偶联多肽时, 能够通过红光光照, 使得偶氮

苯发生异构化作用, 成功地开关了斑马鱼内Luciferin的荧光. Feringa等^[103]发现了一种偶氮苯连接的二氨基嘧啶, 作为抗菌剂, 在红光照射前后, 其活性表现出至少8倍的变化. (iv) 随着计算科学的发展, 对偶氮苯类光敏核酸的作用机理的研究也将成为越来越多的研究者关注的热点. 例如, Thiel 等^[104]借助量子力学/分子力学(QM/MM)方法, 研究了偶氮苯修饰DNA双链体的光

异构化动力学变化. 他们发现偶氮苯引入核酸后, 偶氮苯的苯基与相应的未配对的胸腺嘧啶核碱基间的空间相互作用, 促使S1状态下反式-顺式光异构化路径更陡峭, 导致S1状态下反式-顺式异构化速率较自然状态下更快. 因此, 随着化学生物学、生命科学及计算科学的多学科共同研究, 未来会有更多的偶氮苯衍生物修饰的核酸用于生命过程的调控.

参考文献

- 1 Gorostiza P, Isacoff EY. *Science*, 2008, 322: 395–399
- 2 Velema WA, van der Berg JP, Hansen MJ, Szymanski W, Driessen AJM, Feringa BL. *Nat Chem*, 2013, 5: 924–928
- 3 Polosukhina A, Litt J, Tochitsky I, Nemargut J, Sychev Y, De Kouchkovsky I, Huang T, Borges K, Trauner D, Van Gelder RN, Kramer RH. *Neuron*, 2012, 75: 271–282
- 4 Bryson JB, Machado CB, Crossley M, Stevenson D, Bros-Facer V, Burrone J, Greensmith L, Lieberam I. *Science*, 2014, 344: 94–97
- 5 Szymański W, Beierle JM, Kistemaker HAV, Velema WA, Feringa BL. *Chem Rev*, 2013, 113: 6114–6178
- 6 Zhang J, Wang J, Tian H. *Mater Horiz*, 2014, 1: 169–184
- 7 Hamon F, Djedaini-Pilard F, Barbot F, Len C. *Tetrahedron*, 2009, 65: 10105–10123
- 8 Han WG, Lovell T, Liu T, Noodleman L. *ChemPhysChem*, 2002, 3: 167–178
- 9 Cordes T, Weinrich D, Kempa S, Riesselmann K, Herre S, Hoppmann C, Rück-Braun K, Zinth W. *Chem Phys Lett*, 2006, 428: 167–173
- 10 Sakata T, Yan Y, Marriott G. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 4759–4764
- 11 Matsuda K, Irie M. *J Am Chem Soc*, 2000, 122: 7195–7201
- 12 Yokoyama Y. *Chem Rev*, 2000, 100: 1717–1740
- 13 Bandara HMD, Burdette SC. *Chem Soc Rev*, 2012, 41: 1809–1825
- 14 García-Iriepa C, Marazzi M, Frutos LM, Sampedro D. *RSC Adv*, 2013, 3: 6241–6266
- 15 Kamiya Y, Asanuma H. *Acc Chem Res*, 2014, 47: 1663–1672
- 16 Jaume G, Dolores V. Light-triggered azobenzenes: from molecular architecture to functional materials. In: *Responsive Materials and Methods*. Beverly: Scrivener Publishing LLC, 2014. 27–58
- 17 Lubbe AS, Szymanski W, Feringa BL. *Chem Soc Rev*, 2017, 46: 1052–1079
- 18 Velema WA, Szymanski W, Feringa BL. *J Am Chem Soc*, 2014, 136: 2178–2191
- 19 Biswas M, Burghardt I. *Biophys J*, 2014, 107: 932–940
- 20 Deiana M, Pokladek Z, Olesiak-Banska J, Młynarz P, Samoc M, Matczyszyn K. *Sci Rep*, 2016, 6: 28605–28612
- 21 Matsunaga D, Asanuma H, Komiyama M. *J Am Chem Soc*, 2004, 126: 11452–11453
- 22 Rudiuk S, Saito H, Hara T, Inoue T, Yoshikawa K, Baigl D. *Biomacromolecules*, 2011, 12: 3945–3951
- 23 Tan W, Donovan MJ, Jiang J. *Chem Rev*, 2013, 113: 2842–2862
- 24 Keiper S, Vyle JS. *Angew Chem*, 2006, 118: 3384–3387
- 25 Liang X, Zhou M, Kato K, Asanuma H. *ACS Synth Biol*, 2013, 2: 194–202
- 26 Kim Y, Phillips JA, Liu H, Kang H, Tan W. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 6489–6494
- 27 Phillips JA, Liu H, O'Donoghue MB, Xiong X, Wang R, You M, Sefah K, Tan W. *Bioconjugate Chem*, 2011, 22: 282–288
- 28 Li J, Wang X, Liang X. *Chem Asian J*, 2014, 9: 3344–3358
- 29 Liang H, Zhang XB, Lv Y, Gong L, Wang R, Zhu X, Yang R, Tan W. *Acc Chem Res*, 2014, 47: 1891–1901
- 30 Tanaka F, Mochizuki T, Liang X, Asanuma H, Tanaka S, Suzuki K, Kitamura SI, Nishikawa A, Ui-Tei K, Hagiya M. *Nano Lett*, 2010, 10: 3560–3565
- 31 Endo M, Yang Y, Suzuki Y, Hidaka K, Sugiyama H. *Angew Chem Int Ed*, 2012, 51: 10518–10522
- 32 Yan Y, Chen JIL, Ginger DS. *Nano Lett*, 2012, 12: 2530–2536

- 33 Yuan Q, Zhang Y, Chen Y, Wang R, Du C, Yasun E, Tan W. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 9331–9336
- 34 Gunnlauugsson T, Kelly JM, Nieuwenhuyzen M, O'Brien AMK. *Tetrahedron Lett*, 2003, 44: 8571–8575
- 35 Bloomfield VA. *Biopolymers*, 1997, 44: 269–282
- 36 Teif VB, Bohinc K. *Prog Biophys Mol Biol*, 2011, 105: 208–222
- 37 Mel'nikov SM, Sergeyev VG, Yoshikawa K. *J Am Chem Soc*, 1995, 117: 2401–2408
- 38 Vijayanathan V, Thomas T, Thomas TJ. *Biochemistry*, 2002, 41: 14085–14094
- 39 Venancio-Marques A, Bergen A, Rossi-Gendron C, Rudiuk S, Baigl D. *ACS Nano*, 2014, 8: 3654–3663
- 40 Le Ny ALM, Lee CT. *J Am Chem Soc*, 2006, 128: 6400–6408
- 41 Zakrevskyy Y, Kopsyshev A, Lomadze N, Morozova E, Lysyakova L, Kasyanenko N, Santer S. *Phys Rev E*, 2011, 84: 021909–021917
- 42 Zakrevskyy Y, Titov E, Lomadze N, Santer S. *J Chem Phys*, 2014, 141: 164904–164914
- 43 Diguët A, Mani NK, Geoffroy M, Sollogoub M, Baigl D. *Chem Eur J*, 2010, 16: 11890–11896
- 44 Zinchenko AA, Tanahashi M, Murata S. *ChemBioChem*, 2012, 13: 105–111
- 45 Schimka S, Santer S, Mujkić-Ninnemann NM, Bléger D, Hartmann L, Wehle M, Lipowsky R, Santer M. *Biomacromolecules*, 2016, 17: 1959–1968
- 46 Bergen A, Rudiuk S, Morel M, Le Saux T, Ihmels H, Baigl D. *Nano Lett*, 2016, 16: 773–780
- 47 Dohno C, Uno SN, Nakatani K. *J Am Chem Soc*, 2007, 129: 11898–11899
- 48 Wang X, Huang J, Zhou Y, Yan S, Weng X, Wu X, Deng M, Zhou X. *Angew Chem Int Ed*, 2010, 49: 5305–5309
- 49 Tian T, Song Y, Wang J, Fu B, He Z, Xu X, Li A, Zhou X, Wang S, Zhou X. *J Am Chem Soc*, 2016, 138: 955–961
- 50 Yamazawa A, Liang X, Asanuma H, Komiyama M. *Angew Chem Int Ed*, 2000, 39: 2356–2357
- 51 Asanuma H, Liang X, Yoshida T, Komiyama M. *ChemBioChem*, 2001, 2: 39–44
- 52 Asanuma H, Takarada T, Yoshida T, Tamaru D, Liang X, Komiyama M. *Angew Chem Int Ed*, 2001, 40: 2671–2673
- 53 Liu M, Asanuma H, Komiyama M. *Nucleic Acids Symposium Ser*, 2003, 3: 265–266
- 54 Liu M, Asanuma H, Komiyama M. *J Am Chem Soc*, 2006, 128: 1009–1015
- 55 Liang X, Fujioka K, Tsuda Y, Wakuda R, Asanuma H. *Nucleic Acids Symposium Ser*, 2008, 52: 19–20
- 56 Liang X, Wakuda R, Fujioka K, Asanuma H. *FEBS J*, 2010, 277: 1551–1561
- 57 Nishioka H, Liang X, Asanuma H. *Chem Eur J*, 2010, 16: 2054–2062
- 58 Ito H, Liang X, Nishioka H, Asanuma H. *Org Biomol Chem*, 2010, 8: 5519–5524
- 59 Stafforst T, Hilvert D. *Angew Chem Int Ed*, 2010, 49: 9998–10001
- 60 Nishioka H, Liang X, Kato T, Asanuma H. *Angew Chem Int Ed*, 2012, 51: 1165–1168
- 61 Yamana K, Yoshikawa A, Nakano H. *Tetrahedron Lett*, 1996, 37: 637–640
- 62 Kashida H, Liang X, Asanuma H. *COC*, 2009, 13: 1065–1084
- 63 Samai S, Bradley DJ, Choi TLY, Yan Y, Ginger DS. *J Phys Chem C*, 2017, 121: 6997–7004
- 64 Yan Y, Wang X, Chen JIL, Ginger DS. *J Am Chem Soc*, 2013, 135: 8382–8387
- 65 Nakasone Y, Ooi H, Kamiya Y, Asanuma H, Terazima M. *J Am Chem Soc*, 2016, 138: 9001–9004
- 66 Kou B, Guo X, Xiao SJ, Liang X. *Small*, 2013, 9: 3939–3943
- 67 Goldau T, Murayama K, Brieke C, Steinwand S, Mondal P, Biswas M, Burghardt I, Wachtveitl J, Asanuma H, Heckel A. *Chem Eur J*, 2015, 21: 2845–2854
- 68 Goldau T, Murayama K, Brieke C, Asanuma H, Heckel A. *Chem Eur J*, 2015, 21: 17870–17876
- 69 Wang R, Jin C, Zhu X, Zhou L, Xuan W, Liu Y, Liu Q, Tan W. *J Am Chem Soc*, 2017, 139: 9104–9107
- 70 Liang X, Fujioka K, Asanuma H. *Chem Eur J*, 2011, 17: 10388–10396
- 71 Kuzuya A, Tanaka K, Komiyama M. *J Nucleic Acids*, 2011, 2011: 162452–162456
- 72 Uno S, Dohno C, Bittermann H, Malinovskii VL, Häner R, Nakatani K. *Angew Chem Int Ed*, 2009, 48: 7362–7365
- 73 Kamiya Y, Takagi T, Ooi H, Ito H, Liang X, Asanuma H. *ACS Synth Biol*, 2015, 4: 365–370
- 74 Peng L, You M, Yuan Q, Wu C, Han D, Chen Y, Zhong Z, Xue J, Tan W. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 12302–12307
- 75 Kang H, Liu H, Zhang X, Yan J, Zhu Z, Peng L, Yang H, Kim Y, Tan W. *Langmuir*, 2011, 27: 399–408
- 76 Yuan Q, Zhang Y, Chen T, Lu D, Zhao Z, Zhang X, Li Z, Yan CH, Tan W. *ACS Nano*, 2012, 6: 6337–6344

- 77 Patnaik S, Kumar P, Garg BS, Gandhi RP, Gupta KC. *Bioorg Medicinal Chem*, 2007, 15: 7840–7849
- 78 Grebenovsky N, Goldau T, Bolte M, Heckel A. *Chem Eur J*, 2018, 24: 3425–3428
- 79 Mori S, Morihiro K, Obika S. *Molecules*, 2014, 19: 5109–5118
- 80 Mori S, Morihiro K, Kasahara Y, Tsunoda S, Obika S. *Chemosensors*, 2015, 3: 36–54
- 81 Morihiro K, Hasegawa O, Mori S, Tsunoda S, Obika S. *Org Biomol Chem*, 2015, 13: 5209–5214
- 82 Freeman C, Vyle JS, Heaney F. *RSC Adv*, 2013, 3: 1652–1655
- 83 Ogasawara S. *ACS Chem Biol*, 2017, 12: 351–356
- 84 Wu L, Koumoto K, Sugimoto N. *Chem Commun*, 2009, 99: 1915–1917
- 85 Wu L, Wu Y, Jin H, Zhang L, He Y, Tang X. *MedChemComm*, 2015, 6: 461–468
- 86 Wang Q, Yi L, Liu L, Zhou C, Xi Z. *Tetrahedron Lett*, 2008, 49: 5087–5089
- 87 Lewis FD, Wu Y, Liu X. *J Am Chem Soc*, 2002, 124: 12165–12173
- 88 Yamana K, Kan K, Nakano H. *Bioorg Medicinal Chem*, 1999, 7: 2977–2983
- 89 Park SY, Lytton-Jean AKR, Lee B, Weigand S, Schatz GC, Mirkin CA. *Nature*, 2008, 451: 553–556
- 90 Wu L, He Y, Tang X. *Bioconjugate Chem*, 2015, 26: 1070–1079
- 91 Zou Y, Chen J, Zhu Z, Lu L, Huang Y, Song Y, Zhang H, Kang H, Yang CJ. *Chem Commun*, 2013, 49: 8716–8718
- 92 Thevarpadam J, Bessi I, Binas O, Gonçalves DPN, Slavov C, Jonker HRA, Richter C, Wachtveitl J, Schwalbe H, Heckel A. *Angew Chem Int Ed*, 2016, 55: 2738–2742
- 93 Samanta S, McCormick TM, Schmidt SK, Seferos DS, Woolley GA. *Chem Commun*, 2013, 49: 10314–10316
- 94 Konrad DB, Frank JA, Trauner D. *Chem Eur J*, 2016, 22: 4364–4368
- 95 Ahmed Z, Siiskonen A, Virkki M, Priimagi A. *Chem Commun*, 2017, 53: 12520–12523
- 96 Beharry AA, Sadoski O, Woolley GA. *J Am Chem Soc*, 2011, 133: 19684–19687
- 97 Bléger D, Schwarz J, Brouwer AM, Hecht S. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 20597–20600
- 98 Zhao F, Bonasera A, Nöchel U, Behl M, Bléger D. *Macromol Rapid Commun*, 2018, 39: 1700527–1700531
- 99 Liu XM, Jin XY, Zhang ZX, Wang J, Bai FQ. *RSC Adv*, 2018, 8: 11580–11588
- 100 Liu F, Xu M, Chen X, Yang Y, Wang H, Sun G. *Environ Sci Technol*, 2015, 49: 11356–11362
- 101 Samanta S, Beharry AA, Sadoski O, McCormick TM, Babalhavaeji A, Tropepe V, Woolley GA. *J Am Chem Soc*, 2013, 135: 9777–9784
- 102 Prusty DK, Adam V, Zadegan RM, Irsen S, Famulok M. *Nat Commun*, 2018, 9: 535–548
- 103 Wegener M, Hansen MJ, Driessen AJM, Szymanski W, Feringa BL. *J Am Chem Soc*, 2017, 139: 17979–17986
- 104 Wu D, Wang YT, Fang WH, Cui G, Thiel W. *Chem Asian J*, 2018, 13: 780–784

Reversible photoregulation in biological systems via introduction of azobenzene into nucleic acid

Dejia Kong¹, Mengwu Mo², Heming Ji⁴, Huajun Lei¹, Lu Chen⁴, Yuanhao Li², Yujian He^{2,3}, Xinjing Tang³, Pengwu Zheng^{1*}, Li Wu^{2,3*}

¹ College of Pharmacy, Jiangxi Science and Technology Normal University, Nanchang 330013, China

² School of Chemical Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

³ State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100191, China

⁴ College of Applied Chemistry, Shenyang University of Chemical Technology, Shenyang 110142, China

*Corresponding authors (email: zhengpw@126.com; wuli@ucas.ac.cn)

Abstract: As photoisomerization mechanism and characteristic of azobenzene was deeper and deeper, reversible photoregulation of related processes via introduction of azobenzene into nucleic acids has received a lot of attention. Azobenzene, as a photoresponsive unit, was not only used to synthesize artificial intelligent materials or molecular machines, but also infiltrating rapidly into analysis and modulation of chemical biological systems. In view of information diversity provided by nucleic acid molecules, the modular introduction of these switchable units into nucleic acids has allowed diverse applications ranging from reversible formation of duplex, photoswitchable RNA silencing, reversible control of gene expression, reversible aptamer recognition, to reversible photocontrol of DNAszymes, as well as obtaining structural information and intermolecular interaction using the introduced azobenzene as an internal probe. Thus, the combination of functional azobenzene group with nucleic acids to apply in biological systems will be a hot topic in the field of nucleic acid chemistry. Here, the design principles and characteristics of four different combining ways between azobenzene and nucleic acids were mainly elaborated, and reversible regulation of structure and function of nucleic acid in biological systems was reviewed due to photo-isomerization properties of azobenzene photosensitizers by screening some representative examples. Finally, the problems that may exist in the biosystems, and looks into the future and trends of the research were also depicted.

Keywords: azobenzene, nucleic acid, reversible photoregulation, combining way, biological application

doi: [10.1360/N032018-00045](https://doi.org/10.1360/N032018-00045)