

## 核酸分子光化学反应动力学研究进展

杨春帆, 刘坤辉, 赵红梅, 宋迪 and 苏红梅

Citation: 中国科学: 化学 **48**, 174 (2018); doi: 10.1360/N032017-00160

View online: <http://engine.scichina.com/doi/10.1360/N032017-00160>

View Table of Contents: <http://engine.scichina.com/publisher/scp/journal/SSC/48/2>

Published by the [《中国科学》杂志社](#)

---

### Articles you may be interested in

[分子束研究GaAs和InP与氯的激光化学反应动力学](#)

Science in China Series A-Mathematics, Physics, Astronomy & Technological Science (in Chinese) **19**, 834 (1989);

[F+H<sub>2</sub>化学反应中的动力学共振以及氢分子转动的影响](#)

Chinese Science Bulletin **52**, 613 (2007);

[荧光光化学增色现象及其动力学研究](#)

Science in China Series B-Chemistry, Biological, Agricultural, Medical & Earth Sciences (in Chinese) **14**, 695 (1984);

[化学反应过渡态的结构和动力学](#)

Science in China Series B-Chemistry (in Chinese) **39**, 1089 (2009);

[水在化学反应中的\(助\)催化作用研究进展](#)

SCIENTIA SINICA Chimica **46**, 1 (2016);

---



# 核酸分子光化学反应动力学研究进展

杨春帆<sup>1</sup>, 刘坤辉<sup>1</sup>, 赵红梅<sup>2</sup>, 宋迪<sup>2</sup>, 苏红梅<sup>1\*</sup>

1. 北京师范大学化学学院, 北京 100875

2. 中国科学院化学研究所, 北京 100190

\*通讯作者, E-mail: hongmei@bnu.edu.cn

收稿日期: 2017-10-09; 接受日期: 2017-11-09; 网络发表日期: 2017-12-13

国家自然科学基金(编号: 21425313, 21333012, 21727803)资助项目

**摘要** 核酸是生物体遗传物质及基因信息表达、存储和传递的载体, 生物体受到的大多数辐射损伤与核酸在分子水平上的物理和化学变化有重要关系. 核酸分子光化学反应的研究是理解生物体对光响应的重要领域, 也是分子激发态化学反应动力学的前沿和交叉课题. 我们通过自行研制的时间分辨的瞬态红外光谱方法, 结合瞬态紫外-可见等互为补充的光谱技术, 研究了一系列核酸碱基分子及二级结构体系(双链、四链体等)的光化学反应动力学机理. 揭示了环丁烷嘧啶二聚体(CPD)环加成、孢子加成(SP加成)、电子转移、质子转移、光敏化、活性氧物质(ROS)氧化、光解断键等导致脱氧核糖核酸(DNA)交联损伤或氧化损伤的光化学反应的复杂过程, 阐述势能面交叉、非绝热效应, 考察分子的激发态电子结构改变、空间立体构象、碱基配对和 $\pi$ - $\pi$ 堆积、氢键微环境等如何影响和调制核酸光化学衰变路径, 揭示了分子和量子态层次上认识DNA损伤的多种化学反应新机理.

**关键词** 时间分辨红外光谱, DNA损伤, 激发态, 自由基, G-四链体

## 1 引言

核酸是以核苷酸为基本组成单位的生物信息大分子, 具有复杂的结构和重要的生物功能. 核酸可以分为脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)和核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)两类, 是生物体遗传物质及基因信息表达、存储和传递的载体. 自然界中, 有害的紫外线辐射是造成DNA/RNA损伤的重要的环境因素之一, 核酸分子吸收紫外光或与一些光敏剂发生的光化学反应可以导致细胞突变、癌变、甚至细胞死亡等. 核酸的基本单位核苷酸是由磷酸、戊糖和5种杂环碱基缩合而成. 碱基主要分为嘧啶类碱基(胞嘧啶C、

胸腺嘧啶T和尿嘧啶U)和嘌呤类碱基(鸟嘌呤G和腺嘌呤A, 图1). 碱基是核酸分子的生色团, DNA和RNA在~260 nm的强吸收正是源于嘧啶和嘌呤的 $\pi\pi^*$ 跃迁. 由于存在单重激发态( $^1\pi\pi^*$ )和基态( $S_0$ )之间的势能面锥形交叉<sup>[1-4]</sup>, 激发态的核酸碱基在亚皮秒时间内通过内转换弛豫回到基态. 这种快速回到 $S_0$ 态的光物理过程使得核酸具有一定的光稳定性, 是生物体进化出的对光损伤的自我保护能力.

尽管核酸具有相当好的光稳定性, 但是人们还是在碱基单体间、寡聚核苷酸和DNA中发现了光化学损伤<sup>[5,6]</sup>. 紫外线对核酸作用可导致键和链断裂、股间交联、形成光化学反应产物等. 光化学反应产物的形

引用格式: Yang C, Liu K, Zhao H, Song D, Su H. Photochemical reaction dynamics studies of nucleic acids. *Sci Sin Chim*, 2018, 48: 174-185, doi: 10.1360/N032017-00160

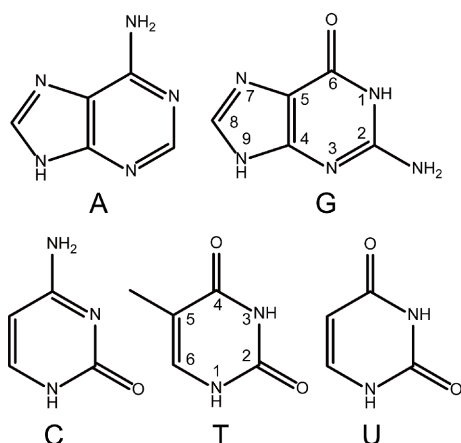


图1 5种核酸碱基的分子式及原子序号标识

成破坏了嘧啶与嘌呤的正常配对, 改变了核酸的生物学活性. 显然, 生物体受到的大多数辐射损伤与核酸在分子水平上的物理的、化学的变化有重要关系, 这促使核酸的光生物学飞跃发展. 近几十年来, 光生物学的研究已使人们认识到核酸光化学的重要性. 同一DNA链上相邻胸腺嘧啶在UV照射下能够发生C=C双键的加成反应形成环丁烷嘧啶二聚体(cyclobutane pyrimidine dimer, CPD), 这是UV引起核酸损伤的最普遍例子(图2)<sup>[7,8]</sup>. 嘧啶二聚体使核酸双螺旋结合减弱并导致结构局部变形, 严重影响核酸的复制和转录, 继而产生基因突变. 另外, DNA链上相邻的嘧啶碱基还可以发生C=C双键和C=O双键的加成反应, 导致6-4交联损伤产物的生成<sup>[9]</sup>. 对DNA链上的嘌呤碱基, 其氧化电势低, 发生单电子氧化失去一个电子以后生成G<sup>•+</sup>阳离子自由基, 随后生成如8-OxoG的氧化性损伤产物<sup>[10,11]</sup>. 诸如此类的光化学反应, 形成了核酸分子激发态衰变路径中的重要分支, 是理解生物体对光响应的重要领域, 也是分子激发态化学反应动力学研究的前沿和交叉课题, 引起了众多实验和理论工作者的研究兴趣.

核酸分子的光化学涉及非常复杂的激发态反应, 反应过程中生成的各种自由基中间体往往具有很高的反应活性. 激发态和自由基为短寿命的瞬态物种, 对这些决定反应进程的关键瞬态物种进行结构和动力学的实验研究, 可为揭示反应机理和特性提供直接信息. 本研究组<sup>[12-16]</sup>通过自行研制的时间分辨的瞬态红外光谱方法, 结合紫外-可见瞬态吸收光谱等其他互为补充的实验技术, 实时跟踪和探测核酸碱基及二级结构复杂

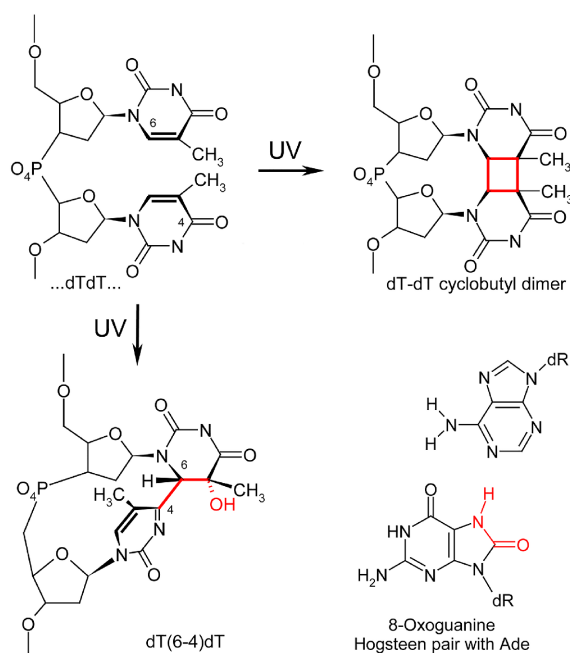


图2 导致DNA损伤的几种重要的DNA光化学反应产物(网络版彩图)

体系(双链、四链体等)的光化学反应的动态过程, 并结合量子化学计算建立相关反应动力学模型, 揭示了分子和量子态层次上认识DNA损伤的多种化学反应新机理. 本文主要综述本研究组近年来取得的系列进展.

## 2 光激发核酸分子的双键加成反应

### 2.1 环丁烷二聚体(cyclobutane pyrimidine dimer, CPD)反应

嘧啶碱基在紫外光激发下发生双键的[2+2]环加成反应, 生成环丁烷嘧啶二聚体(CPD), 导致相邻的两个碱基交联在一起, 是DNA、RNA光损伤的一种常见形式<sup>[8,9,17]</sup>. 在生物体内外的DNA光照产物中, 已检测出胸腺嘧啶-胸腺嘧啶二聚体(T<>T)、胸腺嘧啶-胞嘧啶二聚体(T<>C)、胞嘧啶-胞嘧啶二聚体(C<>C)等. 一般认为, CPD的生成经由嘧啶碱基的C<sub>5</sub>=C<sub>6</sub>双键加成产生, 反应可能涉及激发<sup>1</sup>ππ\*、<sup>1</sup>nπ\*、<sup>3</sup>ππ\*和电子基态等多个电子态的参与, 非绝热效应直接影响到反应的发生. 在DNA链中或者在寡聚嘧啶核苷酸如(dT)<sub>18</sub>中, 磷酸骨架的构型使得两个相邻的嘧啶碱基有一个很好的相互作用位置, 不需要通过扩散相互靠近后发生反应.

在这种情况下, [2+2]环加成反应主要是通过短寿命的单重态激发态进行的. 例如, Kohler等<sup>[18]</sup>利用飞秒时间分辨红外吸收光谱直接观察到267 nm激发(dT)<sub>18</sub>后约1 ps内形成CPD, 说明反应发生在短寿命的<sup>1</sup> $\pi\pi^*$ 激发态上<sup>[19]</sup>. 1 ps时间远小于DNA链发生构象改变的时间量级, 因此能够发生[2+2]环加成反应的激发态胸腺嘧啶碱基就必须处在合适的构象位置, 而处于合适构象位置的碱基是很少的, 因此反应直接发生在<sup>1</sup> $\pi\pi^*$ 单重态的几率很小. 对于那些不是以合适构象堆积的单重态激发态碱基, 它们将会发生什么样的反应呢? 碱基单重态激发态的弛豫过程除了快速内转换到基态, 还可以经过暗态<sup>1</sup> $n\pi^*$ 然后系间窜越到长寿命的三重态激发态<sup>3</sup> $\pi\pi^*$ <sup>[20,21]</sup>. 在水溶液中, 三重态量子产率不是很高, 只有 $10^{-2}$ 数量级. 但是这种长寿命的三重态仍然是碱基生成CPD的重要前体, 因为三重态激发态寿命比较长, DNA的磷酸骨架有时间改变构象<sup>[22]</sup>, 使得相近的嘧啶碱基调整到合适的构象而发生[2+2]环加成反应产生CPD. 但是以往绝大多数关于CPD形成涉及三重态路径的信息是通过检测三重态猝灭动力学或用稳态方法推测的.

本研究组<sup>[23]</sup>通过对CPD的羰基官能团敏感的时间分辨红外(TR-FIR)吸收光谱技术, 在溶液中的碱基单体CPD反应只能发生在三重态的条件下, 直接检测到嘧啶碱基的环加成反应产物及其生成动力学、量子产率(图3), 由此揭示了反应的激发三重态机理. 光谱中观测到的1691和1732  $\text{cm}^{-1}$ 的负峰为尿嘧啶分子的吸收. 另外, 在两个负峰之间可以分辨出0.2~0.5  $\mu\text{s}$ 内逐渐生成的1712和1724  $\text{cm}^{-1}$ 两个正峰, 这反映了加成产物通过双分子反应逐渐生成的过程. 在B3LYP/6-311+G(d,p)水平上对产物进行了结构优化和频率分析, 将1712和1724  $\text{cm}^{-1}$ 吸收归属为环加成产物. 同时稳态红外光谱进一步确认了加成产物. 在红外光谱上通过产物的最大吸收峰以及摩尔消光系数可以计算出产物的生成量, 从而最终可以推算出产物的量子产率, 得到的产物的量子产率 $\phi$ 分别是0.91% (尿嘧啶)和0.41% (胸腺嘧啶), 后者产物的量子产率比前者低, 这与胸腺嘧啶在乙腈中三重态量子产率(0.06)比尿嘧啶(0.2)<sup>[24]</sup>低一致.

进一步由B3LYP/6-311+G(d,p)计算提出通过三重态T<sub>1</sub>发生的非绝热反应途径和双自由基分步反应机理(图3(c)), 在T<sub>1</sub>上两个碱基的C5原子先成键生成一个双

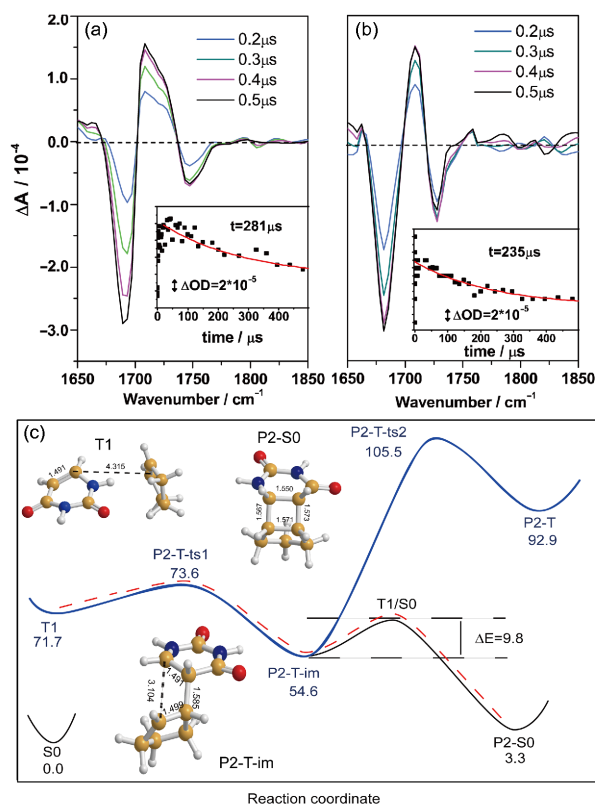


图3 (a, b) 266 nm下激发(a) U和(b) T在乙腈溶液不同时刻的瞬态红外吸收光谱图. (c) T<sub>1</sub>态尿嘧啶环加成反应的势能曲线, 所给出的能量为相对于基态反应物的能量差, 单位为kcal/mol<sup>[23]</sup> (网络版彩图)

自由基中间体P<sub>2</sub>-T-im, 在中间体附近通过T<sub>1</sub>/S<sub>0</sub>的势能面交叉系间窜跃到S<sub>0</sub>态, 在S<sub>0</sub>态上另外两个C6原子再成键生成最终产物CPD, 说明T<sub>1</sub>/S<sub>0</sub>势能面交叉的存在导致了反应发生的非绝热反应途径. 与其他通过S<sub>1</sub>、S<sub>0</sub>、T<sub>1</sub>势能面的绝热反应路径相比, T<sub>1</sub>/S<sub>0</sub>势能面交叉点的能量比三重态双自由基仅高出9.8 kcal/mol, 大大降低了反应势垒, 使得这条非绝热路径(图3(c)红色虚线)成为了能量有利反应路径.

在后续工作中, 我们进一步研究了具有DNA骨架构象限制的二核苷TpT的反应机理, 揭示了在三重态CPD非绝热反应路径中存在与之竞争的两条物理猝灭回到基态反应物的途径, 由此阐明尽管三重态反应活性强, 但光化学损伤的CPD量子产率低的内因<sup>[25]</sup>.

## 2.2 细菌孢子DNA光反应生成SP (spore photoproduct)

除双键的CPD环加成反应外, 紫外光激发下, 在干



燥状态或者A-form DNA也发生一类重要的SP损伤反应, 即胸腺嘧啶T碱基的CH<sub>3</sub>基团与相邻T碱基的C=C双键发生加成反应, 生成交联产物spore photoproduct (SP)<sup>[26-28]</sup>. 生物化学上对这一反应是通过协同机理, 还是双自由基分步机理发生, 长期解释不清. 我们选择DNA二核苷TpT分子<sup>[29]</sup>这种可以具备DNA构象限制的实际体系, 通过DFT和TD-DFT方法(B3LYP/6-311++G(d,p)//B3LYP/6-311G(d,p)水平并考虑溶剂效应), 计算了S<sub>0</sub>、S<sub>1</sub>和T<sub>1</sub> 3个电子态上的反应路径并找到电子态势能面之间的交叉, 结合自旋密度分析, 证明反应是一个双自由基中间体的分步反应机理, 发现反应发生的能量最有利路径是非绝热的: 反应第一步在T<sub>1</sub>态上发生氢转移反应生成一个双自由基中间体, 再由双自由基中间体直接交叉到S<sub>0</sub>态发生C5-CH<sub>2</sub>成键生成两个T碱基的SP交联产物(图4虚线所示). 同时发现, 氢转移为决速步, 解释了实验观察的动力学同位素效应.

### 3 DNA鸟嘌呤氧化损伤反应

鸟嘌呤G碱基氧化还原性质在所有碱基中最为活泼, 在DNA氧化损伤及DNA电荷传导等过程中扮演重要的角色. 在光照或强氧化自由基作用下, G碱基容易发生单电子氧化, 失去一个电子形成阳离子自由基(G<sup>+</sup>), 从而在DNA链上产生一个空穴, 空穴沿DNA链传导, 使得DNA成为潜在的电荷传导的载体. 同时, 阳离子自由基(G<sup>+</sup>)反应活性增强, 会发生后续的次级反应进一步导致一系列的氧化损伤<sup>[30,31]</sup>, 生成损伤产物(8-OxoG、FAPY-G等). 这些由电离辐射或自由基反应等造成的DNA氧化损伤会直接或间接地导致疾病与

衰老, 从而危害人类健康, 其分子层次上的反应机理是生命科学中的重要物理化学问题.

#### 3.1 G-四链体中鸟嘌呤单电子氧化及脱质子反应

在过去的几十年中, DNA链中的电荷传递由于其生物学上的重要性<sup>[32]</sup>以及在分子电子器件中的潜在应用<sup>[33,34]</sup>而吸引了多个领域的研究兴趣. 由于鸟嘌呤G碱基在4种DNA碱基中氧化电位最低<sup>[35,36]</sup>, 最容易被氧化, 所以DNA中的空穴总是被G碱基捕获形成阳离子自由基(G<sup>+</sup>), DNA中的空穴实质上是通过对鸟嘌呤传递的<sup>[37-39]</sup>. 在这个过程中, G<sup>+</sup>脱质子是重要的与空穴传递相竞争的反应<sup>[40,41]</sup>. 由于双链DNA中G<sup>+</sup>快速的脱质子反应(速率常数为10<sup>6</sup>到10<sup>7</sup>)<sup>[40,41]</sup>会中断电荷传递, 导致空穴G<sup>+</sup>在双链DNA传递的距离非常有限(仅大于20 nm)<sup>[42-44]</sup>. 为了克服这些长久以来限制DNA电荷传导的问题, 需要探索其他脱质子速率更慢, 传导电荷效率更高的DNA结构.

富含G碱基的DNA序列在K<sup>+</sup>或Na<sup>+</sup>稳定下可以通过Hoogsteen氢键形成G-四分体, 即4个G碱基通过氢键形成的平面结构. 四分体平面通过纵向的 $\pi$ 堆积作用层层堆叠, 就形成了一段稳定的四链体DNA结构, 即G-四链体DNA. G-四链体的结构使其能够携带电子, 捕获空穴, 并且导电能力高, 因而成为新的设计分子电子器件的方向. 那么G-四链体能否成为比双链DNA更好的传导电荷的结构呢? 当衡量电荷在G-四链体结构中的传递效率时, 脱质子的速率常数是一个非常重要的参数, 因为脱质子过程与电荷传递相竞争.

根据前人的研究结果<sup>[40,45]</sup>, 脱质子的速率常数与脱质子的位点相关. G<sup>+</sup>上亚氨基质子N<sub>1</sub>-H的酸性

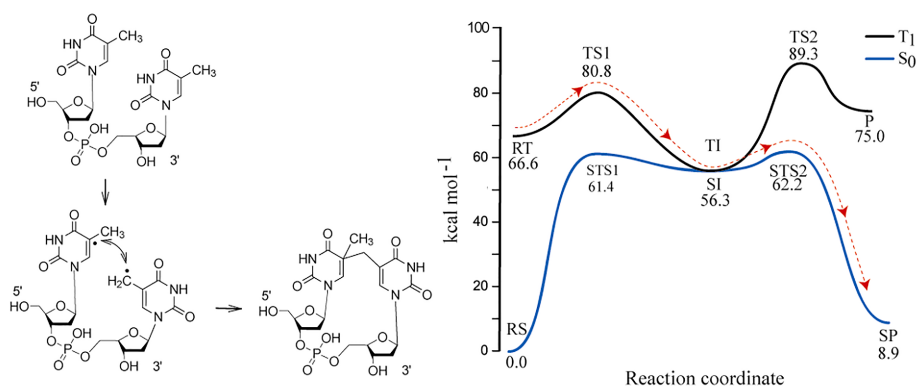


图4 SP反应的T<sub>1</sub>和S<sub>0</sub>态势能剖面. 所给出的能量为相对于基态反应物的能量差, 单位为kcal/mol<sup>[29]</sup> (网络版彩图)

( $pK_a=3.9$ <sup>[46]</sup>)比氨基质子 $N_2-H$ 的酸性( $pK_a=4.7$ <sup>[46]</sup>)更强, 在pH 7的条件下会快速失去亚氨基质子 $N_1-H$ 生成G( $N_1-H$ )<sup>•</sup>, 脱质子速率常数为 $1.8 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$ <sup>[40]</sup>, 而脱氨基质子 $N_2-H$ 速率常数为 $3.5 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$  (pH 7.1)<sup>[45,47]</sup>. 在双链DNA中, G碱基通过氢键与胞嘧啶碱基C配对, 并且 $G^{+•}$ 脱质子 $N_1-H$ 的 $pK_a$  (3.9)稍小于C碱基 $N_3$ 质子化的 $pK_a$  (4.3), 使得双链DNA中G被氧化为 $G^{+•}$ 后,  $G^{+•}$ 的 $N_1-H$ 会通过氢键转移到C碱基的 $N_3$ 位, 并最终被溶剂捕获<sup>[40,41]</sup>. 在G-四链体中, 由于G碱基均与另外2个G碱基通过氢键形成了G-四分体, 其独特的氢键环境有可能导致截然不同的反应途径, 启发了我们对G-四链体的单电子氧化和脱质子反应的研究.

我们研究了4种有代表性(图5)的G-四链体( $AG_3(T_2AG_3)_3$ 、 $(G_4T_4G_4)_2$ 、 $(TG_4T)_4$ 和 $G_2T_2G_2TGTG_2T_2G_2$  (TBA). 利用355 nm激光光解 $Na_2S_2O_8$ 产生的强氧化性自由基 $SO_4^{•-}$ 氧化G-四链体产生一个被G碱基捕获的空穴, 形成 $G^{+•}$ , 通过瞬态吸收光谱实时监测 $G^{+•}$ 脱质子反应过程<sup>[48]</sup>. 有趣的是, 实验观察到G-四链体中不同于自由碱基dG以及双链DNA的脱质子行为(脱氨基质子 $N_2-H$ 而不是亚氨基质子 $N_1-H$ , 如图6所示). 对于所有G碱基都形成G-四分体的G-四链体 $AG_3(T_2AG_3)_3$ 、 $(G_4T_4G_4)_2$ 和 $(TG_4T)_4$ , 脱质子的位点为环外的氨基质子 $N_2-H$ , 如图7所示, 伴随1  $\mu\text{s}$ 时刻400和480 nm的 $G^{+•}$ 吸收峰的衰减, 在10  $\mu\text{s}$ 生成在640 nm处有特征吸收峰的G( $N_2-H$ )<sup>•</sup>作为脱质子产物. 而对于在侧链上存在自由G碱基的G-四链体TBA, 脱质子的位点主要为亚氨基质子 $N_1-H$ , 生成初始产物为特征吸收在380和500 nm的G( $N_1-H$ )<sup>•</sup>. 为了进一步确定脱质子位点, 通过监测产物在600 nm以上吸收峰的生成动力学, 测量得到脱质子速率. G-四链体 $AG_3(T_2AG_3)_3$ 、 $(G_4T_4G_4)_2$ 、 $(TG_4T)_4$ 中 $G^{+•}$

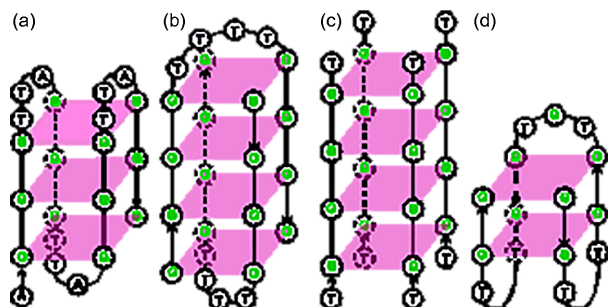


图5 4种G-四链体结构. (a) 人体端粒 $AG_3(T_2AG_3)_3$ ; (b)  $(G_4T_4G_4)_2$ ; (c)  $(TG_4T)_4$ ; (d) 凝血酶适配体TBA (网络版彩图)

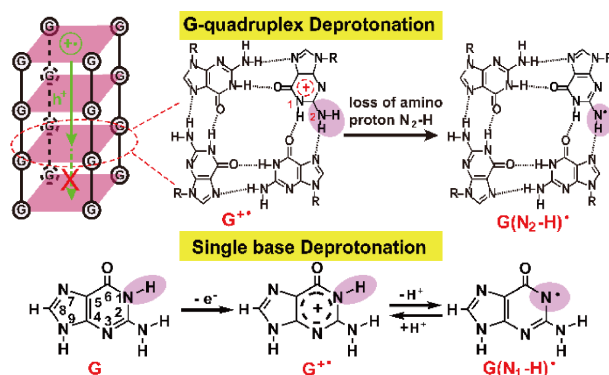


图6 鸟嘌呤单电子氧化生成的 $G^{+•}$ 自由基在G-四链体及G碱基单体中的脱质子反应途径<sup>[48]</sup> (网络版彩图)

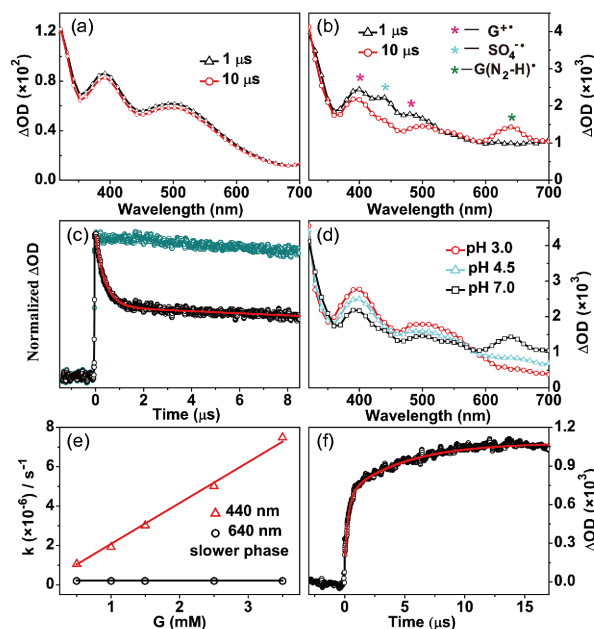


图7 (a) dG (3 mM)+ $Na_2S_2O_8$  (120 mM)和(b) G-四链体 $AG_3(T_2AG_3)_3$  ( $[G]=1.5 \text{ mM}$ )+ $Na_2S_2O_8$  (120 mM)缓冲溶液(pH 7.0) 355 nm激光激发后的瞬态紫外-可见吸收光谱. (c) 加入(绿色)和不加入(黑色) G-四链体 $AG_3(T_2AG_3)_3$ 后 $SO_4^{•-}$ 自由基在440 nm吸收峰的衰减动力学. (d) pH分别为3.0、4.5和7.0 (b)体系在10  $\mu\text{s}$ 时刻的吸收光谱. (e) 440 nm动力学曲线快衰减常数以及640 nm动力学慢上升速率常数与G-四链体浓度的关系. (f) 双指数拟合(b)溶液640 nm吸收峰的动力学曲线<sup>[48]</sup> (网络版彩图)

脱质子速率常数分别为 $2.1 \times 10^5$ 、 $2.0 \times 10^5$ 和 $1.8 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$ , 与文献报道的 $N_2-H$ 脱质子速率常数( $3.5 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$ )<sup>[45]</sup>接近. 这进一步证实这些G-四链体中脱质子的位点是 $N_2-H$ , 而TBA中速率 $1.4 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$ , 与其主要脱 $N_1-H$ 质子一致.

通过动力学同位素效应实验进一步发现, G-四链体中脱质子的位点是未形成氢键的自由质子(图6), 即G-四分体G碱基中与溶剂水分子接触的 $N_2$ -H或TBA侧链G碱基中的 $N_1$ -H. 实验结果结合 $pK_a$ 值分析表明, G-四链体中特异的脱质子行为与G碱基所处氢键环境有关: G-四分体中每个G碱基均与另外2个G碱基通过Hoogsteen氢键结合, 与相邻碱基形成氢键的亚氨基质子和氨基质子受到 $pK_a$ 限制不能沿氢键传递, 只有暴露在外与溶剂水分子接触的氨基质子 $N_2$ -H可以脱到体相溶液中. 对于在侧链上存在自由G碱基的G-四链体TBA(图5), 当正电荷布居在G-四分体的G碱基上,  $G^+$ 将脱 $N_2$ -H; 而当正电荷布居在侧链TGT的G碱基上时, 情况类似于自由碱基,  $G^+$ 会脱 $N_1$ -H. 因为 $G^+$ 脱 $N_1$ -H的速率常数比脱 $N_2$ -H的速率常数快两个数量级左右<sup>[40,45]</sup>, 侧链上 $G^+$ 脱 $N_1$ -H将占主导.

我们的实验结果表明, G-四链体中脱质子速率常数比双链DNA中的小1~2个数量级, 这将使得G-四链体中电荷传递被脱质子反应中断的可能性更小, 电荷传递距离有望更远. 我们揭示的反应机理可以为应用于DNA电荷传导中G-四链体结构的设计提供指导, 即侧链上不存在自由G碱基的G-四链体结构更理想, 因为侧链上自由G碱基会导致脱质子速率加快. 同时, 在细胞水平上, G-四链体结构的形成具有重要的意义. G-四链体是由一段富含鸟嘌呤碱基(G)的端粒DNA形成的特殊二级结构<sup>[49,50]</sup>. 这种DNA二级结构既可以控制

致癌基因的表达, 又可以调控端粒酶的生长. 我们对G-四链体的单电子氧化及脱质子反应的研究结果<sup>[48]</sup>, 揭示了DNA结构的局部氢键微环境对反应机理的影响, 阐述了G-四链体在DNA自由基化学中的动力学微观机理, 为深入认识端粒DNA氧化损伤提供了初始基元反应的分子机理.

### 3.2 捕捉DNA鸟嘌呤氧化损伤反应的自由基离子对中间体

鸟嘌呤G碱基在光照或自由基作用下易失去一个电子形成阳离子自由基 $G^+$ , 引发DNA链上的电荷传输或系列DNA氧化损伤反应. 然而,  $G^+$ 的生成不单纯是直接的单电子氧化过程, 而是经常涉及一类重要的自由基离子对中间体参与反应. 理论计算预测自由基离子对中间体寿命短( $\sim ps$ )、稳定性极低, 过去实验上一一直难以对其探测表征<sup>[51-57]</sup>.

本研究组<sup>[58]</sup>通过在低温下稳定反应中间体的方法并结合时间分辨光谱探测, 成功捕捉到DNA鸟嘌呤氧化损伤基元反应途径中的自由基离子对中间体. 对于氯自由基与G碱基的反应体系, 在低温瞬态吸收光谱(图8)上探测到中心位于570 nm的强吸收峰, 结合理论计算归属为 $G^+ \cdots Cl^-$ 离子对中间体. 轨道分析发现, 这一可见光区域的特征吸收光谱是由离子对静电作用改变跃迁轨道空间重叠所致, 与 $G^+$ 本身在可见区吸收弱的光谱行为有明显区别, 从而给出可用于区别 $G^+$ 等其

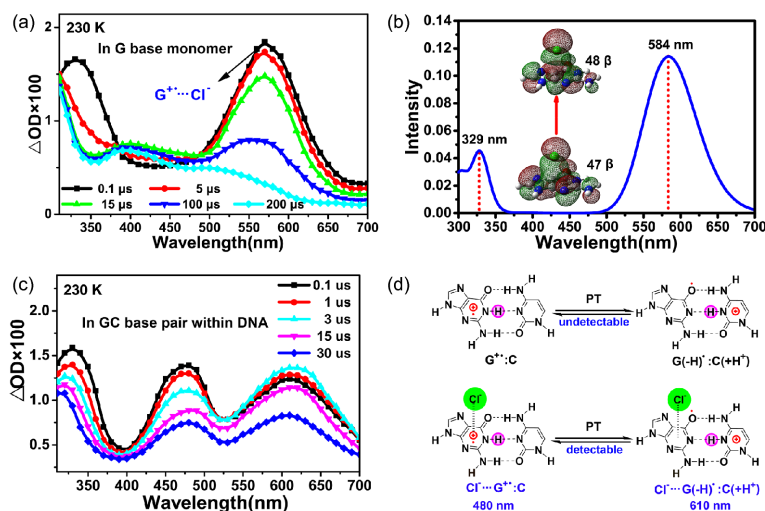


图8 (a) G碱基单体氧化反应中的离子对中间体特征光谱吸收; (b) TD-DFT计算的离子对中间体光谱及相关电子跃迁轨道; (c) 离子对中间体的特征光谱在双链DNA发生分裂; (d) 双链DNA中GC碱基对内的质子转移途径<sup>[58]</sup> (网络版彩图)



他瞬态物种的离子对中间体的光谱特征。

进一步在双链DNA的氧化反应体系中, 观测到离子对中间体在570 nm的特征光谱裂分为480和610 nm两个吸收峰(图8)。由动力学测量和分析, 确定了这两个吸收峰对应于双链GC碱基对内质子转移平衡的两种质子结构与Cl<sup>-</sup>形成的离子对: 吸收峰在480 nm处的Cl<sup>-</sup>⋯G<sup>+</sup>:C和吸收峰在610 nm处的Cl<sup>-</sup>⋯G(-H):C(+H<sup>+</sup>), 因此在动力学上前者的衰减对应后者的上升, 都对应于质子转移过程。离子对的可见区强吸收光谱是由静电作用影响分子轨道所致, 而质子转移使正电荷从G转移到C, 两种质子化结构与旁边结合的Cl<sup>-</sup>形成的离子对的光谱因此发生了裂分。我们通过离子对光谱的裂分, 进而清晰区分了过去在光谱上无法区分的双链DNA碱基对内质子转移平衡的两种质子化结构, 并由此测得质子转移的反应能垒( $E_a \approx 1.4-1.7$  kcal/mol), 与考虑了11个显水的溶剂化模型的理论计算模拟值<sup>[59]</sup>吻合很好。这些结果给出DNA鸟嘌呤氧化反应的自由基离子对机理的关键实验证据, 对深入认识DNA质子耦合电子转移和DNA氧化损伤等过程具有重要意义。

## 4 取代核酸碱基的光化学反应动力学研究

### 4.1 硫代核酸碱基光敏反应及ROS氧化损伤

除了A、T、G、C和U 5种核酸碱基分子外, 生物体内还存在着一些取代碱基, 与普通碱基具有相似的结构, 但是性质却并不完全相同。硫代碱基就是其中重要的一类, 在生物医药领域有着广泛的应用<sup>[60]</sup>。

硫代嘌呤类分子(包括6-硫代鸟嘌呤(6-TG)、6-巯基嘌呤(6-MP)以及咪唑硫嘌呤)是一类抗癌、抗排异及消炎药物。它们在生物体内可以通过代谢作用以6-硫代鸟嘌呤(6-TG)的形式接入到正常的DNA中<sup>[61-63]</sup>。最近的研究表明, 6-TG是一种能显著吸收UVA波段(320~400 nm)的光敏剂, 对其进行光照能敏化产生大量的活性氧物质(ROS), 主要是单态氧(<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)<sup>[64-66]</sup>。6-TG本身易于被其敏化产生的<sup>1</sup>O<sub>2</sub>氧化, 生成鸟嘌呤-6-磺酸(G<sup>SO3</sup>)<sup>[64,66]</sup>, G<sup>SO3</sup>会强烈阻止DNA的复制和转录, 从而造成DNA的氧化损伤<sup>[63,64,66-68]</sup>。尽管对于6-TG与<sup>1</sup>O<sub>2</sub>反应的最终产物有了大量的研究, 其反应机理仍未能清楚给出。

以往研究推测生成G<sup>SO3</sup>的关键中间体为鸟嘌呤-6-

次磺酸(G<sup>SO</sup>), 但实验从未探测到G<sup>SO</sup>。我们利用理论结合实验的方法揭示了6-TG与<sup>1</sup>O<sub>2</sub>的反应机理(图9)<sup>[69]</sup>。理论计算表明, 反应物6-TG首先与<sup>1</sup>O<sub>2</sub>通过弱的氢键相互作用形成一个复合物6-TG⋯<sup>1</sup>O<sub>2</sub>, 随后<sup>1</sup>O<sub>2</sub>加成到C=S双键生成过氧化物中间体G<sup>SOOH</sup>, 接着沿着G<sup>SOOH</sup>→G<sup>SO2</sup>→G<sup>SO4</sup>→G<sup>SO3</sup>这条能量最有利反应路径进行, 仅需要跨越较低的能垒(8.7 kcal/mol)。关键反应中间体是过氧化物G<sup>SOOH</sup>, 而不是之前认为的G<sup>SO</sup>中间体(生成G<sup>SO</sup>途径的决速步势垒为35.5 kcal/mol), 澄清了以往研究的困惑。同时, 实验测量了反应速率常数为4.9×10<sup>9</sup> M<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>, 进一步支持证实了低势垒的G<sup>SOOH</sup>机理。另外, 我们测量到<sup>1</sup>O<sub>2</sub>反应生成G<sup>SO3</sup>的化学计量比(0.58), 印证了理论计算预测的反应途径中溶剂H<sub>2</sub>O分子的直接参与。在这一新发现的G<sup>SOOH</sup>→G<sup>SO2</sup>→G<sup>SO4</sup>→G<sup>SO3</sup>机理中, 溶剂H<sub>2</sub>O分子作为反应物直接参与反应, 夺取反应中间体G<sup>SO4</sup>的一个氧原子生成G<sup>SO3</sup>和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。低的反应能垒和快的反应速率表明<sup>1</sup>O<sub>2</sub>氧化6-TG的反应活性很高, 因而可以合理解释DNA中6-TG的光毒性以及硫代嘌呤类药物所引起的UVA光致皮肤癌发病率升高的分子反应机制。基于这些对基元反应机理的认识, 在后续工作中本研究组<sup>[70]</sup>以纳米金共价结合6-TG分子, 通过纳米金对表面结合的分子光物理和光化学性质的调控, 有效抑制了UVA (355 nm)下6-TG光敏化产生<sup>1</sup>O<sub>2</sub>及<sup>1</sup>O<sub>2</sub>氧化6-TG产生G<sup>SO3</sup>的光毒性。

对于另一类通常作为抑制剂、生物光学探针及转录调控剂的重要分子—4-硫代尿嘧啶(4-TU), 本研究组<sup>[71]</sup>通过瞬态红外光谱(图10)观测到4-TU在UVA

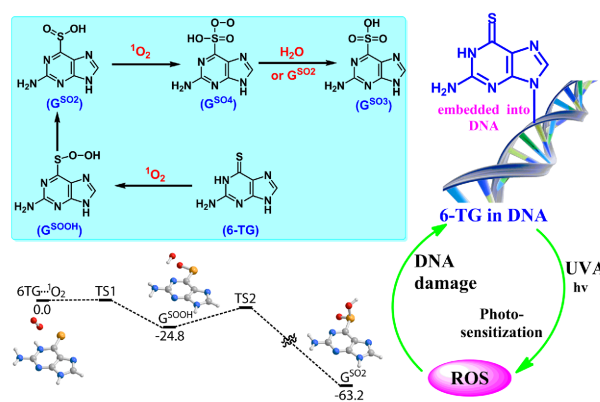


图9 植入DNA的6-TG分子吸收UVA光敏产生<sup>1</sup>O<sub>2</sub>, <sup>1</sup>O<sub>2</sub>氧化6-TG生成致癌产物G<sup>SO3</sup>的反应机理<sup>[69]</sup>(网络版彩图)



(355 nm)光激发下布居到激发三重态, 在低氧条件下观测到C=S键发生加成反应生成(5-4)/(6-4)嘧啶-嘧啶酮的产物, 说明硫取代导致激发态电子结构的改变(最低三重态涉及C=C键和C=S键的激发), 造成了硫代嘧啶碱基的光化学反应不同于常规嘧啶碱基. 同时, 实验观测到有氧条件下, 三重态敏化产生单态氧,  $^1\text{O}_2$ 氧化4-TU生成产物U的反应过程. 这些结果揭示了4-TU作为光学探针的交联反应和作为UVA光敏剂产生单态氧, 进一步由单态氧导致氧化损伤的动力学反应机制.

### 4.2 卤代碱基的光解反应

5-卤代尿嘧啶碱基(如5-碘代尿嘧啶和5-溴代尿嘧啶)是将胸腺嘧啶碱基上的甲基用卤素原子(如碘原子或溴原子)取代形成的一类取代碱基, 会增加DNA对光的敏感性, 从而促进发生DNA链断裂或DNA-protein交联等反应<sup>[72-76]</sup>. 本研究组<sup>[77]</sup>利用瞬态红外吸收光谱及量子化学计算相结合的方法对5-IU光化学反应机理(图11)进行了研究. 实验上观测到266 nm激光照射5-IU乙腈溶液的反应产物尿嘧啶(U). 这是由于乙腈是一个氢原子给体, 其作为溶剂大量存在于5-IU周围, (U)自由基从乙腈上抽氢产生U. 而纯乙腈环境下, 没有电子给体存在, 抽氢的前体(U)自由基只能来自于C-I键均裂, 从而在实验上证实了5-IU主要发生C-I键均裂反应. 理论上, 利用CASPT2//CASSCF方法计算了单重态5-IU的解离势能曲线(PECs). 计算结果揭示了一个单重态预解离机理, 5-IU分子被初始激发到 $^1\pi\pi^*$ 态, 该

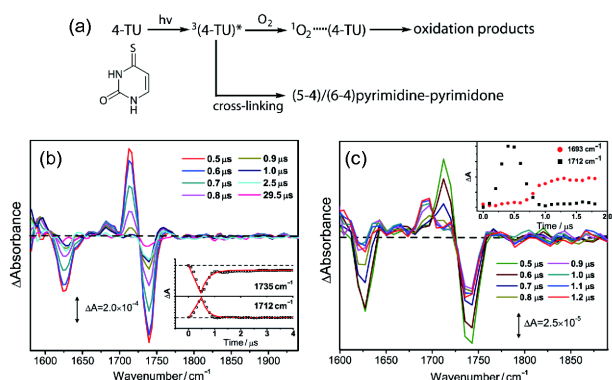


图10 (a) 反应机理示意图; (b, c) 355 nm下激发4-TU (b) 氮气饱和和 (c) 氧气饱和的乙腈溶液不同时刻的瞬态红外吸收光谱图<sup>[71]</sup> (网络版彩图)

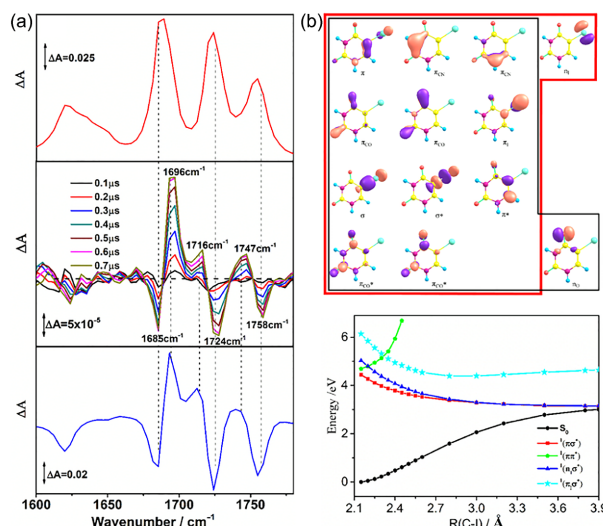


图11 (a) 266 nm激光照射氮气饱和的2.7 mM 5-IU乙腈溶液的时间分辨红外吸收光谱; (b) CASPT2//CASSCF(16,12)/6-31+G\* (碘原子采用lanl2dz基组)方法计算得到的5-IU分子单重激发态沿C-I键解离的势能曲线<sup>[77]</sup> (网络版彩图)

态势能曲线与 $^1\pi\sigma^*$ 或 $^1n_1\sigma^*$ 态势能曲线在Franck-Condon (FC)附近有交叉点, 使得5-IU分子可以快速布居到 $^1\pi\sigma^*$ 或 $^1n_1\sigma^*$ 态上. 这两个态是排斥态, 可以无势垒解离生成基态(U)自由基和碘原子. 解离通常发生在几十到几百飞秒时间内, 该解离途径的有效竞争使得 $^1\pi\pi^*$ 发生系间窜越到三重态的可能性很小. 结果揭示了5-IU在特定电子态上发生光化学反应的机理, 清晰地给出了5-IU发生C-I键均裂反应的物理图像, 为5-IU作为光学探针及辐射治疗癌症等应用提供了理论基础.

### 5 探测四链体DNA结构与配体分子的结合模式

G-四链体是由一段富含鸟嘌呤碱基(G)的端粒DNA形成的特殊二级结构<sup>[49,50]</sup>. G-四链体广泛分布于真核生物基因组, 如端粒DNA、rDNA和一系列基因中的启动子区域<sup>[78-81]</sup>, 其结构对很多重要的生理过程如基因的转录、复制、重组以及保持染色体的稳定性方面具有重要作用<sup>[82,83]</sup>. G-四链体中的四分体形成一个大的芳香环, 因此G-四链体DNA容易通过 $\pi$ - $\pi$ 堆积与配体小分子相互作用. 这种作用带来的G-四链体结构稳定性的变化会影响细胞内DNA的复制转录过程. 因此G-四链体成为了重要的药物标靶, 许多小分子化

合物被设计和合成出来靶向进攻G-四链体结构, 诱导和稳定G-四链体DNA的形成, 抑制端粒酶活性和肿瘤细胞生长, 从而达到抗癌效果<sup>[84]</sup>. 在化学领域有多方面的工作致力于配体分子的合成, 用以发展潜在的抗癌药物. 但是, 由于配体分子对G-四链体结构具有不同的亲和性和选择性, 并且G-四链体具有高度的结构多样性, 获得G-四链体和配体分子发生相互作用的机理以及结合模式和结合比等定量信息, 对传统的实验方法来说仍然是一个挑战.

本研究组<sup>[85]</sup>通过光激发配体分子(卟啉TMPyP4)布居到激发三重态, 基于配体分子的重三重态衰变寿命对微环境的高灵敏性(图12), 发展了一种新的动力学实验方法来研究卟啉和G-四链体的相互作用. 我们观测到不同于体相的, 结合到G-四链体微环境下的卟啉分子的重三重态衰变的双指数动力学特征(图12), 由此清晰区分了卟啉与G-四链体发生相互作用同时共存的两种结合模式(末端堆积、插入), 定量得到结合比及两种模式各自所占百分比, 并且观察到G-四链体构型对于卟啉的结合行为的显著影响<sup>[85]</sup>. 这些实验结果说明激发三重态的动力学衰变可以作为光谱探针, 实现对G-四链体和卟啉相互作用机理的定量及灵敏探测, 这种新的动力学实验方法为揭示G-四链体和配体的相互作用机理提供了可能, 可以延伸到包括G-四链体在内的DNA二级结构体系以及蛋白质体系与配体之间相互作用的研究. 本研究组<sup>[86]</sup>已经将这种方法用于不同的体系, 探测了G-四链体/锌卟啉的结合模式, 揭示了锌卟啉分子的五配位水由于其位阻效应阻碍了插入模式. 另外, 本研究组<sup>[87]</sup>研究了另外一类相对新的C-四链体结构, 由富含C碱基的DNA链形成的i-motif结构<sup>[88-90]</sup>与卟啉的结合行为, 确定了卟啉插入到两个C:C+半质子化的碱基对之间以及结合到大沟位置的两种相互作用模式. 这种动力学实验方法的特点在于灵敏和定量, 能够区分同时共存的几种结合模式, 如果结合其他成熟的方法(圆二色光谱、电泳、质谱、核磁共振等), 将会给出配体分子与不同的DNA二级结构体系相互结合的更清晰和完整的图像, 这也是我们目前正在做的工作之一.

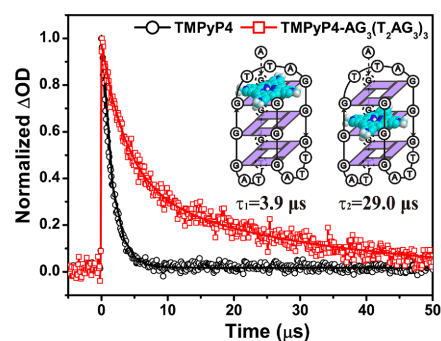


图12 自由卟啉分子TMPyP4及结合在G-四链体中的卟啉分子TMPyP4-AG<sub>3</sub>(T<sub>2</sub>AG<sub>3</sub>)<sub>3</sub>的三重态衰减动力学曲线. 三重态衰变寿命对微环境的高灵敏性反映出两种不同的结合位点<sup>[85]</sup>(网络版彩图)

## 6 结论

随着各种先进的实验和理论方法的发展, 分子反应动力学的研究从气相小分子反应体系扩展到凝聚相生物分子复杂体系, 与分子生物学等领域形成交叉, 是目前国际上化学动力学研究领域极为活跃和富有挑战的方向之一. 我们将时间分辨红外光谱测量的功能发展至可探测微弱信号的生物分子的瞬态反应和结构, 利用瞬态红外光谱在探测分子振动和化学键演变方面的优势, 结合瞬态紫外-可见等互为补充的光谱技术和量子化学计算, 研究了一系列核酸碱基分子及二级结构(双链、四链体等)体系的光化学反应的动力学机理. 揭示了CPD环加成、SP加成、电子转移、质子转移、光敏化、ROS氧化、光解断键等导致DNA交联损伤或氧化损伤的光化学反应的复杂过程, 阐述势能面交叉、非绝热效应, 考察分子的激发态电子结构改变、空间立体构象、碱基配对和 $\pi$ - $\pi$ 堆积、氢键微环境等如何影响和调制核酸光化学衰变路径, 在原子分子水平和基元反应的层次上, 阐述核酸分子激发态及自由基反应的根本特征和微观机理, 回答分子生物学提出的重要物理化学问题, 揭示相关生命现象和反应过程的分子反应微观机制. 未来我们将继续推进时间分辨红外光谱技术测量皮秒、飞秒时间尺度上的超快化学反应过程, 研究凝聚相生物分子复杂体系的化学动力学基本问题.

## 参考文献

- 1 Matsika S. *J Phys Chem A*, 2004, 108: 7584-7590

- 2 Perun S, Sobolewski AL, Domcke W. *J Phys Chem A*, 2006, 110: 13238–13244
- 3 Crespo-Hernández CE, Cohen B, Hare PM, Kohler B. *Chem Rev*, 2004, 104: 1977–2020
- 4 Merchán M, González-Luque R, Climent T, Serrano-Andrés L, Rodríguez E, Reguero M, Peláez D. *J Phys Chem B*, 2006, 110: 26471–26476
- 5 Rycyna RE, Alderfer JL. *Biochemistry*, 1988, 27: 3142–3151
- 6 Beukers R, Eker APM, Lohman PHM. *DNA Repair*, 2008, 7: 530–543
- 7 Cadet J, Sage E, Douki T. *Mutat Res/Fundam Mol Mech Mutagen*, 2005, 571: 3–17
- 8 Mouret S, Baudouin C, Charveron M, Favier A, Cadet J, Douki T. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 13765–13770
- 9 Clingen PH, Arlett CF, Roza L, Mori T, Nikaido O, Green MHL. *Cancer Res*, 1995, 55: 2245–2248
- 10 Cadet J, Ravanat JL, Martinez GR, Medeiros MHG, Di Mascio P. *Photochem Photobiol*, 2006, 82: 1219
- 11 Cadet J, Douki T, Ravanat JL, Di Mascio P. *Photochem Photobiol Sci*, 2009, 8: 903
- 12 Wu W, Liu K, Yang C, Zhao H, Wang H, Yu Y, Su H. *J Phys Chem A*, 2009, 113: 13892–13900
- 13 Wu W, Yang C, Zhao H, Liu K, Su H. *J Chem Phys*, 2010, 132: 124510
- 14 Yang C, Su H, Sun X, George MW. *J Chem Phys*, 2012, 136: 204507
- 15 Ke XS, Zhao H, Zou X, Ning Y, Cheng X, Su H, Zhang JL. *J Am Chem Soc*, 2015, 137: 10745–10752
- 16 Yu Y, Wu L, Zou X, Dai X, Liu K, Su H. *J Phys Chem A*, 2013, 117: 7767–7775
- 17 Yoon JH, Lee CS, O'Connor TR, Yasui A, Pfeifer GP. *J Mol Biol*, 2000, 299: 681–693
- 18 Schreier WJ, Schrader TE, Koller FO, Gilch P, Crespo-Hernández CE, Swaminathan VN, Carell T, Zinth W, Kohler B. *Science*, 2007, 315: 625–629
- 19 Martínez JM, Elmroth SKC, Kloo L. *J Am Chem Soc*, 2001, 123: 12279–12289
- 20 Hare PM, Crespo-Hernández CE, Kohler B. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 435–440
- 21 Hare PM, Crespo-Hernández CE, Kohler B. *J Phys Chem B*, 2006, 110: 18641–18650
- 22 Mills JB, Vacano E, Hagerman PJ. *J Mol Biol*, 1999, 285: 245–257
- 23 Yang C, Yu Y, Liu K, Song D, Wu L, Su H. *J Phys Chem A*, 2011, 115: 5335–5345
- 24 Salet C, Bensasson R. *Photochem Photobiol*, 1975, 22: 231–235
- 25 Zhao H, Liu K, Song D, Su H. *J Phys Chem A*, 2014, 118: 9105–9112
- 26 Slieman TA, Rebeil R, Nicholson WL. *J Bacteriol*, 2000, 182: 6412–6417
- 27 Donnellan Jr JE, Setlow RB. *Science*, 1965, 149: 308–310
- 28 Desnous C, Guillaume D, Clivio P. *Chem Rev*, 2010, 110: 1213–1232
- 29 Du Q, Zhao H, Song D, Liu K, Su H. *J Phys Chem B*, 2012, 116: 11117–11123
- 30 Prativel G, Meunier B. *Chem Eur J*, 2006, 12: 6018–6030
- 31 Cadet J, Berger M, Douki T, Ravanat JL. Oxidative damage to DNA: formation, measurement, and biological significance. In: Grunicke H, Haberman E, Pette D, Reuter H, Sakmann B, Schultz G, Schweiger M, Weibel ER, Wright EM, Blaustein MP, Eds. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*. Volume 131. Berlin, Heidelberg: Springer, 1997. 1–8
- 32 Endres RG, Cox DL, Singh RRP. *Rev Mod Phys*, 2004, 76: 195–214
- 33 Malyshev AV. *Phys Rev Lett*, 2007, 98: 096801
- 34 Noguez C, Cohen SR, Daube S, Apter N, Naaman R. *J Phys Chem B*, 2006, 110: 8910–8913
- 35 Steenken S, Jovanovic SV. *J Am Chem Soc*, 1997, 119: 617–618
- 36 Seidel CAM, Schulz A, Sauer MHM. *J Phys Chem*, 1996, 100: 5541–5553
- 37 Meggers E, Michel-Beyerle ME, Giese B. *J Am Chem Soc*, 1998, 120: 12950–12955
- 38 Nakatani K, Dohno C, Saito I. *J Am Chem Soc*, 1999, 121: 10854–10855
- 39 Osakada Y, Kawai K, Fujitsuka M, Majima T. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 18072–18076
- 40 Kobayashi K, Tagawa S. *J Am Chem Soc*, 2003, 125: 10213–10218
- 41 Kobayashi K, Yamagami R, Tagawa S. *J Phys Chem B*, 2008, 112: 10752–10757
- 42 Giese B. *Annu Rev Biochem*, 2002, 71: 51–70
- 43 Takada T, Kawai K, Fujitsuka M, Majima T. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 14002–14006
- 44 Schuster GB. *Acc Chem Res*, 2000, 33: 253–260

- 45 Candeias LP, Steenken S. *J Am Chem Soc*, 1992, 114: 699–704
- 46 Candeias LP, Steenken S. *J Am Chem Soc*, 1989, 111: 1094–1099
- 47 Wu L, Jie J, Liu K, Su H. *Acta Chim Sin*, 2014, 72: 1182–1186
- 48 Wu L, Liu K, Jie J, Song D, Su H. *J Am Chem Soc*, 2015, 137: 259–266
- 49 Gellert M, Lipsett MN, Davies DR. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1962, 48: 2013–2018
- 50 Huppert JL. *Chem Soc Rev*, 2008, 37: 1375–1384
- 51 Kumar A, Pottiboyina V, Sevilla MD. *J Phys Chem B*, 2011, 115: 15129–15137
- 52 Marcus Y, Hefter G. *Chem Rev*, 2006, 106: 4585–4621
- 53 Wu Y, Mundy CJ, Colvin ME, Car R. *J Phys Chem A*, 2004, 108: 2922–2929
- 54 Steenken S. *Chem Rev*, 1989, 89: 503–520
- 55 Breen AP, Murphy JA. *Free Radical Biol Med*, 1995, 18: 1033–1077
- 56 Candeias LP, Steenken S. *Chem Eur J*, 2000, 6: 475–484
- 57 Cadet J, Berger M. *Int J Radiat Biol*, 1985, 47: 127–143
- 58 Jie J, Liu K, Wu L, Zhao H, Song D, Su H. *Sci Adv*, 2017, 3: e1700171
- 59 Kumar A, Sevilla MD. *J Phys Chem B*, 2009, 113: 11359–11361
- 60 Aarbakke J, Janka-Schaub G, Elion GB. *Trends Pharmacol Sci*, 1997, 18: 3–7
- 61 Waters TR, Swann PF. *Biochemistry*, 1997, 36: 2501–2506
- 62 Hofbauer GFL, Attard NR, Harwood CA, McGregor JM, Dziunycz P, Iotzova-Weiss G, Straub G, Meyer R, Kamenisch Y, Berneburg M, French LE, Wüthrich RP, Karran P, Serra AL. *Am J Transplant*, 2012, 12: 218–225
- 63 Brem R, Karran P. *Photochem Photobiol*, 2012, 88: 5–13
- 64 Ren X, Li F, Jeffs G, Zhang X, Xu YZ, Karran P. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38: 1832–1840
- 65 Zhang Y, Zhu X, Smith J, Haygood MT, Gao R. *J Phys Chem B*, 2011, 115: 1889–1894
- 66 Zhang X, Jeffs G, Ren X, O'Donovan P, Montaner B, Perrett CM, Karran P, Xu YZ. *DNA Repair*, 2007, 6: 344–354
- 67 O'Donovan P, Perrett CM, Zhang X, Montaner B, Xu YZ, Harwood CA, McGregor JM, Walker SL, Hanaoka F, Karran P. *Science*, 2005, 309: 1871–1874
- 68 Brem R, Karran P. *Cancer Res*, 2012, 72: 4787–4795
- 69 Zou X, Zhao H, Yu Y, Su H. *J Am Chem Soc*, 2013, 135: 4509–4515
- 70 Wang R, Yue L, Yu Y, Zou X, Song D, Liu K, Liu Y, Su H. *J Phys Chem C*, 2016, 120: 14410–14415
- 71 Zou X, Dai X, Liu K, Zhao H, Song D, Su H. *J Phys Chem B*, 2014, 118: 5864–5872
- 72 Rupp WD, Prusoff WH. *Nature*, 1964, 202: 1288–1290
- 73 Dewey WC, Sedita BA, Humphrey RM. *Science*, 1966, 152: 519–521
- 74 Sugiyama H, Tsutsumi Y, Saito I. *J Am Chem Soc*, 1990, 112: 6720–6721
- 75 Chen T, Cook GP, Koppisch AT, Greenberg MM. *J Am Chem Soc*, 2000, 122: 3861–3866
- 76 Watanabe T, Bando T, Xu Y, Tashiro R, Sugiyama H. *J Am Chem Soc*, 2005, 127: 44–45
- 77 Dai X, Song D, Liu K, Su H. *J Chem Phys*, 2017, 146: 025103
- 78 Blackburn EH. *Nature*, 1991, 350: 569–573
- 79 Neidle S, Parkinson GN. *Curr Opin Struct Biol*, 2003, 13: 275–283
- 80 Siddiqui-Jain A, Grand CL, Bearss DJ, Hurley LH. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 11593–11598
- 81 Yang D, Hurley LH. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, 2006, 25: 951–968
- 82 Collie GW, Parkinson GN. *Chem Soc Rev*, 2011, 40: 5867–5892
- 83 Biffi G, Tannahill D, McCafferty J, Balasubramanian S. *Nat Chem*, 2013, 5: 182–186
- 84 Hadjilias N, Sletten E. *Metal Complex-DNA Interactions*. Weinheim: Wiley, 2009
- 85 Song D, Yang W, Qin T, Wu L, Liu K, Su H. *J Phys Chem Lett*, 2014, 5: 2259–2266
- 86 Yao X, Song D, Qin T, Yang C, Yu Z, Li X, Liu K, Su H. *Sci Rep*, 2017, 7: 10951
- 87 Qin T, Liu K, Song D, Yang C, Su H. *Chem Asian J*, 2017, 12: 1578–1586
- 88 Choi J, Kim S, Tachikawa T, Fujitsuka M, Majima T. *J Am Chem Soc*, 2011, 133: 16146–16153



- 89 Dhakal S, Schonhoft JD, Koirala D, Yu Z, Basu S, Mao H. *J Am Chem Soc*, 2010, 132: 8991–8997  
90 Yang B, Rodgers MT. *J Am Chem Soc*, 2014, 136: 282–290

## Photochemical reaction dynamics studies of nucleic acids

Chunfan Yang<sup>1</sup>, Kunhui Liu<sup>1</sup>, Hongmei Zhao<sup>2</sup>, Di Song<sup>2</sup>, Hongmei Su<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> College of Chemistry, Beijing Normal University, Beijing 100875, China

<sup>2</sup> Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China

\*Corresponding author (email: [hongmei@bnu.edu.cn](mailto:hongmei@bnu.edu.cn))

**Abstract:** Nucleic acids are the most important biomolecules, which function to express, store and transmit genetic information. The major radiation damages to the living things are essentially relative to the physical and chemical reactions of nucleic acids. Therefore, interests in photochemical reaction dynamics of nucleic acids have been intensified in recent years with the development of powerful experimental and computational techniques, boosting a challenging and promising subfield of chemical reaction dynamics interdisciplinary with molecular biology. In this context, we have made great efforts in developing the transient spectroscopic methods, particularly time-resolved infrared, to investigate the excited state and free radical reaction dynamics involved in the photochemical reactions of nucleic acid bases and DNA secondary structures (duplex, quadruplex etc.). By capturing the fast chemical events of these key short-lived transient species and combining quantum chemical calculations, we revealed the reaction mechanisms of [2+2] photocycloaddition, spore photoproduct (SP) photolysis, electron transfer, proton transfer, photosensitization, ROS oxidation, and photocleavage that are closely associated with the crosslink or oxidative DNA damages. The key roles of non-adiabatic surface intersections, excited state electronic structure property, conformation of secondary structure, base-pairing,  $\pi$ -stacking, and hydrogen-bonding in affecting the photochemical reaction pathways are elucidated. Our results provided important chemical insights to understand the DNA damage at the molecular and quantum state specific levels. This review mainly summarizes the recent progress made by our groups and the related work in literatures.

**Keywords:** time-resolved infrared spectroscopy, DNA damage, excited state, free radical, G-quadruplex

doi: [10.1360/N032017-00160](https://doi.org/10.1360/N032017-00160)