

同步辐射真空紫外圆二色谱技术在 DNA 结构研究中的应用

周培培^{1,2} 王丽华² 柳华杰² 樊春海^{1,2}

¹ (温州医科大学 温州 325035)

² (中国科学院上海应用物理研究所 嘉定园区 上海 201800)

摘要 圆二色谱(Circular dichroism, CD)技术是 DNA 结构研究的有力工具之一。目前,一般的 CD 光谱仪只可获得 190 nm 波长以上的 CD 信号,并且在 190–220 nm 波长范围内因受到空气、溶剂、缓冲液及盐离子浓度等的影响而噪音很大,并无太大的实用价值。同步辐射圆二色谱技术(Synchrotron radiation circular dichroism, SRCD)的发展,使得在真空紫外(Vacuum ultraviolet, VUV)区获得 DNA 结构的 CD 信号成为可能,目前已成为研究 DNA 结构的一种新的有力手段。本文首先介绍了 SRCD 技术的原理和特点,尤其是在 DNA 结构研究中的优势,然后概述了 DNA 的结构及影响 CD 信号的因素,最后以几种典型的 DNA 结构为例分析了它们的 SRCD 特征图谱。

关键词 圆二色谱, DNA 结构, 同步辐射, 真空紫外

中图分类号 TL929

DOI: 10.11889/j.1000-3436.2015.rj.33.030101

近半个世纪以来,圆二色谱(CD)技术在生物、化学、材料等领域取得了广泛的应用^[1-7]。同时,CD 技术是获得电子跃迁信息强有力的工具,适用于阐明 DNA 的电子结构。这种光谱技术已经有效地用于化学、生物化学和结构生物学领域长达 40 a。先进的实验装置可在 170–200 nm 的波长范围内记录圆二色谱,但由于空气、溶剂、缓冲液、盐离子及吸收池等在真空紫外区的强烈吸收导致光子通量微弱,这仍然是一个亟待解决的难题^[8]。同步辐射光源的发展使得真空紫外/紫外圆二色技术能够更加方便有效地用于 DNA 结构的研究,进一步提高了光谱的信噪比^[9]。SRCD(Synchrotron radiation circular dichroism)技术就是利用同步辐射光源来检测物质的圆二色性,相对于传统的圆二色技术(cCD),SRCD 具有许多无法比拟的优势,如更短波长截止限,更高的信息量等,Johnson 等^[10]对此做了总结。

DNA 片段从核苷酸、单链到大的聚合物如 G-quadruplexes 等,在紫外区都具有圆二色信号。然而传统的 CD 光谱仪只能获得 190 nm 波长以上的 CD 信号,并且在 190 nm 波段附近噪音非常大。因此,在实际测量中, DNA 的测试波段一般在 220 nm

以上,但往往最大的吸收带处于真空紫外区域^[11]。理论模拟也指出, DNA 在 200 nm 波长以下时的 CD 信号带往往更强,即真空紫外区(VUV)的 CD 信号更有意义。为了克服以上难题,一种有效的解决手段是依赖于同步辐射(SR)光源,以提供更高的电子通量。

同步辐射光源由于具有从远红外到 X 光范围内的连续光谱、高强度、高准直度、高极化度等优异性能,因此与普通以氙灯为光源的光谱仪相比,具有两个明显的优势:(1)极大地降低了噪音水平,使数据采集速度加快,并能探测到微弱的样品信号;(2)使在广谱范围内采集信号成为可能,例如对于 CD 信号,解决了 170–200 nm 波长范围内光子通量太低而普通 CD 光谱仪难以检测的问题。随着同步辐射光源技术的发展,近年来已出现一些利用 SRCD 技术对糖、蛋白质和 DNA 在 VUV 区的 CD 光谱进行的工作^[12-14],记录和分析了蛋白质的圆二色谱,并建立了大量的数据库^[15-16]。同样,对 DNA 的研究也获得了许多成果。

DNA 单链和双链中碱基之间的电子耦合在光生物学中具有至关重要的作用,已经引起了理论和

基金资助: 国家自然科学基金项目(21473236)资助

第一作者: 周培培, 女, 1987 年 1 月出生, 2010 年毕业于安徽医科大学, 临床医学专业, 现为温州医科大学和中国科学院上海应用物理研究所联合培养硕士研究生, E-mail: anhupei@163.com

通讯作者: 柳华杰, 博士, 副研究员, E-mail: liuhuajie@sinap.ac.cn

收稿日期: 初稿 2015-03-24; 修回 2015-05-11

实验研究的关注。SRCD 谱尤其适用于研究 DNA 链内碱基之间的电子耦合的程度,也就是激发态电子波函数的电子移位程度。而波函数的空间扩展可能仅仅局限于一个碱基、二个碱基或者更多的碱基堆积,也可能是不同 DNA 链之间的碱基^[17]。电子激发态的实际特性是与碱基组成和碱基序列相关的,不同的 DNA 结构(A-、B-、Z-DNA、triplexes、quadruplexes 等)其电子激发态的特性不同,其 SRCD 谱也不相同。而 DNA 的结构则取决于实验条件,如溶液的酸碱度、温度、离子强度及溶剂等。

1 DNA 结构概述及影响 CD 信号的因素

DNA 是多个脱氧核苷酸的聚合物,每个核苷酸由一个脱氧核糖(戊糖)、一个磷酸、和一个含氮碱基共 3 部分组成。不同的核苷酸之间的区别在于碱基不同,有腺嘌呤(A)、胸腺嘧啶(T)、鸟嘌呤(G)和胞嘧啶(C)4 种碱基,其中 A 与 T、G 与 C 之间可形成特殊的碱基配对关系。因此,两条 DNA 的单链靠碱基对之间的氢键能够反向结合在一起,形成双链。在不同的环境中,DNA 双链可有不同的构象,比较常见的有 A 型、B 型及 Z 型 DNA 双链,如图 1 所示。

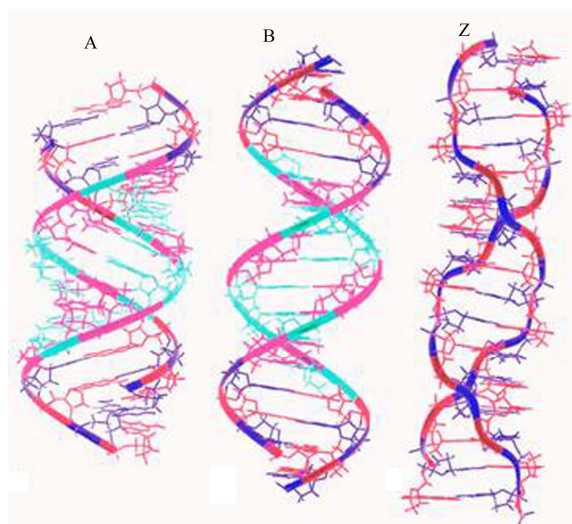


图 1 A-、B-、Z-DNA 的结构^[18]
Fig.1 The structure of A, B, and Z-DNA^[18]

绝大多数情况下,两条互补DNA单链都会像麻花一样结合成清一色的右手双螺旋结构,即 B-DNA。其中亲水的磷酸与核糖作为骨架在外,疏水的含氮碱基两两配对在内,碱基平面与螺旋轴垂直。成对碱基在形成氢键时,由于存在一定角度(而非直接相对),造成螺旋整体有大沟小沟之分。此外,当DNA链存在一些特殊序列或存在于一些特殊环

境中时,还可能形成A-T、G-C之外的特殊碱基配对形式。例如,DNA双链与另一高嘧啶DNA单链共存时,可形成T(A-T)、C(C-G)等配对形式,该高嘧啶DNA单链结合在双链的大沟内,形成DNA三链。此外,富含C碱基的序列在酸性环境中可存在特殊的C⁺-C配对,形成称之为i-motif^[19-21]的DNA四链结构;而富含G碱基的序列在一些金属离子存在下可形成G-G-G-G配对,形成G-quadruplex^[22-24]四链结构,如图2所示。

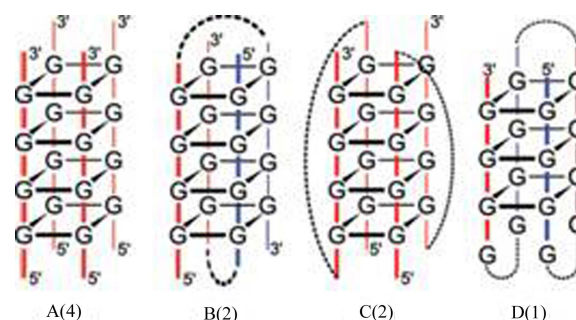


图 2 不同 G-quadruplex 结构: 链的方向由 5'-3',括号里的数字是指每个结构中单链的个数^[25]
Fig.2 Different G-quadruplex structures with strand direction 5'-3': the number in parentheses is the number of individual strands in the complex^[25]

以上这些众多的 DNA 二级结构,都是由于 A、T、G、C 4 种碱基的不同排列组合造成序列不同而形成的,这四种碱基本身并无手性,因此并无 CD 信号,但当与核糖连接后,由于核糖具有手性,在 DNA 结构中产生了手性环境,进而使 DNA 具有了 CD 信号。理论及实验结果表明,不同的 DNA 结构具有特定的 CD 光谱,而影响因素大致有以下几个方面:(1)DNA 序列不同,由于序列不同可能导致不同的空间拓扑结构及碱基堆积;(2)DNA 所处环境往往会造成不同的碱基配对,也可影响 DNA 的整体结构;(3)DNA 链长的改变往往不会改变整体结构,而只会造成 CD 信号的强度变化。

2 不同 DNA 结构的 SRCD 光谱

2.1 一些简单单链 DNA 的 SRCD 光谱

2.1.1 纯 A 序列

Holm 等^[26]研究了 poly(dA)_n 序列的 SRCD 光谱,如图 3 所示。他们在 VUV 区发现了两个新的特征带,即 190 nm 的正性带和 178 nm 的负性带,并且发现单 A 碱基与双 A 序列(dA)₂ 的 SRCD 图谱差异较大,同时,碱基数目的继续增加只影响 CD 的信号强度,并不产生新的条带。由此他们得出结

论, 纯 A 序列的 SRCD 信号来源于 A 碱基之间的堆积。进一步研究发现, 当 $(dA)_n$ 序列中的 $n \geq 2$ 时, 在 MUV 区的两个特征谱带 251 nm 和 218 nm 的强度增加呈线性变化; 然而 VUV 区 190 nm 的正性带区域, 只有当 $n \geq 8$ 时, 其 SRCD 信号强度才呈线性增加。由此计算可知 $(dA)_2$ 堆积造成的贡献只占 24%, 因此 VUV 区存在较长的非线性增长区间。这也与之前 Sutherland^[27] 的研究相吻合。这些工作都充分体现了 SRCD 的一个优势, 即该信息只存在于 VUV 区内, 普通的 CD 光谱是检测不到的。

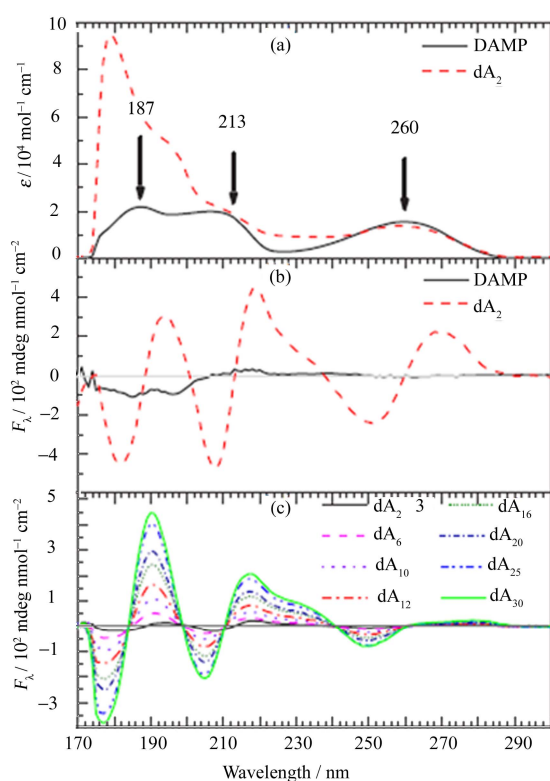


图3 dAMP 和 dA_2 中每个酸碱基 A 的吸收(a); dAMP 和 dA_2 的 CD 光谱(b); dA_n 的 CD 光谱(c)^[26]
Fig.3 Absorption per nucleobase of dAMP and dA_2 (a); CD spectra of dAMP and dA_2 (b); CD spectra of dA_n (c)^[26]

2.1.2 纯 T 序列

Sutherland 等^[27] 研究了 $\text{poly}(dT)_n$ 序列的 SRCD 光谱, 在 185 nm 处发现了一个新的特征带。但与纯 A 序列结果不同的是, 当 $n \geq 2$ 时, 该特征带的信号强度增加即呈线性变化, 因此多个 T 之间的碱基堆积贡献可能很小, 在 VUV 区内仍无法检测到。

2.2 双链 DNA 的 SRCD 研究

除了由单一碱基组成的单链序列, 一些双链 DNA 的 SRCD 光谱也已获得^[11,28]。Sprecher 等^[29]

首次对不同序列的 B-、A-DNA 的 SRCD 图谱做了研究, 他们发现这两种 DNA 结构在 VUV 区的图谱并不相同。在此基础上, Sutherland 等^[2, 11] 研究了 A-、B-、Z 型 DNA 双链的 SRCD 光谱, 并根据 VUV 区的特征谱带, 对每种 DNA 双链中 C-G 与 A-T 两种碱基对的贡献比例分别做了研究, 结果发现 C-G 配对对 SRCD 信号的贡献要远大于 A-T 配对。Sutherland 等也测试了左手螺旋的 Z-DNA 在真空紫外区的特征谱带, 发现和上述两种结构相反, 如图 4 所示。Z-DNA 在 195 nm 附近有一个强的负性带, 180 nm 以下有一正性带, 而前者则被认为是 Z-DNA 的特征谱带。此外, Gray 等^[30] 分别研究了一些特定序列的 DNA 双链, 也获得了类似的结果。这些结果都表明, DNA 双链结构在 VUV 区的特征谱带能够反映 DNA 螺旋结构的手性, 即左手或者是右手螺旋。另外, 与 MUV 区的特征谱带相比, DNA 双链结构在 VUV 区的特征谱带强度大概增加了 10 倍以上。因此, 通过 SRCD 技术研究 VUV 区的 CD 信号是分辨 DNA 双链结构的有力工具。

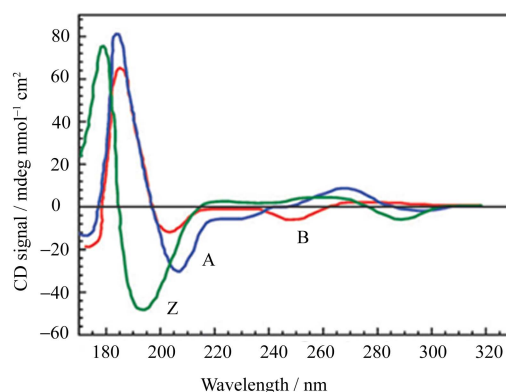


图4 A-、B-、Z-DNA 的 SRCD 图谱^[28]
Fig.4 SRCD spectra of A-, B-, Z-DNA^[28]

2.3 三链 DNA 的 SRCD 研究

图 5 显示了 DNA 的 T-A-T 三链结构^[25], 其在 VUV 区的 SRCD 图谱如图 6 所示^[27]。从图 6 中我们可以明显地看出, T-A-T 三链结构 DNA 的图谱形状和双链 DNA 的完全不同, 这是因为此三链 DNA 结构是在同型嘌呤和同型嘧啶形成的双链 DNA 的基础上利用嘌呤链上多余的质子受体和供体与一条额外的嘧啶链形成 Hoogsteen 键而得到的一种新的 DNA 二级结构, 与常规的 Watson-Crick 配对的结构不同。

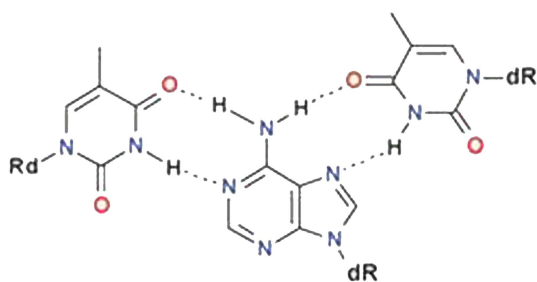


图5 dT: dA: dT 三链结构示意图^[25]
Fig.5 The binding in a dT: dA: dT triplex^[25]

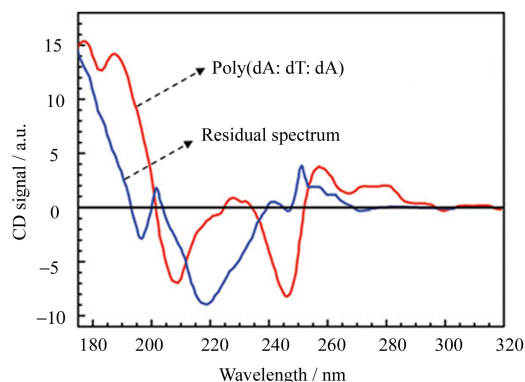


图6 三链poly(dT: dA: dT)的CD图谱, 残留图谱是三链结构图谱减去双链结构图谱^[27]

Fig.6 Spectrum of the triplex poly(dT:dA:dT). The residual spectrum is the triplex spectrum minus the duplex spectrum^[27]

2.4 四链 DNA 结构的 SRCD 研究

2.4.1 G-quadruplex 结构

富含 G 的序列可在一定条件下形成 G-quadruplex 四链结构, 并且随着序列与环境的不同, G-quadruplex 可形成不同的构象, 此方面的 CD 光谱研究一直是一个难点。Nilsen 等^[31]检测了 poly(dG) n 的 SRCD 光谱, 见图 7。他们发现, 当 $n \geq 4$ 时, 可形成全平行式的 G-quadruplex 结构^[32-33], 这包括 260–265 nm 的正性带、240–245 nm 的负性带、210 nm 的强的正性带, 此外还有两条新的 VUV 带, 即小的 195 nm 的正性带及较强的 182 nm 的负性带。同时, 他们还发现, 随着 n 的增大并未出现新的带。这表明这种序列只能形成一种 G-quadruplex 结构。但是, 当 $n=1, 2$ 时, CD 光谱相同, 表明其都是以单碱基形式存在的; 而 $n=3$ 时, 处于单碱基与 G-quadruplex 的过渡状态。此外, 在纯 G 序列中加入若干个 T 碱基, 例如 (dG) $_4$ (dT) n (dG) $_4$ 序列, SRCD 谱图会随着 n 的变化发生明显改变, 这表明 n 的数值决定了该序列形成何种 G-quadruplex 结构。这些工作充分反映了 SRCD 技术在 DNA 结构研究上的高灵敏度。

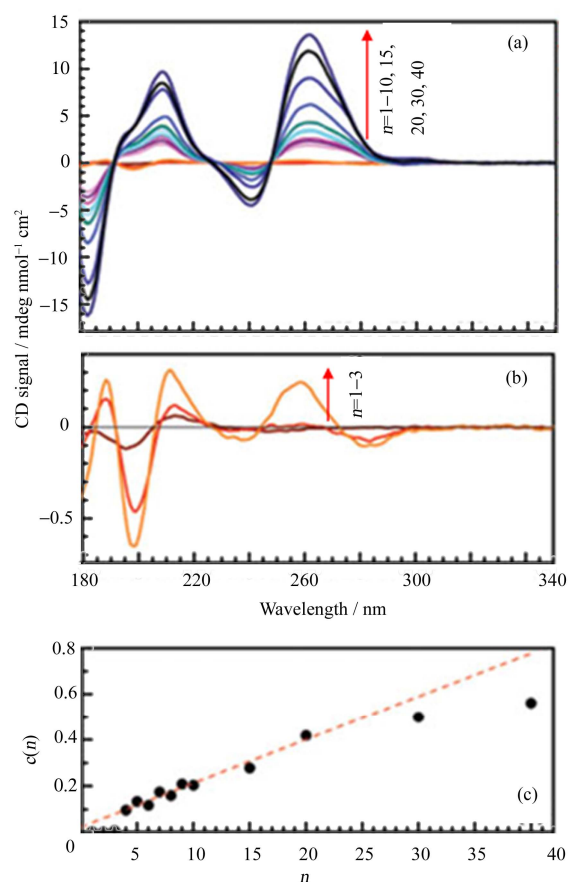


图7 (a) d(G) n , $n=1-10, 15, 20, 30, 40$ 的 CD 图谱; (b) 当 $n \leq 3$ 时的 CD 图谱 (c) 根据链长 n 计算的换算系数
当 $n=4-20$ 时是一个常数值^[31]
Fig.7 (a) CD spectra for d(G) n , $n=1-10, 15, 20, 30, 40$; (b) Spectra for $n \leq 3$, again signal per strand. (c) The scaling factor as a function of strand length, n . The line is a fit to a line with intercept at zero constant value for $n = 4$ to 20 ^[31]

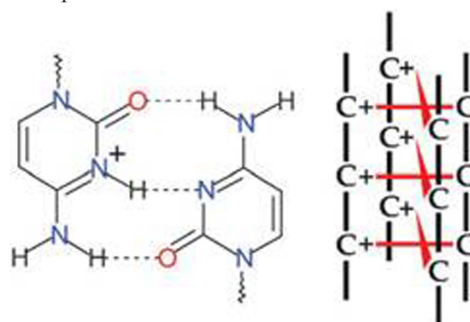


图8 C⁺-C 碱基配对及 i-motif 结构
后者一半的 C 被质子化^[34]

Fig.8 Hemiprotonated cytosine base pair and the i-motif, where half the bases are protonated^[34]

2.4.2 i-motif 结构

重复的胞嘧啶, 即 C 碱基, 可形成 C 片层, 而 C 片层结构的不同高度依赖于溶液的 pH 值: 在中性或者是偏碱性条件下, poly(dC) n 可通过碱基堆积或者是有序的骨架形成单链结构; 在酸性条件下, 其中的一个 C 在 N3 位被质子化, 可形成特殊的

C⁺-C 配对, 进而形成特殊的 i-motif 四链结构, 如图 8 所示, 这是以往 CD 研究的重点。

因此, 不同 pH 值条件下及不同链长 (即 n 值不同) 的 C 片层都会显示不同的 SRCD 光谱^[34]。图 9 为 (dC) n ($n=1-10$) 在 pH 值分别为 1、3、7、9 下的 SRCD 光谱, 从图 9 中可以看出, 当 pH=1 时, 所有的 SRCD 条带形状都相似, 即在 288 nm 的正性带、217 nm 的负性带、197 nm 的正性带, 随着链长的增加, 只是条带强度发生了变化, 并未出现新的带, 这就说明在此条件下, 所有的 C 碱基均被质子化, 碱基之间的库伦斥力很强, 碱基之间并无电子耦合, 是纯粹的单链结构, 无法形成 i-motif 结构; 当 pH=3, $n \leq 5$ 时, 各带无大的差异; 但当 n 从 5 变到 6 时, SRCD 谱图发生了重大变化, 在 266 nm 出

现了一个强的负性带, 这就说明有一半的 C 碱基被质子化了, 碱基之间存在电子耦合, 形成了 i-motif 结构; 当 pH=7 时亦是如此, 即在 $n \geq 6$ 时, 在 266 nm 出现的强的负性带提示 i-motif 结构的形成, 所不同的是当 n 在 5 以下时, 情况较为复杂, 其并不是完全质子化了的碱基, 但也不是 i-motif 结构, 可能是一条单链的所有中性碱基的混合, 即 i-motif 结构和其他的结构; 当 pH=9 时, SRCD 光谱发生了重大变化, 与其他的 3 种 pH 值条件下的光谱都大相径庭, 288 nm 的正性带和 266 nm 的负性带均消失了, 取而代之是宽的 227 nm 的正性带和高幅度的 202 nm 的正性带。这说明在高碱性条件下, (dC) n 形成的结构只是碱基堆积形成的单链, 并不能形成 i-motif 结构。

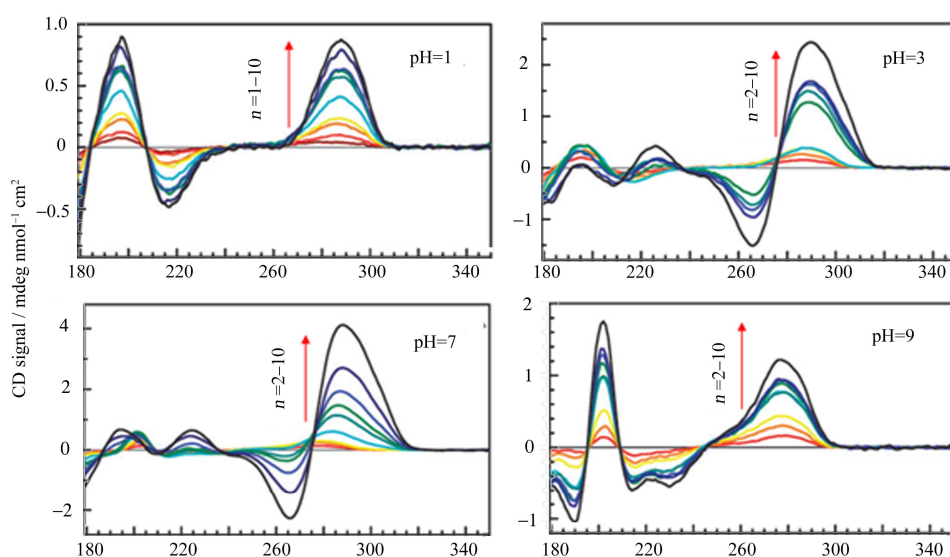


图 9 (dC) n , $n=1-10$ 分别在 PH 值为 1, 3, 7, 9 下的 SRCD 光谱分析^[34]
Fig.9 SRCD spectra of (dC) n at pH 1, 3, 7, 9^[34]

3 结论与展望

目前, 利用 SRCD 技术对 DNA 结构研究仍处于起步阶段, 主要原因首先可能是 SRCD 技术本身仍不够普及, 因此目前只有数个研究组可以利用该技术。其次, 目前对 DNA 结构研究的关注度远低于对蛋白质结构研究, 这可能使长期以来大多数人只知道 DNA 具有双链结构, 而忽视了对 DNA 的其它结构的研究。但是, 我们也发现, 近年来对功能 DNA 纳米结构的关注度正在持续上升, 例如对核酸适配体^[35]的研究表明, 这一类核酸将可能代替蛋白质的生物功能, 为人们提供了一种新的生物调控机

制。然而, 核酸适配体的功能源自其独特的三维结构, 而目前并无有效的方法对其结构进行研究。因此, SRCD 技术有望在此方面发挥强大作用。此外, 研究亦表明许多不同的 DNA 结构在 MUV 区的紫外吸收光谱非常类似, 而在 VUV 区则具有独特的 SRCD 图谱。因此, SRCD 技术为 DNA 的结构检测提供了强有力的工具。

参考文献

- 1 Baase W A, Johnson W C. Circular-Dichroism and DNA Secondary Structure [J]. Biophysical Journal, 1979, 25(2):

- A3-A3.
- 2 Sutherland J C, Griffin K P, Keck P C, *et al.* Z-DNA-Vacuum ultraviolet circular-dichroism [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America-Biological Sciences, 1981, **78**(8): 4801-4804.
- 3 Gray D M, Ratliff R L, Vaughan M R. Circular dichroism spectroscopy of DNA [J]. Methods in Enzymology, 1992, **211**: 389-406.
- 4 Bishop G R, Chaires J B. Characterization of DNA structures by circular dichroism [M]. Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry, 2003, Chapter 7: Unit 11.
- 5 Paramasivan S, Rujan I, Bolton P H. Circular dichroism of quadruplex DNAs: applications to structure, cation effects and ligand binding [J]. Methods, 2007, **43**(4): 324-331.
- 6 Kypr J, Kejnovska I, Renciuik D, *et al.* Circular dichroism and conformational polymorphism of DNA [J]. Nucleic Acids Research, 2009, **37**(6): 1713-25.
- 7 Miles A J, Hoffmann S V, Tao Y, *et al.* Synchrotron radiation circular dichroism (SRCD) spectroscopy: New beamlines and new applications in biology [J]. Spectroscopy-an International Journal, 2007, **21**(5-6): 245-255.
- 8 Wallace B A. Synchrotron radiation circular-dichroism spectroscopy as a tool for investigating protein structures [J]. Journal of Synchrotron Radiation, 2000, **7**(Pt 5): 289-295.
- 9 Jones G R, Clarke D T. Applications of extended ultra-violet circular dichroism spectroscopy in biology and medicine [J]. Faraday Discussions, 2004, **126**: 223.
- 10 Johnson C W. Circular Dichroism Spectroscopy and the Vacuum Ultraviolet Region [J]. Annual Review of Physical Chemistry, 1978, **29**(1): 93-114.
- 11 Sutherland J C, Lin B, Mugavero J A, *et al.* Vacuum ultraviolet circular dichroism of double stranded nucleic acids [J]. Photochemistry and Photobiology, 1986, **44**(3): 295-301.
- 12 程兵兵, 刘洪林, 张国斌, 等. hPRS1 蛋白酶的同步辐射真空紫外圆二色光谱研究[J]. 核技术, 2008, **31**(3): 161-164.
CHENG Bingbing, LIU Honglin, ZHANG Guobin, *et al.* Structural study of human phosphoribosylpyrophosphate synthetase (hPRS1) by SRCD spectroscopy [J]. Nuclear Techniques, 2008, **31**(3): 161-164.
- 13 张智印, 陶冶. 同步辐射圆二色谱及其在糖生物学及生物分子中的应用[J]. 生命科学, 2011(7): 714-722.
- ZHANG Zhiyin, TAO Ye. Synchrotron radiation circular dichroism spectroscopy and its application in glycobiology and biomolecules [J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2011(7): 714-722.
- 14 魏慧芳, 汪冰, 高迪, 等. 同步辐射圆二色谱法研究 Fe₃O₄ 纳米颗粒对细胞色素 C 结构的影响[J]. 核技术, 2012, **35**(7): 491-494.
WEI Huifang, WANG Bing, GAO Di, *et al.* Effects of Fe₃O₄ nanoparticles on secondary structure of cytochrome c by synchrotron radiation circular dichroism spectroscopy [J]. Nuclear Techniques, 2012, **35**(7): 491-494.
- 15 Wallace B A, Whitmore L, Janes R W. The Protein Circular Dichroism Data Bank (PCDDDB): a bioinformatics and spectroscopic resource[J]. Proteins, 2006, **62**(1): 1-3.
- 16 Whitmore L, Janes R W, Wallace B A. Protein circular dichroism data bank (PCDDDB): data bank and website design [J]. Chirality, 2006, **18**(6): 426-429.
- 17 Munksgaard Nielsen L, Holm A I, Varsano D, *et al.* Fingerprints of bonding motifs in DNA duplexes of adenine and thymine revealed from circular dichroism: synchrotron radiation experiments and TDDFT calculations [J]. Journal of Physical Chemistry B, 2009, **113**(28): 9614- 9619.
- 18 Bansal M. DNA structure: Revisiting the Watson-Crick double helix [J]. Current Science, 2003, **85**(11): 1556-1563.
- 19 Dong Y C, Yang Z Q, Liu D S. DNA Nanotechnology Based on i-Motif Structures[J]. Accounts of Chemical Research, 2014, **47**(6): 1853-1860.
- 20 Day H A, Pavlou P, Waller Z A E. i-Motif DNA: Structure, stability and targeting with ligands [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2014, **22**(16): 4407-4418.
- 21 Gehring K, Leroy J L, Gueron M. A tetrameric DNA structure with protonated cytosine.cytosine base pairs [J]. Nature, 1993, **363**(6429): 561-5.
- 22 Lam E Y N, Beraldi D, Tannahill D, *et al.* G-quadruplex structures are stable and detectable in human genomic DNA [J]. Nature Communications, 2013(4): 1796.
- 23 Biffi G, Tannahill D, Mccafferty J, *et al.* Quantitative visualization of DNA G-quadruplex structures in human cells [J]. Nature Chemistry, 2013, **5**(3): 182-186.
- 24 Qin Y, Hurley L H. Structures, folding patterns, and functions of intramolecular DNA G-quadruplexes found in eukaryotic promoter regions [J]. Biochimie, 2008,

- 90(8): 1149-1171.
- 25 Holm A I, Nielsen L M, Hoffmann S V, *et al.* Vacuum-ultraviolet circular dichroism spectroscopy of DNA: a valuable tool to elucidate topology and electronic coupling in DNA [J]. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2010, **12**(33): 9581-9596.
- 26 Kadhane U, Holm A I S, Hoffmann S V, *et al.* Strong coupling between adenine nucleobases in DNA single strands revealed by circular dichroism using synchrotron radiation [J]. *Physical Review E*, 2008, **77**(2): 021901.
- 27 Johnson K H, Gray D M, Sutherland J C. Vacuum UV CD spectra of homopolymer duplexes and triplexes containing A.T or A.U base pairs [J]. *Nucleic Acids Research*, 1991, **19**(9): 2275-2280.
- 28 Riazance J H, Baase W A, Johnson W C, *et al.* Evidence for Z-form RNA by vacuum UV circular dichroism [J]. *Nucleic Acids Research*, 1985, **13**(13): 4983-4989.
- 29 Sprecher C A, Baase W A, Johnson W C, Jr. Conformation and circular dichroism of DNA [J]. *Biopolymers*, 1979, **18**(4): 1009-1019.
- 30 Gray D M, Johnson K H, Vaughan M R, *et al.* The vacuum UV CD bands of repeating DNA sequences are dependent on sequence and conformation [J]. *Biopolymers*, 1990, **29**(2): 317-323.
- 31 Holm A I, Kohler B, Hoffmann S V, *et al.* Synchrotron radiation circular dichroism of various G-quadruplex structures [J]. *Biopolymers*, 2010, **93**(5): 429-433.
- 32 Jin R, Gaffney B L, Wang C, *et al.* Thermodynamics and structure of a DNA tetraplex: a spectroscopic and calorimetric study of the tetramolecular complexes of d(TG3T) and d(TG3T2G3T) [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1992, **89**(18): 8832-8836.
- 33 Gray D M. A circular dichroism study of poly dG, poly dC, and poly dG:dC [J]. *Biopolymers*, 1974, **13**(10): 2087-2102.
- 34 Holm A I S, Nielsen L M, Kohler B, *et al.* Electronic coupling between cytosine bases in DNA single strands and i-motifs revealed from synchrotron radiation circular dichroism experiments [J]. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2010, **12**(14): 3426.
- 35 Keefe A D, Pai S, Ellington A. Aptamers as therapeutics [J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2010, **9**(7): 537-550.

Application of synchrotron radiation vacuum ultraviolet circular dichroism spectroscopy in the DNA structure research

ZHOU Peipei^{1,2} WANG Lihua² LIU Huajie² FAN Chunhai^{1,2}

¹(Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China)

²(Jiading campus, Shanghai Institute of Applied Physics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800, China)

ABSTRACT Circular dichroism (CD) spectroscopy is one of the powerful tools for DNA structure research. Currently, the general CD spectrometer can only obtain the CD signal with wavelength above 190 nm, and the noise is very high with the wavelength range of 190–220 nm because of the influences from the air, the solvents, and the salt ion concentration of the buffer, *etc.*, making it have not much practical value. The development of the synchrotron radiation circular dichroism (SRCD) makes it possible to obtain the CD signal of the DNA structure in the region of the vacuum ultraviolet (VUV). And now it becomes a new powerful tool for studying the DNA structure. This work firstly introduces the principle and features of SRCD technique, especially its advantages in the DNA structure research. Then the DNA structures and the factors affecting the CD signal are also reviewed. Finally, some typical DNA structures are taken as samples to analyze their SRCD spectrum.

KEYWORDS Circular dichroism, DNA structure, Synchrotron radiation, Vacuum ultraviolet

CLC TL929