

Wie bewegen sich Ladungen durch DNA? – Ein Zwischenbericht**

Mark W. Grinstaff*

Die biologische Aufgabe der Desoxyribonucleinsäure (DNA) ist es, genetische Informationen zu speichern und zu codieren. Dieses einzigartige Biopolymer hat die Struktur einer Doppelhelix mit einer großen und einer kleinen Furche. Ein aromatischer Kern mit π - π -Wechselwirkungen durchzieht die Struktur, in dem die Basen der Pyrimidin-Desoxynucleotide (Thymin, T; Cytidin, C) und der Purin-Desoxynucleotide (Adenosin, A; Guanosin, G) Watson-Crick-Paarungen eingehen (A:T; C:G). Die Frage, wie geladene Teilchen in der DNA über kurze oder lange Entfernungen transportiert werden, wird – obwohl bereits in den sechziger Jahren erstmals gestellt^[1, 2] – immer noch diskutiert.^[3–8] Weltweit bemühen sich Forschungsgruppen intensiv, die breite Streuung zu erklären, die bei den Geschwindigkeiten des Elektronentransfers beobachtet wird (Mikrosekunden bis Picosekunden), und wohldefinierte chemische Systeme für weitere Untersuchungen zu entwickeln.

Strahlung, Carcinogene und Stoffwechselabfallprodukte können die DNA schädigen. Werden solche Schäden nicht durch die normalen zellulären Mechanismen behoben, können sie zu Mutationen und Krebsentstehung führen – mit schwerwiegenden Folgen für die Gesundheit.^[9–17] Es zeigte sich, daß viele dieser Schäden das Ergebnis selektiver Radikalreaktionen mit Guaninbasen sind; das paßt zur relativen Leichtigkeit, mit der Guanin im Vergleich zu Adenin, Cytosin und Thymin oxidiert wird.^[18–23] Eine Untersuchung des Elektronentransfers und der Bewegung von Radikalkationen in der DNA sowie die Identifizierung der Faktoren, die die Geschwindigkeiten dieser Prozesse bestimmen, könnten neben wertvollen Informationen für das Verständnis von DNA-Schädigungen in vivo auch Aufschluß über den Mechanismus des Ladungstransfers durch verschiedene Medien geben. Ein besseres Verständnis des DNA-vermittelten Elektronentransfers könnte zur Entwicklung neuer diagnostischer Werkzeuge für das Screening von Nucleinsäuren, Proteinen oder Carcinogenen führen.

[*] Prof. M. W. Grinstaff
Department of Chemistry, Paul M. Gross Chemical Laboratory
Duke University, Durham, NC 27708 (USA)
Fax: (+1) 919-660-1605
E-mail: mwg@chem.duke.edu

[**] Der Autor dankt den Professoren Barton, Diederichsen, Giese, Gray, Harriman, Jortner, Lewis, Netzel, Schuster, Tanaka und Zewail für Sonderdrucke ihrer Arbeiten und hilfreiche Diskussionen zu diesem Artikel.

Obwohl in den letzten fünf Jahren erhebliche Fortschritte bei der Untersuchung des Ladungstransports in DNA gemacht worden sind,^[7, 24–26] bleiben viele Fragen noch ungeklärt. Aktuelle Untersuchungen beschäftigen sich mit den vielfältigen Faktoren, die diesen Prozeß beeinflussen, beispielsweise die Oligonucleotidsequenz, die Basenpaarung, die π -Stapelung und die Doppelstrangstruktur, aber auch der Abstand zwischen Donor und Acceptor, die Markierungsstelle und die Dynamik. Beim Elektronentransfer in Proteinen sind die Faktoren, die die Geschwindigkeit der Elektronenübertragung steuern, besser bekannt;^[27–30] dagegen ist unser Verständnis des Ladungstransports in DNA begrenzt, weil es weniger experimentelle und theoretische Untersuchungen dazu gibt. Trotzdem lassen sich viele experimentelle Techniken, die zur Erforschung des Protein-vermittelten Elektronentransfers entwickelt wurden, und die aus den dabei gewonnenen Erkenntnissen abgeleiteten Konzepte für die Untersuchung des Elektronentransfers in der DNA nutzen. Ein Ansatz zur Untersuchung des Ladungstransfers in der DNA umfaßt drei Schritte: 1) Markierung der DNA mit Redoxsonden durch Intercalation und/oder kovalente Verknüpfung, 2) photo- oder elektrochemisches Auslösen der Ladungsübertragung und 3) spektroskopischer, elektrochemischer oder biochemischer Nachweis der Transportprozesse. Mit Hilfe dieser Werkzeuge werden Experimente durchgeführt, die zum besseren Verständnis der Dynamik des DNA-vermittelten Elektronentransfers und der Rolle von Ladungsübertragungen bei der Schädigung und Reparatur von DNA beitragen sollen.^[31]

Diederichsen beschrieb 1997 in seinem Highlight-Artikel „Ladungstransport in DNA: eine Kontroverse“ die Grenzen und Möglichkeiten der ersten Experimente zum Elektronentransfer in der DNA.^[3] Die Elektronentransferdaten aus diesen Experimenten sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Organische und anorganische Intercalatoren kamen erstmals bei der Untersuchung des Elektronentransfers in DNA zum Einsatz;^[32–35] der Informationsgewinn aus diesen Experimenten ist allerdings begrenzt, weil keine genauen Messungen des Abstandes zwischen Donor und Acceptor gemacht wurden und die Möglichkeit der paarweisen Bindung von Donor-Acceptor-Komplexen nicht in Erwägung gezogen wurde.^[36–39] Den nächsten Fortschritt ermöglichten kovalent fixierte Donor- und Acceptor-Intercalatoren. Zwischen zwei kovalent mit der DNA verknüpften Ruthenium- und Rhodium-Inter-

Tabelle 1. Ergebnisse von Untersuchungen zum DNA-vermittelten Elektronentransfer.

Donor und Acceptor	kovalent gebunden	d [Å] ^[a]	β	k_{ET} [s ⁻¹]	Arbeitsgruppe	Jahr
angeknüpfte Ru ^{II} - und Rh ^{III} -Intercalatoren	ja	> 40	0.2	10 ⁹	Barton ^[40]	1993
Ru ^{II} - und Rh ^{III} -Intercalatoren	nein	–	0.2	10 ¹⁰	Barton ^[35]	1996
angeknüpfte E- und Rh ^{III} -Intercalatoren	ja	17–36	–	10 ¹⁰	Barton ^[52]	1997
A ₂ , A _e und G, Z	ja	3.4–10.2	0.1–1.0	10 ⁹ –10 ¹⁰	Barton ^[54]	1999
Daunomycin und Au-Elektrode	ja	10–35	–	10 ²	Barton/Hill ^[57]	1999
E-Intercalator und Z	ja	10–17	–	10 ¹²	Barton/Zewail ^[53]	1999
E und MV ²⁺	nein	–	–	10 ⁵	Fromherz ^[32]	1986
E und MV ²⁺ , AO und DAP ²⁺	nein	10–17	1.0	10 ⁸	Harriman ^[34, 51]	1992, 1999
Stilbendicarboxamid und Guanin	ja	4–18	0.64	10 ⁸ –10 ¹²	Lewis ^[41]	1997
Naphthalin und A	ja	–	–	10 ⁹	Lewis ^[56]	1999
Ru ^{II} - und Ru ^{III} -Ribose-Komplexe	ja	27	1.0–1.5	10 ⁶	Meade ^[43]	1995
intercaliertes Acridin und Guanin	ja	3–10	1.4	10 ⁵ –10 ¹⁰	Tanaka ^[42, 55]	1998

[a] d = Abstand zwischen Donor und Acceptor.

calatoren, $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ und $[\text{Rh}(\text{phen})(\text{phi})_2]^{3+}$ (phen = 1,10-Phenanthrolin, dppz = Dipyrido[2,3-*a*:2',3'-*c*]-phenazin, phi = 9,10-Phenanthrenchinondiimin), die mehr als 40 Å voneinander entfernt waren, wurde ein schneller Elektronentransfer beobachtet; die untere Geschwindigkeitsgrenze liegt für diese Elektronenübertragung bei 10⁹ s⁻¹. Der Einfluß des Mediums auf diesen Elektronentransfer ist gering; der Faktor β , der ein Maß für die Fähigkeit des Mediums ist, den Elektronentransfer zu erleichtern, beträgt 0.2 Å⁻¹.^[40] In einer anderen Studie wurde der Fluorophor Stilben an eine DNA-Haarnadelschleife gebunden und die Geschwindigkeit des Elektronentransfers in Abhängigkeit vom Abstand zu 10⁸–10¹² s⁻¹ (β = 0.64 Å⁻¹) bestimmt.^[41] Für den entfernungsabhängigen Elektronentransfer zwischen einem intercalierten Acridin und Guanin wurden Geschwindigkeiten zwischen 10⁵ und 10¹⁰ s⁻¹ (β = 1.4 Å⁻¹) angegeben.^[42] Eine vergleichsweise langsame Elektronenübertragung (10⁶ s⁻¹) wurde für zwei Rutheniumkomplexe gemessen, die die Riboseeinheiten eines DNA-Doppelstrangs modifizieren.^[43] Weitere Einzelheiten zu diesen Elektronentransfer-Untersuchungen findet der interessierte Leser in den angegebenen Originalveröffentlichungen sowie in verschiedenen Kommentaren^[5, 6, 8, 26, 44–47] und theoretischen Studien.^[48, 49]

Eine theoretische Analyse^[50] der in jüngerer Zeit veröffentlichten Arbeiten zur DNA-vermittelten Ladungsübertragung vermittelt Einsichten in die Mechanismen der Ladungsübertragung (Hopping oder Superaustausch)^[49, 50] und stellt auch die Grundlage für die Diskussion der nachfolgend zusammengefaßten Reaktionen dar (Tabellen 1–4). Ein wichtiger Gesichtspunkt sind dabei die unterschiedlichen Energieniveaus von Ladungsübertragungs-Donoren und -Acceptoren, weshalb diese nach verschiedenen Mechanismen reagieren.^[50] Die relativen Energieverhältnisse von Donor und

Acceptor im Vergleich zur DNA-Brücke bestimmen ob 1) ein einstufiger Superaustausch-Mechanismus durchlaufen wird (für den eine exponentielle Abnahme der Übertragungsgeschwindigkeit mit dem Abstand charakteristisch ist) oder 2) ein Hopping-Mechanismus (charakterisiert durch eine schwache Abhängigkeit der Übertragungsgeschwindigkeit von der Entfernung). Zu einem Superaustausch kommt es im Falle eines positiven Energieabstandes zwischen dem niedrigsten elektronischen Zustand des angeregten Donors (D*) und der Vielzahl der Schwingungszustände der DNA-Brücke. Der Loch-Hopping-Mechanismus dagegen wird durchlaufen, wenn sich der niedrigste Schwingungszustand elektronischen Ursprungs von D* in Resonanz mit den vielen Schwingungszuständen der DNA befindet, diese Schwingungszustände sind dann stark entartet. Die Geschwindigkeit des Hopping wird über die Energie der vielen Ionenpaar-Zustände in der DNA gesteuert.

Im diesem Highlight-Artikel werden zuerst Messungen von Elektronenübertragungen in DNA zwischen diskreten Donoren und Acceptoren vorgestellt; es folgt eine Diskussion von photochemisch induzierter Guanin-Oxidation und Radikalkationenübertragung. Gegenstand der ersten Studie ist die DNA-vermittelte Elektronenübertragung zwischen intercaliertem Ethidium (E) und Methylviologen (MV²⁺; Tabelle 3, Nr. 1), das elektrostatisch an DNA gebunden ist.^[51] Dabei löscht MV²⁺ die Fluoreszenz von photochemisch angeregtem Ethidium. Detaillierte stationäre und zeitaufgelöste Fluoreszenzmessungen vom Löschen der Ethidium-Fluoreszenz als Funktion der MV²⁺-Konzentration und der Reaktionstemperatur liefern eine Reorganisationsenergie λ von 0.66 eV und einen β -Wert von 1.0 Å⁻¹ (k_{ET} = 10⁶–10⁹ s⁻¹). Bei beiden untersuchten Löschern, MV²⁺ und *N,N'*-Dimethyl-2,9-diazapyrenium (DAP²⁺), nimmt die Geschwindigkeit des Elektronentransfers mit dem Abstand drastisch ab. Die Werte für λ und β ähneln denen, die zuvor für den Protein-vermittelten Elektronentransfer und das Tunneln von Elektronen bestimmt wurden. Zum ersten Mal wurde λ für eine DNA-vermittelte Elektronenübertragung bestimmt. Das macht deutlich, wie wichtig weitere Untersuchungen mit angeknüpften Intercalatoren und kovalent gebundenen Donor-Acceptor-Systemen sind.

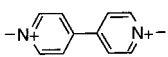
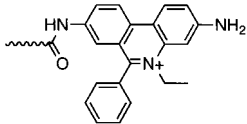
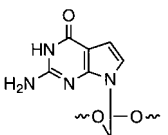
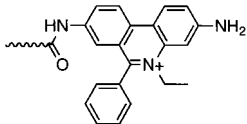
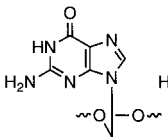
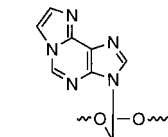
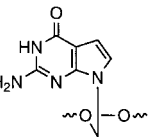
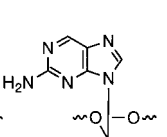
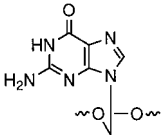
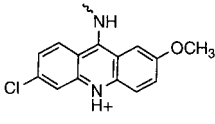
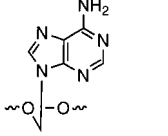
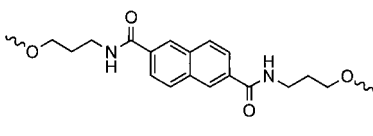
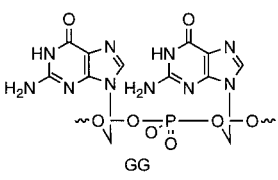
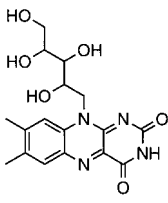
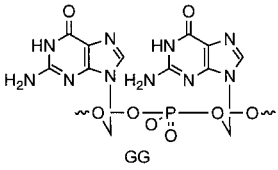
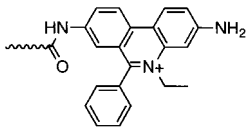
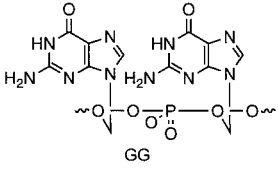
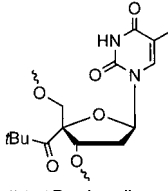
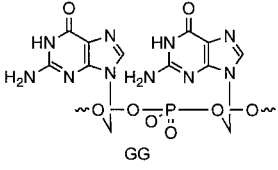
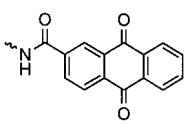
Bei einem angeknüpften und intercalierten Donor und Acceptor an jeweils einem Ende eines DNA-Doppelstrangs

Tabelle 2. Ergebnisse von Untersuchungen zur Wanderung von Radikalkationen entlang der DNA.

Donor und Acceptor	d [Å] ^[a]	Arbeitsgruppe
angeknüpfte Rh- und Ru-Intercalatoren und GG	10–200	Barton ^[65–68]
E und GG	17, 44	Barton ^[69]
acyliertes A oder G und GGG	7–54	Giese ^[59, 71, 72]
Riboflavin und GG, GGG	–	Saito ^[64]
angeknüpftes Anthrachinon und GG	10–200	Schuster ^[60, 61, 73, 74]

[a] d = Abstand zwischen Donor und Acceptor.

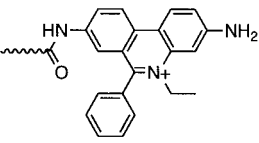
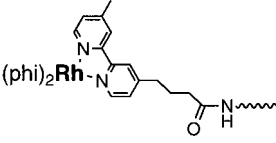
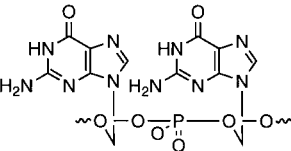
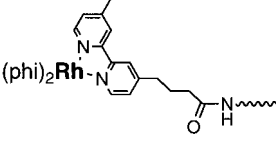
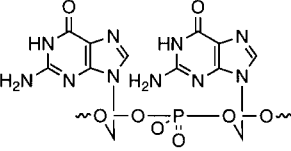
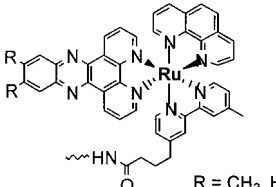
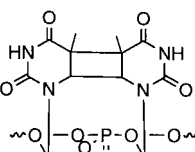
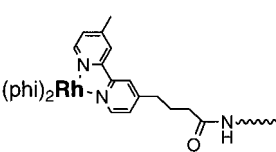
Tabelle 3. In neueren Untersuchungen verwendete organische Donoren und Acceptoren.

Nr.	Donor	Acceptor	Lit.
1	 Methylviologen, MV ²⁺	 Ethidium, E	[34, 51]
2	 Deazaguanin, Z	 Ethidium, E	[53]
3	 Guanin, G	 1, N6-Ethenoadenin, Ae	[54]
	 Deazaguanin, Z	 2-Aminopurin, A ₂	
4	 Guanin, G	 Acridin	[42, 55]
5	 Adenosin, A	 Naphthalindicarboxamid	[56]
6	 GG	 Riboflavin	[64]
7	 GG	 Ethidium, E	[69]
8	 GG	 4'- <i>tert</i> -Butyl-acyliertes Thymidin	[71, 72]
9	 GG	 Anthrachinon, AQ	[73, 74]

wird eine deutlich andere Geschwindigkeit und Abstandsabhängigkeit des Elektronentransfers gefunden. Bei dieser Studie des DNA-vermittelten Elektronentransfers überträgt der Ethidium-Donor nach photochemischer Anregung ein Elektron auf den [Rh(phi)₂(bpy)]³⁺-Acceptor (bpy = 2,2'-Bipyridyl; Tabelle 4, Nr. 1; $k_{ET} = 10^{10} \text{ s}^{-1}$).^[52] Die systematische Veränderung des Abstands zwischen Ethidium und Rh^{III} von 17 auf 36 Å verändert die Löschung der Ethidium-Fluoreszenz kaum, wohl aber Änderungen der Basensequenz. So führt der Einbau einer Cytosin-Adenin-Fehlpaarung in den modifizierten Doppelstrang beispielsweise zu einer drastisch verringerten Fähigkeit des Rh^{III}-Zentrums, die Ethidium-Fluoreszenz zu löschen. Diese Ergebnisse unterstreichen, wie wichtig eine wohldefinierte Doppelstrangstruktur für einen leichten Elektronentransfer ist.

In einer kürzlich erschienenen Veröffentlichung wird eine Elektronenübertragung zwischen einem intercalierten und angeknüpften Acceptor und einer Nucleobase als Donor beschrieben, die nur Femtosekunden dauert.^[53] Der Acceptor, Ethidium, ist am 5'-Ende eines DNA-Doppelstranges angeknüpft; der Elektronendonator, Deazaguanin (Z), befindet sich in unterschiedlichen Positionen des Oligonucleotids und ist 10–17 Å vom Ethidium entfernt (Tabelle 3, Nr. 2). Die direkte Messung dieses ultraschnellen Elektronentransfers in DNA gelang bei dieser Untersuchung mit Hilfe von Übergangsabsorptions- und Fluorescence-upconversion-Experimenten. Die Fluoreszenz von photochemisch angeregtem intercaliertem Ethidium wird innerhalb von etwa 5 ps durch Z gelöscht. Diese schnelle Elektronenübertragung ist der erste Schritt zur Bildung der DNA-Brücke bei einem Hopping-Mechanismus. Es gibt auch eine zweite, langsamere Komponente; sie wird der Bewegung des intercalierten Ethidiums in der DNA zugeschrieben. Diese Molekülbewegung spiegelt die Notwendigkeit der Präorganisation wider – das Ethidium muß sich ausrichten, damit die Elektronenübertragung stattfinden kann. Die Geschwindigkeit der Elektronenübertragung wird durch den Abstand kaum beeinflusst; nur das Ausmaß der Löschung der Ethidium-Fluoreszenz variiert. Diese Ergebnisse lassen wichtige Schlußfolgerungen zu: Die Dynamik der DNA-Basen könnte die Elektronenübertragung steuern; demnach wäre β nicht der beste Parameter, um den DNA-vermittelten Elektronentransfer zu beschreiben.

Tabelle 4. In neueren Untersuchungen verwendete anorganische Donoren und Acceptoren.

Nr.	Donor	Acceptor	Lit.
1	 Ethidium, E	 [Rh(phi) ₂ (bpy)] ³⁺	[52]
2	 GG	 [Rh(phi) ₂ (bpy)] ³⁺	[65–68]
3	 GG	 [Ru(bpy)(phen)(dppz)] ³⁺ R = CH ₃ , H	[65–68]
4	 Thymin-Dimer	 [Rh(phi) ₂ (bpy)] ³⁺	[31]

Die Ergebnisse der oben beschriebenen Experimente sind sehr unterschiedlich, je nachdem, ob die Ethidiumeinheit in den Elektronentransfersystemen angeknüpft ist oder nicht. Beim ersten beschriebenen System (intercaliertes Ethidium und oberflächengebundenes MV²⁺; Tabelle 3, Nr. 1) weist die Geschwindigkeit der Elektronenübertragung für kurze Entfernungen (3–17 Å) eine deutliche Abstandsabhängigkeit auf. Dennoch erfolgt auch die Elektronenübertragung zwischen kovalent angeknüpftem Ethidium und einem Rhodium(III)-Komplex über größere Entfernungen schnell (Tabelle 4, Nr. 1). Die Geschwindigkeiten des Elektronentransfers werden dabei kaum vom Abstand beeinflusst (17–36 Å), wohl aber von der Oligonucleotidsequenz. Ist diese Diskrepanz auf Unterschiede in der Dynamik des Elektronentransfers, in der Platzierung von Donor und Acceptor oder in der Oligonucleotidsequenz/-struktur zurückzuführen? Nur weitere Experimente können helfen, diese offensichtliche Diskrepanz zu erklären und die Faktoren zu bestimmen, die die Geschwindigkeit der Elektronenübertragung steuern.

Weiteren Aufschluß über den Einfluß der Oligonucleotidstruktur auf die Geschwindigkeit der Elektronenübertragung liefern Messungen mit fluoreszierenden Analoga von Adenin (2-Aminopurin (A₂) und 1,N⁶-Ethenoadenin (A_e)) als Acceptoren und Guanin (G) sowie Deazaguanin (Z) als

Donoren (Tabelle 3, Nr. 3).^[54] In diesem System enthält ein Oligonucleotidstrang der Doppelhelix sowohl den Donor (G oder Z) als auch den Acceptor (A₂ oder A_e); der Abstand zwischen beiden beträgt 3,4, 6,8 bzw. 10,2 Å. Steady-state-Emissions- und zeitabhängige Einzelphotonen-Experimente zeigen, daß das Löschen der Fluoreszenz von G durch A_e in der Größenordnung von 10⁹ s⁻¹ ($\beta = 1.0 \text{ Å}^{-1}$) erfolgt. Das Löschen von G durch A₂ ist sogar noch schneller ($> 10^{10} \text{ s}^{-1}$), und β liegt nahe bei 0,1 Å⁻¹. Obwohl die energetischen Verhältnisse dieser beiden Elektronentransferreaktionen ähnlich sind, sind die Übertragungsgeschwindigkeiten und die β -Werte verschieden. Strukturuntersuchungen von Oligonucleotiden, die A₂ und A_e enthalten, zeigen, daß A₂ an einer normalen Watson-Crick-Basenpaarung beteiligt ist; das sterisch anspruchsvolle A_e hingegen nimmt eine Konformation ein, bei der die Stapelung schlecht ist. Diese Befunde belegen, daß strukturelle Änderungen im Basenstapel die Geschwindigkeit der Elektronenübertragung beeinflussen.

In einer kürzlich veröffentlichten Arbeit wird der abstandsabhängige Elektronentransfer zwischen einem photochemisch angeregten Acridin und Guanin beschrieben (Tabelle 3, Nr. 4).^[55] Ein 2-Methoxyacridin-Derivat ersetzt eine Nucleobase in einem Oligonucleotid. Das angeregte Acridin wird durch ein benachbartes Guanin gelöscht. Die Geschwindigkeitskonstanten für die Elektronenübertragung in dieser Richtung liegen zwischen 10⁵ und 10¹⁰ s⁻¹ bei einer Vergrößerung des Abstandes von 3 auf 10 Å. Der β -Wert von 1,47 Å⁻¹ paßt zu einem früher veröffentlichten Wert, der aus statischen Fluoreszenzmessungen stammt.^[42] Es gibt beim DNA-vermittelten Elektronentransfer keine Richtungsanisotropie; die Geschwindigkeiten der Elektronenübertragung sind in 5'- und in 3'-Richtung gleich.

Diese Befunde passen auch zum Mechanismus eines Superaustausches zwischen Acridin und Guanin.

Ähnlich wie bei einer früheren Arbeit über Stilbendicarboxamid-Haarnadeln,^[41] bei denen die Elektronenübertragung wahrscheinlich über einen Superaustausch-Mechanismus erfolgt, kann ein eingebautes Naphthalin dazu benutzt werden, den DNA-vermittelten Elektronentransfer in einigen neuen DNA-Haarnadelstrukturen zu untersuchen.^[56] Das Naphthalin dient als Brückenkopf in diesen Haarnadeln, die mit einem automatischen DNA-Synthesizer hergestellt werden. Das angeregte Naphthalin in der Haarnadel wird rasch durch ein benachbartes Adenosin (A) gelöscht, die Geschwindigkeitskonstante beträgt 10⁹ s⁻¹ (Tabelle 3, Nr. 5).

Jüngst wurde der Elektronentransfer in wohldefinierten, an Goldelektroden gebundenen DNA-Doppelsträngen beschrieben.^[57] Im Unterschied zum photoinduzierten Elektronentransfer kann mit dieser Anordnung die Elektronenübertragung im Grundzustand charakterisiert werden. In den DNA-Doppelsträngen wird ein bestimmtes Guanin gegen Daunomycin ausgetauscht und dann der Grundzustands-Elektronentransfer zwischen der redoxaktiven Chinoneinheit von Daunomycin und der Goldelektrode untersucht. Die aus den elektrochemischen Daten berechnete Geschwindigkeit der Elektronenübertragung ist relativ gering (10² s⁻¹) und unab-

hängig vom Abstand zwischen den Redoxpartnern. Drastisch sind die Auswirkungen auf die Geschwindigkeit des Elektronentransfers durch eine einzige, dazwischenliegende Basenfehlpaarung: Diese „unterbricht“ die Elektronenübertragung zur Goldelektrode. Die Tatsache, daß die Reaktion zwar durch die Basenstapelung, nicht aber durch den Abstand beeinflusst wird, läßt vermuten, daß nicht der Elektronentransfer durch den π -Stapel, sondern das Tunneln der Elektronen durch den σ -Linker zur Goldelektrode geschwindigkeitsbestimmend ist.

Bei einem neuen experimentellen Ansatz zur Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit von DNA verwendet man ein LEEPS-Mikroskop (LEEPS = low-energy electron point source).^[58] Im Ultrahochvakuum wird der elektrische Strom der DNA-Fasern direkt als Funktion des angelegten Potentials gemessen. Widerstandswerte, die aus diesen Messungen bestimmt wurden, sind mit denen von leitfähigen Polymeren vergleichbar. Interessanterweise werden diese Messungen über sehr große Entfernungen hinweg gemacht (600 nm oder mehr); bei photochemisch induzierten Versuchen werden die Geschwindigkeiten des Elektronentransfers typischerweise über Entfernungen von weniger als 5 nm hinweg gemessen. Auch diese Ergebnisse stützen die Hypothese, daß sich Ladungen in der DNA über weite Strecken bewegen können.

Die bei der Elektronenübertragung in DNA gemessenen Geschwindigkeiten sind bemerkenswert unterschiedlich, wie oben zusammengefaßt und in früheren Berichten beschrieben wurde (vgl. Tabelle 1). Haben nichtintercalierte Donoren und Acceptoren Kontakt zum π -Stapel der DNA? Steuert der Linker zwischen Donor oder Acceptor und DNA die Geschwindigkeit? Sind die Geschwindigkeitsunterschiede eine Folge von unterschiedlichen Reaktionsmechanismen? In welchem Ausmaß beeinflussen lokale Mikrostrukturen des Doppelstrangs (Sequenz) die Geschwindigkeit der Elektronenübertragung? Ist die vorher in einigen Systemen beobachtete starke Abhängigkeit vom Abstand auf die Doppelstrangstruktur oder auf die energetischen Verhältnisse zurückzuführen? Es sind weitere Untersuchungen notwendig, um zwischen dem Einfluß von Donor- und Acceptor-Position und dem der DNA-Mikrostruktur auf die Geschwindigkeit des Elektronentransfers zu unterscheiden. Die Fähigkeit der DNA, weitreichenden Elektronentransfer zu erleichtern oder zu unterbinden, ist im Hinblick auf den Mechanismus der oxidativen Schädigung der DNA von Interesse.

Oxidative Schäden in der DNA sind von größter Bedeutung. Eine Möglichkeit zur Untersuchung dieses biologisch relevanten Prozesses könnte zu einem besseren Verständnis von DNA-Schäden *in vivo* beitragen. Die Oxidation von Guanin in DNA kann charakterisiert werden, weil photochemisch erzeugte Auslöser diese Ladungsübertragung initiieren können. Bei diesen Experimenten wird ein Loch-Hopping- (oder Phononen-unterstützter Polaron-) Mechanismus vorgeschlagen, bei dem sich das photochemisch erzeugte Radikalkation (d. h. das Loch) schrittweise von einer Stelle niedriger Energie in der DNA zu einer anderen bewegt.^[4, 50, 59–63] Dieser Mechanismus ist in Einklang mit den Energien von Donor und Acceptor, die mit den Energieniveaus der dazwischenliegenden DNA-Brücke vergleichbar sind. Weil die Energie des Radikalkations für G (im Vergleich zu A, C und T) am

niedrigsten ist, wird das Radikalkation an einem G lokalisiert sein, während es von einem G zum nächsten die DNA durchquert. Die Energie dieses Radikalkations ist nicht groß genug, um die Bildung eines Radikalkations einer der anderen Basen zu induzieren; deshalb muß es in einem Schritt zum nächsten G springen (ein kohärenter Superaustausch-Transfer). Die dazwischenliegende Sequenz und der Abstand zwischen den Guaninbasen beeinflusst die Geschwindigkeit der Elektronenübertragung. Bei diesem Szenario wandert ein Radikalkation über große Entfernungen in der DNA. Aktuelle Ab-initio-Berechnungen der Ionisierungspotentiale von Guanin in B-DNA-Doppelsträngen beweisen, daß sich die Sequenzen in Nachbarschaft zum Guanin auf dessen Ionisierungspotential auswirken.^[64] Deshalb eignen sich einige lokale DNA-Bereiche besser als andere dazu, die Wanderung des Radikalkations zu erleichtern.

Die experimentelle Bestätigung der oxidativen Fernschädigung von DNA erfordert den Einsatz von positionsspezifisch markierten Sonden mit wohldefinierter photochemischer Reaktivität. So oxidieren photoangeregte $\text{Rh}^{\text{III}}(*\text{Rh}^{\text{III}})$ - und Ru^{III} -Metallintercalatoren Guanin über Entfernungen von 60 Basenpaaren (200 Å).^[65–68] Nach Bestrahlung des intercalierten Metallkomplexes wird das oxidierte Guanin durch Gel-Elektrophorese in einem 5'-GG-3'-Abschnitt lokalisiert (Tabelle 4, Nr. 2 + 3). Bei beiden angeknüpften Metallintercalatoren ändert sich die Ausbeute an oxidiertem Guanin mit der Entfernung leicht. Außerdem beeinflusst die Sequenz die Wirksamkeit dieser Guanin-Oxidation. Beispielsweise sind 5'-TA-3'- im Vergleich zu 5'-AA-3'-Sequenzen besonders schlechte Leiter. Auch die Fähigkeit eines DNA-Protein-Komplexes, die lokale Mikrostruktur der DNA zu verändern, beeinflusst die Guanin-Oxidation durch den $*\text{Rh}^{\text{III}}$ -Komplex.^[69] Ein angeknüpfter Ethidium-Intercalator liefert ähnliche Ergebnisse, was beweist, daß die Oxidation von Guanin nicht auf Metallintercalatoren beschränkt ist.^[70] Zwei Befunde entsprechen den Ergebnissen früherer Untersuchungen zu Elektronenübertragungsreaktionen zwischen Metallintercalator-Komplexen: Eine offensichtliche starke Abhängigkeit vom Abstand fehlt bei diesen Oxidationsreaktionen; die Ladungstransferreaktionen sind von der Sequenz und der Unversehrtheit des π -Basenstapels abhängig.

Eine photochemisch ausgelöste Radikalkationen-Wanderung in DNA mit anschließender Guanin-Oxidation kann auch eintreten, wenn ein 4'-*tert*-Butyl-acyliertes Thymidin (Tabelle 3, Nr. 8) oder Guanin in die DNA eingebaut wird.^[4, 59, 71, 72] Bei der Photolyse erfolgt eine Norrish-I-Spaltung, durch die ein Radikalkation an einer Ribose eines DNA-Doppelstrangs gebildet wird. Dieses Radikalkation wandert dann zu einem Guanin des komplementären Stranges; durch die Bildung von $\text{G}^{+\bullet}$ wird die Trennung der DNA-Stränge ausgelöst. Das Radikalkation wird sowohl über kurze (7–17 Å) als auch über lange Distanzen (54 Å) transportiert; dabei ist die Wirksamkeit der Ladungsübertragung über 54 Å ähnlich der über 10 Å. Aus den relativen Intensitätsverhältnissen der gespaltenen Sequenzen (GGG/ $\text{G}^{+\bullet}$) werden die relativen Geschwindigkeitskonstanten berechnet. Für diese biologisch relevante Ladungsübertragungsreaktion wurde ein β -Wert von 0.7 Å^{-1} berechnet. Die Sequenz, die zwischen dem Radikalkation und den GGG-Einheiten liegt, beeinflusst

diesen Prozeß erheblich. Der Austausch von 5'-AT-3' gegen 5'-GC-3' erhöht die Spaltungsausbeute um zwei Größenordnungen. Diese Ergebnisse zeigen, daß ein Radikalkation in einem mehrstufigen Hopping-Prozeß über große Entfernungen transportiert werden kann.^[71]

In einer neueren Veröffentlichung wird beschrieben, wie über Nucleotide in Nachbarstellung zu Guanin dessen Reaktivität gegenüber Oxidationsschäden moduliert werden kann.^[64] Bei dieser Studie zur photochemisch induzierten Ein-Elektronen-Oxidation von Guanin nimmt ein nicht angeknüpftes Riboflavin ein Elektron vom Doppelstrang auf, der die Sequenz 5'-XGY-3' (X, Y = A, C, G und T; vgl. z. B. Tabelle 3, Nr. 6) enthält. Für die Wirksamkeit der GG-Spaltung gilt folgende Rangfolge: GGG > CGG > AGG = TGG > TGT, dabei ist Pyrimidin-G-Pyrimidin am wenigsten reaktiv. Rechnungen für die gleichen Sequenzen stützen das experimentelle Ergebnis; die Ionisierungspotentiale sind für Purin-G-Purin-Sequenzen niedriger (höchste oxidative Reaktivität) als für Pyrimidin-G-Pyrimidin-Sequenzen.

Auch in einem DNA-Doppelstrang mit angeknüpftem Anthrachinon (AQ; Tabelle 3, Nr. 9) und mit vier separaten GG-Blöcken ist ein Radikalkationentransport über große Entfernung (200 Å) zu beobachten.^[73] Die Bestrahlung des angeknüpften Anthrachinons löst den Elektronentransfer aus und führt zur Bildung des Anthrachinon-Radikalanions und des Guanin-Radikalkations.^[20, 73, 74] Die photochemisch ausgelöste Spaltung von DNA durch Radikalkationen erfolgt an GG-Stellen in Nachbarstellung zum angeknüpften AQ und auch davon entfernt. Bei der Oxidation von Guaninbasen, die zwischen AQ und den GG-Stellen liegen, ist die Abhängigkeit vom Abstand minimal. Zwischen dem Logarithmus der GG-Spaltungseffizienz und dem Abstand zwischen AQ und dem Radikalkation besteht ein linearer Zusammenhang; das zeigt, daß die dazwischenliegende Sequenz die Wanderung des Radikalkations nicht signifikant beeinflusst.

Die Radikalkationenwanderung zu Guanin erfolgt über große Entfernungen mit einem Intercalator, einer Phosphatgruppe am 5'-Ende und 4'-modifizierten Ribosen als Sonden. Dennoch ist die Ausbeute an oxidiertem Guanin nicht in allen Fällen die gleiche. Weitere Experimente müssen diesen Unterschieden Rechnung tragen und die Faktoren identifizieren, die diese Reaktion bestimmen. Darüber hinaus sind die Daten bezüglich des Einflusses der Sequenz auf die Geschwindigkeit des Ladungstransfers allem Anschein nach widersprüchlich. Zukünftige Untersuchungen müssen sich dieses Problems annehmen und die Effekte von verschiedenen Sequenzen und Basenfehlpaarungen auf den Radikalkationentransport quantitativ erfassen. Die biologische Bedeutung dieser weitreichenden Ladungsübertragung ist erheblich in bezug auf das Ausmaß, in dem ein Radikalkation entlang der DNA wandern und Oxidationsschäden auslösen kann.

Die aktuellen Systeme zur Untersuchung des Elektronentransfers und der Radikalkationenwanderung unterscheiden sich in: den jeweiligen Donoren und Acceptoren; der Triebkraft (ΔG^0) für den Elektronentransfer; den Energien von Donor und Acceptor im Vergleich zu der der DNA-Brücke; den Abständen zwischen Donor und Acceptor; der Art, wie Donor und Acceptor kovalent an den Oligonucleotid-Doppelstrang geknüpft (oder in ihn intercaliert) sind; den

Sequenzen und lokalen Mikrostrukturen des Doppelstrangs. Viele von diesen entscheidenden Fragen sind in diesem Beitrag angesprochen worden; andere Schlüsselpunkte jedoch sind zum Teil oder ganz unbeantwortet geblieben. Erstens ist die Zahl der neuen spektroskopischen oder elektrochemischen Sonden, die in der Literatur beschrieben worden sind, klein. Das gängige Repertoire an Sonden muß erweitert werden, um die Dynamik und Energetik des Ladungstransfers in DNA weiter zu erforschen.^[75–77] Zweitens fehlen ganz offensichtlich NMR-spektroskopische Untersuchungen in Lösung oder Kristallstrukturen von Oligonucleotid-Doppelsträngen, die Donor und Acceptor tragen. Die ersten Strukturinformationen stammen aus einer aktuellen NMR-spektroskopischen Untersuchung eines intercalierten Rh-Oligonucleotid-Modellsystems in Lösung.^[78] Drittens ist die Abhängigkeit der DNA-vermittelten Ladungsübertragung von ΔG^0 unbekannt. Viertens bleiben die elektronische Kopplungs- und Reorganisationsenergie für angeknüpfte Intercalatoren und kovalent gebundene Donoren und Acceptoren schwer erfaßbar. Wie schon beim Protein-vermittelten Elektronentransfer^[28] können diese Daten experimentell bestimmt werden, wenn die thermodynamischen Daten (ΔG^0 , ΔS^0 und ΔH^0) für die Ladungstransferreaktion bekannt sind. Die Geschwindigkeit der Ladungsübertragung zwischen Donoren und Acceptoren wird dabei als Funktion der Triebkraft und der Temperatur gemessen. Fünftens ist das Verständnis der Dynamik des Ladungstransfers entscheidend, und weitere Femtosekunden-Experimente an positionsspezifisch markierter DNA sind erforderlich, um das(die) erste(n) Ereignis(se) bei der DNA-vermittelten Ladungsübertragung zu erforschen. Sechstens ist die Zahl der theoretischen Untersuchungen begrenzt. Neue DNA-vermittelte Systeme müssen vorgeschlagen und experimentell untersucht werden.

Dieser Beitrag soll neue Ergebnisse kurz zusammenfassen, kritische Diskussionen anregen und wissenschaftliches Interesse wecken. Außerdem lädt er alle Wissenschaftler dazu ein, das aufregende Gebiet der DNA-vermittelten Ladungsübertragung zu erforschen.

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 3629–3635

Stichwörter: DNA-Oxidation • DNA-Reparatur • Elektronentransfer • Intercalierungen

- [1] D. D. Eley, D. I. Spivey, *Faraday Soc. Trans.* **1962**, 58, 411–415.
- [2] T. A. Hoffman, J. Ladik, *Adv. Chem. Phys.* **1964**, 7, 84–158.
- [3] U. Diederichsen, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 2411–2413; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, 2317–2319.
- [4] M. Ratner, *Nature* **1999**, 397, 480–481.
- [5] N. J. Turro, J. K. Barton, *J. Biol. Inorg. Chem.* **1998**, 3, 201–209.
- [6] E. K. Wilson, *Chem. Eng. News* **1997**, 75(8), 33–35.
- [7] T. L. Netzel in *Organic and Inorganic Photochemistry* (Hrsg.: V. Ramamurthy, K. S. Schanze), Marcel Dekker, New York, **1998**, S. 1–54.
- [8] G. Taubes, *Science* **1997**, 275, 1420–1421.
- [9] E. C. Friedberg, G. C. Walker, W. Seide, *DNA Repair and Mutagenesis*, ASM Press, Washington, DC, **1995**.
- [10] T. Melvin, S. W. Botchway, A. W. Parker, P. O'Neill, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 10031–10036.
- [11] P. O'Neill, E. M. Fielden, *Adv. Radiat. Biol.* **1993**, 17, 53–120.

- [12] J. Cadet, *DNA Adducts: Identification and Significance*, IARC, Lyon, France, **1994**.
- [13] B. Demple, L. Harrison, *Annu. Rev. Biochem.* **1994**, *63*, 915–948.
- [14] S. Loft, H. E. Poulsen, *J. Mol. Med.* **1996**, *74*, 297–312.
- [15] D. M. Close, *Radiat. Res.* **1993**, *135*, 1–15.
- [16] V. Michalik, *Int. J. Radiat. Biol.* **1992**, *62*, 9–20.
- [17] M. Bien, H. Steffen, D. Schulte-Frohlinde, *Mutat. Res.* **1988**, *194*, 193–205.
- [18] S. Steenken, S. V. Jovanovic, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 617–618.
- [19] I. Saito, M. Takayama, H. Sugiyama, K. Nakatani, A. Tsuchida, M. Yamamoto, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 6406–6407.
- [20] B. Armitage, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1171–1200.
- [21] C. A. M. Seidel, A. Schulz, M. H. M. Sauer, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 5541–5553.
- [22] H. Sugiyama, I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7063–7068.
- [23] F. Prat, K. N. Houk, C. S. Foote, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 845–846.
- [24] S. O. Kelley, J. K. Barton in *Metal Ions in Biological Systems*, Vol. 36 (Hrsg.: A. Sigel, H. Sigel), Marcel Dekker, New York, **1999**, S. 211–249.
- [25] R. E. Holmlin, P. J. Dandliker, J. K. Barton, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 2830–2848; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 2714–2730, zit. Lit.
- [26] T. L. Netzel, *J. Biol. Inorg. Chem.* **1998**, *3*, 210–214.
- [27] H. B. Gray, J. R. Winkler, *Annu. Rev. Biochem.* **1996**, *65*, 537–561.
- [28] J. R. Winkler, H. B. Gray, *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 369–379.
- [29] G. McLendon, *Acc. Chem. Res.* **1988**, *21*, 160–167.
- [30] S. S. Isied, A. Vassilian, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 1726–32.
- [31] P. J. Dandliker, R. E. Holmlin, J. K. Barton, *Science* **1997**, *275*, 1465–1468.
- [32] P. Fromherz, B. Rieger, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 5361–5362.
- [33] J. K. Barton, C. V. Kumar, N. J. Turro, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 6391–6393.
- [34] A. M. Brun, A. Harriman, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3656–3660.
- [35] M. R. Arkin, E. D. A. Stemp, R. E. Holmlin, J. K. Barton, A. Hörmann, E. J. C. Olson, P. F. Barbara, *Science* **1996**, *273*, 475–480.
- [36] P. Lincoln, E. Tuite, B. Nordén, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 1454–1455.
- [37] E. J. C. Olson, D. Hu, A. Hörmann, P. F. Barbara, *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 299–303.
- [38] S. J. Franklin, C. R. Treadway, J. K. Barton, *Inorg. Chem.* **1998**, *37*, 5198–5210.
- [39] E. K. Erkkila, T. D. Odom, J. K. Barton, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2777–2795.
- [40] C. J. Murphy, M. R. Arkin, Y. Jenkins, N. D. Ghatlia, S. H. Bossmann, N. J. Turro, J. K. Barton, *Science* **1993**, *262*, 1025–1029.
- [41] F. D. Lewis, R. Wu, Y. Zhang, R. L. Letsinger, S. R. Greenfield, M. R. Wasielewski, *Science* **1997**, *277*, 673–676.
- [42] K. Fukui, K. Tanaka, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 167–170; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 158–161.
- [43] T. J. Meade, J. F. Kayyem, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 358–360; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 352–354.
- [44] T. L. Netzel, *J. Chem. Educ.* **1997**, *74*, 646–651.
- [45] S. Priyadarshy, S. M. Risser, D. N. Bertan, *J. Biol. Inorg. Chem.* **1998**, *3*, 196–200.
- [46] F. D. Lewis, R. L. Letsinger, *J. Biol. Inorg. Chem.* **1998**, *3*, 215–221.
- [47] E. S. Krider, T. J. Meade, *J. Biol. Inorg. Chem.* **1998**, *3*, 222–225.
- [48] S. Priyadarshy, S. M. Risser, D. N. Beratan, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 17678–17682.
- [49] D. N. Beratan, S. Priyadarshy, S. M. Risser, *Chem. Biol.* **1997**, *4*, 3–8.
- [50] J. Jortner, M. Bixon, T. Langenbacher, M. E. Michel-Beyerle, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 12759–12765.
- [51] A. Harriman, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 996–1000; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 945–949.
- [52] S. O. Kelley, R. E. Holmlin, E. D. A. Stemp, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9861–9870.
- [53] C. Wan, T. Fiebig, S. O. Kelly, C. R. Treadway, J. K. Barton, A. H. Zewail, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 6014–6019.
- [54] S. O. Kelley, J. K. Barton, *Science* **1999**, *283*, 375–381.
- [55] K. Fukui, K. Tanaka, M. Fujitsuka, A. Watanabe, O. Ito, *J. Photochem. Photobiol. B* **1999**, *50*, 18–29.
- [56] F. D. Lewis, Y. Zhang, X. Liu, N. Xu, R. L. Letsinger, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 2570–2578.
- [57] S. O. Kelley, N. M. Jackson, M. G. Hill, J. K. Barton, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 991–996; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 941–944.
- [58] H. W. Fink, C. Schonenberger, *Nature* **1999**, *398*, 407–410.
- [59] E. Meggers, M. E. Michel-Beyerle, B. Giese, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 12950–12955.
- [60] S. M. Gasper, G. B. Schuster, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 12762–12771.
- [61] B. Armitage, D. Ly, T. Koch, H. Frydenlund, H. Orum, H. G. Batz, G. B. Schuster, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, *94*, 12320–12325.
- [62] Y. Razskazovskii, S. G. Swartz, J. M. Falcone, C. Taylor, M. D. Sevilla, *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 1460–1467.
- [63] D. Ly, Y. Kan, B. Armitage, G. B. Schuster, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 8747–8748.
- [64] I. Saito, T. Nakamura, K. Nakatani, Y. Yoshioka, K. Yamaguchi, H. Sugiyama, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 12686–12687.
- [65] M. E. Nunez, D. B. Hall, J. K. Barton, *Chem. Biol.* **1999**, *6*, 85–97.
- [66] D. B. Hall, R. E. Holmlin, J. K. Barton, *Nature* **1996**, *382*, 731–735.
- [67] D. B. Hall, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 5045–5046.
- [68] M. R. Arkin, E. D. A. Stemp, S. C. Pulver, J. K. Barton, *Chem. Biol.* **1997**, *4*, 389–400.
- [69] S. R. Rajski, S. Kumar, R. J. Roberts, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 5615–5616.
- [70] D. B. Hall, S. O. Kelly, J. K. Barton, *Biochemistry* **1998**, *37*, 15933–15940.
- [71] B. Giese, S. Wessely, M. Spormann, U. Lindermann, E. Meggers, M. E. Michel-Beyerle, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1050–1052; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 996–998.
- [72] E. Meggers, D. Kusch, M. Spichly, U. Wille, B. Giese, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 474–476; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 460–462.
- [73] D. T. Breslin, G. B. Schuster, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 2311–2319.
- [74] P. T. Henderson, D. Jones, G. Hampikian, Y. Kan, G. B. Schuster, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 8353–8358.
- [75] D. J. Hurley, Y. Tor, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 2194–2195.
- [76] S. I. Khan, A. E. Beilstein, M. W. Grinstaff, *Inorg. Chem.* **1999**, *38*, 418–419.
- [77] S. I. Khan, M. W. Grinstaff, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 4704–4705.
- [78] B. P. Hudson, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 6877–6888.