

dass die Bildung der beschriebenen Inseln nicht im Widerspruch zu den in früheren Arbeiten gefundenen lokalen  $\text{SiN}_4$ - und  $\text{BN}_3$ -Umgebungen als kurzreichweitiges Ordnungsmotiv auf der einen Seite und der atomaren Homogenität der Keramik bis hinunter in einen Längenbereich von 10 Å auf der anderen Seite steht.

Die hier vorgestellten Ergebnisse haben eine über die Strukturaufklärung eines spezifischen amorphen Netzes,  $\text{Si}_3\text{B}_3\text{N}_7$ , hinausgehende allgemeine Bedeutung, insbesondere in Bezug auf Versuche, solche Strukturen mehr oder weniger voraussetzungsfrei allein auf Grundlage der Zusammensetzung zu modellieren. Hierbei würden stets energetisch möglichst günstige Ensembles erhalten werden. Im Falle von  $\text{Si}_3\text{B}_3\text{N}_7$  wären dies sicherlich Lösungen, bei denen die Kationenpositionen so weit wie möglich alternierend von B und Si besetzt sind. Die Realität zeigt zumindest in dem hier vorgestellten Beispiel, dass dies nicht zutrifft. Es zeichnet sich ab, dass amorphe Netzstrukturen nur unter Berücksichtigung ihrer Entstehung realistisch mit theoretischen Methoden nachgebildet werden können.

### Experimentelles

Für die Festkörper-NMR-Messungen wurde ein Bruker-DSX400-NMR-Spektrometer mit einem 4-mm-Dreifachresonanzprobenkopf verwendet. Die Resonanzfrequenzen beim verwendeten Magnetfeld von 9.4 T betrugen 128.35 MHz für  $^{11}\text{B}$  und 79.46 MHz für  $^{29}\text{Si}$ . Alle MAS-Messungen wurden bei Raumtemperatur und einer Rotationsfrequenz von 10 kHz durchgeführt.

$^{29}\text{Si}$ -isotopenreines  $\text{Si}_3\text{B}_3\text{N}_7$  wurde aus isotopenmarkiertem [ $^{29}\text{Si}$ ]Trichlorsilylaminodichlorboran (TADB) hergestellt. Dazu wurde  $^{29}\text{SiCl}_4$ , das durch Erhitzen eines Gemisches aus elementarem  $^{29}\text{Si}$  und Blei(II)-chlorid bei 600 °C erhalten wurde, mit Hexamethyldisilazan (HMDS) im Verhältnis 1:1 zu Trichlortrimethyldisilazan (TTDS) umgesetzt. Durch Reaktion von TTDS mit  $\text{BCl}_3$  entstand die Zielverbindung TADB. Die Vernetzung erfolgte mit Ammoniak. Das als Nebenprodukt bei der Polymerisation entstehende Ammoniumchlorid wurde bei 500 °C durch Sublimation entfernt.

Eingegangen am 27. Dezember 1999 [Z14467]

- [1] a) M. Jansen, *Solid State Ionics* **1997**, 101–103, 1; b) H.-P. Baldus, M. Jansen, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 338–354; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, 328–343.
- [2] P. Baldus, M. Jansen, D. Sporn, *Science* **1999**, 285, 699–703.
- [3] G. Jeschke, M. Kroschel, M. Jansen, *J. Non-Cryst. Solids* **1999**, 260, 216–227.
- [4] D. Heinemann, W. Assenmacher, W. Mader, M. Kroschel, M. Jansen, *J. Mater. Res.* **1999**, 14, 3746–3753.
- [5] a) K. R. Carduner, C. S. Blackwell, W. B. Hammond, F. Reidinger, G. R. Hatfield, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 4676; b) A. H. Silver, P. J. Bray, *J. Chem. Phys.* **1960**, 32, 288; c) P. S. Marchetti, D. Kwon, W. R. Schmidt, L. V. Interrante, G. E. Maciel, *Chem. Mater.* **1991**, 3, 482.
- [6] a) T. Gullion, J. Schaefer, *J. Magn. Reson.* **1989**, 81, 196–200; b) T. Gullion, *Magn. Reson. Rev.* **1997**, 17, 83–131.
- [7] a) L. van Wüllen, B. Gee, L. Züchner, M. Bertmer, H. Eckert, *Ber. Bunsen Ges. Phys. Chem.* **1996**, 100, 1539–1549; b) L. van Wüllen, L. Züchner, W. Müller-Warmuth, H. Eckert, *Solid State NMR* **1996**, 6, 203–212.
- [8] a) A. Naito, K. Nishimura, S. Tuzi, H. Saito, *Chem. Phys. Lett.* **1994**, 229, 506–511; b) J. M. Goetz, J. Schaefer, *J. Magn. Reson.* **1997**, 117, 147–154; c) J. C. C. Chan, M. Bertmer, H. Eckert, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 5238–5248.
- [9] R. M. Hagemayer, U. Müller, C. J. Benmore, J. Neufeind, M. Jansen, *J. Mater. Chem.* **1999**, 9, 2865–2870.

## Tekto-RNA: eindimensionale Selbstanordnung durch tertiäre Wechselwirkungen\*\*

Luc Jaeger\* und Neocles B. Leontis\*


Die Pionierarbeiten von Seeman haben gezeigt, dass DNA zum Aufbau von Strukturen im Nanometerbereich verwendet werden kann.<sup>[1–3]</sup> Neuere Arbeiten haben diese Ideen auf den Aufbau nichtkovalent zusammengesetzter Komplexe unter Vermeidung kovalenter Verknüpfungen ausgedehnt.<sup>[4–6]</sup> Während RNA chemisch labiler ist als DNA, scheint sie einen größeren Bereich von Tertiärmotiven zu eröffnen,<sup>[7]</sup> die als modulare Einheiten für die Konstruktion supramolekularer Strukturen verwendet werden können.<sup>[8, 9]</sup> Der Begriff „RNA-Tektonik“ bezieht sich auf den modularen Charakter natürlicher RNA-Moleküle, deren Komplexe zerlegt und zu neuen nanometergroßen molekularen Objekte wieder zusammengefügt werden können. Die Verwendung von RNA bei der Erforschung neuer Prototypen für die chemische Selbstanordnung im Nanometerbereich wird erleichtert durch 1) ihre leichte sequenzspezifische Synthese (entweder mit matrizengesteuerten enzymatischen Methoden oder mit Methoden der Festphasenchemie), 2) die Möglichkeiten zum rationellen Design der Sekundär- und in immer stärkerem Maße auch der Tertiärstruktur,<sup>[9]</sup> 3) die hierarchische Faltung einzelner RNA-Moleküle<sup>[10]</sup> und 4) ihre Fähigkeit zur Beteiligung an hochspezifischen tertiären Wechselwirkungen.

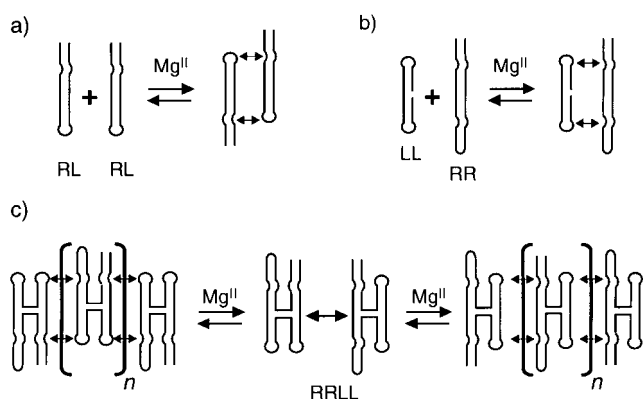
Wir berichten hier über das modulare Design und die Synthese von RNA-Molekülen, die selektiv dimerisieren und sich zu eindimensionalen Anordnungen organisieren können. Im Unterschied zur Assoziation durch Watson-Crick-Basenpaarungen erfolgt die Assoziation hier über spezifische tertiäre Wechselwirkungen unter Beteiligung von Haarnadel-Tetraschleifen und ihren Rezeptoren (Schema 1); dies wird durch Experimente zur Blei(II)-Spaltung und durch Motivaustausch-Experimente bestätigt.

Wir wählten den bekannten spezifischen, aus 11 Nucleotiden bestehenden Rezeptor für 5'-GAAA-3'-Tetraschleifen<sup>[11, 12]</sup> als primäre Einheit für die Vermittlung von spezi-

[\*] Dr. L. Jaeger  
Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire  
UPR 9002 du CNRS  
15 rue René Descartes, 67084 Strasbourg Cedex (Frankreich)  
Fax: (+33) 3-88-60-22-18  
E-mail: L.Jaeger@ibmc.u-strasbg.fr  
Prof. N. B. Leontis  
Chemistry Department  
Center for Biomolecular Sciences  
Bowling Green State University  
Bowling Green, OH 43403 (USA)  
Fax: (+1) 419-372-9809  
E-mail: leontis@bgnet.bgsu.edu

[\*\*] Diese Arbeit wurde in Strasbourg durchgeführt und wurde von den NIH (1R15GM55898) und vom NIH Fogarty Institute (1-F06-TW02251-01) (N.B.L.) sowie vom CNRS (L.J.) unterstützt. Die Autoren danken Prof. Eric Westhof, Strasbourg, für seine Unterstützung und Ermutigung.

 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.wiley-vch.de/home/angewandte/> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.



Schema 1. Unterschiedliche Möglichkeiten der Anordnung von TektRNA-Molekülen, die Haarnadel-Tetraschleifen (L) und Tetraschleifen-Rezeptoren (R) enthalten: a) Dimerisierung von RL-Molekülen; b) Assoziation von LL- und RR-Molekülen; c) eindimensionale Selbstanordnung von  $n+2$  RRL-Molekülen ( $n=0, 1, 2, \dots$ ), diese Selbstanordnung kann ausgehend von jedem der beiden möglichen Stapelisomere stattfinden.

fischen, hochaffinen intermolekularen RNA-Wechselwirkungen. Wir entwarfen zunächst das selbstdimerisierende Molekül **1** (RL-GAAA; Abbildung 1 a). Alle RNA-Verbindungen wurden durch In-vitro-Transkription von durch Polymerasekettenreaktion (PCR) hergestellten DNA-Matrizen (siehe Hintergrundinformationen) unter Verwendung von T7-RNA-Polymerase synthetisiert. Die Selbstanordnung von **1**, die durch Gelelektrophorese mit nichtdenaturierendem Polyacrylamid verfolgt wurde, erfolgte mit Dissoziationskonstanten  $K_d$  im submikromolaren Bereich; Magnesiumionen sind für die Selbstanordnung unbedingt erforderlich. In Gegenwart von 15 mM  $\text{Mg}(\text{OAc})_2$  dimerisierte **1** mit  $K_d = 4.3 \pm 0.4$  nM (Abbildung 2). Die Bindungsaffinität von **1** wurde als Funktion der  $\text{Mg}^{II}$ -Konzentration gemessen; durch Anpassung der Hill-Gleichung<sup>[13]</sup> an die erhaltenen Daten wurde für  $K_d(\text{Mg}^{II})$  ein Wert von 1 mM und für den Hill-Koeffizienten ein Wert von 1.9 (ca. 2) ermittelt. Im Falle einer Alles-oder-Nichts-Bindung entspricht der Hill-Koeffizient der Zahl der bei der RNA-Dimerisierung gebundenen Magnesiumionen. Dieses Ergebnis ist damit in Einklang, dass in der Kristallstruktur des GAAA-Tetraschleife/Rezeptor-Komplexes ein spezifisch gebundenes  $\text{Mg}^{II}$ -Ion vorliegt.<sup>[14]</sup>

Motivtausch-Experimente und eine chemische Sondierung mit  $\text{Pb}^{II}$  wurden durchgeführt, um weitere Belege dafür zu erhalten, dass die Dimerisierung von **1** tatsächlich durch spezifische tertiäre Wechselwirkungen und nicht durch Watson-Crick-Paarung komplementärer Basen der beiden Monomere vermittelt wird. Durch Motivtausch wurden bereits tertiäre Wechselwirkungen in natürlichen RNA-Molekülen nachgewiesen.<sup>[15, 16]</sup> Zuerst wurde eine einzelne A  $\rightarrow$  U-Mutation in die GAAA-Tetraschleife eingeführt und so **2** mit einer GUAA-Tetraschleife erhalten (Abbildung 1 b). Diese Mutation verhinderte selbst bei hohen Magnesium- und RNA-Konzentrationen jede Bindung (siehe Hintergrundinformationen), sehr wahrscheinlich dadurch, dass die Stapelung der Tetraschleife auf der Adenosin-Plattform des GAAA-Rezeptors gestört wird.<sup>[11]</sup> In Verbindung **3** (Abbildung 1 b) ist der GAAA-Schleifen-Rezeptor durch einen Rezeptor für die GUAA-Tetraschleife ersetzt worden,<sup>[17]</sup>

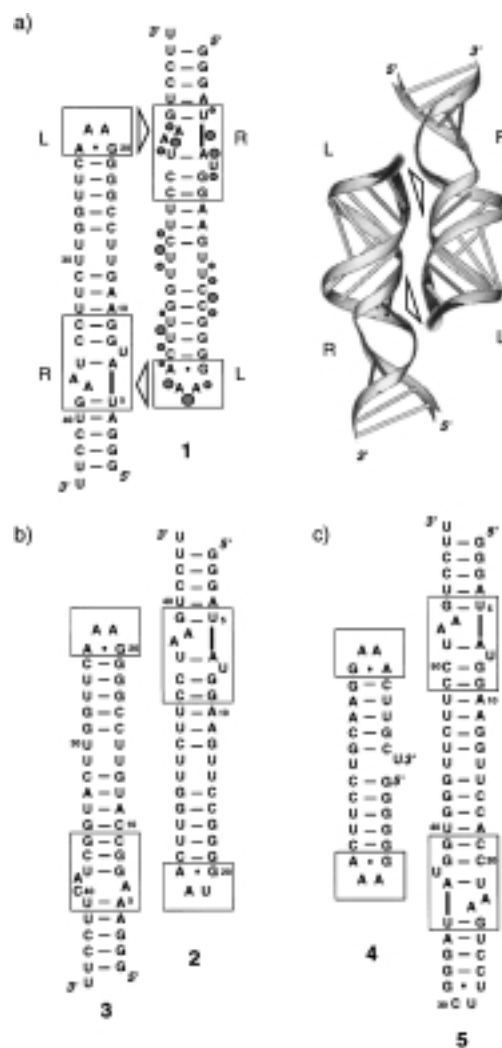


Abbildung 1. a) Zweidimensionale Darstellung und dreidimensionales Modell des von **1** gebildeten Dimers (RL-GAAA). Von Kästchen umschlossen sind das Rezeptor-Motiv (R) und das GAAA-Tetraschleifen-Motiv (L) des Moleküls. Die 3D-Modellierung erfolgte manuell mit dem Programm MANIP<sup>[21]</sup> und die 3D-Ansicht wurde mit dem Programm DRAWNA<sup>[22]</sup> erstellt. Das Dimer wurde dazu aus zwei identischen Schleife/Rezeptor-Motiven zusammengesetzt, die der Kristallstruktur der P4-P6-Domäne des Gruppe-I-Introns entnommen (NDB-Datei URX053)<sup>[12]</sup> und durch eine A-Helix aus zehn Basenpaaren miteinander verbunden wurde. Die Ergebnisse des  $\text{Pb}^{II}$ -Spaltungs-Schutzeffekts sind in die zweidimensionale Darstellung eingezeichnet. Das Ausmaß der Phosphatspaltung durch  $\text{Pb}^{II}$  bei niedriger RNA-Konzentration ist durch die Größe der Kreise wiedergegeben. Bei Erhöhung der RNA-Konzentration ist die Dimerbildung begünstigt und die Spaltung durch  $\text{Pb}^{II}$  an all diesen Positionen stark vermindert. Die  $\text{Pb}^{II}$ -Spaltung wurde wie folgt durchgeführt. Nach 1 min Erhitzen auf 90 °C und sofortigem Abkühlen auf 0 °C ließ man die RNA-Proben 30 min bei 30 °C in 25 mM 4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinethansulfonsäure (HEPES)-Puffer (pH 7.5), der 15 mM  $\text{Mg}(\text{OAc})_2$  enthielt, dimerisieren. Die  $\text{Pb}^{II}$ -Spaltung wurde durch Zugabe von 8 oder 16 mM  $\text{Pb}(\text{OAc})_2$  induziert und nach 5 min durch Zugabe von 50 mM Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) und EtOH-Fällung abgebrochen (siehe auch Hintergrundinformationen). Die RNA-Fragmente wurden auf denaturierendem Polyacrylamidgel (15 % Acrylamid, 8 M Harnstoff) getrennt. b) Zweidimensionale Darstellung des aus **2** und **3** gebildeten Heterodimers. c) Zweidimensionale Darstellung des aus **4** und **5** gebildeten Heterodimers.

während die GAAA-Tetraschleife beibehalten wurde. Genau wie **2** neigt **3** nicht zur Selbstdimerisierung. Das Heterodimer aus **2** und **3** entsteht hingegen mit  $K_d = 153 \pm 21$  nM. Obwohl

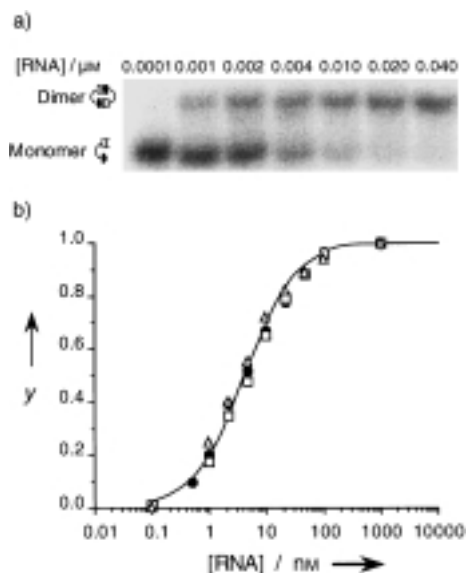


Abbildung 2. Selbstdimerisierung von **1**: a) Gelelektrophorese mit nichtdenaturierendem Polyacrylamidgel zur Konzentrationsabhängigkeit der Dimerisierung von **1** bei 15 mM  $\text{Mg}(\text{OAc})_2$ . Proben, die RNA in der angegebenen Gesamtkonzentration (einschließlich einer festen Menge am 3'-Ende [ $^{32}\text{P}$ ]pCp-markierter RNA) enthielten, wurden 1 min in Wasser auf 90 °C erhitzt, sofort auf 0 °C gekühlt, und dann ließ man sie 30 min bei 30 °C in Tris(hydroxymethyl)methylamin(Tris)-Borat-Puffer (pH 8,3), der 15 mM  $\text{Mg}(\text{OAc})_2$  enthält, dimerisieren. Dann wurden Monomere und Dimere durch Elektrophorese bei 4 °C auf 9-proz. nichtdenaturierenden Polyacrylamidgelen (30:1) mit demselben Puffer getrennt. b) Dimerisierungstitrationskurve, erhalten anhand durch Gelelektrophoreseexperimente mit nativem Gel bei 15 mM  $\text{Mg}(\text{OAc})_2$ ;  $y$  = Anteil der Dimere. Die Gelbanden wurden mit einem BioImager BAS2000 (Fuji) quantitativ ausgewertet.  $K_d$  entspricht der RNA-Konzentration, bei der die Hälfte der RNA dimerisiert ist.

die Bindung schwächer ist als beim Homodimer von **1**, ist sie dennoch spezifisch und stark genug, dass selbst bei niedrigen RNA-Konzentrationen Heterodimere vorliegen. Die schwächere Bindung zwischen **2** und **3** im Vergleich zu der im Homodimer von **1** steht mit früheren Arbeiten über die GUAA-Schleife/Rezeptor-Wechselwirkung im Einklang.<sup>[17]</sup>

Computerberechneten Modellen zufolge kann die GAAA-Schleife eines der Monomere im Homodimer von **1** gegen den Rezeptor des anderen Monomers ausgetauscht werden. Dies führt zu einem Heterodimer aus einem Molekül mit zwei Schleifen (LL, Schema 1b) und einem zweiten mit zwei Rezeptoren (RR). Diesem Konzept folgend wurden die Verbindungen **4** und **5** mit zwei GAAA-Schleifen bzw. zwei GAAA-Schleifen-Rezeptoren (Abbildung 1c) entworfen und synthetisiert. Wie erwartet, wies keines der beiden Moleküle eine Selbstaffinität auf, sondern es entsteht wiederum das Heterodimer mit  $K_d = 205 \pm 85$  nM. Zwar war dieser Wert höher als der bei der Stammverbindung **1**, lag aber immer noch im submikromolaren Bereich. Da **4** eine flexible einzelsträngige Brücke zwischen den beiden Schleifendomänen enthält, ist es nicht für die Bindung der starrereren Moleküle **1–3** und **5** präorganisiert.

Mit **1–5** wurden mit  $\text{Pb}^{\text{II}}$  Experimente unter Bedingungen durchgeführt, die entweder das Monomer oder das Dimer begünstigten (siehe Hintergrundinformationen). Flexible Einzelstrang-RNA-Bereiche sind anfällig für eine  $\text{Pb}^{\text{II}}$ -indu-

zierte Spaltung, während reguläre A-helicale Bereiche im Allgemeinen unreaktiv sind.<sup>[18]</sup> Außerdem kann  $\text{Pb}^{\text{II}}$  an spezifischen Magnesium-Bindungsstellen  $\text{Mg}^{\text{II}}$  ersetzen.<sup>[19]</sup> In Konzentrationen, die das Monomer begünstigen, wird **1** durch  $\text{Pb}^{\text{II}}$  im Bereich der GAAA-Haarnadelschleife und des GAAA-Rezeptor-Motivs gespalten. Die Zahl dieser Spaltungen ist bei höheren Konzentrationen, bei denen das Dimer begünstigt ist, drastisch herabgesetzt. Würde die Dimerisierung über Watson-Crick-Basenpaarungen erfolgen, würden die Schleife/Rezeptor-Motive im Dimer regeneriert und blieben für das Lösungsmittel zugänglich. Der beobachtete Schutz vor  $\text{Pb}^{\text{II}}$ -Spaltung (siehe Abbildung 1a) steht also mit einer Dimerisierung über tertiäre Wechselwirkungen im Einklang. Ähnliche Ergebnisse wurden bei den Heterodimeren **2/3** und **4/5** erhalten (siehe Hintergrundinformationen).

Die spezifische, hochaffine Dimerisierung von **1–5** lieferte die Grundlage für das Design zweiwertiger Moleküle, die für eine lineare Selbstanordnung geeignet sind (RRLL in Schema 1c). Zweiwertige Monomere (Tektone), die sich unter Bildung eindimensionaler Anordnungen selbstorganisieren können, wurden entworfen, indem man zwei RL-GAAA-Moleküle an der „Taille“ miteinander verknüpfte. Die resultierenden Tekto-RNA-Verbindungen **6** und **7** (Abbildung 3), die als Einzel-RNA-Transcripte synthetisiert wur-

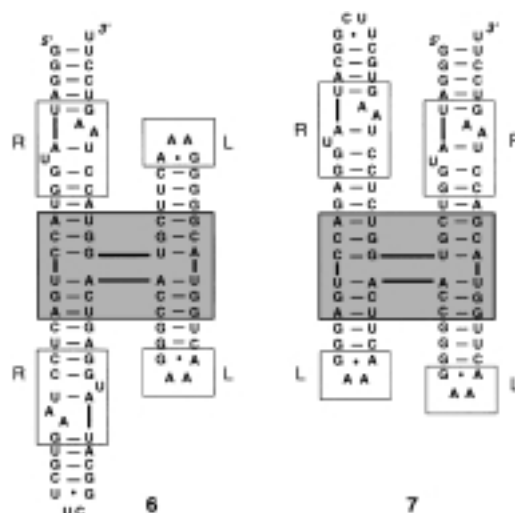


Abbildung 3. Sekundärstruktur der Tekto-RNA-Moleküle **6** und **7**. Von Kästchen umschlossen sind die beiden Rezeptoren (R) und die beiden GAAA-Tetraschleifen (L) jedes Tektons. Die grau unterlegten Nucleotid-Bereiche entsprechen der Sequenz der Haarnadel-Ribozym-Vierwegeverzweigungsstelle.<sup>[20]</sup>

den, enthalten eine Vierwegeverzweigungsstelle mit einem Wechselwirkungsmodul an jedem helicalen Arm. Sie können zwei Konformationen annehmen, die sich hinsichtlich der Stapelanordnung der Helices an der Vierwegeverzweigungsstelle unterscheiden (Schema 1c). Die Tektone **6** und **7** wurden so entworfen, dass sie sich bezüglich dieser Konformationen unterscheiden, indem die Vierwegeverzweigungssequenz aus dem Haarnadel-Ribozym, dessen Stapelpräferenz bekannt ist, auf zweierlei Weise eingebaut wurde (Abbildung 3).<sup>[20]</sup> Im energetisch stabileren Konformer von **6** sind die beiden Helices mit den GAAA-Tetraschleifen (L)

aufeinander gestapelt. Das Tekton **6** ist also für eine eindimensionale Selbstanordnung oder zur Bindung von **4** oder **5**, die das Kettenwachstum in einer Richtung abbrechen, präorganisiert. Im stabileren Konformer von **7** ist jede Helix, die einen GAAA-Rezeptor (R) enthält, auf eine Helix gestapelt, die mit einer GAAA-Tetraschleife (L) endet, sodass **7** zur Selbstanordnung oder zur Wechselwirkung mit **1** (die als Ketteterminator wirkt) präorganisiert ist. Sowohl bei **6** als auch bei **7** kann eine Isomerisierung zwischen den beiden Stapelkonformeren stattfinden. Das Tekton **6** kann also auch **1** binden, indem es zur Stapelkonformation von **7** isomerisiert. Genauso kann **7** auch **4** oder **5** binden, nachdem es die Konformation von **6** angenommen hat.

Die eindimensionale Selbstanordnung der Tektone **6** und **7** wurde durch Gelelektrophorese mit nativen Gelen untersucht: Im oberen Bild von Abbildung 4 wurde eine gegebene

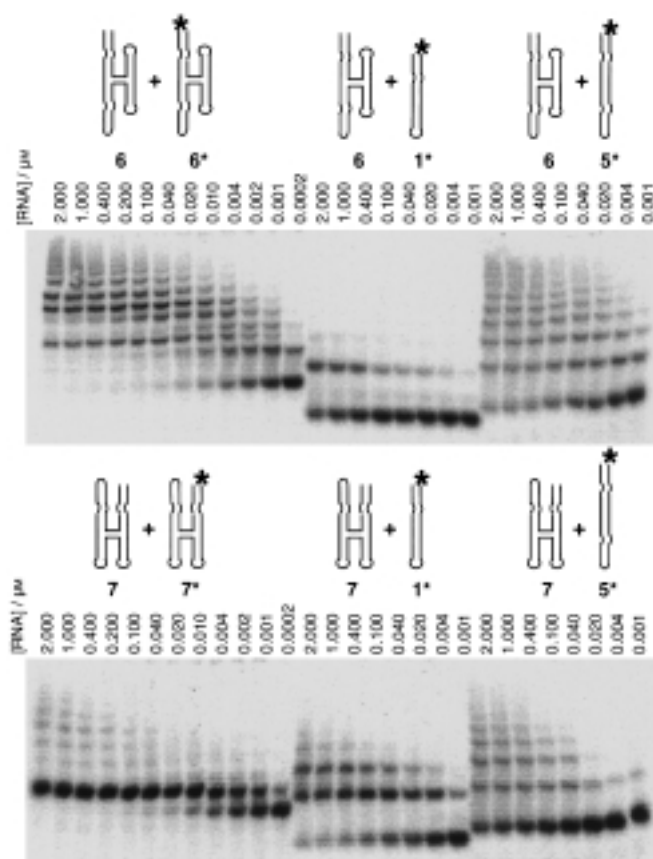


Abbildung 4. Eindimensionale Selbstanordnung von **6** (oben) und **7** (unten), Gelelektrophorese mit 7-proz. nichtdenaturierendem Polyacrylamidgel (30:1). Links ist jeweils das Experiment zur Selbstanordnung, in der Mitte das zur Assoziation mit **1** und rechts das zur Assoziation mit **5** zu sehen. Das [ $^{32}$ P]Cp-markierte RNA-Molekül ist durch ein Sternchen gekennzeichnet. Die Konzentration an radioaktiv markierter RNA beträgt 0.1 nM. Die Proben wurden hergestellt und analysiert wie bei Abbildung 2 beschrieben.

Menge von radioaktiv markiertem **6** oder den einwertigen Verbindungen **1** oder **5** mit unmarkiertem **6** titriert. Im unteren Bild wurde dasselbe Experiment mit **7** statt **6** durchgeführt. Diesen Experimenten zufolge oligomerisiert **6** in Gegenwart von Magnesium sehr effizient. Wie **1–5** so neigt

auch **6** in Abwesenheit von Magnesium nicht zur Selbstanordnung. Bei den höchsten getesteten Konzentrationen von **6** (10  $\mu$ M) liegen Oligomere aus mindestens 15 Monomereinheiten vor, wie gelelektrophoretisch nachgewiesen werden konnte. Interessanterweise bildet **7** in erster Linie Dimere. Oligomere von **7** traten in viel geringeren Mengen auf; dies lässt vermuten, dass **7** vor der Oligomerisierung eine Konformationsänderung erfahren muss. Wie erwartet, bindet **5** an **6** mit höherer Affinität als an **7**, während bei **1** das Gegenteil der Fall war. Weitere Experimente wurden durchgeführt, bei denen radioaktiv markiertes **7** mit **6** im Bereich von 0.02 bis 10  $\mu$ M titriert wurde (siehe Hintergrundinformationen). Eine Erhöhung der Konzentration von **6** führte dazu, dass radioaktiv markiertes **7** in höhermolekulare Strukturen eingebaut wurde. Gleichzeitig nahm die Konzentration des Dimers von **7** ab. Diese Befunde lassen sich am einfachsten damit erklären, dass **7** erst dann an **6** binden kann, wenn es zum weniger günstigen Stapelkonformer isomerisiert ist. Die Zugabe von **6** zwingt also **7** in die Konformation, in der es in eindimensionale Anordnungen eingebaut werden kann.

Wir haben gezeigt, dass RNA als Medium für das Design sich selbst anordnender molekularer Module (Tektone) verwendet werden kann. Insbesondere haben wir gezeigt, dass das Tekton **6** in Abhängigkeit von seiner Konformation und von der Menge an Magnesium sich unter Bildung eindimensionaler Anordnungen selbstorganisiert. Da die Abmessungen von **6** ungefähr  $4 \times 9$  nm betragen, erreichen diese nichtkovalent gebundenen Anordnungen Längen von 60 nm und mehr. Überdies kann die Länge gezielt eingestellt werden, da sie sowohl von der RNA- als auch der  $Mg^{II}$ -Konzentration abhängt. Weitere Experimente sind erforderlich, um tiefere Einblicke in die Strukturen dieser Nanokomplexe zu erhalten. So bildet das vom Tekton **7** bevorzugte Konformer sehr stabile Dimere, die zwar **1** binden, aber nicht oligomerisieren können. Experimente zur Aufklärung der Gründe für den drastischen Unterschied zwischen den Fähigkeiten der Tektone **6** und **7** zur Selbstanordnung sind im Gange. Die vorliegenden Befunde deuten allerdings bereits darauf hin, dass der Selbstorganisationsprozess durch modulare „Selektor“-Tektone kontrolliert werden könnte, die eines der beiden Konformere durch Bindung stabilisieren. Weiterhin wird derzeit die Verwendung anderer Wechselwirkungsmotive untersucht. Unser längerfristiges Ziel ist es, unter Verwendung von RNA zwei- und dreidimensionale Anordnungen zu entwerfen und herzustellen. Diese und weitere neue Regeln der RNA-Selbstanordnung gilt es in Zukunft weiter zu erforschen.

Eingegangen am 24. Januar 2000 [Z14592]

- [1] E. Winfree, F. Liu, L. A. Wenzler, N. C. Seeman, *Nature* **1998**, *394*, 539–544.
- [2] C. Mao, W. Sun, N. C. Seeman, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 5437–5443.
- [3] N. C. Seeman, *Trends Biotechnol.* **1999**, *17*, 437–43.
- [4] E. Protzanova, R. B. J. Macgregor, *Biochemistry* **1996**, *35*, 16638–16645.
- [5] M. Scheffler, A. Dorenbeck, S. Jordan, M. Wüstefeld, G. von Kiedrowski, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 3514–3518; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 3311–3315.
- [6] R. P. Fahlman, D. Sen, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 11079–11085.

- [7] R. T. Batey, R. P. Rambo, J. A. Doudna, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 2472–2491; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2326–2343.
- [8] A. R. Ferre-D'Amare, K. Zhou, J. A. Doudna, *J. Mol. Biol.* **1998**, *279*, 621–631.
- [9] E. Westhof, B. Masquida, L. Jaeger, *Fold. Des.* **1996**, *1*, R78–R88.
- [10] P. Brion, E. Westhof, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **1997**, *26*, 113–137.
- [11] J. H. Cate, A. R. Gooding, E. Podell, K. Zhou, B. L. Golden, A. A. Szewczak, C. E. Kundrot, T. R. Cech, J. A. Doudna, *Science* **1996**, *273*, 1696–1699.
- [12] J. H. Cate, A. R. Gooding, E. Podell, K. Zhou, B. L. Golden, C. E. Kundrot, T. R. Cech, J. A. Doudna, *Science* **1996**, *273*, 1678–1684.
- [13] A. V. Hill, *J. Physiol. (London)* **1910**, *40*, iv.
- [14] J. H. Cate, R. L. Hanna, J. A. Doudna, *Nat. Struct. Biol.* **1997**, *4*, 553–558.
- [15] M. Costa, F. Michel, *EMBO J.* **1995**, *14*, 1276–1285.
- [16] L. Jaeger, F. Michel, E. Westhof, *J. Mol. Biol.* **1994**, *236*, 1271–1276.
- [17] M. Costa, F. Michel, *EMBO J.* **1997**, *16*, 3289–3302.
- [18] P. Gornicki, F. Baudin, P. Romby, M. Wiewiorowski, W. Kryzosiak, J. P. Ebel, C. Ehresmann, B. Ehresmann, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **1989**, *6*, 971–984.
- [19] H. Moine, B. Ehresmann, C. Ehresmann, P. Romby in *RNA Structure and Function* (Hrsg.: R. W. Simons, M. Grunberg-Manago), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, **1998**, S. 77–116.
- [20] F. Walter, A. I. H. Murchie, D. M. J. Lilley, *Biochemistry* **1998**, *37*, 17629–17636.
- [21] C. Massire, E. Westhof, *J. Mol. Graph. Model.* **1999**, *16*, 197–205; C. Massire, E. Westhof, *J. Mol. Graph. Model.* **1999**, *16*, 255–257.
- [22] C. Massire, C. Gaspin, E. Westhof, *J. Mol. Graphics* **1994**, *12*, 201–206.

## Erster künstlicher Koffeinrezeptor – ein neues Konzept zur Komplexierung alkylierter Oxopurine\*\*

Siegfried R. Waldvogel,\* Roland Fröhlich  
und Christoph A. Schalley

Professor Richard R. Schmidt zum 65. Geburtstag gewidmet

Molekulare Erkennung und spezifische Reaktionen mit Signalwirkung können zu neuartigen Sensoren führen.<sup>[1]</sup> Besonders interessant ist die Detektion kleiner, biorelevanter Moleküle, die im täglichen Leben allgegenwärtig sind. Alkylierte Oxopurine wie Koffein **1**, Theophyllin oder Theobromin sind die am häufigsten konsumierten Alkaloidwirkstoffe.<sup>[2]</sup>

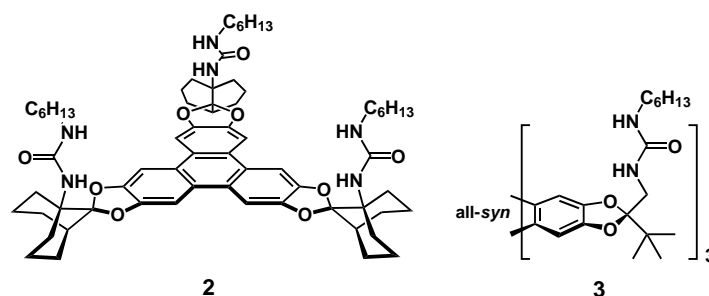
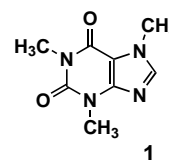
[\*] Dr. S. R. Waldvogel, Dr. R. Fröhlich  
Westfälische Wilhelms-Universität Münster  
Organisch-chemisches Institut  
Corrensstraße 40, 48149 Münster (Deutschland)  
Fax: (+49)251-83-39772  
E-mail: waldvog@uni-muenster.de

Dr. C. A. Schalley  
The Scripps Research Institute, La Jolla (USA), und Universität Bonn (Deutschland)

[\*\*] Diese Arbeit wurde vom Fonds der chemischen Industrie (Liebig-Stipendium für S.R.W. und C.A.S.) und von der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina/BMBF (Postdoktoranden-Stipendium für C.A.S.) unterstützt. Wir danken besonders Prof. Dr. Julius Rebek, Jr., für die fruchtbaren Diskussionen und die Unterstützung in diesem Projekt.

Naturstoffe wie das Catechin<sup>[3]</sup> oder die Cyclodextrine<sup>[4]</sup> vermögen Koffein sowie Theobromin relativ unspezifisch über hydrophobe Wechselwirkungen zu binden. Der maßgeschneiderte Rezeptor von Kelly et al. für die strukturell verwandte Harnsäure nutzt ausschließlich Wasserstoffbrücken zur Bindung des Substrats.<sup>[5]</sup> Eine Ausweitung dieses Prinzips der molekularen Erkennung in zwei Dimensionen ist nicht auf **1** anwendbar.

Wir stellen hier ein neues Konzept zur Komplexierung von alkylierten Oxopurinen vor. Unsere Rezeptoren **2** und **3** nutzen die dritte Dimension und umgreifen das Substrat als C<sub>3</sub>-symmetrische Klammer (Schema 1). Das neuartige Re-



Schema 1. Funktionalisierte Triphenylenketale: der starre Rezeptor **2** und der flexible **3**.

zeptorsystem verwendet als Rückgrat trifunktionalisierte Triphenylenketale.<sup>[6]</sup> Die Kombination von drei in einem Abstand von 11 Å angeordneten orientierten funktionellen Gruppen und einer elektronenreichen aromatischen Fläche in der Mitte ermöglicht die Komplexierung von C<sub>3</sub>- bzw. pseudo-C<sub>3</sub>-symmetrischen Gästen. Besonders geeignet sind elektronenarme Gastmoleküle, da neben spezifischen Wasserstoffbrückenbindungen auch eine Donor-Acceptor-Wechselwirkung möglich ist. Während die Methylgruppen von Koffein eine Wechselwirkung mit dem Rezeptor von Kelly et al. verhindern würden, passen diese bei unserem System genau in die Freiräume zwischen den Ankergruppen.

Der starre Rezeptor **2** mit seinen bicyclischen Spiroketal-einheiten wurde aus der leicht zugänglichen Verbindung **4** aufgebaut (Schema 2).<sup>[7]</sup> Die Produkte der Standardreaktionen können durch Kristallisation getrennt werden und sind somit gut zugänglich. Schlüsselschritt ist die oxidative Trimerisierung der Brenzcatechinketale mit MoCl<sub>5</sub>.<sup>[6]</sup> Aufgrund der starren Molekülstruktur gelingt die Trennung der Isomere problemlos. Eine chromatographische Reinigung der Verbindungen **2** und **7** ist zweckmäßig.<sup>[8, 9]</sup> Der flexible Rezeptor **3** wurde analog synthetisiert.

Zunächst wurde die Wirt-Gast-Wechselwirkung von Rezeptor und Koffein in Lösung untersucht. Eine NMR-Titration bestätigte die 1:1-Stöchiometrie des supramolekularen Aggregats und lieferte eine Komplexbildungskonstante von 35600 M<sup>-1</sup>, was einer Bindungsenergie von etwa 6 kcal mol<sup>-1</sup> entspricht.<sup>[10]</sup> Die über Verdünnungsexperimente zuvor bestimmten Dimerisierungskonstanten wurden bei der Ermittlung der Bindungskonstanten berücksichtigt.<sup>[11]</sup>