

# Eine DNA-Doppelhelix mit größerem Durchmesser\*\*

Andreas Marx\* und Daniel Summerer

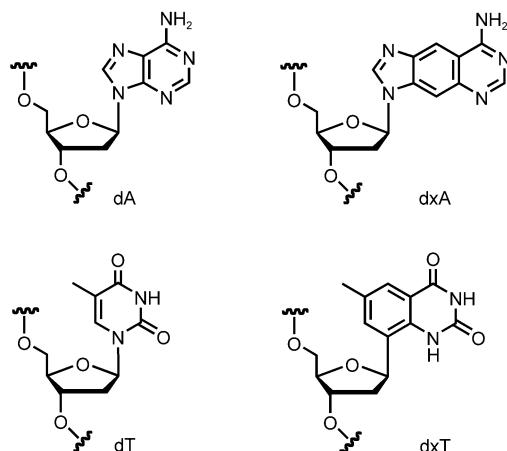
## Stichwörter:

DNA · DNA-Strukturen · Fluoreszenz · Oligonucleotide · Supramolekulare Chemie

Die chemische Modifizierung von DNA wird mit zahlreichen Motivationen durchgeführt, z.B. die Entwicklung neuer therapeutischer Ansätze, die Erforschung der Funktion von Enzymen oder die Herstellung neuer Bausteine für die Nanotechnologie.<sup>[1]</sup> Bisher wurden neue Nucleobasengerüste durch den Austausch einer oder mehrerer natürlicher Basen durch Analoga hergestellt. Diese Basenanaloga haben veränderte Wasserstoffbrückenmuster, sind Isostere, ohne die Fähigkeit zur Ausbildung von Wasserstoffbrücken, sind hydrophob oder binden Metallionen.<sup>[2]</sup> Es wurden jedoch nie alle vier DNA-Basen durch künstliche Analoga ersetzt. Es war daher nicht abzusehen, ob derartige Modifikationen ohne den Verlust der Fähigkeiten zur Sequenzerkennung und der spontanen Selbstorganisation möglich sind.

In einer kürzlich erschienenen Arbeit beschrieben Kool et al. ein System, bei dem das DNA-Rückgrat unverändert bleibt und die Nucleobasen durch verlängerte Basenanaloga ersetzt wurden.<sup>[3]</sup> Diese Analoga wurden durch formales Einfügen eines Benzolrings zwischen der Watson-Crick-Bindungs-

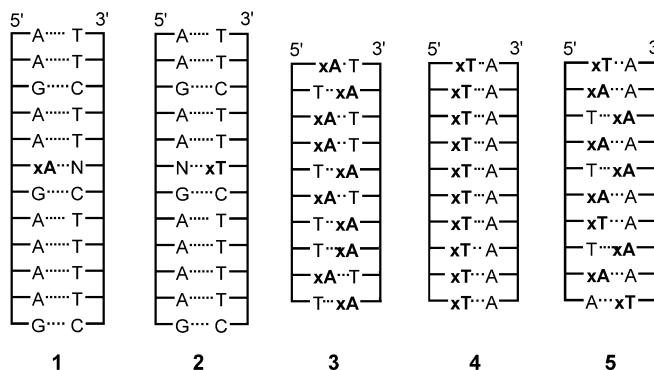
stelle und der Verbindung der Nucleobase mit dem Zuckerrest hergestellt.



Der Einschub verlängert die Basen um 2.4 Å und macht aus dem bicyclischen Purin A das Dreiringsystem xA; aus dem cyclischen Pyrimidin T wird das bicyclische Analogon xT. Da diese Transformation keinen Einfluss auf die Wasserstoffbrücken-Bindungsstellen

hat, vermuteten Kool et al., dass eine Basensequenz mit diesen artifiziellen Basen durch Kombination mit einem DNA-Komplementärstrang eine Doppelhelix bildet. Dieses Projekt wurde durch die Arbeit von Leonard et al. inspiriert; sie verwendeten vor fast 30 Jahren xA, um ATP-abhängige Enzyme zu untersuchen.<sup>[4]</sup> Kool et al. synthetisierten die Nucleosidanaloga dxA und dxT, und es gelang ihnen, diese in Oligonucleotide einzubauen und die inhärenten Eigenschaften zu untersuchen.

Um abzuschätzen, ob die verlängerten Basenanaloga in einem Umfeld aus nichtmodifizierter DNA Watson-Crick-analoge Paare bilden, untersuchten Kool et al. DNA-Doppelhelices mit einzelnen verlängerten Analoga (dxA oder dxT) nahe der Mitte eines 12-Basenpaar-Oligonucleotids (**1** und **2** in Abbildung 1). Sie fanden heraus, dass beide Analoga, gepaart mit entsprechenden unmodifizierten Basen, die Doppelhelix gegenüber einer nichtmodifizierten DNA-Doppelhelix destabilisieren. Durch Experimente mit varie-



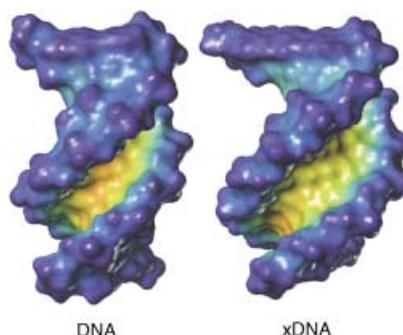
**Abbildung 1.** Ausgewählte DNA- und xDNA-Doppelstränge, die von Kool et al. untersucht wurden.<sup>[3]</sup> Alle xDNA-Strukturen wurden mit entsprechenden DNA-Strukturen aus natürlichen Bausteinen verglichen. **1** und **2** zeigen verminderte, **3–5** erhöhte Stabilität gegenüber den Strukturen aus natürlichen Bausteinen.

[\*] Priv.-Doz. Dr. A. Marx,  
Dipl.-Chem. D. Summerer  
Kekulé-Institut für Organische Chemie  
und Biochemie  
Universität Bonn  
Gerhard-Domagk-Straße 1, 53121 Bonn  
(Deutschland)  
Fax: (+49) 228-73-5388  
E-mail: a.marx@uni-bonn.de

[\*\*] Wir bedanken uns bei E. T. Kool, Stanford, für die Koordinaten der DNA- und xDNA-Doppelhelices.

renden Partnerbasen für die verlängerten Analoga wurde deutlich, dass xA eine leichte Paarungsselektivität für T gegenüber C, G und A hat. Die modifizierte Base xT ist in dieser Hinsicht weniger selektiv. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass das DNA-Rückgrat zu starr ist, um die verlängerten Analoga in einer Helix unter starker Verwindung der Konformation zu tolerieren.

Kool et al. spekulierten, dass eine Helix, die ausschließlich aus verlängerten Basenpaaren konstruiert ist, die geometrischen Einschränkungen einer regulären DNA-Helix umgehen kann. Daher untersuchten sie ein selbstkomplementäres Oligonukleotid, aus dem sich die Helix 3 (Abbildung 1) bildete, die in jedem Basenpaar eine verlängerte Nucleobase hat. Interessanterweise fanden sie heraus, dass die Doppelhelix mit xA-Basen um  $5.8 \text{ kcal mol}^{-1}$  stabiler ist als die entsprechende DNA-Doppelhelix mit natürlichen Basen. Um die Allgemeingültigkeit des Systems zu prüfen, wurden weitere DNA-Doppelhelices untersucht. In Einklang mit den oben erwähnten Ergebnissen zeigte sich, dass DNA-Doppelhelices mit ausschließlich verlängerten Basenpaaren auch in anderen Sequenzen stabiler sind als die entsprechende native Doppelhelix (4,5 in Abbildung 1). Was ist jedoch der Grund für die erhöhte Stabilität der xDNA? Kool et al. vermuten, dass die gemessene höhere Paarungsstabilität aus einer besseren Stapelung der verlängerten aromatischen Systeme, innerhalb der Stränge oder zwischen den Strängen, resultiert. NMR-spektroskopisch wurde bestätigt, dass DNA-Sequenzen mit verlängerten Analoga Doppelhelices mit Interstrang-Wasserstoffbrücken bilden. Kool et al. untersuchten eine selbstkomplementäre Sequenz und fanden, dass die Zahl der beobachteten Resonanzen im Einklang mit einer antiparallelen Doppelhelixstruktur war. Durch Modellstudien erhielten sie Einblicke in strukturelle Unterschiede zwischen normaler B-DNA und xDNA (Abbildung 2).



**Abbildung 2.** Modellierte Seitenansicht von DNA- und xDNA-Doppelhelices aus jeweils 10 Basenpaaren (Connelly-Oberflächen mit tiefenabhängiger Färbung). Die Strukturen wurden mit SYBYL 6.9 (TRIPOS) erstellt.

Struktur- und thermodynamische Untersuchungen weisen auf nur kleine konformativen Änderungen des DNA-Rückgrats hin. Ferner sollte aus dem größeren Durchmesser der xDNA-haltigen Helix eine höhere Basenzahl pro Windung gegenüber B-DNA resultieren. Außerdem könnten die kleine und die große Furche in der xDNA-Helix weiter sein als in B-DNA.

Die Entwicklung von xDNA ist ein herausragendes und sehr elegantes Beispiel für erfolgreiches Moleküldesign. Die Arbeit von Kool et al. weist erneut auf das große Potenzial der Nucleinsäuren für das Nano-Engineering hin.<sup>[1]</sup> Die verlängerten Oligonukleotide haben Eigenschaften, die in natürlicher DNA nicht vorkommen: Wie die Nucleosidanaloga dxA und dxT fluoreszieren auch die mit diesen Bausteinen hergestellten Oligonukleotide. Daher ist xDNA, in der alle Basenpaare fluoreszieren, ein Polymer mit hoher Fluorophordichte. Die Autoren spekulieren, dass diese Eigenschaft in Kombination mit der erhöhten Bindungsaffinität zur Detektion und Diagnose von DNA oder RNA nützlich sein könnte. Zu diesem Zweck, aber auch zur Vervollständigung des Alphabets verlängerter Nucleobasen, ist die Synthese der noch ausstehenden Analoga xG und xC notwendig. Dies

könnte weitere Vergrößerungen des Durchmessers ermöglichen, z. B. durch die Konstruktion einer ausschließlich aus verlängerten Bausteinen bestehenden Helix. Des Weiteren könnte untersucht werden, ob DNA-Polymerasen in der Lage sind, xDNA zu prozessieren. Kool schrieb kürzlich, dass diese Basenanaloga zur Überprüfung des Modells des sterischen Ausschlusses von DNA-Polymerasen nützlich sein könnten. Dieses Modell wird zur Erklärung der Enzymselektivität und ihrer Variation bei unterschiedlichen DNA-Polymerasen verwendet.<sup>[5]</sup> Wir erwarten in naher Zukunft eine faszinierende Entwicklung dieser Thematik.

- [1] Übersichten: a) A. DeMesmaeker, R. Häner, P. Martin, H. Moser, *Acc. Chem. Res.* **1995**, 28, 366–374; b) Y. S. Sanghvi in *DNA and Aspects of Molecular Biology* (Hrsg.: E. T. Kool), Pergamon, Oxford, **2002**, Kap. 8; c) S. Verma, F. Eckstein, *Annu. Rev. Biochem.* **1998**, 67, 99–134; d) L. W. McLaughlin, M. Wilson in *DNA and Aspects of Molecular Biology* (Hrsg.: E. T. Kool), Pergamon, Oxford, **2002**, Kap. 7; e) N. C. Seeman, *Nature* **2003**, 421, 427–431; f) C. M. Niemeyer, M. Adler, *Angew. Chem.* **2002**, 114, 3933–3937; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 3779–3783; g) A. Marx, I. Detmer, J. Gaster, D. Summerer, *Synthesis* **2004**, 1–14.
- [2] Übersichten: a) E. T. Kool, J. C. Morales, K. M. Guckian, *Angew. Chem.* **2000**, 112, 1046–1068; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 990–1009; b) E. T. Kool, *Acc. Chem. Res.* **2002**, 35, 936–943; c) H.-A. Wagenknecht, *Angew. Chem.* **2003**, 115, 3322–3324; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 3204–3206.
- [3] H. Liu, J. Gao, S. R. Lynch, Y. D. Saito, L. Maynard, E. T. Kool, *Science* **2003**, 302, 868–871.
- [4] a) N. J. Leonard, M. A. Sprecker, A. G. Morrice, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 98, 3987–3994; b) R. A. Lessor, K. J. Gibson, N. J. Leonard, *Biochemistry* **1984**, 23, 3868–3873.
- [5] E. T. Kool, *Annu. Rev. Biochem.* **2002**, 71, 191–219.