

In natürlicher DNA wird der Zerfall des angeregten Zustands durch Watson-Crick-Basenpaarung bestimmt**

Dominik B. Bucher, Alexander Schlueter, Thomas Carell* und Wolfgang Zinth*

Abstract: Die Dynamik des angeregten Zustands ist wesentlich für ein Verständnis der UV-Licht-induzierten Schadensbildung der DNA. Mithilfe von Femtosekunden-IR-Spektroskopie konnten wir die Lebenszeit des angeregten Zustands aller vier Nukleobasen in der doppelsträngigen natürlichen DNA bestimmen. Wir stellten einen konzertierten Zerfall des angeregten Zustands von Watson-Crick-Basenpaaren nach UV-Anregung fest. Durch einen Vergleich von einzelsträngiger und doppelsträngiger DNA konnten wir zeigen, dass die in Einzelsträngen auftretenden reaktiven, ladungstrennten Zustände durch Basenpaarung im Duplex unterdrückt werden. Der starke Einfluss der Watson-Crick-Wasserstoffbrücken deutet auf einen Protonentransfer hin, der einen neuen Zerfallskanal eröffnet und damit die Bildung von reaktiven ladungstrennten Zuständen vermeidet oder deren Lebenszeit verkürzt.

UV-Strahlung ist eine Hauptursache für Schäden im Genom. Bei der UV-Anregung werden reaktive Zustände besetzt, die zu photochemischen Reaktionen führen können. Die dadurch entstehenden Änderungen in der DNA-Struktur verursachen Mutationen und Zelltod.^[1] Für eine Aufklärung dieser strahlungsinduzierten Schadensbildung ist es notwendig, die primären photophysikalischen Prozesse zu verstehen. Die photophysikalischen Prozesse einzelner Basen sind bereits gut verstanden. Die Energie des absorbierten Photons wird durch eine ultraschnelle interne Konversion in Wärme umgewandelt. Dieser Prozess vermeidet die Besetzung von reaktiven Zuständen, die zu Schäden führen können.^[2] Dieser Desaktivierungsmechanismus war von grundlegender Bedeutung in den Anfängen der Evolution als die Bausteine für den genetischen Code unter extremen UV-Bestrahlung ent-

standen sind. Heutzutage sind in allen Organismen auf der Erde Nukleotide als Informations-Bits für die Informationsspeicherung verantwortlich. Dafür sind sie in langen doppelhelikalen Strukturen organisiert, die durch zwei Wechselwirkungen stabilisiert werden – die Basenstapelung und die Basenpaarung. Beide Wechselwirkungen haben Einfluss auf die Photophysik der DNA. Es ist bekannt, dass nach UV-Anregung die π -Stapelung mit hohen Ausbeuten langlebige Zustände bewirkt.^[3] Diese konnten erst kürzlich in DNA-Einzelsträngen als ladungstrennte und ladungsdelokalisierte Zustände identifiziert werden.^[4] Für homogene Sequenzen werden außerdem neutrale Exzimer diskutiert.^[5] In doppelsträngiger DNA ist die Basenpaarung neben der Basenstapelung die zweite wichtige Wechselwirkung. Es ist bis heute nicht bekannt, wie die Wasserstoffbrücken zwischen den Basen die Photophysik beeinflussen. Theoretische Rechnungen zeigen, dass diese möglicherweise einen neuen ultraschnellen Desaktivierungskanal für den angeregten Zustand ermöglichen.^[6] In diesem Modell wird ein ladungstrennter Zustand zwischen den Basen eines Watson-Crick-Paars gebildet, der ultraschnell durch einen Protonentransfer zwischen den Basen in den Grundzustand übergeht. In der Tat wurde beobachtet, dass der angeregte Zustand von Modell-Basenpaaren in der Gasphase^[7] und isolierte GC-Basenpaare in Chloroform^[8] schneller zerfallen, als die entsprechenden Einzelbasen. Die Untersuchung von verschiedenen GC Basenpaarungsmustern in der Gasphase zeigte, dass nur das Watson-Crick-Basenpaarungsmuster den ultraschnellen Zerfall aufweist, wie theoretisch bestätigt wurde.^[9] In doppelsträngiger GC-DNA in Lösung wurde ein Löschen des angeregten $\pi\pi^*$ -Zustands gefunden.^[10] Jedoch konnte nicht gezeigt werden, dass auch die Rückkehr in den Grundzustand beschleunigt wird, da – wie im Einzelstrang – weitere langlebige Zustände auftreten.^[11] Somit argumentieren gegenwärtige Modelle, dass die Basenstapelung die entscheidende Wechselwirkung für die Photophysik in doppelsträngiger DNA ist.^[3a,b,4b,12]

Neben einigen Messungen an natürlichen Proben^[13] wurden frühere Messungen bevorzugt an synthetischen Oligonukleotiden mit UV/Vis- und Fluoreszenzspektroskopie durchgeführt.^[3a,11d,14] Da in diesem spektralen Bereich die Absorptionsbanden stark überlappen, können die DNA-Basen und deren Beitrag zum Zerfall des angeregten Zustands nicht einzeln aufgelöst werden. Um die Basen zu unterscheiden verwenden wir zeitauflösende IR-Spektroskopie.^[15] Die Nukleobasen besitzen im IR schmale und charakteristische Banden, welche den individuellen Beitrag einzelner DNA-Basentypen zum angeregten Zustand erkennen lassen. Eine Anregung im UV und die Abfrage im IR ermöglicht es uns dabei, den Zerfall des angeregten Zustands

[*] D. B. Bucher, A. Schlueter, Prof. Dr. W. Zinth
BioMolecular Optics and Center for Integrated Protein Science (CIPSM), Ludwig-Maximilians-Universität München
Oettingenstraße 67, 80538 München (Deutschland)
E-Mail: wolfgang.zinth@physik.uni-muenchen.de

D. B. Bucher, Prof. Dr. T. Carell
Center for Integrated Protein Science am Department Chemie
Ludwig-Maximilians-Universität München
Butenandtstraße 5–13, 81377 München (Deutschland)
E-Mail: thomas.carell@cup.uni-muenchen.de

[**] Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SFB 749, TP A4 und A5, den Exzellenzclustern „Center for Integrated Protein Science Munich (CIPSM)“ und „Munich Center for Advanced Photonics“ (MAP)) für die finanzielle Unterstützung. Wir danken B. Kohler und W. Domcke für hilfreiche Diskussionen.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201406286> zu finden.

für jede der vier DNA-Basen in der natürlichen Kalbsthymus-DNA zu verfolgen.

Die Markerbanden der vier einzelnen Nukleobasen in doppelsträngiger DNA wurden mit stationärer IR-Spektroskopie anhand von Literaturwerten identifiziert^[16] (Details in den Hintergrundinformationen und den Abbildungen S1–3). Die Positionen der Markerbanden der Basen sind in allen Bildern als farbige Balken dargestellt. Alle Experimente wurden in D₂O-Puffer durchgeführt (Details in den Hintergrundinformationen). Abbildung 1 zeigt die Absorptionsänderungen im IR nach nichtselektiver Anregung aller DNA-Basentypen in doppelsträngiger Kalbsthymus-DNA. Durch die Anregung bleichen die Banden des ursprünglichen Grundzustands aus. Das Zurückkehren jedes einzelnen Basentyps zum Grundzustand wird anhand der Markerbanden beobachtet. Abbildung 1a zeigt das Differenzabsorptionsspektrum für eine kurze Verzögerungszeit (0.25 ps). Zu diesem Zeitpunkt sind die ursprünglich angeregten Zustände besetzt, die eine breite Absorptionzunahme bewirken. Überlagert findet man schmale negative Banden (Ausbleichen), welche gut zu der Grundzustandsabsorption passen (Abbildungen S1–3). Jede dieser Banden kann einer Nukleobase zugeordnet werden (Abbildung 1a). Die Absorptionsänderung des ursprünglich angeregten Zustands zerfällt innerhalb der ersten Pikosekunden und geht in die eines heißen Grundzustands über. Das Kühlen des vibronisch angeregten Zustands ist innerhalb von 10 ps abgeschlossen (Zeitkonstante ca. 6 ps, Abbildung S4). Die Konturdarstellung in Abbildung 1b zeigt den Verlauf der Absorptionsänderung in Anschluss an den Kühlprozess ($t > 10$ ps). Das Differenzabsorptionsspektrum zu späteren Zeiten unterscheidet sich erheblich von dem kurz nach der Anregung und – besonders wichtig – verändert sich im Laufe der Zeit. Die beobachteten Kinetiken zeigen Prozesse auf der 10- bis 100-ps-Zeitskala und sind somit sehr ähnlich zu denen in einzelsträngiger DNA.^[3a,4a] Der Anteil der langlebigen Zustände aus Abbildung 1b in Bezug auf das ursprüngliche Ausbleichen beträgt ca. 50 %. Die langlebigen Absorptionsänderungen der Kalbsthymus-DNA zeigen mehrere charakteristische Eigenschaften: 1) Die Differenzabsorptionsspektren unterscheiden sich von dem Ausbleichspektrum zu kurzen Verzögerungszeiten. 2) Die Dynamik der langsamen Absorptionsänderung kann mithilfe zweier Zeitkonstanten angepasst werden ($\tau_1 = 40$ ps, $\tau_2 = 210$ ps). Diese Zeiten liegen – unter Berücksichtigung der Komplexität der Kalbsthymus-DNA – in dem Bereich der Ergebnisse früherer Messungen.^[3a,17] In dieser Veröffentlichung werden Prozesse auf der ps-Zeitskala mit großen Amplituden untersucht, während Prozesse auf längeren Zeitskalen und mit geringen Amplituden – wie sie in Emissionsmessungen beobachtet wurden – hier nicht behandelt werden.^[13a] 3) Am wichtigsten sind die zerfallsassoziierten Spektren für die beiden langen Zeitkonstanten (Abbildung 1c). Diese Spektren $D_1(\nu)$ und $D_2(\nu)$ unterscheiden sich deutlich. Beim 40-ps-Zerfallsspektrum zeigen die Markerbanden, dass die Basen Cytosin (C) und Guanin (G) hauptsächlich beteiligt sind, während das 210-ps-Zerfallsspektrum überwiegend Anteile von Adenin (A) und Thymin (T) aufweist. Um Artefakte durch das Anpassen auszuschließen, konnten wir auch zeigen, dass diese spektrale Unterschiede

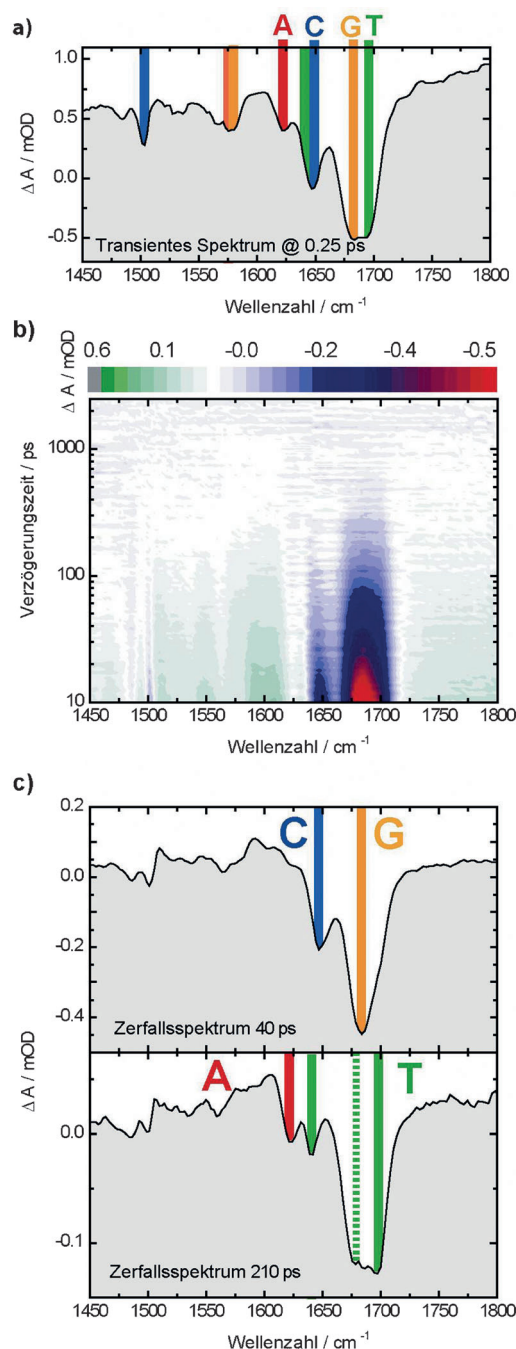


Abbildung 1. a) Transientes IR-Differenzspektrum bei einer Verzögerungszeit von 0.25 ps nach Anregung bei 266 nm. Die Positionen der Markerbanden von Adenin (A), Cytosin (C), Guanin (G) und Thymin (T) sind durch farbige Balken dargestellt. b) Absorptionsänderung in einer Konturdarstellung zu späteren Verzögerungszeiten. Die Kühlprozesse vor 10 ps sind nicht gezeigt. c) Zerfallsassozierte Spektren $D_1(\nu)$ und $D_2(\nu)$ der langsam zerfallenden Komponenten mit den Zeitkonstanten $\tau_1 = 40$ ps bzw. $\tau_2 = 210$ ps.

durch einfaches Subtrahieren von Spektren späterer Zeiten von frühen Zeiten erhalten werden können (Abbildung S5).

Die experimentellen Daten zeigen eindeutig, dass diejenigen Basen, die über das Watson-Crick-Paarungsmuster verbrückt sind, auch im Zerfallsprozess verknüpft sind.

Zudem zeigen die Daten, dass der angeregten Zustand von G und C kürzer als der von A und T lebt.

Falls die langlebigen Zustände mit Ladungstransferzuständen innerhalb eines Strangs identifiziert werden, würde man ein wesentlich komplexeres Zerfallsschema erwarten. Da die Rekombinationszeit für diese Zustände nach der Marcus-Theorie vom Redoxpotential der beteiligten Basen bestimmt ist, sollten verschiedene Sequenzen verschiedene Zerfallszeiten ergeben.^[3c] Dieses Verhalten wurde in Einzelsträngen festgestellt. Somit wird für die komplexe Sequenz der Kalbthymus-DNA ein komplexes Zerfallsschema des angeregten Zustands erwartet. Zum Beispiel zerfällt der GA-Exzimer in 300 ps,^[4a] viel länger, als die beobachteten Zeiten im Duplex. Der gemeinsame Zerfall von G und C auf der einen Seite und A und T auf der anderen, zeigt, dass hier die Basenpaarung und nicht die Basenstapelung den Zerfall des angeregten Zustands bestimmt.

Der Einfluss der Interstrang-Basenverknüpfung wurde von uns ausführlicher anhand einzelsträngiger und doppelsträngiger Oligonukleotiden untersucht. Als erstes entwarfen wir zwei komplementäre Stränge, wobei wir die Einzelbasen so auswählten, dass mit Anregungslicht bei 295 nm in jedem Strang nur eine Base, 2'-Desoxyguanosin (G) oder 5-Methyl-2'-desoxycytidin (^mC), angeregt wurde (Abbildung S6).^[4a] Die Untersuchung dieser beiden DNA-Einzelstränge (U^mCUUUUUU, AAAAAAGA; Abbildung 2a) ergab langlebige

Zustände mit charakteristischen Absorptionsbanden. Diese konnten ladungstrennte Zustände zugeordnet werden (Abbildung S7). Der ladungstrennte Zustand ^mC⁺U⁻ in U^mCUUUUUU zerfällt mit einer Zeitkonstante von 65 ps. Der ladungstrennte Zustand G⁺A⁻ in AAAAAAGA rekombiniert mit 490 ps. Der zeitliche Verlauf kann sehr gut an der Position der Grundzustandsabsorption von mC und G beobachtet werden (Abbildung 2b, grüne und blaue Symbole). Diese Ergebnisse sind in Einklang mit vorherigen Messungen am Einzelstrang.^[4a] Im nächsten Schritt verwendeten wir einen Doppelstrang bestehend aus diesen beiden Einzelsträngen. Um einen stabilen Doppelstrang zu erhalten, verknüpften wir die beide Einzelstränge über einen Hexaethylglycol-Linker zu einer Haarnadelstruktur. (Abbildung 2a, Abbildung S8, S9). In diesem Duplex können mC und G selektiv angeregt werden. Zudem kann die Rückkehr in den Grundzustand für diese beiden Basen aufgrund der unterschiedlichen Absorption im IR selektiv beobachtet werden. Die entsprechenden Verläufe für G bei 1678 cm⁻¹ (schwarz) und für ^mC bei 1652 cm⁻¹ im Doppelstrang sind in Abbildung 2b gezeigt. Eindeutig erkennt man, dass der langlebige Zustand von ^mC und G im Doppelstrang viel schneller zerfällt als in den entsprechenden Einzelsträngen. Wichtiger ist jedoch, dass sowohl für ^mC als auch für G eine Zeitkonstante von 40 ps auftritt, während die Anregungen in den Einzelsträngen viel langsamer und mit stark unterschiedlichen Zeiten zerfallen. Dieser Effekt kann nicht auf strukturelle Unterschiede im Einzel- und Doppelstrang zurückgeführt werden, da die ladungstrennten Zustände nahezu unabhängig von der Basenstapelungsgeometrie sind.^[18] Somit ist der Zerfall der angeregten Zustände von G und ^mC im Doppelstrang gekoppelt, und es ist diese Kopplung, die die Bildung von reaktiven geladenen Radikalen verhindert. Außerdem sind die Zeitkonstanten für ^mC-G für den künstlichen Doppelstrang gleich der in der natürlichen Kalbthymus-DNA. Diese Ergebnisse zeigen eindeutig, dass die Wasserstoffbrücken Entstehung und Zerfall von langlebigen Zuständen in der DNA bestimmen. Unsere Daten deuten auf einen photoinduzierten Protonentransfer zwischen den Strängen hin, welcher für den gemeinsamen Zerfall der Basenpaare verantwortlich ist. In der Tat wurde ein Protonentransfer zwischen gepaarten Basen nach Ladungstransfer innerhalb eines Strangs in der Literatur aufgrund eines Wasserstoff-Deuterium-Isotopeneffekts postuliert.^[3a,19] Der beobachtete gemeinsame Zerfall des angeregten Zustands von Basenpaare kann aber auch durch einen Protonentransfer beschrieben werden, der an einen Interstrang-Ladungstransfer gekoppelt ist.^[6] Jedoch bilden unsere beobachteten langen Lebenszeiten einen Widerspruch zu dem vorgeschlagenen Subpikosekundenzerfall aus der Theorie. Neben diesen Ladungstransfer-induzierten Protonentransferreaktionen könnte auch ein direkter photoinduzierter Doppelprotonentransfer-Mechanismus unsere Beobachtung erklären.^[20] Gemeinsam ist aber allen Modellen ein Protonentransfer, welcher zu den beobachteten Änderungen im IR-Spektrum aufgrund einer geänderten Protonenanordnung führt.

Die molekularen Prozesse nach Anregung von Nukleobasen sind in Abbildung 3 dargestellt. In den Monomeren zerfallen die optisch angeregten $\pi\pi^*$ -Zustände zumeist ul-

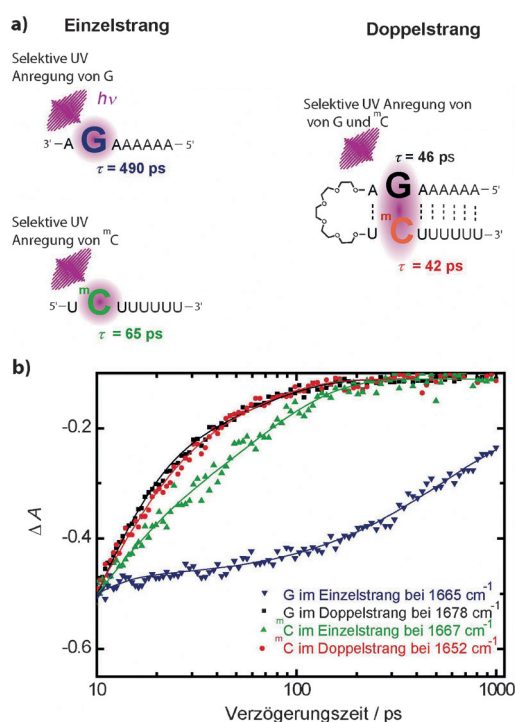


Abbildung 2. a) Pikosekunden-UV-Lichtpulse bei 295 nm ermöglichen eine selektive Anregung von 2'-Desoxyguanosin (G) in AAAAAAGA und von 5-Methyl-2'-desoxycytidin (^mC) in UmCUUUUUU-Oligonukleotiden. In dem entsprechenden Doppelstrang AAAAAAGA-UmCUUUUUU werden nur G und ^mC angeregt. b) Zeitabhängige Absorptionsänderungen im IR (normiert) an der Position der Markerbanden von G und ^mC für die einzelsträngige und doppelsträngige Probe. Die Verläufe wurden mit einer Summe von Exponentialfunktionen angepasst (Linie)

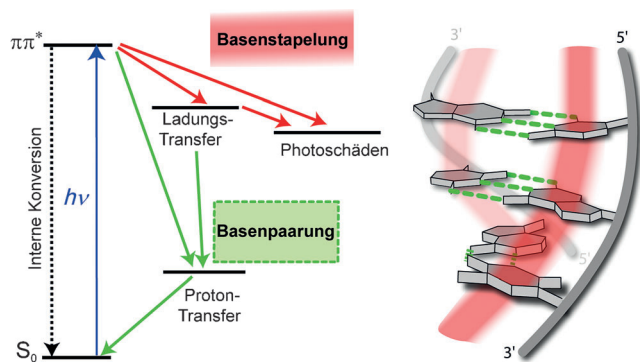


Abbildung 3. Basenstapelung in DNA-Strängen unterstützt die geordnete Anordnung der Basen, die für viele Funktionen der DNA verantwortlich ist. Jedoch ermöglicht die Stapelung auch Photoschäden, die direkt durch den $\pi\pi^*$ -Zustand oder über ladungsgetrennte intermediäre Zustände gebildet werden. Basenpaarung zwischen zwei Basen komplementärer Stränge öffnet einen neuen Zerfallskanal und deaktiviert den $\pi\pi^*$ -Zustand^[10] und die ladungsgetrennten Zustände. Somit wirkt die Basenpaarung den schädlichen ladungsgetrennten Zuständen entgegen und schützt die genetische Information.

traschnell durch interne Konversion in den Grundzustand. In Einzelsträngen ermöglicht die Basenstapelung photochemische Reaktionen zwischen benachbarten Basen (zum Beispiel Cyclobutan-Pyrimidin-Dimer (CPD)^[15b,c] oder (6-4)-Schäden^[15a]) und verursacht die Besetzung von langlebigen Radikalpaar-Zuständen. Die ladungsgetrennten Zustände sind Vorstufen des schädlichen (6-4)-Schadens in DNA^[21] und verursachen möglicherweise oxidative und reduktive Schäden.^[22] Da die Basenstapelung Ladungstransferzustände ermöglicht, ist die Basenstapelung für DNA-Schäden verantwortlich (Abbildung 3). Die Basenpaarung mit den Watson-Crick-Wasserstoffbrücken eröffnet jedoch über den Protonentransfer einen neuen Zerfallskanal,^[23] der schädliche, ladungstransferierte Zustände deaktiviert.

Eingegangen am 16. Juni 2014,

veränderte Fassung am 22. Juli 2014

Online veröffentlicht am 2. September 2014

Stichwörter: Basenpaarung · DNA-Photochemie · Femtosekunden-IR-Spektroskopie · Protonentransfer · Zerfall des angeregten Zustand

- [1] a) J. S. Taylor, *Acc. Chem. Res.* **1994**, *27*, 76–82; b) G. P. Pfeifer, Y.-H. You, A. Besaratinia, *Mutat. Res. Fundam. Mol. Mech. Mutagen.* **2005**, *571*, 19–31.
- [2] a) J.-M. L. Pecourt, J. Peon, B. Kohler, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10370–10378; b) C. E. Crespo-Hernández, B. Cohen, P. M. Hare, B. Kohler, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 1977–2020.
- [3] a) C. E. Crespo-Hernández, B. Cohen, B. Kohler, *Nature* **2005**, *436*, 1141–1144; b) C. T. Middleton, K. de La Harpe, C. Su, Y. K. Law, C. E. Crespo-Hernández, B. Kohler, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2009**, *60*, 217–239; c) T. Takaya, C. Su, K. d. L. Harpe, C. E. Crespo-Hernández, B. Kohler, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 10285–10290.
- [4] a) D. B. Bucher, B. M. Pilles, T. Carell, W. Zinth, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2014**, *111*, 4369–4374; b) G. W. Doorley, M.

- Wojdyla, G. W. Watson, M. Towrie, A. W. Parker, J. M. Kelly, S. J. Quinn, *J. Phys. Chem. Lett.* **2013**, *4*, 2739–2744.
- [5] a) G. Olaso-González, M. Merchán, L. Serrano-Andrés, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 4368–4377; b) R. Improta, V. Barone, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 12016–12019; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 12222–12225.
- [6] a) A. L. Sobolewski, W. Domcke, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2004**, *6*, 2763–2771; b) S. Perun, A. L. Sobolewski, W. Domcke, *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 9031–9038.
- [7] T. Schultz, E. Samoylova, W. Radloff, I. V. Hertel, A. L. Sobolewski, W. Domcke, *Science* **2004**, *306*, 1765–1768.
- [8] a) N. K. Schwalb, T. Michalak, F. Temps, *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 16365–16376; b) N. K. Schwalb, F. Temps, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 9272–9273.
- [9] a) A. Abo-Riziq, L. Grace, E. Nir, M. Kabelac, P. Hobza, M. S. de Vries, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 20–23; b) A. L. Sobolewski, W. Domcke, C. Hättig, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 17903–17906.
- [10] a) F.-A. Miannay, Á. Bányász, T. Gustavsson, D. Markovitsi, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 14574–14575; b) I. Vayá, F.-A. Miannay, T. Gustavsson, D. Markovitsi, *ChemPhysChem* **2010**, *11*, 987–989; c) J. Brazard, A. K. Thazhathveetil, I. Vayá, F. D. Lewis, T. Gustavsson, D. Markovitsi, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2013**, *12*, 1453–1459.
- [11] a) C. E. Crespo-Hernández, K. de La Harpe, B. Kohler, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 10844–10845; b) L. Biemann, S. A. Kovalenko, K. Kleinermanns, R. Mahrwald, M. Markert, R. Improta, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 19664–19667; c) K. de La Harpe, B. Kohler, *J. Phys. Chem. Lett.* **2011**, *2*, 133–138; d) I. Buchvarov, Q. Wang, M. Raytchev, A. Trifonov, T. Fiebig, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 4794–4797.
- [12] B. Kohler, *J. Phys. Chem. Lett.* **2010**, *1*, 2047–2053.
- [13] a) I. Vayá, T. Gustavsson, F.-A. Miannay, T. Douki, D. Markovitsi, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 11834–11835; b) I. Vayá, T. Gustavsson, T. Douki, Y. Berlin, D. Markovitsi, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 11366–11368.
- [14] N. K. Schwalb, F. Temps, *Science* **2008**, *322*, 243–245.
- [15] a) K. Haiser, B. P. Fingerhut, K. Heil, A. Glas, T. T. Herzog, B. M. Pilles, W. J. Schreier, W. Zinth, R. de Vivie-Riedle, T. Carell, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 408–411; *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 421–424; b) W. J. Schreier, J. Kubon, N. Regner, K. Haiser, T. E. Schrader, W. Zinth, P. Clivio, P. Gilch, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 5038–5039; c) W. J. Schreier, T. E. Schrader, F. O. Koller, P. Gilch, C. E. Crespo-Hernández, V. N. Swaminathan, T. Carell, W. Zinth, B. Kohler, *Science* **2007**, *315*, 625–629.
- [16] M. Banyay, M. Sarkar, A. Gräslund, *Biophys. Chem.* **2003**, *104*, 477–488.
- [17] G. W. Doorley, D. A. McGovern, M. W. George, M. Towrie, A. W. Parker, J. M. Kelly, S. J. Quinn, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 123–127; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 129–133.
- [18] a) J. Chen, B. Kohler, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 6362–6372; b) K. de La Harpe, C. E. Crespo-Hernández, B. Kohler, *ChemPhysChem* **2009**, *10*, 1421–1425.
- [19] K. de La Harpe, C. E. Crespo-Hernández, B. Kohler, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 17557–17559.
- [20] a) S. Takeuchi, T. Tahara, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 5285–5290; b) A. Douhal, S. H. Kim, A. H. Zewail, *Nature* **1995**, *378*, 260–263.
- [21] A. Banyasz, T. Douki, R. Improta, T. Gustavsson, D. Onidas, I. Vayá, M. Perron, D. Markovitsi, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 14834–14845.
- [22] S. Kanvah, J. Joseph, G. B. Schuster, R. N. Barnett, C. L. Cleveland, U. Landman, *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43*, 280–287.
- [23] M. Dittmann, F. F. Graupner, B. März, S. Oesterling, R. de Vivie-Riedle, W. Zinth, M. Engelhard, W. Lüttke, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 591–594; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 602–605.