

G-Quadruplexe

Deutsche Ausgabe: DOI: 10.1002/ange.201608275
Internationale Ausgabe: DOI: 10.1002/anie.201608275

Zuckerseitige Wechselwirkungen in einem DNA-RNA-G-Quadruplex: Hinweise auf sequentielle C–H...O-Wasserstoffbrücken als Beitrag zur RNA-Quadruplex-Faltung

Jonathan Dickerhoff, Bettina Appel, Sabine Müller und Klaus Weisz*

Abstract: DNA-G-Quadruplexe wurden systematisch an *anti*-dG-Positionen mit einzelnen Riboguanosin-Bausteinen (rG) modifiziert. Zirkulardichroismus- und NMR-Experimente bestätigen den Erhalt der nativen Quadruplex-Topologie für den Großteil der DNA-RNA-Hybridstrukturen. Veränderungen in der C8-chemischen Verschiebung von Guanosen an der 3'-Seite einer rG-Substitution im Quadruplex-Kern legen C8-H...O-Wasserstoffbrücken mit dem O2' des C2'-endo-Ribonukleotids nahe. Eine geometrische Analyse bekannter, hochaufgelöster Strukturen deutet darauf hin, dass entsprechende Wechselwirkungen ein allgemeineres Merkmal in RNA-Quadruplexen sind und möglicherweise zur beobachteten Präferenz für parallele Topologien beitragen.

Sowohl G-reiche DNA- als auch RNA-Sequenzen sind in der Lage, viersträngige Strukturen (G4) mit einem zentralen Kern aus 2- bis 4-gestapelten und mittels cyclischer Hoogsteen-Wasserstoffbrücken zusammengehaltener Guanin-Tetraden zu bilden. G-Quadruplexe zeigen in Abhängigkeit von Zahl und relativer Orientierung der einzelnen Stränge als auch von Art und Anordnung der verbindenden Loops eine bemerkenswerte strukturelle Vielfalt. Während für DNA ein großer struktureller Polymorphismus bekannt ist und teilweise auch Anwendung findet,^[1] sind für RNA die Faltungsvarianten stark eingeschränkt. Anscheinend begrenzt die zusätzliche 2'-Hydroxygruppe in G4-RNA die topologischen Möglichkeiten auf eine fast ausschließlich parallele Orientierung mit G-Nukleotiden in *anti*-Konformation. Eine nennenswerte Ausnahme bildet das „Spinach“-Aptamer mit seiner eher ungewöhnlichen Quadruplex-Faltung innerhalb einer einzigartigen Sekundärstruktur.^[2] Die starke Neigung zur Bildung paralleler RNA-Quadruplexe wird zusätzlich von kürzlich gescheiterten Versuchen unterstrichen, antiparallele Strukturen durch eine Templat-gestützte Methode zu erzwingen.^[3] Im Allgemeinen verschiebt eine C3'-endo(N)-Zuckerkonformation von Purin-Nukleosiden die Orientierung um die glykosidische Bindung zu *anti*.^[4] Während das freie Guanin-Ribonukleotid (rG) eine C2'-endo(S)-Zuckerkonformation bevorzugt,^[5] finden sich in RNA und chimären DNA-RNA-Duplexen mit ihrer spezifischen Hydratisierung C3'-endo-Konformationen.^[6,7] Diese N-Präferenz wurde oft

als ein Faktor für die Resistenz der RNA, sich in alternative G4-Strukturen mit *syn*-Guanosinen zu falten, erachtet. Allerdings nehmen rG-Nukleotide in RNA-Quadruplexen sowohl C3'-endo- als auch C2'-endo-Konformationen ein (siehe unten). Der 2'-OH-Substituent in RNA wurde zusätzlich als stabilisierender Faktor in RNA-Quadruplexen beschrieben, da er am Aufbau spezifischer Wasserstoffbrücken-Netzwerke und an veränderten Hydratisierungsmustern innerhalb der Furchen beteiligt ist.^[8] Insgesamt bleiben die entscheidenden Faktoren der ungewöhnlichen Präferenz von RNA-Quadruplexen, parallele Faltungen auszubilden, unklar und weit von einem vollständigen Verständnis entfernt.

Der Einbau von Ribonukleotid-Analoga in verschiedene Positionen eines DNA-Quadruplex wurde in der Vergangenheit dazu genutzt, um ihre Wirkung auf die globale Faltung zu untersuchen oder bestimmte Topologien zu stabilisieren.^[9–12] In den hier durchgeführten Untersuchungen wurden einzelne rG-Nukleotide mit bevorzugter *anti*-Konformation ausschließlich an passende dG-Positionen eines reinen DNA-Quadruplex eingeführt, um eine detaillierte Charakterisierung der durch die 2'-Hydroxygruppe ausgeübten Effekte zu ermöglichen. Im Folgenden wurden alle sieben *anti*-dG-Reste im G4-Kern der ODN(0)-Sequenz, welche eine intramolekulare (3+1)-Hybridstruktur mit allen drei Grundtypen an Loops ausbildet,^[13] sukzessive durch ihre rG-Analoga ersetzt (Abbildung 1a).

Um den Erhalt der Struktur zu überprüfen, wurden die resultierenden DNA-RNA-Chimären anfänglich durch Zirkulardichroismus(CD)-Spektren und durch ihre thermische Stabilität charakterisiert (Abbildung S1 in den Hintergrundinformationen). Alle modifizierten Sequenzen weisen die gleiche typische CD-Signatur einer (3+1)-Hybridstruktur auf und besitzen thermische Stabilitäten ähnlich der nativen ODN(0)-Struktur mit Ausnahme des an Position 16 rG-substituierten ODN(16). Letzteres war signifikant destabilisiert und das CD-Spektrum deutete auf strukturelle Veränderungen in Richtung einer antiparallelen Topologie hin.

Genauere strukturelle Informationen wurden aus NMR-Experimenten gewonnen. Der spektrale Bereich der Imino-protonen ist in Abbildung 2a für alle Quadruplexe dargestellt. Obwohl nur Nukleotide in passender *anti*-Konformation substituiert wurden, deutet die große Zahl von Iminosignalen in ODN(16) und ODN(22) auf erheblichen Polymorphismus hin und schließt diese beiden Hybride von weiteren Untersuchungen aus. Alle anderen Spektren ähneln der nativen ODN(0) und weisen auf eine Hauptform mit zwölf Iminoresonanzen hin, wie sie für einen Quadruplex mit drei G-Tetraden erwartet wird. Unterstützt durch die aufgrund der konservierten Faltung starken Gemeinsamkeiten mit ODN-

[*] J. Dickerhoff, Dr. B. Appel, Prof. Dr. S. Müller, Prof. Dr. K. Weisz
Institut für Biochemie, Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald
Felix-Hausdorff-Str. 4, 17487 Greifswald (Deutschland)
E-Mail: weisz@uni-greifswald.de

Hintergrundinformationen und die Identifikationsnummer (ORCID) eines Autors sind unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201608275> zu finden.

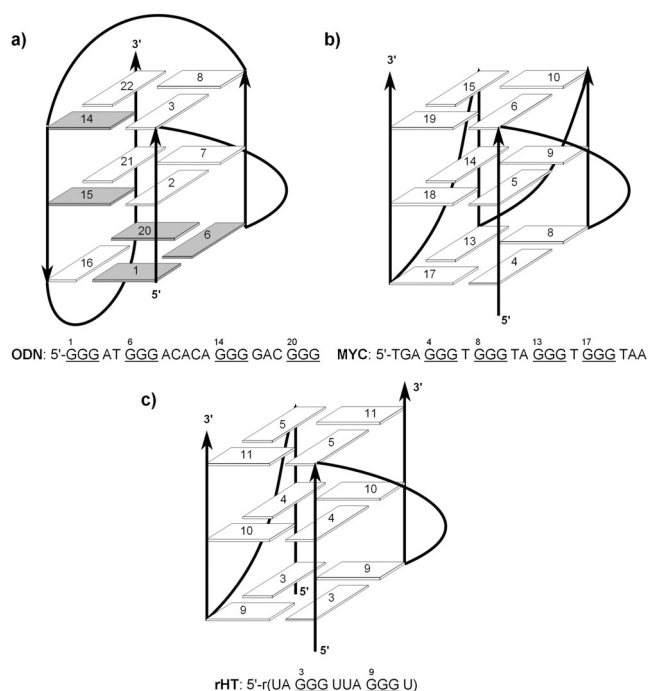


Abbildung 1. Sequenz und Topologie der a) ODN-, b) MYC- und c) rHT-Quadruplexe; G-Nukleotide in *syn*- und *anti*-Konformation sind durch dunkle bzw. helle Rechtecke dargestellt.

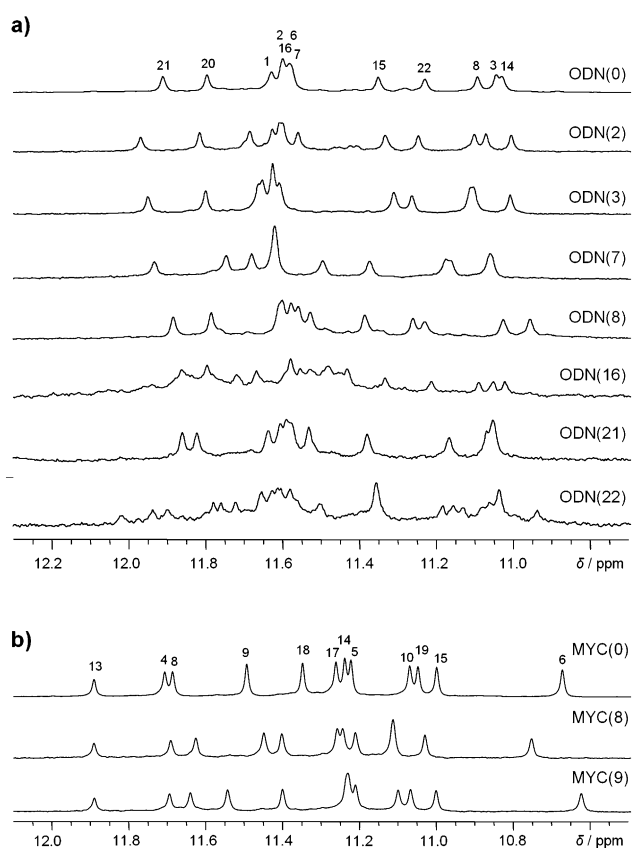


Abbildung 2. Spektraler Bereich der Iminoprotonen der nativen und substituierten Quadruplexe für a) ODN bei 25°C und b) MYC bei 40°C in 10 mM Kaliumphosphatpuffer, pH 7; Signalzuordnungen für Guanine in den G-Trakten sind für die nativen Quadruplexe angegeben.

(0) konnten die meisten Protonen und C6/C8- ^{13}C -Resonanzen der einfach substituierten Hybride durch Standard-NMR-Methoden wie 2D-NOE- und ^1H - ^{13}C -HSQC-Spektren zugeordnet werden (siehe Hintergrundinformationen).

Für alle 2'-Desoxyguanosine des nativen Quadruplex ODN(0) wurde eine S-typische Konformation gefunden. Für die modifizierten Quadruplexe wurden Zuckerkonformationen der Guanin-Ribonukleotide über endocyclische ^1H - ^1H -vicinale Kopplungskonstanten bestimmt (Abbildung S4). Die Abwesenheit einer aufgelösten H1'-H2'-Kopplung deutet auf eine N-typische C3'-endo-Konformation für den Ribosezucker in ODN(8) hin. Im Gegensatz dazu sind die skalaren Kopplungen $J(\text{H}1',\text{H}2') \geq 8 \text{ Hz}$ in den Hybridstrukturen ODN(2), ODN(3), ODN(7) und ODN(21) nur mit Pseudorotameren im S-Bereich kompatibel.^[14] Offensichtlich nehmen die meisten der eingebauten Ribonukleotide die allgemein weniger bevorzugte S-Zuckerkonformation des ersetzten 2'-Desoxyribonukleotids ein.

Mit unveränderter Struktur im Fall der fünf gut definierten, einfach modifizierten Quadruplexe können chemische Verschiebungsänderungen im Vergleich zur nicht-modifizierten ODN(0) direkt auf das eingesetzte Ribonukleotid mit seiner zusätzlichen 2'-Hydroxygruppe zurückgeführt werden. Änderungen in ^1H - und ^{13}C -chemischen Verschiebungen bei einer rG-Substitution sind in Abbildung S5 für alle Imino, H1', H6/H8 und C6/C8 zusammengestellt. Zusätzlich zu den erwarteten Unterschieden für rG-modifizierte Reste und für die flexibleren Diagonal-Loops betreffen auffällig große Effekte die C8-Resonanzen von Guaninbasen, welche auf die Substitutionsstelle folgen.

Deutliche ^{13}C -chemische Verschiebungsdifferenzen für Guanosin C8 in einer *syn*- und *anti*-Konformation um die glykosidische Bindung wurden vor kurzem dazu genutzt, um eine G-Tetradendrehung in einem 2'-Fluor-dG-modifizierten Quadruplex zu bestätigen.^[15] Andererseits werden C8-chemische Verschiebungen von kleineren Änderungen in der Zuckerkonformation und dem glykosidischen Torsionswinkel χ speziell in der *anti*-Region ($-180^\circ < \chi < -120^\circ$) kaum beeinflusst.^[16] Ohne größere strukturelle Umlagerungen ist es daher bemerkenswert, erhebliche C8-Entschirmungseffekte von mehr als 1 ppm ausschließlich bei denjenigen Guaninen zu beobachten, welche auf die zentral gelegenen rG-Substitutionen mit S-Konformation in ODN(2), ODN(7) und ODN(21) folgen (Abbildung 3 a). In ähnlicher Weise erfahren entsprechende H8-Resonanzen Tieffeldverschiebungen, wenn auch in kleinerem Ausmaß und besonders gut sichtbar in ODN(7) und ODN(21) mit einem $\Delta\delta > 0.2 \text{ ppm}$ (Abbildung S5). Es sollte jedoch angemerkt werden, dass H8-chemische Verschiebungen stärker von Art und Konformation des Zuckers sowie dem glykosidischen Torsionswinkel abhängen, wodurch die Interpretation der H8-chemischen Verschiebung weniger eindeutig ist.^[16]

Um herauszufinden, ob diese Effekte in der chemischen Verschiebung auch in parallelen G4-Faltungen reproduzierbar sind, wurde die aus der Promotorregion des c-MYC-Onkogens stammende Quadruplex-DNA MYC(0) ebenfalls durch entsprechende dG \rightarrow rG-Substitutionen modifiziert (Abbildung 1 b).^[17] Aufgrund der Pseudosymmetrie der parallelen MYC(0) wurden nur die Positionen 8 und 9 entlang

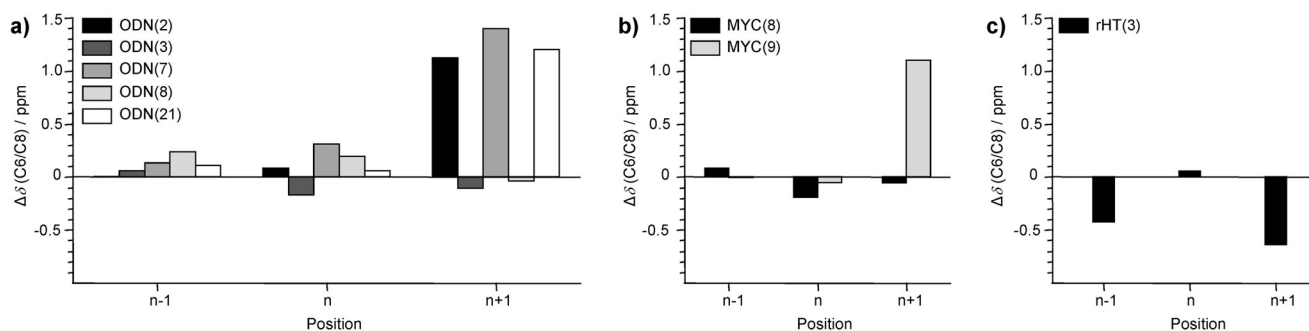


Abbildung 3. Veränderungen in der ^{13}C -chemischen Verschiebung des C6/C8 in a) ODN, b) MYC und c) rHT; Quadruplexe wurden mit rG (ODN, MYC) oder dG (rHT) an der Position n modifiziert und mit der unmodifizierten G4-DNA oder G4-RNA verglichen.

eines G-Traktes mit rG jeweils einfach substituiert. Auch hier bestätigen ^1H -Iminoresonanzen und CD-Spektren den Erhalt der nativen Faltung (Abbildung 2b und S6). Eine Analyse der Zuckerkonformation basierend auf $\text{H1}'\text{-H2}'$ -skalaren Kopplungen zeigt jeweils N- bzw. S-Pseudorotamere für rG in MYC(8) und MYC(9) (Abbildung S7). Diese unterschiedlichen Präferenzen in der Zuckerkonformation konnten aufgrund der guten spektralen Auflösung zusätzlich durch $\text{C3}'$ -chemische Verschiebungen, welche stark von der Zuckerkonformation jedoch nicht vom Winkel χ abhängen, untermauert werden.^[16] So stimmen die beobachteten, erheblichen Differenzen von mehr als 4 ppm zwischen dem $\text{C3}'$ des rG8 und rG9 mit früheren DFT-Berechnungen an N- und S-Ribonukleotiden überein (Abbildung S12). Darüber hinaus weisen vernachlässigbare Veränderungen in den $\text{C3}'$ -chemischen Verschiebungen anderer Reste und nur minimale Veränderungen in der ^{31}P -chemischen Verschiebung neben der Substitutionsstelle darauf hin, dass die rG-Substitution in MYC(9) keinen nennenswerten Einfluss auf die Konformation der benachbarten Zucker und des Phosphodiester-Rückgrats besitzt (Abbildung S13).

Analog zu ODN wurden entsprechende ^{13}C -entschirmende Effekte für C8 an dem Guanin beobachtet, welches dem rG mit S-Konformation in MYC(9) folgt, jedoch nicht an dem Guanin, welches dem rG mit N-Konformation in MYC(8) folgt (Abbildung 3b). Während ein Ribosezucker in S-Konformation eine räumliche Nähe zwischen seiner 2'-OH-Gruppe und C8-H der folgenden Base erlaubt, zeigt die 2'-Hydroxygruppe eines Zuckers in der N-Konformation von der 3'-benachbarten Base weg (Abbildung S14). Entsprechende Kerne sind in ODN(3) mit rG vor einem Propeller-Loop sogar noch weiter entfernt. Daher legt das wiederkehrende Muster der Veränderungen in den chemischen Verschiebungen Wechselwirkungen vom Typ $\text{O2}'_{(n)}\cdots\text{C8-H}_{(n+1)}$ an geeigneten Schritten entlang der G-Trakte nahe, wobei Übereinstimmung mit ^{13}C -Entschirmungseffekten, wie sie für aliphatische und aromatische Kohlenstoff-Donoren in $\text{C-H}\cdots\text{O}$ -Wasserstoffbrücken berichtet wurden, besteht.^[18] Zusätzlich werden solche internukleotidischen Wasserstoffbrücken von quantenchemischen Rechnungen an einem Dinukleotid-Fragment des ODN-Quadruplex unterstützt, welche entsprechende chemische Verschiebungsänderungen bestätigen (siehe Hintergrundinformationen). Da diese H-Brücken mit einer, wenn auch kleinen, Erhöhungen der ^{13}C - ^1H -skala-

ren Kopplung verbunden sein sollten,^[18] wurde auch die $^1\text{J}(\text{C8},\text{H8})$ -Kopplung in MYC(9) bestimmt. Tatsächlich erfährt im Vergleich zur ursprünglichen MYC(0) nur Nukleotid G10 eine Erhöhung der C8-H8-Kopplung um nahezu 3 Hz nach Einbau von rG9 (Abbildung 4). In gleicher Weise konnte eine entsprechende Erhöhung von $^1\text{J}(\text{C8},\text{H8})$ auch in ODN(2) detektiert werden (Abbildung S15).

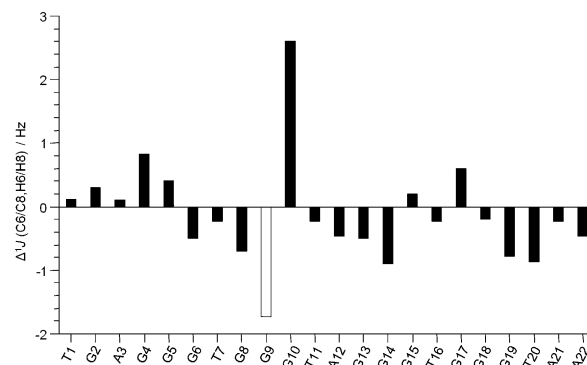


Abbildung 4. Veränderungen der C6/C8-H6/H8 ^1J -skalaren Kopplung in MYC(9) im Vergleich zu MYC(0); der weiße Balken entspricht der rG-Substitutionsstelle; experimentelle Unsicherheit ± 0.7 Hz.

Es stellt sich die Frage, ob solche Wechselwirkungen eine allgemeinere Eigenschaft von G4-RNA sind. Um nach möglichen CHO -Wasserstoffbrücken in RNA-Quadruplexen zu suchen, wurden NMR- und Kristallstrukturen aus der Protein Data Bank einer detaillierten Analyse unterzogen. Es wurden dabei nur Sequenzen mit nicht unterbrochenen G-Trakten und NMR-Strukturen, die mit Restraints für die Zuckerkonformation erhalten wurden, berücksichtigt.^[8,19–24] CHO -Wechselwirkungen wurden basierend auf einem $\text{H}\cdots\text{O}$ -Abstand $< 3 \text{ \AA}$ und einem $\text{CH}\cdots\text{O}$ -Winkel zwischen 110° und 180° identifiziert.^[25] Tatsächlich scheinen mit diesen Kriterien sequentielle $\text{C8-H}\cdots\text{O2}'$ -Wechselwirkungen zwischen Hoogsteen- und Zuckerseite ein wiederkehrendes Motiv in RNA-Quadruplexen zu sein, wobei der H-Brücken-Zuckerakzeptor immer in S-Konformation, also zwischen $\text{C2}'\text{-endo}$ und $\text{C2}'\text{-exo}$, vorliegt (Tabelle S1). Mit Ausnahme einer tetramolekularen Struktur, wo unter den Kristallisationsbedingungen oft eine besondere Octaplex-Struktur ausgebildet wird,^[23] erlau-

ben die Geometrien eine entsprechende H-Brücke in jedem oder jedem zweiten G-Trakt.

Die Bildung von CHO-Wasserstoffbrücken in einem reinen RNA-Quadruplex wurde zusätzlich durch eine inverse rG→dG-Substitution eines geeigneten Restes mit S-Konformation getestet. Für dieses Experiment wurde eine bimolekulare, telomere RNA-Sequenz rHT verwendet, deren G4-Struktur sowohl durch NMR- als auch röntgenkristallographische Untersuchungen mit ähnlichen Ergebnissen gelöst wurde (Abbildung 1c).^[8,22] So zeigen beide Strukturen einen G3-Rest mit S-Konformation und einer geometrischen Anordnung, die C8-H...O2'-Wasserstoffbrücken ermöglicht (Abbildung 5). Tatsächlich wird, wie bei Verlust des vorge-

her struktureller Stabilität bei.^[27] Angesichts der Notwendigkeit von *anti*-glykosidischen Bindungswinkeln für die 3'-benachbarten, nukleotidischen H-Donoren könnten damit C8-H...O2'-Wechselwirkungen zur bevorzugten RNA-Faltung in parallele G4-Strukturen mit ausschließlich *anti*-Konformeren beitragen.

Stichwörter: CHO-Wasserstoffbrücke · DNA-RNA-Hybrid · G-Quadruplexe · NMR-Spektroskopie

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, 55, 15162–15165
Angew. Chem. **2016**, 128, 15386–15390

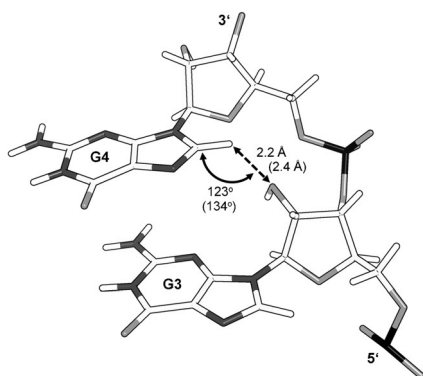


Abbildung 5. Angenommene C–H...O-Wasserstoffbrücken zwischen Zucker und Base von G3 und G4 in der NMR-Lösungsstruktur rHT.^[22] Werte in Klammern wurden der entsprechenden Kristallstruktur entnommen.^[8]

schlagenen CHO-Kontakts zu erwarten, experimentell eine signifikante Abschirmung des G4 C8 in der dG-modifizierten rHT(3) beobachtet (Abbildung 3c). Der kleinere Effekt im inversen Fall kann dabei auf Unterschiede im Hydratationsmuster und in der strukturellen Flexibilität des RNA-Quadruplex zurückgeführt werden. Ein ebenfalls erkennbarer Abschirmeffekt am (*n*–1) Adeninrest spiegelt wahrscheinlich Anpassungen des benachbarten Überhangs infolge des dG-Einbaus wider.

Obwohl die wichtige Rolle von Wasserstoffbrücken für biomolekulare Strukturen weitgehend akzeptiert ist, ist ihr experimenteller Nachweis in Lösung aufgrund ihrer kleinen Effekte und dem Mangel an geeigneten Vergleichssubstanzen nur schwer zu führen. Die einfach substituierten Quadruplexe bieten eine einzigartige Gelegenheit, im Allgemeinen unbemerkte, durch ein Ribonukleotid induzierte Änderungen zu erfassen und deuten so auf die Bildung sequentieller CHO-Wasserstoffbrücken zwischen Base und Zucker in den chimeren DNA-RNA-Quadruplexen hin. Dissoziationsenergien von H-Brücken mit C-H-Donoren betragen 0.4–4 kcal mol^{–1},^[26] können aber über Synergieeffekte einen bemerkenswert stabilisierenden Einfluss ausüben, wie es auch für i-Motive beobachtet wurde. In diesen alternativen viersträngigen Nukleinsäurestrukturen addieren sich schwache Zucker-Zucker-Wasserstoffbrücken und tragen zu erhebli-

- [1] a) S. Burge, G. N. Parkinson, P. Hazel, A. K. Todd, S. Neidle, *Nucleic Acids Res.* **2006**, 34, 5402–5415; b) M. Webba da Silva, *Chem. Eur. J.* **2007**, 13, 9738–9745.
- [2] H. Huang, N. B. Suslov, N.-S. Li, S. A. Shelke, M. E. Evans, Y. Koldobskaya, P. A. Rice, J. A. Piccirilli, *Nat. Chem. Biol.* **2014**, 10, 686–691.
- [3] a) O. Mendoza, M. Porrini, G. F. Salgado, V. Gabelica, J.-L. Mergny, *Chem. Eur. J.* **2015**, 21, 6732–6739; b) L. Bonnat, J. Dejeu, H. Bonnet, B. Génaro, O. Jarjays, F. Thomas, T. Lavergne, E. Defrancq, *Chem. Eur. J.* **2016**, 22, 3139–3147.
- [4] W. Saenger, *Principles of Nucleic Acid Structure*, Springer, New York **1984**, Kap. 4.
- [5] J. Plavec, C. Thibaudau, J. Chattopadhyaya, *Pure Appl. Chem.* **1996**, 68, 2137–2144.
- [6] a) C. Ban, B. Ramakrishnan, M. Sundaralingam, *J. Mol. Biol.* **1994**, 236, 275–285; b) E. F. DeRose, L. Perera, M. S. Murray, T. A. Kunkel, R. E. London, *Biochemistry* **2012**, 51, 2407–2416.
- [7] S. Barbe, M. Le Bret, *J. Phys. Chem. A* **2008**, 112, 989–999.
- [8] G. W. Collie, S. M. Haider, S. Neidle, G. N. Parkinson, *Nucleic Acids Res.* **2010**, 38, 5569–5580.
- [9] C.-F. Tang, R. H. Shafer, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 5966–5973.
- [10] J. Qi, R. H. Shafer, *Biochemistry* **2007**, 46, 7599–7606.
- [11] B. Saccà, L. Lacroix, J.-L. Mergny, *Nucleic Acids Res.* **2005**, 33, 1182–1192.
- [12] N. Martín-Pintado, M. Yahyaee-Anzahaee, G. F. Deleavey, G. Portella, M. Orozco, M. J. Damha, C. González, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 5344–5347.
- [13] M. Marušič, P. Šket, L. Bauer, V. Viglasky, J. Plavec, *Nucleic Acids Res.* **2012**, 40, 6946–6956.
- [14] F. A. A. M. De Leeuw, C. Altona, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1982**, 375–384.
- [15] J. Dickerhoff, K. Weisz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, 54, 5588–5591; *Angew. Chem.* **2015**, 127, 5680–5683.
- [16] J. M. Fonville, M. Swart, Z. Vokáčová, V. Sychrovský, J. E. Šponer, J. Šponer, C. W. Hilbers, F. M. Bickelhaupt, S. S. Wijmenga, *Chem. Eur. J.* **2012**, 18, 12372–12387.
- [17] A. Ambrus, D. Chen, J. Dai, R. A. Jones, D. Yang, *Biochemistry* **2005**, 44, 2048–2058.
- [18] a) R. L. Lichter, J. D. Roberts, *J. Phys. Chem.* **1970**, 74, 912–916; b) M. P. M. Marques, A. M. Amorim da Costa, P. J. A. Ribeiro-Claro, *J. Phys. Chem. A* **2001**, 105, 5292–5297; c) M. Sigalov, A. Vashchenko, V. Khodorkovsky, *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 92–100.
- [19] C. Cheong, P. B. Moore, *Biochemistry* **1992**, 31, 8406–8414.
- [20] H. Liu, A. Matsugami, M. Katahira, S. Uesugi, *J. Mol. Biol.* **2002**, 322, 955–970.
- [21] T. Mashima, A. Matsugami, F. Nishikawa, S. Nishikawa, M. Katahira, *Nucleic Acids Res.* **2009**, 37, 6249–6258.
- [22] H. Martadinata, A. T. Phan, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 2570–2578.
- [23] M. C. Chen, P. Murat, K. Abecassis, A. R. Ferré-D'Amaré, S. Balasubramanian, *Nucleic Acids Res.* **2015**, 43, 2223–2231.

- [24] J. Deng, Y. Xiong, M. Sundaralingam, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, 98, 13665–13670.
- [25] a) G. R. Desiraju, *Acc. Chem. Res.* **1996**, 29, 441–449; b) M. Brandl, K. Lindauer, M. Meyer, J. Sühnel, *Theor. Chem. Acc.* **1999**, 101, 103–113.
- [26] T. Steiner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 48–76; *Angew. Chem.* **2002**, 114, 50–80.
- [27] I. Berger, M. Egli, A. Rich, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, 93, 12116–12121.
- Eingegangen am 24. August 2016,
veränderte Fassung am 29. September 2016
Online veröffentlicht am 7. November 2016
-