

von den Kernoligosacchariden aufgenommen und ROESY-Spektren (Mischzeit 250 ms) von **1–3**. Für die Zuordnung der NMR-Signale wurde das Programm Pronto^[12] verwendet. NMR-Messungen, GC-, GC-MS-, Methylierungs- und Monosaccharidanalysen wurden wie bereits beschrieben durchgeführt.^[13, 14]

Herstellung der Kernoligosaccharide und der Oligosaccharide **1–3**: LPS der Serotypen O27 und OX2 (je 200 mg) wurden mit 2proz. Essigsäure (100 °C, 5 h) hydrolysiert. Der erhaltene Niederschlag wurde durch Zentrifugieren entfernt und der Überstand auf einer Sephadex-G50-SF-Säule (Pharmacia; 2,5 × 80; Detektion mit einem Waters-Differentialrefraktometer) unter Verwendung von Pyridin-Essigsäure-Puffer (4 bzw. 10 mL in 1 L Wasser) aufgetrennt. Die Kernfraktionen wurden auf einer TSK-DEAE-Säule (1,5 × 20 cm) in Wasser unter refraktometrischer Detektion weiter aufgetrennt und lieferten mehrere Unterfraktionen. Zur Analyse wurde die letzte eluierte Fraktion verwendet. Die Kernoligosaccharide (je 20 mg) wurden in Wasser gelöst (2 mL) und NaNO₂ (5 mg) und AcOH (30 µL) hinzugefügt. Nach 1 h bei 20 °C wurden die Mischungen durch Gelfiltrationschromatographie über eine TSK-HW40(S)-Gel-Säule (Merck, 1,6 × 80 cm) entsalzt. Fraktionen, die die Oligosaccharide **1–3** enthielten (detektiert durch NMR), wurden durch aufsteigende Papierchromatographie (Whatman-Nr.-1-Papier) in Pyridin/Butanol/Essigsäure/Wasser (1/1/1/1) getrennt, wobei eine alkalische Silbernitratlösung zur Detektion verwendet wurde. Die Oligosaccharide **1–3** wurden mit Wasser vom Papier eluiert.

Eingegangen am 5. Oktober 1998 [Z12485]

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 671–674

Stichwörter: Glycoside • Kohlenhydrate • Naturstoffe • NMR-Spektroskopie

- [1] B. Lindberg, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1990**, 48, 279–318.
- [2] J. Radziejewska-Lebrecht, H. Mayer, *Eur. J. Biochem.* **1989**, 183, 573–581.
- [3] J. Radziejewska-Lebrecht, U. R. Bhat, H. Brade, H. Mayer, *Eur. J. Biochem.* **1988**, 172, 535–541.
- [4] K. Kotelko, M. Deka, W. Gromska, W. Kaca, J. Radziejewska-Lebrecht, A. Rozalski, *Arch. Immunol. Ther. Exp.* **1983**, 31, 619–624.
- [5] J. Radziejewska-Lebrecht, U. Feige, M. Jensen, K. Kotelko, H. Friebolin, H. Mayer, *Eur. J. Biochem.* **1980**, 107, 31–38.
- [6] J. Boll, J. Radziejewska-Lebrecht, C. Warth, D. Krajewska-Pietrasik, H. Mayer, *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **1994**, 8, 329–342.
- [7] E. V. Vinogradov, J. Thomas-Oates, H. Brade, O. Holst, *J. Endotoxin Res.* **1994**, 1, 199–206.
- [8] R. A. Laine, *Pure Appl. Chem.* **1997**, 69, 1867–1873.
- [9] Y. A. Knirel, N. K. Kochetkov, *Biochemistry (Moscow)* **1994**, 59, 1325–1383.
- [10] E. V. Vinogradov, W. Kaca, A. Rozalski, A. S. Shashkov, M. Cedzynski, Y. A. Knirel, N. K. Kochetkov, *Eur. J. Biochem.* **1991**, 200, 195–201.
- [11] E. V. Vinogradov, D. Pietrasik, A. S. Shashkov, Y. A. Knirel, N. K. Kochetkov, *Bioorg. Khim.* **1988**, 14, 1282–1286.
- [12] M. Kjaer, K. V. Andersen, F. M. Poulsen, *Methods Enzymol.* **1994**, 239, 288–308.
- [13] E. V. Vinogradov, O. Holst, J. Thomas-Oates, K. W. Broady, H. Brade, *Eur. J. Biochem.* **1992**, 210, 491–498.
- [14] E. V. Vinogradov, K. Bock, B. Petersen, O. Holst, H. Brade, *Eur. J. Biochem.* **1997**, 243, 122–127.

Die gegensätzliche Orientierung der Rückgratneigung in Pyranosyl-RNA und homo-DNA korreliert mit einer entsprechend gegensätzlichen Orientierung von Duplexeigenschaften**

Ronald Micura, René Kudick, Stefan Pitsch und Albert Eschenmoser*

In früheren Veröffentlichungen über Pyranosyl-RNA (p-RNA)^[1] haben wir auf die besondere Bedeutung der Interstrang-Basenstapelung für die Eigenschaften dieses oligonucleotidischen Basenpaarungssystems hingewiesen. Zu den beeinflussten Eigenschaften gehören die Sequenzmotivabhängigkeit der Stabilität von p-RNA-Duplexen,^[1a,e,f] die Regioselektivität des Einflusses von überhängenden Basen („dangling ends“) auf die Duplexstabilität^[1d] sowie die Sequenzabhängigkeit der Effizienz und Selektivität matrizengesteuerter Ligationen bei der Replikation^[1f] und der autokatalytischen Oligomerisierung^[1e] von p-RNA-Basensequenzen. Die Dominanz der Interstrang- über die Intrastrang-Basenstapelung in diesem Paarungssystem ist die Folge der ausgeprägten Neigung der (approximierten) Rückgratachse relativ zu den Achsen der Watson-Crick-Basenpaare. Näherungsweise läßt sich eine solche Rückgratneigung leicht aus der idealisierten Paarungskonformation eines p-RNA-Stranges ablesen (Abbildung 1 a, b). Der Typ dieser Konformation ist konformationsanalytisch nach Kriterien der Spannungsminimierung hergeleitet^[1a] und durch die Ergebnisse einer NMR-Strukturanalyse am p-RNA-Duplex [pr(CGAATT-CG)]₂^[1c] belegt. Mit dieser Analyse stimmt eine auf Molekülmechanikberechnungen beruhende Modellierung des gleichen Duplex überein.^[1c] Danach ist die Interstrang-Basenstapelung zwischen Purinen sowie zwischen Purinen und Pyrimidinen, jedoch nicht zwischen Pyrimidinen^[1c] zu erwarten (Abbildung 1 c).

Nicht nur p-RNA, sondern auch die früher eingehend untersuchte homo-DNA^[2] ist ein Paarungssystem mit starker Rückgratneigung. Diese weist aber – wie die beiden idealisierten Paarungskonformationen der homo-DNA^[2a,c] in Abbildung 1 a, b zeigen – die umgekehrte Orientierung wie die p-RNA auf. Nach einer am homo-DNA-Duplex [ddGlc(A₅T₅)]₂ durchgeführten NMR-Strukturanalyse^[2d] sollte zu-

[*] Prof. Dr. A. Eschenmoser, Dr. R. Micura, Dr. R. Kudick, Dr. S. Pitsch
Laboratorium für Organische Chemie der Eidgenössischen Technischen Hochschule
Universitätsstrasse 16, CH-8092 Zürich (Schweiz)
Fax: (+41) 1-632-1043
und
The Skaggs Institute for Chemical Biology at The Scripps Research Institute
10550 North Torrey Pines Road, La Jolla, CA 92037 (USA)

[**] Chemie der Pyranosyl-RNA, 8. Mitteilung; Chemie von α -Aminonitrilen, 24. Mitteilung. Diese Arbeit wurde von der Ciba-Geigy AG, Basel, der Leitung der ETH Zürich und der Skaggs Foundation am Scripps Research Institute unterstützt. Dr. H.-V. Hoppe, Dr. N. Windhab und Dr. C. Miculka, vormals Hoechst AG, Frankfurt, danken wir für die Überlassung von Zwischenprodukten. R.M. dankt dem Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung, Wien, für ein Schrödinger-Stipendium. – 7. bzw. 23. Mitteilung: Lit. [1e].

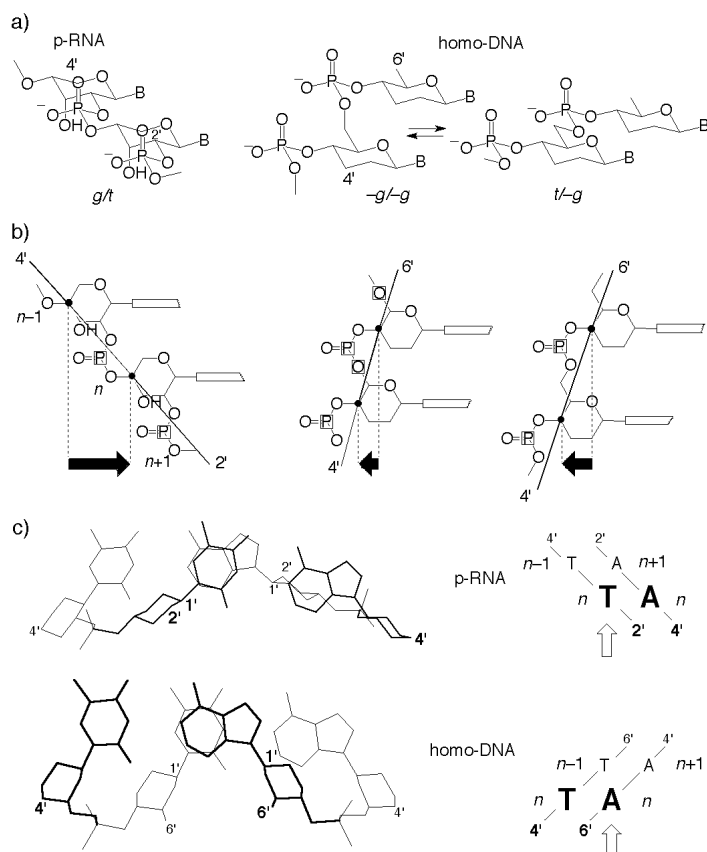


Abbildung 1. a) Idealisierte Paarungskonformationen für p-RNA^[1a,c] und homo-DNA.^[2a,c,d] b) Paarungskonformationen in der Projektion senkrecht zu den mittleren Ebenen der Pyranosesessel mit Angabe der Orientierung und des ungefähren Ausmaßes der Rückgratneigung (nucleosidische Torsionswinkel -120°). c) Projektionen senkrecht zur Ebene eines ausgewählten Basenpaares im p-RNA-Duplex [pr(CGAATTCG)]₂^[1c] und homo-DNA-Duplex [ddGlc(A₅T₅)]₂.^[2d] Die Projektion illustriert strangaufwärts die Interstrang-Basenstapelung zwischen Thymin und Adenin im p-RNA-Duplex und strangabwärts die Interstrang-Basenstapelung zwischen Thymin und Adenin im homo-DNA-Duplex (strukturgetreue Wiedergaben aus Lit. [1c, 2d]).

Tabelle 1. Schmelztemperaturen T_m (in $^\circ\text{C}$) und thermodynamische Daten (in kcal mol^{-1}) der untersuchten p-RNA- und homo-DNA-Duplexe.^[a-c]

| Nr. | selbstkomplementäre Sequenzen | T_m | p-RNA-Duplexe | | | T_m | homo-DNA-Duplexe | | |
|-----|-------------------------------|-------|---------------|---------------|-----------------------------------|-------|------------------|---------------|-----------------------------------|
| | | | $-\Delta G^0$ | $-\Delta H^0$ | $-T\Delta S_{25^\circ\text{C}}^0$ | | $-\Delta G^0$ | $-\Delta H^0$ | $-T\Delta S_{25^\circ\text{C}}^0$ |
| 1 | TTTTAAAA | 40 | 9.8 | 59.9 | 50.1 | 34 | 8.2 | 46.9 | 38.7 |
| 2 | AAAATTTT | 27 | 7.3 | 48.1 | 40.8 | 38 | 8.6 | 43.1 | 34.5 |
| 3 | TTTTTAAAAA | 54 | 12.8 | 67.6 | 54.8 | 45 | 10.3 | 55.1 | 44.8 |
| 4 | AAAAATTTTT | 43 | 10.8 | 71.9 | 61.1 | 50 | 11.4 | 58.3 | 46.9 |
| 5 | CCCGGG | 68 | 13.0 | 48.5 | 35.5 | 49 | 9.7 | 39.8 | 30.1 |
| 6 | GGGCCC | 58 | 10.8 | 41.3 | 30.4 | 53 | 10.4 | 40.9 | 30.5 |
| 7 | TATATATA | 40 | 9.3 | 51.6 | 42.3 | 38 | 8.8 | 45.4 | 36.6 |
| 8 | ATATATAT | 38 | 9.2 | 58.7 | 49.5 | 39 | 8.7 | 41.0 | 32.3 |
| 9 | ATATATA | 38 | 9.1 | 54.2 | 45.1 | 34 | 8.0 | 45.5 | 37.5 |
| 10 | TATATAT | 29 | 7.4 | 43.6 | 36.2 | 25 | 6.8 | 30.9 | 24.2 |
| 11 | CGCGCG | 65 | 12.5 | 47.9 | 35.4 | 55 | 10.9 | 40.7 | 29.8 |
| 12 | GCGCGC | 62 | 11.3 | 40.5 | 29.2 | 53 | 10.9 | 42.7 | 31.8 |
| 13 | TACGTA | 39 | 8.7 | 40.9 | 32.2 | 27 | 7.0 | 33.6 | 26.6 |
| 14 | ATGCAT | 29 | 7.3 | 36.0 | 28.7 | 37 | 8.1 | 34.2 | 26.1 |
| 15 | TACGTAG | 46 | 10.3 | 53.1 | 42.8 | 23 | 6.9 | 34.0 | 27.1 |
| 16 | GTACGTA | 37 | 8.3 | 39.0 | 30.7 | 47 | 10.9 | 52.0 | 41.1 |
| 17 | ATGCATG | 51 | 10.9 | 51.0 | 40.1 | 32 | 8.0 | 32.8 | 24.8 |
| 18 | GATGCAT | 28 | 7.1 | 36.6 | 29.5 | 43 | 10.2 | 54.7 | 44.5 |

[a] Meßbedingungen: $10\ \mu\text{M}$, $0.15\ \text{M}$ NaCl, $0.01\ \text{M}$ Tris \cdot HCl, pH 7.0; thermodynamische Daten ermittelt aus der Auftragung von T_m^{-1} gegen $\ln c$; zur Methode siehe Lit. [9]; geschätzter Fehler für $\Delta H^0 \pm 5\%$. [b] Zur Herstellung von p-RNA-Duplexen siehe Lit. [1a,b], von homo-DNA-Duplexen Lit. [2b,e]. [c] p-RNA-Daten für Nr. 1, 2, 8 aus Lit. [1b,f], für Nr. 5, 6 aus Lit. [1f], für 11, 12 aus Lit. [1b]; homo-DNA-Daten:^[10] für Nr. 12 vgl. auch Lit. [2c]. Tris = Tris(hydroxymethyl)aminomethan.

mindest in einer der beiden Paarungskonformationen, in $t/-g$, Interstrang-Basenstapelung in vergleichbarem Ausmaß wie bei der p-RNA vorherrschen (Abbildung 1c). Während die Interstrang-Basenstapelung in der p-RNA strangaufwärts gerichtet ist (Base n stapelt mit Base $n+1$ des Komplementärstrangs), ist sie es in der homo-DNA strangabwärts (n stapelt mit $n-1$, Abbildung 1c). Wenn die Interstrang-Basenstapelung tatsächlich einen dominierenden Einfluß auf die Sequenzabhängigkeit der Eigenschaften von p-RNA-Duplexen hat, muß in der homo-DNA-Serie der Vektor der Sequenzabhängigkeit entsprechender Duplexeigenschaften in die umgekehrte Richtung weisen. Damit bietet sich die willkommene Gelegenheit, durch den Vergleich stapelungsrelevanter Eigenschaften ausgewählter Duplexe der p-RNA- und der homo-DNA-Serie die These von der Dominanz der Interstrang-Basenstapelung für die Eigenschaften von Oligonucleotiden mit starker Rückgratneigung zu überprüfen. Wir stellten deshalb für einen direkten Vergleich beider Systeme noch fehlende Basensequenzen (insbesondere der homo-DNA-Serie) her. In der Tat weisen die Sequenzmotivabhängigkeiten der Duplexstabilitäten in den beiden Paarungssystemen ausnahmslos in die entgegengesetzte Richtung. Darüber hinaus stellten wir eine höchst bemerkenswerte Quasi-Enantiomorphie der CD-Spektren von Duplexen gleicher Basensequenz in den beiden Serien fest, wiewohl die zugehörigen Zuckerbausteine den gleichen Chiralitätssinn haben.

Tabelle 1 enthält die experimentellen Daten zur thermischen und thermodynamischen Stabilität der miteinander verglichenen Paarungskomplexe, die aus jeweils antiparallel selbstkomplementären Strängen bestehen. In der p-RNA-Serie ist die Duplexstabilität beim Sequenzmotiv $(\text{py})_n(\text{PU})_n$ durchwegs höher als beim inversen Motiv $(\text{PU})_n(\text{py})_n$; in der homo-DNA-Serie gilt durch-

gehend das Umgekehrte (Nr. 1–6). Analoges trifft für die Sequenzmotive $(py-PU)_n$ und $(PU-py)_n$ zu, zumindest wenn die Basensequenzen keine Verschiebung des Paarungsrahmens zulassen (Nr. 13 und 14).^[3] Überhängende Basen stabilisieren einen Duplex in der p-RNA-Serie nur dann, wenn sie am 2'-Ende stehen;^[1d] wiederum gilt für die homo-DNA-Serie das Umgekehrte (Nr. 13–18). Um die Sequenzabhängigkeit der Stabilität isomerer Duplexe vorauszusagen und zu interpretieren, betrachteten wir als Kriterien die Art und die Zahl der Interstrang-Basenstapelungen. Diese Vorgehensweise^[1d–f] ist in Abbildung 2 veranschaulicht.^[4]

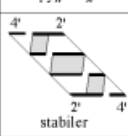
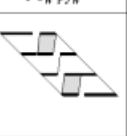
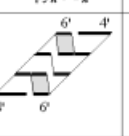
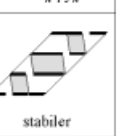
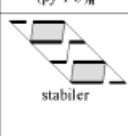
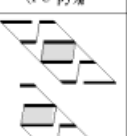

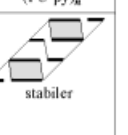
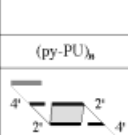
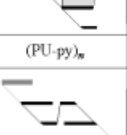
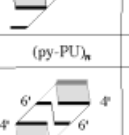
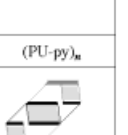

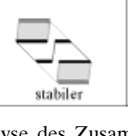

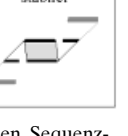
| Paarungssystem | p-RNA | | homo-DNA | |
|-----------------------------------|---|---|---|---|
| Sequenzmotiv | py_n-PU_n | PU_n-py_n | py_n-PU_n | PU_n-py_n |
| Basenstapelungsanalyse |  |  |  |  |
| Sequenzmotiv | $(py-PU)_n$ | $(PU-py)_n$ | $(py-PU)_n$ | $(PU-py)_n$ |
| Basenstapelungsanalyse |  |  |  |  |
| Sequenzmotiv | $(py-PU)_n$ | $(PU-py)_n$ | $(py-PU)_n$ | $(PU-py)_n$ |
| überhängende Base am Stranganfang |  |  |  |  |
| überhängende Base am Strangende |  |  |  |  |

Abbildung 2. Formale Analyse des Zusammenhangs zwischen Sequenzmotiv, Stellung überhängender Basen, Interstrang-Basenstapelung und Duplexstabilität bei p-RNA- und homo-DNA-Duplexen. PU = Purinbase, py = Pyrimidinbase.

Bei diesen Vergleichen wurde festgestellt, daß die mit einem einzigen Differenzierungskriterium getroffenen Voraussagen mit den experimentell ermittelten Stabilitätsunterschieden übereinstimmen, obwohl diese in den beiden Oligonucleotidsystemen diametral entgegengesetzt verlaufen. Dies spricht für die Auffassung, daß in der Rückgratneigung ein brauchbarer Strukturparameter für die Korrelation zwischen Struktur und Eigenschaften von Oligonucleotidsystemen zu sehen ist.^[5]

Die hier untersuchten p-RNA- und homo-DNA-Duplexe gleicher Basensequenz liefern quasi-enantiomorphe CD-Spektren, obwohl der Chiralitätssinn ihrer Pento- bzw. Hexopyranosyl-Bausteine der gleiche ist. Ein besonders deutliches Beispiel zeigt Abbildung 3a mit den CD-Spektren der Duplexe der selbstkomplementären Basensequenzen TACGTA und ATGCAT mit den Sequenzmotiven $(py-PU)_3$ bzw. $(PU-py)_3$: In beiden Paarungssystemen erfolgt in diesen Duplexen die Interstrang-Basenstapelung ausschließlich zwischen Purinen. Die quasi spiegelbildliche Entsprechung der CD-Kurven in beiden Serien besteht dabei nicht primär zwischen den Duplexen mit identischer Basensequenz, son-

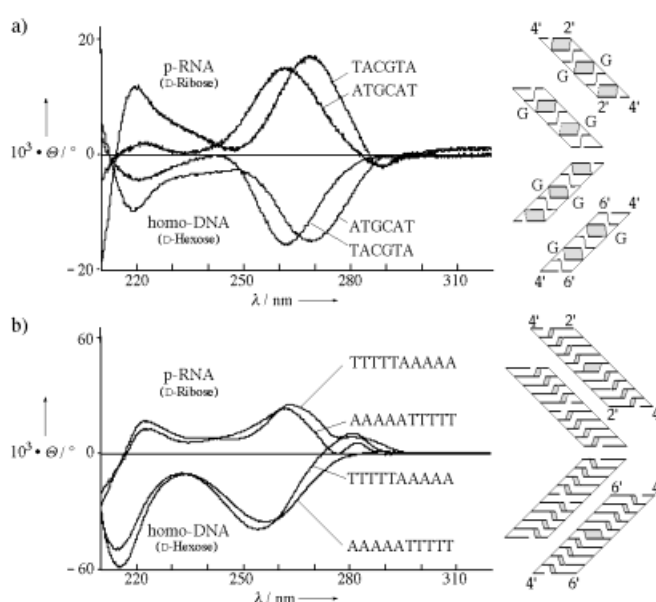


Abbildung 3. a) CD-Spektren von p-RNA- und homo-DNA-Duplexen mit Sequenzmotiven $(py-PU)_3$ und $(PU-py)_3$. ($c \approx 10 \mu\text{M}$ in 0.15 M NaCl, 0.01 M Tris-HCl, pH 7, 20°C) und Illustration von deren Interstrang-Basenstapelungs-Analyse. b) CD-Spektren von p-RNA- und homo-DNA-Duplexen mit Sequenzmotiven $(py)_5-(PU)_5$ und $(PU)_5-(py)_5$.

dern zwischen denen mit gleichem Basenstapelungsmotiv. So entspricht die CD-Kurve des p-RNA-Duplexes von TACGTA jener des homo-DNA-Duplexes von ATGCAT; das gemeinsame Basenstapelungsmotiv der beiden Duplexe ist A/A, G/G, A/A. Das Spektrum mit dem bathochrom verschobenen Maximum gehört in beiden Serien zum Duplex mit der zusätzlichen G/G-Stapelung im Duplexzentrum (Abbildung 3a, rechts), die auch für die höhere Stabilität der entsprechenden Duplexe verantwortlich gemacht wird. Spiegelbildcharakter der CD-Spektren wurde in sämtlichen bisher untersuchten p-RNA/homo-DNA-Duplexpaaren verzeichnet; Abbildung 3b zeigt ein Beispiel (Duplex Nr. 3), welches für das durchschnittliche Ausmaß der Quasi-Enantiomorphie der bisher aufgenommenen CD-Spektren repräsentativ ist.

Spiegelbildcharakter von Oligonucleotid-CD-Kurven im Wellenlängenbereich der UV-Absorption der Nucleobasen^[6] kann, muß aber nicht entgegengesetzten Helicitätssinn helicaler Duplexstrukturen widerspiegeln. Denn bei quasi-linearen Systemen mit vorherrschender Interstrang-Basenstapelung sollte Quasi-Enantiomorphie von CD-Kurven auch Ausdruck der Tatsache sein können, daß die jeweils zwei Nucleobasen umfassenden Struktureinheiten der Interstrang-Stapelung in Duplexen mit entgegengesetzter Orientierung der Rückgratneigung entgegengesetzten Chiralitätssinn aufweisen (vgl. Abbildung 1c).^[7] Im vorliegenden Fall steht leider bislang weder der Drehsinn, noch das Ausmaß der Rückgrat-Helicalisierung von Duplexen der p-RNA- und homo-DNA-Serie wirklich fest.^[8] Deshalb müssen wir die Frage nach dem Ursprung der bemerkenswerten CD-spektroskopischen Quasi-Enantiomorphie von p-RNA- und homo-DNA-Duplexen vorderhand offen lassen; eine durch Röntgenstrukturanalysen zu erreichende detailliertere Strukturkenntnis ist hier wohl unumgänglich. Feststehen dürfte indessen, daß sich quasi-lineare Oligonucleotidsysteme mit ausgeprägter Rückgratneigung als

Untersuchungsobjekte für die Aufdeckung bisher unerkannter Zusammenhänge zwischen Struktur und Eigenschaften von Nucleinsäuren eignen.^[5]

Eingegangen am 5. Oktober 1998 [Z12484]

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 680–683

Stichwörter: DNA-Strukturen • Duplexstabilität • homo-DNA • Oligonucleotide • Pyranosyl-RNA

- [1] a) S. Pitsch, S. Wendeborn, B. Jaun, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1993**, 76, 2161–2183; b) S. Pitsch, R. Krishnamurthy, M. Bolli, S. Wendeborn, A. Holzner, M. Minton, C. Lesueur, I. Schlönvogt, B. Jaun, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1995**, 78, 1621–1635; c) I. Schlönvogt, S. Pitsch, C. Lesueur, A. Eschenmoser, B. Jaun, R. M. Wolf, *Helv. Chim. Acta* **1996**, 79, 2316–2345; d) R. Micura, M. Bolli, N. Windhab, A. Eschenmoser, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 899–902; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, 870–873; e) M. Bolli, R. Micura, A. Eschenmoser, *Chem. Biol.* **1997**, 4, 309–320; f) M. Bolli, R. Micura, S. Pitsch, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1997**, 80, 1901–1951.
- [2] a) A. Eschenmoser, M. Dobler, *Helv. Chim. Acta* **1992**, 75, 218–259; b) M. Böhringer, H.-J. Roth, J. Hunziker, M. Göbel, R. Krishnan, A. Giger, B. Schweizer, J. Schreiber, C. Leumann, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1992**, 75, 1416–1477; c) J. Hunziker, H.-J. Roth, M. Böhringer, A. Giger, U. Diederichsen, M. Göbel, R. Krishnan, B. Jaun, C. Leumann, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1993**, 76, 259–352; d) G. Otting, M. Billeter, K. Wüthrich, H.-J. Roth, C. Leumann, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1993**, 76, 2701–2756; e) K. Groebke, J. Hunziker, W. Fraser, L. Peng, U. Diederichsen, K. Zimmermann, A. Holzner, C. Leumann, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1998**, 81, 375–474.
- [3] Die Verschiebung des Paarungsrahmens in (PU-py)_n-Duplexen würde zur gleichen Zahl an Purin-Purin-Interstrang-Stapelungen führen wie in den entsprechenden (py-PU)_n-Duplexen. Dies ist vermutlich der Grund für die vernachlässigbar kleine Stabilitätsdifferenz zwischen den Duplexen der Motivpaare Nr. 7 und 8.^[1] Dafür sprechen die T_m-Werte der Duplexe Nr. 9 und 10. Da die bei letzteren obligate Verschiebung des Paarungsrahmens strangaufwärts (bei der p-RNA) oder strangabwärts (bei der homo-DNA) erfolgen kann, ist in beiden Serien der Duplex Nr. 9 mit vier statt drei Adenin-Adenin-Stapelungen der stabilere (siehe Abbildung 2).
- [4] Für die Beurteilung der Sequenzabhängigkeit von Duplexen der DNA- und RNA-Serien werden empirische Basenpaar-Nachbarschaftsparameter verwendet, die nicht explizit zwischen Intra- und Interstrang-Basenstapelung differenzieren; siehe: N. Sugimoto, S. Nakano, M. Yoneyama, K. Honda, *Nucleic Acids Res.* **1996**, 24, 4501–4505; J. SantaLucia, Jr., H. T. Allawi, P. A. Senéviratne, *Biochemistry* **1996**, 35, 3555–3562, zit. Lit. Zur Regioselektivität des Einflusses von überhängenden Basen in der DNA- und der RNA-Serie siehe z.B.: N. Sugimoto, R. Kierzek, D. H. Turner, *Biochemistry* **1987**, 26, 4554–4558; M. Senior, R. A. Jones, K. J. Breslauer, *Biochemistry* **1988**, 27, 3879–3885.
- [5] Bei Oligonucleotiden ohne oder mit geringer Rückgratneigung ist die Stapelung der Nucleobasen im wesentlichen reine Intrastrang-Stapelung; dies trifft z.B. für DNA-Duplexe des B-Typs (nicht aber des A-Typs) zu. Die Rückgratneigung einer Duplexstruktur ist bei starker Helicalisierung keineswegs augenfällig. Deshalb ist es verständlich, daß dieser Parameter bisher nicht zu den zur Beschreibung von DNA- und RNA-Strukturen verwendeten Strukturparametern gehört (siehe R. E. Dickerson, *Nucleic Acids Res.* **1989**, 17, 1797–1803). Dennoch dürfte die Rückgratneigung auch bei natürlichen Systemen als Parameter der strukturellen Beschreibung stapelungsabhängiger biologischer Prozesse (Replikation, Transkription, Codon/Anticodon-Erkennung) von Belang sein. Wir glauben dies unter anderem deshalb, weil lokale Änderungen in der Rückgratneigung durch entsprechende lokale Änderungen nucleotidischer Torsionswinkel bewirkt werden können und weil z.B. bei lokalen Strang-Dissoziationsprozessen Intrastrang-, nicht jedoch Interstrang-Basenstapelung

erhalten bleiben kann. Inwieweit ein solcher Unterschied für lokale Fluktuationen der Paarungsstärke innerhalb von Duplexen verantwortlich sein könnte, ist eine interessante Frage im Hinblick auf die erwähnten biologischen Prozesse. Zur Definition der Rückgratneigung helicaler Duplexe und zur Diskussion über die Anwendung dieses Parameters zur Differenzierung von DNA- und RNA-Duplexstrukturen wird gemeinsam mit M. Egli (Northwestern University, Evanston, IL) eine Arbeit veröffentlicht werden.

- [6] Zur CD-Spektroskopie von Oligonucleotiden der natürlichen Serie siehe: W. C. Johnson, Jr. in *Circular Dichroism and the Conformational Analysis of Biomolecules* (Hrsg.: G. D. Fasman), Plenum Press, New York, **1996**, S. 433–468.
- [7] Siehe z.B.: I. Jodál, A. Kovács, J. Ott, G. Snatzke, *Chem. Ber.* **1989**, 122, 1207–1210.
- [8] NMR-spektroskopisch konnten diese Parameter bei den quasi-linearen Duplexen der p-RNA- und homo-DNA-Serie nicht bestimmt werden, vgl. Lit. [1c, 2d].
- [9] L. Marky, K. J. Breslauer, *Biopolymers* **1987**, 26, 1601–1620.
- [10] Die Daten für die homo-DNA-Duplexe Nr. 7, 9 und 10 sind von S. Guntha (ETH) bestimmt worden.

„Base Flipping“: UV-Licht-geschädigte DNA-RNA-Duplexe sind schlechte Substrate für photoreaktivierende DNA-Reparaturenzyme**

Jens Butenandt, Lars T. Burgdorf und Thomas Carell*

cis-syn-Cyclobutanpyrimidin-Dimere (Photodimere) sind die dominierenden DNA-Schäden, die bei der Bestrahlung von Zellen mit UV-Licht entstehen.^[1] Sie bewirken den Zelltod und sind an der Entwicklung verschiedener Hautkrebs-Arten beteiligt. Daher sind sie eine ernste Bedrohung für jeden Organismus, der dem Sonnenlicht ausgesetzt ist.^[2] Alle Organismen haben DNA-Reparaturmechanismen entwickelt,^[1–3] um die durch UV-Licht verursachten Veränderungen aus dem Genom zu entfernen und eine Schädigung der DNA zu überwinden. Gewisse Stellen des Genoms werden mit deutlich geringerer Effizienz repariert, was sie zu kritischen Mutationszonen („hot spots“) macht.^[3a, 4] Dies hat die Untersuchung von Faktoren, die die Effizienz der Schadenserkenkung bestimmen, zu einer der zentralen Fragestellungen in der Erforschung der DNA-Reparatur werden lassen. Nach der derzeitigen Auffassung erkennen schadensspezifische Reparaturenzyme im normalen DNA-Duplex strukturelle Veränderungen, die vermutlich durch geschwächte

[*] Dr. T. Carell, Dipl.-Chem. J. Butenandt, Dipl.-Chem. L. T. Burgdorf
Laboratorium für Organische Chemie, ETH-Zentrum
Universitätsstrasse 16, CH-8092 Zürich (Schweiz)
Fax: (+41)1-632-1109
E-mail: tcarell@org.chem.ethz.ch

[**] Diese Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung und vom Boehringer-Ingelheim-Fonds (Stipendium für J.B.) unterstützt. Wir danken Prof. F. Diederich für seine großzügige Unterstützung, Dr. S. Pitsch für viele hilfreiche Diskussionen, Dr. L. Cox für die sorgfältige Durchsicht des Manuskripts und Dr. A. P. M. Eker für die Bereitstellung von Photolyase aus *A. nidulans*. Die rohen RNA-Stränge wurden freundlicherweise von Xeragon, Zürich, zur Verfügung gestellt.