1 Einleitung und Zielsetzung

DNA nimmt als Träger der Erbinformation eine wichtige biologische Funktion ein. Die bedeutendste in DNA gespeicherte Information ergibt sich wohl aus der sequentiellen Abfolge der Nucleobasen, welche die Zusammensetzung der Proteine definiert.[1] Im Rahmen der Proteinbiosynthese erfolgt das Ablesen dieser Information von der DNA (Transkription) und deren Übersetzung in eine Aminosäurensequenz.
Darüberhinaus weist DNA durch die Ausbildung von unterschiedlichen Sekundärstrukturen eine weitere Möglichkeit auf, biologische Informationen zu übertragen. Nicht zuletzt die selektive Erkennung dieser Strukturen durch Proteine erlaubt die Regulierung von zellulären Abläufen.[2] Auf diese Weise kommt dem Wechsel von Oberfläche und Form der helicalen Struktur eine signalgebende Wirkung zu.
Eine der stärksten strukturellen Veränderungen tritt während des Übergangs von rechtsgängiger B-DNA zur linksgängigen Z-DNA auf. Neben der Umkehrung des helicalen Drehsinns geht mit dieser eine Dehnung des Doppelstrangs sowie ein Aufgehen der großen Furche in der Oberfläche der Helix einher.[3] Z-DNA stellt allerdings aufgrund repulsiver Wechselwirkungen des Phosphat-Zucker-Rückgrats zum Gegenstrang und ungünstiger *syn*-Stellung der Guaninbasen eine energetisch benachteiligte Doppelstrang-Konformation dar, deren biologische Funktion noch nicht gänzlich geklärt ist. In jüngster Zeit zeigen Bindungsstudien, dass eine Gruppe von Proteinen, Z-DNA selektiv erkennt und über eine Zα-Domäne an diese bindet.[4] Diesen Proteinen liegt ein strukturell ähnlicher Aufbau zugrunde, jedoch weisen die Vertreter dieser Gruppe sehr unterschiedliche biologische Funktionen auf. Da bisher nur ein Bruchteil der Zα-Proteine auf ihre Bindungsstärke hinsichtlich Z-DNA untersucht wurde, wird davon ausgegangen, dass eine Vielzahl an zellulären Prozessen eng mit der Bildung von Z-DNA verknüpft ist.
Stabilisierung von Z-DNA lässt sich durch verschiedenste Faktoren erreichen. Neben einer Erhöhung der Salzkonzentration[5] ergibt sich auch durch Zugabe von Peptiden

wie H-(Lys-Ala)$_n$-OH mit hohem Lysin-Anteil eine Begünstigung von Z-DNA *in vitro*.[6] Die Interaktion mit dem Rückgrat führt zu einer Neutralisation der negativen Ladung und somit zu einer Verringerung der Abstoßungskräfte. Auch durch die Ausbildung von Wasserstoffbrücken zur Hoogsteen-Seite der Basenpaare kann eine Stabilisierung der Z-Helix erreicht werden. Frühere Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe beschäftigten sich mit der Frage, ob Alanyl-PNA Oligomere[1] in der Lage sind, die freie Hoogsteen-Seite von Z-DNA zu erkennen und selektiv an diese zu binden.[7] Zwei aufeinander folgende, gestapelte Guanine nehmen in einem Alanyl-PNA Dimer den richtigen Abstand für eine Wechselwirkung ein, wobei jeweils eine Guanin-Einheit ein GC-Basenpaar erkennt. Die Dimere weisen eine entgegengesetzte Donor/Akzeptorfolge auf der Watson-Crick-Seite auf und sind somit komplementär zum Wechsel von G-C und C-G in Z-DNA (Abb. 1.1).

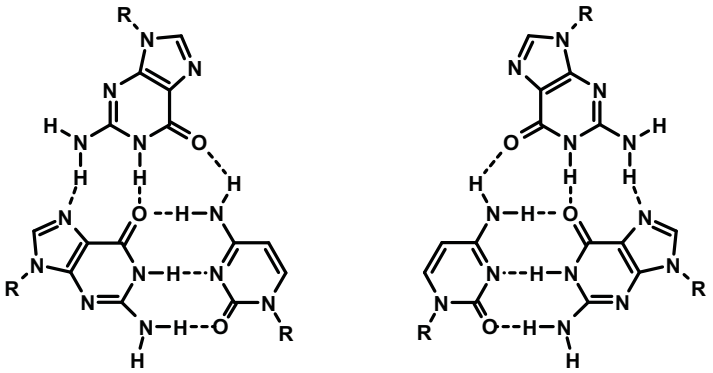

Abb. 1.1: *Guanin-Cytosin-Erkennung (links) und Cytosin-Guanin-Erkennung (rechts) durch die Watson-Crick-Seite eines Guanins.*

Eine weitere Möglichkeit Z-DNA zu stabilisieren, lässt sich durch die synthetische Modifikation von Nucleobasen verwirklichen.[8] Sowohl Bromierung als auch Alkylierung von Purinen an Position C8 oder Pyrimidinen an C5 erlauben, das Gleichgewicht zu Gunsten der Z-Struktur zu verschieben, da in dieser Konformation

[1] Alanyl-PNA Oligomere setzen sich aus Nucleobasen zusammen, die mit einem peptidischen Rückgrat verbunden sind. Im vorliegenden Fall handelt es sich hierbei um ein Gerüst aus Alanin-Einheiten.

die repulsiven Wechselwirkungen, denen die eingeführten Substituenten ausgesetzt sind, eine Minimierung erfahren.

Ein Ziel dieser Arbeit besteht darin, neue Zugänge zu synthetisch modifizierten Nucleotiden zu entwickeln. Mit diesen Bausteinen modifizierte Oligonucleotide sollten in der Lage sein, eine Induktion der Z-Form im DNA-Doppelstrang herbeizuführen. Ein Ansatz hierfür stellt die Einführung einer flexiblen Seitenkette dar, die keiner repulsiven Wechselwirkung ausgesetzt ist, aber dennoch die Wasserstoffbrücken des natürlichen Systems ausbildet und deshalb eine *syn*-Stellung am Zucker einnehmen kann. Eine andere Alternative sieht vor, Guanosin in *syn*-Konformation zu fixieren und durch den Einbau in einen DNA-Doppelstrang die Ausbildung von Z-DNA zu erzwingen.

Die auf diesem Weg erreichte Stabilisierung der DNA in Z-Konformation könnte einen Weg zur Untersuchung von DNA-Protein-Wechselwirkungen ebnen. Da diese Stabilisierung auf hohe Salzkonzentrationen verzichtet, ergibt sich die Möglichkeit, diese Studien unter physiologischen Bedingungen durchzuführen und somit ein wesentlich klareres Bild über die Natur der Wechselwirkungen zu erhalten.

Eine Untersuchung der Konformation erfolgt primär durch CD- und NMR-Spektroskopie. Während die CD-Spektroskopie die Gesamtstruktur der Helix beschreibt, erlaubt die NMR-Spektroskopie Aussagen über Abstände und Bindungswinkel. Um die Strukturaufklärung von Biomolekülen zu erleichtern, kommen in den letzten Jahren *Tags* zum Einsatz.[9] Diese bestehen aus Chelatoren, die Lanthaniden komplexieren und über einen Linker eine Verknüpfung zu Biomolekülen aufweisen. Durch die paramagnetische Induktion richten sich die Proteine bei Anlegung eines Magnetfelds aus und sorgen somit für eine Verstärkung des NOE. Dies führt zu einer deutlichen Verbesserung der erhaltenen spektralen Daten. Da diese Verfahrensweise bisher nur zur Aufklärung von Proteinstrukturen eingesetzt wurde, stellt die Ausweitung dieses Konzepts auf den Bereich der Oligonucleotide eine große Herausforderung dar.

In dieser Arbeit soll erstmals ein Chelator synthetisch mit einem Nucleotid verknüpft werden. Dieser DNA-*Tag* erleichtert es, NMR-spektroskopische Konformations-

aufklärung an Oligonucleotiden zu betreiben, die die im ersten Teil der Arbeit dargestellten modifizierten Nucleotide enthalten.