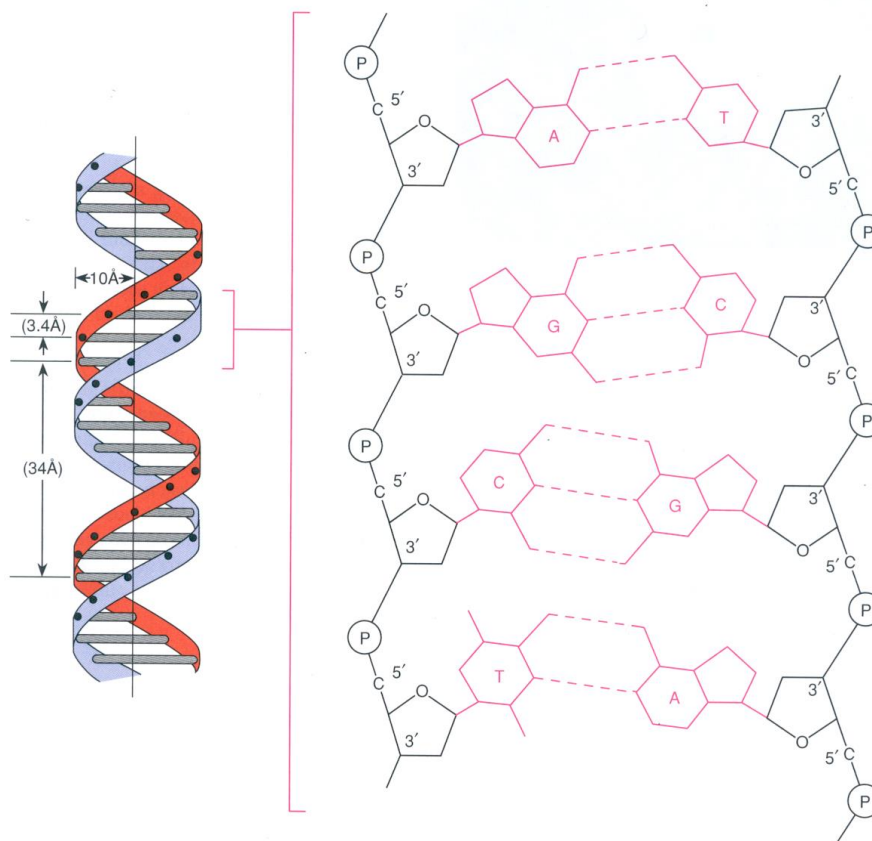


# A. Nukleinsäuren

## 1. Aufbau und Struktur der Erbsubstanz

### 1.1 Der Fluss der genetischen Erbinformation

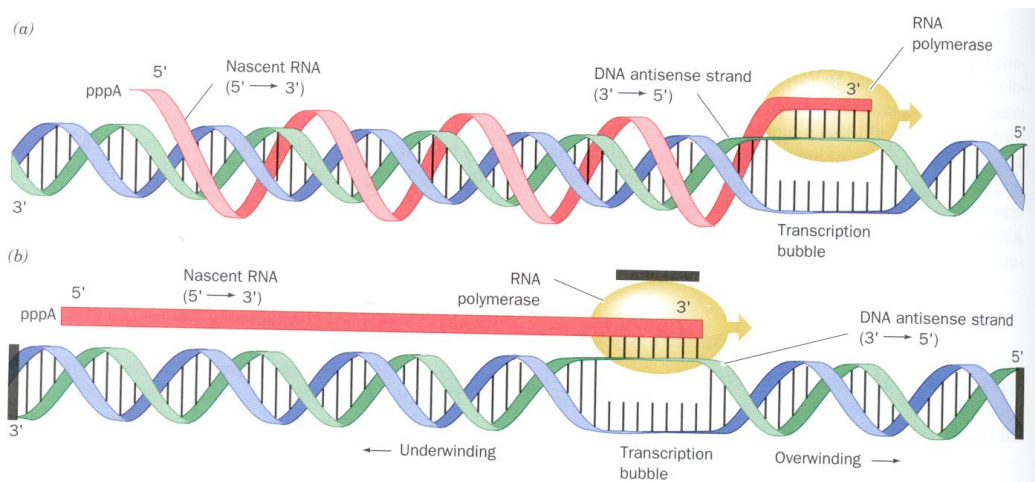
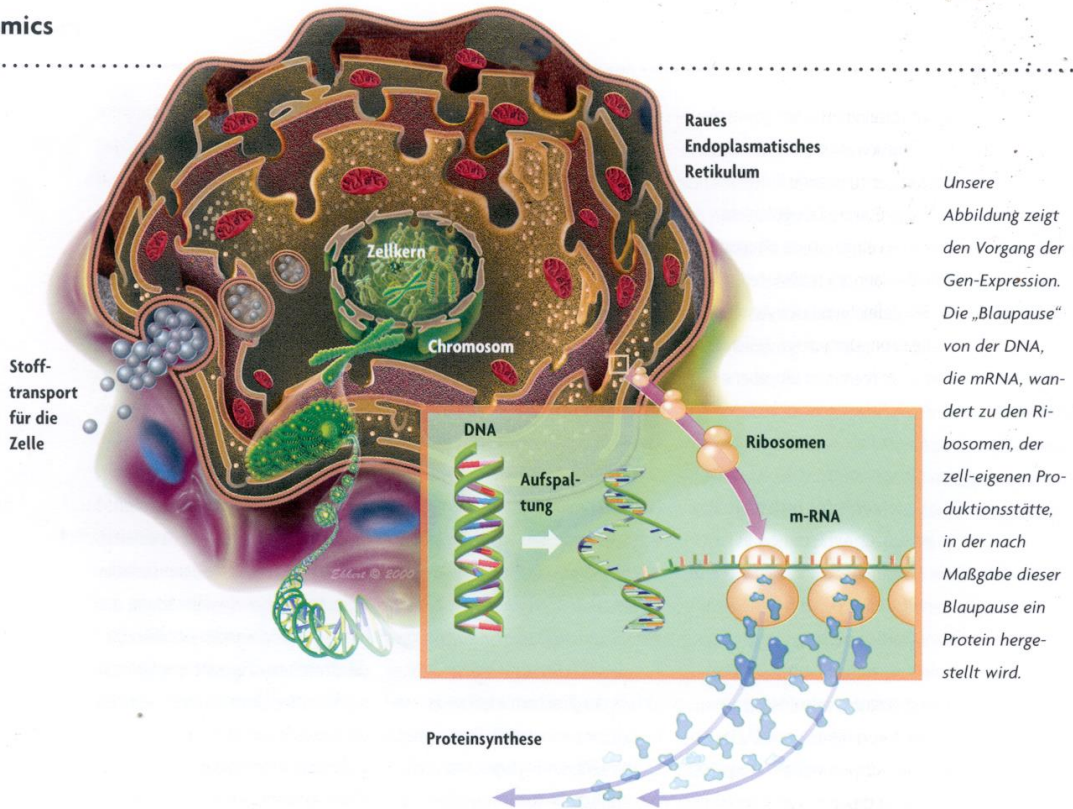
In jeder Zelle fungiert DNA als der Träger der genetischen Erbinformation. Das DNA Molekül besteht aus einem Zuckerphosphat-Rückgrat, an das vier verschiedenen Heterocyclen angeknüpft sind.



Das DNA Molekül speichert die Information. Es selber übernimmt keine funktionellen Aufgaben, wie z. B. Katalyse von Stoffwechselfvorgängen, Stütz- oder Regulierungsfunktionen in der Zelle. Es kodiert aber den Aufbau von Proteinen, die alle diese Funktionen übernehmen. Hierzu muss die Information der DNA abgelesen (Transkription) und in eine Aminosäuresequenz übersetzt (Translation) werden.

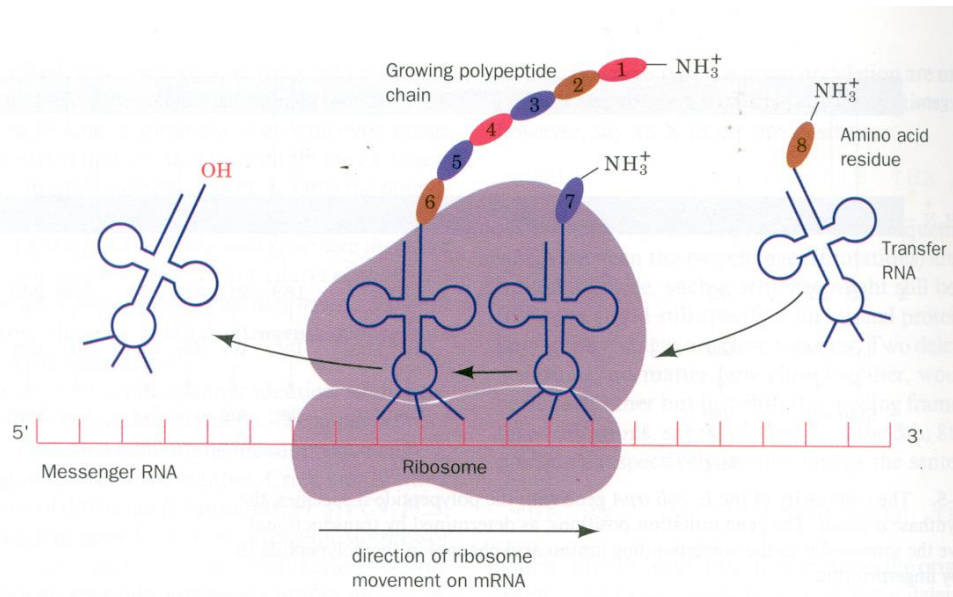
In einem ersten Schritt wird hierzu die DNA-Information in eine RNA-Information umgeschrieben. Das RNA-Molekül kann dann aus dem Zellkern herausdiffundieren und die Information so in die Zelle transportieren.

**Proteomics**



An diesem Prozess der Transkription sind viele Proteine beteiligt.

Die in RNA (oder genauer messenger-RNA (*m*-RNA) umgeschriebene Information wird dann am Ribosom in eine Aminosäuresequenzinformation übersetzt. Hierzu sind Adapter-Moleküle, die sogenannten transfer-RNA Moleküle (*t*-RNA) nötig.



Auch das Ribosom besteht zum größten Teil aus RNA (*r*-RNA). Diese RNA katalysiert die Übersetzung der in der *m*-RNA gespeicherten Information mit Hilfe der *t*-RNA. Am Ribosom findet sich demnach RNA, die auch chemische Transformationen katalysiert. Hier verwischen sich die Grenzen zwischen der Informationsspeicherung (Genotyp) und den Eigenschaften tragenden Proteinen (Phänotyp). Informationsspeicherung, Ablesen der Information und das Übersetzen der Information am Ribosom sind alles wesentliche Prozesse des Lebens. An allen diesen Prozessen sind Nucleinsäuren maßgeblich beteiligt.

Die Vorlesung gliedert sich daher in zwei wesentliche Teile:

**Genotyp.** Aufbau, Struktur, Synthese und Eigenschaften von Nucleinsäuren

**Phänotyp.** Aufbau, Struktur, Synthese von Peptiden und Proteinen

## 1.2 Die Nucleinsäuren

Nucleinsäuren sind sehr lange, fadenförmige Polymere. Sie speichern die genetische Erbinformation.

Als Abkürzung für die Länge eines Abschnittes werden die Einheiten Kbp für (Kilo, tausend Basenpaare) oder sogar Mbp für Millionen Basenpaare verwendet.

- Die Chromosomen des *E. coli* Bakterium enthalten ca. 4 Mbp =  $4 \times 10^6$  Basenpaare. Das Molekulargewicht der Erbsubstanz beträgt ca.  $3 \times 10^9$  Da und hat eine Länge von 1.5 mm.
- Das Genom der haploiden Fruchtfliege enthält 180 Mbp welche auf 4 Chromosomen verteilt vorliegen. Die Gesamtlänge der DNA Fäden zusammen beträgt 56 mm.
- Das kürzlich total entschlüsselte menschliche Genom ist in jeder Zelle aus 3900 Mbp aufgebaut und hat eine Gesamtlänge von 990 mm.

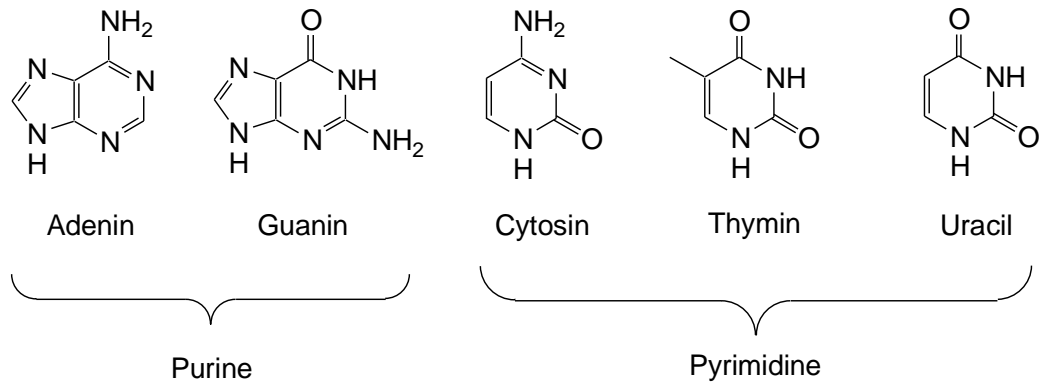
Uns interessieren die Fragen:

Wie ist das Genom aufgebaut, und wie können wir Chemiker mit Hilfe der Organischen Synthese, Ausschnitte herstellen und einer chemischen Veränderung zugänglich machen?

Welche Parameter bestimmen die Struktur und Funktionsweise der Nukleinsäuren?

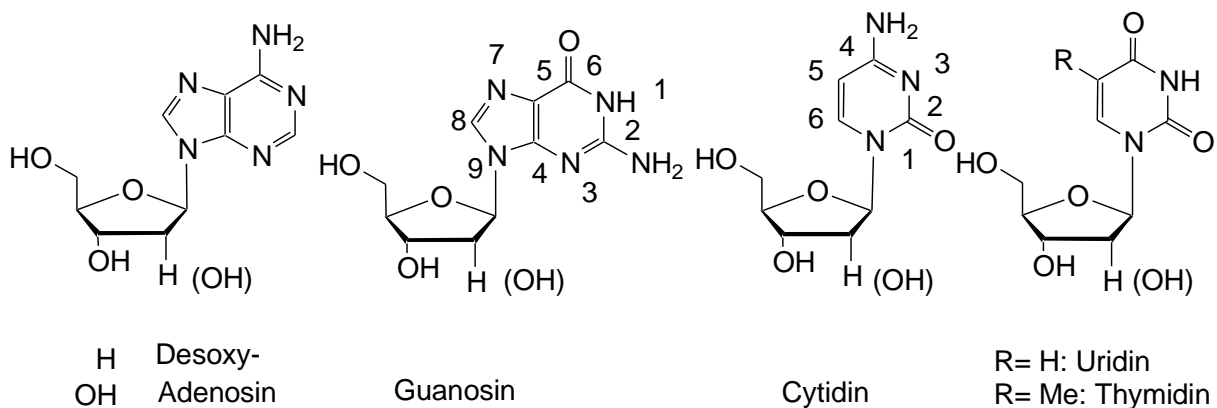
Wie können wir Menschen die Prinzipien der Informationsspeicherung nutzen z. B. zur Herstellung neuartiger Medikamente oder von Diagnostika?

### 1.2.1 Struktur und Nomenklatur der konstituierenden Bausteine



Alle Nucleotide enthalten einen Heterocyclus. Dieser Heterocyclus wird auch Base genannt. Die monocyclischen Basen sind die Pyrimidine **Cytosin**, **Thymin** und **Uracil**. Die bicyclischen Basen sind die Purine. Hier kennen wir als Inhaltsstoffe der DNA und RNA vor allem das **Adenin** und das **Guanin**.

In den Nucleosiden ist jeweils ein Ringstickstoff mit dem Zucker C1' verknüpft. Im Fall der Pyrimidine ist die Verknüpfungsstelle die Position N-1. Die Purine sind über die Position N-9 verbunden. Diese Bindung nennt man glycosidische Bindung. Der Zucker, die D-Ribose liegt im Fünfring, d.h. in der Furanoseform vor. Die D-Ribose ist eine Pentose (5C-Atome).



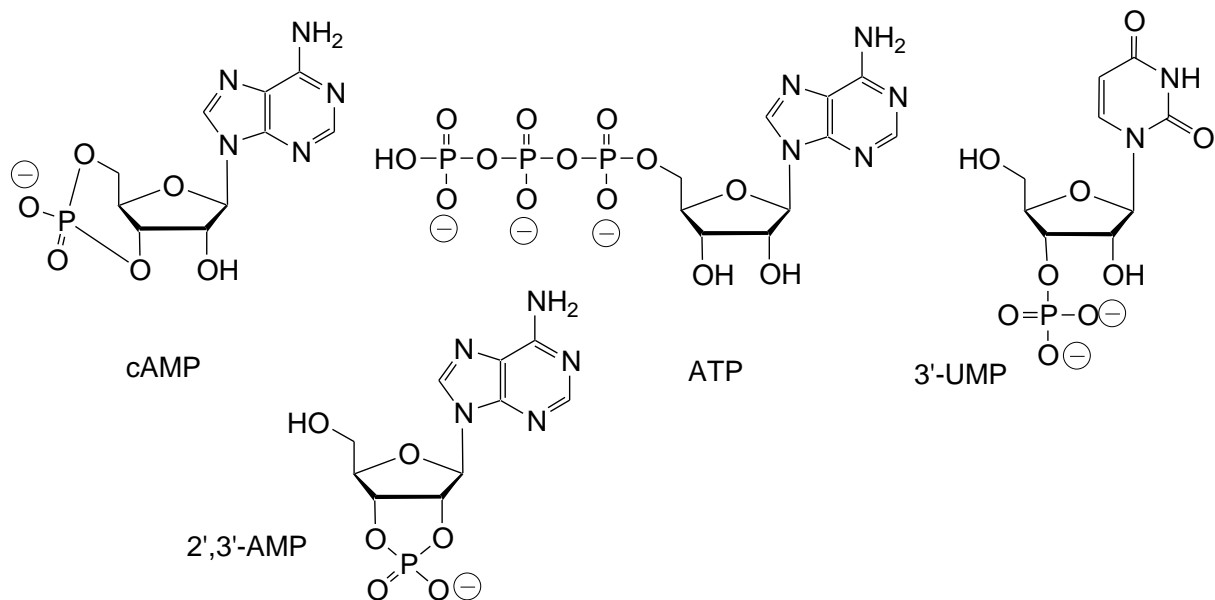
Die Verknüpfung zwischen dem Heterocyclus und dem Zucker nennt man eine  $\beta$ -glycosidische Bindung.

In der DNA (Desoxyribonucleinsäure) wird die Base Uridin durch Thymidin ersetzt. In der RNA (Ribonucleinsäure) wird meist das Uridin verwendet. In einigen RNA Verbindungen wird allerdings auch das Thymidin gefunden. Es ist daher wichtig

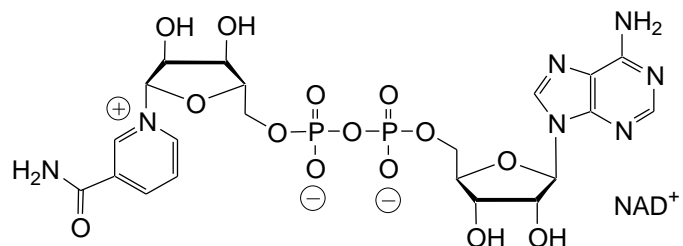
zwischen **Desoxyuridin** und **Uridin** sowie **Desoxythymidin** und **Thymidin** zu unterscheiden.

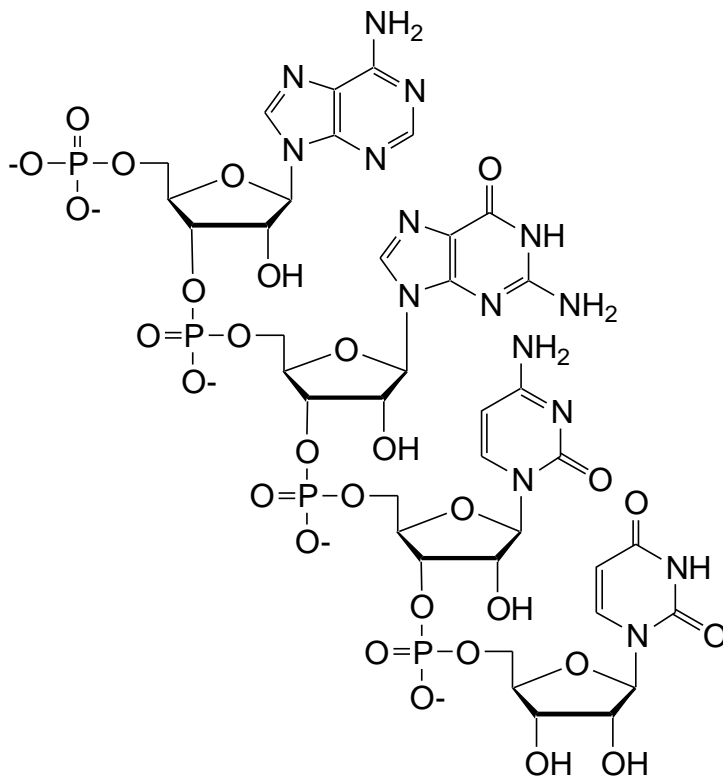
Diese Nucleoside werden in der Zelle zu langen Makromolekülen miteinander verknüpft. Erst dann entsteht die DNA oder RNA als Träger der genetischen Erbinformation. Die Verknüpfung erfolgt über Phosphodiester.

Die Monomeren in der DNA oder der RNA sind daher die Phosphatmonoester der Nucleoside. Hier müssen drei Sorten unterschieden werden. Die 2'-Phosphate, die 3'-Phosphate und die 5'-Phosphate. Beispiele: Uridin-3'-monophosphat oder auch cyclische Phosphatester wie der Botenstoff Adenosin-3',5'-cyclophosphat (cAMP) oder das 2',3'-AMP. Daneben gibt es die energiereichen Di- und Tri-phosphate z.B. das ATP.



Die Nucleotide treten häufig auch als Bestandteil von Coenzymen wie dem NAD auf. Die Nucleotide sind also nicht nur Informationsspeicher sondern in einer ganzen Reihe von biochemischen Prozessen von immenser Bedeutung.





Die Nucleotide werden in der DNA oder der RNA zu langen Ketten miteinander verknüpft. Hierbei wird eine 3',5'-Verknüpfung der einzelnen Bausteine durchgeführt. Jedes Phosphordiester-Bindeglied trägt eine negative Ladung. DNA und auch RNA sind daher Polyanionen. Lagern sich zwei dieser Einzelstränge zu einem Doppelstrang zusammen, so ist die Coulomb Repulsion durch die negativen Ladungen enorm.

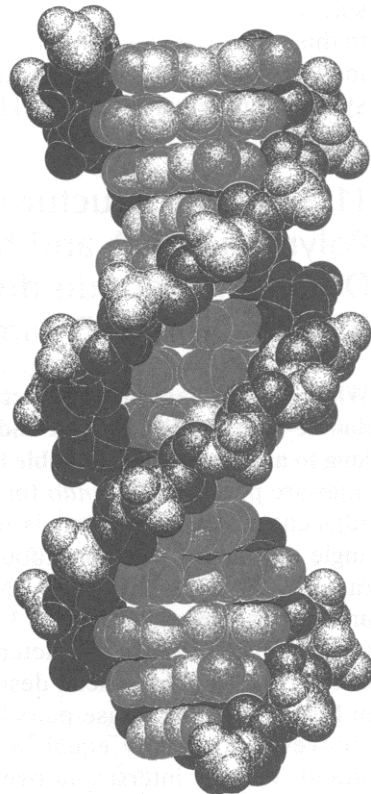
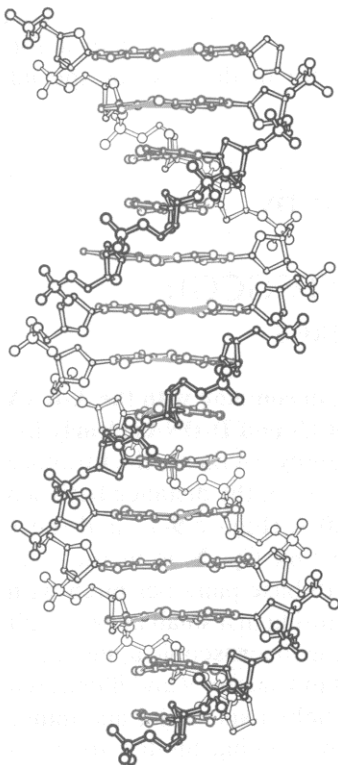
Es werden daher Metallionen benötigt, die mit ihrer positiven Ladung die negativen Ladungen der DNA oder RNA kompensieren. Für Experimente mit DNA oder RNA ist daher die Anwesenheit von Salzen im Puffer eine immer sehr kritische Variable. In der Regel arbeitet man bei 150 mM NaCl in einem Puffer bei pH = 7. Mehr Salz führt zu stabileren Doppelsträngen. Weniger Salz destabilisiert. Auch DNA bindende Proteine nutzen die negativen Phosphordiester als Bindungsstellen aus. Alle DNA bindenden Proteine haben viele positive Oberflächenladungen, mit denen der Kontakt zur DNA hergestellt wird.

Die Sequenz eines Oligonukleotides wird oft verkürzt als Buchstabensequenz dargestellt. Uridin = **U**, Thymin = **T**, Adenosin = **A**, Guanosin = **G** und Cytidin = **C**. Für Desoxy wird der Buchstabe d vorgesetzt: **dU**, **dT**, **dA**, **dG** und **dC**.

Das Trinucleotid-Diphosphat G-C-U heißt z.B. vollständig: Guanylyl-3',5'-cyctidylyl-3',5'-uridin. Man schreibt GpCpU oder kurz GCU mit dem **G am 5'-Ende** und **dem U am 3'-Ende** des Oligonukleotids. Es wird also Grundsätzlich von der 5' in die 3'-Richtung notiert.

Synthetische Homopolymere nennt man z.B. poly(U) oder poly (dA). Heteropolymere mit alternierender Sequenz heißen z.B. poly(dA-dT) oder wenn dT und dA zufällig verteilt sind: poly(dA, dT).

Zur Bildung eines Doppelstranges lagern sich zwei Einzelstränge in **anti-paralleler** Ausrichtung zusammen. Man schreibt dann poly(A)•poly(T)



Zwei Einzelstränge bilden einen anti-parallelen Doppelstrang. Das Zuckerphosphat-Rückgrat liegt außen. Die Basen zeigen nach innen. Die beiden Einzelstränge winden sich um eine zentrale Achse. Diese läuft im idealen Fall genau durch die Mitte der

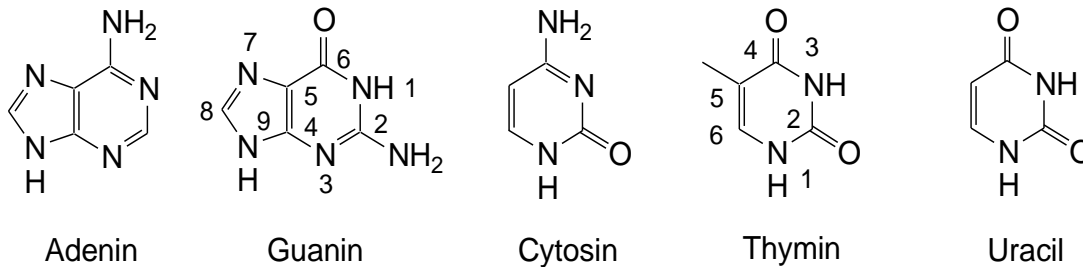
Doppelhelix.

Neben der idealen DNA-Konformation, auch B-Konformation, genannt, gibt es weitere Doppelstrangkongformationen, die wesentlich von der gezeigten Struktur abweichen. Ins Auge fällt, dass die B-DNA über zwei Furchen verfügt. Eine kleine schmale Furche (minor groove) nennt und eine große, weite Furche (major groove)

Neben den normalen Doppelsträngen kennen wir auch Tripelstränge.



## 1.2.2 Physikalische Eigenschaften der Nucleoside und strukturelle Parameter, die die Struktur der Doppelhelix bestimmen



Für die Bildung des Doppelstranges ist vor allem das Säure/Base Verhalten der Heterocyclen entscheidend. Es determiniert wie und wo die Basen H-Brücken ausbilden können. Die  $pK_a$ -Werte der Basen sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Base	Gruppe	Nucleosid	3'-Nucleotid	5'-Nucleotid
Adenin	N-1	3.52	3.70	3.88
Cytosin	N-3	4.17	4.43	4.56
Guanin	N-7	3.3	3.5	3.6
Guanin	N-1	9.42	9.84	10.00
Thymin	N-3	9.93		10.47
Uracil	N-3	9.38	9.96	10.06

**Tab. 1:**  $pK_a$ -Werte der Basen bei 20°C und ohne Salz.

Alle Basen sind also unter physiologischen Bedingungen ungeladen  $5 < \text{pH} < 9$ . Das gilt natürlich auch für die Pentose, deren sekundären und primären OH-Funktionen einen  $pK_a$ -Wert von ca. 12 besitzen.

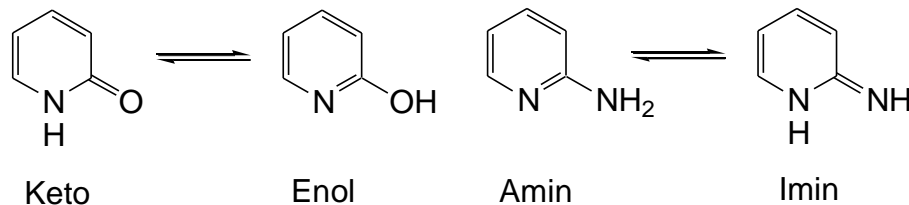
Die Phosphat-Gruppe verliert das erste Proton bei  $\text{pH} = 1$  und das zweite Proton im Fall eines Monoesters bei  $\text{pH} = 7$  ( $pK_a$ -Werte der Phosphorsäure bei 25°C  $\text{H}_3\text{PO}_4 = pK_1 = 2.16$ ,  $pK_2 = 7.20$  und  $pK_3 = 12.33$ ). Die drei Basen A, C, und G werden zuerst an einem Ringstickstoff protoniert und erst dann an der exocyclischen  $\text{NH}_2$ -Gruppe. Protonierung der  $\text{NH}_2$ -Gruppe würde die Resonanz des einsamen Elektronenpaares mit dem aromatischen System stören.

Die C- $\text{NH}_2$  Bindungen sind ca. 1.34 Å lang. D. h. sie haben einen deutlichen Doppelbindungscharakter (C-N: 1.47 Å ; C=N: ca. 1.25 Å )

Für das Tautomerengleichgewicht gilt, dass alle Nukleobasen zu > 99.99% in der gezeigten Amino- und Ketoform vorliegen. Gäbe es Gemische, wäre das fatal für die Präzision der Basenpaarung s.u.

---

Tautomere sind Verbindungen, die sich nur in der Position eines Protons unterscheiden.

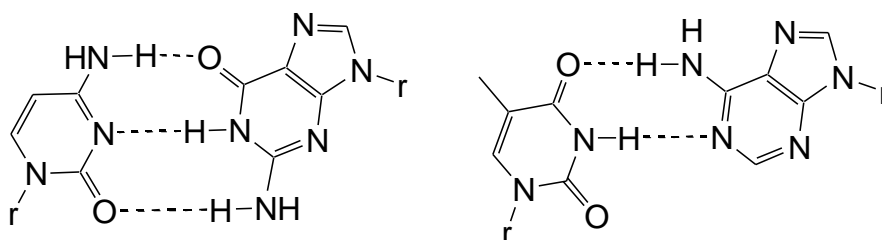



---

### 1.2.3 Wasserstoffbrückenbindungen verbinden die Basen

Jeder der vier Basen ist in der Lage eine Serie von H-Brücken auszubilden. Hierbei sind die NH-Gruppen im Ring und die exocyclischen  $\text{NH}_2$ -Gruppen die H-Donoren (d). Die Keto-Gruppen ( $\text{C}=\text{O}$ ) fungieren auf Grund der einsamen Elektronenpaare als H-Akzeptoren (a). Die in der H-Brücke dominierenden Kräfte sind im Wesentlichen elektrostatischer Natur mit  $+0.2e$  am H und  $-0.2e$  am  $\text{C}=\text{O}$ . Die Stärke einer H-Brücke dürfte ca.  $6\text{-}10 \text{ kJmol}^{-1}$  betragen. Natürlich tragen diese H-Brücken nicht sonderlich zur Triebkraft für die Doppelstrangbildung bei, da die Zentren ja auch im Wasser durch  $\text{H}_2\text{O}$  in H-Brücken involviert sind. Das ändert sich ja nicht im Doppelstrang.

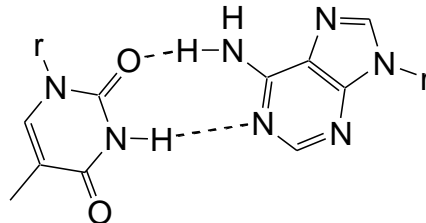
Im Doppelstrang bilden sich vor allem sogenannte **Watson-Crick H-Brückenmuster** aus.



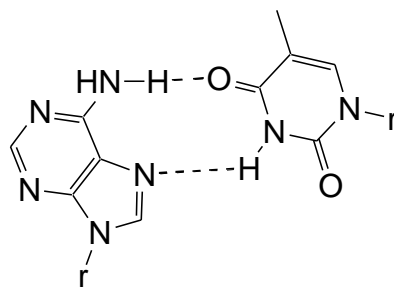
In diesen H-Brücken beträgt der Abstand zwischen den N...O Zentren zwischen  $2.8 \text{ \AA}$  –  $2.95 \text{ \AA}$ . Da immer eine Purin-Base mit einer Pyrimidin-Base paart, passen beide

Kombinationen in den gleichen Rahmen, der durch den Abstand der Zucker-Phosphat Ketten in der Doppelhelix vorgegeben ist.

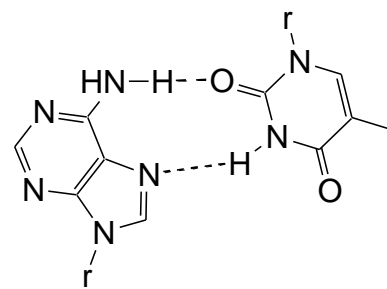
Man unterscheidet von der Watson-Crick Basenpaarung im Fall des A--T Basenpaares noch **die reversed Watson-Crick Paarung**



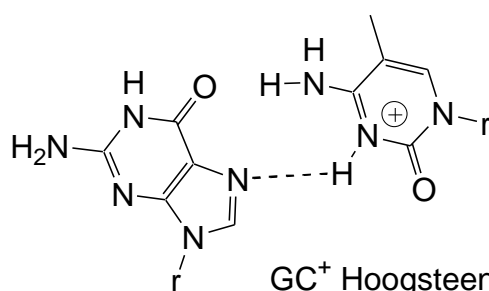
Neben der Watson-Crick und reversed Watson-Crick Basenpaarung kennt man für das A—T Basenpaar auch noch die sogenannte **Hoogsteen und reversed Hoogsteen Basenpaarung**.



Hoogsteen



reverse Hoogsteen

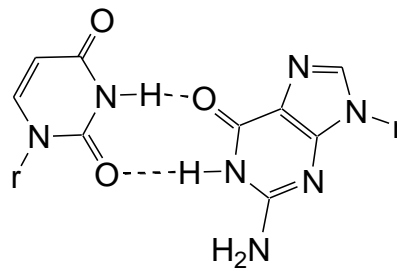


GC<sup>+</sup> Hoogsteen Basenpaar

Hierbei paart das Adenin via N-6 und N-7. Das G kann nur nach Protonierung mit dem C<sup>+</sup> ein Hoogsteen Basenpaar bilden. Das passiert tatsächlich in Tripelhelices (s.u.).

Manchmal beobachtet man, dass sich ein G—U Basenpaar bildet, das über zwei H-Brücken miteinander verknüpft ist. Die entsprechende Basenpaarung nennt man

**Wobble-Basenpaarung.** Die Basen sind im Vergleich zum Watson-Crick Basenpaar gegeneinander verschoben.



Diese ungewöhnlichen Basenpaarungen sind für *t*-RNA und Tripelhelixstrukturen maßgeblich verantwortlich (s.u.)

### **Exkurs: Die Wasserstoffbrücke**

Die Wasserstoffbrücke ist die bedeutendste orientierende zwischenmolekulare Wechselwirkung in der Biologie. Das Konzept der H-Brücke wurde bereits 1919 von Huggins an der UC Berkeley entwickelt.

Bei einer H-Brücke handelt es sich um die Bindung eines kovalent gebundenen H-Atoms an ein zweites Atom.



H-Donore sind: -OH, -NH<sub>2</sub>, -COOH, -CONH<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>

H-Akzeptoren sind: O-Atome in Alkoholen, Ether, C=O und N-Atome in Aminen und N-Heterocyclen

- Starke H-Brücken bestehen zwischen: O-H<sup>δ+</sup>⋯O, OH<sup>δ+</sup>⋯N, N-H<sup>δ+</sup>O
  - Schwächere H-Brücken bestehen zwischen: N-H<sup>δ+</sup>N
  - Sehr schwache Wechselwirkungen bestehen zwischen: Cl<sub>2</sub>C-H<sup>δ+</sup>O, Cl<sub>2</sub>C-H<sup>δ+</sup>N
- O-H<sup>δ+</sup>π-Systeme (Aromaten, Alkine oder Alkene)

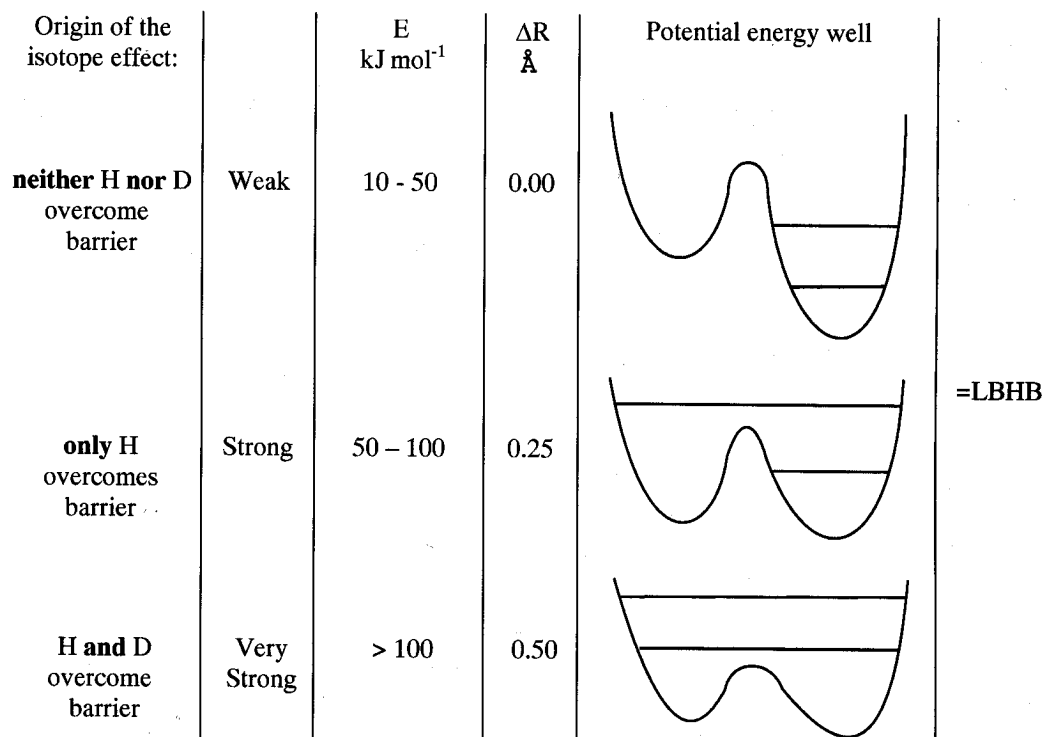
Im Fall der hier beschriebenen H-Brücken scheint die dominierende Kraft elektrostatischer Natur zu sein. Die Beschreibung erfolgt mit dem Coulombschen

Gesetz. Das H-Atom ist deutlich positiv. Das Akzeptor-Zentrum trägt eine negative Partialladung. Man erwartet deshalb, dass eine gute H-Brücke linear ist, d.h. Winkel D-H...A sollte ca.  $180^\circ$  betragen. Analysiert man Kristalle, so findet man einen Winkel von typischerweise  $167 \pm 20^\circ$  für O-H...O und  $161 \pm 20^\circ$  für O-H...N H-Brücken.

In einem solchen Fall ist die H-Brücke unsymmetrisch. Die X-H Bindung ist klar kovalent. Die H...Y Bindung ist eindeutig nichtkovalent.

Das Coulomb-Potential fällt sehr langsam mit  $1/r$  ab. H-Brücken sind daher recht weitreichende Wechselwirkungen.

Neben diesen normalen H-Brücken gibt es noch sehr starke sogenannte low-barrier H-bonds (LBHB). Hier ist die H-Brücke symmetrisch. D.h. gleichmäßig zwischen Donor und Akzeptorzentrum verteilt. In einigen Enzymreaktionen wird zurzeit diskutiert, dass sich solche LBHB im Übergangszustand ausbilden könnten. Hierdurch würde die Energie des ÜZ sehr stark reduziert, womit ungewöhnlich hohe Ratenbeschleunigungen erklärt werden können.

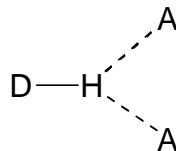


Beispiele für sehr starke H-Brücken, die in das Regime LBHB fallen sind:

$F-H\cdots F^-$  ,  $O-H\cdots O^-$  ,  $O^+-H\cdots O$ . Der H-Akzeptor Abstand ist hier mit  $1.2 \text{ \AA} - 1.5 \text{ \AA}$  sehr kurz. Der Het-Het Abstand sinkt auf unter  $2.5 \text{ \AA}$ . Die Bindungsenergie beträgt  $> 40 \text{ KJ mol}^{-1}$ . Der Winkel ist  $180^\circ$ . Im IR sieht man Schwingungen von  $< 1600 \text{ cm}^{-1}$ . Im  $^1\text{H-NMR}$  ist das Proton bei  $> 17 \text{ ppm}$  beobachtbar.

Normale und schwache H-Brücken sind die z.B. zwischen den Nucleobasen. Das H-Atom kann in ihnen auch zu mehr als zu nur einem Zentrum gebunden sein. Der H-Akzeptor Abstand ist hier  $1.5 \text{ \AA} - 3.0 \text{ \AA}$ . Die Bindungsenergie beträgt  $< 20 \text{ KJ mol}^{-1}$ . Schwingungen im IR sind bei Frequenzen zwischen  $2000-3000 \text{ cm}^{-1}$  beobachtbar. Der Winkel beträgt ca.  $160 \pm 20^\circ$ . Im  $^1\text{H-NMR}$  ist das Proton bei  $< 17 \text{ ppm}$  beobachtbar.

Gegabelte H-Brücke:



In den normalen H-Brücken variieren sowohl die Distanzen als auch die Winkel beträchtlich. Die Stärke einer normalen H-Brücke beträgt  $3 - 7 \text{ kcal/mol}$  in der Gasphase und in unpolaren Lösungsmitteln. In Wasser ist die Stärke einer H-Brücke zwischen  $D-H\cdots A$  sehr gering. Hier konkurriert das Lösungsmittel mit dem Akzeptor um das H-Atom. Die H-Brücke zum Wasser ist ähnlich stark wie zum Akzeptor A, so dass die Assoziationskraft zwischen D-H und A eben sehr schwach, d.h. kaum messbar ist.

Die Stärke einer H-Brücke in unpolaren Lösungsmittel ist stark von den  $pK_a$ -Werten der beteiligten Zentren abhängig.

- Bei konstanter H-Donorstärke ( $H-OH$ ) ist die Basizität des Akzeptors entscheidend
- Bei konstanter Akzeptorstärke ist die Azidität des Donors maßgebend.

**Beispiele:**  $HO-H\cdots B$

**B-Spezies:** MeNH<sub>2</sub> (-6.8 kcal/mol) ist besser als B: CH<sub>3</sub>CN (-4.9 kcal/mol) weil MeNH<sub>2</sub> der bessere Akzeptor (basischer) ist. MeOH (-6.8 kcal/mol) ist besser als Wasser (-6.2 kcal/mol), weil MeOH das basischere O hat.

In der Carbonylreihe wird die H-Brücke zum C=O schwächer in der folgenden Reihe.  
Harnstoff > N-Methylacetamid > Essigsäure > Essigsäuremethylester > Aceton

### Beispiele: HO-H...B

**HOH-Spezies:** Vergleicht man mit Wasser als Akzeptor, so stellt man fest: Alle Amine sind wegen der niedrigen Acidität schwache H-Donoren (CH<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>...OH<sub>2</sub>: 3.5 kcal/mol zum Wasser). In Amiden ist die NH-Acidität wieder höher, so dass die H-Brücken stärker werden (CH<sub>3</sub>CONHCH<sub>3</sub> ... OH<sub>2</sub>, -6.7 kcal/mol). Gut ist Essigsäure, wegen der höheren Acidität (CH<sub>3</sub>COOH...OH<sub>2</sub> = -8.8 kcal/mol)

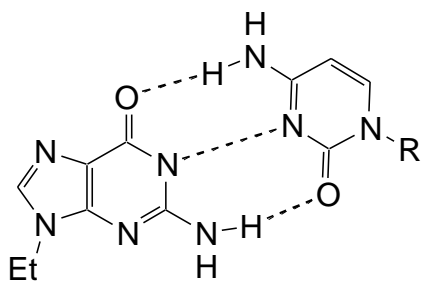
Berechnungen von W. L. Jorgensen in der Gasphase mit dem OPLS-Kraftfeld

#### .. Optimized Interaction Energies for Hydrogen Bonds in the Gas Phase with the OPLS Potentials\*

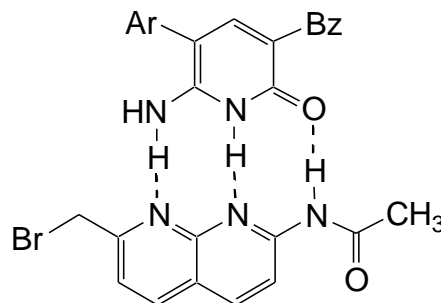
Complex	-ΔE(kcal/mol)	Complex	-ΔE(kcal/mol)
<b>B ... HOH</b>		<b>A-H ... OH<sub>2</sub></b>	
(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO ... HOH	9.1	CH <sub>3</sub> COOH ... OH <sub>2</sub>	8.8
CH <sub>3</sub> CONHCH <sub>3</sub> ... HOH	7.4	OC(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> ... OH <sub>2</sub>	7.5
CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> ... HOH	6.8	pyrrole ... OH <sub>2</sub>	6.9
CH <sub>3</sub> OH ... HOH	6.8	HCONH <sub>2</sub> ... OH <sub>2</sub>	6.8
CH <sub>3</sub> COOH ... HOH	6.7	CH <sub>3</sub> CONHCH <sub>3</sub> ... OH <sub>2</sub>	6.7
H <sub>2</sub> O ... HOH	6.2	HOH ... OH <sub>2</sub>	6.2
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> O ... HOH	5.8	CH <sub>3</sub> OH ... OH <sub>2</sub>	6.0
CH <sub>3</sub> COOCH <sub>3</sub> ... HOH	5.6	CH <sub>3</sub> SH ... OH <sub>2</sub>	6.0
imidazole ... HOH	5.5	CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> ... OH <sub>2</sub>	3.5
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CO ... HOH	5.5	<b>A-H ... B</b>	
CH <sub>3</sub> CN ... HOH	4.9	OC(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> ... O(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub>	7.9
pyridine ... HOH	4.7	OC(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> ... O(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	7.4
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> S ... HOH	4.6	CH <sub>3</sub> COOH ... pyridine	7.3
pyrimidine ... HOH	4.2	OC(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> ... pyridine	7.0
pyrazine ... HOH	4.1	CH <sub>3</sub> COOH ... pyrazine	6.9
benzene ... HOH	3.8	OC(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> ... CH <sub>3</sub> COOCH <sub>3</sub>	6.6
CH <sub>3</sub> COOH ... HOH	3.7	<b>A-H ... A-H</b>	
CH <sub>3</sub> SH ... HOH	3.7	CH <sub>3</sub> CONHCH <sub>3</sub> ...	9.0
CH <sub>3</sub> COOCH <sub>3</sub> ... HOH	2.9	CH <sub>3</sub> CONHCH <sub>3</sub>	
		CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH ... OHCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	7.0
		CH <sub>3</sub> OH ... OHCH <sub>3</sub>	6.8
		CH <sub>3</sub> SH ... SHCH <sub>3</sub>	3.8

### Sekundäre elektrostatische Wechselwirkungen

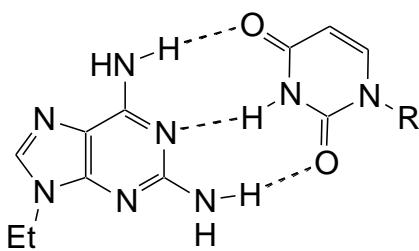
Betrachtet man die vier Komplexe und speziell die Bindungskonstanten die in Chloroform gemessen wurden, so stellt man fest, dass die oberen beiden Komplexe sehr stabil sind. Die unteren beiden sind wesentlich schwächer ( $\Delta(\Delta G) \approx 3-4$  kcal/mol). Alle vier Komplexe werden aber über drei H-Brücken zusammengehalten



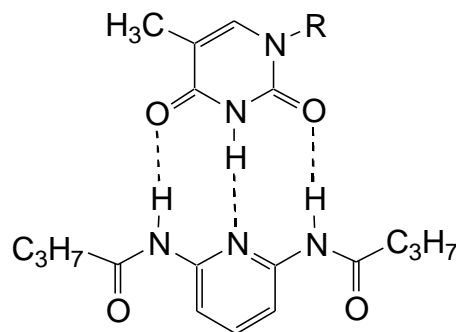
$$K_a \text{ ca. } 10^4 - 10^5 \text{ Lmol}^{-1}$$



$$K_a = 1.7 \times 10^4 \text{ Lmol}^{-1}$$



$$K_a = 170 \text{ Lmol}^{-1}$$



$$K_a = 90 \text{ Lmol}^{-1}$$

Ein Modell, das diese Tatsache erklärt wurde von W. Jorgensen (Yale Universität) entwickelt. Das Modell wurde experimentell in vielen Versuchen belegt.

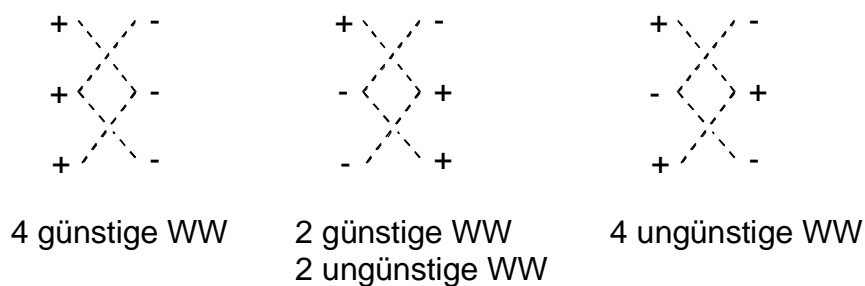
Die drei Wasserstoffbrücken sind in den Komplexen gleich stark. Die primären Wechselwirkungen sollten also zu gleich stabilen Komplexen führen. Neben diesen primären Wechselwirkungen gibt es jedoch noch sekundäre Wechselwirkungen. Hier zeigt sich erneut der elektrostatische Charakter der Wasserstoffbrücke.

**Eine positive Partialladung tragen die H's in jeder H-Brücke**

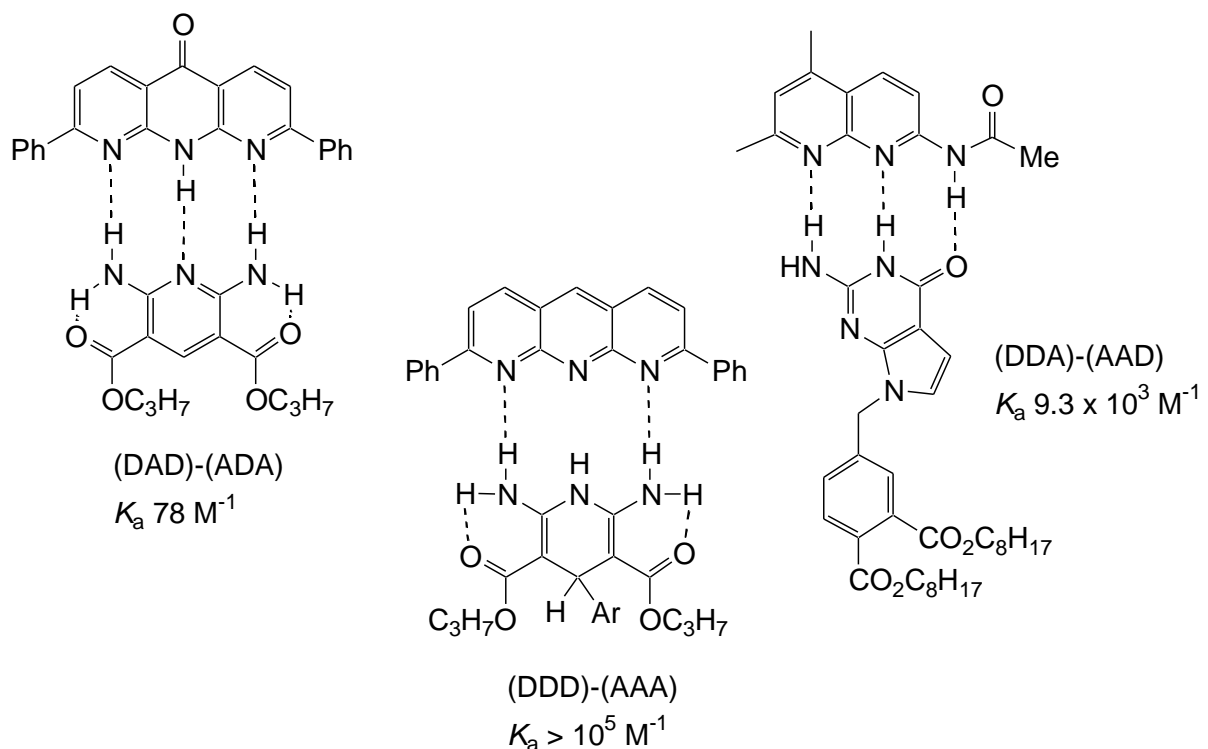


**Eine negative Partialladung besitzen die N und O Akzeptoratome.**

Unten sind drei prinzipielle Systeme gezeigt, in denen diese sekundären Wechselwirkungen A: nur anziehend, B: Kompensatorisch und C: nur abstoßend sind. Für Systeme wie C werden nur Bindungstärken wie für Assoziate bestehend aus zwei H-Brücken gefunden ( $K_a$  ca. 40 – 130  $M^{-1}$ ). Die sekundären Wechselwirkungen heben also die Stärke einer ganzen H-Brücke auf.



Zum Vergleich nochmal die Bindungskonstanten in Chloroform der folgenden vier Komplexe:

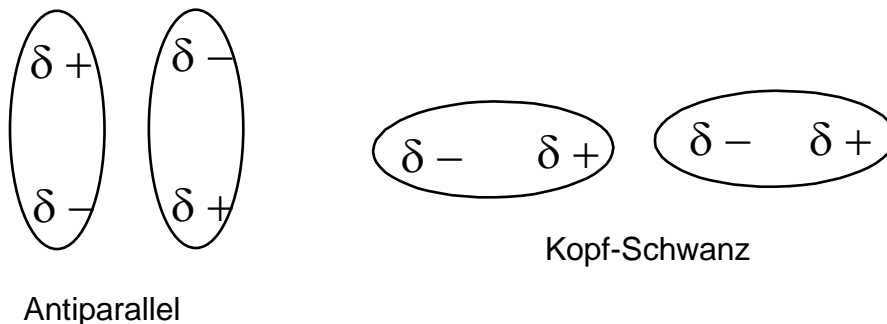


### a. Dipol-Dipol Wechselwirkungen

Molekulare Dipole orientieren sich in einer Kopf-Schwanz Anordnung, so dass sich entgegengesetzt geladene Positionen gegenüberstehen. Dieser Orientierung arbeitet die Brown'sche Molekularbewegung entgegen. Nur wenn die anziehende Wechselwirkung grösser als die thermische Energie ist kommt es zur Orientierung. Dipolwechselwirkungen werden durch die untenstehende Gleichung beschrieben. Die Wechselwirkungsenergie ist temperaturabhängig.

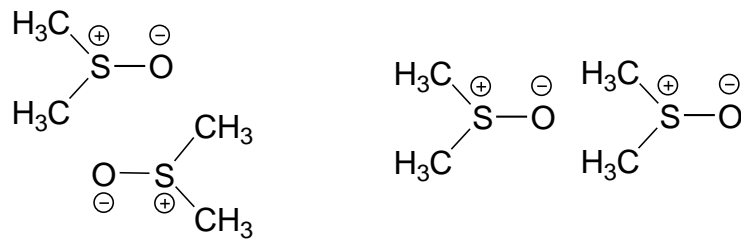
$$U_{\text{Dipol-Dipol}} = - \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \cdot \frac{2\mu_1^2 \cdot \mu_2^2}{3k_B T r^6}$$

$\mu$  ist das Dipolmoment. Mit steigender Temperatur wird die Wechselwirkungsenergie kleiner. Die Reichweite der Dipolwechselwirkungen wird durch die Abhängigkeit von  $1/r^6$  beschränkt.

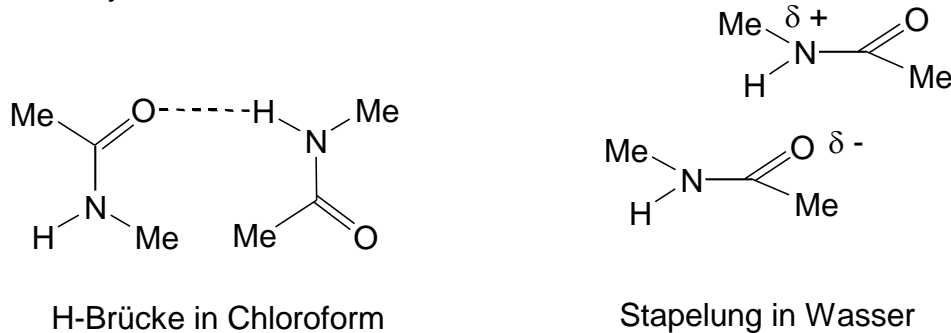


Beispiele für derartige Dipol-Dipol-Wechselwirkungen sind die DMSO Dimere oder auch die Anordnung von N-Methylacetamid, das sich in Wasser den Dipolkräften folgend stapelnd orientiert.

### DMSO-Dimere



### N-Methylacetamid in Wasser und Chloroform



## b. Induzierte Dipol-Dipol Wechselwirkungen

Ein in einem Molekül vorhandener Dipol kann in einem zweiten Molekül einen Dipol induzieren. Die Größe der Induktion hängt von der Größe des Dipols und der Polarisierbarkeit des wechselwirkenden Moleküls ab.

$$U_{\text{Ind.Dipol-Dipol}} = - \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \cdot \frac{\alpha_1 \mu_2^2 + \alpha_2 \mu_1^2}{r^6}$$

Hier ist  $\alpha$  die Polarisierbarkeit

Auch Ionen induzieren Dipole. Hier erhält man für die Potentielle Energie:

$$U_{\text{Ind.Dipol-Dipol}} = - \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \cdot \frac{z^2 \cdot e^2 \cdot \alpha}{2r^4}$$

Als Dispersionswechselwirkungen bezeichnet man anziehende Kräfte, die entstehen wenn ein induzierter Dipol einen Dipol im Nachbarmolekül induziert. Man nennt diese Kräfte auch London-Dispersionskräfte. Sie sind mit  $1/r^6$  vom Abstand abhängig. Die Kräfte sind klein, summieren sich aber bei großer Kontaktfläche auf. Es handelt sich

vermutlich um die bedeutendste anziehende Wechselwirkung unpolarer Moleküle. Diese Kräfte sind verantwortlich für das nichtideale Verhalten von Edelgasen, die sich ja bei tiefer Temperatur verflüssigen lassen. Kommen die Moleküle zu nah zusammen, so greifen die abstoßenden Wechselwirkungen, die von  $1/r^{12}$  abhängen.

$$U = \frac{A}{r^{12}} - \frac{B}{r^6}$$

Der erste A-Term beschreibt die abstoßenden Wechselwirkungen. Der zweite B-Term die anziehenden Wechselwirkungen. Beschrieben wird das Lennard-Jones Potential.

Ein unpolares Molekül, das keinen permanenten Dipol hat, hat doch temporäre Dipole durch Fluktuationen in der Elektronenhülle. Diese temporär induzierten Dipole reichen aus, um in einem Nachbarmolekül ebenfalls temporäre Dipole zu induzieren. Der anziehende Parameter B im obigen Lennard-Jones Potential wird durch die Slater-Kirkwood-Gleichung beschrieben:

$$B = \frac{3/2 e (h/2\pi m^{1/2}) \alpha_i \alpha_j}{(a_i/N_i)^{1/2} + (a_j/N_j)^{1/2}}$$

In dieser Gleichung ist  $\alpha$  die Polarisierbarkeit,  $e$  die Elementarladung,  $m$  die Elektronenmasse,  $h$  die Planck'sche Konstante,  $N$  die effektive Zahl der Elektronen in der äußeren Schale.

Mit zunehmender Zahl an Valenzelektronen und mit zunehmender Polarisierbarkeit der wechselwirkenden Moleküle nimmt die Dispersionsanziehungskraft zu. Die molekularen Polarisierbarkeiten werden aus den Brechungsindizes bestimmt.

Aus der folgenden Tabelle wird ersichtlich, dass O wenig, -CH, -CH<sub>2</sub> und -CH<sub>3</sub> Gruppen mittel und S hoch polarsierbar ist.

Jede Anziehung von Molekülen stößt an eine natürliche Begrenzung, wenn sich die Moleküle berühren. Dann nehmen die abstoßenden Kräfte mit  $1/r^{12}$  zu. Jedes Atom hat, abhängig von dem Bindungszustand, einen spezifischen Van-der-Waals Radius. Diese Radien sind additiv. So ganz genau sind die Radien nicht definiert. Sie variieren ein wenig, je nachdem welche Berechnungsmethode angewendet wird.

Die Van-der-Waals- oder Dispersionskräfte sind schwache Wechselwirkungen, die jedoch auf Grund der Additivität beträchtliche Gesamtbeträge annehmen können. Jede CH<sub>2</sub>-Gruppe in einem kristallinen Kohlenwasserstoff bringt 2 kcal/mol an anziehender Energie. Jede CH-Gruppe im Benzolkristall trägt mit 1.6 kcal/mol zur anziehenden Wechselwirkung bei. Die Van-der-Waals Energie für die Wechselwirkung des D-Teils der Lysozym Bindungsstelle zum komplementär gebundenen Glucopyranosering soll Berechnungen zufolge ca. 14 kcal/mol betragen.

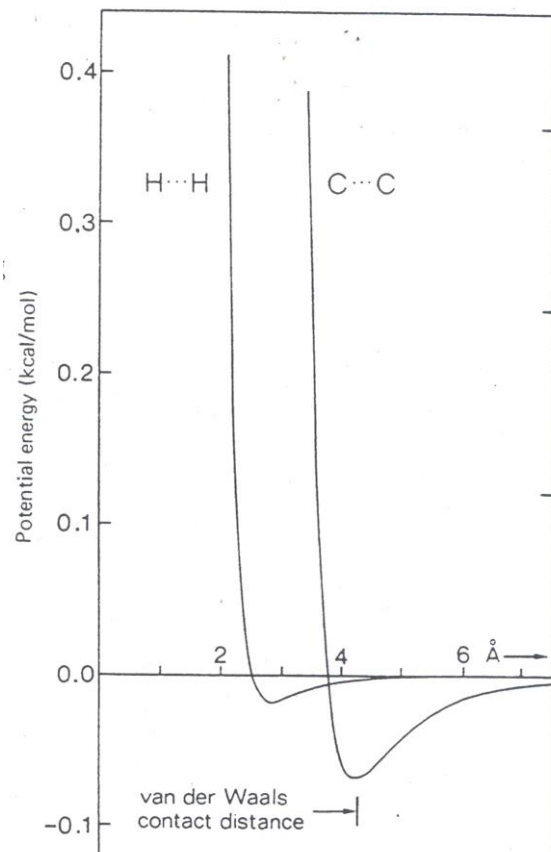
Tabelle: Polarisierbarkeiten und Van-der-Waals Anziehung zwischen Atomen und Atomgruppen

Atom/Gruppe	Polarisierbarkeit (mL x 10 <sup>24</sup> oder Å <sup>3</sup> )	N	B für Selbst wechselwirkung (kcal·Å <sup>6</sup> /mol)
-H-	0.40	1	46
-O-	0.63	6	220
-OH	0.99	7	470
-CH <sub>2</sub> -	1.80	7	1160
CH <sub>arom</sub>	2.07		
-CH <sub>3</sub>	2.17		
-S-	3.00	16	3760
-SH	3.34	17	4560

Zu N : J. A. McCammon, P. G. Wolynes, M. Karplus,  
*Biochemistry* 18 (1979) 927.

B : berechnet über die Slater-Kirkwood-Gleichung

Polarisierbarkeit α : A. R. Fersht, C. Dingwall  
*Biochemistry* 18 (1979) 1245.



ler  
The interaction energies of two hydrogen  
atoms and two (tetrahe-  
e dral) carbon atoms in a protein.

Van der Waals radii

Atom	Van der Waals radius (Å)			Minimum radius (Å) <sup>d</sup>
	a	b	c	
H	1.2	1.4	—	—
O (hydroxyl)	1.5	—	1.6	1.3
O (carbonyl)	1.5	1.7	—	1.3
O <sup>-</sup> (carboxyl)	1.5	1.8	1.6	—
N (amide)	1.55	2	1.65	1.3
NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> (ammonium)	1.65 <sup>e</sup>	—	1.75	—
N <sup>+</sup> (imidazolium)	1.55	—	—	—
CH (tetrahedral)	1.85 <sup>e</sup>	2.1	1.90	1.5
C (trigonal)	1.7	1.8	1.80	1.45
CH (aromatic)	1.8 <sup>e</sup>	—	1.90	—
S	1.8	—	1.90	1.5

<sup>a</sup> From A. Bondi, *J. Phys. Chem.* **68**, 441 (1965); D. A. Brant and P. J. Flory, *J. Am. Chem. Soc.* **87**, 2791 (1965).

<sup>b</sup> From A. Warshel and M. Levitt, *J. Molec. Biol.* **103**, 227 (1976). These values are close to the potential minimum; the values in the preceding column are slightly smaller.

<sup>c</sup> From J. A. McCammon, P. G. Wolynes, and M. Karplus, *Biochemistry* **18**, 927 (1979).

<sup>d</sup> The minimum contact radius in a protein. [From M. Levitt, *J. Molec. Biol.* **82**, 393 (1974).]

<sup>e</sup> The radius includes the bonded hydrogen.

Dispersion (van der Waals) energies for pairs of atoms at optimal separations<sup>a</sup>

Interaction	Van der Waals energy	
	kJ/mol	kcal/mol
H...H	0.0778	0.0186
=O...O=	0.217	0.0519
N...N	0.572	0.1366
C...C	0.284	0.0679
C...C <sup>b</sup>	1.891	0.4519

<sup>a</sup> From A. Warshel and M. Levitt, *J. Molec. Biol.* **103**, 227 (1976).

<sup>b</sup> Carbonyl or carboxyl carbon.

Dispersion and electrostatic energies in some crystals<sup>a</sup>

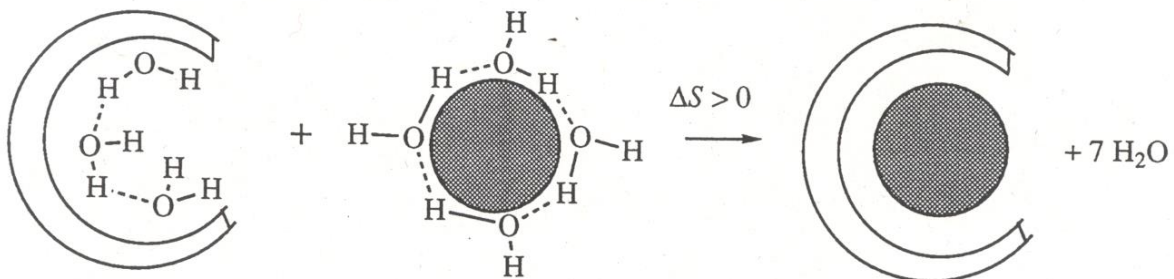
Crystal	Calculated energies				Observed heat of sublimation	
	Dispersion (van der Waals)		Electrostatic <sup>b</sup>			
	kJ/mol	kcal/mol	kJ/mol	kcal/mol	kJ/mol	kcal/mol
Benzene	-42	-9.9	-5.4	-1.3	-44.8	-10.7
n-Hexane	-54	-12.9	0	0	-50.2	-12.0
n-Pentane	-42	-10.0	0	0	-43.9	-10.5
Perylene	-119	-28.4	-2.5	-0.6	-125.5	-30
Phenanthrene	-85	-20.3	-4.2	-1.0	-91.8	-21.7
Adipamide (4 H bonds)	-86	-20.6	-77	-18.4	—	—
Formamide (2 H bonds)	-24	-5.7	-43	-10.3	-73.2	-17.5
Malonamide (4 H bonds)	-52	-12.3	-81	-19.4	-120.5	-28.8
Oxamide (4 H bonds)	-45	-10.8	-60	-14.4	-118.0	-28.2
Succinamide (4 H bonds)	-65	-15.5	-76	-18.2	-135.2	-32.3
Urea (3 H bonds)	-28	-6.7	-65	-15.6	-92.8	-22.2

<sup>a</sup> The energies are calculated from empirical energy functions (see Table 11-3). [From P. Dauber and A. T. Hagler, *Accts. Chem. Res.* **13**, 105 (1980); A. T. Hagler, P. Dauber, and S. Lifson, *J. Am. Chem. Soc.* **101**, 5131 (1979), and references therein.]

<sup>b</sup> The electrostatic contribution is due to the hydrogen bonds.

### c. Die hydrophobe Bindung

Werden hydrophobe Moleküle in Wasser eingebracht, so ordnen sich die Wassermoleküle um die Oberflächen herum. Die treibende Kraft ist die Maximierung der H-Brücken Wechselwirkungen (5-6 kcal/mol) der Wassermoleküle. Das Wasser nimmt eine quasi-kristalline Struktur um die hydrophobe Oberfläche herum an. Assoziieren zwei hydrophobe Moleküle miteinander, so wird ein Teil der Wassermoleküle freigesetzt. Dieser Schritt ist mit einem Gewinn an Entropie verbunden. Dieser Energiebeitrag ist z. B. bei der Bildung von Membranen, Mizellen und auch bei der Proteinfaltung beträchtlich. Für alle diese Prozesse misst man eine positive Entropieänderung und nur eine kleine bis gar keine Enthalpieänderungen. meistens ist die Enthalpie gering negativ, oder sogar leicht positiv.



Der hydrophobe Effekt wird auch deutlich, wenn man den Eintritt von Alkanen aus der Gasphase in ein unpolares Lösungsmittel oder in eine wässrige Phase untersucht. Hier kommt es zu einer Entropieerhöhung des Systems. Besonders in Wasser müssen sich die H<sub>2</sub>O-Moleküle um das hydrophobe Molekül herum stark ordnen.

**Tabelle:** Transfer von Methan (CH<sub>4</sub>) aus der Gasphase in Cyclohexan und Wasser

	$\Delta G^{\circ}_s$ (kcal/mol)	$\Delta H^{\circ}_s$ (kcal/mol)	$\Delta S^{\circ}_s$ (cal/mol K)
H <sub>2</sub> O	6.30	-3.30	-32.02
Cyclohexan	3.40	-0.60	-12.90

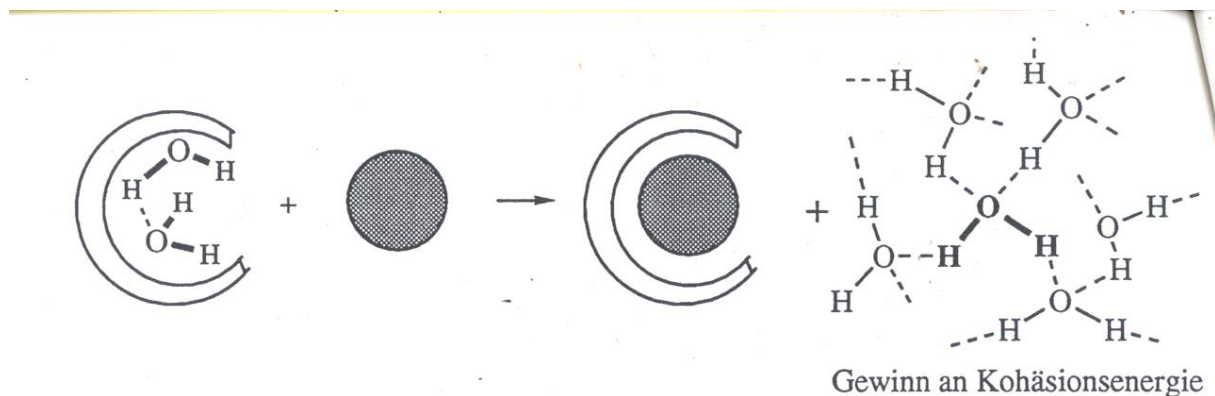
Die stark negative Lösungsentropie ist der Hauptgrund für die positive freie Lösungsenthalpieänderung. Diese übertrifft die negative Lösungsenthalpie und macht den gesamten Prozess endotherm. Die sehr starke negative

Entropieänderung in Wasser geht auf die notwendige Ordnung der Wassermoleküle zurück.

Zur kompletten energetischen Beschreibung der Wechselwirkung unpolarer Moleküle in Wasser müssen noch enthalpische Faktoren berücksichtigt werden.

A) Auch die Dispersionskräfte zwischen dem Kohlenwasserstoff und den Wassermolekülen an der Oberfläche sind geringer als zwischen zwei assoziierten Kohlenwasserstoffen wegen der geringen Polarisierbarkeit der O-Atome

B) Die Wassermoleküle an der Oberfläche hydrophober Moleküle sind nicht durch 4 H-Brücken komplett abgesättigt. Werden die Wassermoleküle durch Assoziation zweier unpolarer Moleküle freigesetzt, so können sie alle 4 H-Brücken ausbilden. Dieser Enthalpiegewinn ist gerade bei Wasser sehr groß.



Der hydrophobe Charakter einer Gruppe lässt sich aus dem Verteilungskoeffizienten einer Verbindung zwischen Wasser und Octanol bestimmen. Hierbei stellt man fest, dass viele Substituenten einen konstanten additiven Beitrag zum hydrophoben Charakter einer Verbindung beitragen. Ist das Verhältnis der Löslichkeit einer Stammverbindung H-S in der organischen Phase zur Löslichkeit in der wässrigen Phase =  $P_0$  und dasselbe Verhältnis der substituierten Verbindung R-S =  $P$ , so ist die Hydrophobizitätskonstante  $\pi$  für R definiert als:  $\pi = P/P_0$ .

Man kann so aus  $RT(\ln P/P_0)$  eine inkrementelle freie Enthalpie für den Transfer der Gruppe R aus *n*-Octanol in Wasser relativ zum H-Atom. Die folgende Tabelle liefert einige Daten:



Some values of  $\pi^a$ 

Group <sup>b</sup>	$\pi$	Incremental Gibbs energy of transfer from <i>n</i> -octanol to water	
		kJ/mol	kcal/mol
—CH <sub>3</sub>	0.5	2.85	0.68
—CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	1.0	5.71	1.36
—(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	1.5	8.56	2.05
—(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	2.0	11.41	2.73
—(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> CH <sub>3</sub>	2.5	14.26	3.41
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagdown \\ \text{—CH} \\ \diagup \\ \text{CH}_3 \end{array}$	1.3	7.42	1.77
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagdown \\ \text{—CH} \\ \diagup \\ \text{CH}_2\text{CH}_3 \end{array}$	1.8	10.27	2.45
—CH <sub>2</sub> Ph	2.63	15.00	3.59
—OH <sup>c</sup>	−1.16	−6.62	−1.58
—NHCOCH <sub>3</sub> <sup>c</sup>	−1.21	−6.90	−1.65
—OCOCH <sub>3</sub> <sup>c</sup>	−0.27	−1.54	−0.37

<sup>a</sup> From C. Hansch and E. Coats, *J. Pharm. Sci.* 59, 731 (1970).

<sup>b</sup> Relative to the hydrogen atom.

<sup>c</sup> Bound to aliphatic compounds.

Je größer P, umso besser ist also die Löslichkeit in der organischen Phase. Eine solche Verbindung löst sich schlecht in Wasser wird aber gut von komplementären hydrophoben Hohlräumen gebunden. Dieses ist für die Entwicklung von Wirkstoffen entscheidend. Hier werden die logP-Werte mit Hilfe von Computerprogrammen für neue Verbindungen berechnet. Aus den logP-Werten entnimmt man die Verteilung von Verbindungen in Membranen und auch die zu erwartenden Wechselwirkungsenergien in hydrophoben Protein-Taschen.

Die  $\pi$ -Werte sind additiv. Die  $\pi$ -Werte hängen nicht davon ab, wie der Rest des Moleküls aussieht. Jede Methylengruppe hat z. B. ein Inkrement von 0.5. Das entspricht einer Enthalpieänderung von 0.68 kcal/mol (2.85 kJ/mol).

Man findet eine empirische Korrelation zwischen der Größe einer hydrophoben Aminosäureseitenketten-Oberfläche und der freien Enthalpie des Transfers aus Wasser in eine organische Phase. 1Å<sup>2</sup> Oberfläche gibt eine hydrophobe Energie, die bei Transfer freigesetzt wird von 20-25 cal/mol. Die Größe der Oberfläche wird gemessen, indem man eine Kugel mit dem Radius des Van-der-Waals Radius von Wasser über die Oberfläche rollt. Die Oberfläche wird am Zentrum des "Wasserballs" gemessen. Moderne Computerprogramme wie das *Macromodel* berechnen heute die Oberflächengröße und die hydrophobe Energie.

### 1.3 Parameter, die auf Nukleotid-Ebene die Struktur der Doppelhelix bestimmen

In der Zelle begegnen uns DNA und RNA Moleküle, die sich in der Anwesenheit (RNA) oder Abwesenheit (DNA) einer weiteren OH-Gruppe am C2' des Zuckers unterscheiden. Diese unterschiedliche Substitution ist dafür verantwortlich, dass sich die Konformationen der jeweiligen Nukleotide unterscheiden. Die Konformation der Monomere bestimmt die Konformation des doppelhelikalen Makromoleküls. Tatsächlich kennt man eine ganze Reihe unterschiedlicher Doppelhelixstrukturen. Am bekanntesten ist die B-DNA gefolgt von der A- und der Z-DNA.

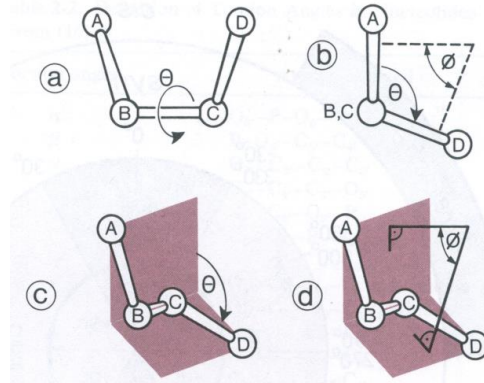
---

#### *Exkurs: Definition von Winkel in chemischen Molekülen*

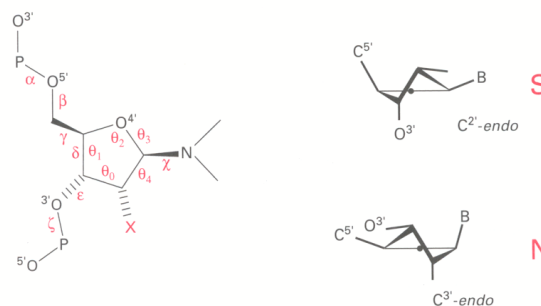
Die dreidimensionale Struktur von Molekülen wird bestimmt durch Bindungslängen, Bindungswinkel und Rotationen von Atomgruppen um Bindungen. Die Rotation um eine zentrale Bindung B-C wird im Fall von A-B-C-D durch den Torsionswinkel  $\theta$  beschrieben.

$\theta$  beschreibt den Winkel zwischen den Bindungen A-B und C-D beim schauen entlang der zentralen Achse B-C. Hierbei kann man in Richtung B-C oder C-B schauen.  $\theta = 0^\circ$  wenn A-B und C-D eklipsed stehen (*cis* und *coplanar*, *syn-periplanar*). Das Vorzeichen von  $\theta$  ist positive, wenn die entfernte Bindung im Uhrzeigersinn relativ zur nahen Bindung gedreht wird. Man gibt Torsionswinkel daher im Bereich  $0^\circ - 360^\circ$  an oder von  $-180^\circ$  bis  $+180^\circ$ . Gleichwertig ist die Beschreibung von Torsionswinkel durch das Verhältnis der zwei Ebenen ABC und BCD zueinander.

Neben den Torsionswinkel können auch Diederwinkel  $\phi$  angegeben werden. Der Diederwinkel ist der Winkel zwischen den Normalen auf den Ebenen. In der Literatur werden diese Winkel oft vertauscht. Beide Winkel sind halt komplementär. Sie ergänzen sich zu  $180^\circ$  (siehe Abbildung)



Die Konformation der monomeren Nukleotide wird durch eine Reihe von Torsionswinkel beschrieben. Besonders wichtig für die Konformation des gesamten Doppelstranges sind die beiden Torsionswinkel  $\delta$  und  $\chi$ . Ebenso entscheidend ist die Konformation des Zuckers, die durch die An- oder Abwesenheit der 2'-OH Gruppe maßgebend beeinflusst wird.



Insgesamt wird die Konformation eines Nukleotids durch sechs Torsionswinkel beschrieben. Die Benennung der Winkel erfolgt entlang P-O5'-C5'-C4'-C3'-O3'-P. Die jeweiligen Winkel heißen  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\xi$ . Der Torsionswinkel der glycosidischen Bindung heißt  $\chi$ . Viele der Winkel sind nicht unabhängig voneinander. Entscheidend für die Doppelhelix Struktur sind vor allem vier Parameter:

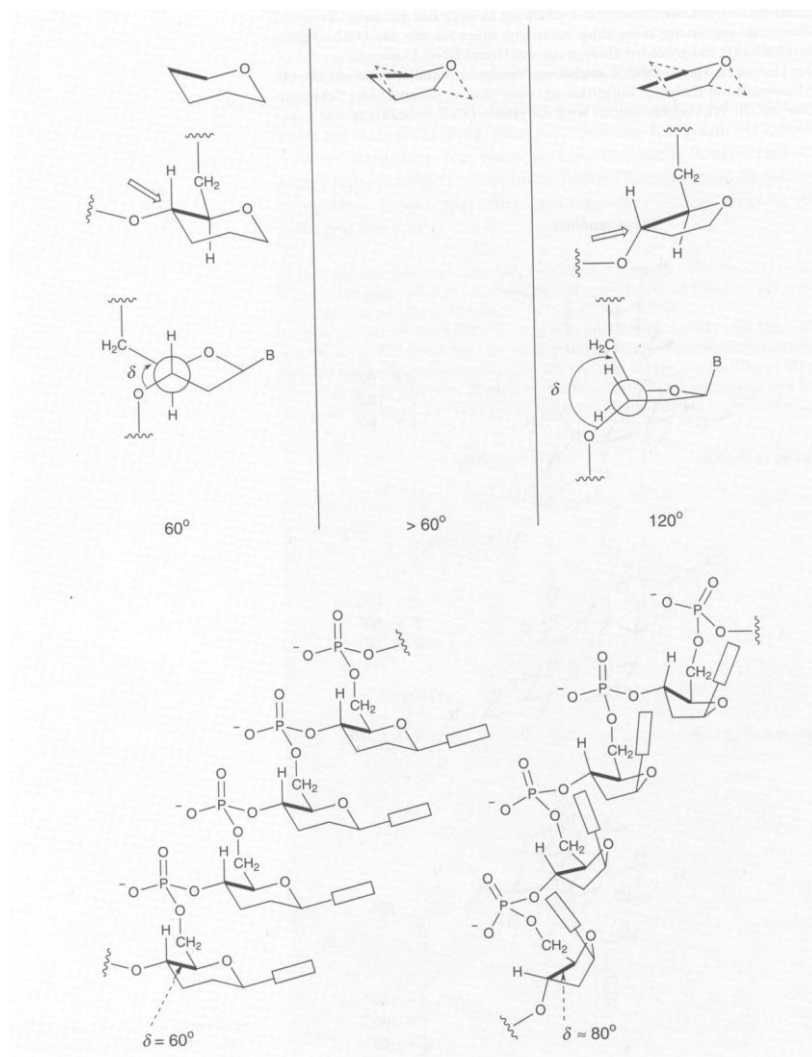
1. Die Konformation des Zuckers
2. Der Winkel  $\chi$  der glycosidischen Bindung
3. Der Scharnierwinkel  $\delta$
4. Der Winkel  $\gamma$

### 1.3.1 Der Winkel $\delta$

Für die Ausbildung des Doppelstranges ist der Winkel  $\delta$  entscheidend. Ist  $\delta = 60^\circ$  so kann sich keine Helixstruktur ausbilden. Der Einzelstrang bildet dann eine lineare Zick-Zack Kette. Ist  $\delta > 60^\circ$  so windet sich das Rückgrat zu einer Helix auf. Im Fall der DNA oder RNA ist  $\delta = 80^\circ$ . Das liegt an der Verwendung des Zuckers in der Fünfring, d.h. Ribofuranose Form.

Der Winkel  $\delta$  wird deshalb als der Scharnierwinkel bezeichnet.

Vor allem in der AG von Prof. Eschenmoser (ETH Zürich) wurden Nukleinsäuren basierend auf anderen Zucker hergestellt und untersucht (s.u.). Besonders interessant sind DNA Strukturen basierend auf der Pyranoseform der Ribose. Diese als *homo-DNA* bezeichneten Stränge weisen einen relativ starren Winkel  $\delta$  von  $60^\circ$  auf.



Der Sechsring der Pyranose ist konformationell sehr viel starrer und bevorzugt stark die Sesselkonformation. Die Fünfring Ribofuranose ist konformationell flexibler. Die

homo-DNA bildet stabile Doppelstränge. Diese sind jedoch nicht helikal sondern linear.

Durch die Repetition einfacher Konformationselemente wird die Doppelhelixstruktur aufgebaut. Der fünfgliedrige Zucker mit einem  $\delta$ -Winkel von  $80^\circ$  erzeugt eine leichte Helikalität, die durch das lineare Aneinanderreihen der Bausteine zur Ausbildung einer Doppelhelix-Struktur führt.

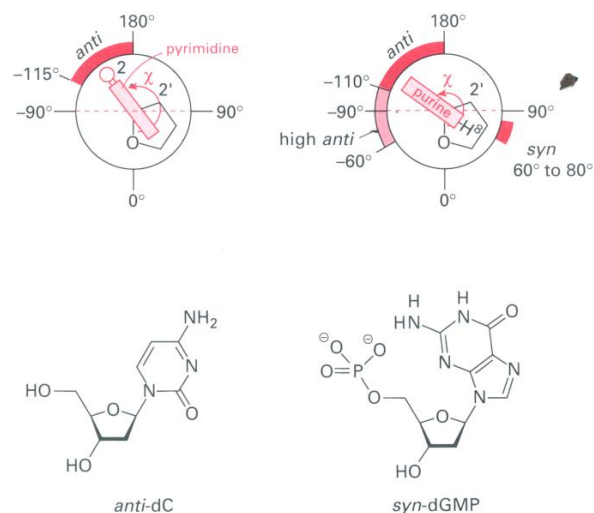
### 1.3.2 Der Torsionswinkel $\chi$

Die Ebenen durch die Base und durch den Zucker stehen nahezu senkrecht aufeinander. Die Ebene durch die Base schneidet den Winkel  $O4'-C1'-C2'$  des Zuckers. Der Winkel wie die Ebene durch die Base zum Zucker steht wird mit  $\chi$  bezeichnet.

Dieser Winkel beschreibt also die Konformation der Base relativ zum Zucker. Dieser Winkel ist extrem wichtig. Der Winkel bestimmt, ob sich überhaupt eine Doppelhelix ausbilden kann. Man unterscheidet im Wesentlichen zwei Konformationen.

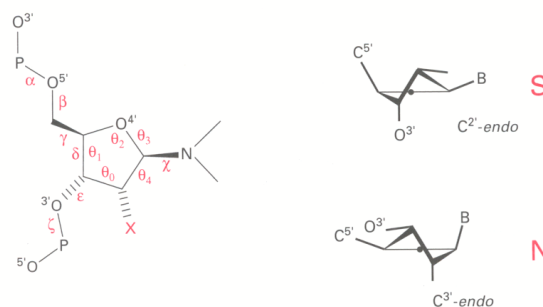
In der *syn*-Konformation zeigen die H-Brücken-Donoren und Akzeptoren in Richtung des  $O5'$ , also weg von der Helixachse. In dieser Konformation kann die Base in der Regel keine Wasserstoffbrücken zur gegenüberliegenden Base ausbilden. Watson-Crick-Basenpaarung ist nicht möglich. In einer Doppelhelix wird diese Konformation nur in der Z-DNA von einem Teil der Basen ausgebildet.

In der *anti*-Konformation zeigen die H-Brücken-Donoren und Akzeptoren zur Helixachse. Diese Konformation ist für die Ausbildung normaler Doppelstränge notwendig.



In der *anti*-Konformation steht das 6H (Pyrimidine) und das 8H (Purine) über dem Zuckerring. In der *syn*-Konformation befindet sich das O2 (Pyrimidin) oder das N3(Purin) über dem Zucker. Pyrimidine liegen meist in der *anti*-Konformation vor. Purine können *anti* oder sogar *high-anti* bevorzugen. Nur selten, bei sehr großen Basen, vor allem C8-substituierten Purine findet man die *syn*-Konformation. Die *syn*-Konformation ist z. B. vorhanden in alternierenden Sequenzen d(CpGpCpG). Hier findet man das G in der *syn*-Konformation. Möglicherweise liegt das an einer H-Brücke zwischen dem NH<sub>2</sub>-Gruppe des G's und dem negative geladenen Phosphat-Rückgrat (geladene H-Brücke).

### 1.3.3 Die Konformation des Zuckers (Zuckerpucker)



Die makroskopische Gestalt der Doppelhelix wird durch den Zuckerpucker bestimmt. Der Fünfring liegt aus sterischen Gründen nicht planar vor, sondern in einer Briefumschlagsform. Hierbei wird ein Ringatom aus der Ebene herausgedreht. Ein ebener 5-Ring wäre zwar ohne Bayer- (Winkel) Spannung (CCC-Valenzwinkel = 108°), besäße aber erhebliche Pitzer-Spannung, da die Bindungen alle ekliptisch wären. Der Kompromiss ist, dass die Valenzwinkel kleiner als 108° werden. Ein Ringatom wird ca. 50 pm aus der Ebene herausgehoben. Im Cyclopentanring wandert diese Unebenheit den Ring entlang (Pseudorotation). In der Furanose ist die unebene Struktur etwas fixierter.

In der Furanose wird die Ebene C1'-O4'-C4' fixiert. *Endo*-pucker bedeutet, dass das C2' oder das C3' aus der Ebene heraus in Richtung O5' gehoben wird. Verschiebung in die andere Richtung wird mit *exo* bezeichnet. Ist die *endo*-Verschiebung von C2' grösser als die *exo*-Verschiebung von C3' so spricht man von einem C2'-*endo* Pucker. C2'-*endo* und C3'-*endo* stehen miteinander im Gleichgewicht. Die

Energiebarriere beträgt ca. 20 kJ mol<sup>-1</sup>. Die Vorzugskonformation wird durch den Substituenten an C2' bestimmt. Ein elektronenziehender Substituent (OH) bevorzugt an C2' eine axiale Position um die "Hyperkonjugation" mit dem Ringsauerstoff zu verbessern. Das bedeutet C3'-*endo* Konformation des Zuckers in der RNA. In der DNA kann der Zucker leicht beide Konformationen annehmen. Es wird C2'-*endo* etwas bevorzugt. *syn*-Konformation der glycosidischen Bindung bedeutet C2'-*endo* Pucker.

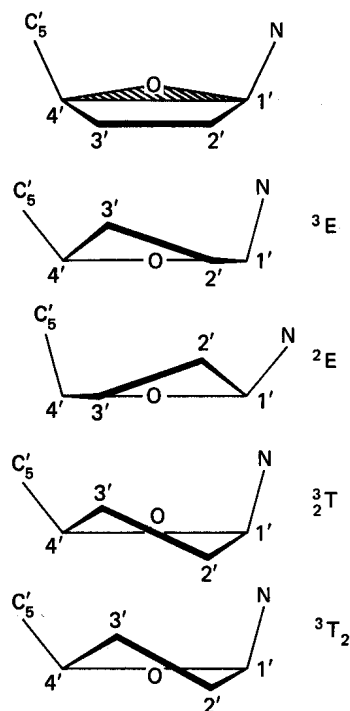
Für die unterschiedlichen Zuckerpucker hat sich die folgende Nomenklatur eingebürgert.

Die Briefumschlagsform wird mit **E** bezeichnet

Daneben gibt es noch eine Twist-form die mit **T** bezeichnet wird.

In der Twist form sind zwei nebeneinander angeordnete Atome aus der 5-Ring Ebene zu unterschiedlichen Seiten herausgedreht.

In der Kurznotation werden *endo*-Atome hochgestellt und *exo*-Atome tiefgestellt vor oder nach dem Grossbuchstaben T oder E plziert. Ob vorher oder nachher wird entschieden je nach dem wie stark die Abweichung von der Planarität ist. Der Hauptpucker steht vorne. Der Nebenpucker steht hinten. Wenn beide Pucker gleich stark sind, stehen beide vorne.

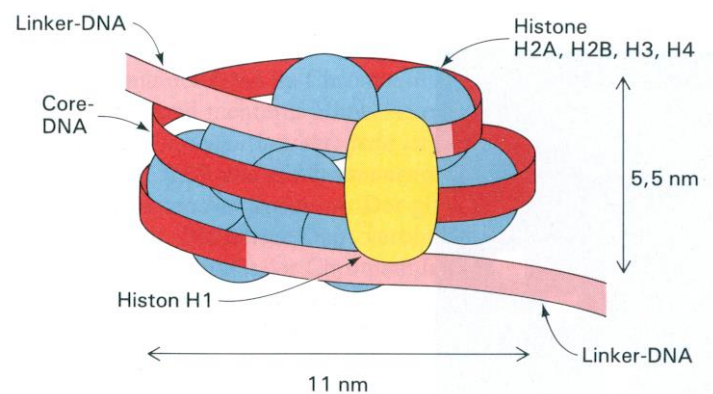


Aufgrund des unterschiedlichen Zuckerpuckers nehmen DNA und RNA unterschiedliche Doppelhelixstrukturen an. DNA kann sowohl in der B- als auch in

der A-Konformation existieren, liegt zumeist aber in B vor. Ein RNA Doppelstrang ist auf die A-Konformation beschränkt. Die Röntgenstruktur des Doppelstranges d(CGCGCG) durch Wang in 1979 zeigt, dass DNA noch in einer dritten Konformation, dem Z-DNA Doppelstrang, vorliegen kann. Wir kennen also als Hauptkonformationen von DNA die A, B und die Z-Konformation. Ein RNA Doppelstrang ist auf die A-Konformation beschränkt.

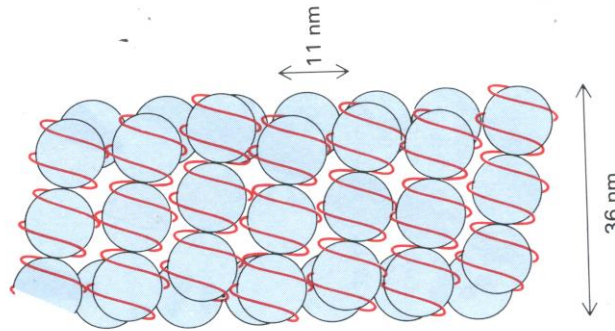
Wir wissen heute, dass es neben diesen drei Hauptstrukturen weitere Konformationsmodulationen gibt, die von der Sequenz der Stränge abhängen. Es gibt lokale Strukturvariationen. Durch diese Konformationsmodulationen werden sterische Wechselwirkungen minimiert und das Basen-*Stacking* s.u. erhöht. Daneben gibt es auch ganz andere Strukturen, wie z. B. Kruzifix-Strukturen.

In der Zelle ist das DNA-Molekül darüber hinaus verpackt. Der Doppelstrang wickelt sich dabei um ein Histon-Oktamer, von dem die Richmond Gruppe vor wenigen Jahren eine Kristallstrukturanalyse machen konnte.



Im Histon wird die DNA um ein Proteinoktamer, das *core particle*, zum Nucleosom gewickelt. Zwei Histone sind über eine Linker DNA miteinander verknüpft. An dieser Linker DNA sitzt ein Histon H1, das stabilisierend wirkt. Diese sehr dichte Histon-Verpackung ermöglicht es Organismen ihre DNA im Zellkern abzulegen. Hierbei werden die Histone eng aneinander gepackt.



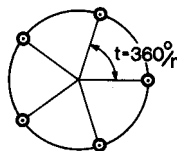
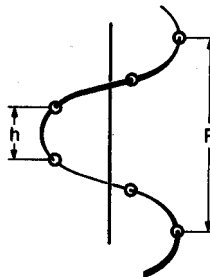


## 1.4 Helicale Parameter der Doppelstränge

Die Doppelhelix wird im Wesentlichen von drei Parametern charakterisiert:

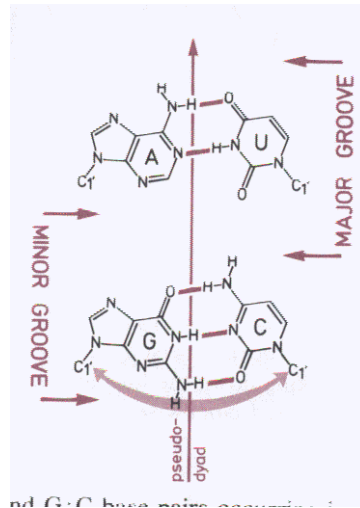
- P: P ist die Ganghöhe. Das ist die Distanz, die nach  $360^\circ$  entlang der Helixachse zurückgelegt wird.
- n: n ist die Zahl der Nukleotide innerhalb einer  $360^\circ$  Drehung um die Helixachse.
- h: h ist die Höhendifferenz zwischen zwei Basen.

Ein von diesen Größen abhängiger Parameter ist der *unit twist*, die Drehung, die pro Base erreicht wird.  $t = 360^\circ/n$



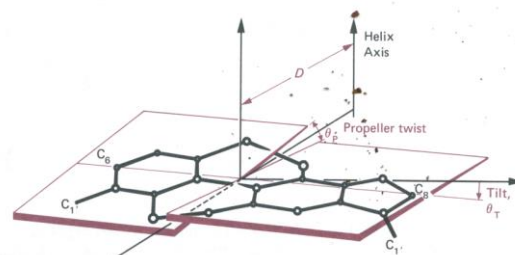
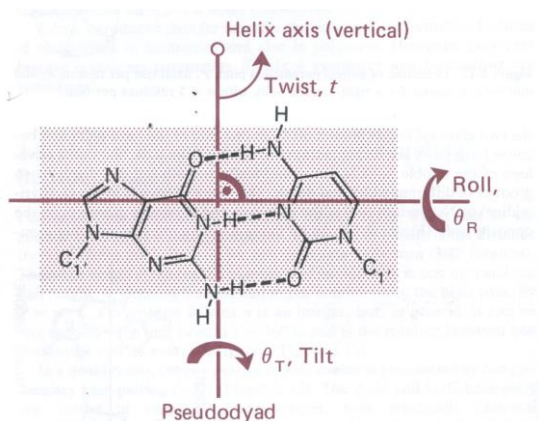
Durch die helikale Aufwindung der beiden Einzelstränge zu einem Doppelstrang entstehen Doppelstränge mit charakteristischen Furchen. Die Furchenstruktur wird auch durch Lage der Basen relativ zur Helixachse bestimmt. Bei der Doppelstrangbildung entstehen eine kleine und eine große Furche. Die Furchenbreite und Furchentiefe, sowie die Art der funktionellen Gruppen, die in diese Furchen hineinragen sind von großer Bedeutung. Sie erlauben das Ausbilden von

H-Brücken, welche für die Wechselwirkung der DNA mit kleinen organischen Molekülen (auch Naturstoffen) und Proteinen wichtig sind. Die molekulare Erkennung der Doppelhelix findet in wesentlichen in diesen Furchen statt. Die Protein-DNA Wechselwirkungen sind z. B. für die Regulation der Genaktivität entscheidend.



Die Lage der Basen zur Helixachse wird durch drei Winkel und einen Abstandsparmeter beschrieben:

- D: Abstand des Basenpaar-Zentrums von der Helixachse.
- $\Theta_T$ : Basenpaar-tilt, Abweichung der Basenpaar-Längsachse von der Senkrechten zur Helixachse.
- $\Theta_i$ : Basenpaar-roll, Abweichung der Basenpaar-Querachse von der Senkrechten zur Helixachse.
- $\Theta_p$ : Propeller-twist, Verdrehung der Basen gegeneinander.



## 1.5 Die Konformationen der Oligonukleotid Doppelstränge

Die DNA Doppelstränge nehmen im Wesentlichen drei unterschiedliche Konformationen an (A, B und Z). RNA-Doppelstränge und alle RNA-enthaltenden Doppelstränge liegen in der A-Konformation vor. Hier wirkt sich der elektronenziehende Einfluss der 2'-OH Gruppe aus. Diese OH-Gruppe führt zu einer starken Begünstigung der C3'-endo Konformation und damit zur Bildung eines A-Doppelstranges. Die Desoxyribose kann hingegen sowohl eine C3'-endo als auch eine C2'-endo Konformation einnehmen und damit sowohl A- als auch B-Doppelstränge bilden.

In der A-Familie ist der P...P Abstand durch die C3'-endo Konformation von 7.0 Å (B-Konformation) auf 5.9 Å reduziert. Entsprechend verringert ist die Ganghöhe pro Nukleotid von  $h = 3.30\text{--}3.37$  Å (B-Konformation) auf 2.59-3.29 Å in der A-Doppelhelix. Die A-DNA ist leicht entwunden und stellt 11-12 Nukleotide pro 360° pro *turn* (Vergleich B-Konformation: 10 Nukleotide).

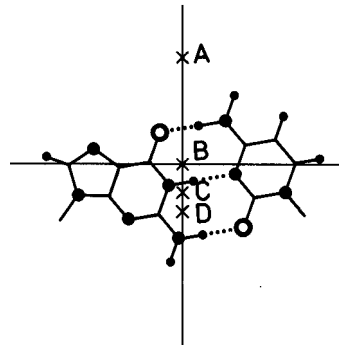
Die Tabelle fasst die wichtigsten Parameter der A- und B-Helix zusammen.

**Table 9-5.** Comparison of Structural Characteristics of A- and B-Type Polynucleotide Double Helices

Family type	A	B
Sugar pucker	<i>C<sub>3'</sub>-endo</i>	<i>C<sub>2'</sub>-endo</i>
Intrastrand phosphate . . . phosphate distance	5.9 Å	7.0 Å
Dislocation of base-pairs from helix axis	4.4 to 4.9 Å in major groove	-0.2 to -1.8 Å in minor groove
Rotation per nucleotide	30° to 32.7°	36° to 45°
Axial rise per nucleotide	2.56 to 3.29 Å	3.03 to 3.37 Å
Base-pair tilt	Positive, 10° to 20.2°	Negative, -5.9° to -16.4°

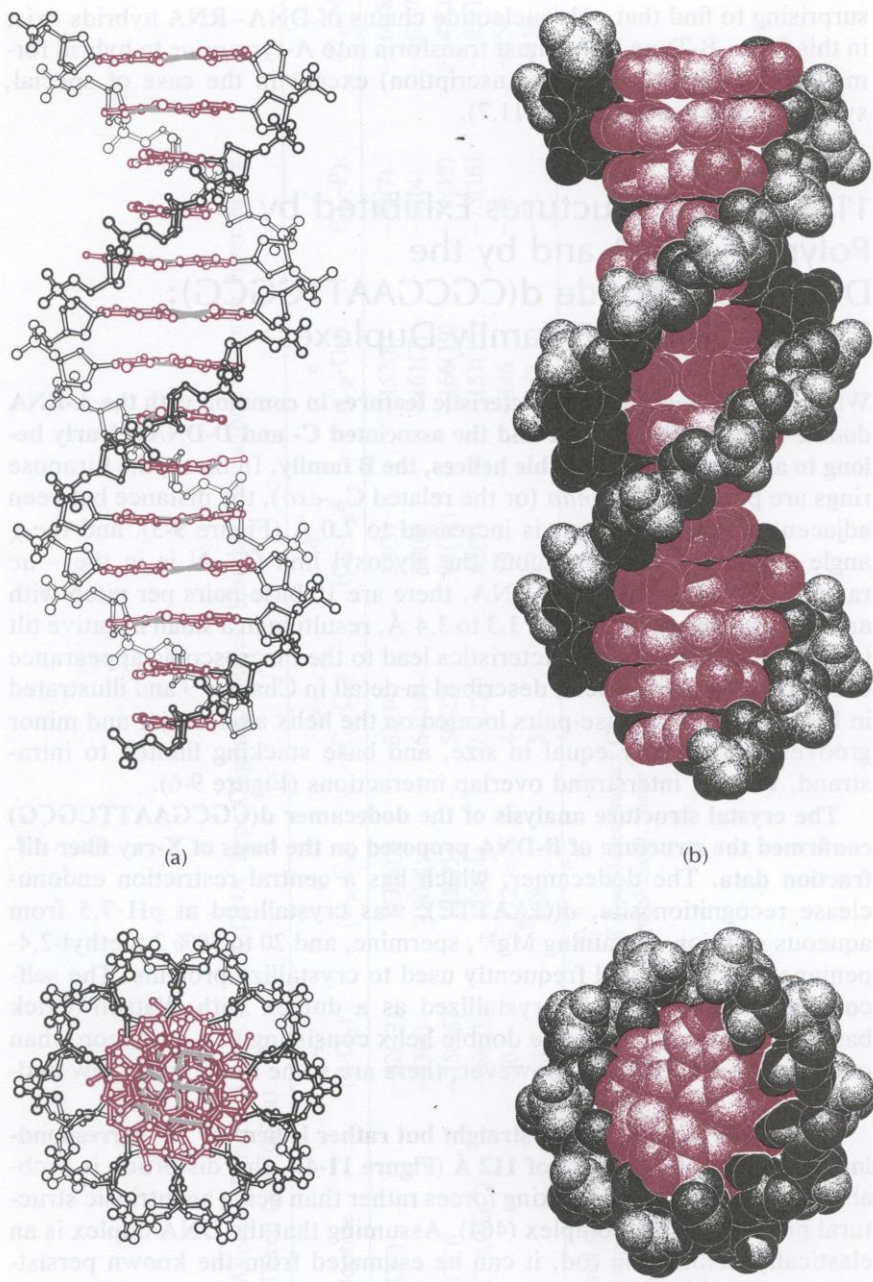
Ein weiterer wichtiger Unterschied zwischen den beiden Helixtypen ist die Abweichung der Basenpaare von der Helixachse (D). In der B-Form beträgt  $D = -0.2$  Å. Das heißt die Achse läuft durch den Schwerpunkt der Basenpaare. In der A-Form beträgt  $D = 4.5$  Å. Die Basen winden sich also um die Helixachse. Daraus resultiert eine sehr schmale und tiefe große Furche, in die nur Wasser oder Metallionen hineinpassen. Die kleine Furche ist sehr weit und flach. In der B-Form sind beide Furchen etwa gleich tief. Die weiten differieren sehr stark. Beide Furchen stehen damit einer molekularen Erkennung zur Verfügung. In der kleinen Furche binden vor allem kleine Moleküle wie z. B. anti-Tumor Wirkstoffe. Die große Furche ist der

Ankerpunkt für Proteine, die an der Genregulation oder Reparatur beteiligt sind. Manche Proteine besitzen zusätzliche Seitenarme, mit denen auch Kontakte in die kleine Furche ausgebildet werden können.



Die Z-DNA ist keine rechtsgängige sondern linksgängige Helix in der die glycosidischen Bindungen der G-Basen in der ungewöhnlichen *syn*-Konformation vorliegen. Für weitere Informationen bezüglich der Z-DNA sei auf die Literatur verwiesen.

**B-DNA**



A-DNA

