

5-Hydroxymethylcytosin im Genom

◆ Seit der Entdeckung von 5-Hydroxymethylcytosin als sechste Base des Genoms sind zahlreiche Publikationen zu dem Thema erschienen. Sie stammen aus so unterschiedlichen Gebieten wie synthetischer Chemie, Biochemie, Biophysik, Stammzellbiologie und Neurobiologie. Allen gemeinsam ist das Ziel, die Bedeutung der dynamischen Regulation epigenetischer Modifikationen aufzuklären.

Die Desoxyribonukleinsäure (DNA) ist aus konventioneller Sicht ein aus den vier Nukleotiden Adenosin (A), Guanosin (G), Cytidin (C) und Thymin (T) bestehendes Biopolymer.

Es steht heute jedoch außer Zweifel, dass die Vielfalt der biologischen Vorgänge innerhalb eines Organismus (dessen Zellen alle die gleiche DNA-Information tragen) eine Folge von dynamischen Veränderungen, den epigenetischen Markierungen, innerhalb des Genoms ist. Diese epigenetischen Modifikationen sind unter anderem von zentraler Bedeutung für die Zelldifferenzierung und die gewebespezifische Genexpression. Chemische Veränderungen der Nucleobase Cytosin spielen dabei eine entscheidende Rolle [s. „Lesezeichen im Buch des Lebens“, *Nachr. Chem.* 2011, 59, 822].¹⁾

5-Methylcytosine im Genom von Säugetieren als 5-Hydroxymethylcytosine (hmC) vorliegt.²⁻³⁾ hmC ist ein Oxidationsprodukt von mC. Es wird von Ten-eleven-translocation (TET)-Enzymen synthetisiert, die zur Familie der 2-Ketoglutarat- und Fe(II)-abhängigen Oxygenasen gehören. Derzeit sind drei TET-Enzyme bekannt (TET1-3).

hmC wurde bereits vor 60 Jahren als eine Modifikation der DNA in Bakteriophagen beschrieben.⁴⁾ Später gab es Hinweise auf das Vorkommen von hmC in tierischer DNA, jedoch erfuhr das Thema wenig weitere Beachtung. Seit den beiden bedeutenden Berichten über hmC in der DNA von Purkinje-Neuronen²⁾ und embryonalen Stammzellen³⁾ erschienen viele weitere Studien, die sich mit der Quantifizierung und der Untersuchung der biologischen Funktion von hmC beschäftigen. Während die Menge von mC in allen Gewebearten relativ konstant ist (4 bis 5% aller Cytosine), tritt hmC in manchen Geweben häufiger auf als in anderen – beispielsweise in Zellen des zentralen Nervensystems (zu etwa 0,7%) und in pluripotenten Stammzellen (zu etwa 0,4%).⁵⁾ In sehr geringeren Mengen ist es auch in anderen ausdifferenzierten Organen nachweisbar.⁶⁾

Bemerkenswert ist die Beobachtung, dass die hmC-Werte während der Entwicklung des Gehirns steigen. In der DNA des Hippocampus und des Kleinhirns von erwachsenen Mäusen sind sehr viel höhere Konzentrationen von hmC vorhanden als kurz nach der Geburt.^{5,7)} Somit vermutet man, dass hmC eine bisher unbekannte Aufgabe bei der neuronalen Entwicklung übernimmt. Es verdichten sich außerdem die Hinweise, dass hmC auch im menschlichen Gehirn ein wichtiger epigenetischer Marker ist, der bei neurodegenerativen Erkrankungen eine bedeutende Rolle spielt.⁸⁾ Interessanterweise werden Lern- und Gedächtnisprozesse ebenfalls mit aktiver DNA-Demethylierung

DNA-Methylierung: die fünfte Base im Genom

◆ Die am weitesten verbreitete epigenetische Markierung ist 5-Methylcytosin (mC), auch als die fünfte Base des Genoms bezeichnet. Die Methylgruppen an der Position 5 des Pyrimidinrings werden von DNA-Methyltransferasen eingebaut, die S-Adenosylmethionin (SAM) als Cofaktor nutzen.

Die DNA-Methylierung tritt häufig in C/G-reichen Promotorregionen des Genoms auf und verringert meistens die Genexpression. Ein Beispiel ist die Stilllegung von Pluripotenzgenen bei der Differenzierung von Zellen. Andererseits können fehlgeleitete Methylierungen Tumorsuppressorgene unerwünscht abschalten. Dies begünstigt die Entstehung von Tumoren.

Die Frage, ob in zellulären Prozessen Methylgruppen aktiv entfernt werden können, um etwa bestimmte Gene bei Bedarf wieder anzuschalten, wird intensiv untersucht. Die kürzlich entdeckten oxidierten Derivate des mC spielen dabei eine wesentliche Rolle.

DNA-Hydroxylierung: die sechste Base im Genom

◆ Im Jahr 2009 berichteten zwei Arbeitsgruppen, dass ein Teil der

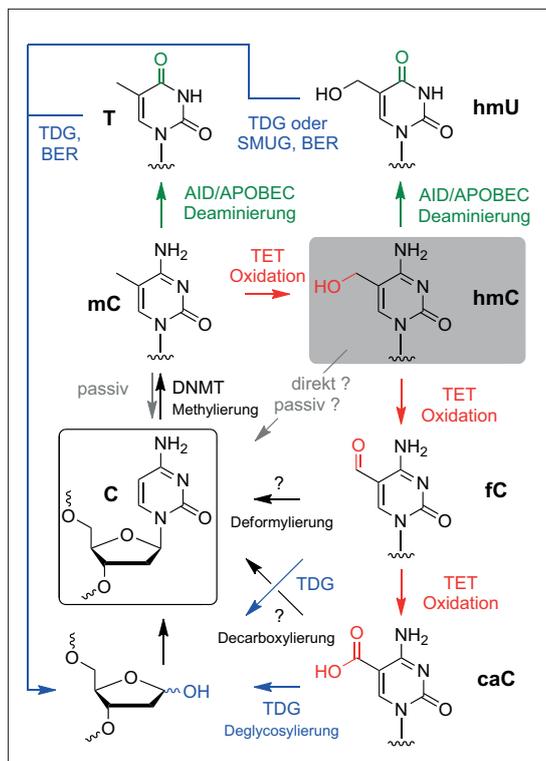


Abb 1. Modifikationen von Cytosin und mögliche Reaktionswege der Demethylierung. Die durch eine Methyltransferase DNMT eingeführte Methylgruppe in mC kann passiv während der Replikation verloren gehen. Kürzlich vorgeschlagene Demethylierungswege sind hier zusammengefasst. Rot: oxidationsinduzierte Demethylierung, gekoppelt mit Basenexzisionsreparatur (BER, blau); grün: deaminierungsinduzierte Demethylierung, gekoppelt mit BER; auch Kombinationen davon sind denkbar. Die direkte enzymatische Deformylierung und Decarboxylierung der Oxidationsprodukte fC bzw. caC ist mechanistisch plausibel, jedoch wurden entsprechende Enzyme noch nicht gefunden. (TET = ten-eleven-translocation, AID = activation-induced cytidine deaminase, APOBEC = apolipoprotein B mRNA editing catalytic polypeptide, TDG = Thymine DNA glycosylase.)

in ausdifferenzierten Neuronen in Verbindung gebracht.⁹⁾

Besonders hervorzuheben ist die Bedeutung von hmC bei der Embryonalentwicklung. Mehrere Studien zeigten, dass sich nach der Befruchtung der Eizelle hmC im väterlichen Genom anreichert. Dies steht in direktem Zusammenhang mit der beobachteten aktiven Demethylierung der väterlichen DNA in der Zygote, während die Methylierung der mütterlichen DNA erhalten bleibt.^{10–11)}

Höhere Oxidationsprodukte von hmC

◆ Mit der Entdeckung der potenziellen Rolle von hmC als Intermediat der oxidativen Demethylierung begann die intensive Suche nach weiteren modifizierten Cytosinen, höheren Oxidationsprodukten, die sich auf einem mechanistisch plausiblen Weg zu Cytosin zurückführen lassen. Offensichtliche Kandidaten sind 5-Formylcytosin (fC) und 5-Carboxylcytosin (caC). In der Tat wurden beide Oxidationsprodukte vor kurzem in genomischer DNA nachgewiesen. Zuerst wurde fC in der DNA von embryonalen Stammzellen der Maus beschrieben,¹²⁾ fC war auch in somatischen Zellen nachweisbar, während caC bisher nur in Stammzellen-DNA gefunden wurde.^{13,14)} Die Oxidationsprodukte fC und caC entstehen aus hmC durch die Aktivität von TET-Enzymen. Dies wurde in vitro mit isolierten TET Enzymen als auch in vivo gezeigt. Die detektierten Mengen von fC liegen zirka 10 bis 100 Mal unter typischen Werten für hmC. Die Häufigkeit von caC liegt sogar noch darunter. Der Nachweis solch geringer Mengen modifizierter Nukleoside stellt hohe Ansprüche an die analytischen Methoden. Mit raffinierten Methoden spürten Pfaffeneder et al.,¹²⁾ Ito et al.¹³⁾ und He et al.¹⁴⁾ die Oxidationsprodukte fC und caC als zwei weitere modifizierte Nukleoside im Genom von Säugetieren auf. Gleichzeitig wurde damit der Weg

für weitergehende Untersuchungen neuer epigenetischer Regulationsmechanismen geebnet.

Demethylierungsmechanismen

◆ Die Methylierung von Cytosin ergibt eine stabile chemische Modifikation; die Methylierung aktiv zu entfernen, heißt formal, eine C-C-Bindung zu spalten. Es sind derzeit keine Enzyme bekannt, die diesen Bindungsbruch direkt katalysieren. Selbst für die Demethylierung von Amininen wie N-Methyllysin oder 3-Methyluridin sind mehrstufige enzymatische Prozesse notwendig. In diesen beiden Fällen verläuft die Schwächung der C-N-Bindung über eine Oxygenierung der Methylgruppe durch Enzyme aus der Familie der 2-Ketoglutarat- und Fe(II)-abhängigen Oxygenasen. Das ließ vermuten, dass TET-Enzyme, die zur gleichen Familie gehören, durch die Synthese von hmC auf ähnliche Weise die Demethylierung von mC einleiten. Es wurden Mechanismen vorgeschlagen, wie sich die höheren Oxidationsprodukte fC und caC durch Deformylierung bzw. Decarboxylierung wieder in unmodifizierte Cytosine umwandeln.^{12–13)} Allerdings wurden entsprechende Enzyme bisher nicht gefunden.

Ein anderer möglicher Mechanismus könnte über die Basenexzisionsreparatur (BER) verlaufen, wobei intermediär eine abasische Stelle in der DNA entsteht. Die Thymin-DNA-Glycosylase (TDG) akzeptiert sowohl fC als auch caC als Substrate.¹⁵⁾ Dieses Enzym ist normalerweise für die Reparatur von T-G-Fehlpaarungen verantwortlich, die durch Deaminierung von mC entstehen. Die TDG von Säugetieren kann mC nicht direkt aus der DNA entfernen. Es ist deshalb plausibel, dass fC und caC aufgrund der schwächeren N-glycosidischen Bindung im Vergleich zu mC bessere Substrate für TDG darstellen. Jedoch ist noch nicht vollständig geklärt, welches der beiden Oxidationsprodukte der natürliche Vorläufer für BER ist. Als weiterer Demethylierungsweg wird diskutiert, dass

Enzyme der AID/APOBEC-Familie hmC zu hmU deaminieren, das dann von TDG entfernt werden kann (AID = activation-induced cytidine deaminase, APOBEC = apolipoprotein B mRNA editing catalytic polypeptide).¹⁶⁾ Darüber hinaus gibt es Hinweise, dass hmC die passive Demethylierung fördert, indem die Methylierung des neu synthetisierten Stranges während der Replikation verhindert wird. In vitro wurde gezeigt, dass die Methyltransferase DNMT1, welche für die Methylierung hemi-methylierter DNA zuständig ist, hemi-hydroxymethylierte DNA nicht methyliert. Allerdings sind auch dazu weitere Untersuchungen nötig, da das für die Funktion von DNMT1 notwendige Chaperon-Protein UHRF1 ähnlich affin zu hmC und zu mC ist.¹⁷⁾

Abbildung 1 fasst die diskutierten Demethylierungsmechanismen zusammen. Neben dem passiven Verlust der Methylierung während der Replikation können Oxidation oder Deaminierung die Demethylierung auch aktiv einleiten. Ebenso sind Kombinationen der einzelnen Wege denkbar, die in verschiedenen physiologischen Situationen und in unterschiedlichen Geweben anders zusammengesetzt ausgeprägt sein könnten. →



Quantifizierung und positionsspezifische Detektion

◆ Extrem geringe Mengen natürlicher modifizierter Nucleoside nachzuweisen sowie ihre Positionen im Genom exakt zu bestimmen, sind technische Herausforderungen. Da herkömmliche Techniken zur Aufklärung von Methylierungsmustern in DNA, wie die Bisulfit-Sequenzierung, nicht zwischen mC und hmC unterscheiden können, sind neue Analysemethoden not-

wendig. Um die globalen Mengen oxidierter mC Derivate in isolierter DNA zuverlässig zu quantifizieren, ist die quantitative Massenspektrometrie die Methode der Wahl. Dabei dienen isotope markierte modifizierte Nucleoside als interne Standards.⁶⁾

Spezifische Antikörper gegen modifizierte Cytosine wurden in quantitativen Dot-Blot-Experimenten verwendet sowie zur Immunpräzipitation bei der Anreicherung für Sequenzanalysen eingesetzt.¹⁸⁾

In der Gruppe um Leonhardt wurde eine Restriktionsendonuklease charakterisiert, die spezifisch hmC-haltige DNA spaltet.¹⁹⁾

Manche anderen Restriktionsenzyme unterscheiden hmC und mC erst nach Glucosylierung der Hydroxylgruppe durch das Enzym β -Glucosyltransferase aus T4-Bakteriophagen (BGT). Die Anwendung von BGT ergab eine Reihe weiterer nützlicher Analysemethoden. Mit isotope markierter UDP-[³H]-Glucose ließ sich hmC in

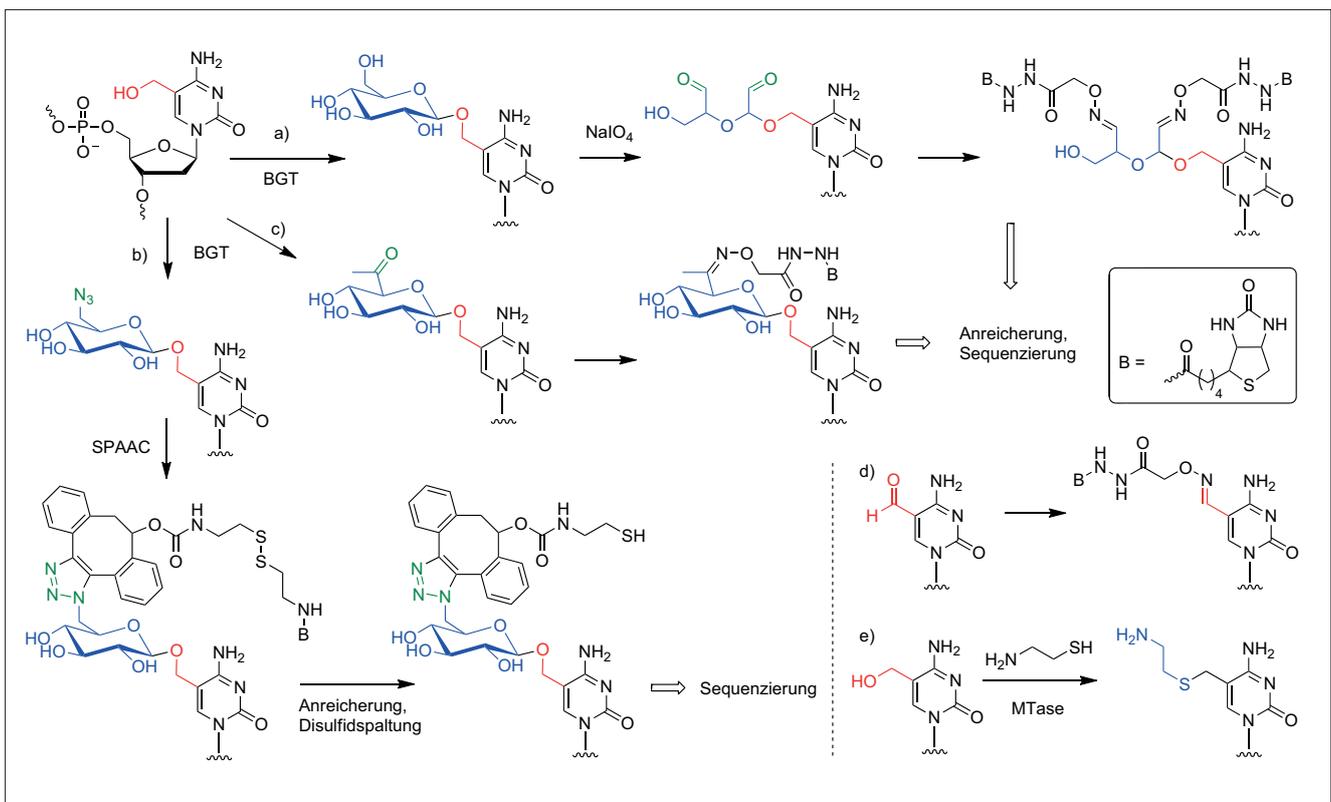


Abb 2. Bioorthogonale Modifikationen von hmC und fC; siehe Details im Text. (BGT = β -Glucosyltransferase, SPAAC = strain-promoted azide alkyne cycloaddition, MTase = Methyltransferase.)^{7, 12, 20–23)}

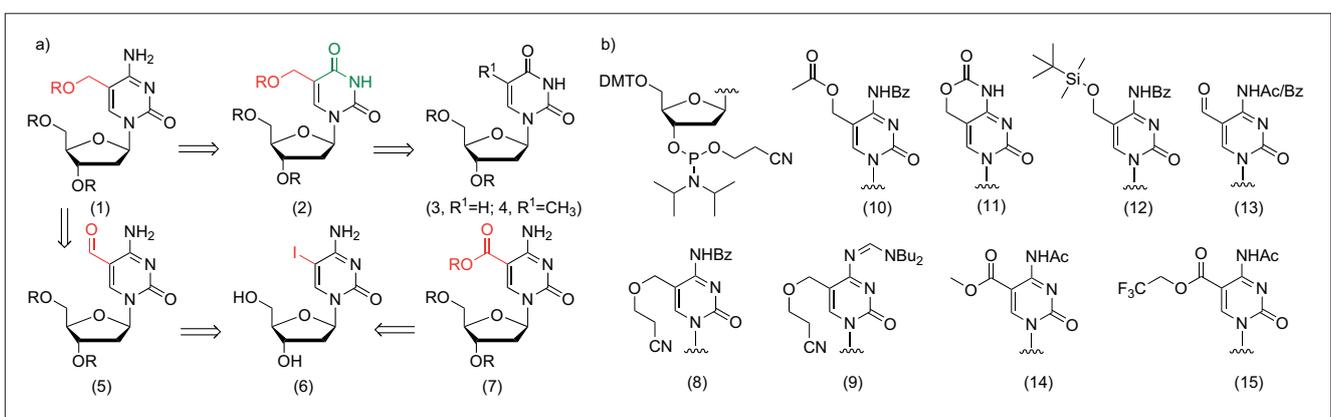


Abb 3. a) Retrosynthesewege von hmC, fC und caC Derivaten. b) Nucleosidphosphoramidate von hmC, fC und caC, mit unterschiedlichen Schutzgruppen an der Nucleobase.^{24–29)}

genomischer DNA quantifizieren. Durch Oxidation der Glucose mit NaIO_4 entstanden Aldehydgruppen, die mit einem aminoxyhaltigen Biotinderivat konjugiert wurden, das der Anreicherung modifizierter DNA dient (Abbildung 2a).²⁰⁾ BGT kann auch chemisch modifizierte Glucose auf hmC übertragen. Mit dieser Methode wurde 6-Azidoglucose eingebaut, die in der Folge in einer Cu-freien, spannungsinduzierten Cycloaddition mit einem biotinylierten Dibenzylocyclooctin konjugiert wurde (Abbildung 2b).⁷⁾ In einer weiteren Arbeit diente dazu ein Biotinderivat mit einer reduktiv spaltbaren Linkereinheit. Nach der Spaltung des Disulfids ließ sich die angereicherte DNA in einer neuen Sequencing-by-Synthesis-Methode einsetzen.²¹⁾ Dabei verlangsamt der sterisch anspruchsvolle Dibenzylocyclooctinrest die Polymerisationsgeschwindigkeit von DNA-Polymerasen so stark, dass hmC eindeutig von C und mC unterscheidbar ist. Weiters wurde die Übertragung einer 6-keto-derivatisierten Glucoseeinheit beschrieben, die wiederum mit Aminoxy-modifiziertem Biotin konjugiert wurde (Abbildung 2c).²²⁾ Eine ähnliche Reaktion wurde auch zur direkten Anreicherung von fC benutzt (Abbildung 2d).¹²⁾

Ein weiterer Ansatz zur chemischen Modifikation von hmC sind bakterielle Methyltransferasen, die hmC mit schwefel- und selenhaltigen Nucleophilen zur Reaktion bringen (Abbildung 2e).²³⁾ Hierdurch war es möglich, hmC mit Cysteamin zu derivatisieren, das sich mit aminreaktiven Reagenzien wie Biotin-NHS-Ester weiter funktionalisieren ließ.

Phosphoramidite oxidierter Methylcytosinderivate

◆ Die Synthese von DNA-Oligonucleotiden mit positionsspezifisch modifizierten Cytosinen dient dazu, die biophysikalischen Eigenschaften zu untersuchen und enzymatische Reaktionsmechanismen aufzuklären. Darüber hinaus sind synthetische DNAs auch für die

Entwicklung und Validierung neuer Analysemethoden unverzichtbar. Für die Synthese von hmC-Derivaten gibt es zwei Strategien (Abbildung 3a). Durch Basenkonvertierung ist hmC (1) aus hmU-Derivaten (2) zugänglich, die entweder aus 2'-Desoxyuridin (3) durch Hydroxymethylierung mit Formaldehyd²⁴⁾ oder aus Thymidin (4) durch Seitenkettenbromierung gefolgt von nukleophiler Substitution erhalten werden.²⁵⁾ Alternativ dazu entsteht hmC auch durch Reduktion von fC (5), das durch Pd-katalysierte Formylierung von 5-Iodcytosin (6) synthetisiert wird.^{26–27)} Auf ähnliche Weise lassen sich caC-Derivate (7) aus (6) herstellen.

Phosphoramidit-Bausteine von hmC, fC und caC mit unterschiedlichen Schutzgruppen fasst Abbildung 3b zusammen. Zur Entschützung des Cyanoethylethers in (8) und (9) mit Ammoniak sind hohe Temperaturen und lange Reaktionszeiten notwendig. Die Acetylgruppe (10) muss mit NaOH entfernt werden, um eine Substitution mit NH_3 zu verhindern, die 5-Aminomethylcytosin ergeben würde. Eine elegante Alternative stellten Carell und Mitarbeiter vor. Sie schützten beide funktionellen Gruppen von hmC gleichzeitig über ein cyclisches Carbamat (11).²⁶⁾ Die Abspaltung der TBDMS-Gruppe (12) erfolgt am besten mit TBAF nach dem basischen Entschützungsschritt. Während die Formylgruppe von fC im Phosphoramidit ungeschützt bleiben kann (13),²⁸⁾ wurden für die Synthese von caC Methyl ester (14) oder Trifluorethylester (15) eingesetzt, wobei sich der Methyl ester als die bevorzugte Variante herausstellte.²⁹⁾

Mit UV-Schmelzkurven und isothermer Titrationskalorimetrie wurde der Einfluss von hmC auf die thermodynamische Stabilität der Basenpaarung untersucht. Interessanterweise hebt die Hydroxylierung den bekannten stabilisierenden Effekt von mC beinahe auf.³⁰⁾ Auch fC und caC beeinflussen die Stabilität der Basenpaarung mit Guanosin nur wenig.²⁸⁾ Keines

der modifizierten Nucleoside stabilisiert Fehlpaarungen in nennenswertem Ausmaß; dies spricht gegen eine mögliche mutagene Funktion.²⁸⁾ Diesen Befund bestätigte auch die Sequenzierung von Amplifikationsprodukten modifizierter DNA. Somit können hmC, fC und caC als epigenetische Markierungen fungieren, ohne die Sequenzinformation genomischer DNA zu gefährden.

Zusammenfassung und Ausblick

◆ Die oxidierten mC-Derivate hmC, fC und caC entstehen in genomischer DNA durch TET-Oxygenasen. Es handelt sich um stabile chemische Modifikationen, deren genaue biologische Funktion noch nicht bekannt ist. Viele Befunde sprechen dafür, dass es sich um Intermediate der aktiven DNA-De-methylierung handelt. Darüber hinaus wird hmC auch als neue epigenetische Modifikation mit eigenen Funktionen diskutiert. Zukünftige Herausforderungen liegen in der Aufklärung der biochemischen und biologischen Folgen der Hydroxymethylierung. Dazu gehört auch die Frage, ob hmC beispielsweise durch die Bindung bestimmter Chromatin modifizierender Enzyme oder Transkriptionsfaktoren eine zusätzliche Ebene der epigenetischen Regulation darstellt. Vertiefte Erkenntnisse auf diesem Gebiet sind wichtig, da fehlerhafte Methylierungsmuster auch bei der Entstehung von Krebs und neurodegenerativen Erkrankungen von Bedeutung sind. →

Claudia Höbartner, Jahrgang 1977, leitet seit dem Jahr 2008 die Max-Planck-Forschungsgruppe Nucleinsäurechemie am MPI für Biophysikalische Chemie in Göttingen. Sie studierte Chemie an der TU Wien und an der ETH Zürich und promovierte 2004 an der Universität Innsbruck. Anschließend war sie Postdoc an der University of Illinois in Urbana-Champaign. Ihre Forschungsinteressen konzentrieren sich auf chemisch modifizierte Nucleinsäuren und katalytisch aktive DNA. claudia.hoebartner@mpibpc.mpg.de



Literatur und Anmerkungen

- 1) K. Keller, M. Jung, Nachr. Chem. 2011, 59, 822.
 - 2) S. Kriaucionis, N. Heintz, Science 2009, 324, 929.
 - 3) M. Tahiliani, K.P. Koh, Y. Shen, W. A. Pastor, H. Bandukwala, Y. Brudno, S. Agarwal, L. M. Iyer, D. R. Liu, L. Aravind, A. Rao, Science 2009, 324, 930.
 - 4) G. R. Wyatt, S. S. Cohen, Nature 1952, 170, 1072.
 - 5) M. Münzel, D. Globisch, T. Bruckl, M. Wagner, V. Welzmler, S. Michalakakis, M. Müller, M. Biel, T. Carell, Angew. Chem. 2010, 122, 5503.
 - 6) D. Globisch, M. Münzel, M. Müller, S. Michalakakis, M. Wagner, S. Koch, T. Bruckl, M. Biel, T. Carell, PLoS One 2010, 5, e15367.
 - 7) C. X. Song, K. E. Szulwach, Y. Fu, Q. Dai, C. Yi, X. Li, Y. Li, C. H. Chen, W. Zhang, X. Jian, J. Wang, L. Zhang, T. J. Looney, B. Zhang, L. A. Godley, L. M. Hicks, B. T. Lahn, P. Jin, C. He, Nat. Biotechnol. 2011, 29, 68.
 - 8) K. E. Szulwach, X. Li, Y. Li, C. X. Song, H. Wu, Q. Dai, H. Irier, A. K. Upadhyay, M. Gearing, A. I. Levey, A. Vasanthakumar, L. A. Godley, Q. Chang, X. Cheng, C. He, P. Jin, Nat. Neurosci. 2011, 14, 1607.
 - 9) J. U. Guo, D.K. Ma, H. Mo, M. P. Ball, M. H. Jang, M. A. Bonaguidi, J. A. Balazer, H. L. Eaves, B. Xie, E. Ford, K. Zhang, G. L. Ming, Y. Gao, H. Song, Nat. Neurosci. 2011, 14, 1345.
 - 10) K. Iqbal, S.G. Jin, G. P. Pfeiffer, P. E. Szabo, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2011, 108, 3642.
 - 11) M. Wossidlo, T. Nakamura, K. Lepikhov, C. J. Marques, V. Zakhartchenko, M. Boiani, J. Arand, T. Nakano, W. Reik, J. Walter, Nat. Commun. 2011, 2, 241.
 - 12) T. Pfaffeneder, B. Hackner, M. Truss, M. Münzel, M. Müller, C. A. Deiml, C. Hagemeyer, T. Carell, Angew. Chem. 2011, 123, 7146.
 - 13) S. Ito, L. Shen, Q. Dai, S. C. Wu, L. B. Collins, J. A. Swenberg, C. He, Y. Zhang, Science 2011, 333, 1300.
 - 14) Y. F. He, B. Z. Li, Z. Li, P. Liu, Y. Wang, Q. Tang, J. Ding, Y. Jia, Z. Chen, L. Li, Y. Sun, X. Li, Q. Dai, C. X. Song, K. Zhang, C. He, G. L. Xu, Science 2011, 333, 1303.
 - 15) A. Maiti, A.C. Drohat, J. Biol. Chem. 2011, 286, 35334.
 - 16) S. Cortellino, J. Xu, M. Sannai, R. Moore, E. Caretti, A. Cigliano, M. Le Coz, K. Devarajan, A. Wessels, D. Soprano, L. K. Abramowitz, M. S. Bartolomei, F. Rambow, M. R. Bassi, T. Bruno, M. Fanciulli, C. Renner, A. J. Klein-Szanto, Y. Matsumoto, D. Kobi, I. Davidson, C. Alberti, L. Larue, A. Bellacosa, Cell 2011, 146, 67.
 - 17) C. Frauer, T. Hoffmann, S. Bultmann, V. Casa, M.C. Cardoso, I. Antes, H. Leonhardt, Plos One 2011, 6, e21306.
 - 18) G. Fic, M. R. Branco, S. Seisenberger, F. Santos, F. Krueger, T. A. Hore, C. J. Marques, S. Andrews, W. Reik, Nature 2011, 473, 398.
 - 19) A. Szwagierczak, A. Brachmann, C. S. Schmidt, S. Bultmann, H. Leonhardt, F. Spada, Nucleic Acids Res. 2011, 39, 5149.
 - 20) W. A. Pastor, U. J. Pape, Y. Huang, H. R. Henderson, R. Lister, M. Ko, E. M. McLoughlin, Y. Brudno, S. Mahapatra, P. Kapranov, M. Tahiliani, G. Q. Daley, X. S. Liu, J. R. Ecker, P. M. Milos, S. Agarwal, A. Rao, Nature 2011, 473, 394.
 - 21) C. X. Song, T. A. Clark, X. Y. Lu, A. Kislyuk, Q. Dai, S. W. Turner, C. He, J. Korlach, Nat. Methods. 2012, 9, 75.
 - 22) C. X. Song, Y. Sun, Q. Dai, X. Y. Lu, M. Yu, C. G. Yang, C. He, ChemBioChem 2011, 12, 1682.
 - 23) Z. Liutkeviciute, E. Kriukiene, I. Grigaityte, V. Masevicius, S. Klimasauskas, Angew. Chem. 2011, 123, 2138.
 - 24) A. S. Hansen, A. Thalhammer, A. H. El-Sagheer, T. Brown, C. J. Schofield, Bioorg. Med. Chem. Lett. 2011, 21, 1181.
 - 25) K. Sugizaki, S. Ikeda, H. Yanagisawa, A. Okamoto, Org. Biomol. Chem. 2011, 9, 4176.
 - 26) M. Münzel, D. Globisch, C. Trindler, T. Carell, Org. Lett. 2011, 12, 5671.
 - 27) Q. Dai, C. X. Song, T. Pan, C. He, J. Org. Chem. 2011, 76, 4182.
 - 28) M. Münzel, U. Lischke, D. Stathis, T. Pfaffeneder, F. A. Gnerlich, C. A. Deiml, S. C. Koch, K. Karaghiosoff, T. Carell, Chemistry 2011, 17, 13782.
 - 29) Q. Dai, C. He, Org. Lett. 2011, 13, 3446.
 - 30) A. Thalhammer, A. S. Hansen, A. H. El-Sagheer, T. Brown, C. J. Schofield, Chem. Commun. 2011, 47, 5325.
- Empfehlenswerte Zusammenfassungen zum Thema finden sich auch in folgenden Übersichtsartikeln:
- a) M. Münzel, D. Globisch, T. Carell, Angew. Chem. 2011, 123, 6588.
 - b) T. P. Jurkowski, A. Jeltsch, ChemBioChem 2011, 12, 2543.
 - c) C. Höbartner, Angew. Chem. 2011, 123, 4357.
 - d) M. R. Branco, G. Fic, W. Reik, Nat. Rev. Genet. 2012, 13, 7.
 - e) K. I. Ladwein, M. Jung, Angew. Chem. 2011, 123, 12347.



4th EuCheMS Chemistry Congress

August 26–30, 2012, PRAGUE, Czech Republic