

ADSORPCE HEPTAMERŮ S RŮZNOU STŘEDOVOU SEKVENCÍ NUKLEOTIDŮ NA RTUŤOVÉ ELEKTRODĚ

IVETA TRÍSKOVÁ* a LIBUŠE TRNKOVÁ

Ústav chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno, Kamenice 5, 625 00 Brno
libuse@chemi.muni.cz

Došlo 26.10.15, přijato 16.11.15.

Klíčová slova: DNA heptamer, d(GCGAAGC), vlásenka, doba akumulace, adsorpční vrstva, voltametrie se stejnosměrným polarizačním napětím, eliminační voltametrická procedura

1. Úvod

Molekuly DNA mohou zaujímat velké množství neobvyklých struktur. Kromě nejčastěji se vyskytující pravotočivé formy B a méně časté pravotočivé formy A, se za určitých extrémních podmínek v organismech objevuje i levotočivá forma Z. Známe jsou též vlásenkové struktury DNA (hairpins), seskupení čtyř guaninových bází, tzv. G-kvadruplexy, struktury i-motivu a další málo charakterizované struktury^{1–3}, lišící se od klasické Watson-Crickovy šroubovice (B-DNA). Právě tyto struktury mohou hrát důležitou roli jak v transkripční funkci DNA, tak i v patologii^{1–4}. Vlásenky jsou považovány za možná rozpoznávací místa pro regulační proteiny, které řídí důležité životní cykly⁵; jsou často spojeny s rozvojem opakujících se tripletových sekvencí v řetězci nukleových kyselin, důsledkem čehož je výskyt mnoha neurodegenerativních onemocnění (syndrom fragilního chromosomu, Friedrichsova ataxie, Huntigtonova choroba, aj.)^{6–8}. Z hlediska struktury se DNA vlásenky sestávají z jednořetězcové smyčky a kmene tvořeného páry bází^{9,10}. Za nejkratší a termodynamicky nejstabilnější vlásenkovou strukturu je považován DNA heptamer se sekvencí d(GCGAAGC) (cit.)^{6,9,10}, který byl nalezen v replikačních počátcích fága ΦX174 (cit.¹¹), herpes simplex viru¹², v promotorových oblastech heat-shock genu bakterie *E. coli*¹³ a v rRNA genech⁹. Struktura uvedeného heptameru byla nejdříve studována metodami NMR spektroskopie a molekulové dynamiky⁶. Díky chiroptické aktivitě DNA molekul byly

studovány konformační vlastnosti heptamerů spektroskopii cirkulárního dichroismu (CD spektroskopii). Také UV absorpční spektroskopie byla doplněna polyakrylamidovou gelovou elektroforézou (PAGE)^{12,14}. Na spektrální výzkum d(GCGAAGC) navázal elektrochemický výzkum a ten ukázal, že i cyklická voltametrie (CV) v kombinaci s eliminační voltametrickou procedurou (EVP) může přispět ke studiu struktury DNA fragmentů. Důkazem toho je např. práce⁸ pojednávající o elektrochemické studii této nejkratší a termodynamicky nejstabilnější DNA vlásenky. Zjistilo se, že tento DNA fragment poskytuje na rtuťové elektrodě ve vodném pufovaném prostředí charakteristický redukční signál adeninu a cytosinu (AC pik) a dvojitý oxidační signál guaninových zbytků (tzv. G pik). Pomocí dřívějších elektrochemických studií a NMR spektrálních analýz bylo zjištěno, že G pik odpovídá oxidaci redukčního produktu guaninu, který vzniká při velmi negativních potenciálech. Redukční proces, jehož výsledkem je 7,8-dihydroguguanin, není na rtuťové elektrodě pozorovatelný, neboť je skrytý v majoritním proudu vylučování vodíku. Skutečnost dvojitého charakteru G piků (viz obr. 1, GI a GII) byla zpočátku vysvětlována jednoduchou, lehce nabízející se úvahou: jeden G signál odpovídá oxidaci guaninu ve smyčce (loop) a druhý G signál odpovídá oxidaci guaninu v kmenu (stem) studovaného fragmentu. Na tuto práci později navázala práce¹⁵, jež si kladla za cíl ověřit správnost této hypotézy a měla také ukázat, zda díky rozdílné struktuře DNA fragmentů budou pozorovány změny v jejich elektrochemickém a spektrálním (CD a UV/VIS) chování. DNA fragmenty (heptamery) se od sebe lišily různou středovou sekvencí oligonukleotidů (GAA, AAA, CCC, GGG), přičemž kmen (dva GC páry) zůstal stejný. Dalo se předpokládat, že na základě různé struktury heptamerů se budou lišit i jejich elektroforetické pohyblivosti, a proto jako doplňující metodika byla zvolena elektroforéza v polyakrylamidovém gelu. Právě výsledky PAGE nás vedly k zamyšlení nad adsorpcí zkoumaných oligonukleotidů na povrchu rtuťové elektrody. Získané elektrochemické experimenty se staly podkladem pro předkládanou práci, v níž byly sledovány nejen změny adsorpční vrstvy heptamerů v důsledku vlivu doby adsorpce, ale i v důsledku vlivu změny trinukleotidové sekvence uprostřed oligonukleotidové (ODN) molekuly.

* Iveta Trísková je laureátkou Ceny Metrohm za nejlepší publikaci mladého elektroanalytického chemika do 35 let v roce 2014.

Experimentální část

Cyklická voltametrie / voltametrie se stejnosměrným polarizačním napětím

Elektrochemické chování studovaných DNA heptamerů se sekvencí d(GCXXXGC), kde XXX = GAA, AAA, CCC a GGG (Thermo Fisher Scientific, Ulm, Německo) bylo sledováno pomocí CV, resp. LSV v kombinaci s eliminační voltametrickou procedurou (EVP).

Voltametrický experiment byl realizován s využitím elektrochemického analyzátoru μ AUTOLAB TYPE III (Metrohm, Switzerland). Měřené vzorky byly dávkovány do voltametrické cely osazené třemi elektrodami: rtuťovou kapkovou elektrodou (HMDE s plochou $0,04 \text{ mm}^2$) jako elektrodou pracovní, argentchloridovou elektrodou (Ag/AgCl/3M KCl) jako elektrodou referenční a platinovým drátkem jako pomocnou elektrodou. Experimentální podmínky pro LSV byly následující: rychlost polarizace: 200, 400 a 800 mV s^{-1} ; rozsah potenciálů: 0 až -1700 mV ; doba akumulace: 20, 40, 80, 160 a 300 s při potenciálu -100 mV ; laboratorní teplota; inertní argonová atmosféra (99,999 %). Heptamery o koncentraci $2 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ byly rozpuštěny ve fosfátovém-acetátovém pufru (pH 5,8; $I = 0,55 \text{ mol l}^{-1}$).

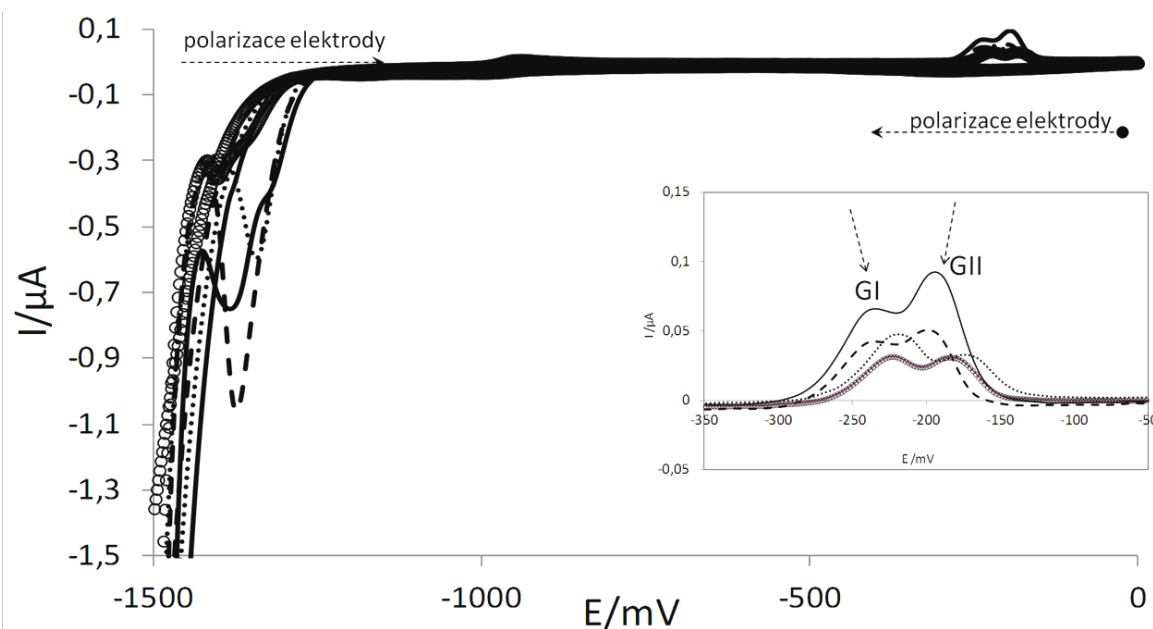
Eliminační voltametrická procedura (EVP)

Získané voltametrické křivky byly následně vyhlazeny pomocí Savitzky-Golay filtru (úroveň 2). Z vyhlazených voltametrických křivek snímaných při 200, 400 a 800 mV s^{-1} byla vypočtena eliminační funkce E4, která simultánně eliminuje kinetickou a nabíjecí složku proudu a zachovává difuzní proudovou složku. Těto eliminační funkci $f(I)$ odpovídá rovnice: $f(I) = 17,485 I - 11,657 I_{1/2} - 5,8584 I_2$, kde $I_{1/2}$ a I_2 jsou celkové voltametrické proudy pro poloviční a dvojnásobnou polarizační rychlost než je referenční rychlost polarizace I . Pro elektroaktivní látky, u kterých elektronový přenos probíhá v adsorbovaném stavu eliminační funkce E4 získává podobu eliminačního signálu ve tvaru píku-protipíku^{16–20}.

Výsledky a diskuse

Voltametrická charakteristika DNA heptamerů

Voltametrický experiment ukázal, že všechny studované DNA fragmenty poskytují ve vodném pufovaném prostředí (fosfátový-acetátový pufr; pH 5,8) na rtuťové elektrodě charakteristický redukční signál adeninových a cytosinových residuí (AC píky) (v oblasti potenciálu kolem -1300 mV pro A redukční signál a kolem -1400 mV pro C redukční signál) a charakteristický oxidační signál guaninových residuí (tzv. G pík) (obr. 1). Jak již bylo zmíněno v úvodu, oxidační signál guaninu (GI $\sim -300 \text{ mV}$



Obr. 1. Cyklické voltamogramy DNA heptamerů s různou středovou sekvencí nukleotidů d(GCXXXGC), kde XXX = GAA (—), AAA (---), CCC (.....), GGG (○○○) na HMDE ve fosfátovém-acetátovém pufru (pH 5,8). Potenciálový rozsah: 0 až -1500 mV , rychlost polarizace: 400 mV s^{-1} , potenciálový krok: 2 mV . Koncentrace DNA heptamerů: $2 \mu\text{mol l}^{-1}$, doba akumulace t_a : 60 s, akumulační potenciál: -100 mV

a GII ~ -200 mV) odpovídá oxidaci redukčního produktu guaninu (7,8-dihydrogenguaninu). Redukce guaninu a tedy i guaninových zbytků ODN probíhá v oblastech vysoce negativních potenciálů (vyšších než -1600 mV) a překrývá se s procesem vylučování vodíku²¹.

Klasický DNA heptamer se sekvencí d(GCGAAGC) poskytoval ve shodě s prací⁸ dvojitý oxidační signál guaninových zbytků (obr. 1). Tvzení, že jeden G oxidační signál pochází od guaninových zbytků ve smyčce a druhý G oxidační signál od guaninových zbytků v kmenu se nepotvrdilo, neboť dvojitý G pík byl pozorován u všech studovaných heptamerů¹⁵.

Navazující práce¹⁵ nejen dokázala, že předchozí tvrzení nejsou úplně jednoznačná, ale že také nelze jednoduše z elektrochemického experimentu vysvětlit přítomnost dvojitého G oxidačního signálu, protože všechny studované DNA heptamery s různou středovou sekvencí poskytují dvojitý G oxidační signál. Elektrochemická data nám poskytla odezvy lišící se jednak intenzitou redukčních i oxidačních signálů a jednak polohou na potenciálové ose, signalizující určité strukturální změny a příbuznost struktur vlivem měnící se středové sekvence nukleotidů.

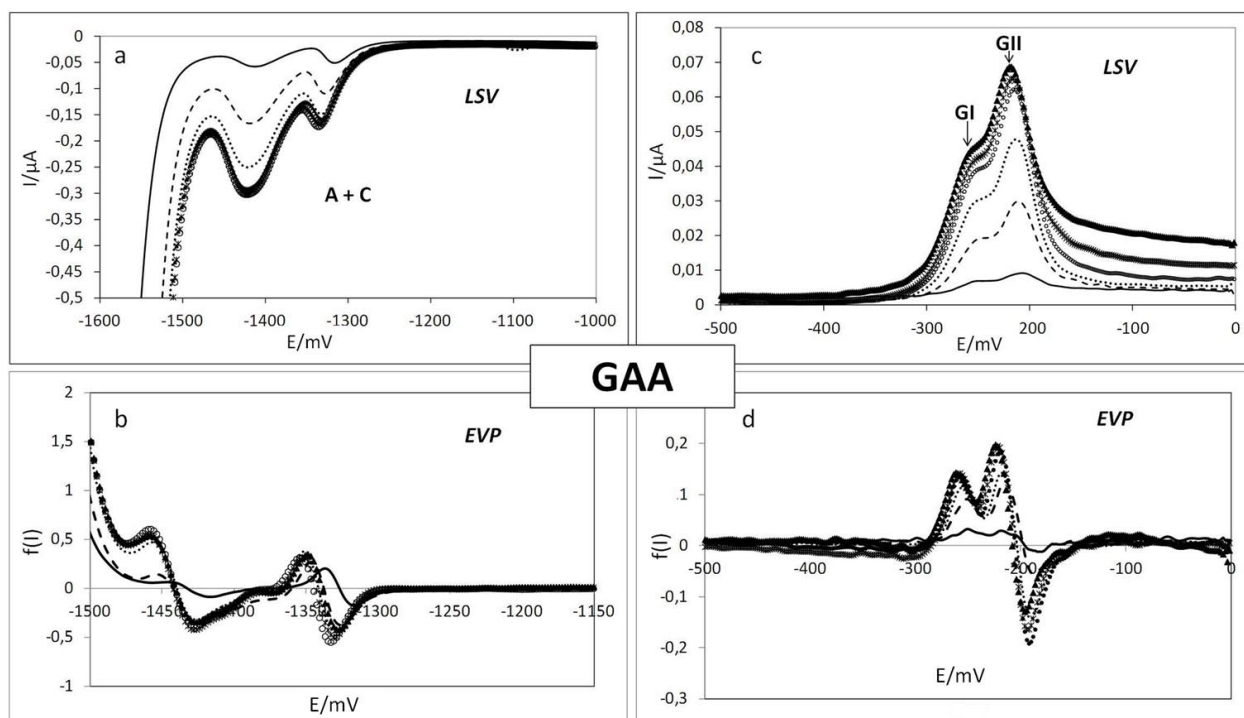
Spektrální a elektroforetická charakteristika DNA heptamerů

Jelikož elektrochemie nedokáže říci, jaké strukturální uspořádání zaujímá daný heptamer s danou středovou sek-

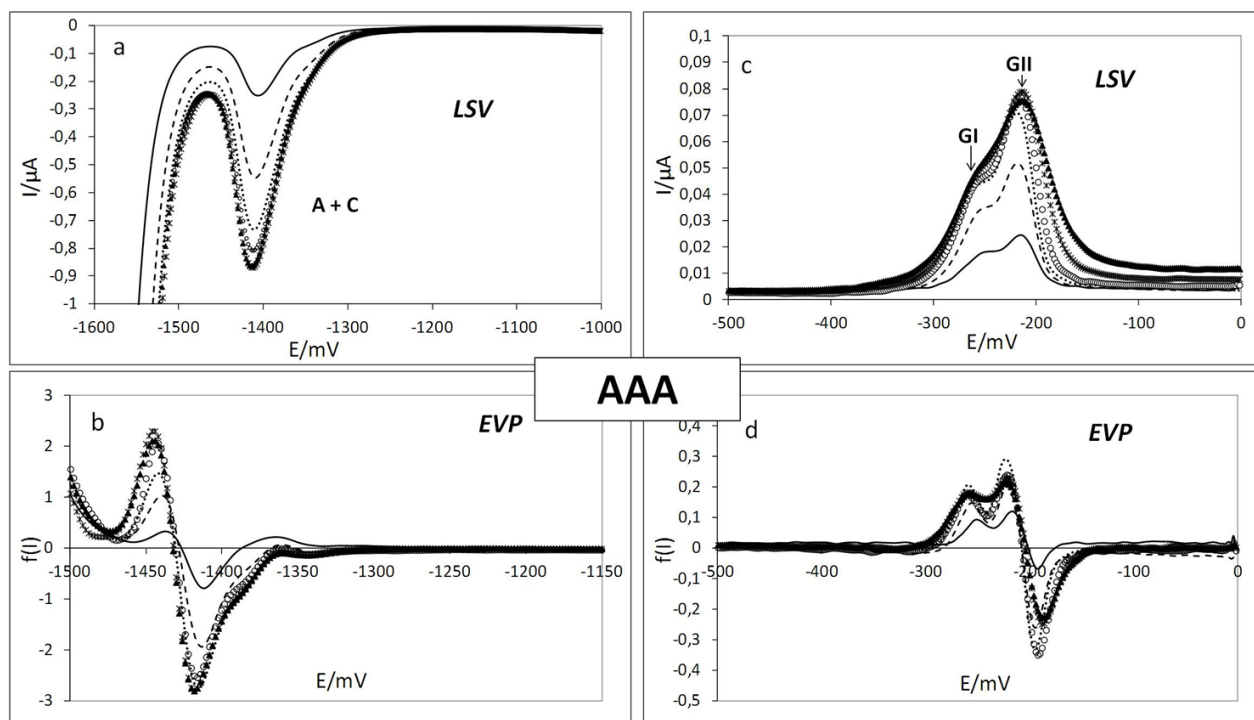
vencí, bylo nutné tyto elektrochemické experimenty doplnit experimenty spektrálními a experimenty spojenými s polyakrylamidovou gelovou elektroforézou (PAGE). Na základě spekter cirkulárního dichroismu, hodnot teplot tání (t_m) heptamerů a elektroforetické mobility v PAGE vyplynulo, že GAA a AAA heptamer tvoří vlásenku ($t_m = 74,5$ a 70 °C), CCC heptamer bimolekulární duplex ($t_m = 22$ °C). GGG heptamer s nejvyšší hodnotou teploty tání ($t_m = 75,4$ °C) a s největším rozdílem v CD spektrech byl vyhodnocen jako ODN fragment s nejstabilnější strukturou odpovídající G-kvadruplexu¹⁵. Výsledky PAGE nás motivovaly k dalším elektrochemickým experimentům, spočívajícím v objasnění předpokladů, že různě uspořádané a různě kompaktní struktury, pohybující se v elektrickém poli rychleji nebo pomaleji, se budou také různě adsorbovat na povrchu elektrody. V předkládané práci se proto studovala adsorpce heptamerů s různou středovou sekvencí na povrchu rtuťové elektrody.

Adsorpční charakteristika DNA heptamerů

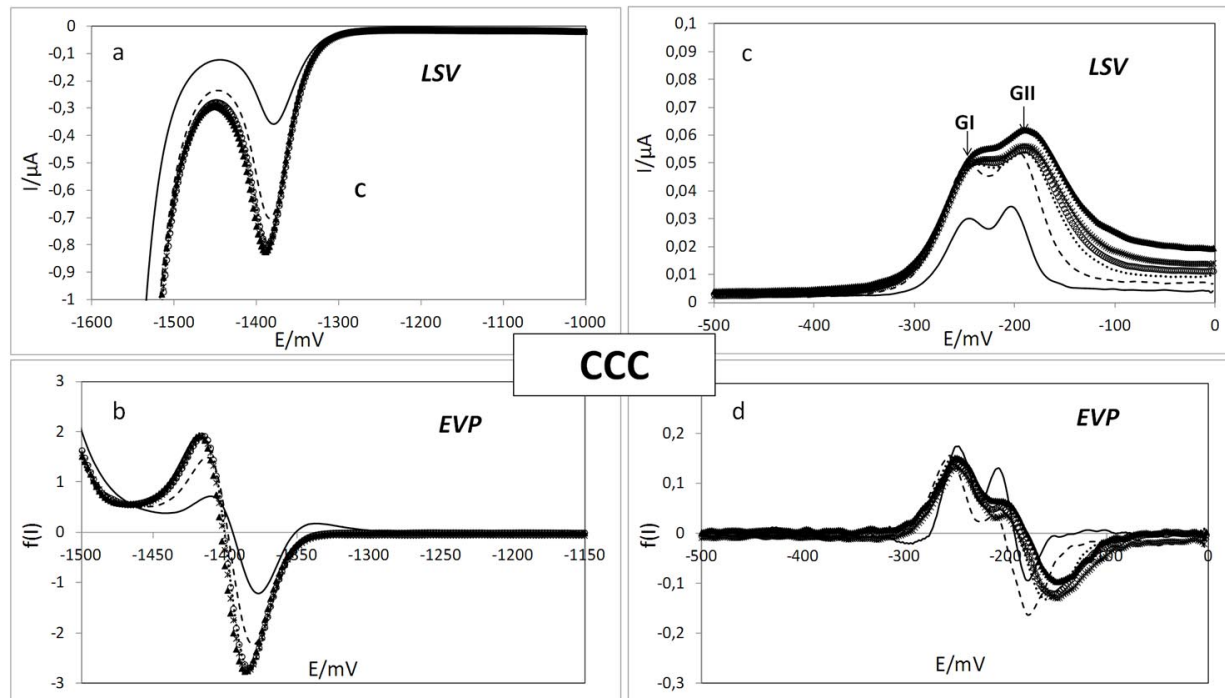
Získané voltametrické výsledky ukázaly, že GAA a AAA heptamery (obr. 2 a 3) se strukturou vlásenky vykazují podobný charakter redukčních i oxidačních signálů. Tyto heptamery již při akumulaci 10 s (při potenciálu -100 mV) poskytují patrné redukční piky A a C a oxidační signály guaninových zbytků (při potenciálech -300 mV a -200 mV), zvyšující se s časem akumulace. Z hlediska



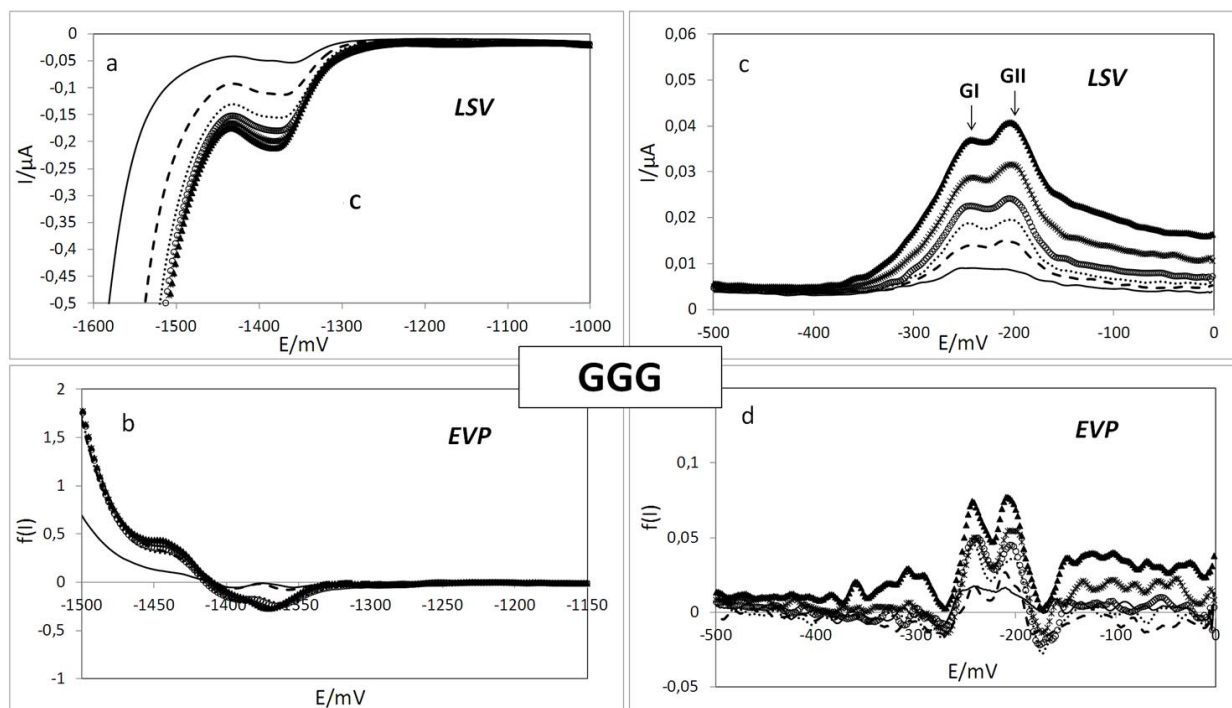
Obr. 2. Katodická (a) a anodická (c) část cyklického voltamogramu na HMDE a odpovídající eliminační voltamogram (b, d) DNA heptameru d(GCGAAGC) při době akumulace: 0 s (—), 20 s (---), 40 s (.....), 80 s (○○○), 160 s (×××) a 300 s (▲▲▲). Rychlosti polarizace pro EVP byly 200, 400 a 800 $\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$. Ostatní experimentální podmínky jako v obr. 1



Obr. 3. Katodická (a) a anodická (c) část cyklického voltamogramu na HMDE a odpovídající eliminační voltamogram (b, d) DNA hepatmeru d(GCAAAGC) při době akumulace: 0 s (—), 20 s (---), 40 s (.....), 80 s (○○○), 160 s (×××) a 300 s (▲▲▲). Rychlosti polarizace pro EVP byly 200, 400 a 800 $\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$. Ostatní experimentální podmínky jako v obr. 1



Obr. 4. Katodická (a) a anodická (c) část cyklického voltamogramu na HMDE a odpovídající eliminační voltamogram (b, d) DNA hepatmeru d(GCCCCGC) při době akumulace: 0 s (—), 20 s (---), 40 s (.....), 80 s (○○○), 160 s (×××) a 300 s (▲▲▲). Rychlosti polarizace pro EVP byly 200, 400 a 800 $\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$. Ostatní experimentální podmínky jako v obr. 1



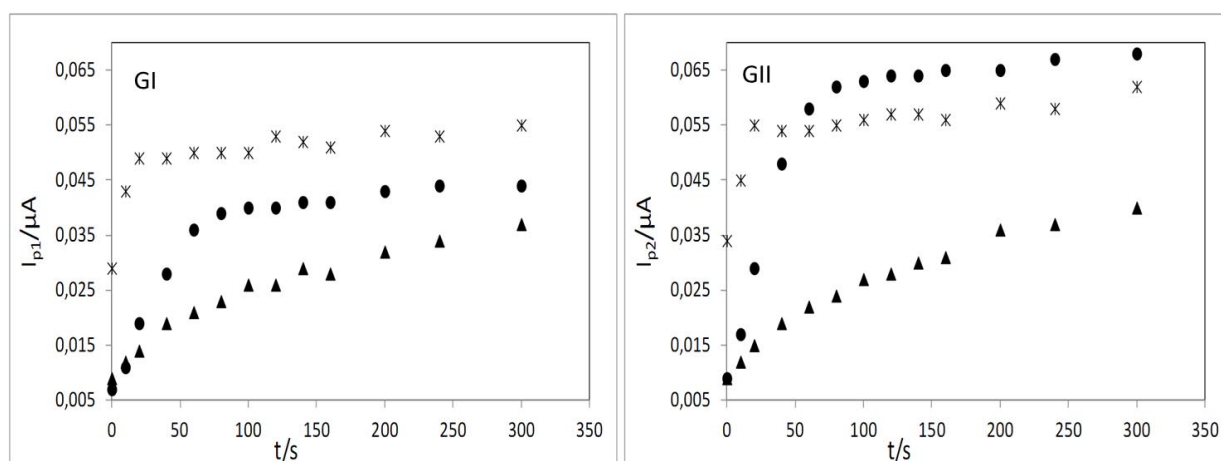
Obr. 5. Katodická (a) a anodická (c) část cyklického voltamogramu na HMDE a odpovídající eliminační voltamogram (b, d) DNA heptameru d(GCGGGGC) při době akumulace: 0 s (—), 20 s (---), 40 s (.....), 80 s (○○○), 160 s (×××) a 300 s (▲▲▲). Rychlosti polarizace pro EVP byly 200, 400 a 800 mV·s⁻¹. Ostatní experimentální podmínky jako v obr. 1

toho, že oba G oxidační signály se nachází ve stejné pozici a mají stejný poměr výšek, pravděpodobně během adsorpce nedochází ke změně v adsorpční vrstvě. S časem akumulace se také zvyšují redukční AC signály. Po 60 s je dosaženo adsorpčního maxima, intenzita redukčních a oxidačních signálů se již dále nemění a závislost proudové intenzity piku I_p (I_{p1} a I_{p2}) na době akumulace vykazuje v obou případech izotermální charakter (obr. 6). Eliminační voltametrická procedura (EVP) poskytuje rozlišitelné jak A a C redukční signály, tak i GI a GII oxidační signály. Dokonce, i když na LSV záznamu převažuje signál A (u heptameru s AAA), eliminační funkce E4 odhalí i menší redukční signál C. Charakter katodických i anodických eliminačních signálů ve tvaru píku – protipíku potvrzuje adsorbovaný stav heptamerů na povrchu elektrody.

U CCC heptameru se podle struktury bimolekulárního duplexu dalo předpokládat, že bude k elektrodě migrovat pomaleji než vlásenka. Z obr. 4 vyplývá, že se CCC heptamer oproti předpokladu na povrch elektrody adsorbuje ve srovnání s ostatními heptamery nejdříve. Dále je patrné, že s rostoucím časem akumulace dochází ke zvýšení intenzity oxidačních signálů guaninu. Po 60 s akumulace je pozorována náhlá změna charakteru oxidačních signálů guaninu, což může signalizovat změnu ve struktuře studovaného CCC heptameru (pravděpodobně dochází k tvorbě struktury i – motivu předpokládající vznik C-C⁺ párů).

Úplně odlišné adsorpční chování bylo zaznamenáno v případě GGG heptameru (obr. 5). d(GCGGGGC) heptamer, zaujímající vysoce kompaktní strukturu tetramolekulárního G-kvadruplexu, poskytuje nejnižší redukční i oxidační signály a na povrch elektrody se adsorbuje nejméně ochotně. Oproti ostatním studovaným DNA heptamerům, se v případě GGG heptameru s dobou akumulace postupně zvyšují redukční i oxidační signály a není zde dosaženo adsorpčního maxima (obr. 6). Adsorbovaný stav guaninových zbytků je jen částečně potvrzen eliminační voltametrickou procedurou, neboť i když by měl být eliminační signál z hlediska počtu G nejvyšší, tak není. Eliminační protipíky jsou velmi malé a v porovnání se signály ostatních heptamerů dokazují, že interakce mezi d(GCGGGGC) a povrchem elektrody není silná. Silnější a významnější je tvorba kvadruplexů, které ani při dlouhém akumulčním čase (300 s) nezaujmají zcela finální strukturu adsorbované vrstvy. Dynamika adsorbované vrstvy je patrná nejen na GI a GII oxidačních signálech, ale i na signálech redukčních (obr. 5a,b), kde EVP naznačuje 2 redukční procesy, přičemž adenin v tomto heptameru není přítomen. Již zde vzniká myšlenka, že u elektrody může docházet k tvorbě dvou různých forem ODN.

Nárůst GI a GII oxidačních píků (od 5 do 65 nA) s dobou akumulace od 0 do 300 s je ukázán na obr. 6. Velikost i charakter obou G oxidačních sig-



Obr. 6. Závislost oxidačního signálu piku guaninu I_{p1} (GI) a I_{p2} (GII) na době akumulace na HMDE pro DNA heptamery s různou středovou sekvencí GAA (●●●), CCC (×××) a GGG (▲▲▲)

nálů pro d(GCGAAGC) a d(GCAAAGC) se v podstatě nelišily, a proto závislost I_p na době akumulace pro druhý jmenovaný heptamer není uvedena. Při daném pH 5,8 je limitní hodnota piku I_p GII pro oba heptamery zhruba 1,6× vyšší než I_p piku GI. Jiná situace je v případě CCC heptameru, který vykazuje při tomto pH téměř stejné limitní hodnoty I_p pro GI i GII. Na základě výsledků gelové elektroforézy¹⁵ se předpokládalo, že adsorpce GAA a AAA heptameru z důvodu vyšší elektroforetické pohyblivosti bude rychlejší než v případě CCC heptameru, vykazujícího strukturu bimolekulárního duplexu. Ukázalo se, že opak je pravdou. Příčinou tohoto chování může být rychlá tvorba hemiprotonovaných C-C⁺ párů, tj. i-motivů s kladným nábojem, elektrostaticky interagujícím s negativně nabitým povrchem elektrody. Ve srovnání s CCC heptamerem lze u GGG heptameru pozorovat i při nejdelší době akumulace (300 s) přibližně poloviční hodnoty GI a GII piků.

Závěr

DNA fragment d(GCGAAGC), vyskytující se v počátečních replikacích fága ΦX174, herpes simplex viru, v promotorové oblasti heat – shock genu bakterie *E. coli* a v rRNA genech, je stále v centru biologického a biochemického výzkumu. Tento známý DNA fragment nás navedl na studii vztahu struktury a funkce ostatních heptamerů s měnící se tripletovou sekvencí v centru molekuly ODN (AAA, GGG, CCC). Obměna centrální části ODN byla zvolena proto, že se původně předpokládalo, že zdvojení G oxidačního signálu je důsledkem postavení G v kmenu (stem) a ve smyčce (loop) prvotně zkoumaného d(GCGAAGC) fragmentu. Experimenty vyvrátily tento předpoklad. V této práci jsme se věnovali studiu interakce heptamerů s povrchem rtuťi s cílem odpovědět na otázku,

do jaké míry jsou schopny A + C redukční signály a G oxidační dvojčky odrážet strukturu heptamerů ovlivněných rozdílnou trinukleotidovou sekvencí ve středu heptameru. Guaninové zbytky d(GCGGGGC) ve struktuře kvadruplexu nejsou ochotné měnit strukturu a redukční a oxidační odezvy jsou proto nejnižší. Také interakce kvadruplexů s povrchem elektrody je slabší než interakce vlásečkových struktur d(GCGAAGC) a d(GCAAAGC) a duplexových struktur d(GCCCCGC). Výzkum ukázal, že malá změna středové sekvence mění nejen jejich strukturu (tetramolekulární kvadruplex, vlásečka, bimolekulární duplex), ale i elektrochemické a adsorpční vlastnosti na nabitém fázovém rozhraní. I když je elektrochemie schopna reflektovat různá strukturní uspořádání studovaných heptamerů, jejich různou interakci s povrchem elektrody je velmi užitečné doplnit výsledky elektrochemické studie výsledky získanými pomocí ne-elektrochemických metod, jako jsou UV-Vis absorpční spektra s využitím chiroptických vlastností ODN a separační metody zastoupené gelovou elektroforézou (PAGE).

Tento výzkum byl finančně podporován uvedenými projekty: 1) Centrum SLX CZ. 2.1.00/03.0072, 2) MUNI/A/0972/2013 a 3) LH 13053 KONTAKT II (MŠMT ČR). Autorky děkují paní prof. M. Vorlíkové a paní dr. Ivě Kejnovské za doplňující experimenty a diskusi CD spekter, které nebyly sice součástí této prezentované práce, ale práce publikované v roce 2014 v Electroanalysis, ale které pomohly k objasnění adsorpčního chování studovaných heptamerů.

LITERATURA

1. Kypr J., Kejnovská I., Renciuk D., Vorlicková M.: Nucleic Acids Res. 37, 1713 (2009).
2. Vorlicková M., Kejnovská I., Bednarová K., Renciuk

- D., Kypr J.: *Chirality* 24, 691 (2012).
3. Mirkin S. M.: *Front. Biosci.* 13, 1064 (2008).
 4. Wells R. D.: *Trends. Biochem. Sci.* 32, 271 (2007).
 5. Rubin Y. V., Belous L. F., Evstigneev M. P.: *J. Mol. Struct.* 1027, 124 (2012).
 6. Padrta P., Stefl R., Kralik L., Zidek L., Sklenar V.: *J. Biomol. NMR* 24, 1 (2002).
 7. Ashley C. T., Warren S. T.: *Annu Rev. Genet.* 29, 703 (1995).
 8. Trnkova L., Postbieglova I., Holik M.: *Bioelectrochemistry* 63, 25 (2004).
 9. Hirao I., Kawai G., Yoshizawa S., Nishimura Y., Ishido Y., Watanabe K., Miura K.: *Nucleic Acids Res.* 22, 576 (1994).
 10. Yoshizawa S., Kawai G., Watanabe K., Miura K., Hirao I.: *Biochemistry* 36, 4761 (1997).
 11. Arai K., Low R., Kobori J., Shlomai J., Kornberg A.: *J. Biol. Chem.* 256, 5273 (1981).
 12. Elias P., Lehman I. R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85, 2959 (1988).
 13. Cowing D. W., Bardwell J. C. A., Craig E. A., Woolford C., Hendrix R. W., Gross, C. A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 82, 2679 (1985).
 14. Vorlickova M., Kejnovska I., Sagi J., Renciuik D., Bednarova K., Motlova J., Kypr J.: *Methods* 57, 64 (2012).
 15. Pilarova I., Kejnovska I., Vorlickova M., Trnkova L.: *Electroanal.* 26, 2118 (2014).
 16. Trnkova L.: *J. Electroanal. Chem.* 582, 258 (2005).
 17. Trnkova L., Kizek R., Dracka O.: *Bioelectrochemistry* 55, 131 (2002).
 18. Trnkova L., Jelen F., Postbieglova I.: *Electroanal.* 15, 1529 (2003).
 19. Trnkova L., v knize: *Utilizing of bio-electrochemical and mathematical methods in biological research* (Adam V., Kizek R., ed.), kap. 4. Research Signpost, Kerala 2007.
 20. Dracka O., Trnkova L.: *J. Electroanal. Chem.* 413, 123 (1996).
 21. Studnickova M., Trnkova L., Zetek J., Glatz Z.: *Bioelectroch. Bioener.* 21, 83 (1989).

I. Trísková and L. Trnková (*Department of Chemistry, Faculty of Science, Masaryk University Brno, Kamenice*): **The Adsorption of Heptamers with Different Central Nucleotide Sequence at the Mercury Electrode**

The DNA fragment d(GCGAAGC), occurring in the initial replication stage of the phage ΦX174, in herpes simplex virus, in the promoter region of the heat-shock gene of *E. coli* and in rRNA genes is still in the focus of biological and biochemical research. This shortest hairpin guided us to study the relationship between the structure and function of other heptamers with changing triplet sequence in the center of the ODN molecule (AAA, GGG, CCC). Replacement of the central part of ODN was chosen because it was initially expected that the double peak of the G oxidation signal is due to the difference in the positions of G in the stem and a loop of the initially investigated d(GCGAAGC) fragment. The experiments, however, did not confirm this assumption. In this work, we have focused on the study of the interaction of selected heptamers with the surface of the mercury in order to answer the question to what extent the A + C reduction peaks and double-peak G oxidation signals are able to reflect the structures of heptamers affected by different central trinucleotide sequences. Guanine residues d(GCGGGGC) in the structure of the quadruplex are resistant to structural changes and the voltammetric responses are therefore minimized. The interactions of quadruplexes with the surface of the electrode are also weaker than interactions of hairpin structures d(GCGAAGC), d(GCAAAGC) and the duplex structure d(GCCCCGC). The presented research has shown that a small change in the central sequence not only can alter the structure (tetramolecular quadruplex, hairpin, bimolecular duplex) but also influences the electrochemical and adsorption properties of these molecules on the charged interface. Although electrochemistry is able to detect the various structural layout of the studied heptamers, it is desirable to support the electrochemical conclusions with other methods, e.g., UV-VIS absorption spectra reflecting chiroptic properties of ODNs and separation methods, such as gel electrophoresis (PAGE).