

Der **Chemie-Preis 2011** wurde Herrn Jörg S. Hartig, Konstanz, für seine bahnbrechenden und richtungweisenden Arbeiten auf dem Gebiet der Nucleinsäuren verliehen.

Chemische Genetik: Künstliche RNA-Schalter zur Kontrolle der Genexpression

JÖRG S. HARTIG

Die Forschung der Arbeitsgruppe von Jörg Hartig beschäftigt sich mit der Biochemie und der chemischen Biologie von Nucleinsäuren. Im Wesentlichen werden zwei Bereiche bearbeitet: Zum einen interessiert uns die Entwicklung artifizierender RNA-basierter Schalter der Genexpression. Zum anderen charakterisieren wir die Beteiligung von ungewöhnlichen Nucleinsäurestrukturen wie Triplexen und Quadruplexen an der Genexpression.

Das Interesse an künstlichen RNA-Schaltern besteht auch vor dem Hintergrund des neuen Bereichs der Synthetischen Biologie. In der Synthetischen Biologie arbeitet eine Reihe von Disziplinen zusammen, um Organismen mit neuen, nützlichen Eigenschaften zu erschaffen. Obwohl in der Synthetischen Biologie auch Fragestellungen von grundlegendem Interesse eine wichtige Rolle spielen, steht eine Vielzahl von biotechnologischen Anwendungen wie beispielsweise die Bioenergetik und die Biomedizin im Vordergrund. Zur Realisierung von Organismen mit neuen, vorteilhaften Eigenschaften bedient sich die Synthetische Biologie im Wesentlichen bekannter Werkzeuge der Biochemie und Molekularbiologie. Allerdings ist der Ansatz zur Erzeugung solcher neuen biologischen Systeme ganzheitlicher Natur. So soll die Konstruktion von Organismen mit neuen Eigenschaften nach ingenieurwissenschaftlichen Kriterien erfolgen, um ein möglichst einfaches und zielführendes Design zu ermöglichen. Daher spielen unter



Jörg S. Hartig, Professor für Biopolymer-Chemie an der Universität Konstanz, Träger des Chemie-Preises 2011

anderem folgende Kriterien bei der Entwicklung von neuen biologischen „Bauteilen“ eine Rolle: eine Vereinfachung bestehender Systeme sowie die Erhöhung der Modularität und der Orthogonalität der einzelnen biologischen Bauteile.

Wir beschäftigen uns mit der Entwicklung von vereinfachten, modularen und orthogonalen Schaltern der Genexpression. Die genetische Information ist im Erbgut der Zellen festgelegt. Allerdings werden Gene an verschiedenen Orten und zu unterschiedlichen Zeiten unterschiedlich ausgeprägt, dafür sorgt die Regulation der Genexpression. Die zugrundeliegenden Mechanismen sind in natürlichen Organismen sehr komplex. Sie basieren in der Regel auf der Aktivität von sogenannten Transkriptionsfaktoren, d. h. regulatorisch aktiven Proteinen. Allerdings gibt es auch in der Natur sogenannte Riboschalter, d. h. regulatorisch aktive RNA-Motive. Dies sind zumindest in Bakterien weit verbreitete Mechanismen, um Genaktivitäten auch ohne die Hilfe von regulatorischen Proteinen zu steuern (1). Diese Riboschalter funktionieren durch direkte Bindung von Interaktionspartnern durch entsprechende RNA-Motive in Boten-RNAs (mRNAs). Solche ligandenbindende Motive nennt man auch Aptamere, diese können durch die Verwendung von evolutiven Methoden im Reagenzglas erzeugt werden. Durch das Einfügen solcher Aptamersequenzen in mRNAs wurden schon früh artifizielle, RNA-basierte Schalter entwickelt (2). Allerdings sind diese wenig modular und orthogonal einsetzbar. Daher haben wir einen Ansatz entwickelt, der auf der Verwendung von katalytischen RNAs als Plattform für die konditionale Genexpression beruht (3).

Ribozyme sind, analog zu Enzymen bei den Proteinen, katalytisch aktive Nucleinsäuren. Zuerst von Altman und Cech beschrieben und im Jahre 1989 mit dem Nobel-Preis gewürdigt, sind mittlerweile eine Vielzahl von ribozymkatalysierten Reaktionen charakterisiert worden. Wir benutzen für unsere Zwecke das so genannte Hammerhead-Ribozym (HHR). Dieses katalysiert die Spaltung einer Phosphodiesterbindung. Wird ein solches Ribozym also in eine mRNA eingefügt, so kommt es an einer bestimmten Stelle zur Spaltung der RNA. Diese Spaltungsreaktion beeinflusst nachhaltig die Genexpression. Zur externen Steuerung dieses Prozesses haben wir anschließend Aptamersequenzen in die Ribozyme eingebaut. Es resultiert daraus ein ligandenabhängiges Ribozym. Dieses lässt sich beispielsweise durch Zugabe einer bestimmten Substanz, die vom Aptamer erkannt wird, ein- oder ausschalten. Auf diese Weise erhält man einen künstlichen, RNA-basierten Schalter der Genexpression (4,5).

Der Vorteil der Verwendung von Ribozymen liegt an der erhöhten Modularität und Orthogonalität: Wir konnten zeigen, dass wir mRNAs in

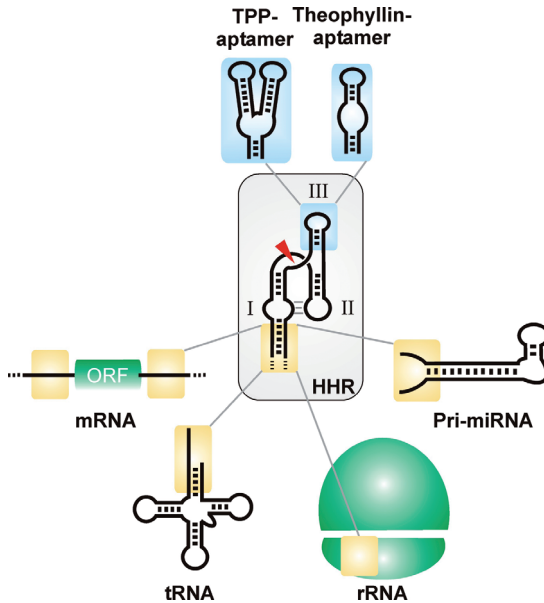


Abbildung 1: Das Hammerhead-Ribozym als Plattform zur RNA-basierten Kontrolle der Genexpression. Es können verschiedene Substanzen wie Thiaminpyrophosphat (TPP) oder Theophyllin zur Kontrolle eingesetzt werden. Darüber hinaus können die RNA-Schalter zur Kontrolle von Boten-RNAs (mRNA), Transfer-RNAs (tRNA), ribosomaler RNA (rRNA) und weiteren RNA-Klassen verwendet werden.

Bakterien mit verschiedenen Substanzen zu beeinflussen vermögen. Diese neuen Schalter sind identisch bis auf die verknüpfte Aptamerdomäne (6). Darüber hinaus können auch temperaturanfällige RNA-Strukturen verwendet werden, es resultieren dann sogenannte RNA-Thermometer. Weiter ist das entwickelte System auch modular bezüglich der regulierten RNA-Spezies: Wir konnten zeigen, dass durch Verwendung der gleichen Schalter auch Transfer- und ribosomale RNAs (tRNA und rRNA) gesteuert werden können (7,8). Darüber hinaus sind die entwickelten Schalter in unterschiedlichsten Organismen einsetzbar. Die in Bakterien entwickelten Schalter konnten von uns erfolgreich zur Kontrolle der Genexpression in Säugerzellen transferiert werden (9). Im weiteren Verlauf unserer Arbeiten werden die entwickelten Schalter nun eingesetzt, um die Genexpression von interessanten Zielgenen in einer Reihe von erfolgversprechenden Anwendungen zu steuern. Neben der Entwicklung RNA-basierter Schalter für die Genexpression sind wesentliche Arbeitsgebiete der AG Hartig die Charakterisierung von ungewöhnlichen Nukleinsäureüberstrukturen wie den

Tri- und den Tetraplexen. Darüber hinaus entwickeln wir ligandenabhängige Bauteile für die DNA-Nanotechnologie.

Literatur

- (1) Annual Review of Biochemistry, **2009**, 78, 305
- (2) Science, **1998**, 282, 296
- (3) ChemBioChem, **2008**, 9, 1873
- (4) Angewandte Chemie Int. Ed., **2008**, 47, 2604
- (5) RNA, **2009**, 15, 968
- (6) Angewandte Chemie Int. Ed., **2009**, 48, 2715
- (7) Angewandte Chemie Int. Ed., **2009**, 48, 7564
- (8) Chemistry & Biology, **2010**, 17, 236
- (9) Molecular Biosystems, **2010**, 6, 807