

## 2 Aufgabenstellung

Mit diesem Projekt sollen die Untersuchungen zur Alzheimerschen Erkrankung durch den Einsatz von RNA-Technologien ergänzt werden. Ziel dieser Arbeit ist die Gewinnung hochspezifischer Nukleinsäuren, sogenannter Aptamere, gegen das  $\beta$ A4-Amyloid-Peptid. Die Aptamere sollen durch das evolutive Verfahren der *in vitro*-Selektion (SELEX) gewonnen werden. In Analogie zu den monoklonalen Antikörpern könnten sie als spezifische Nachweisreagenzien eingesetzt werden. Der Vorteil dieser hochaffinen RNA-Moleküle gegenüber Antikörpern besteht in der Möglichkeit, die RNAs in großer Menge und hoher Reinheit chemisch darzustellen. Zudem besteht die Möglichkeit, Modifikationen bei der chemischen Synthese direkt einzuführen.

Als Ausgangspunkt für die *in vitro*-Selektion wird eine komplexe RNA-Bibliothek benötigt, die durch Transkription aus einem DNA-Pool hergestellt werden kann. Daher soll eine randomisierte Einzelstrang-DNA durch chemische Festphasensynthese hergestellt werden, die durch Polymerasekettenreaktion (PCR) in doppelsträngige DNA überführt und amplifiziert werden soll. Die Selektion der hochaffinen RNA-Moleküle soll affinitätschromatographisch erfolgen. Dazu muß das Amyloid und das Amyloidfragment auf einem Trägermaterial immobilisiert werden. Die selektierten RNA-Aptamere werden sequenziert und auf gemeinsame Merkmale in ihrer Primär- und Sekundärstruktur untersucht. Für die Quantifizierung der Bindung der Liganden wird die Dissoziationskonstante des RNA-Peptid-Komplexes für einzelne Aptamere bestimmt. Die hochaffinen RNA-Moleküle können dann für funktionelle Untersuchungen eingesetzt werden. So sollen die Aptamere als Sonden für die Funktionsanalyse des APP-Gens eingesetzt werden, und schließlich soll durch Markierung dieser spezifischen RNA-Moleküle die Entwicklung neuartiger Diagnostika für die Amyloidogenese und die Neurodegeneration angestrebt werden.