

2 Problemstellung

Im Zuge der BSE-Epidemie sowie der daraus folgenden Übertragung von Prionkrankheiten auf den Menschen zeichnet sich ein verstärktes öffentliches Interesse an diesen Krankheiten und deren präklinischer Diagnostik ab (Soto, 2004). Bei den Prionkrankheiten handelt es sich um fatale neurodegenerative Erkrankungen, die durch die Fehlfaltung des wirtseigenen, zellulären Prionproteins (PrP^{C}) in seine pathogene Form (PrP^{Sc}) ausgelöst werden. Da sich zelluläres und pathogenes Prionprotein hauptsächlich in ihrer Konformation unterscheiden, gestalten sich sensitive und spezifische diagnostische Nachweismethoden anhand dieses derzeit einzig verfügbaren Markers als schwierig. Bekannte Antikörper und Aptamere erreichen lediglich eine unzureichende Spezifität ohne verlässlich zwischen den verschiedenen dreidimensionalen Strukturvarianten des Prionproteins zu unterscheiden. Um das Gesundheitsrisiko für den Menschen zu minimieren, geeignete Standardkontrollen zu entwickeln sowie rechtzeitige Gegenmaßnahmen im Fall einer Infektion zu ergreifen, sind sensitivere Nachweismethoden in der präklinischen Phase erforderlich.

Ziel dieser Arbeit ist es deshalb, mit Hilfe der SELEX-Technologie hochaffine Aptamere gegen die pathogene Form des Prionproteins PrP^{Sc} als Marker der Prionkrankheit zu generieren. Ein besonderes Augenmerk liegt hierbei auf einem hinreichenden Diskriminierungsvermögen der Aptamere zwischen den beiden Prion-Konformationen als Basis für die Bereitstellung eines geeigneten diagnostischen Werkzeugs.

Vorliegend sollen drei Ansätze zur Selektion von PrP^{Sc} -spezifischen Aptameren verfolgt werden, die unterschiedliche Präsentationen von Epitopen im strukturellen Kontext der pathogenen Konformation beinhalten. Der erste Selektionsansatz richtet sich gegen pathogenes Prionmaterial, das aus infizierten Tierhirnen isoliert wird, wobei eine Gegenselektion gegen die zelluläre Form des Prionproteins die Aptamer-Spezifität erhöhen soll. In der zweiten Strategie wird eine *in vitro* Selektion von Aptameren gegen ausgewählte konformationsspezifische Epitope des fehlgefalteten Prionproteins angestrebt. Der dritte Ansatz hat die Generierung von Aptameren gegen *in vitro* aggregiertes Oligomer, das eine lösliche Vorstufe auf dem Weg zu PrP^{Sc} darstellt, zum Ziel. Die selektierten Aptamere sollen biochemisch näher charakterisiert werden.