

2 ZIELSETZUNG

Die Picornaviren bilden eine Familie von hoher medizinischer Relevanz. Für zahlreiche Vertreter dieser Familie fehlen wirksame spezifische Therapeutika. Antisense-Techniken bieten sich als vielversprechende neue Ansätze zur Inhibition von Viren an. Da der gesamte Replikationszyklus der Picornaviren im Cytoplasma der Wirtszelle stattfindet, können Ribozyme und siRNAs gegen die RNA dieser Viren gerichtet werden.

Gegenstand der vorliegenden Untersuchung ist das Design von Antisense-Agentien gegen Rhino- und Enteroviren aus der Picornavirus-Familie. Insbesondere sollte untersucht werden, ob DNAzyme oder siRNAs besser geeignet sind, den viralen Lebenszyklus zu blockieren. Bei der Entwicklung wirksamer Antisense-Strategien gegen Viren stellen sich verschiedene Aufgaben. Dazu zählen die Wahl einer geeigneten Zielregion auf der RNA, die Stabilisierung des Antisense-Moleküls gegen Nukleasen und die Vermeidung von Resistenzbildung durch *Virus-Escape*.

Zunächst sollte ein DNAzym gegen eine Sequenz in der 5'-NTR des Humanen Rhinovirus Typ 14 (HRV-14), die zwischen Rhino- und Enteroviren stark konserviert ist, hinsichtlich seiner Stabilität und katalytischen Aktivität optimiert werden. Die Eigenschaften von DNAzymen mit verschiedenen Nukleotid-Modifikationen in den Substratbindungsarmen oder im katalytischen Zentrum sollten verglichen werden. Ziel war es, ein allgemein anwendbares Design zur Herstellung stabilerer und effizienterer DNAzyme zu entwickeln.

Weiterhin sollte eine RNAi-Strategie zur Inhibition des Coxsackievirus B3 (CBV-3) etabliert werden. Dabei stellte sich die Frage, welche Parameter die Aktivität einer siRNA bestimmen. Es sollte ermittelt werden, welche Bedeutung stabile Sekundärstrukturen in der Zielregion für die Effizienz einer siRNA haben. Die auf der Grundlage der gefundenen Ergebnisse entwickelten siRNAs sollten zur Inhibition des vollständigen Virus in Zellkulturexperimenten verwendet werden. Schließlich war beabsichtigt, ein Instrument zu entwerfen, das der Entstehung resistenter *Escape*-Mutanten entgegenwirkt. Ähnlich wie in der konventionellen Kombinationstherapie mehrere Wirkstoffe simultan eingesetzt werden, sollten hier zwei siRNAs gleichzeitig intrazellulär von einem Vektor exprimiert werden. Durch gerichtete Mutagenese sollten dann virale Gene hergestellt werden, die Basensubstitutionen in der Zielregion enthielten. Mit diesen künstlich hergestellten Mutanten sollte nachgewiesen werden, daß der neu entwickelte Doppelvektor wirksam bleibt, auch wenn eine der beiden siRNAs ihre Aktivität verliert.