

**Kollege Wurm:**

*Caenorhabditis elegans*  
vertritt die menschliche  
Spezies in zahlreichen  
Angelegenheiten  
im Forschungslabor. An  
ihm wurden spannende  
Dinge entdeckt, zum  
Beispiel RNA-Interferenz



# Das Schweigen der Gene

Milliarden Jahre ist der Mechanismus alt, vor sieben Jahren hat man ihn entdeckt, seit sechs Jahren krepelt er die Genomforschung um. RNA-Interferenz legt Gene lahm. Das hilft der Wissenschaft und heilt vielleicht sogar Krankheiten

VON SASCHA KARBERG; RICHARD FRIEBE (FOTOS)

Es ist die Neugier des Kindes, die aus Menschen Forscher macht. Der kleine Junge zupft an einer Fliege herum und erkennt schauernd, dass die Flügel wohl zum Fliegen gebraucht werden. Mancher Jungforscher macht seine Erfahrungen auf diese rabiante, den Tierschützer empörende und doch typisch menschliche Weise. Auf den ersten Blick gehen ausgewachsene Biologen da eleganter vor, letztlich ist die Idee hinter der Gentechnik aber doch die gleiche geblieben: Ob ein Gen die Fliege fliegen lässt, erkennt man am besten, indem man es abschaltet. Wenn gestandene Forscher jetzt von einer Technik schwärmen, die Gene so einfach lähmt wie nie, dann schwingt es wieder mit, dieses Glücksgefühl der Erkenntnis.

Der Mechanismus, der allenthalben Begeisterung auslöst, heißt RNA-Interferenz (RNAi) – in Anlehnung an die physikalische Interferenz. Dort löschen sich Wellen aus, hier treten Ribonukleinsäure-(RNA)-Moleküle gegeneinander an, jene Gen-Abschriften, die die Herstellung der Proteine steuern und ohne die im Körper gar nichts geht. Das Fachmagazin „Science“ kürte RNAi zum wissenschaftlichen Durchbruch des Jahres 2002. Und 2003 kam sie wieder unter die Top 10.

„Auf diese Technik haben viele Leute viele Jahre lang gewartet“, sagt Christophe Echeverri, Gründer und Forschungschef der Dresdner Cenix BioScience, die im großen Stil Genfunktionen mit RNAi entschlüsselt. „Niemand zögert, von einer Revolution in der Genomforschung zu sprechen.“ Schließlich gilt es, nicht nur die Bedeutung zweier Fliegenflügel zu begreifen, sondern endlich die Früchte des Humangenomprojekts zu ernten, indem man die Funktion zehntausender Gene verstehen lernt. Auf den Life-Science-Märkten scheint RNAi sogar den daniederliegenden Biotechs wieder Auftrieb zu geben. Schon zwei Jahre nach der technischen Nutzarmachung der RNAi ist der Markt für RNAi-Produkte fast 40 Millionen US-Dollar groß, und die Zukunftsprognosen der Marktforschungsinstitute überbieten sich im dreistelligen Millionenbereich. Dieser Optimismus gründet auf der Hoffnung, dass RNAi auch als Therapieform taugen könnte. Denn die

**DIE TECHNISCHE  
NUTZARMACHUNG  
DES ZELLULÄREN  
MECHANISMUS IST  
VERHEISSUNGSVOLL**

**KURZ GEFASST**

- **UM ZU VERSTEHEN**, für welche Funktionen die Gene kodieren, müssen Forscher sie nacheinander abschalten und beobachten, welchen Effekt die Manipulation hat.
- **DER NATÜRLICHE PROZESS** der RNA-Interferenz lässt sich technisch nutzen, um viele Gene gezielt, schnell und günstig abzuschalten.
- **ERST ALLMÄHLICH** verstehen Forscher, wie RNAi funktioniert. Es könnte sich um einen Abwehrmechanismus des Körpers handeln – oder um ein komplexes Genregulationssystem.
- **EINE GENTHERAPIE** mit RNAi ist denkbar. Mit der Technik lassen sich theoretisch auch Krankheitsgene abschalten. Einige Firmen planen erste klinische Studien noch in diesem Jahr.

Gen-Zensur-Technik, so zeigen erste Versuche an Mäusen, kann die Wirkung krebsverursachender Gene blockieren und die Vermehrung von Viren wie HIV oder Hepatitis hemmen.

Die Grundlage dafür wurde schon im Jahr 1990 gelegt – per Zufall: Pflanzenzüchtern ist das Violett einer Petunien-Sorte zu flau. Also fügt Richard Jörgensen, damals bei der mittlerweile geschlossenen Biotech-Firma DNA Plant Technologies in Oakland, ein paar Farbgene mehr in das Pflanzengenom. Aber die gentechnisch veränderten Pflanzen blühen nicht, wie erwartet, in dunklem Lila, sondern fast weiß, bestenfalls lila gesprenkelt. „Cosuppression“ nennt er das Phänomen, denn nicht nur die zusätzlichen Gene, sondern auch das pflanzeigene Farbgene scheinen den Dienst zu verweigern. Außer ein paar Genetikern nimmt die breite Forscheröffentlichkeit wenig Notiz von Jörgensens Entdeckung: Was kümmern denn den Biomediziner merkwürdige, noch dazu unerklärliche Phänomene bei irgendwelchem Grünzeug?

**ALSO BEGINNT DIE ERFOLGSGESCHICHTE** der RNAi so richtig erst auf einer Wurm-Tagung im Frühsommer 1997: In Madison, Wisconsin, treffen sich Forscher, die das Leben des Fadenwurms *Caenorhabditis elegans* bis ins kleinste molekulare Detail verstehen wollen. Unter ihnen auch Andrew Fire, damals noch von der Carnegie Institution of Washington aus Baltimore angereist. Jetzt sitzt er in Palo Alto nahe San Francisco in einem kargen Büro der Stanford University auf einem unbequemen Holzstuhl und trägt trotz kalifornisch-frühlingshafter Temperaturen den typischen Biologen-Schlabberpulli.

Dem Klischee vom schmetterlingsjagenden, bebrillten Biologen mit Bart und versonnenem Blick entspricht Andrew Fire allenfalls äußerlich. Hinter der unscheinbaren Fassade steckt ein scharfsinniger Entwicklungsgenetiker, mit Mut zu Gedanken, für die ihn andere auslachen – bis sie ihn verstehen. Er hatte sich schon mit einer Reihe von molekularen Tricks beschäftigt, um Gene abzuschalten, unter anderem mit der so genannten Antisense-RNA: Der Theorie nach sollte sich mit diesen künstlich hergestellten RNA-Molekülen zelluläre RNA (Sense-, Boten- oder Messenger-RNA genannt) blockieren lassen. Boten-RNA stellt einen Zwischenschritt in der Umsetzung einer genetischen Information in ein Protein dar, wird also immer dann gebildet, wenn ein Gen „aktiviert“ wird. Da die Sense-RNA ein einzelsträngiger Nukleinsäurefaden ist, kamen Molekularbiologen in den achtziger Jahren auf die Idee, sie mit einem zweiten, gegenläufigen (komplementären) Antisense-Faden zu neutralisieren. Wie zwei Teile eines Klettverschlusses kleben dabei die beiden Moleküle zu einem Doppelstrang (dsRNA) zusammen. Die Übersetzung in ein Protein würde gestoppt, das Gen bliebe zwar aktiv, aber seine Boten-RNA hätte nichts mehr zu melden. In der Praxis ließ das Verfahren zu wünschen übrig. Aber durchs Experimentieren damit entdeckten die Forscher letztlich die Ribonukleinsäure-Interferenz.

Fire und auch sein Kollege Craig Mello von der University of Massachusetts in Worcester hatten solche Antisense-Experimente seit Jahren mit Würmern betrieben. Immer wieder beobachteten sie, dass die Gen-Zensur mitunter auch dann funktionierte, wenn sie – als Kontrolle – künstlich hergestellte Sense-RNA statt der Antisense-Variante in die Tiere injizierten.

**Kultur zum Tragen:** In der Flasche schwimmen Krebszellen, Kälberserum (zur Ernährung) und ein Antibiotikum zum Schutz vor Bakterien – eine frisch angesetzte Zellkultur



W To avoid breakage or injury;  
A Do not place over direct heat.  
H Do not scratch or bump.  
N Discard if scratched, chipped, cracked or broken improperly.  
I Do not evacuate or pressurize unless recommended in the current Kimble catalog.  
N For further information, consult the current Kimble catalog or our website at [www.kimble-kontes.com](http://www.kimble-kontes.com).

## ZENSUR IM GENOM

### A NORMALE GENEXPRESSION

Die im DNA-Molekül gespeicherten Erbinformationen werden in RNA umgeschrieben (Transkription)



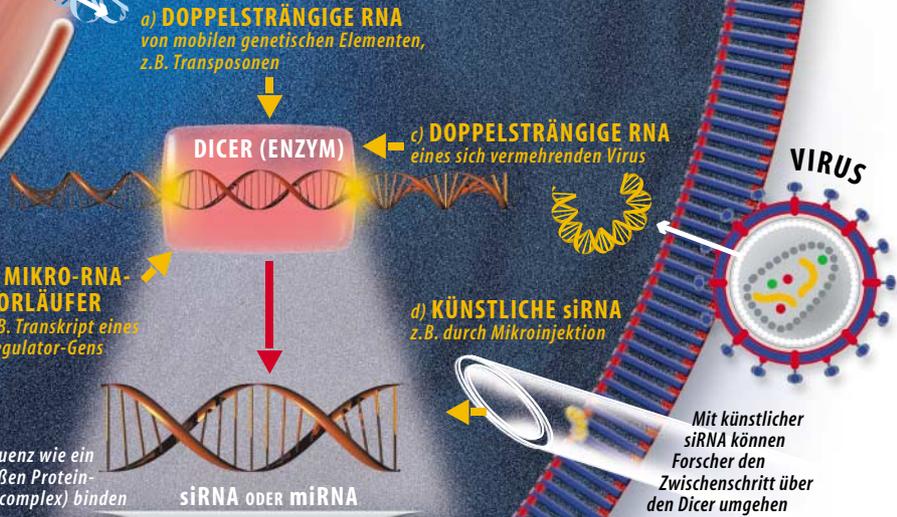
Im Gegensatz zur DNA besteht die RNA nur aus einem Einzelstrang. Sie fungiert als Bote (sie wird auch als Boten-, Messenger- oder mRNA bezeichnet) zwischen DNA im Zellkern und der Zellmaschinerie im Zytoplasma

ZELLKERN  
ZYTOPLASMA

Haben kleine Fragmente dieselbe Sequenz wie ein zelluläres Gen, können sie an den großen Protein-Komplex RISC (RNA induced silencing complex) binden

### B KNOCK-DOWN PER RNA

Gelangt doppelsträngige RNA ins Zytoplasma, erkennen Enzymkomplexe (Dicer) die Moleküle und zerkleinern sie in kleine Fragmente (small interfering RNAs oder siRNA) aus 21 bis 23 Bausteinen



**1**  
RISC  
Der RISC zerstört den Teil der doppelsträngigen siRNA, der dieselbe Sequenz hat wie die natürliche mRNA

**2**  
RISC  
ANTISENSE-STRANG  
mRNA  
Übrig bleibt der so genannte Antisense-Strang, fest verbunden mit dem RISC. Daran kann die natürliche mRNA mit komplementärer Sequenz binden

**3**  
RISC  
RIBOSOM  
DEGRADATION  
TRANSLATIONSHEMMUNG

#### DEGRADATION

Passen die Sequenzen der beiden Stränge exakt zueinander, zerschneidet eine Untereinheit des RISC (Slicer genannt) die gebundene mRNA. RISC setzt die beiden Bruchstücke ins Zytoplasma frei, wo sie von zelleigenen Enzymen abgebaut werden (Degradation). RISC mit seiner gebundenen Antisense-RNA macht sich auf die Suche nach dem nächsten mRNA-„Opfer“

#### TRANSLATIONSHEMMUNG

Passen die beiden Sequenzen nicht exakt zusammen (miRNAs haben häufig Abweichungen), zerschneidet RISC die zelleigene mRNA nicht. Vermutlich bleibt die mRNA dann an RISC hängen, und der große Proteinkomplex blockiert die Ribosomen bei ihrer Translationsarbeit (Translationshemmung). miRNAs werden vermutlich ausschließlich gebildet, um über diesen Weg andere Gene zu hemmen. Sie werden nie in Proteine übersetzt

NICOLE KROHN

Theoretisch völlig unmöglich, denn zwei Sense-Stränge können genauso wenig aneinander binden wie zwei gleiche Streifen eines Klettverschlusses. Auf der Wurm-Tagung hatte sich eigens ein Workshop mit diesem Problem beschäftigt.

Ein Kollege habe ihn danach auf dem Parkplatz gefragt, wie er sich diesen „Antisense-Kram“ erkläre, erzählt Fire. Er wusste, dass bei der Synthese von Antisense-RNA Verunreinigungen mit dsRNA auftreten konnten. „Außerdem wussten wir, dass Gene, die wir in die Würmer einbrachten, manchmal von beiden Strängen der DNA abgelesen werden“, wodurch Sense- und Antisense-RNA-Stränge entstehen und sich zu dsRNA paaren. Ähnliches könnte bei den Farbgenen passiert sein, die Jörgensen anno 1990 den Petunien eingesetzt hatte. Also erwiderte Fire seinem Kollegen: „Da sind vielleicht Sense- und Antisense-Stränge in der Zelle, binden aneinander und machen doppelsträngige RNA. Vielleicht legen diese Doppel-

stränge die Gene still.“ Der Kollege habe nur gesagt, das sei „ziemlich verrückt“, erinnert sich Fire. Und lächelt. Es war die entscheidende Idee zur Entdeckung der RNA-Interferenz.

Allerdings hatte Fire damals noch keine Ahnung, wie doppelsträngige RNA die Sense-RNA attackieren sollte, denn so wie ein geschlossener Klettverschluss nirgendwo mehr klebt, können auch dsRNA-Moleküle nicht mehr an andere Erbgutstückchen binden.

„DER VERRÜCKTE GEDANKE schien mir plausibel genug, um damit zu spielen“, erklärt Fire. Zurück in Baltimore, mixte er zum ersten Mal gezielt dsRNA aus Sense- und Antisense-RNA. Schon im ersten Experiment funktionierte das doppelsträngige Molekül deutlich besser als die beiden Einzelstränge. Das war der Beleg für einen Mechanismus, den sich zu dieser Zeit niemand erklären konnte.

Am 19. Februar 1998 erschien die Arbeit im Fachmagazin „Nature“. Doch niemand erkannte die Tragweite dieser Entdeckung. Selbst Fire und Mello sprachen lange von einem „möglicherweise verrückten, auf den Wurm beschränkten Mechanismus“. Ende 1998 aber kam die Nachricht, dass dsRNA auch in einem anderen Organismus, der Taufliege *Drosophila melanogaster*, Gene stilllegt. „Da war klar, dass wir etwas Interessantes entdeckt haben“, sagt Fire, während er aus dem Fenster auf die Palmen des Stanford-Campus schaut.

**AM ANDEREN ENDE DER USA**, im 10. Stock eines der Wolkenkratzer der Rockefeller University in New York, arbeitet der Mann, der die zunächst nur für Grundlagenforscher aufregende Entdeckung in eine Sensation verwandelte, die auch bei Risikokapitalgebern Beachtung fand. „Ich habe die Arbeit von Andrew Fire damals am Massachusetts Institute of Technology in Boston gelesen“, sagt Thomas Tuschl, dessen Name inzwischen wie kein anderer mit RNAi verbunden wird, „aber ich habe das überhaupt nicht geglaubt.“ Der Chemiker fand die Idee absurd, dass doppelsträngige RNA Gene abschalten können soll. Tom, wie er am Rockefeller-Campus jetzt gerufen wird, sitzt im Büro seines „Laboratory of

## NACH LANGER VORARBEIT GELANG DAS WICHTIGSTE EXPERIMENT AN EINEM NACHMITTAG

RNA Molecular Biology“, in dem er seit Mitte letzten Jahres forscht, und sinniert über die Winkelzüge des Schicksals. „Ich habe das nur deshalb ernst genommen, weil Phil Sharp es für wichtig hielt. Und der hat es nur geglaubt, weil Andrew Fire mal bei ihm im Labor gelernt hatte.“

Phillip Sharp, Medizin-Nobelpreisträger vom MIT, war es, der Tuschl Anfang 1999 auf RNAi ansetzte. „Ich hatte noch drei Monate Zeit bis zu meiner Rückkehr nach Deutschland ans Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie in Göttingen“, sagt Tuschl. Sein Mentor Sharp schlug vor, ein System zu etablieren, um die biomolekularen Mechanismen der RNAi im Reagenzglas studieren zu können. Tuschl entschied sich auf Anraten seines MIT-Kollegen Phil Zamore für Extrakte aus *Drosophila*-Embryonen. Nach wochenlangen zermürbenden Vorarbeiten mit den empfindlichen RNA-Molekülen gelang das entscheidende Experiment schließlich an einem einzigen Nachmittag. Aber nicht nur am MIT hatte man begonnen, das RNAi-Geheimnis zu entschlüsseln.

Gregory Hannon öffnet die Tür mit der Pipette in der Hand. Der Professor am Cold Spring Harbor Laboratory auf Long Island lässt sich auch während des Gesprächs nicht von seinen „Quick-Preps“ abhalten, dem Standard-Prozedere, um DNA aus Bakterien zu isolieren. Neugierig auf RNAi wurde Hannon, als er auf einer Tagung hörte, dass das Phänomen nicht nur im Wurm, sondern auch in der Fliege funktionierte: „Ich zählte eins und eins zusammen. Das musste ein evolutiv konservierter Mechanismus sein“, schreit er, um das Dröhnen

**Blick in die neue Welt:**  
Früher schaute Thomas Tuschl vom Institut aus auf den Göttinger Wald. Heute forscht er in New York



der billigen Tischzentrifuge zu übertönen. „Ich rief im Labor an und sagte: Holt sofort die Drosophila-Zellen aus dem Kühlschrank und macht einen Versuch.“ Nach einer Woche konnte auch Hannon Gene per RNAi stilllegen. Eigentlich wollte er so Krebsgene und Zellzyklusregulation studieren, denn damit beschäftigte er sich bisher. „Aber Drosophila-Zellen sind ein schreckliches System für diesen Zweck.“ Das sei jedoch ein Glück gewesen, sagt Hannon, „denn so konzentrierten wir uns auf die Aufklärung der molekularen Mechanismen“.

Am Ende hatten Tuschl, Zamore und Hannon verstanden, wie RNA-Moleküle interferieren. Im Abstand weniger Wochen veröffentlichten die Forscher ihre Erkenntnisse: Ein Enzymkomplex namens Dicer (Häcksler) zerschnipselt lange dsRNA-Moleküle in kürzere, so genannte „short interfering“ RNAs (siRNAs). Die RNA-Schnipsel werden an die von Hannon so bezeichneten Risc-Moleküle („RNA induced silencing complex“) übergeben, die mit Hilfe der Schnipsel die passende zelleigene Boten-RNA finden und zerstören (siehe Grafik Seite 42).

Tuschl hatte unterdessen schon das nächste Ziel vor Augen: menschliche Gene mit Hilfe von RNAi abschalten. Derartige Versuche waren bisher stets gescheitert. Denn doppelsträngige

RNA-Moleküle werden in Säugetierzellen von so genannten Proteinkinase-Rezeptoren (PKR) erkannt, die sofort die Synthese sämtlicher Proteine stoppen und den programmierten Zelltod einleiten. Dieser Mechanismus schützt den Körper vor Erregern wie Grippeviren, die RNA als Erbgut tragen. Tuschl wusste damals zudem, dass die Zelltodmaschinerie erst anläuft, wenn sich zwei PKR-Moleküle auf eine dsRNA aus mindestens 30 Nukleotid-Bausteinen setzen können. Da lag es nahe, einmal statt langer dsRNAs gleich die nur 21 Bausteine kleinen siRNAs in menschliche Zellen zu injizieren.

Es funktionierte. Die Arbeit erschien am 25. Mai 2001 in „Nature“, und plötzlich interessierten sich auch Biomediziner für das Phänomen RNA-Interferenz, das ihnen ehemals, als es bei Pflanzen entdeckt wurde, unwichtig vorgekommen war. Thomas Tuschls Experimente hatten gezeigt, dass man das natürliche Phänomen technologisch nutzbar machen kann – als Methode, um Gene abzuschalten. Eine Möglichkeit, die für menschliche Zellen vorher praktisch nicht existierte und selbst bei Mäusen monatelange teure Laborarbeit bedeutete.

Tuschl spricht jedoch nicht mehr vom Gene-Abschalten, sondern von „RNA-Silencing“, dem Stilllegen der Boten-RNA. Denn die Gene bleiben unberührt, werden zwar leiser, aber nie stumm: Hundertprozentig lässt sich die Boten-RNA des Ziel-Gens nicht auslöschen. Von einem Knockout, wie man die aufwendige künstliche Entfernung von Genen aus dem Erbgut von Mäusen nennt, kann also nicht die Rede sein – RNAi schafft nur den Knockdown.

### ÄRZTE, FORSCHER, KAPITALGEBER: ALLE WOLLEN PLÖTZLICH GENE AUSSCHALTEN

**Grünes Signal:** Markus Landthaler (Rockefeller University) experimentiert mit HeLa-Krebszellen. Erlischt das grüne Leuchten, interferiert RNA



Dennoch ist die Bedeutung kaum absehbar, die RNAi allein als Werkzeug für die Genomforschung und damit auch für das Verständnis von Krankheiten haben wird: So legte eine deutsch-amerikanische Kooperation, die flyRNAi.org, in Zellen der Modellfliege *Drosophila* rund 90 Prozent aller bekannten Gene per Ribonukleinsäure-Interferenz lahm. Die Forscher fanden 438 zum Überleben der Zelle essenzielle Gene, sagt Renato Paro vom Zentrum für Molekulare Biologie der Universität Heidelberg. Die meisten von ihnen unbekannt – und das trotz hundert Jahren *Drosophila*-Forschung und tausenden von Mutagenese-Experimenten, in denen die Fliegen mit Chemikalien traktiert oder mit Röntgenstrahlen bombardiert wurden. Ähnliche Ergebnisse lieferte eine RNAi-Studie bei *Caenorhabditis elegans*, bei der 16 757 verschiedene siRNAs 86 Prozent aller Gene des Wurms stilllegten.

Christophe Echeverris Firma Cenix war eine der ersten, die RNAi für solch automatisiertes Spüren nach Genfunktionen eingesetzt hat. Bereits Ende 1998 begannen er und sein Arbeitsgruppenleiter Tony Hyman am Max-Planck-Institut für Molekulare Zellbiologie und Genetik in Dresden, RNA-Interferenz für die automatisierte Hochdurchsatz-Analyse der Genfunktionen nutzbar zu machen. Ein viel versprechender

## ALS WERKZEUG DIENT RNA- INTERFERENZ SCHON HEUTE DER FORSCHUNG

Ansatz, wenn man bedenkt, dass von den grob geschätzt 30 000 Genen des menschlichen Genoms mit konventionellen Methoden bisher höchstens 500 ausgeschaltet wurden, um ihre Funktion zu verstehen.

Entscheidend für die Qualität der Ergebnisse ist vor allem die Güte der eingesetzten kleinen RNA-Stücke: Man muss die Sequenz der RNA-Bausteine so wählen, dass nur die Ziel-RNA und keinesfalls andere Boten-RNAs attackiert werden. „Wir haben viel Aufwand betrieben, um zu lernen, wie man die richtigen siRNAs auswählt“, sagt Christophe Echeverri. Nach speziell entwickelten Regeln berechnen Cenix-Computerprogramme die ideale Sequenz einer siRNA. Ohne diese Algorithmen sinke die Erfolgsrate laut Echeverri auf 60 Prozent. Wer alle Gene eines Organismus berücksichtigen wolle, brauche jedoch deutlich über 90 Prozent. Obwohl Forscher wie Hannon kostenlose Internetseiten geschaltet haben, die automatisch siRNAs für jede gewünschte Boten-RNA vorschlagen, schwören Firmen wie Cenix oder Dharmacon auf ihre eigenen Rezepte. So nutzt inzwischen der siRNA-Anbieter Ambion Cenix' Expertise auf Kooperationsbasis. Invitrogen hat sich den siRNA-Designer Sequitur zu diesem Zweck gleich einverleibt.

**ÜBER DIE FUNKTION BEKANNTER GENE** bringt RNAi offenbar auch bisher unentdeckte Gene ans Licht – und das im großen Stil. Schon steht eine Revision der Hochrechnungen über die Menge der Gene im Erbgut an – gleich ob vom Wurm, von der Fliege oder vom Menschen. „Wir haben überprüft, ob

**Heureka-Augenblick:** Leuchtende Flecken auf Schwarz verriet Andrew Fire und seinen Kollegen 1997, dass RNA-Interferenz funktioniert



Drosophila tatsächlich nur 14 000 Gene hat“, erklärt Renato Paro. Denn obwohl die Erbgutsequenzen von Drosophila und anderen Organismen bereits bekannt sind, ist die Zahl der darin liegenden Gene bislang davon abhängig, was die verwendete Analyse-Software als Gen identifiziert und was nicht. Mit einem neuen Algorithmus errechneten Paro und Kollegen zunächst etwa 21 000 Fliegen-Gene. „Eine experimentelle Überprüfung aller dieser möglichen Gene mit Hilfe von RNAi ergab, dass es gut 2000 Gene mehr gibt als die bisher angenommenen 14 000“, sagt Paro. „Und ich bin sicher, dass auch der Mensch mehr Gene hat als bisher geschätzt.“

„RNAi ist ein grundlegender Mechanismus, der mit vielen fundamentalen biologischen Prozessen verknüpft sein könnte“, sagt Gregory Hannon.

Die notwendigen Zellkomponenten scheinen sich in der Evolution noch vor der Trennung von pflanzlichen und tierischen Zellen entwickelt zu haben und kommen deshalb in Säugtieren, Insekten, verschiedenen Wurmarten, Knochenfischen, Pflanzen und sogar in einzelligen vor. Außerdem zeichnet sich ab, dass doppelsträngige RNA auch bei der Steuerung der Entwicklung von Organismen, der Feinjustierung der Genregulation und schließlich in der Verpackung der Gene, der so genannten Chromatin-Struktur, eine wichtige Rolle spielt.

### DER NATÜRLICHE ZWECK DER RNAI? KANN SEIN, DASS SIE VOR PARASITEN SCHÜTZT

Vermutlich hat sich die RNAi ursprünglich als Verteidigungsmechanismus gegen „springende Gene“ entwickelt – so genannte Transposone, kurze DNA-Schnipsel, die wie molekulare Flöhe das Erbgut befallen. Diese Parasiten werden für die Zelle schnell gefährlich, da ihr Springen Mutationen in wichtigen Genen auslösen kann. Aber die Transposon-Flöhe haben eine Achillesferse: Sie produzieren dsRNA. Der Evolutionsdruck dürfte recht hoch gewesen sein, diese dsRNA als Signal zu benutzen, um die Parasiten zu bekämpfen. Aber das sei nur ein Teil der Verteidigungsstrategie, sagt Renato Paro: „RNAi scheint auch den Verpackungsmechanismus der Gene zu aktivieren.“ Offenbar werde so in den Regionen des Erbguts, wo die Transposone sitzen, die DNA so dicht verpackt, dass die Parasiten gewissermaßen verschnürt werden und nicht mehr springen können. Das Verständnis dieser komplexen RNAi-Biologie und ihre Anwendung in der funktionellen Genomik, so Hannon, werde der „größte Nutzen der RNAi“ sein, denn so werden „alle Felder der biomedizinischen Forschung und alle Bereiche der therapeutischen Forschung befruchtet“.

**DASS IM ZUSAMMENHANG** mit der RNAi schon über den Nobelpreis gemunkelt wird, liegt auch an der Entdeckung der so genannten miRNAs: kleiner, siRNA-ähnlicher RNA-Moleküle, die von der Zelle selbst produziert werden. Mehr als 200 solcher miRNA-Gene haben die Forscher bisher im menschlichen Erbgut entdeckt, bis zu 300 könne es geben, sagt Thomas Tuschl. Die miRNAs, die durchschnittlich 70 Bausteine groß

**Unermüdlich:** Das Interview gibt Molekularbiologe Gregory Hannon im Labor, während er DNA aus Bakterien isoliert



sind, sind nur in einigen Bereichen doppelsträngig und bewirken auch keine Zerstückelung der Boten-RNAs im Risc-Protein. Vielmehr sorgen sie dafür, dass die Boten-RNAs nicht mehr für den Zusammenbau der Proteine, die Translation, verwendet werden können. „Es ist offen, welche Bedeutung diese Translationshemmung für die Zelle hat“, sagt Tuschl. In den miRNAs liege vielleicht sogar der Schlüssel zum Verständnis komplexer Krankheiten wie Arthritis, Diabetes und Herz-Kreislauf-Erkrankungen. Da bei diesen Syndromen viele Gene gleichzeitig falsch reguliert werden, könnten miRNAs daran beteiligt sein, spekuliert Tuschl. Denn eine einzige miRNA kann die Translation der Boten-RNAs vieler verschiedener Gene hemmen.

So wie der RNAi-Mechanismus an der Entstehung von Krankheiten beteiligt sein könnte, so könnte er auch zu ihrer Bekämpfung eingesetzt werden. Für diese Vision hat Tuschl sogar den Schritt ins Unternehmertum gewagt, zusammen mit Phillip Sharp, den es im Jahr 2002 bloß ein paar Anrufe gekostet hatte, um 17 Millionen Dollar Risikokapital als Basisfinanzierung für die Bostoner Alnylam Pharmaceuticals aufzutreiben. „Die Aufregung um diese Technologie ist wunderbar“, sagt deren Geschäftsführer John Maraganore.

Laut Maraganore („Patienten und Investoren müssen wissen, dass die Entwicklung von Medikamenten nicht einfach ist“) plant Alnylam schon im nächsten Jahr erste klinische Tests, aber man wolle sich genug Zeit für die Vorbereitung lassen. Ein schwieriges Unterfangen, denn noch in der Alnylam-Suite im zweiten Stock des Westin St. Francis ist der Druck des Marktes zu spüren. In der Lobby des Hotels im Zentrum San Franciscos trifft sich gerade die gesamte Biotech-Szene zur Health Conference der Investmentbank JP Morgan.

**DIE ERWARTUNGEN DER INVESTOREN** sind so hoch wie die Einsätze, und John Maraganores Terminkalender ist überbucht. Eilig sagt er also: „Zurzeit führen wir präklinische Studien zur Behandlung einer altersbedingten Augenerkrankung und Parkinson durch.“ Noch dieses Jahr werde entschieden, welches Projekt zuerst in die klinische Prüfung komme. Alnylams Schritte werden penibel beäugt, denn die Investorenszene hat Erfahrungen mit der Euphorie – vor allem schlechte: Die RNAi-Vorläufertechnologie Antisense-RNA hat nach 20 Jahren Forschung bisher nur ein Medikament hervorgebracht. Und die ebenso umjubelten Gentherapie-Versuche haben in mehr als zehn Jahren nicht nur niemanden geheilt, sondern sogar mehrfach geschadet. Noch immer ist unklar, wie RNA oder DNA sicher in erkranktes Gewebe gebracht und dort stabilisiert werden kann. Vergleichbar seien RNAi- und Antisense-Strategie jedoch nur bedingt, sagt Tuschl. „RNAi steht nach zwei Jahren dort, wofür Antisense 15 Jahre gebraucht hat.“ Und schon hat Alnylam seinen Börsengang angekündigt.

Mehr als ein Dutzend Firmen entwickeln RNAi-Therapien, über das Versuchsstadium ist noch keine hinausgekommen.

## ERSTE STUDIEN MIT RNAi- MEDIKAMENTEN LAUFEN BEREITS BEI FIRMEN

## RNA-INTERFERENZ IM GESCHÄFT

### Firmen, die ...

#### ... dsRNA zum Therapeutikum entwickeln:

**Alnylam**, Cambridge (USA), inklusive Ribopharma, Kulmbach  
**Acuity Pharma**, Philadelphia (USA)  
**Benitec Australia**, St. Lucia (AUS)  
**Noxxon Pharma**, Berlin (D)  
**SiRNA Therapeutics (ehemals Ribozyme)**, Boulder (USA)

#### ... mit dsRNA Genfunktionen ermitteln:

**Atugen**, Berlin (D)  
**DeVGen**, Gent (Belgien)  
**Phenomix Pharmaceuticals**, San Diego (USA)  
**RNAx**, Berlin (D)  
**Sequitur**, Natick (USA)

#### ... dsRNA-Reagenzien anbieten:

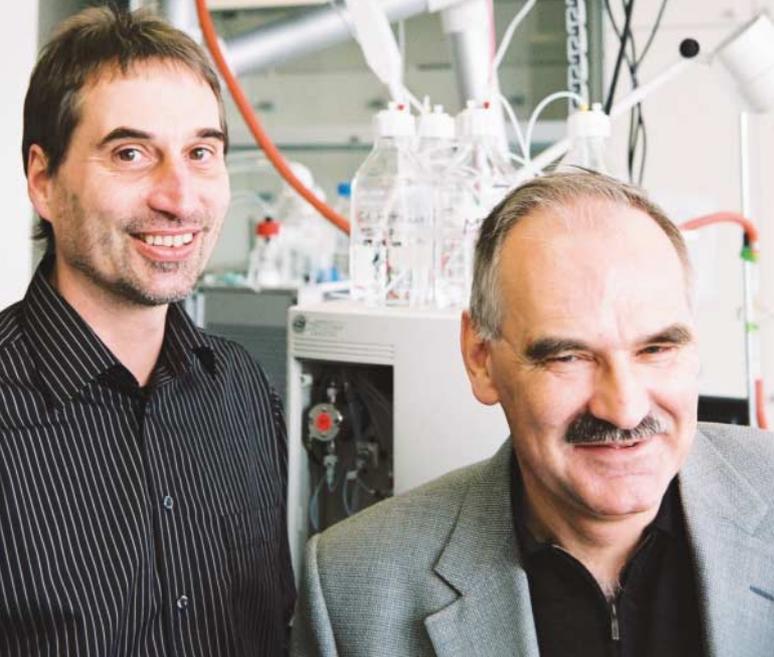
**Amaxa**, Köln (D)  
**Eurogentec**, Liège (Belgien)  
**MWG Biotech**, Ebersberg (D)  
**Oligoengine**, Seattle (USA)  
**Proligo**, Hamburg (D) und Boulder (USA)

Allerdings gibt es eine Reihe von ermutigenden Ergebnissen. Jo Milner von der University of York hat Zellen aus einem Gebärmutterhalstumor erfolgreich mit RNAi behandelt. In Phillip Sharps Labor konnte die Vermehrung des Aids verursachenden HI-Virus in menschlichen Zellen gehemmt werden. Auch Polio-Erreger und Hepatitis C wurden in präklinischen Untersuchungen mit RNAi bereits erfolgreich bekämpft. Und Judy Lieberman von der Harvard University in Boston konnte Mäusen helfen, die an einer chronischen Leberentzündung litten, indem sie ihnen siRNAs gegen wichtige Gene des Hepatitis-Virus spritzte.

Besonders früh, schon 1998, haben Stefan Limmer und Roland Kreutzer von der Kulmbacher Ribopharma RNA-Interferenz als Therapieform erwogen. „Wir zählen wohl zu den wenigen, die Andrew Fire gleich sehr ernst genommen haben“, sagt Kreutzer. Beide Forscher arbeiteten damals noch an der Universität Bayreuth mit RNA und wollten dieses merkwürdige Phänomen gleich an menschlichen Zellen überprüfen. Schnell konnten sie im Reagenzglas Gene mit Doppelstrang-RNA abschalten. Aber sobald sie mit lebenden menschlichen Zellen arbeiteten, löste die doppelsträngige RNA die Selbstmord-Reaktion der Zellen aus. Früher als irgendjemand sonst kamen die beiden Biochemiker darauf, dass die Lösung in kürzeren dsRNAs liegen könnte. Denn wie Tuschl wussten auch Limmer und Kreutzer, dass die Panikreaktion der Zelle erst von doppelsträngigen RNA-Molekülen ausgelöst wird, die länger als 30 Bausteine sind. „Und außerdem war es einfach billiger, kurze RNAs herzustellen“, sagt Limmer.

Am 30. Januar 1999 meldeten Limmer und Kreutzer ihr erstes, am 29. Januar 2000 das zweite Patent für die Anwendung kurzer dsRNA beim Europäischen Patentamt an – lange vor Tuschls Veröffentlichungen. Anstatt ihr Wissen in den

**Biotech bayrisch:** Roland Kreuzer (links) und Stefan Limmer, Gründer der Kulmbacher Ribopharma, erkannten das Potenzial der RNAi frühzeitig



Ausbau ihrer wissenschaftlichen Karriere zu investieren, entschied sich das Duo für die Gründung des Biotech-Unternehmens Ribopharma. Inzwischen ziehen Tuschl, Kreuzer und Limmer an einem Strang: Um die wohl wichtigsten Patente des RNAi-Feldes zu sichern und einen Rechtsstreit zu vermeiden, fusionierte Alnylam Mitte letzten Jahres mit Ribopharma.

Inwieweit RNAi-Therapien erfolgreich sein werden, ist offen. Es könne sein, dass die Verabreichung von siRNAs die RNAi-Maschinerie der Zelle durcheinander bringt und Zielgene von miRNAs dereguliert werden, spekuliert Tuschl. Das würde mehr Schaden anrichten als nutzen. Mittelfristig führen die Ergebnisse aus den zahlreichen Genfunktionsanalysen wahrscheinlich schneller zu neuen Medikamenten, als dass kleine RNAs selbst als Therapeutikum eingesetzt werden können.

Sicher werde es „einige Therapieerfolge“ geben, glaubt Andrew Fire. Es lohne sich, in RNAi zu investieren, darüber dürfe man andere Anstrengungen jedoch nicht vernachlässigen. So denkt auch Volker Erdmann, RNA-Experte der Freien Universität Berlin: „Von der RNA-Welt ist noch mehr zu erwarten als RNAi.“ 65 000 RNA-Moleküle, die nicht in Proteine übersetzt werden, soll es allein in der Maus geben. Niemand weiß bislang, welches Potenzial darin steckt, sagt der Gründer des deutschen RiNA-Netzwerks, das neben RNAi auch andere auf Ribonukleinsäuren beruhende Technologien entwickelt.

## OB RNAi-THERAPIE FUNKTIONIERT, IST UNKLAR – VIEL- LEICHT STÖRT SIE DIE ZELLCHEMIE

Für Unternehmen mit Konkurrenz-Technologien ist es indes schwer, nicht in der Begeisterung für RNAi unterzugehen. Dabei scheint RNAi nicht einmal den direkten Konkurrenten des Knock-downs, den Knock-out von Genen bei Mäusen, ersetzen zu können, obwohl die Methode um rund 80 Prozent billiger ist. „Es könnte sein, dass die RNAi den Knock-out-Firmen eher zugute kommt, wenn sie die neue Technologie rechtzeitig angehen“, sagt Jörg Pötzsch, Geschäftsführer von RNAX, einem Spin-off des Berliner Max-Planck-Instituts für Infektionsbiologie, das ähnlich wie Cenix Fließband-RNAi als Dienstleistung für Unternehmen anbietet. Denn RNAi könne preiswert abklären, ob sich die Investition in eine Knock-out-Maus überhaupt lohne. Davor seien viele potenzielle Kunden bisher zurückgeschreckt.

Die Methode RNAi zieht in die Labors und Kliniken der Welt ein, auch wenn wesentliche Teile des Prozesses noch immer nicht verstanden sind. „Das Aufregendste an der RNAi ist nicht das, was wir schon wissen, sondern dass wir immer noch nicht absehen können, wo die Grenzen dieses Phänomens liegen“, sagt Gregory Hannon. Von einem Paradigmenwechsel will er jedoch nicht sprechen. „Es ist nicht so, dass nach der DNA jetzt plötzlich die RNA im Mittelpunkt steht.“ Noch immer gelte das zentrale Dogma: erst DNA, dann RNA, dann Protein. „Aber in ein paar Jahren werden Studenten gar nicht mehr verstehen, wie man Genetik ohne RNAi machen konnte. So wie heute Literaturarbeit ohne Internet oder Molekularbiologie ohne Polymerase-Kettenreaktion unvorstellbar ist.“

**UND DANN IST DA NOCH** die Sache mit dem Nobelpreis. In Forscherkreisen heißt es, dass Andrew Fire längst nominiert sein müsste. Der Biologe wehrt ab: „Ich habe schon mehr Ehrungen für diese Sache bekommen, als ich wahrscheinlich verdiene.“ Vermutlich ist ihm bewusst, dass er sich dann die Pressefotografen nicht mehr vom Leib halten könnte. Denn fotografieren lässt sich Andrew Fire aus Prinzip nicht mehr. Seit nämlich ein Foto von ihm aus den Achtzigern, das eigentlich nur für eine Uni-Zeitschrift gedacht war, in einem italienischen Mode-Magazin erschien – als Beispiel für das typische Outfit von Forschern. 

### LINKS ZUM THEMA

<http://www.nature.com/focus/rnai/animations/index.html>

Animationsfilme erklären, wie RNA-Interferenz funktioniert. Dazu bietet das Fachmagazin „Nature“ ein Web-Special zum Thema RNAi

<http://www.bio.unc.edu/faculty/goldstein/lab/movies.html#ND>

Entwicklung und RNAi-Screens am Fadenwurm *C. elegans*

<http://www.imb-jena.de/RNA.html> Datenbank und Linkliste des Instituts für Molekulare Biotechnologie (IMB) in Jena

[http://www.orbigen.com/RNAi\\_Orbigen.html](http://www.orbigen.com/RNAi_Orbigen.html) Täglich aktualisierte internationale Publikationsliste

<http://www.flyrnai.org> RNAi-Screening-Center an der Harvard Medical School, Schwerpunkt: die Fliege *Drosophila melanogaster*

<http://c.elegans.tripod.com/RNAi.htm> RNAi-Linksammlung für Fadenwurmforscher und andere Interessierte