

ALEXANDER HECKEL, INSTITUT FÜR ORGANISCHE CHEMIE  
UND CHEMISCHE BIOLOGIE, INSTITUT FÜR  
PHARMAZEUTISCHE CHEMIE

## Lichtaktivierbare Nukleinsäuren und DNA-Nanoarchitekturen

### STEUERUNG VON GENEXPRESSION UND PROTEINEN MIT LICHT

Die Genauigkeit, mit der wir der Natur in Form von Experimenten Fragen stellen können, bestimmt die Genauigkeit der Antworten. Bei *in vitro* Studien untersuchen wir Teile eines lebenden Systems – isoliert von der natürlichen Umgebung. Derartige Untersuchungen sind hervorragend, um ein Phänomen ohne die Einflüsse seiner Umgebung zu studieren. Aber oft ist gerade die Umgebung für „biologische Systeme“ bedeutsam.

Um diese komplexen biologischen Systeme zu untersuchen, wäre es vorteilhaft, wenn man sie in einen definierten Ausgangszustand versetzen und dann – gewissermaßen auf Knopfdruck – einen Prozess auslösen könnte. Dann könnte man das Verhalten des gesamten Systems beobachten. Gleichzeitig ist es auch von Interesse, wo in einem biologischen System ein Prozess stattfindet. Genau bei diesen räumlichen und zeitlichen Fragestellungen sind Induktionsmethoden – also Methoden, die einen bestimmten biologischen Vorgang auslösen – von unschätzbarem Wert.

Auch wenn wir bereits eine ganze Reihe möglicher Startsignale kennen – Licht ist etwas ganz besonderes: Man kann es erstens auf einfache Weise erzeugen und manipulieren; Zweitens sind viele biologische Modellorganismen wie Fruchtfliege, Fadenwurm oder Zebrafisch zumindest teilweise transparent und damit per Licht erreichbar. Aber auch in höheren Organismen ist dies mit etablierten Licht-Technologien möglich. Drittens sind bei richtiger Anwendung phototoxische Effekte vermeidbar. Am wichtigsten jedoch ist die Tatsache, dass die Mehrzahl biologischer Systeme normalerweise nicht auf Licht reagiert. Daher kann man in der Regel Ort und Zeit der Bestrahlung frei wählen. Sogar das Ausmaß des in Gang gesetzten Effektes lässt sich durch die gewählte Lichtmenge potentiell regulieren.

DNA und RNA lassen sich für eine ganze Reihe interessanter Anwendungen nutzen – etwa zur Regulation von Genexpression und Proteinfunktion. Um diese Methoden lichtinduzierbar zu machen, verändern

ALEXANDER HECKEL, INSTITUTE OF ORGANIC CHEMISTRY  
AND CHEMICAL BIOLOGY, INSTITUTE OF  
PHARMACEUTICAL CHEMISTRY

## Lightactivatable Nucleic Acids and DNA-Nanoarchitectures

### REGULATION OF GENE EXPRESSION AND OF PROTEIN FUNCTION WITH LIGHT

When we study nature in the form of experiments the answers we get can only be as precise as we are able to ask the question. In *in vitro* studies we investigate a part of a living system – isolated from its natural environment. While these kinds of studies can be formidable tools to investigate a phenomenon excluding the influence of its context it is often exactly in this context that the phenomenon becomes meaningful for “biological systems”.

Such biological systems are complex by definition and it would be desirable to prepare the system in a certain state and then - at the touch of a button - be able to trigger a process and see how the entire system behaves. Also in biological systems it is very often important where something happens. Hence spatially addressable questions become equally important. It is exactly in these spatiotemporal contexts in living systems – but not only there – where induction methods for biological processes become interesting.

While there are quite a number of inducible systems known, light is an exquisite trigger signal. First of all it can be easily generated and manipulated with a huge set of well-established technologies – like for example laser light sources and microscopes or endoscopes. Secondly, many of the biological systems which are currently studied are light accessible like for example the commonly used model organisms fruit fly, nematode worm or zebrafish. Even in higher organisms many external or internal surfaces can be reached with established technologies. Thirdly, if applied well it is possible to avoid phototoxic effects. But most importantly light is an orthogonal trigger since the majority of biological systems do not already react to light themselves. Hence it can be applied at a time of arbitrary choice to a region which is freely selectable and the magnitude of the stimulus can be controlled by carefully adjusting the light dose.

DNA and RNA can be used for a variety of powerful applications today like the regulation of gene expression or of protein function. To

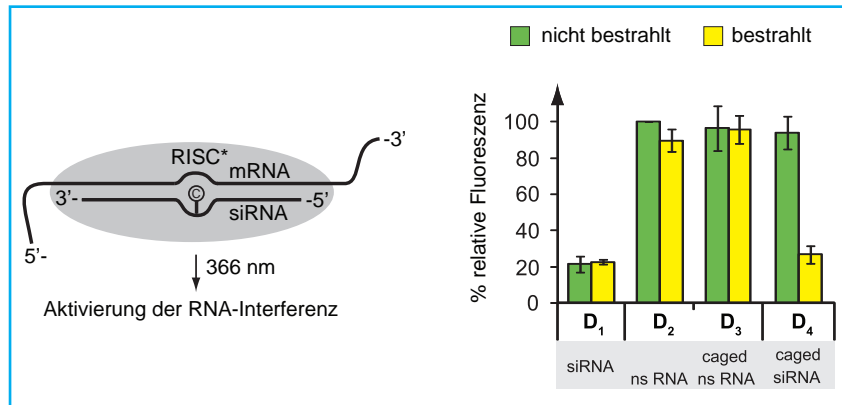


Abbildung 1. Eine „caged siRNA“ ist inaktiv und kann durch Lichtbestrahlung aktiviert werden. Deshalb kann man sie für orts- und zeitaufgelöste Genregulation verwenden.

Figure 1. A “caged siRNA” is inactive until it is irradiated with light. Hence it can be used for the spatio-temporal regulation of gene expression.



wir DNA und RNA, so dass sie vorübergehend inaktiv werden. Mit der sehr modernen Methode der RNA-Interferenz (RNAi) kann man die Genexpression regulieren. Die zentralen Spieler sind hierbei die so genannten siRNAs. Es ist uns gelungen, so genannte „caged siRNAs“ herzustellen und in Zellen zu bringen. Diese siRNAs werden erst durch Bestrahlung mit Licht aktiv. Unser Verfahren kann auf eine Vielzahl von Nukleinsäure-basierten Methoden angewendet werden. So können wir beispielsweise auch Aptamere mit Licht an- oder ausschalten und damit Proteinfunktionen regulieren.

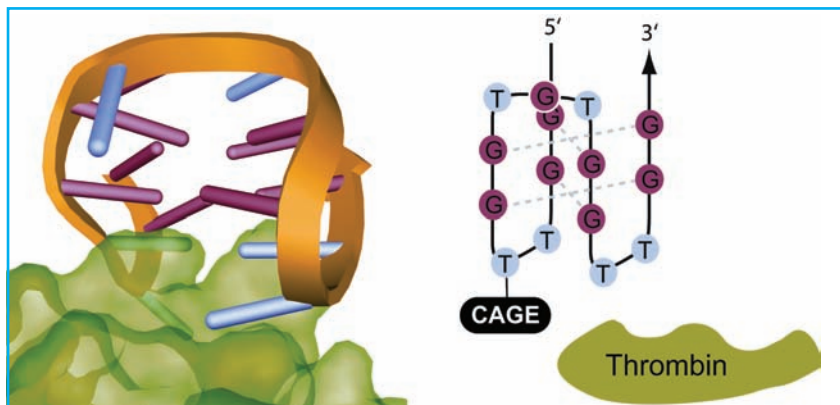


Abbildung 2. Aptamere sind Nucleinsäuren, die z.B. an Proteine binden können und diese inhibieren. Durch das Anbringen von photolabilen Gruppen an Aptamere kann diese Regulation der Proteinfunktion mit Licht kontrolliert werden.

Figure 2. Aptamers are nucleic acids that can for example bind to and inhibit proteins. Via the attachment of photolabile groups to aptamers this regulation of protein function can be controlled with light.

generality of our modification approach many other applications are also possible. Thus we can for example also regulate aptamers with light and the aptamer technology is a very versatile tool to regulate protein function.

harness the power of light as trigger signal we modify DNA and RNA in such a way that they become “dormant”. For example RNA interference is a very modern and versatile way to regulate genes and the key players are so-called siRNAs. We could show that with our approach we can produce “caged” siRNAs which can then be introduced into cells. Only where the cells were irradiated with light did the siRNAs become active and regulated the expression of a gene. Due to the

## DNA-ARCHITEKTUR

DNA ist nicht nur der Informationsspeicher der Natur, sondern kann auch als Baumaterial auf der Nanometerebene verwendet werden. Vorteile sind dabei, dass DNA sehr gut bekannte Strukturen ausbildet und dass über die Watson-Crick-Basenpaarung Wechselwirkungen von Einzelsträngen z.B. über „klebrige Enden“ gewissermaßen vorprogrammiert werden können. Doppelsträngige DNA verhält sich ähnlich wie ein Wollfaden. Daher liegt es nahe, dass bisherige DNA-Architekturen quasi „gestrickt“ werden. Dies ist jedoch ein komplizierter Prozess und die damit erreichbaren Strukturen sind in der Regel wenig formstabil. Wir verwenden zur Herstellung von DNA-Nanostrukturen weitere Elemente der sequenzspezifischen Erkennung, wie etwa DNA-bindende Polyamide. Dadurch gelingt es uns, kleinere DNA-Objekte sequenzspezifisch aneinander zu kleben um neue Strukturen zu erhalten.

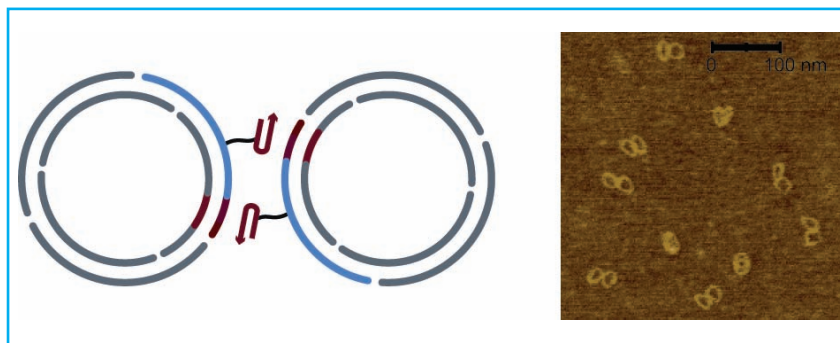


Abbildung 3. Zwei doppelsträngige DNA-Ringe aus 168 Basenpaaren können sequenzspezifisch über zwei „Polyamid-Anker“ verknüpft werden (links: schematische Darstellung, rechts: rasterkraft-mikroskopische Aufnahme)

Figure 3. Two double-stranded DNA rings with 168 base pairs can be sequence-specifically glued together using “polyamide anchors” (left: schematic representation, right: atomic force microscope image).

commonly used approach is similar to knitting. This is a complicated process and the structures that can be built this way are usually very soft. In our approach we introduce other elements of sequence-selective interaction like for example DNA-binding polyamides. We could show that this approach can be used to sequence-selectively glue smaller DNA objects together and obtain new structures.

DNA is not only nature's storage medium for information but also a very useful building material on the nanometer scale. Advantages are that it forms well-known structures and that the interaction of single strands can be programmed for example using the Watson-Crick base pairing interaction. Double-stranded DNA behaves similarly to a thread of wool. Consequently, in order to build objects the

## LITERATUR / REFERENCES

- [1] Mikat, V., Heckel, A. (2007) Light-Dependent RNA Interference with Nucleo-base-Caged siRNAs RNA 13, 2341-2347.
- [2] Heckel, A., Buff, M. C. R., Raddatz, M. S. L., Müller, J., Pötzsch, B., Mayer, G. (2006) An Anticoagulant with Light-Triggered Antidote Activity Angew. Chem. 118, 6900-6902; Angew. Chem. Int. Ed. 45, 6748-6750.
- [3] Mayer, G., Heckel, A. (2006) Biologically Active Molecules with a "Light Switch" Angew. Chem. 118, 5020-5042; Angew. Chem. Int. Ed. 45, 4900-4921.
- [4] Mayer, G., Heckel, A. (2005) Light-Regulation of Aptamer Activity: An Anti-Thrombin Aptamer with Caged Thymidine Residues J. Am. Chem. Soc. 127, 822-823.
- [5] Schmidt, T. L., Nandi, C., Rasched, G., Parui, P. P., Brutschy, B., Famulok, M., Heckel A. (2007) Polyamide Struts for DNA Architectures Angew. Chem. 119, 4460-4462; Angew. Chem. Int. Ed. 46, 4382-4384.

## KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Alexander Heckel

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie  
 Institut für Organische Chemie und Chemische Biologie sowie  
 Institut für Pharmazeutische Chemie  
 Max-von-Laue-Str. 9  
 D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29822  
 Fax: ++49 (0)69 798-29831  
 E-Mail: heckel@uni-frankfurt.de  
<http://www.uni-frankfurt.de/~heckel>

## Auf einen Blick: sanofi-aventis

## Ein führendes forschendes Pharmaunternehmen in Deutschland



Die Sanofi-Aventis Deutschland GmbH ist die deutsche Landesgesellschaft eines der global führenden Pharmaunternehmen. Die Gruppe beschäftigt weltweit rund 100.000 Mitarbeiter, davon etwa 10.000 in

Deutschland. Sanofi-aventis hält starke Marktpositionen in den Regionen Nordamerika, Europa und Asien. Kerngeschäft sind innovative verschreibungspflichtige Originalpräparate für die Therapie (Arzneimittel) und Vorsorge (Impfstoffe) schwerwiegender, weit verbreiteter Krankheiten. Aber auch Generika und Medizinprodukte gehören zum Produktportfolio des Gesundheitskonzerns.

Frankfurt ist ein strategischer Forschungsstandort der sanofi-aventis Gruppe und der einzige konzernweit, der lückenlos alle Schritte der Wirkstoffforschung und -entwicklung umfasst von der funktionalen Genomanalyse bis hin zur klinischen Entwicklung.

Die Forschung fokussiert auf drei Schwerpunkte:

- Herz-Kreislaufkrankheiten (wie Herzinfarkt, Herzrhythmusstörungen, Ischämie)
- Thrombotische Erkrankungen und degenerative Gelenkerkrankungen (wie Osteoarthritis)

- Stoffwechselstörungen und Diabetes.

Darüber hinaus ist Frankfurt-Höchst in zahlreichen gemeinsamen Forschungsprojekten mit den anderen Forschungsstandorten der sanofi-aventis Gruppe weltweit vernetzt. Die eigenen Forschungsaktivitäten werden durch die Zusammenarbeit mit erstklassigen Forschungsinstituten im Universitätsbereich sowie mit Biotechnik-Unternehmen ergänzt.

Im Jahr 2008 hat die Sanofi-Aventis Deutschland GmbH rund 600 Millionen Euro der gesamten Konzernaufwendungen für Forschung und Entwicklung getragen. Darüber hinaus wurden Forschungseinrichtungen modernisiert und erweitert. Eine über dem Branchendurchschnitt liegende Zahl an neuen Entwicklungskandidaten unterstreicht die hohe Produktivität des Standorts und seiner rund 1.900 Mitarbeiter in der Forschung und Entwicklung.

Weitere Informationen im Internet:

[www.sanofi-aventis.de/](http://www.sanofi-aventis.de/)  
**Karriere**

**sanofi aventis**  
 Das Wichtigste ist die Gesundheit

