

## Forschungsschwerpunkte – Prof. Dr. Claudia Höbartner

---

Die Forschungsschwerpunkte von Claudia Höbartner liegen im Bereich der organischen und biomolekularen Chemie der Nucleinsäuren DNA und RNA. Ein besonderes Augenmerk gilt den funktionalen Nucleinsäuren mit katalytischer Aktivität und der Synthese von chemisch modifizierten Nucleotiden.

Enzyme sind in erster Linie als katalytisch aktive Proteine bekannt. Enzyme, die aus RNA bestehen, werden Ribozyme genannt und solche aus DNA nennt man Desoxyribozyme oder DNA-Enzyme. Die ersten natürlichen Ribozyme wurden vor etwa 40 Jahren entdeckt, aber DNA-Enzyme gibt es bisher nur aus dem Labor. Durch molekulare In-vitro-Evolution können im Labor neue Ribozyme und DNA-Enzyme entwickelt werden. Dabei handelt es sich um einzelsträngige Nucleinsäuren mit definierter Sequenz der Bausteine Adenosin, Cytidin, Guanosin und Uridin, vergleichbar mit einem langen Wort mit einer festgelegten Abfolge der vier wiederkehrenden Buchstaben A, C, G und U. Die Reihenfolge der Bausteine bestimmt die Faltung der Stränge zu einer dreidimensionalen Struktur, in der sich ein aktives Zentrum ausbildet, um eine bestimmte chemische Reaktion zu beschleunigen. Welche Strukturen und Sequenzen für die Katalyse benötigt werden, lässt sich jedoch nicht vorhersagen, weshalb die aktiven Ribozyme experimentell aus Zufallsbibliotheken angereichert und durch In-vitro-Evolution optimiert werden.

Neben der Entwicklung neuer Ribozyme bildet auch die Aufklärung der RNA-Strukturen und Katalysemechanismen einen wichtigen Schwerpunkt der Nucleinsäureforschung. Ein bedeutender Beitrag von Claudia Höbartner zur Chemie katalytisch aktiver Nucleinsäuren war der Bericht der ersten Struktur eines DNA-Enzyms, das die Ligation von RNA katalysiert, also zwei RNA-Stränge kovalent miteinander verknüpft. Diese Arbeit zeigte, dass DNA ähnliche dreidimensionale Strukturelemente verwenden kann wie RNA. Die Struktur ermöglichte auch die Weiterentwicklung des DNA-Enzyms als allgemeines Werkzeug zur RNA-Ligation. Darauf bauten zahlreiche weitere Arbeiten auf, in denen neue Ribozyme durch In-vitro-Evolution gewonnen wurden, insbesondere zur bioorthogonalen Markierung von RNA. In einer neueren Arbeit wurden dazu Derivate von antiviralen Nucleosiden als Substrate eingesetzt, und die erhaltenen Ribozyme können auch für die Anwendung an natürlicher RNA programmiert werden.

Die Natur verwendet nicht nur die vier grundlegenden Bausteine des genetischen Codes (A, C, G und U), sondern dekoriert diese mit kleinen chemischen Veränderungen, sogenannten RNA-Modifikationen oder chemisch modifizierten Nucleotiden. Diese sind für die vielfältigen Funktionen von natürlichen RNAs unerlässlich, und manche davon sind in der Evolution hoch konserviert. Grundlegende Fragen beschäftigen sich mit den frühen Funktionen von RNA sowohl als Speicher der genetischen Information als auch deren Überträger sowie mit der Entstehung modifizierter Nucleotide und deren Bedeutung für die Struktur und Funktion von Nucleinsäuren. Modifizierte Nucleotide spielen außerdem eine wichtige Rolle in der modernen medizinischen Forschung, z. B. als antivirale Wirkstoffe und als Bausteine für RNA-basierte Therapeutika.

Einer der Höhepunkte aus der Forschung von Claudia Höbartner an der Universität Würzburg war der Bericht eines Ribozyms, das eine natürliche RNA-Modifikation synthetisiert: Ihrem Arbeitskreis gelang die Entwicklung des ersten Methyltransferase-Ribozyms. Das im Labor durch In-vitro-Evolution erhaltene Ribozym ermöglicht die Übertragung einer Methylgruppe von einem kleinen Molekül auf eine genau definierte Stelle in einer Ziel-RNA. In der Natur sind methylierte Nucleotide in RNA evolutionär hoch konserviert, und werden in allen bekannten biologischen Systemen durch Proteinenzyme synthetisiert. Diese verwenden häufig Nucleosidhaltige Cofaktoren, wie z. B. S-Adenosylmethionin, das aus einem Nucleosid und einer Aminosäure besteht. Methylierte Nucleoside werden auch als „molekulare Fossile“ aus der „RNA-Welt“ betrachtet, in der RNA-Strukturen sowohl als genetisches Material als auch als Enzyme fungiert haben könnten. Daher könnten synthetische Cofaktor-abhängige Methyltransferase-Ribozyme auch zum Verständnis der chemischen Evolution beitragen. Auch dazu ist die Strukturaufklärung der Ribozyme notwendig, um deren molekulare Funktionsweise zu verstehen. Für das Methyltransferase-Ribozym konnte die Kristallstruktur kürzlich gelöst werden und das aktive Zentrum lieferte erstaunliche Ähnlichkeiten zur Struktur natürlicher regulatorischer RNAs. Außerdem eröffnete die Struktur Einblicke in einen unerwarteten Mechanismus, an dem eine protonierte Nucleobase beteiligt ist. Eine weitere drastische Verbesserung der Reaktionsgeschwindigkeit wurde durch zwei modifizierte Nucleotide im aktiven Zentrum gefunden.

Neben dem Einbau von natürlichen Modifikationen widmet sich ein weiteres Teilgebiet der Forschung von Claudia Höbartner der Markierung von Nucleinsäuren mit fluoreszierenden Farbstoffen. Dazu werden farbige Nucleosid-Derivate synthetisiert und mittels Festphasensynthese kovalent in RNA oder DNA eingebaut. Durch die Watson-Crick-Basenpaarung und die Basenstapelung können die Farbstoffe gezielt orientiert werden, wodurch auch deren Wechselwirkung gesteuert werden kann.

In einem anderen Ansatz kommen nichtkovalent gebundene Farbstoffe zum Einsatz, die in spezifische Bindungstaschen in strukturierten RNAs passen und durch die Anregung mit Licht zum Leuchten gebracht werden. Diese sogenannten fluorogenen RNA-Aptamere sind für die RNA-Forschung so wichtig wie das grün-fluoreszierende Protein (GFP) für die Zellbiologie. Sie können u. a. zum Nachweis von RNA und auch für die Mikroskopie eingesetzt werden. Das in der Arbeitsgruppe Höbartner erforschte RNA-Aptamer wurde „Chili“ getauft, weil es sowohl grüne und gelbe als auch rötlich leuchtende RNA-Komplexe ausbilden kann. Mithilfe kristallografischer und spektroskopischer Analysen wurde der Mechanismus der Fluoreszenzaktivierung aufgeklärt und eine bis dahin nicht bekannte Protonenübertragung aus dem angeregten Zustand des Liganden auf die RNA entschlüsselt. Solch grundlegenden Erkenntnisse sind notwendig für die Weiterentwicklung der Aptamere, um z. B. die Stabilität und die Helligkeit zu verbessern.

Die Synthese markierter Nucleoside und modifizierter RNAs ist auch für die medizinische Forschung relevant. Claudia Höbartner hat mit ihrer Arbeitsgruppe bereits zahlreiche modifizierte RNAs hergestellt, die zur Aufklärung der Wirkmechanismen antiviraler Nucleosidwirkstoffe (Remdesivir und Molnupiravir) beigetragen haben. Die Erkenntnisse daraus und die Möglichkeiten, die sich aus der Entwicklung neuer Ribozyme zur Modifikation von RNA ergeben, werden zukünftig auch das Forschungsgebiet der therapeutischen RNAs voranbringen können.