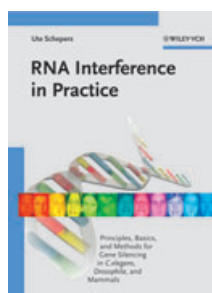


RNA Interference in Practice



Principles, Basics, and Methods for Gene Silencing in *C. elegans*, *Drosophila*, and Mammals. Von Ute Schepers. Wiley-VCH, Weinheim 2004. 326 S., geb., 99.00 €.—ISBN 3-527-31020-7

In den vergangenen Jahren wurden zunehmend neue Funktionen von RNA-Molekülen in der Zelle identifiziert. Neben ihrer Funktion als „Übersetzer“ zwischen DNA und Protein haben RNA-Moleküle katalytische Funktionen in der Proteinsynthese sowie Funktionen bei der Prozessierung anderer RNA-Moleküle und der Expression von Protein-codierenden Genen. Trotz einer nur geringfügig größeren Zahl Protein-codierender Gene sind solche nichtcodierenden RNAs (ncRNAs; non-coding RNAs) möglicherweise der Grund für die hohe Komplexität von Säugerorganismen verglichen mit „niederen Organismen“.

RNA Interference in Practice beschäftigt sich schwerpunktmäßig mit einer Unterklasse der ncRNAs, nämlich den „short interfering“ RNAs (siRNAs). siRNAs sind in der Lage, die Expression eines Zielgens in eukaryotischen Zellen durch einen als RNA-Interferenz (RNAi) bezeichneten Mechanismus herunterzuregulieren. Gemeinsame Merkmale der siRNAs und der verwandten Klasse der microRNAs (miRNAs) sind ihre Größe von ungefähr 21 Nucleotiden und ihr ähnlicher Bildungsmechanismus. siRNAs und miRNAs werden durch das RNase-III-ähnliche Enzym Dicer aus längeren, doppelsträngigen RNA-Vorstufen herausgeschnitten. Allgemein wird angenommen, dass sich die RNAi-Maschinerie im Laufe der Evolution als Abwehrsystem gegen RNA-Viren, Transposons und Retroelemente entwickelt hat. siRNAs sind die Schlüsselmoleküle für die basenspezifische Erkennung und Spaltung von Messenger-RNA (mRNA), wobei das eigentliche Agens nicht das siRNA-Molekül selbst, son-

dern ein als RISC (RNA-induced silencing complex) bezeichneter siRNA-Protein-Komplex ist. Der RISC erkennt die Ziel-mRNA sequenzspezifisch und spaltet sie in einer von der siRNA abhängigen Weise. Erst kürzlich wurde die für die Spaltung der mRNA erforderliche Endonuclease als ein integraler Bestandteil des RISC identifiziert („argonaute protein“, ago2).

Das Buch behandelt vorrangig die praktische Anwendung der RNAi-Technik zum gezielten Gen-Silencing im Tiermodell. Die grundlegenden Konzepte werden zunächst in einem einführenden Kapitel ausführlich erklärt. Dieses berücksichtigt die meisten aktuellen Veröffentlichungen und dürfte eine spezialisierte und eine allgemeine Leserschaft gleichermaßen ansprechen. In den folgenden drei Kapiteln werden RNAi-Techniken für Untersuchungen am Fadenwurm *Caenorhabditis elegans*, an der Fliege *Drosophila* und an Säugerzellen vorgestellt. Der größte Vorteil der RNAi-Technik gegenüber Gen-Knockout-Techniken ist der geringe Aufwand an Zeit und Material bei der Untersuchung Protein-codierender Gene. Eine der Stärken dieses Buches sind die detaillierten Versuchsprotokolle, die es ermöglichen, auch ohne vertiefte Kenntnisse über RNAs von der RNAi-Technik Gebrauch zu machen.

Das Kapitel 4 behandelt sehr ausführlich die RNA-Interferenz in Säugerzellkulturen und in Mäusen, wobei auch moderne Methoden zur Einführung von siRNAs in Säugerzellen präsentiert werden. Die Begeisterung für die RNAi-Technik erhielt kürzlich einen Dämpfer, als bekannt wurde, dass in manchen Fällen neben dem Zielgen auch andere Gene ausgeschaltet werden können. Diese Probleme wie auch mögliche Lösungen durch ein sorgfältiges siRNA-Design werden eingehend erörtert. Es ist allerdings nicht klar, warum die Methoden des siRNA-Designs lediglich im Kapitel „RNAi in mammals“ erwähnt werden, denn für andere Modellsysteme sind sie ebenso wichtig. Sehr praktisch sind die am Ende jedes Kapitels aufgenommenen Listen mit einschlägigen Internetadressen und Anbietern von RNAi-Chemikalien.

RNA Interference in Practice ist eine wertvolle Ergänzung für jede molekular- oder zellbiologische Bibliothek.

Für Forscher, die sich mit Pflanzensystemen beschäftigen, ist das Buch allerdings von geringerem Nutzen, da dieser Bereich nicht behandelt wird. Die Literatur ist nicht in jedem Detail auf dem allerneuesten Stand, was bei einem sich derart rasch entwickelnden Gebiet auch nur schwer möglich ist. Trotz dieser wenigen Kritikpunkte ist es ein faszinierendes Buch, das ich jedem empfehlen kann, der eine Anwendung der RNAi-Technik beabsichtigt. Darüber hinaus kann es als wertvolle Grundlage zur Vorbereitung methodenorientierter Vorlesungen dienen.

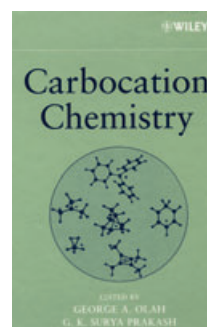
Norbert Polacek

Innsbruck Biocenter

Division of Genomics and RNomics

Innsbruck Medical University (Österreich)

Carbocation Chemistry



Herausgegeben von George A. Olah und G. K. Surya Prakash. Wiley-Interscience, New York 2004. 400 S., geb., 92.90 €.—ISBN 0-471-28490-4

In den Jahren 1901/02 entdeckten Norris und Wentzel in den USA sowie Baeyer in Deutschland stabile Triphenylmethyl-Kationen in konz. Schwefelsäure. Das vorliegende Buch stellt aus diesem Anlass Höhepunkte der Konferenz „100 Jahre Carbokationen“ zusammen, die im Januar 2001 an George Olahs Loker Hydrocarbon Research Institute in Los Angeles stattfand. In 14 Kapiteln wird der gegenwärtige Stand der Chemie der Carbokationen referiert, wobei eine Auswahl hinsichtlich der Aktualität getroffen wurde. Sowohl der interessierte Student als auch der Spezialist erfährt aus kompetenter Hand, was sich auf diesem Gebiet in den letzten zwei Dekaden bewegt hat.

Nach einer historischen Übersicht von P. Stang berichtet G. A. Olah über seine bahnbrechenden Arbeiten zu stabilen Carbokationen in supersauren Lösungsmitteln, die zum Nobelpreis im Jahre 1994 führten. Auf eine überaus spannende Weise zeigt Olah auf, wie durch das Arsenal spektroskopischer Methoden in Kombination mit Ab-initio-Rechnungen die Existenz von nichtklassischen und klassischen Carbokationen abgeleitet werden konnte. Angaben zu den neuesten Entwicklungen in der Chemie der Carbokationen mit dem Schwerpunkt auf Carbodikationen erhält man in der Übersicht von G. K. S. Prakash und V. P. Reddy. Eine wichtige Methode, um zwischen einem statischen Carbokation und einem schnellen Gleichgewicht entarteter Kationen in supersaurer Lösung zu unterscheiden, ist die Isotopen-Störungs-methode. M. Saunders hat das Verfahren mithilfe der ^{13}C -Spektroskopie entwickelt; die Übersicht mit O. Kronja fasst auch neuere Ergebnisse informativ zusammen.

Es sei erwähnt, dass die uns bekannten persistenten Carbokationen nicht ausschließlich in den bekannten amerikanischen Schulen untersucht werden, wie die hier präsentierten Ergebnisse von V. G. Shubin und G. I. Borodkin zeigen. Ebenfalls aus Russland kommt das Kapitel über perfluorierte Carbokationen von V. D. Shteingarts, der über die stabilisierenden und destabilisierenden Effekte von Fluorsubstituenten ausführlich berichtet. Damit liegen jetzt zwei englischsprachige Beiträge von führenden russischen Chemikern vor. In Frankreich befassen sich zwei Arbeitsgruppen mit der Chemie von persistenten Carbokationen: Im Beitrag von J. Sommer und A. Goeppert erfährt man neue Ergebnisse zu den Protonierungsgleichgewichten von Alkanen in flüssigen und festen Supersäuren, und J. C. Jacquesy zeigt das Potenzial von supersauren Systemen für Synthesen auf. Der Beitrag von K. K. Laali versucht einen Zusammenhang herzustellen zwischen der bekannten Cancerogenität und Mutagenität von polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen und den ^{13}C -Spektren der entsprechenden Dihydroaryl-Kationen. Ein interessanter Ansatz, der aber derzeit noch kein

eindeutiges Ergebnis zur Lösung des Problems liefert.

Die Bedeutung der Theorie und speziell von Ab-initio-Rechnungen zur Erklärung der Eigenschaften von Carbokationen wird in den meisten Beiträgen deutlich. In der Übersicht von P. von R. Schleyer mit C. S. Wannere und Z. Chen wird der ionische Charakter von Zwitterionen bei Carbokationen mit dem NBO-Verfahren abgeschätzt. Wichtig ist auch die Kombination von Theorie und Praxis beim Cyclopentadienyl-Kation mit vier π -Elektronen; dessen antiaromatischer Charakter wurde zuerst durch Roberts 1952 vorhergesagt und dann durch experimentelle Arbeiten von Breslow bestätigt. Die Übersicht von T. T. Tidwell und A. D. Allen ist ein lesenswerter Beitrag zu diesem Thema. Laut Röntgenstrukturanalyse hat das unsubstituierte Kation eine quadratisch-pyramidale Struktur. Der Vorschlag einer planaren Struktur des Tetramethylderivats durch Lambert 2002 erwies sich als falsch, denn es handelte sich um ein Derivat des Cyclopentenyl-Kations. Der Anti-Hückel-Aromat ist Rechnungen zufolge $31.2 \text{ kcal mol}^{-1}$ weniger stabil als das Cyclopentenyl-Kation und liegt im Grundzustand als Triplett vor. Auch die berechneten NICS-Werte zeigen eine deutliche Destabilisierung, was sich in einer stark verringerten Reaktivität (Solvolysengeschwindigkeit) von Derivaten des solvolytisch erzeugten Kations dieses Typs zeigt. Die Homologen des Kations (Indenyl- und Fluorenyl-Kationen und -Radikale) wurden jetzt ausführlich untersucht. Eine ganz andere Art der Destabilisierung bzw. Stabilisierung von Carbokationen beruht auf der Koordination mit Metallkomplexen. Veranschaulicht wird dieses Prinzip anhand der Komplexbildung des Aromaten Teils der beiden Kationen 2- und 7-Benzonorbornenyl durch $[\text{Cr}(\text{CO})_3]$ (Beitrag von B. N. Hietbrink, D. J. Tantillo, K. N. Houk, C. A. Merlic).

Ein neues Kapitel im Bereich nicht-klassischer Carbokationen schlagen H. Schmidbaur und K. A. Porter mit ihrem Beitrag über Carbokationen in der Goldchemie auf. In Schmidbaur's Arbeitsgruppe wurde seit 1990 eine Reihe stabiler penta- und hexavalenter Carbokationen vom Typ $[\text{C}(\text{AuL})_5]^+$ und $[\text{C}(\text{AuL})_6]^{2+}$ (Gold in der Oxi-

stionsstufe +1; Liganden L meist Phosphane) in Form stabiler Salze hergestellt und unter anderem mit ^{197}Au -Mößbauer-Spektroskopie strukturell charakterisiert. Die Spezies, isolobale Analoge von CH_5^+ und CH_6^{2+} , sind meist durch aurophile Wechselwirkungen stabilisiert.

H. Mayr berichtet mit A. R. Ofial über systematische Untersuchungen zum Einsatz von Carbokationen in der organischen Synthese. Den Ergebnissen nach lässt sich die Reaktivität vieler polarer Reaktionen durch eine Lineare-Freie-Energie-Beziehung unter Verwendung von Elektrophilie- und Nucleophilie-Parametern beschreiben. Es gelingt, Geschwindigkeitskonstanten zweiter Ordnung bei Raumtemperatur im Bereich von etwa 25 Zehnerpotenzen (!) vorherzusagen. Bis dahin war es allerdings ein langer und schwieriger Weg: Zunächst wurde für 209 Reaktionen von 23 Benzhydryl-Kationen mit 39 Kohlenstoff-Nucleophilen (aktivierte Doppelbindungen) die LFE-Beziehung bestimmt und die Korrelation dann auf andere Nucleophile (Carbanionen, Amine und Hydrid-Donoren) und auf reaktive aliphatische Carbokationen übertragen und erweitert. Elektrophilie und Nucleophilie sind normierte, allgemeine und inverse Größen in der linearen Gleichung.

Fazit: Ein gelungenes Buch, das in keiner guten Fachbibliothek fehlen sollte und das deutlich macht, dass das Gebiet der Carbokationen weiterhin aktuell ist. Der Fachmann vermisst vielleicht einen Beitrag über Einkristall-Röntgenstrukturanalysen aliphatischer Carbokationen oder zur Strukturbestimmung neuer aromatischer π - und σ -Komplexe, auch zu Vinylkationen hätte ich einen Beitrag erwartet. Das Buch schließt mit einem Themenindex – ein Autorenverzeichnis fehlt leider –, es hat wenig Fehler und verwendet einheitliche und übersichtliche Formeln. Die relevante Literatur wird meist bis Mitte 2004 zitiert: Die Autoren des Buchs referieren den neuesten Stand ihres Gebietes.

Dieter Lenoir

Institut für Ökologische Chemie
GSF Forschungszentrum
Oberschleißheim

DOI: 10.1002/ange.200285277