

## Startpunkte für die Kontrolle der Proteinsynthese

**Das Forschungsfeld der „zellulären IRESes“ lag Jahre brach, da es keinen einheitlichen Standard an zuverlässigen Methoden zur Charakterisierung von diesen Startpunkten für die Ribosomen-vermittelte Kontrolle der Genexpression gab. Forschende des Universitätsklinikums Bonn (UKB) und der Universität Bonn entwickelten nun mit der Stanford Universität in Kalifornien (USA) dafür einen entsprechenden Werkzeugkasten als neuen Goldstandard. Sie erhoffen sich damit die Entdeckung starker IRES-Elemente, die für die synthetische Biologie und für die Verwendung in neuen mRNA-Therapeutika direkt relevant sind. Die Ergebnisse ihrer Arbeit wurden in der Fachzeitschrift „The EMBO Journal“ veröffentlicht.**

Erst kürzlich wurde das Ribosom – eine der evolutionär ältesten molekularen Maschinen – als aktiver Regulator von Genexpression auf der Ebene der Proteinbiosynthese erkannt. Das ist ein für die Entwicklung und Funktion von Zellen wichtiger Prozess, bei dem genetische Informationen in Proteine umgesetzt werden. Der letzte Schritt, bei dem die auf der Boten-RNA (mRNA) kodierende Information übersetzt wird, wird als Translation bezeichnet. Die Kontrolle der Translation untersucht die Forschungsgruppe „Immunbiochemie“ um Prof. Kathrin Leppek am Institut für Klinische Chemie und Klinische Pharmakologie (IKCKP) des UKB an Hand der direkten Interaktion des Ribosoms mit mRNAs. „Als zentrale Translationsmaschinerie, die für alles Leben unerlässlich ist, stehen das Ribosom und die mit ihm verbundenen Faktoren wie Proteine oder RNA-Strukturen im Mittelpunkt unseres Forschungsinteresses“, sagt Prof. Leppek, Mitglied im Exzellenzcluster ImmunoSensation2 der Universität Bonn. „Es gibt immer mehr Belege dafür, dass die Ribosomen-Zusammensetzung die selektive Translation durch maßgeschneiderte Ribosomen beeinflusst, die bestimmte mRNAs bevorzugt binden und übersetzen.“

### **Rolle von IRESes in der Genexpression**

Als Beispiel solcher Strukturen, die eine wichtige Rolle bei der Initiierung der Translation und damit bei der Regulierung der Genexpression spielen, untersuchten die Bonner Forschenden jetzt interne ribosomale Eintrittsstellen (IRESes). Die Abkürzung IRES ist eine Kurzform für „Internal Ribosomal Entry Sites“. Dabei handelt es sich um spezialisierte, gefaltete Sequenzen innerhalb eines RNA-Stranges, die besonders im Erbgut von Viren bekannt sind, um nach einer Infektion die Ribosomen des Wirts zu kapern. Das Hepatitis C-Virus oder das Poliovirus beispielsweise sind durch ihre IRES-Elemente in der Lage, die Produktion neuer viraler Proteine unabhängig von allen Initiationsfaktoren zu starten. Die IRES-Sequenzen ermöglichen dabei mit der Rekrutierung der Ribosomen die Initiierung der Translation unabhängig von der 5'-Kappe der mRNA. Dies ist eine Schutzkappe mit der Wirts-eigene mRNA-Stränge ausgestattet sind, die unter Normalbedingungen die Translation ermöglichen, die aber unter Vireninfektion blockiert sind.

### **Keinen einheitlichen Standard für die klare Charakterisierung von IRES**

IRES wurden zuerst im viralen Erbgut beschrieben, die die Vermehrung von Viren in infizierten Zellen durch Rekrutierung der Wirts-Ribosomen ermöglichen. In den letzten Jahrzehnten wurden jedoch immer mehr IRESes auch in eukaryotischen Zellen, die im Gegensatz zu Viren einen Zellkern besitzen, beschrieben. „Dies stärkt die allgemeine Ansicht, dass diese Elemente auch an der Regulation der Translation in eukaryotischen Zellen beteiligt sind“, sagt Erstautor des Papers

Philipp Koch aus der Arbeitsgruppe Leppek am UKB und Doktorand der Universität Bonn am UKB. Sein Kollege und Co-Author Martin Haimann, auch Doktorand der Universität Bonn am UKB, ergänzt: „Eine große Herausforderung war jedoch die exakte und zuverlässige Charakterisierung der neu beschriebenen IRES, besonders aus eukaryotischen mRNAs, die durch technische Hürden und Artefakte in den bisher verwendeten Technologien erschwert wurde.“

Die Bonner Forschenden haben in ihrer aktuellen Forschungsarbeit eine Reihe vielseitiger Techniken zusammengestellt und getestet, die zusammen die robuste Charakterisierung von IRESes in der Zukunft ermöglichen. Eine wichtige Methode beinhaltet die Verwendung von einem zirkulären RNA Reporter, der als Nachweis für die IRES-abhängige Aktivität von RNA Elementen verwendet werden kann. Weitere Techniken sind unter anderem quantitative Färbungstechniken von einzelnen mRNAs in Mausemryo-Gewebe und die Bestimmung der Translationsrate einzelner IRES-beinhaltenen mRNAs. „Ein derart umfangreicher Werkzeugkasten, der in kultivierten Zellen und Embryo-Gewebe angewendet werden kann, stellt einen neuen Goldstandard für die Prüfung und Charakterisierung von IRESes dar“, sagt Philipp Koch. Korrespondenzautorin Prof. Leppek ergänzt: „Starke IRES-Elemente sind für die synthetische Biologie und für neue mRNA-Therapeutika direkt relevant.“

### **Förderung:**

Die Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) im Rahmen des Exzellenzclusters ImmunoSensation2 gefördert, sowie von der Universität Bonn im Rahmen des „TRA: Life and Health Research Prize 2024“ und des universitätsweiten Programms „Stärkung des Equal Opportunity-Prozesses (STEP)“. Das UKB und die Universität Bonn besitzt zusammen mit der Stanford Universität ein Patent zur Entwicklung wirksamer nicht-viraler IRES-Sequenzen für verbesserte zirkuläre RNA Translation für die therapeutische und immunogene Proteinproduktion.

### **Originalpublikation:**

Philipp Koch et al.: A versatile toolbox for determining IRES activity in cells and embryonic tissues; EMBO; DOI <https://doi.org/10.1038/s44318-025-00404-5>