Molekulares Monitoring der RNA-Regulation

Neues biologisches Tool, um zelluläre Prozesse nachzuverfolgen

Je besser wir zelluläre Prozesse wie die RNA Regulierung verstehen, desto gezielter können Medikamente entwickelt werden. Besonders schwierig war es bisher, die Regulierung nichtkodierender RNA nachzuverfolgen, also RNA, die nicht weiter zu Proteinen umgesetzt wird. Ein Forschungsteam der Technischen Universität München (TUM) und Helmholtz Munich hat nun ein minimalinvasives Reportersystem entwickelt, das ein hochsensibles Monitoring der RNA-Produktion sowohl nichtkodierender als auch kodierender RNA ermöglicht.

Für zelluläre Prozesse wird unsere genetische Information in der Form von DNA zunächst zu RNA umgeschrieben. Diese wird noch bearbeitet, bevor sie entweder als Bauanleitung für Proteine dient oder selbst eine Funktion in der Zelle übernimmt. Wie viel und welche RNA gerade produziert wird, sagt viel über den Zustand einer Zelle aus. So produzieren Zellen bei einer Entzündung beispielsweise vermehrt RNA, die für die Proteine der Immunreaktion kodieren.

Werden Gene über RNA weiter zu Proteinen umgesetzt, können Forschende dies mit Hilfe bekannter Reportersysteme nachverfolgen. Jedoch kodiert nur ein Teil der humanen Gene für Proteine. Ein Großteil der menschlichen Gene ist nichtkodierend, darunter sind auch Gene für sogenannte long non-coding RNAs (lncRNA). Dies sind RNAs mit mehr als 200 Bausteinen, die nicht als Bauanleitung für Proteine dienen, sondern als Moleküle selbst wichtige Prozesse in der Zelle steuern. Beteiligt sind sie nach ersten Erkenntnissen beispielsweise an der Regulierung der RNA-Produktion, der Organisation von Strukturen im Zellkern oder beim An- und Abschalten bestimmter Enzyme.

Trotz ihrer Bedeutung für zelluläre Prozesse konnten lncRNAs mit bisherigen Methoden nur schwer und mit Einschränkungen untersucht werden, beispielsweise für fixierte Zellen zu einzelnen Zeitpunkten, da klassische Reportersysteme, die auf der Umsetzung zu Proteinen basieren, hierfür nicht verwendet werden können.

INSPECT ermöglicht das Monitoring nichtkodierender RNA

Eine Lösung liefert nun ein neues Reportersystem: INSPECT. Ein Team um Gil Westmeyer, Professor für Neurobiological Engineering an der TUM und Direktor des Instituts für Synthetische Biomedizin bei Helmholtz Munich, präsentiert das neu entwickelte Reportersystem im Fachjournal „Nature Cell Biology“.

„Anders als bei bisherigen Methoden werden bei INSPECT die Sequenzen für Reporterproteine in modifizierten Introns kodiert. Introns sind Abschnitte auf der unfertigen RNA, die natürlicherweise von der Zelle beim Bearbeiten herausgetrennt und abgebaut werden. INSPECT stabilisiert die Introns jedoch so, dass sie nach dem Heraustrennen nicht abgebaut, sondern ins Zellzytoplasma gebracht und die Sequenzen zu Reporterproteinen umgesetzt werden“, erläutert Erstautor Dong-Jiunn Jeffery Truong. Das Signal der Reporterproteine, beispielsweise Fluoreszenz, können die Forschenden dann wie bei herkömmlichen Methoden detektieren.

INSPECT verändert weder die fertige RNA noch die Proteine

Alle Rechte: © DeutschesGesundheitsPortal | HealthCom | www.deutschesgesundheitsportal.de

Das neue molekularbiologische Tool löst somit nicht nur das Problem, wie sich die Produktion nichtkodierender RNA nachverfolgen lässt, sondern bringt auch Vorteile für die Untersuchung kodierender RNA mit sich. Bisherige Reportersysteme bergen häufig die Gefahr, die gesuchte RNA oder die Proteine zu beschädigen, da sie zum Beispiel direkt angrenzend an die zu untersuchende RNA gesetzt werden müssen, um im Prozess zu Proteinen umgesetzt zu werden. INSPECT modifiziert dagegen nur die Introns, nicht jedoch die fertige RNA oder die Proteine.

Das Team konnte die Funktionsweise von INSPECT bereits anhand verschiedener Beispiele kodierender und nichtkodierender RNA bestätigen. So verfolgten sie damit die Produktion von RNA für Interleukin 2, ein Protein, das bei Entzündungen vermehrt produziert wird. Auch die Herstellung zweier lncRNAs konnten sie bereits mit hoher Sensitivität monitoren und Veränderungen in der Regulation während des untersuchten Zeitraums nachvollziehen.

„INSPECT erweitert den biomedizinischen Werkzeugkasten um ein wichtiges molekularbiologisches Tool. Es lässt sich damit auf einfache Weise untersuchen, wie bestimmte nichtkodierende RNA-Moleküle an der Zellentwicklung beteiligt sind und wie möglicherweise ihre Regulierung verändert werden kann, um beispielsweise die Umwandlung in Krebszellen zu verhindern“, sagt Prof. Westmeyer. „Zusammen mit unserem zuvor entwickelten Reportersystem EXSISERS, das ein ähnlich minimalinvasives Prinzip für Proteine verwendet, könnte zukünftig ein gesamter Genregulationsprozess von der RNA-Prozessierung bis zur Produktion spezifischer Proteinformen in lebendigen Zellen untersucht werden.“

Publikationen

Dong-Jiunn Jeffery Truong*, Niklas Armbrust*, Julian Geilenkeuser, Eva-Maria Lederer, Tobias Heinrich Santl, Maren Beyer, Sebastian Ittermann, Emily Steinmaßl, Mariya Dyka, Gerald Raffl, Teeradon Phlairaharn, Tobias Greisle, Milica Živanić, Markus Grosch, Micha Drukker, Gil Gregor Westmeyer: Intron-encoded cistronic transcripts for minimally-invasive monitoring of coding and non-coding RNAs. Nature Cell Biology (2022). *contributed equally

Publikation zum Reportersystem EXSISERS
DJ.J. Truong, T. Phlairaharn, B. Eßwein , C. Gruber, D. Tümen, E. Baligács, N. Armbrust, F. L. Vaccaro, E.M. Lederer,, E. M. Beck, J. Geilenkeuser, S. Göppert, L. Krumwiede, C. Grätz, G. Raffl, D. Schwarz, M. Zirngibl, M. Živanić, M. Beyer, J. D. Körner, T. Santl, V. Evsyukov, T. Strauß, S. C. Schwarz, G.U. Höglinger, P. Heutink, S. Doll, M. Conrad, F. Giesert, W. Wurst and G.G. Westmeyer: Non-invasive and high-throughput interrogation of exon-specific isoform expression. Nature Cell Biology 23, 652–663 (2021).

Weitere Informationen und Links

Prof. Gil Westmeyer ist Principal Investigator am Munich Institute of Biomedical Engineering (MIBE). Das MIBE ist ein Integrative Research Institute der Technischen Universität München (TUM), das interdisziplinäre Zusammenarbeit und Synergien zwischen Forschenden aus dem weiten Feld des Biomedical Engineering fördert. Am MIBE entwickeln und verbessern Forschende aus der Medizin, den Naturwissenschaften und Ingenieurwissenschaften gemeinsam Verfahren zur Prävention, Diagnose und Behandlung von Krankheiten. Die Aktivitäten reichen dabei von der Untersuchung grundlegender wissenschaftlicher Prinzipien bis zu deren Anwendung in medizinischen Geräten, Medikamenten oder Computerprogrammen.

Alle Rechte: © DeutschesGesundheitsPortal | HealthCom | www.deutschesgesundheitsportal.de

MERKZETTEL

für das Gespräch mit Ihrer Ärztin oder Ihrem Arzt

Damit Sie viel aus dem Gespräch mit Ihrer Ärztin/Ihrem Arzt mitnehmen, empfehlen wir Ihnen, Ihre Beschwerden, aber auch Ihre Behandlungsziele sowie alle Ihre Fragen zu notieren. Wichtig für das Arztgespräch ist eine Liste der **Medikamente oder Nahrungsergänzungsmittel**, die sie derzeit verwenden. Über eventuelle **Allergien und Unverträglichkeiten** sollten Sie Ihre Ärztin/Ihren Arzt ebenfalls immer informieren. Nutzen Sie hierfür unseren Vordruck „Meine Medikations- und Behandlungsübersicht“.

Meine Beschwerden und/oder Behandlungsziele

Meine Fragen

Folgende Themen/Studien möchte ich besprechen

Welches Thema beschäftigt Sie? Was haben Sie z. B. in aktuellen Studien gelesen?

Notieren Sie die wichtigsten Punkte des Arztgesprächs

So bemerken Sie schnell, ob Sie alles richtig verstanden haben und ob Fragen unbeantwortet blieben

Meine Notizen zum Gespräch am _____:

Weitere Tipps für das Arztgespräch finden Sie unter „Materialien für den Arztbesuch“

Alle Rechte © DeutschesGesundheitsPortal.de/HealthCom