RNA-Interferenz: Die Zuversicht ist wieder zurückgekehrt

Die mittlerweile 15-jährige Geschichte der RNA-Interferenz geizt nicht mit dramatischen Effekten. Sie begann mit der unerwarteten Entdeckung und Veröffentlichung des Prozesses der posttranskriptionellen Gen-Stilllegung Gene Silencing 1998 wofür die beiden US-Amerikaner Andrew Fire und Craig Mello schon 2006 den Nobelpreis erhielten. 2001 gelang es Thomas Tuschl mit synthetischen RNA-Schnipseln siRNA Gene in Humanzellen auszuschalten. Inzwischen wird neben der Anwendung von RNAi in der Grundlagenforschung auch an Therapeutika und dem Einsatz von RNAi im Pflanzenschutz gearbeitet.

In der Lobrede auf die RNAi-Entdecker Craig Mello und Andrew Fire, die 2006 mit dem Paul-Ehrlich-Ludwig-Darmstaedter-Preis ausgezeichnet wurden, heißt es: „Die RNA-Interferenz ist eine vergleichsweise einfache und universelle Methode, um einzelne Gene abzuschalten, indem ihre Boten-RNA über einen komplexen Mechanismus mit Hilfe von doppelsträngigen, kleinen RNA-Molekülen gezielt abgebaut wird. Sie (…) hat bereits jetzt einen unschätzbaren Beitrag zum Verständnis molekularer und medizinisch relevanter Zusammenhänge geschaffen“ (zitiert nach Ärztezeitung, 13.03.2006). Das Stummschalten der Gene über RNAi ist ein natürlicher Mechanismus, der Zellen vor RNA-Viren schützt (siehe gelber Kasten unten).

Inzwischen haben sich RNAi-Technologien als Standardmethoden zur Untersuchung von Genen etabliert. Durch Einbringung kurzer doppelsträngiger RNA-Moleküle (small interfering RNAs, siRNAs), die in ihrer Sequenz einem stillzulegenden Zielgen entsprechen, kann dessen Funktion unterdrückt werden. In den Biowissenschaften kann der Mechanismus im Grunde auf jede RNA-Sequenz übertragen werden und stellt ein ideales Werkzeug dar, um Gene zu blockieren und so deren Funktion zu verstehen.

Nutzung von RNAi zu therapeutischen Zwecken

Aber auch an der Nutzung von RNAi zu therapeutischen Zwecken wird intensiv geforscht. Als Wirkstoffe dienen siRNAs, aber auch shRNAs und miRNAs (Beschreibung siehe gelber Kasten). Über 20 Wirkstoffe haben bisher die klinische Phase erreicht, aber nur einige davon werden weiterhin untersucht (zitiert nach Kubowicz).

Indikationsgebiete sind unter anderem Makuladegeneration, Krebs und antivirale Therapieansätze, aber auch Asthma, Hypercholesterinämie und genetisch bedingte Hautkrankheiten und Amyloidose. Auch RNAi-basierte Therapien der Muskeldystrophie Duchenne, von HCV (Hepatitis C) und Influenza machen die Gemeinde der RNAi-Forscher wieder zuversichtlich (Mulcahy).

An der ’Zustellung’ wird gearbeitet



Die Klasse der RNAi-Therapeutika verspricht eine grundlegend neue Richtung zur Behandlung menschlicher Krankheiten dadurch, dass für Wirkstoffe wie niedermolekulare Verbindungen und herkömmliche therapeutische Proteine bislang unerreichbare molekulare Ziele plötzlich zugänglich scheinen (Barros).

Das klinische Potenzial von nukleinsäurebasierten Arzneistoffen wird eingeschränkt durch ihre Anfälligkeit für den Serum-Nuklease-Abbau, die schnelle Ausscheidung über die Nieren und eine nichtspezifische Gewebe-Anhäufung. Darüber hinaus schränkt die makromolekulare und polyanionische Beschaffenheit die Aufnahme über die Zellmembran ein. Verbesserungen bei der ‘Zustellung' sowohl außerhalb als auch innerhalb der Zelle gelten als Schlüssel für den Erfolg (zitiert nach

Symbolbild eines RNA-Strangs. Als RNA-Interferenz (RNAi) bezeichnet man eine Form der Genregulation, bei der kurze doppelsträngige RNA-Abschnitte (dsRNA) eine Enzymkaskade auslösen, die im Abbau einer homologen Ziel-mRNA endet. Dadurch wird wiederum die Syntheserate des Ziel-Proteins verringert.
© CROCOTHERY I Adobe Stock

González).

Bisher hat kein Wirkstoff, der auf die Technik der RNA-Interferenz setzt, den Markt erreicht. Dennoch wächst in Fachkreisen wieder die Zuversicht. Die Fachpresse konstatiert die wachsende Bedeutung einer wirkungsvollen RNA-Delivery-Technologie angesichts einer Vielzahl von Firmen-Kooperationen und -Übernahmen. Der zurückgekehrte Optimismus hängt damit zusammen, dass die Kardinalprobleme der RNAi-Technologie (Aufnahme in die Zelle und Stabilität) durch chemische Modifikation der RNA-Moleküle oder durch deren Verpackung in Nanopartikel offenbar lösbar erscheinen, was gute Studienergebnisse untermauern (Bouchie).

Die Technologie erreicht neue Reifegrade

Inzwischen ist Forschern des US-Unternehmens Life Technologies die lipidbasierte RNAi-Transfektion für Anwendungen im lebenden Organismus gelungen. Damit scheint es Grundlagen- wie Pharmaforschung möglich, die Nukleinsäuren ohne die Gefahr ihres Abbaus funktionellen und biologischen Analysen in Kleintiermodellen zugänglich zu machen (Labant).

Vor Kurzem ist es Forschern gelungen, siRNA-Moleküle in lebenden Zellen (E. coli) zu produzieren. Im Vergleich zur chemischen oder In-vitro-Synthese bringt die erneuerbare Produktion in Bakterien voll funktionsfähige siRNA-Moleküle hervor mit einem Eigenschaftsprofil (geringe Nebenwirkungen und hoher Knock-Down, geringe Produktionskosten), das nach Expertenmeinung (Blau) breite Anwendung in Labor und Industrie erwarten lässt.

Neue Funktion der RNA-Interferenz in Säugern entdeckt

Obwohl therapeutische Anwendungen forciert werden, geht der Grundlagenforschung nicht die Arbeit aus, denn die RNA-Interferenz ist zwar gut, aber noch nicht vollständig verstanden. So sind noch nicht alle Funktionen und endogenen Zielstrukturen der RNAi entdeckt. Was bislang Vermutung war, wurde jetzt bestätigt: Auch Säugetiere nutzen wie Pflanzen und Wirbellose RNA-Interferenz, um sich gegen Viren zu schützen. Der Nachweis gelang Forschern um Olivier Voinnet (ETH Zürich) an Mäusezellen (Science, 2013). Auch Einzeller wie Archaeen und Bakterien verfügen über diesen Mechanismus, den deutsche Forscher in einem DFG-Verbundprojekt entschlüsseln.

Neue Anwendungen in der Landwirtschaft

Der Einsatz von RNA-Interferenz zur Bekämpfung von Schädlingen wird ebenfalls erforscht. Neu wäre eine von Monsanto und anderen Unternehmen erforschte Anwendung, Honigbienen vor der tödlichen Varroa-Milbe zu schützen. 2011 kaufte der Konzern die israelische Firma Beeologics, die genau diese Technologie entwickelt hat. Bienenlarven werden mit Zuckerwasser gefüttert, worin sich RNA-Moleküle befinden, die lebenswichtige Stoffwechsel-Gene der Milben ausschalten. Über den Darm gelangen die RNA-Moleküle in die Hämolmyphe der Bienenlarven. Varroa-Milben ernähren sich von deren Hämolymphe und nehmen dabei die RNA auf (Young).

Auch Pflanzen sollen mittels RNAi vor Viren geschützt werden. Der Stuttgarter Botaniker Holger Jeske zum Beispiel hat transgene Bohnen entwickelt, die siRNA bilden, die sie vor einer Infektion mit Geminiviren schützt. Diese Technik soll nun auch auf andere Pflanzen übertragen werden (Deutschlandfunk, 2013).

Quellen:

Barros, SA, Gollob JA: Safety Profile of RNAi Nanomedicines, Advanced Drug Delivery Reviews 2012; 64 (15); 1730-1737.

Blau JA, McManus MT: Renewable RNAi, Nature Biotechnology 2013; 31 (4); 319-320.

Bouchie A: Companies in Footrace to Deliver RNAi, Nature Biotechnology 2012; 30 (12); 1154-1257.

Deutschlandfunk: RNA-Schnipsel gegen Viren, 7. März 2013.

González, BB, Nielsen EB, Thomsen TB, Howard KA: Mucosal Delivery of RNAi Therapeutics 2013; 97-125.

Kubowicz P, Zelaszcyk D, Pekala E: RNAi in Clinical Studies, Current Medical Chemistry 2013; 20 (14); 1801-1816.

Labant MA: Transfection Methods Evolving, Genetic Engineering & Biotechnology News 2013; 33 (15).

Maillaird PV, Ciaudo C, Marchais A, Li Y, Jayb F, Ding SW, Voinnet O: Antiviral RNA Interference in Mammalian Cells, Science 2013; 342 (6155); 235-238.

Mulcahy LA, Carter DRF, RNAi2013: RNAi at Oxford, J RNAi Gene Silencing 2013; 9; 486-489.

RNAi – Ein Überblick

Als RNA-Interferenz (RNAi) bezeichnet man eine Form der Genregulation, bei der kurze doppelsträngige RNA-Abschnitte (dsRNA) eine Enzymkaskade auslösen, die im Abbau einer homologen Ziel-mRNA endet. Dadurch wird wiederum die Syntheserate des Ziel-Proteins verringert.
RNAi lässt sich in eine Initiationsphase und eine Effektorphase einteilen, wobei die Initiation mit der Bildung von dsRNA beginnt. Natürliche dsRNA kann von Viren stammen, oder sie kann in Form von microRNAs (miRNAs) im Genom codiert sein.

Während der Initiationsphase bindet die dsRNA an eine Endonuklease, die als Dicer bezeichnet wird. Dieser Dicer spaltet die dsRNA in sogenannte kurze interferierende RNAs (siRNA), welche 21 bis 23 Nukleotide lang sind. Das 5'-Ende der siRNAs wird im Anschluss durch eine mit dem Dicer assoziierte Kinase phosphoryliert und in der Effektorphase auf den RNA induzierenden Silencingkomplex (RISC) übertragen. Dieser RISC–Komplex entwindet nun die siRNAs und nutzt einen Strang als Matrize für die Suche nach komplementären mRNAs, welche dann durch assoziierte Enzyme gespalten werden.

An einige dieser gespaltenen Fragmente bindet eine RNA-abhängige RNA-Polymerase und synthetisiert komplementäre Stränge. Dadurch entstehen mehr dsRNAs, welche durch den Dicer-Komplex erkannt und durch seine Aktivität in siRNA gespalten werden. Dieser Prozess führt zu einer Verstärkung der RNA-Interferenz.

shRNAs: Small hairpin RNAs sind RNA-Moleküle, welche Haarnadelstrukturen ausbilden und dazu genutzt werden, Gene mithilfe der RNA-Interferenz künstlich stillzulegen.

siRNAs: Short interfering RNAs sind kleine (17-25 Nukleotide), doppelsträngige RNA-Fragmente, die während der RNAi eine Rolle spielen. Sie sind am 5'-Ende phosphoryliert.

miRNAs: microRNAs sind nicht codierende RNAs. Sie modulieren post-transkriptional während der Entwicklung vieler Organismen die Expression unterschiedlichster Gene durch Zerstörung der komplementären Ziel-mRNA.

Jens Grüninger
© BIOPRO Baden-Württemberg

Dossier

02.12.2013
wp
© BIOPRO Baden-Württemberg GmbH

Weitere Artikel in diesem Dossier



14.01.2021
Neuentdeckte RNA als Wachstumstreiber in Leberkrebs