

Jonathan Bohlen: Grenzgänger zwischen Translation und Infektion

Damit die Informationen, die auf den Genen unserer DNA im Zellkern gespeichert sind, nutzbar gemacht werden können, müssen sie abgeschrieben und als RNA-Abschriften hinaus in das Zellplasma transportiert werden. Transkriptom heißt die Gesamtheit dieser Abschriften und längst ist die Forschung so weit, das Transkriptom einzelner Zellen so genau zu analysieren, dass sie daraus Aussagen über deren biologisches Profil ableiten kann. Solche Einzelzell-Transkriptomik hat insbesondere die Immunologie vorangebracht, die ein hochdynamisches Zusammenspiel ganz verschiedener Zellen zu erklären sucht. Allerdings sind diese Abschriften, soweit sie Baupläne für Proteine enthalten, nur Anweisungen, die erst in den Protein-Fabriken, den Ribosomen, in funktionsfähige Produkte übersetzt werden. Was während dieses Vorganges der Translation geschieht, bei dem in keiner Zelle alle möglichen Abschriften ausgeführt werden, entzieht sich dem Blick der Transkriptomik. Es ist der blinde Fleck, dessen Aufklärung sich Jonathan Bohlen verschrieben hat. Indem er einen Aspekt der Translation präzise visualisiert hat, ist es ihm gelungen, die Ursache einer genetisch bedingten Immunkrankheit aufzudecken, und damit eine Brücke zwischen den beiden Gebieten der Molekularbiologie und Immunogenetik zu schlagen, zwischen denen erst wenig Austausch besteht.

Erleuchtung in Heidelberg

Dass er zu einem erfolgreichen Grenzgänger zwischen Translationsbiologie, Humangenetik und Immunologie geworden ist, verdankt Bohlen dem Deutschen Krebsforschungszentrum (DKFZ) in Heidelberg. Dort half man ihm, umzusatteln. Denn vorher hatte er auf ein für ihn falsches Pferd gesetzt. In der Südpfalz aufgewachsen, hatte er nach dem Abitur an der Hochschule Mannheim den Bachelor-Studiengang Biotechnologie aufgenommen. Zunächst hochmotiviert von der Erwartung, dort zu lernen, biologische Erkenntnis in technische Innovation zu verwandeln, dann aber zunehmend desillusioniert

von einem Curriculum, in dem es vor allem um die industrielle Produktion von Mikroorganismen gegangen sei. „Im dritten und vierten Semester ging es wochenlang um Rührerdesign und Massenstoffflüsse“, erinnert er sich. „Das fand ich sehr langweilig.“ Zu seinem Glück schrieb der Studienplan ein Praxissemester vor. Während die meisten seiner Kommilitonen in die Industrie gingen, fand er am DKFZ eine Stelle in der Gruppe von Peter Lichter. Dort wurde er in ein Projekt eingebunden, bei dem es um die Signalübertragung bei der Ausbreitung bestimmter Tumore ging. „Das war die Erleuchtung - ich fand diese molekulare Forschung großartig. Da war für mich klar, dass ich das vertiefen will.“ Ganz unkompliziert habe sich nach dem mit Bestnote bestandenen Bachelor in Mannheim der Übergang an die Universität Heidelberg zwar nicht gestaltet, aber im Herbst 2015 konnte er dort mit dem Masterstudium „Molekulare Biowissenschaften“ beginnen. Wegweisend wurde für ihn sein Mentor und Doktorvater Aurelio Teleman, Leiter der DKFZ-Abteilung für „Signaltransduktion in Krebs und Stoffwechsel“.

Zwei fundamentale Publikationen

Telemans Interesse galt damals unter anderem zwei Molekülen mit den sperrigen Abkürzungen MCTS1 und DENR, die ursprünglich vor allem in Verbindung mit der Krebsentstehung und Zellvermehrung studiert worden waren, seit etwa 2010 aber zunehmend ihrer Tätigkeit in den Ribosomen wegen Aufmerksamkeit hervorriefen. Ohne zu deren fester Belegschaft zu gehören, waren sie als Translationsfaktoren an den Fließbändern der Proteinproduktion offenbar unverzichtbare Zeitarbeitskräfte. Besonders dann, wenn eine Zelle unter Stress geriet, und schnell und selektiv nur dringend benötigte Proteine herstellen musste. Das Problem war nur, dass in menschlichen Zellen noch niemand diese Faktoren bei der Arbeit beobachtet hatte. Teleman schlug Bohlen deshalb vor, eine geeignete Beobachtungsmethode zu entwickeln. „Knapp zwei Jahre lang habe ich mir an dieser Aufgabe fast die Zähne ausgebissen, aber es hat einfach nicht funktioniert“, sagt Bohlen. Einmal habe er sich kurz vor dem Ziel gesehen, dann aber gemerkt, dass es sich bei seinem Ergebnis um ein unspezifisches Signal handelte. „Das war der Tiefpunkt, ich sah meine Promotion schon kurz vor dem Scheitern.“ Aber Teleman machte seinem Doktoranden Mut und irgendwann hatte der sich mit Hilfe eines chemikalischen Kniffs durchgebissen

und der Knoten platzte. Das Ergebnis waren zwei fundamentale Publikationen, die 2020 die Weiche für Jonathan Bohlens Karriere stellten. Aus sich ergänzenden Blickwinkeln brachten sie neues Licht in den Vorgang der Re-Initiation an Ribosomen^{1 2}.

Die Regelschieber an den Ribosomen

Ein Ribosom - jede menschliche Zelle enthält Millionen davon - gleicht einer mobilen Pop-up-Fabrik aus zwei Teilen, die nur während der Produktion eine Einheit bilden. Erst wenn seine kleine Untereinheit an eine Boten-RNA gebunden und darauf das Startcodon erkennt hat (meist AUG), lagert sich die große Untereinheit mit ihr zusammen. Diese Initiation bedarf neben einer Reihe von Translationsfaktoren auch einer transfer-RNA, die eine Start-Aminosäure trägt. Anschließend wird die Boten-RNA in Schritten von jeweils drei Nukleotiden zwischen beiden Teilen des Ribosoms hindurchgezogen. Jedes Nukleotid-Triplett bezeichnet eine bestimmte Aminosäure. In der kleinen Untereinheit wird dieser genetische Code gescannt. Triplett für Triplett lagern sich wie Adapter die komplementär codierten transfer-RNAs an. In der großen Untereinheit werden die von ihnen gelieferten Aminosäuren zu einer wachsenden Peptidkette verknüpft, in einem Tempo von etwa vier Aminosäuren pro Sekunde. Dieser Vorgang endet, sobald auf der Boten-RNA ein Stopp-Codon auftaucht. Das soeben synthetisierte Protein löst sich vom Ribosom, das daraufhin wieder in zwei Untereinheiten zerfällt. Nach diesem Vorgang des Recyclings können sich beide auf derselben oder einer anderen Boten-RNA erneut zur Produktion des nächsten Proteins zusammenlagern. Das ist die Re-Initiation. Häufig geschieht sie während der Synthese eines Proteins sogar zweimal. Denn dem offenen Leserahmen (ORF), dessen Nukleotide für ein Protein codieren, ist in fast der Hälfte aller menschlichen Boten-RNAs mindestens ein kurzer Leserahmen (uORF) vorgeschaltet. Er fungiert wie ein Regelschieber, der verhindern soll, dass zu hastig translatiert wird. Wenn sie diesen uORF abgelesen haben, müssen Ribosomen re-initiiert werden, bevor sie mit der Translation des eigentlichen Proteins beginnen können.

Vom Hochfahren der Protein-Produktion

Diese „verzwickte Situation“ machte Bohlens durchschaubar, indem er erstmals die kleine Untereinheit des menschlichen Ribosoms beim Scannen

beobachtete. Dabei entdeckte er, dass die Translationsfaktoren, die helfen, die Initiation zu bewerkstelligen, solange an der Front der entstehenden Peptidkette gebunden bleiben, bis diese etwa zwölf Aminosäuren lang ist. Das bedeutet: Beim Ablesen kurzer uORFs bleiben diese Faktoren lange genug erhalten, um gleich die nächste Translation zu initiieren. Sie stehen sofort für den nächsten Einsatz zur Verfügung. „Es entsteht dabei immer das gleiche Protein, weil viele Ribosomen nacheinander denselben Hauptleserahmen ablesen können“, erläutert Bohlen. Daraus erklärt sich, wie es einer Zelle gelingt, im Bedarfsfall die Produktion bestimmter Proteine rasch hochzufahren. Am Beispiel des bekannten Stressfaktors ATF4 wies Bohlen nach, dass dafür die Anwesenheit der Translationsfaktoren MCTS1 und DENR erforderlich ist. Sonst entsteht vor dem Hauptleserahmen ein Stau, der die Produktion drosselt statt sie zu steigern.

Der Brückenschlag in die Genetik

Diese Erkenntnis konnte Jonathan Bohlen in den Folgejahren auf unverhoffte Art nutzbar machen. „Mein Doktorvater gab mir den klugen Rat, mich als Post-Doc einem neuen Thema zu öffnen.“ Und der Zufall wollte es, dass sich MCTS1 als Sprungbrett in solch ein Thema erwies. Jean-Laurent Casanova, Pionier der Humangenetik von Infektionskrankheiten am Institut Imagine in Paris, war auf Bohlens Beschäftigung mit diesem Translationsfaktor aufmerksam geworden. Denn er fragte sich, ob dieser vielleicht auch eine Rolle bei der seltenen Erbkrankheit spielen könnte, auf die er seit Jahrzehnten spezialisiert war. Diese Krankheit mit der Abkürzung MSDM für *Mendelian Susceptibility to Mycobacterial Disease* ist eine lebensgefährliche Anfälligkeit für eigentlich harmlose Mycobakterien. Typischerweise wird MSDM bei Babys nach einer Tuberkulose-Impfung mit dem abgeschwächten BCG-Lebendimpfstoff entdeckt. Fast alle Babys vertragen diese Impfung gegen dieses häufigste Mycobakterium gut, eliminieren die abgeschwächten Erreger und bauen ein Immungedächtnis auf. Wer an MSDM leidet, erkrankt entweder am abgeschwächten Impfstamm oder baut kein Immungedächtnis auf, so dass er später an irgendwelchen Mycobakterien sterben kann, die anderen nichts anhaben. Casanova hatte MSDM Ende der 1990er Jahre erstmals beschrieben und damals begonnen, eine Kohorte mit davon betroffenen Patienten aus aller Welt aufzubauen, die den Vorschriften einer klinischen Studie entspricht.

Dabei hatte er entdeckt, dass das Zytokin Interferon- γ die wichtigste natürliche Waffe zur Ausschaltung von Mycobakterien ist - ein Immunbotenstoff, den MSDM-Patienten aus verschiedenen Gründen nicht ausreichend produzieren. Viele dieser Gründe, aber längst nicht alle, hatte Casanova mit seinem Team entdeckt, als Bohlen sich ihm im Frühjahr 2021 in Paris als Postdoktorand anschloss, um zu erforschen, ob es einen Zusammenhang zwischen MSDM und MCTS1 gab. Das war eine Chance, die Bohlen beherzt ergriff, indem er sich tief in die ihm bisher kaum bekannten Gebiete der Humangenetik und der Immunologie einarbeitete.

Die Abwehr scheitert an der Translation

So gelang es ihm, aus Zellkulturen von 422 Patienten aus Casanovas Kohorte, die an einer bisher nicht erklärten MSDM litten, fünf Jungen aus China, Finnland, Saudi-Arabien und dem Iran zu ermitteln, denen der Translationsfaktor MCTS-1 fehlte. „Wenn man in unserem Feld zwei oder drei nicht miteinander verwandte Menschen mit äquivalentem Phänotyp (MSDM) und Genotyp (MCTS-1-Defizienz) findet, gilt der Zusammenhang als bewiesen, weil die Wahrscheinlichkeit eines rein zufälligen mehrfachen Zusammentreffens praktisch gegen Null geht“, erläutert Bohlen.

Molekularbiologisch belegte er den Zusammenhang mit seiner Methode der Ribosomen-Profilierung: Das Fehlen von MCTS-1 macht es dem Ribosom unmöglich, eine einzige intrazelluläre Signalbrücke, die janusköpfige Kinase JAK 2, zu bilden. Zwar wird JAK 2 noch in allen Zellen transkribiert, aber nirgendwo mehr translatiert. Merkwürdigerweise wirkt sich das aber nur auf sogenannte „Innate-like T-Zellen“ negativ aus. In ihnen, die für die rasche Abwehr von Infektionen besonders wichtig sind, unterbricht das Fehlen von JAK 2 den Signalweg, der normalerweise die Ausschüttung von Interferon- γ triggert und dadurch Mycobakterien in Schach hält³. Auf den ersten Blick ist es nur ein winziges Loch, welches eine einzige fehlende Kinase in das riesige Schild des Immunsystems schlägt. Für die betroffenen Kinder hat dieses Loch schreckliche Folgen. Der Immunologie aber gibt es endlich den Blick frei auf die bisher vernachlässigte Bedeutung der Translation für ihr Grundlagenwissen und ihre therapeutischen Spielräume. Im speziellen Fall der JAK-Kinase ist das schon heute wichtig, weil JAK-Inhibitoren häufig verwendete Medikamente gegen Autoimmunkrankheiten sind. Es ist anzunehmen, dass die individuelle

Wirksamkeit und Verträglichkeit dieser Medikamente auch davon abhängt, wie JAK-Spiegel von Translationsvorgängen beeinflusst werden.

Die Terra incognita RNA-codierender Gene

„Translationskontrolle in T-Zellen“ heißt das Projekt von Jonathan Bohlen, für das ihn die Deutsche Forschungsgemeinschaft seit 2026 fördert. Denn gerade T-Zellen stünden immer wieder vor „einzigartigen translationalen Herausforderungen“, sagt er, wenn sie nach einer Aktivierung durch Antigene ihre Proteinsynthese schleunigst umprogrammieren müssten. Wie Translationsfaktoren diese Vorgänge orchestrieren und welche Misstöne die Entstehung von Krankheiten begünstigen, erforscht Bohlen heute am Genzentrum und an der Haunerschen Kinderklinik der Münchener Ludwig-Maximilians-Universität (LMU), die ihn nach seiner Pariser Zeit im Rahmen ihres Exzellenzclusters NUCLEATE zunächst mit einer Juniorgruppe für Nukleinsäureforschung betraut hatte. „Wenn selektive Translation eine modulierbare regulatorische Achse von Immunzellen ist, dann kann diese Achse zum Angriffspunkt neuer Arzneimittel werden.“ Dafür müsse man aber die „Landschaft“, durch die sich diese Achse erstreckt, kartografieren. Zu diesem Landschaftsbild gehören die Gene, die nicht auf dem Umweg über m-RNAs für Proteine codieren, sondern direkt für ribosomale, interferierende oder transfer-RNAs. Allein für letztere seien das mindestens 400, sagt Bohlen. „Sie sind in der klinischen Genomik von heute die unsichtbarsten Elemente.“ Dabei ließen sie sich leicht finden, wenn man künftig routinemäßig das ganze Genom sequenzierte und nicht nur, wie derzeit üblich, alle Exons dieses Genoms. „Wir sehen bei Patienten mit unerklärlichen Immundefekten erste Anhaltspunkte dafür, dass zumindest Varianten von transfer-RNA-Genen daran beteiligt sind.“ Mit ihrem Life Sciences Bridge Award will die Aventis Foundation Bohlens Karriere unterstützen.

Author: Joachim Pietzsch, wissenswort

Fotos: © Uwe Dettmar

¹ Bohlen J et al. Selective 40S footprinting reveals cap-tethered ribosome scanning in human cells. *Molecular Cell*; 79, 561-574. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.06.005>

² Bohlen J et al. (2020). DENR promotes translation reinitiation via ribosome recycling to drive expression of oncogenes including ATF4. Nature Communications; 11, 4676. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18452-2>

³ Bohlen J et al. (2023). Human MCTS1-dependent translation of JAK2 is essential for IFN-γ immunity to Mycobacteria. Cell; 186, 5114-5134 <https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.09.024>