

**Hintergrundinformationen zur Vergabe des
Paul Ehrlich- und Ludwig Darmstaedter-Preises 2022
an Prof. Dr. Katalin Karikó, PD Dr. Özlem Türeci und Prof. Dr. Uğur Şahin**

Die begabte Botin aus dem Zentrum der Zelle

Jahrzehntelang stand die messenger RNA (mRNA) im Schatten ihrer großen Mutter DNA und einiger ihrer beliebteren Geschwister aus der RNA-Familie. Sie galt als viel zu flüchtiges und von allgegenwärtigen Feinden bedrohtes Molekül, als dass die Mehrheit der Forschenden glauben wollte, sie eines Tages für medizinische Zwecke gebrauchen zu können. Dass ausgerechnet dieses Aschenputtel während der Corona-Pandemie plötzlich alle anderen molekularen Konkurrentinnen auszusteichen in der Lage war, liegt ganz wesentlich an den Leistungen der drei Preisträger. Dank ihrer beharrlichen Grundlagenforschung, ihrer ausdauernden Entwicklungsarbeit und ihrer entschlossenen und richtigen Reaktion auf das Auftauchen von SARS-CoV-2 schufen sie einen Impfstoff zur Bekämpfung der Pandemie und führten der *Scientific Community* wie der Weltöffentlichkeit das enorme Potential des präventiven und therapeutischen Einsatzes von mRNA vor Augen.

Die mRNA wurde spät entdeckt – erst 1960, 16 Jahre, nachdem die DNA als Trägerin der Erbinformation identifiziert und sieben Jahre, nachdem deren Doppelhelixstruktur entschlüsselt worden war. Bis zu ihrer Entdeckung blieb die Beziehung zwischen den beiden Nukleinsäuren DNA und RNA und den Proteinen in lebenden Zellen ein Rätsel. Zwar wusste man, dass dort, wo die Proteinsynthese stattfindet, besonders viel RNA vorhanden ist. Als mögliche Proteinfabriken waren Mitte der Fünfzigerjahre zudem die Ribosomen entdeckt worden (sie erhielten erst 1958 diesen Namen). Die Beweislage für die weitverbreitete Annahme, „dass Nukleinsäuren irgendwie für die Steuerung der Proteinsynthese verantwortlich sind, entweder direkt oder indirekt“ sei aber „ziemlich dürftig“, sagte Francis Crick 1957 in seinem berühmten Vortrag über die Proteinsynthese. In diesem Vortrag formulierte er dennoch zwei bis heute gültige Hypothesen: Erstens hängt der Bauplan für ein bestimmtes Protein allein von der Reihenfolge der Nukleotide eines spezifischen Nukleinsäureabschnitts ab. Zweitens kann diese genetische Information nicht mehr aus dem Protein Richtung Nukleinsäure zurückfließen, nachdem sie übermittelt worden ist. Er irrte sich allerdings darin, für

jedes Ribosom eine spezifische RNA-Schablone anzunehmen, an der dann nur jeweils ein bestimmtes Protein produziert werden könne.¹

Gedankenblitz am King's College

Der Heureka-Moment kam für ihn und Sydney Brenner am 15. April 1960, als sie am King's College in Cambridge Besuch vom französischen Forscher Francois Jacob hatten². Jacob berichtete von einem Experiment, dessen Ergebnisse im Widerspruch zu Cricks Schablonen-Theorie standen. Seine Gruppe hatte mit zwei Arten von Bakterien gearbeitet. Die eine begann in einem Nährmedium von Milchzucker sofort mit der Synthese eines Enzyms, um diesen Zucker zu verdauen, der anderen fehlte dieses Enzym. Führt man dieser jedoch das Gen für das fehlende Enzym durch bakterielle Kreuzung zu, dann begann sie innerhalb von Minuten, es auf Hochtouren zu produzieren. Das Gen – also dessen DNA – hatte offenbar die Herstellung eines Signalmoleküls getriggert, denn neue Ribosomen hätten die Bakterien so schnell nicht herstellen können. Die Franzosen nannten dieses Molekül X.

Ein universelles Signalmolekül

Da ging Brenner und Crick ein Licht auf. Wild gestikulierend und durcheinanderredend sprangen sie auf. Sie hatten sich bei Jacobs Vortrag schlagartig eines Experimentes zweier amerikanischer Kollegen erinnert. Zwei Jahre zuvor hatten diese Kollegen Bakterien mit Bakteriophagen infiziert. Mit Hilfe radioaktiver Marker hatten sie anschließend beobachtet, dass die infizierten Bakterien kurzzeitig eine RNA produzierten, die dieselbe Nukleotidreihenfolge hatte wie die DNA der infizierenden Phagen – ohne diesen Befund einer „DNA-ähnlichen RNA“ aber befriedigend erklären zu können. Diese RNA musste – so schoss es Brenner und Crick nun durch die Köpfe – identisch mit dem Signalmolekül X sein. Wenn dem so wäre, so folgerten sie, würde ein Ribosom nicht, wie bisher vermutet, das Rezept für die Herstellung eines bestimmten Proteins in Form einer Schablone enthalten, sondern vielmehr ein universelles Lesegerät für alle möglichen Proteinrezepte sein.

Stockholm blieb stumm

Um diese Annahme zu beweisen, mussten sie experimentell widerlegen, dass das Molekül X zur Bildung neuer Ribosomen führte. Das gelang ihnen im Laufe des Sommers mit Hilfe der Ultrazentrifugen, über die Matt Meselson am Caltech in Pasadena verfügte. Statt neuer Ribosomen tauchte an den alten Ribosomen des von ihnen beobachteten Bakteriums tatsächlich vorübergehend eine kleine RNA auf. Unterdessen war James Watson in Cold Spring Harbor dabei, mit anderen Methoden zu ähnlichen Ergebnissen zu gelangen. Als er vom Durchbruch seiner Kollegen hörte, bat er diese dringend um Aufschub ihrer Publikation. So erschienen erst am 13. Mai 1961 in *Nature* gleich zwei Artikel, die von der Entdeckung dieser neuen RNA-Art berichteten (die übrigens nur 3% aller in einer Zelle vorhandenen RNA ausmacht, während die ribosomale RNA auf 80% kommt). Ihren Namen messenger RNA erhielt sie einen Monat später in einer Übersichtsarbeit von Francois Jacob und Jacques Monod.³ Trotz der Bedeutung dieser Entdeckung, die auch für die endgültige Aufklärung des genetischen Codes wichtig war, wurde sie nie mit einem Nobelpreis belohnt, wahrscheinlich deshalb, weil eindeutig mehr als drei Forscher an ihr beteiligt waren. Die meisten von ihnen erhielten aber in den darauffolgenden Jahren aufgrund anderer Leistungen diese Ehrung in Stockholm.

Ein folgenreicher Perspektivwechsel

Mit der Entdeckung der mRNA war endlich die Frage geklärt, auf welchem Wege lebende Organismen genetische Information in biologische Funktion übersetzen. Bemerkenswert ist, dass Jacob und Monod das neu entdeckte Molekül als „Boten“ bezeichneten. Denn darin drückt sich ein Perspektivwechsel aus. Auch in der Molekularbiologie begannen analoge Schablonen in den Hintergrund und Übermittler von Informationen in den Vordergrund zu rücken. Diesen Perspektivwechsel haben Karikó, Türeci und Şahin konsequent zu Ende gedacht und umgesetzt. Denn ihr – teilweise schon erreichtes – Ziel ist es, den Zellen eines Patienten durch Zuführung von mRNA eine definierte genetische Botschaft zu übermitteln, die sie zur Produktion von Proteinen veranlasst, die einer Krankheit vorbeugen oder diese behandeln. Informationelle Hilfe zur Selbsthilfe sozusagen.

Über die Bakterien hinaus

Dieses Ziel rückte allerdings erst in Reichweite, nachdem in den 1970er Jahren die Funktionsweise der mRNA in Lebewesen aufgeklärt worden war, deren Zellen mit einem Zellkern ausgestattet sind. Drei große Unterschiede gegenüber den kernlosen Bakterien wurden in diesen eukaryotischen Organismen bei der Transkription eines Gens, also des Umschreibens eines Stückes der Erbinformation von einem der beiden DNA-Stränge in eine einsträngige mRNA entdeckt. In allen Lebewesen wird in der mRNA das Nukleotid Thymin der DNA durch das Nukleotid Uridin ersetzt. Die eukaryotische mRNA wird jedoch noch während der Transkription an ihrem vorderen Ende mit einer molekularen Kappe aus einem modifizierten Guanin-Nukleotid ("Capping") versehen. Zweitens wird ihr nach Ende der Transkription ein Schwanz aus vielen Adenin-Nukleotiden angehängt ("Polyadenylierung"). Drittens liefert die Transkription nur eine unreife Form der endgültigen mRNA. Denn die Gene von Eukaryoten bestehen, und diese Entdeckung war eine besonders große Überraschung, bei weitem nicht nur aus Abschnitten, die Informationen über den Bauplan eines bestimmten Proteins enthalten. Zwischen diesen Exons, die der Proteinexpression dienen, enthalten sie viele stumme, gleichsam introvertierte Abschnitte. Diese Introns auszuschneiden und die verbleibenden Exons miteinander zu verknüpfen, ist die Aufgabe des Spleißosoms, einer ausgeklügelten molekularen Maschinerie des Zellkerns. Erst wenn sie die Prozesse des Cappings, der Polyadenylierung und des Spleißens durchlaufen hat, kann eine neu transkribierte mRNA aus dem Zellkern ins Zytosol exportiert werden, um dort einem Ribosom ein Rezept zum Bau eines Proteins zu übermitteln, wobei jeweils eine bestimmte Dreierfolge ("Codon") aus den Nukleotidbuchstaben A, U, G und C für eine Aminosäure codiert. Neben dem Rezept zum Bau eines Proteins hat der RNA-Strang Sequenzelemente, die nicht zum Protein umgeschrieben werden, aber wichtige Instruktionen zur Regulation der Menge und Dauer der Produktion des mRNA-kodierten Proteins in bestimmten Zelltypen tragen. Sequenzen, die zum Beispiel die Proteinproduktion in Muskelzellen unterstützen, haben in anderen Körperzellen nicht notwendigerweise denselben Effekt.

Drei Schlüsseltechnologien

Das beschriebene Ziel konkret zu verfolgen, wurde erst möglich, nachdem in den 1980er-Jahren drei wesentliche Technologien für die Arbeit mit Nukleinsäuren erfunden und zur Marktreife gebracht worden waren. Die Erfindung der Polymerase-

Kettenreaktion (PCR) erlaubte es, selbst winzige Mengen von DNA in kurzer Zeit beliebig oft zu vervielfältigen. Die Erfindung der In-vitro-Transkription (IVT) erlaubte es, mit Hilfe der RNA-Polymerase zum Beispiel des Bakteriophagen SP6 im Reagenzglas große Mengen fertiger mRNA von jeder beliebigen DNA-Matrize abzulesen und herzustellen, die bereits alle drei Reifungsschritte durchlaufen hatte. Die effiziente Verpackung von Nukleinsäuren in Fetttropfchen (Liposomen), deren äußere Struktur derjenigen von Zellmembranen entspricht, weshalb sie leicht mit diesen fusionieren, erlaubte schließlich einen relativ einfachen Transport von IVT mRNA in den Innenraum eukaryoter Zellen, wo sie vor RNA-abbauenden Enzymen (RNAsen) geschützt sind.

Die Dominanz der DNA

Bereits Ende der 1980er-Jahre hätte die präklinische Prüfung von mRNA für den therapeutischen Einsatz also auf breiter Front beginnen können. Aber selbst die Forschergruppe, die 1990 erstmals zeigen konnte, dass die intramuskuläre Injektion von IVT mRNA in Mäusen zur Expression des codierten Proteins führt, verlor bald die Lust daran, diese Forschung fortzusetzen. Denn zu vielversprechend erschienen damals, als das weltweite Humangenomprojekt zur Entzifferung der gesamten menschlichen Erbinformation gerade begann, der therapeutische Einsatz von DNA. Dank der Gentechnik ließen sich bereits viele therapeutische Proteine wie etwa das Insulin rekombinant herstellen, die Entwicklung der ersten monoklonalen Antikörper zum Arzneimittel stand kurz bevor. Besondere Hoffnungen richteten sich auf DNA-basierte Gentherapien. Gesunde Gene mittels viraler Fahren in Zellkerne einzuschleusen, damit sie sich dort in die DNA des Empfängers einklinkten, um krankhafte Mutationen dauerhaft zu korrigieren, galt als probates Mittel, um in erster Linie solche Erbkrankheiten zu heilen, bei denen nur eine oder wenige Aminosäuren in einem einzigen Gen falsch codiert waren. So wie die Mukoviszidose zum Beispiel, die von einem falsch gefalteten Ionenkanal verursacht wird, der von einem Protein mit 1480 Aminosäuren-Bausteinen gebildet wird. Die Fehlfaltung beruht in den allermeisten Fällen auf dem Austausch einer einzigen Aminosäure an Position 508. Das CFTR-Gen, in welchem diese winzige Mutation vorkommt, wurde 1989 entdeckt, und so wurde die Mukoviszidose zusammen mit einigen monogenetisch bedingten Immundefizienz-Erkrankungen zum Ziel der ersten Gentherapien. Bis heute haben Gentherapien mit DNA die in sie gesetzten Erwartungen vor allem wegen möglicher Nebenwirkungen der viralen Genfähren noch nicht vollends erfüllt.

Unbeirrt von fehlender Förderung

Katalin Karikó, die seit 1989 an der University of Pennsylvania arbeitete, war angesichts dieser DNA-Dominanz eine Außenseiterin. Ihr Antrag auf Förderung eines Forschungsprojektes, in dem sie den Bauplan eines gesunden Ionenkanals per mRNA in betroffene Zellen einbringen wollte, wurde negativ beschieden. Niemand wollte damals RNA-Projekte fördern. Als Hauptschwäche wurde betrachtet, dass mRNAs sehr instabil sind. Ihre intrazelluläre Halbwertszeit reicht von wenigen Minuten bis zu einigen Stunden. Extrazellulär sind sie durch ubiquitär vorkommende RNA-abbauende Enzyme (RNAsen) von sofortiger Zerstörung bedroht. Wie sollte synthetische RNA dann den ihr zgedachten Zweck erfüllen, das fragliche Protein in hinreichender Menge zu liefern? Wer im Labor mit DNA arbeitete, dem galten sie zudem als störende Kontaminationen in den eigenen Experimenten. Weil sie nicht genügend Fördermittel einwerben konnte,

wurde Karikó 1995 degradiert – vom Research Assistant Professor zum Senior Research Investigator. Unbeirrt blieb sie dennoch ihrem Ziel treu, Proteinersatztherapien zu entwickeln, die auf der Injektion von IVT mRNA beruhten. Denn vom Beginn ihrer wissenschaftlichen Laufbahn an war sie vom Potential der mRNA überzeugt. Bereits als Postgraduierte hatte sie nach ihrem Biologiestudium an der ungarischen Universität Szeged im dortigen RNA-Labor und an Oligonukleotiden geforscht, von denen man hoffte, sie zu antiviralen Substanzen entwickeln zu können. Eine ihrer Aufgaben war es, RNA zu isolieren, die man damals noch nicht im Reagenzglas künstlich herstellen konnte. So wurde sie zur promovierten RNA-Biochemikerin, eine Expertise, mit der sie 1985 in die USA emigrierte.

Die Vorteile der mRNA

Karikó war stets vom Vorteil von mRNA-Proteinersatztherapien überzeugt. Denn anders als DNA-Therapeutika muss die mRNA nicht in den Zellkern gelangen, um ihre Wirkung zu entfalten. Anders als DNA-Therapeutika integriert sie sich nicht mit Mutationsrisiko in das Genom ihrer Zielzelle. Anders als DNA-Therapeutika ist sie nur vorübergehend aktiv, weil sie sehr schnell abgebaut wird. Den Nachweis dafür, dass auch hochkomplexe, posttranslational vielfach modifizierte Proteine in Zellkulturen durch die Einbringung der für sie codierenden IVT mRNA umgehend in großer Menge funktionsfähig produziert werden, erbrachte sie in den 1990er-Jahren fast im Alleingang. Als Beispiel verwendete sie den Urokinaserezeptor, ein Membranprotein, das als Schaltstelle am Anfang einer proteolytischen Kaskade steht, die sowohl in verschiedene Gefäßkrankheiten als auch in die Progression von Tumoren eingebunden sein kann. Seine Überexpression durch IVT mRNA erleichtert es, die physiologischen Funktionen dieser Kaskade besser zu verstehen und mögliche pharmakologische Interventionen zu erforschen⁴.

Ein kaum beachteter Durchbruch

Präklinisch beschäftigte sich Karikó in diesen Jahren schwerpunktmäßig mit mRNA-Therapien zur Behandlung von Schlaganfällen und zerebralen Erkrankungen. So versuchte sie zum Beispiel der um sich greifenden und letztlich letalen zerebralen Gefäßverengung nach einem Schlaganfall durch lokale Injektion der mRNA des Enzyms NO-Synthase zu begegnen, das die Bildung des gefäßerweiternden Stickoxids katalysiert. In diesen Experimenten konnte sie jedoch keinen biologischen Effekt messen, wahrscheinlich weil die Menge des von der mRNA produzierten Proteins zu gering war. Karikó begann, aus Mangel an Fördergeldern in ihrem Labor weitgehend auf sich selbst gestellt, oder zusammen mit ihrem Kollegen Drew Weissman, dieses Phänomen genau zu untersuchen. Sie fand heraus, dass von extern applizierte mRNA drei Toll-like-Rezeptoren (TLR) des angeborenen menschlichen Immunsystems aktiviert, deren Signale wiederum über dendritische Zellen ins adaptive Immunsystem vermittelt werden. Sie ging von der Hypothese aus, dass sich diese Immunantwort durch den Einbau veränderter Nukleotidbausteine verhindern lässt. Sie orientierte sich dabei an einem natürlichen Vorbild: DNA, die an bestimmten Abschnitten mit Methylgruppen versehen war, wirkte nicht immunogen. In jahrelangen Versuchsreihen erprobte sie einen veränderten Baustein nach dem anderen. Sie fand heraus, dass man die Immunogenität von IVT mRNA besonders effektiv durch Veränderungen des Nukleotids Uridin entschärfen konnte, entweder durch dessen Ersatz durch das natürlich vorkommende Isomer Pseudouridin oder durch das Anfügen eines Schwefelmoleküls

oder einer Methylgruppe am Pyrimidinring. Diese Entdeckung war ein entscheidender Durchbruch auf dem Weg zur Verwirklichung von mRNA-Therapien. Dennoch stieß sie bei deren Publikation 2005⁵ auf wenig Resonanz. Zu sehr war das Interesse der meisten RNA-Forscher damals gerade auf kleine interferierende RNA-Moleküle (siRNAs) gerichtet, durch deren Einsatz man hoffte, das therapeutische Potential der wenige Jahre zuvor entdeckten RNA-Interferenz zu heben. Das Interesse an Pseudouridin enthaltender mRNA nahm selbst dann nicht zu, als Karikó nachwies, dass solche mRNA in Mäusen zu einer sehr hohen Proteinproduktion ohne Immunaktivierung führt⁶.

Von Tumorantigenen zu Krebsvakzinen

Uğur Şahins und Özlem Türecis Weg zur mRNA nahm seinen Ausgang in der Krebsforschung. Beginnend in den 1990er-Jahren entwickelten sie verschiedene Methoden um systematisch Tumorantigene zu identifizieren, also jene molekularen Erkennungsmerkmale, die eine Krebszelle von einer normalen unterscheidet. Mit diesem Wissen ausgestattet, fokussierten die beiden Wissenschaftler sich auf die Entwicklung von therapeutischen Krebsimpfstoffen, die dem Immunsystem eines Patienten die Antigene seines eigenen Tumors dergestalt präsentieren, dass es diesen zerstöre. Für die Entwicklung eines idealen Krebsimpfstoffs hatten Uğur Şahin und Özlem Türeci drei große Herausforderungen im Blick, die zu der Zeit als unüberwindbar galten. Erstens bestehen selbst recht kleine Tumore aus Milliarden von Krebszellen. Um Krebszellen anzugreifen, musste der Impfstoff außerordentlich potent und in der Lage sein, Milliarden von Immunzellen zu generieren. Zweitens sind die vom Immunsystem erkannten Tumor-Merkmale bei jedem Patienten individuell unterschiedlich. Şahin und Türeci erkannten, dass es eine individualisierte Impfstoff-Technologie braucht, mit der die Impfstoffe auf das Antigenprofil jedes einzelnen Patienten zugeschnitten werden können. Und drittens war es wichtig, solche maßgeschneiderten Impfstoffe sehr schnell herzustellen, damit sie dem auf die Behandlung wartenden Patienten rechtzeitig verabreicht werden können, bevor der Krebs sich weiter ausbreitet. Aus ihren präklinischen Studien leiteten die beiden Mediziner ab, dass die Entwicklung eines Impfstoffs mit all diesen Eigenschaften im Prinzip mit IVT-RNA möglich ist. In den folgenden zwei Jahrzehnten erzielten sie eine Serie wissenschaftlicher und technologischer Durchbrüche, um das volle Potential dieses Moleküls für die Krebsimmuntherapie systematisch zu erschließen.

Präzisionsarbeit und Unternehmergeist

Für eine hochpotente Impfung, die in der Lage sein sollte, bestehende Krebsmasse zum Schmelzen zu bringen, optimierten Uğur Şahin und Özlem Türeci zum einen die RNA Moleküle selbst, und entwickelten zum anderen Methoden, um den mRNA-Impfstoff in die richtigen Zellen im menschlichen Körper zu transportieren. Das grundsätzliche mRNA-assoziierte Problem, nämlich deren niedrige Proteinproduktionsmenge, lösten sie über einen anderen Weg als Katalin Karikó: Für jede einzelne der strukturellen Komponenten der mRNA (Kappe, poly-A-Schwanz sowie untranslatierte Regionen) entwickelten sie ein Design, das sowohl die intrazelluläre Stabilität synthetischer mRNA als auch deren Translation speziell in Immunzellen steigerte. Die Kombination dieser verbesserten Elemente steigerte die Antigenausbeute dramatisch. Mit den 2006 publizierten Ergebnissen dieser Arbeit⁷ gingen sie im selben Jahr als Sieger aus dem ersten Go.Bio-Wettbewerb des Bundesministeriums für Bildung und Forschung hervor,

was sie zur 2008 erfolgten Gründung ihres Unternehmens BioNTech motivierte, zu dessen finanziellem Fundament das Investment des Family Offices der Strüngmann-Brüder wurde.

Zur weiteren Verbesserung der Impfstoffwirkung entwickelte das Forscherpaar Strategien, um RNA in dendritische Zellen (DC) einzubringen, und zwar in diejenigen DCs, die sich in lymphatischem Gewebe befinden. Diese besondere Sorte von DCs sind die „Hochleistungstrainer“ des Immunsystems. Uğur Şahin und Özlem Türeci entdeckten den Mechanismus der selektiven Aufnahme von RNA in diese DCs und entwickelten mit ihrem Team eine Lipidnanopartikel-Formulierung, die diesen Mechanismus ausnutzte, um RNA zielgerichtet einzuschleusen^{8 9}. Für die Studien nutzten sie immunogene Uridin-RNA, die neben der Instruktion für den Bau der Impfantigene auch den bei Impfungen gewünschten entzündungsfördernden Adjuvanseffekt mitbringt und die von der mRNA ausgelöste Immunantwort weiter verstärkt. Damit konnten gleichzeitig eine große Anzahl von dendritischen Zellen darauf ausgerichtet werden, eine entsprechend große Zahl von Immunzellen Immunzellarmee zu generieren, die präzise nur die Krebszellen erkannte. Diese bahnbrechenden Verbesserungen bildeten die Grundlage für die erfolgreiche Nutzung der mRNA für verschiedene Anwendungen am Menschen. Das Prinzip, DCs in Lymphgewebe zu erreichen, nutzten die beiden Mediziner später auch bei der Entwicklung des COVID-19-Impfstoffes.

Schritt für Schritt zu diversen klinischen Anwendungen

In der klinischen Anwendung von Krebsimpfstoffen hat BioNTech seither große Fortschritte gemacht, auch dank der Entwicklung geeigneter Lipidnanopartikel-Formulierungen zur Verabreichung von mRNA. Mehrere der Krebsimpfstoffe von BioNTech haben die erste Phase der klinischen Prüfung erfolgreich bestanden, beispielsweise in der Indikation schwarzer Hautkrebs (Melanom)¹⁰.

Zur erfolgreichen Umsetzung ihrer originären Vision einer individualisierten Impfstoff-Technologie erarbeiteten Uğur Şahin und Özlem Türeci einen bahnbrechenden, universell für verschiedene Krebsarten einsetzbaren Lösungsansatz. Dieser umfasst alle Schritte von der Genomanalyse des Tumors des Patienten über das computergestützte individualisierte Impfstoff-Design bis zu optimierten Prozessen für die schnelle und zuverlässige Herstellung und Qualitätskontrolle des mRNA-Impfstoffes.^{11 12 13}

Als Resultat der jahrelangen Forschungsarbeit konnte für die in den klinischen Studien behandelten Patienten ein individualisierter mRNA Impfstoff durchschnittlich in wenigen Wochen zur Verfügung gestellt werden. Die dabei gewonnenen Erkenntnisse sollten später entscheidend zu der schnellen Verfügbarkeit des COVID-19 mRNA-Impfstoffes beitragen. Darüber hinaus kam dem COVID-19-Impfstoff der Einbau der verschiedenen optimierten Strukturkomponenten der mRNA zugute, die Sahin und Türeci ursprünglich für ihre Krebsimpfstoffe entwickelt hatten.

Katalin Karikó schloss sich dem Unternehmen 2013 an und forschte dort weiter an nicht-immunogener mRNA. Eine umfassende Übersicht über die Möglichkeiten der von ihnen maßgeblich mitgeschaffenen mRNA-Plattform publizierten die drei Preisträger 2014 in Nature Reviews Drug Discovery.¹⁴

Für die Entwicklung von Proteinersatztherapien sind die von Karikó entdeckten nicht-immunogenen mRNA-Moleküle unerlässlich, weil für Zwecke des therapeutischen Ersatzes körpereigene Immunantworten vermieden werden müssen, damit große Mengen an Protein produziert werden können. Während herkömmliche Proteinersatztherapien nur extrazelluläre Proteine ersetzen, können mRNA-basierte Methoden auch den Mangel an funktionellen intrazellulären Proteinen ersetzen, wie dies zum Beispiel bei der Mukoviszidose notwendig wäre. Auch zur Behandlung einer Autoimmunkrankheit wie der Multiplen Sklerose könnten Impfstoffe mit nicht-immunogener mRNA eines Tages eingesetzt werden. Jüngst veröffentlichte präklinische Forschungsergebnisse der drei Preisträger lassen dies vermuten¹⁵.

Die Basis der beiden ersten mRNA-Impfstoffe

Für die Entwicklung von Impfstoffen sind nicht-immunogene mRNA-Moleküle dagegen nicht unbedingt notwendig. Denn eine gewisse Immunstimulation, ein Wachkitzeln des Immunsystems sozusagen, ist bei jeder Impfung notwendig. Das gilt auch für Impfstoffe gegen SARS-CoV-2. In den derzeit genutzten mRNA-Impfstoffen übernehmen jedoch die Lipidnanopartikel die Immunstimulation. Mit unmodifizierter, immunogener mRNA dauert die Entwicklung eines hochwirksamen COVID-19-Impfstoffes deutlich länger als mit nicht-immunogener mRNA. Es überrascht daher nicht, dass beide mRNA-Impfstoffe, die sich im Kampf gegen die Pandemie als so erfolgreich erweisen, ebenso auf optimierten mRNA-Komponenten wie auf Katalin Karikós Entdeckung basieren.

¹ Vgl. Crick, F.H. (1958) On protein synthesis. *Symp Soc Exp Biol.* 12: 138-163, p. 153. "The Central Dogma.. states that once 'information' has passed into protein it cannot get out again. In more detail, the transfer of information from nucleic acid to nucleic acid, or from nucleic acid to protein may be possible, but transfer from protein to protein, or from protein to nucleic acid is impossible."

² Vgl. Cobb, M. (2015) Who discovered messenger RNA? *Current Biology* 25: R526-R532, and Michel Morange (2020). The black box of biology. A history of the molecular revolution. Harvard University Press: 138-147

³ Jacob, F. and Monod, J. (1961). Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *J. Mol. Biol.* 3: 318–356.

⁴ Karikó, K., Kuo, A., and Barnathan, E. (1999) Overexpression of urokinase receptor in mammalian cells following administration of the in vitro transcribed encoding mRNA. *Gene Ther* 6: 1092-1100.

⁵ Karikó, K. et al. (2005) Suppression of RNA recognition by Toll-like receptors: the impact of nucleoside modification and the evolutionary origin of RNA. *Immunity* 23: 165–175.

⁶ Karikó, K., Muramatsu, H., Welsh, F. A., Ludwig, J., Kato, H., Akira, S. and Weissman, D. (2008). Incorporation of pseudouridine into mRNA yields superior nonimmunogenic vector with increased translational capacity and biological stability. *Mol Ther* 16(11): 1833-1840.

⁷ Holtkamp, S. et al. (2006) Modification of antigen-encoding RNA increases stability, translational efficacy, and T-cell stimulatory capacity of dendritic cells. *Blood* 108: 4009–4017.

⁸ Diken M, Kreiter S, Selmi A, Britten CM, Huber C, Türeci Ö, Sahin U. Selective uptake of naked vaccine RNA by dendritic cells is driven by macropinocytosis and abrogated upon DC maturation. *Gene Ther.* 2011 Jul;18(7):702-8.

-
- ⁹ Kranz LM, Diken M, Haas H, Kreiter S, Loquai C, Reuter KC, Meng M, Fritz D, Vascotto F, Hefesha H, Grunwitz C, Vormehr M, Hüseemann Y, Selmi A, Kuhn AN, Buck J, Derhovanessian E, Rae R, Attig S, Diekmann J, Jabulowsky RA, Heesch S, Hassel J, Langguth P, Grabbe S, Huber C, Türeci Ö, Sahin U. Systemic RNA delivery to dendritic cells exploits antiviral defence for cancer immunotherapy. *Nature*. 2016 16;534(7607):396-401.
- ¹⁰ Sahin U, Oehm P, Derhovanessian E, Jabulowsky RA, Vormehr M, Gold M, Maurus D, Schwarck-Kokarakis D, Kuhn AN, Omokoko T, Kranz LM, Diken M, Kreiter S, Haas H, Attig S, Rae R, Cuk K, Kemmer-Brück A, Breitzkreuz A, Tolliver C, Caspar J, Quinkhardt J, Hebich L, Stein M, Hohberger A, Vogler I, Liebig I, Renken S, Sikorski J, Leierer M, Müller V, Mitzel-Rink H, Miederer M, Huber C, Grabbe S, Utikal J, Pinter A, Kaufmann R, Hassel JC, Loquai C, Türeci Ö. An RNA vaccine drives immunity in checkpoint-inhibitor-treated melanoma. *Nature*. 2020 585(7823):107-112.
- ¹¹ Kreiter S, Vormehr M, van de Roemer N, Diken M, Löwer M, Diekmann J, Boegel S, Schrörs B, Vascotto F, Castle JC, Tadmor AD, Schoenberger SP, Huber C, Türeci Ö, Sahin U. Mutant MHC class II epitopes drive therapeutic immune responses to cancer. *Nature*. 2015 Apr 30;520(7549):692-6.
- ¹² Sahin U, Derhovanessian E, Miller M, Kloke BP, Simon P, Löwer M, Bukur V, Tadmor AD, Luxemburger U, Schrörs B, Omokoko T, Vormehr M, Albrecht C, Paruzynski A, Kuhn AN, Buck J, Heesch S, Schreeb KH, Müller F, Ortseifer I, Vogler I, Godehardt E, Attig S, Rae R, Breitzkreuz A, Tolliver C, Suchan M, Martic G, Hohberger A, Sorn P, Diekmann J, Ciesla J, Waksman O, Brück AK, Witt M, Zillgen M, Rothermel A, Kasemann B, Langer D, Bolte S, Diken M, Kreiter S, Nemecek R, Gebhardt C, Grabbe S, Höller C, Utikal J, Huber C, Loquai C, Türeci Ö. Personalized RNA mutanome vaccines mobilize poly-specific therapeutic immunity against cancer. *Nature*. 2017, 547(7662):222-226.
- ¹³ Sahin U, Türeci Ö. Personalized vaccines for cancer immunotherapy. *Science*. 2018;359(6382):1355-1360.
- ¹⁴ Sahin, U., Karikó, K., and Türeci, Ö. (2014) mRNA-based therapeutics--developing a new class of drugs. *Nat Rev Drug Discov* 13: 759-780.
- ¹⁵ Krienke, C. et al. (2021) A noninflammatory mRNA vaccine for treatment of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Science* 371: 145-153.