

Neurowissenschaften

Per Anhalter ins Axon: Neuronale Mitochondrien transportieren mRNA

ALINA RÜHMKORF¹, ANGELIKA B. HARBAUER^{1,2}

¹MAX-PLANCK-INSTITUT FÜR BIOLOGISCHE INTELLIGENZ, MARTINSRIED

²TU MÜNCHEN, INSTITUT FÜR NEURONALE ZELLBIOLOGIE

Local translation of mRNAs supports the survival and identity of the axonal and dendritic neuronal sub-compartments. Interestingly, one of the largest categories of locally synthesized proteins are mitochondrial proteins. Recent advances have shown that axonal RNA transport is linked to the transport of several organelles. Here, we describe how mitochondrial hitch-hiking provides an elegant solution to transport mRNAs into the axon to sustain local mitochondrial homeostasis.

DOI: 10.1007/s12268-023-1954-3
© Die Autorinnen 2023

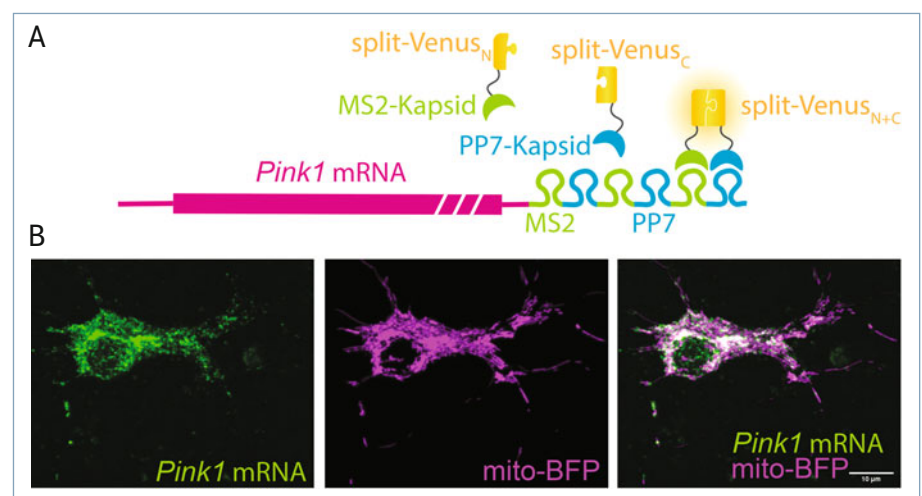
■ Nervenzellen, auch Neurone genannt, zeichnen sich durch ihre stark polarisierte Morphologie aus, die gleichzeitig Grundlage ihrer Funktion ist. Vielverzweigte neuronale Fortsätze, genannt Dendriten, empfangen die Signale anderer Neurone und leiten sie zum Zellkörper weiter. Im Zellkörper werden diese Signale integriert und mit einem langen, axonalen Fortsatz an andere Empfängerorgane wie weitere Neurone oder Muskeln weitergeleitet. Je nach Art des Neurons können Axone von wenigen Mikrometern bis über einen Meter lang werden und sich mehr oder weniger stark verästelten. Diese morphologischen Einheiten des Neurons besitzen ein distinktes Proteom und benötigen ein dynamisches Zusammenspiel von reguliertem Transport und lokaler Proteinbiosynthese (Translation), vor allem bei kurzlebigen Proteinen. Trotz der tagelangen Transportwege galt die lokale Translation in Axonen lange als fraglich, da (elektronen-)mikroskopisch kaum Ribosomen in Axonen detektiert werden können. Doch dank neuester Analysemethoden konnte die lokale Translation von Proteinen auch in Axonen gezeigt werden [1].

Mitochondriale Homöostase in Neuronen

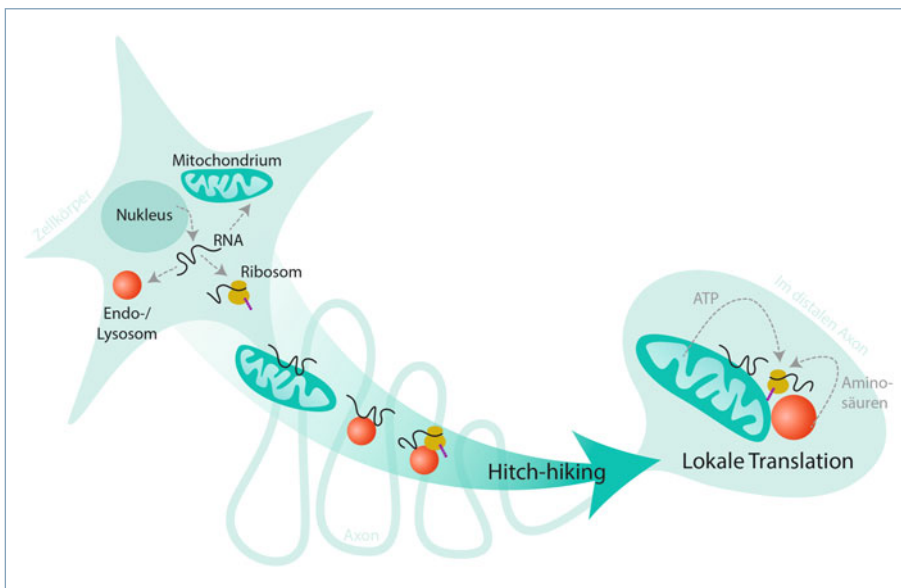
Axone benötigen viel Energie in Form von ATP, welches durch die Mitochondrien zur

Verfügung gestellt wird. Dafür spalten sich einzelne Organellen vom mitochondrialen Netzwerk im Zellkörper ab und werden entlang des Mikrotubuli-Cytoskeletts transportiert. Schätzungsweise enthält ein einzelnes dopaminerges Neuron bis zu zwei Millionen Mitochondrien, wobei sich über 90 Prozent dieser Mitochondrien im Axon aufhalten [2].

Für eine konstante Energieversorgung müssen die Mitochondrien ständig mit frisch synthetisierten Proteinen versorgt werden sowie sich regelmäßigen Qualitätskontrollen unterziehen. Beschädigte Mitochondrien werden über eine spezielle Form der Autophagie, genannt Mitophagie, aus der Zelle entfernt. Die bekannteste Form der Mitophagie nutzt die mitochondrial lokalisierte Kinase PINK1 (*PTEN-induced kinase 1*) und die E3-Ubiquitin Ligase Parkin. Mutationen dieser Proteine führt zu familiären Formen der Parkinson'schen Krankheit. In gesunden Mitochondrien wird PINK1 durch eine Protease in der Innenmembran ständig abgebaut, jedoch in beschädigten Mitochondrien stabilisiert, um Parkin zu rekrutieren [3]. Durch diesen spezifischen Abbau ist PINK1 ein sehr kurzlebiges Protein mit einer geschätzten Halbwertszeit von 30 Minuten. Die Assoziation mit der Parkinson'schen Krankheit verdeutlicht, dass die PINK1/Parkin-Mitophagie im Neuron von Bedeutung ist, doch die kurze Halbwertszeit des PINK1-Proteins stellt eine Herausforderung für die



▲ **Abb. 1:** mRNA-Imaging in Neuronen. **A**, schematische Darstellung der Visualisierung der *Pink1*-mRNA mithilfe des MS2/PP7-split-Venus-Systems. Durch die Bindung der Kapsid-Proteine an ihre entsprechenden Bindestellen auf der *Pink1*-mRNA werden die beiden Hälften von split-Venus nah genug aneinander gebracht, um sich zu einem fluoreszierenden Protein zu verbinden. **B**, Beispiel eines transfizierten Neurons das dieses System exprimiert. In Grün ist die MS2-PP7-getaggte *Pink1*-mRNA dargestellt, in Magenta ein in die mitochondriale Matrix importiertes, blau fluoreszierendes Protein (mito-BFP).



▲ **Abb. 2:** mRNA *hitch-hiking* auf Organellen. Mitochondrien, Lysosomen und Endosomen transportieren mRNA. Endosomen transportieren auch Ribosomen, die lokale Synthese findet dann an Endosomen-Mitochondrien-Kontaktstellen statt.

langen Transportwege ins Axon dar. Die lokale Synthese von PINK1 ist daher eine elegante Lösung, um einen ständigen Nachschub an frisch synthetisierter PINK1 zu gewährleisten. Die lokale Translation in Axonen galt lange als fraglich, da (elektronen-)mikroskopisch kaum Ribosomen in den Axonen detektiert werden konnten. Dennoch könnte dieser Prozess das konstante Gleichgewicht von Synthese und Abbau von PINK1 und damit die mitochondriale Qualitätskontrolle unabhängig der mitochondrialen Lokalisation erklären. Doch wie gelangt die für PINK1 codierende mRNA in die distalen Regionen der Zelle?

Visualisierung des RNA-Transports

Um diese Frage zu beantworten, mussten wir eine Möglichkeit finden, die Bewegung der *Pink1*-mRNA in kultivierten Neuronen sichtbar zu machen. Einer der meistgenutzten Ansätze des RNA-Imaging wurde von Rob Singer und Kollegen entwickelt und nutzt eine Sequenz aus dem Genom des MS2-Phagen, die spezifisch von dem Kapsid-Protein dieses Phagen gebunden wird und an ein fluoreszierendes Protein gebunden ist [4]. Eine zusätzliche Reduktion des cytosolischen Hintergrunds kann durch Nutzung zweier unterschiedlicher Sequenzen und jeweils dazu passender Kapsid-Proteine erreicht werden (MS2 und PP7). Hierbei werden die Kapsid-Proteine mit jeweils einer Hälfte von split-Venus gekoppelt. Erst nach Bindung an

die alternierenden MS2- und PP7-Bindestellen im 3'UTR der *Pink1*-mRNA wird ein fluoreszierendes Signal durch Komplementierung von Venus erzeugt (**Abb. 1**). Dies erlaubte uns zum ersten Mal den Ko-Transport der *Pink1*-mRNA mit neuronalen Mitochondrien zu beobachten [5].

Hitch-hiking und lokale Translation an Organellen

Die *Pink1*-mRNA wird für den Transport ins Axon durch einen Komplex von zwei Proteinen an die mitochondriale Außenmembran gebunden, nämlich durch die RNA-bindende Domäne von Synjaptojanin 2 (SYNJ2) und dessen mitochondrialem Interaktionspartner SYNJ2BP (*SYNJ2 binding protein*). Dadurch kann die *Pink1*-mRNA ohne zusätzlichen Energieaufwand mit dem Mitochondrium transportiert werden. Die RNA fährt sozusagen „per Anhalter“ (*hitch-hiking*). Das Konzept des *hitch-hikings* ist nicht auf die *Pink1*-mRNA und Mitochondrien beschränkt, denn auch Endosomen und Lysosomen können verschiedene mRNAs transportieren [6,7]. Interessanterweise sind die Transkripte für mitochondrial lokalisierte Proteine nicht exklusiv an den Mitochondrien zu finden, sondern nutzen auch die Endosomen zum *hitch-hiking* oder werden als separate mRNA-Granula transportiert. Inwiefern die unterschiedlichen Transportwege ein redundantes System bilden oder ob der Transportweg einer mRNA einen Einfluss auf ihre

lokale Verfügbarkeit und damit die lokale mitochondriale Funktion hat, muss noch untersucht werden.

Allerdings laufen die verschiedenen Transportwege mitochondrialer Proteine bei der lokalen Translation wieder zusammen, denn es wurde beobachtet, dass ein großer Teil der axonalen Proteinsynthese an Kontaktstellen zwischen Mitochondrien und Endosomen stattfindet (**Abb. 2**, [7]). Welche Proteine diese Kontaktstellen vermitteln, ist unklar. Das *Pink1*-mRNA-bindende Protein SYNJ2 ist auch in die Endozytose involviert, da es eine Phosphoinositol-5'-phosphatase-Domäne enthält. Diese ist zur Interaktion mit endosomalen Proteinen und Lipiden nötig. Daher liegt die Hypothese nahe, dass SYNJ2 ein wesentlicher Bestandteil der Endosom-Mitochondrien-Kontaktstellen sein könnte.

Die Translation an solchen Kontaktstellen könnte auch erklären, warum Ribosomen im Axon so schwer elektronenmikroskopisch zu identifizieren sind. Denn die Nähe mehrerer Membranen kann die Identifikation einzelner Mono- oder Polysomen erschweren. Der Transport der Ribosomen ins Axon erfolgt möglicherweise ebenfalls durch die Assoziation mit Endosomen [8], während die Mitochondrien neben den assoziierten mRNAs auch die nötige Energiequelle für die lokale Translation bereitstellen könnten (**Abb. 2**). Tatsächlich ist z. B. die lokale Translation von Cytoskelettbausteinen, welche für die Verästelung von Axonen nötig sind, abhängig von der ATP-Produktion eines dort verankerten Mitochondriums [9].

Bedeutung für neurodegenerative Erkrankungen

Warum eine homozygote Mutation im *PINK1*-Gen, die die Mitophagie in allen Körperzellen beeinträchtigen sollte, spezifisch zur Degeneration von dopaminergen Neuronen und der symptomatischen Ausprägung der Parkinson'schen Erkrankung führt, ist unklar. Das mitochondriale *hitch-hiking* der *Pink1*-mRNA wurde bislang nur in glutamatergen Projektionsneuronen beobachtet, die zu den längsten Neuronen gehören. Inwiefern dies auch in den kürzeren, aber intensiv verzweigten axonalen Fortsätzen der dopaminergen Neuronen geschieht, oder ob die lokale Verfügbarkeit von PINK1 ein limitierender Faktor in dopaminergen Neuronen ist, muss noch untersucht werden.

Krankheitsrelevante Mutationen in dem endosomalen Protein Rab7 inhibieren auch die lokale Translation an Mitochondrien-

Endosom-Kontaktstellen [7], aber führen im Gegensatz zu *PINK1*-Mutationen zu der peripheren Charcot-Marie-Tooth-Neurodegeneration (Typ 2B). Interessanterweise sind hier wiederum die langen sensorimotorischen Axone betroffen. Zu guter Letzt konnte gezeigt werden, dass eine pathogene Mutation in dem RNA-bindenden Protein TDP-43 (*TAR-DNA-binding-protein 43*, assoziiert mit amyotropher lateraler Sklerose) eine Fehllokalisation dieses normalerweise nukleären Proteins ins Cytoplasma verursacht, und dies die lokale Translation mitochondrialer Proteine speziell in Motoneuronen hemmt [10]. Es scheinen demnach speziell die langen Neurone des sensorimotorischen Systems zu sein, die am meisten von der lokalen Synthese (mitochondrialer) Protein profitieren. ■

Literatur

- [1] Rangaraju V, tom Dieck S, Schuman EM (2017) Local translation in neuronal compartments: how local is local? *EMBO Rep* 18: 693–711
- [2] Misgeld T, Schwarz TL (2017) Mitostasis in Neurons: Maintaining Mitochondria in an Extended Cellular Architecture. *Neuron* 96: 651–666
- [3] Pickles S, Vigíé P, Youle RJ (2018) Mitophagy and Quality Control Mechanisms in Mitochondrial Maintenance. *Curr Biol* 28: R170–R185
- [4] Bertrand E, Chartrand P, Schaefer M et al. (1998) Localization of ASH1 mRNA particles in living yeast. *Mol Cell* 2: 437–445
- [5] Harbauer AB, Hees JT, Wanderoy S et al. (2022) Neuronal mitochondria transport Pink1 mRNA via synaptojanin 2 to support local mitophagy. *Neuron* 110: 1516–1531.e9
- [6] Cioni JM, Lin JQ, Holtermann AV et al. (2019) Late Endosomes Act as mRNA Translation Platforms and Sustain Mitochondria in Axons. *Cell* 176: 56–72.e15
- [7] Liao YC, Fernandopulle MS, Wang G et al. (2019) RNA Granules Hitchhike on Lysosomes for Long-Distance Transport, Using Annexin A11 as a Molecular Tether. *Cell* 179: 147–164.e20
- [8] Schuhmacher JS, tom Dieck S, Christoforidis S et al. (2021) The Novel Rab5 Effector FERRY Links Early Endosomes With the Translation Machinery. SSRN, DOI: <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3877557>
- [9] Spillane M, Ketschek A, Merianda TT et al. (2013) Mitochondria coordinate sites of axon branching through localized intra-axonal protein synthesis. *Cell Rep* 5: 1564–1575
- [10] Altman T, Ionescu A, Ibraheem A et al. (2021) Axonal TDP-43 condensates drive neuromuscular junction disruption through inhibition of local synthesis of nuclear encoded mitochondrial proteins. *Nat Commun* 12: 6914

Funding note: Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.
Open Access: Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Angelika Harbauer
 Max-Planck-Institut für Biologische Intelligenz
 Am Klopferspitz 18
 D-82152 Martinsried
angelika.harbauer@bi.mpg.de

AUTORINNEN



Angelika Harbauer

2004–2014 Studium der Molekularen Medizin an der Universität Freiburg mit anschließender Promotion am Institut für Biochemie unter Prof. Dr. Ch. Meisinger. 2015–2019 Postdoktorandin an der Harvard Medical School im Labor von Prof. Dr. Th. Schwarz. Seit 2019 Max Planck Gruppenleiterin am Max-Planck-Institut für Biologische Intelligenz und Tenure-Track Professorin an der TU München.



Alina Rühmkorf

2018–2021 Studium an der Universität Göttingen. Seit 2021 Doktorandin am Max-Planck-Institut für Biologische Intelligenz, Martinsried.