

Britta Qualmann

Institut für Biochemie I,
Friedrich-Schiller-Universität Jena

**Koordination postsynaptischer Plastizitätsmechanismen durch
molekulare Verknüpfung der Modulationen von
Membrantransportprozessen und synaptischer Organisation**



Koordination postsynaptischer Plastizitätsmechanismen
durch molekulare Verknüpfung der Modulationen von
Membrantransportprozessen und synaptischer Organisation

Projektleiterin

Prof. Dr. rer. nat. Britta Qualmann, Institut für Biochemie I, Friedrich-Schiller-Universität Jena

Zusammenfassung

Morphologieveränderungen, d.h. Veränderungen der Eigenschaften und Ausdehnungen subzellulärer Kompartimente, sind eine wesentliche Basis von neuronaler Plastizität, einer ausschlaggebenden Funktion für Lernen und Gedächtnis und Angriffspunkt für eine Reihe neurodegenerativer bzw. neuropathologischer Prozesse. Es ist daher naheliegend, dass die molekularen Verbindungsglieder zwischen Aktincytoskelett und Membrantransport, die wir entdeckt haben und molekular und zellbiologisch charakterisieren, nicht nur Effektoren der frühen Morphogenese darstellen, sondern auch als räumliche und funktionelle Organisatoren in Nervenendigungen fungieren.

Eine Verknüpfung von cytoskelettalen und Cytomatrixkomponenten mit Membrantransportprozessen könnte unseren neuesten Beobachtungen zufolge auch in der Organisation und Funktion von postsynaptischen Spezialisierungen, die den postsynaptischen Rezeptions- und Signaltransduktionsapparat beherbergen, eine wichtige Rolle spielen. In Übereinstimmung mit unserer Hypothese zeigen Manipulationen der Expressionsniveaus der Verbindungsproteine in Neuronen dramatische morphologische Effekte. Wir gehen gegenwärtig der Hypothese nach, dass eine kürzlich entdeckte Syndapin-Interaktion mit einem Adaptorprotein der postsynaptischen Dichte eine molekulare Basis für diese Effekte darstellt und untersuchen die Bedeutung dieser Komplexe für die Kontrolle der Morphologie von postsynaptischen *spines* und für synaptische Plastizität.

Diese Studien werden es uns erlauben, die molekularen Grundlagen der Bildung, der Reifung, des Erhalts und der Reorganisation spezialisierter neuronaler Strukturen zu erhellen und damit Einsichten in für Plastizität und Lernprozesse neuronaler Netzwerke relevante Prozesse zu gewinnen.

Zielstellung des Projektes

Von elementarer Bedeutung für Lern- und Gedächtnisprozesse ist die enorme Plastizität in der neuronalen Informationsverarbeitung, für welche Modulationen von Struktur wie Funktion an der Kontaktstelle zwischen Nervenzellen unabdingbar sind. Diese asymmetrisch aufgebauten Zell-Zell-Kontakte, die chemischen Synapsen, ermöglichen eine gerichtete Signalübertragung und sind von zentraler Bedeutung für die kognitiven und integrativen Leistungen des Gehirns. An den Synapsen setzt die Calcium-abhängige Verschmelzung von synaptischen Vesikeln mit der präsynaptischen Plasmamembran Botenstoffe frei, die nach ihrer Diffusion durch den synaptischen Spalt an der postsynaptischen Seite durch plasmamembranständige Neurotransmitter-Rezeptoren gebunden werden. Intrazellulär sind

die Neurotransmitterrezeptoren im dichten Proteingerüst der sogenannten postsynaptischen Dichte (PSD) verankert. In diesen hochorganisierten Cytomatrixstrukturen, die den aktiven Zonen der präsynaptischen Neurotransmitterfreisetzung genau spiegelbildlich gegenüberliegen, sind Zelladhäsionsmoleküle, Rezeptorproteine, Ionenkanäle und Signaltransduktionsproteine in hoher Konzentration in ein Netzwerk aus cytoskelettalen Elementen und Adapter-Proteinen eingebettet. Diese komplexe, hochorganisierte Struktur der PSD darf allerdings nicht als statisch angesehen werden, denn um den Anforderungen von Wachstum, Adaptation und Plastizität gerecht werden zu können, sind dynamische Reorganisationen sowohl der intrazellulären Anteile als auch der Membran-integrierten Strukturen in Abhängigkeit von verschiedenen Stimuli unabdingbar. Die PSD ist in Neuronen des Zentralnervensystems von Säugetieren in vielen Fällen in besonderen morphologischen Strukturen, den dendritischen *spines* (Dornfortsätzen) untergebracht. Dynamische Reorganisationen des Cytoskeletts und des Membranrezeptorbesatzes *in spines* stellen synaptische Plastizitätsmechanismen dar, welche zusammen als strukturelle Basis für Lern- und Gedächtnisfunktionen betrachtet werden.

Wir untersuchen ausgehend von molekularen Verbindungsgliedern, wie z. B. den Proteinen der Syndapinfamilie (Kessels & Qualmann, 2004), die funktionellen Beiträge von Cytoskelett und Cytomatrixstrukturen zu Membrantransportprozessen. Im spezialisierten Kompartiment der postsynaptischen Dichte ist es uns gelungen, ProSAP/Shanks als Bindungspartner für Syndapine zu identifizieren. Unsere Vorarbeiten in nicht-neuronalen Zellen zeigen, dass Syndapine wesentliche Rollen in der Aktincytoskelettdynamik, der Rezeptor-vermittelten Endocytose und dem endosomalen Recycling von Membranrezeptoren spielen - zelluläre Funktionen, die für die postsynaptische Plastizität von ausschlaggebender Bedeutung sind - und dass Syndapine darüber hinaus funktionelle Vernetzungen zwischen diesen verschiedenen zellulären Funktionen gewährleisten. Im Zuge dieses Projektes wollen wir daher durch die Analyse der Syndapin-Interaktionen mit den Gerüstproteinen der ProSAP/Shank-Familie der Frage nachgehen, wie Syndapine mit den organisierenden Strukturen der Postsynapse verknüpft sind und die funktionelle Rolle von Syndapinen in der strukturellen Organisation und morphologischen Modulation postsynaptischer *spines* erhellen.

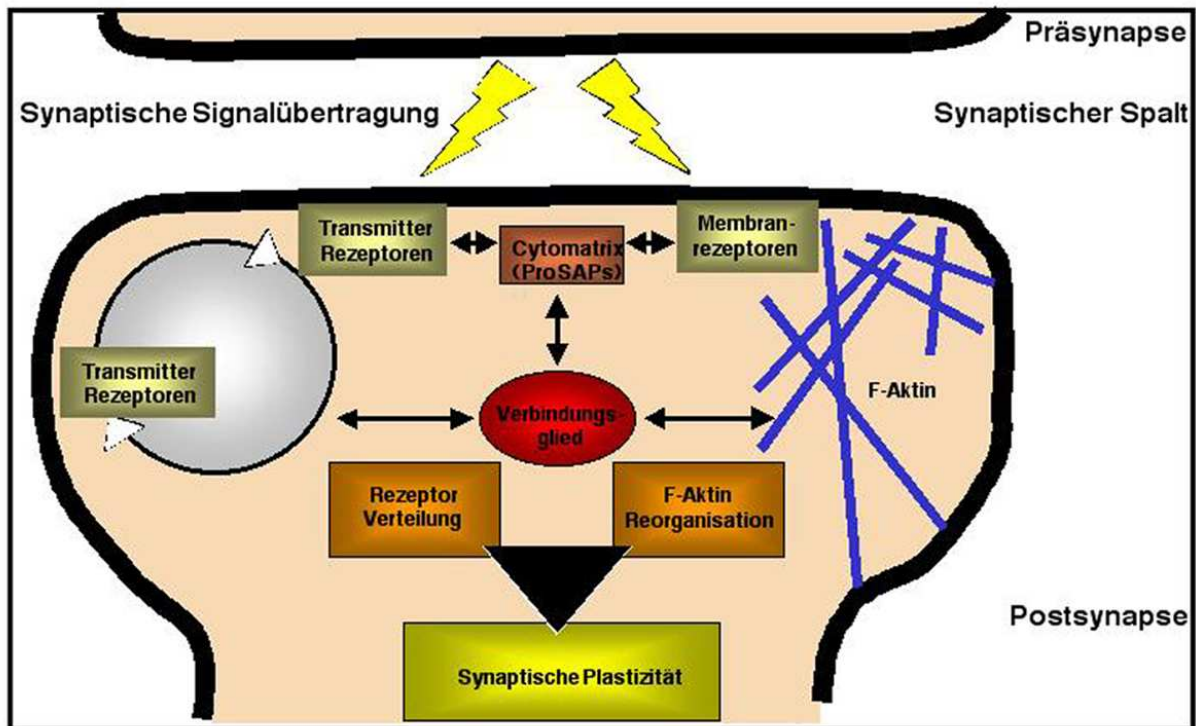


Abbildung 1. Die Signalübertragung von der präsynaptischen (Signal-sendenden) zur postsynaptischen (Signal-empfangenden) Zelle wird durch Veränderung der Verfügbarkeit von Neurotransmitterrezeptoren auf der postsynaptischen Membran sowie durch Reorganisation der postsynaptischen Cytomatrixstrukturen und des Aktincytoskeletts moduliert (synaptische Plastizität). Diese Prozesse sind miteinander koordiniert und stellen molekulare Grundlagen für Lernen und Gedächtnis dar, da sie veränderliche Bewertungen einlaufender Signale erlauben.

Ergebnisse

Die Rolle von Syndapinen in der Reorganisation postsynaptischer Morphologie

Neurone des Zentralnervensystems von Säugetieren weisen in vielen Fällen postsynaptische Spezialisierungen (*spines*, Dornfortsätze) auf, die neben den molekularen Maschinerien für die endocytotische Aufnahme, das Recycling und die Exocytose von postsynaptischen Membranrezeptoren auch umfangreiche Cytoskelett- und Cytomatrixstrukturen beinhalten. Unsere Vorarbeiten haben gezeigt, dass Syndapine Teil dieser Strukturen sind. Zur Aufklärung der molekularen Mechanismen, mittels derer Syndapine mit den organisierenden Strukturen in der Postsynapse verknüpft sind und mittels derer sie postsynaptische Organisation und Morphologie modulieren können, haben wir zunächst die Wechselwirkungen von Syndapinen mit den PSD-Proteinen der ProSAP/Shank-Familie näher untersucht und konnten das Vorliegen von Syndapin/ProSAP-Proteinkomplexen im Gehirn in der Tat experimentell zeigen. Auch die überlappende subzelluläre Lokalisation von Syndapin I mit ProSAP/Shank-Proteinen in neuronalen Primärkulturen ist im Einklang mit der Assoziation dieser beiden Komponenten in Nervenzellen.

Funktion von Syndapinen in der Ausbildung und Reorganisation postsynaptischer Morphologie

Syndapine interagieren mit Komponenten der Aktinpolymerisationsmaschinerie, induzieren cortikale Cytoskelettorganisationen (Qualmann et al., 1999; Qualmann & Kelly, 2000; Kessels & Qualmann, 2006) und sind mit Gerüstproteinen der postsynaptischen Dichte, den ProSAPs/Shanks, vernetzt (siehe oben). Zusammengenommen legen diese Befunde eine Rolle von Syndapinen in der Ausbildung und/oder plastischen Reorganisation postsynaptischer Morphologie nahe.

Da sich synaptische Plastizität auch in morphologischen Veränderungen niederschlägt und Modulationen neuronaler Morphologie und Organisation zudem für die Entwicklung und Funktion neuronaler Netzwerke von grundlegender Bedeutung sind, wollten wir die Effekte der Manipulationen der Expressionsniveaus von Syndapinen auf die Bildung von dendritischen Fortsätzen und auf die Ausbildung von mit funktioneller Reife korrelierender Morphologien dieser zellulären Spezialisierungen analysieren. Die Effekte auf die Form, Länge und Dichte von *spines*, die die postsynaptische Maschinerie beherbergen, wurden im Detail analysiert und quantifiziert.

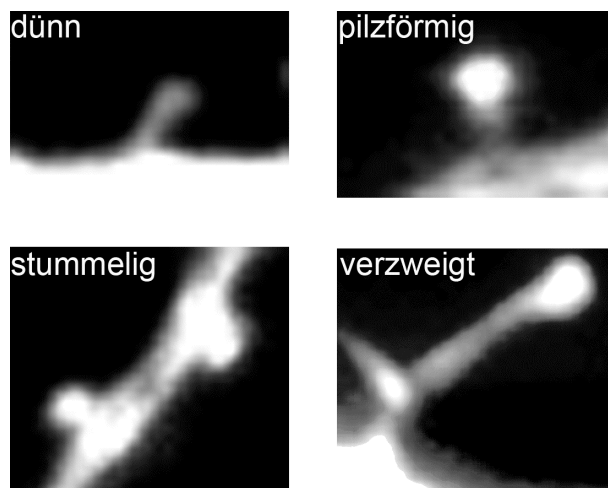


Abbildung 2. Typische Klassen von dendritischen Dornfortsätzen (*spines*), die am Signal-empfangenden Neuron den Rezeptions- und Signaltransduktionsapparat beherbergen.

Unsere biochemischen Analysen belegen eindrucksvoll die Interaktion von Syndapinen mit ProSAP/Shank-Proteinen. Syndapine könnten in Abhängigkeit von ProSAPs/Shanks, die bereits zu einem frühen Entwicklungszeitpunkt eine postsynaptische Lokalisation aufweisen (Bresler et al., 2004), zur Postsynapse rekrutiert werden und dort zur Reifung und Funktion der Postsynapsen beitragen. Um der Hypothese einer Rolle von Syndapinen in der Reifung von *spines* nachzugehen und die zugrunde liegenden molekularen Mechanismen zu analysieren, haben wir die Köpfe von reifen pilzförmigen *spines* auf Veränderungen analysiert, wenn wir Syndapine alleine oder in Kombination mit ProSAPs/Shanks überexprimieren. Die Analyse der Häufigkeitsverteilung der verschiedenen morphologischen Klassen von *spines*, die zum Teil unterschiedliche funktionelle Zustände repräsentieren, zeigte konsistenterweise eindrucksvoll, dass Syndapin/ProSAP-Komplexe tatsächlich als Organisatoren von postsynaptischen Spezialisierungen fungieren. Die gemeinsame Expression von Syndapin I mit ProSAP1 führte hierbei zu einem deutlichen Anstieg des Anteils an reifen *spines* mit klar erkennbarem Kopf, d.h. der Anteile der pilzförmigen und stummeligen *spines*, während parallel der Anteil von unreifen dünnen *spines* und Filopodien dramatisch von über 30% in Kontrollneuronen auf 7% in SyndapinI/ProSAP1-koexprimierenden Zellen abfiel. Zusätzlich konnten wir auch eine signifikante Vergrößerung der *spine*-Köpfe beobachten.

Diese Ergebnisse weisen damit auf eine Rolle von Syndapin/ProSAP-Komplexen in der Reifung von postsynaptischen Strukturen hin. Die Ausbildung des *spine*-Kopfes, die durch Syndapin/ProSAP-Komplexe vermittelt wird, und damit die Entwicklung von unreifen filopodienartigen dendritischen Fortsätzen zu reifen pilzförmigen und stummeligen *spines* ist die strukturelle Voraussetzung für die Bildung einer funktionsfähigen exzitatorischen Postsynapse, die das synaptische Signal empfangen und weiterleiten kann. Eine Kopfverbreiterung ist darüber hinaus eine wesentliche strukturelle Voraussetzung für die Langzeitpotenzierung, die als zelluläres Modell für Lern- und Gedächtnisprozesse angesehen wird – eine Verbreiterung des postsynaptischen Kompartiments könnte dabei Raum schaffen, um den Besatz mit Neurotransmitterrezeptoren zu erhöhen und damit die synaptische Stärke zu erhöhen.

Koordination von postsynaptischer Struktur und Organisation mit der Dynamik des kortikalen Aktincytoskletts

Da wir die ProSAP-Interaktionspartner Syndapine als Modulatoren des kortikalen Aktincytoskletts charakterisiert haben (Qualmann & Kelly, 2000; Kessels & Qualmann, 2002; Kessels & Qualmann, 2006), sind wir im Folgenden der spannenden Arbeitshypothese nachgegangen, dass die ProSAP-induzierten Vergrößerungen von *spine*-Köpfen über eine Förderung der lokalen Bildung von Aktinfilamenten bewirkt werden. In der Tat verhinderte eine gleichzeitige Inhibition oder Suppression einer wichtigen zellulären Maschinerie zur Bildung von Aktinfilamenten die ProSAP-vermittelte Vergrößerung von *spine*-Köpfen und die *spines* waren von denen in Kontrollzellen nicht mehr unterscheidbar (Haeckel et al., 2008).

Zusammengenommen erlauben es uns die im Rahmen dieses Projektes durchzuführenden Studien damit, die molekularen Grundlagen der Bildung, der Reifung, des Erhalts und der Reorganisation von postsynaptischen Spezialisierungen und der Modulationen ihrer Funktion zu erhellen und damit Einsichten in für Bildung und Plastizität neuronaler Netzwerke relevante Prozesse zu gewinnen.

Zitierte Literatur

- Böckers, T.M., Segger-Junius, M., Iglauer, P., Bockmann, J., Gundelfinger, E.D., Kreutz, M.R., Richter, D., Kindler, S., Kreienkamp, H.-J. (2004) *Mol. Cell. Neurosci.* 26, 182-190.
- Boeckers, T.M., Liedtke, T., Spilker, C., Dresbach, T., Bockmann, J., Kreutz, M.R. & Gundelfinger, E.D. (2005). *J. Neurochem.* 92, 519-524.
- Bresler, T., Shapira, M., Boeckers, T., Dresbach, T., Futter, M., Garner, C.C., Rosenblum, K., Gundelfinger, E. D. & Ziv, N. F. (2004). *J. Neurosci.* 11, 1507-1520.
- Haeckel, A., Ahuja, R., Gundelfinger, E.D., Qualmann, B. & Kessels, M. M. (2008). *J. Neurosci.* 28, 10031-10044.
- Kessels, M.M. & Qualmann, B. (2002). *EMBO J.* 21, 6083-6094.
- Kessels, M.M. & Qualmann, B. (2004). *J. Cell Sci.* 117, 3077-3086.
- Kessels, M.M. & Qualmann, B. (2006). *J. Biol. Chem.* 281, 13285-13299.
- Qualmann, B., Roos, J., DiGregorio, P.J. & Kelly, R.B. (1999). *Mol. Biol. Cell* 10, 501-513.
- Qualmann, B. & Kelly, R.B. (2000). *J. Cell Biol.* 148, 1047-1061.