

## DFG Forschergruppe FOR 2419 “Plastizität versus Stabilität: Mechanismen der Synapsenstärke”



Mit Beginn des Jahres 2016 hat die von der Deutschen Forschungsgemeinschaft geförderte Forschergruppe FOR 2419 ihre Arbeit am Zentrum für Molekulare Neurobiologie Hamburg (ZMNH) des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf (UKE) aufgenommen. Als Teil des Hamburg Center of Neuroscience (HCNS) ergänzt sie Aktivitäten zum Forschungsschwerpunkt Neurowissenschaften am UKE und der Universität Hamburg.

Im Rahmen von sieben Teilprojekten erforschen Wissenschaftler der FOR 2419 aktivitätsabhängige Mechanismen der strukturellen und funktionellen Modifizierbarkeit von Synapsen auf molekularer und zellulärer Ebene. Mittels optogenetischer Verfahren soll eine Brücke zwischen molekularer Synapsenforschung und der systemischen Untersuchung neuronaler Netzwerke und kognitiver Leistungen wie Lernen und Erinnerung entstehen. Die Aufklärung der molekularen Mechanismen, die synaptischer Plastizität zugrunde liegen, wird langfristig zum besseren Verständnis von Erkrankungen des Nervensystems und kognitiver Störungen (z. B. Demenzen) beitragen.

Die molekularen Komponenten einer Synapse sind durch Diffusion und aktiven Transport ständig in Bewegung und unterliegen einem schnellen Turnover. Zentrale Fragen der FOR 2419 sind: i.) Welche Mechanismen gewährleisten stabile neuronale Verschaltungen in einem solch dynamischen System? und ii.) Wie kodieren diese Mechanismen langfristige Gedächtnisprozesse, insbesondere wenn es auf denselben Neuronen sowohl stabile als auch hochdynamische Synapsen gibt? Um diesen Fragen nachzugehen, werden subzellulär agierende aktivitätsabhängige Regulationsmechanismen für die Stabilisierung einzelner und kooperierender glutamaterger Synapsen untersucht.

Die Teilprojekte der FOR 2419 umfassen eng miteinander verknüpfte Aspekte synaptischer Plastizität. Durch Kombination moderner zellbiologischer, elektrophysiologischer und optogenetischer Methoden mit State-of-the-Art Mikroskopie-Techniken eröffnen sich methodische Ansätze, die vor einigen Jahren in dieser Form noch nicht möglich waren. Im Einzelnen sollen folgende Aspekte näher untersucht werden:

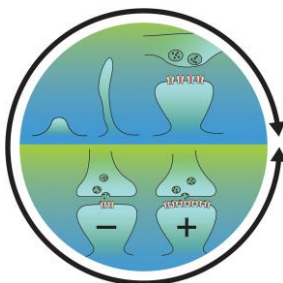
- a) Spezifität des aktivitätsabhängigen Zytoskelett-gebundenen Transports von synaptischen Komponenten im postsynaptischen Kompartiment
- b) Rolle des endoplasmatischen Retikulums für die strukturelle Stabilität und Langzeitplastizität von Synapsen
- c) Änderungen der synaptischen Feinstruktur bei Langzeitpotenzierung (LTP)
- d) Einfluss von spezifischen Aktivitätsmustern auf die Lebensdauer und Stärke von Synapsen sowie die Konnektivität neuronaler Netzwerke

Der permanente Umsatz von Neurotransmitter-Rezeptoren, Elementen des Zytoskeletts und postsynaptischen Gerüst- und Signalmolekülen ist Teil eines komplexen dynamischen Gleichgewichts für die Anlieferung, die Entfernung und das Recycling synaptischer Komponenten bei plastischen Prozessen. Nach der *Synaptic Tagging* Hypothese werden Synapsen, die zuvor aktiv an Lernprozessen beteiligt waren, gegenüber naiven Synapsen bevorzugt mit plastizitätsrelevanten Produkten (PRPs) versorgt. Ein zellbiologischer Ansatz innerhalb der FOR 2419 fokussiert deshalb auf Transportmechanismen, die exzitatorische Spine-Synapsen über Mikrotubuli und Aktinfilamente beliefern. Generell erfolgt die Regulation von subzellulärem Transport über die Kombination von Proteinen in Motor-Cargo-Transportkomplexen, über Mikrotubuli- und Aktin-Bindeproteine, und über posttranslationale Modifikationen (PTMs) von Tubulin. In der FOR 2419 werden alle diese Ebenen der Transportregulation beleuchtet. So untersucht die Emmy-Noether-Gruppe Mikhaylova mithilfe von hochauflösender Zeitraffer-Mikroskopie (dSTORM, STED) die Dynamik molekularer Motoren der Kinesin-, Dynein- und Myosin-Familien (Kevenaar et al., 2016). In den Projekten der Nachwuchsgruppen Wagner und Calderon de Anda werden

darüber hinaus synaptische Myosin-Motoren erforscht (Kneussel und Wagner, 2013), die bisher kaum funktionell beschrieben sind. Die Rolle von Kalziumsignalen für Transportvorgänge ist hierbei von großer Bedeutung, ebenso die Kinase TAO2, die mit Autismus-Spektrum-Störungen (ASD) und Schizophrenie assoziiert wurde und mit Myosin interagiert. In TAO2 mutierten Mäusen wird der Frage nachgegangen, wie TAO2 die Entstehung von ASD verursachen könnte (de Anda et al., 2012). Die Arbeitsgruppe Kneussel manipuliert in knock-in Mausmodellen bestimmte Tubulin PTMs, die in Abhängigkeit von neuronaler Aktivität zur Modifikation von Mikrotubuli beitragen. Diese PTM-Muster, die auch als „Tubulin Code“ bekannt sind, markieren Mikrotubuli und könnten einzelnen Transportwegen auf diese Weise eine Identität bzw. Spezifität vermitteln (Janke und Kneussel, 2010). All diese Projekte verbinden zellbiologische Fragen mit Mausmodellen, um die jeweiligen molekularen Komponenten in Zusammenhang von Netzwerkplastizität, Lernen und Gedächtnis *in vivo* betrachten zu können.

FOR 2419 Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler setzen einen weiteren Schwerpunkt auf die Rolle des endoplasmatischen Retikulums (ER) in dendritischen Spines. Wie von Wagner und Kollegen gezeigt, wird ER über Myosin aktiv in Spines transportiert (Wagner et al., 2011), seine funktionelle Rolle für synaptische Plastizität ist allerdings weitgehend unklar. Das Projekt Oertner konnte bereits nachweisen, dass ausschließlich ER-positive Spines an einer bestimmten Form der Langzeitdepression (LTD) beteiligt sind (Holbro et al., 2009). Mithilfe optogenetischer Stimulation und 2-Photonen-Kalzium-Imaging soll nun geklärt werden, inwieweit das transiente Auftreten von ER an bestimmten Spine-Synapsen eine Form von Metaplastizität vermitteln könnte (Adamantidis et al., 2015; Wiegert und Oertner, 2013). Eine Ergänzung der oben genannten Fragestellungen und Methoden bringt das Projekt Frotscher ein. Die neue Technik des Hochdruckgefrierens erlaubt es, Gefrierschäden an Zellen und Geweben deutlich zu minimieren. Mittels Immunogold-Elektronenmikroskopie hochdruckgefrorener Präparate werden strukturelle Veränderungen an Synapsen in neuer Qualität dargestellt (Studer et al., 2014). Besonderes Interesse gilt dabei dem Protein Synaptopodin, das ER-Strukturen in Spine Synapsen stabilisiert.

Aufgrund der Komplexität synaptischer Komponenten fokussiert die Untersuchung molekularer Mechanismen von Plastizität/Stabilität in diesem DFG-Netzwerk auf beispielhafte Modelle, um grundsätzliche Prinzipien und Mechanismen zu erarbeiten. Alle Projekte konzentrieren sich auf die exzitatorische Postsynapse und untersuchen AMPA-Rezeptoren sowie ER-Strukturen mit komplementären Fragen und experimentellen Ansätzen. Ein darüber hinausgehendes Projekt der Gruppe Gee und Wiegert ergänzt diesen Ansatz mit Analysen zur Verschaltung in neuronalen Netzwerken. An organotypischen Schnittkulturen des Hippocampus wird mittels optogentischer, physiologischer und bildgebender Methoden untersucht, welche Wirkung spezifische Aktivitätsmuster auf die Lebensdauer und Stärke von Synapsen und die Konnektivität neuronaler Netzwerke haben.



*Synaptische Plastizität, die Fähigkeit von Synapsen ihre Stärke zu verändern, kann zum Beispiel durch Langzeitpotenzierung (LTP), ein zelluläres Modell für Lernen und Gedächtnis, induziert werden. Synaptische Veränderungen beinhalten zum einen strukturelle Modifikationen (oben): Durch das Auswachsen und die Reifung dendritischer Dornen können neue funktionelle synaptische Kontaktstellen gebildet werden. Zum anderen führen funktionelle Modifikationen z.B. zur Anreicherung postsynaptischer Neurotransmitter-Rezeptoren an bestehenden Synapsen (unten). Dies kann die synaptische Transmission erhöhen (+)*

#### Literatur:

Adamantidis A, Arber S, Bains JS, Bamberg E, Bonei A, Buzsaki G, Cardin JA, Costa RM, Dan Y, Goda Y, Graybiel AM, Häusser M, Hegemann P, Huguenard JR, Insel TR, Janak PH, Johnston D, Josselyn SA, Koch C, Kreitzer AC, Lüscher C, Malenka RC, Miesenböck G, Nagel G, Roska B, Schnitzer MJ, Shenoy KV, Soltesz I, Sternson SM,

- Tsien RW, Tsien RY, Turrigiano GG, Tye KM, Wilson RI (2015) Optogenetics: 10 years after ChR2 in neurons-views from the community. *Nat Neurosci* 18(9):1202-1212.
- de Anda, F.C., Rosario, A.L., Durak, O., Tran, T., Graff, J., Meletis, K., Rei, D., Soda, T., Madabhushi, R., Ginty, D.D., Kolodkin, A.L., and Tsai, L.H. (2012). Autism spectrum disorder susceptibility gene TAOK2 affects basal dendrite formation in the neocortex. *Nat Neurosci* 15, 1022-1031.
- Holbro, N., Grunditz, A., and Oertner, T.G. (2009). Differential distribution of endoplasmic reticulum controls metabotropic signaling and plasticity at hippocampal synapses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106, 15055-15060.
- Janke, C., and Kneussel, M. (2010). Tubulin post-translational modifications: encoding functions on the neuronal microtubule cytoskeleton. *Trends Neurosci* 33, 362-372.
- Kevenaer, J.T., Bianchi, S., van Spronsen, M., Olieric, N., Lipka, J., Frias, C.P., Mikhaylova, M., Harterink, M., Keijzer, N., Wulf, P.S., Hilbert, M., Kapitein, L.C., de Graaff, E., Ahkmanova, A., Steinmetz, M.O., and Hoogenraad, C.C. (2016). Kinesin-Binding Protein Controls Microtubule Dynamics and Cargo Trafficking by Regulating Kinesin Motor Activity. *Curr Biol* 26, 849-861.
- Kneussel, M., and Wagner, W. (2013). Myosin motors at neuronal synapses: drivers of membrane transport and actin dynamics. *Nat Rev Neurosci* 14, 233-247.
- Studer, D., Zhao, S., Chai, X., Jonas, P., Graber, W., Nestel, S., and Frotscher, M. (2014). Capture of activity-induced ultrastructural changes at synapses by high-pressure freezing of brain tissue. *Nat Protoc* 9, 1480-1495.
- Wagner, W., Brenowitz, S.D., and Hammer, J.A. (2011). Myosin-Va transports the endoplasmic reticulum into the dendritic spines of Purkinje neurons. *Nat Cell Biol* 13, 40-U101.
- Wiegert, J.S., and Oertner, T.G. (2013). Long-term depression triggers the selective elimination of weakly integrated synapses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110, E4510-4519.

*Verändert nach: Kneussel, M (2016) DFG Forschergruppe FOR 2419 „Plastizität versus Stabilität: Molekulare Mechanismen der Synapsenstärke“. Neuroforum 22, 60-61.*