6 Zusammenfassung

Die synaptische Übertragung neuronaler Verbindungen läßt sich aktivitätsabhängig verändern. Dies ist ein Charakteristikum plastischer Prozesse des Nervensystems. Die zu Plastizität führende Aktivität kann sowohl physiologisch, pathologisch als auch experimentellen Ursprungs sein. So leitet z. B. ein epileptischer Anfall eine Kaskade von Ereignissen ein, die das Auswachsen von Neuriten und das Etablieren neuer synaptischer Kontakte einschließt. Diese langandauernden Veränderungen sind auffallend ähnlich den Prozessen, die während der Langzeitpotenzierung (LTP) stattfinden. LTP ist ein wichtiges zelluläres Modell für Prozesse wie Lernen und Gedächtnis im Säugergehirn. Um diese plastischen Prozesse besser verstehen zu können, ist es wichtig, Gene, die aktivitätsabhängig exprimiert werden, zu charakterisieren. Von besonderem Interesse sind unmittelbar früh induzierte Gene (IEGs, immediate early genes), die eine Effektorfunktion besitzen und strukturelle Veränderungen an den Synapsen bewirken.

Von Kuhl und Mitarbeitern wurde das durch synaptische Aktivität reguliert IEG arg3.1 identifiziert. Durch die Induktion von LTP tritt die arg3.1-mRNA verstärkt in den Dendriten der Körnerzellen des Gyrus dentatus, einem Teil des Hippocampus, auf. Weiterhin ist das Arg3.1-Protein entfernt mit dem Gehirn α-Spektrin, einem Protein des Zytoskeletts, verwandt. Sowohl die differentielle Lokalisation der arg3.1-mRNA in den Dendriten als auch eine mögliche Interaktion des Arg3.1-Proteins mit Proteinen des Zytoskeletts, könnten bei plastischen Veränderungen der Synapse während LTP eine wichtige Rolle spielen. Um die Funktionsweise des Arg3.1-Proteins besser verstehen zu können, ist es von Bedeutung Interaktionspartner des Arg3.1-Proteins zu identifizieren.

In der vorliegenden Arbeit wurden potentielle Bindungspartner des Arg3.1-Proteins unter Verwendung des Two-Hybrid-Systems identifiziert. Zwei unterschiedliche cDNA-Banken wurden eingesetzt: Eine induzierte Hippocampus-Bank (Ratte) und eine Bank des gesamtem Gehirns (Ratte). Aus der Hippocampus-Bank wurden 4.5 x 10^5, aus der Bank des gesamten Gehirns 10^5 verschiedene Klone auf eine mögliche Interaktion mit dem Arg3.1-Protein hin getestet. Zum Nachweis der Interaktionen wurde die Expression zweier Reportergene untersucht. Die dazu angewandten Tests waren das Wachstum auf Histidin defizientem Medium und der β-Galactosidase-Assay. Durch diese beiden Tests kamen 114 Klone der induzierten Hippocampus-Bank und 77 Klone aus der Bank des gesamtem Gehirns als pontielle Interaktionspartner des Arg3.1-Proteins in Betracht. Daraufhin wurde ein weiterer Test, der Mating-Test, durchgeführt. Durch den Mating-Test werden die identifizierten Proteine mit unterschiedlichen Fusionsproteinen in Hefe auf eine mögliche Interaktion hin getestet. Die so erhaltenen Hefen wurden mit ihren unterschiedlichen Fusionsprotein-Kombinationen erneut den obengenannten Tests unterzogen. Ein Klon galt als positiv, wenn er ausschließlich in Interaktion mit dem Arg3.1-Protein, aber mit keinem anderen Protein bzw. allein, ohne Interaktion, in der Lage war eines der beiden Reportergene zu aktivieren.

Nach der Sequenzierung der Klone erwiesen sich sieben Proteine der induzierten Hippocampus-Bank, davon waren zwei bekannte und fünf unbekannte, sowie ein bereits bekanntes Protein aus der Bank des gesamten Gehirns, als potentielle Interaktionspartner für das Arg3.1-Protein. Bei den bereits bekannten Proteinen handelt es sich um Trypsinogen, Necdin und die β-Isoform der 14-3-3-Proteine. Von besonderem Interesse ist hierbei das 14-3-3-Protein, welches an unterschiedlichen Aspekten intrazellulärer Signal-Transduktions-Kaskaden beteiligt ist. Drei Punkte sind im Hinblick auf eine mögliche Interaktion mit dem Arg3.1-Protein interessant: Erstens eine Mutation des 14-3-3-Proteins führt bei Drosophila zum Verlust von Gedächtnisfunktionen. Zweitens sind sowohl das Arg3.1-Protein als auch das 14-3-3-Protein an plastischen Veränderung an der Synapse beteiligt. Drittens gibt es Hinweise, daß das Arg3.1-Protein, wie auch das 14-3-3-Protein mit Aktin interagiert.

Die im Two-Hybrid-System gefundenen Proteine sind potentielle zelluläre Interaktionspartner des Arg3.1-Proteins, allerdings müssen diese Interaktionen mit unabhängigen biochemischen Methoden sowie Experimenten zu deren physiologischen Bedeutung in Neuronen weiter untersucht werden.