

7 Zusammenfassung

Aktivitätsabhängige Veränderungen von neuronalen Verbindungen sind von grundlegender Bedeutung für die Entwicklung des Zentralen Nervensystems und für die Fähigkeit des adulten Gehirns, Informationen über lange Zeit zu speichern. Solche langanhaltenden Veränderungen in der synaptischen Stärke sind abhängig von Gentranskription und Translation. Ein spezifisches Beispiel kann in der Expression des Arg3.1 Gens gesehen werden. Synaptische Stimulierung führt zur dramatischen Induktion der Arg3.1 mRNA Synthese und Protein-Expression; die Arg3.1 mRNA wird rasch in die dendritischen Prozesse der aktivierten Neurone transportiert. Infolgedessen könnte die Arg3.1 mRNA lokal translatiert werden und eine Schlüsselrolle bei synapsenspezifischen Modifikationen während plastischer Ereignisse im Gehirn spielen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein auf dem Cre/loxP-System basierender *targeting* Vektor für den genomischen Arg3.1 Locus hergestellt. Embryonale Stammzellen (ES-Zellen) wurden mit der DNA des linearisierten Vektors elektroporiert, und dadurch stabil transfiziert. Homolog rekombinierte ES-Zell-Klone, die eine loxP-Sequenz 5' des offenen Leserahmens von Arg3.1 sowie eine mit loxP-Sequenzen flankierte Neomycin-Kassette im 3'-Bereich des Arg3.1 Locus trugen, konnten mittels Southern Blot-Analyse identifiziert werden. Die Zellen einer der homolog rekombinierten Klone wurden expandiert und mit einem Cre-exprimierenden Plasmid transfiziert. Die transiente Expression der Cre-Rekombinase in diesen ES-Zellen führte zu drei Rekombinationstypen, die mittels Southern Blot-Analysen unterschieden werden konnten. ES-Zellen, bei denen sowohl die Neomycin-Kassette als auch das gesamte Arg3.1 Gen deletiert waren, und ES-Zellen, in denen die Neomycin-Kassette deletiert und das Arg3.1 Gen von loxP-Sequenzen flankiert war, wurden aufbewahrt. Die von der Neomycin-Resistenzkassette eventuell ausgehenden regulatorischen Effekte konnten in beiden ES-Zelllinien somit umgangen werden.

Im Anschluß an meine Arbeit konnten durch Injektion der hergestellten ES-Zelllinien in Blastozysten zwei Mauslinien generiert werden. Eine der Mauslinien ist für Arg3.1 defizient, die andere trägt einen von loxP-Sequenzen flankierten offenen Arg3.1-Leserahmen. Dies erlaubt eine zelltypspezifische oder zeitlich steuerbare Deletion des Arg3.1 Gens. Weiterführende Experimente mit diesen Tieren sollen zu einem besseren Verständnis der molekularen Mechanismen beitragen, die Lernen und Gedächtnis, aber auch pathologischen Veränderungen der neuronalen Plastizität zugrunde liegen.