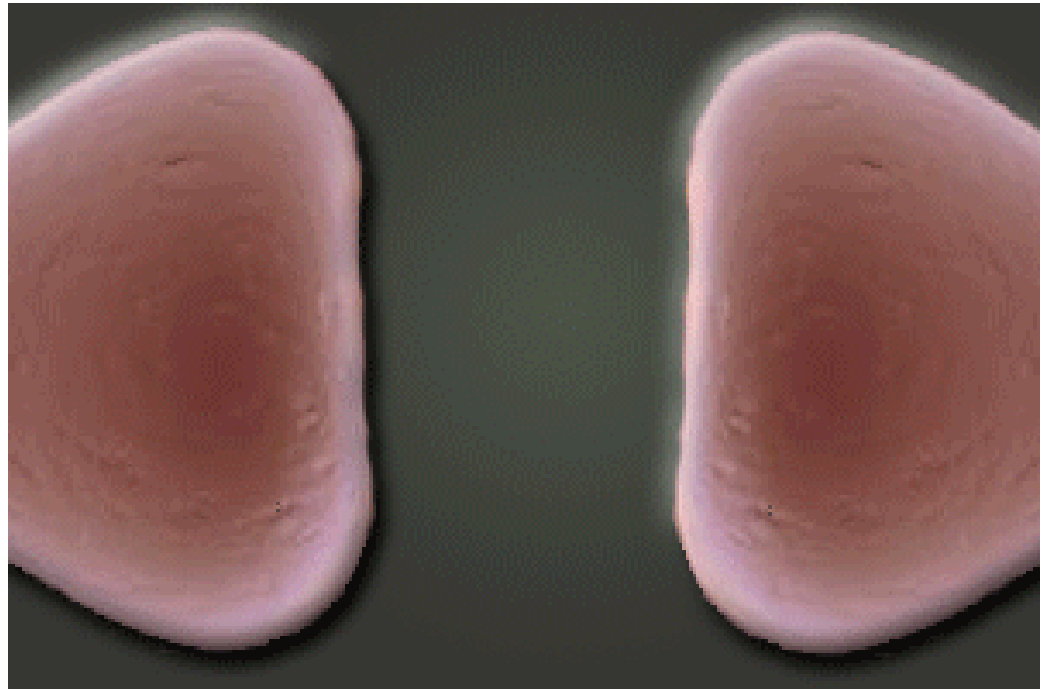
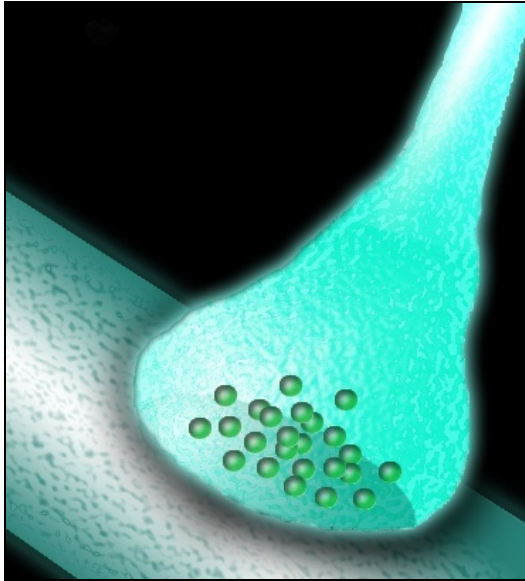




# **Grundlagen der synaptischen Plastizität**

Zellbiologie & Proteinbiosynthese

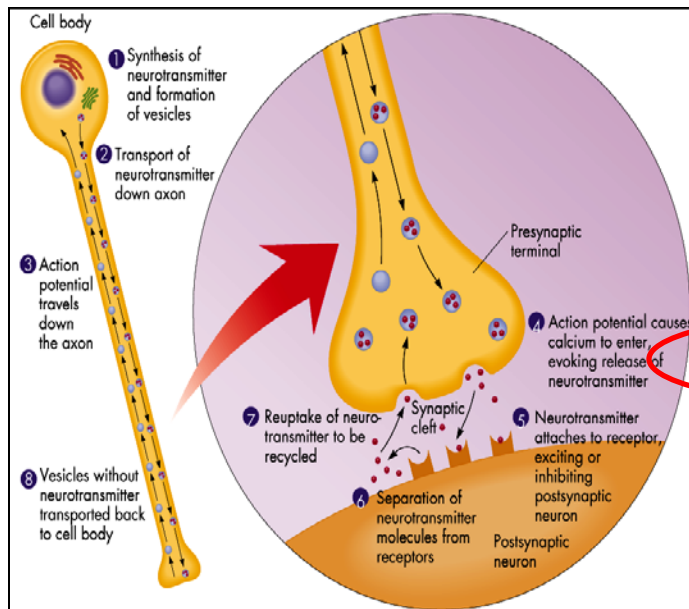
Dipl.-Biol. Lars Haab, M.Sc.



**Kurzzeitplastizität:** Die Änderung der Übertragungsstärke hält einige Millisekunden bis höchstens einige Minuten an.

**Langzeitplastizität:** Die Stärke der Übertragung ändert sich für einen längeren Zeitraum.

Die Verstärkung der synaptischen Übertragung durch synaptische Plastizität bezeichnet man als **Potenzierung**, die Abschwächung als **Depression**.



**präsynaptisch:** Dabei ändert sich die Menge des pro Aktionspotential freigesetzten Transmitters oder die Geschwindigkeit der Wiederaufnahme des Neurotransmitters in die präsynaptische Zelle.

**postsynaptisch:** Dabei ändert sich die Größe der postsynaptischen Antwort auf eine bestimmte Menge von Transmitter, z.B. durch Änderung von postsynaptischen Transmitter-Rezeptoren

- **Gehirnschnitte** werden mit einem anti-IEG-Antikörper (Primärantikörper) inkubiert.
- **Anschließend** folgt eine Inkubation mit spezifischen biotinylierten (Kovalente Bindung mit Biotin) 2. Antikörper (Sekundärantikörper).
- **Über ein Streptavidin-Peroxidase System** kann dann das Chromogen Diaminobenzidin (DAB) oxidiert und somit die Lokalisation der Proteine sichtbar gemacht werden.

## Immediate early genes & proteins

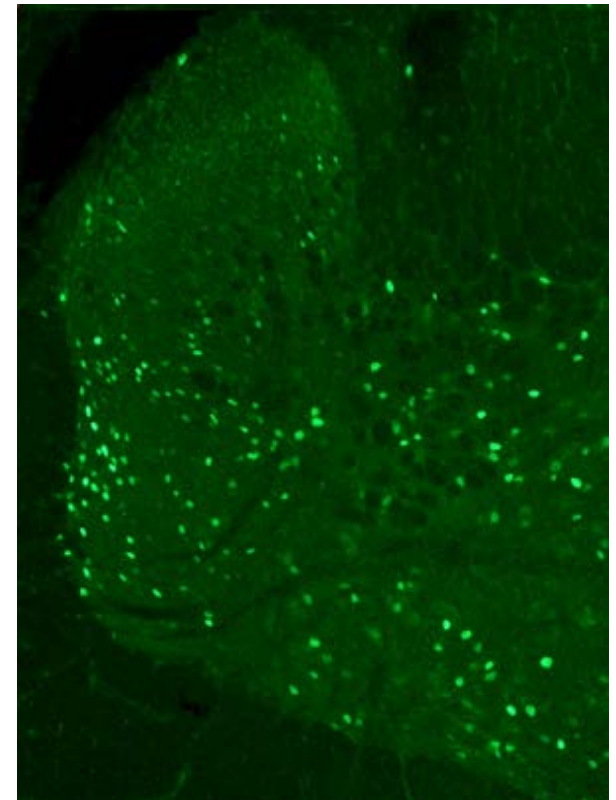
### c-fos / c-Fos:

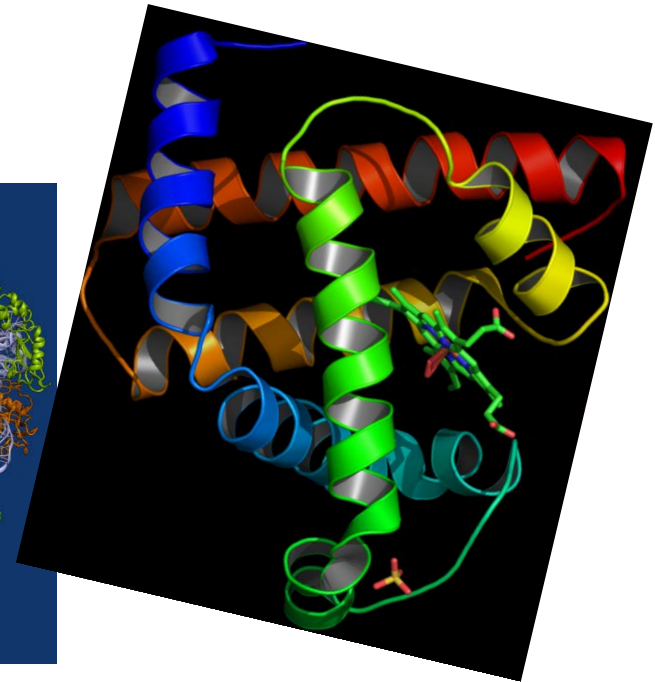
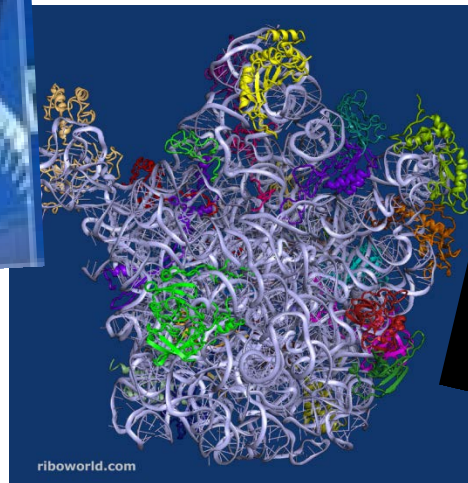
gehört zu den induzierbaren Transkriptionsfaktoren, d.h. c-Fos wird sehr schnell nach Aktivierung einer Nervenzelle gebildet und nach seiner Translation wieder in den Zellkern transportiert, wo es als Transkriptionsfaktor die Expression nachgeschalteter Zielgene (target genes) reguliert

### arg3.1 / Arg3.1

activity regulated cytoskeleton-associated protein. Erhöhte Anzahl an perforierten Post-Synaptic-Densities, die als Vorstufe zur Bildung neuer Synapsen angesehen werden.

Neben der Ausbildung neuer Synapsen kann es auch an bestehenden Synapsen zu strukturellen Veränderungen kommen; z.B. Regulierung der Erregbarkeit der postsynaptischen Membran u.a. über den Ein- und Ausbau von AMPA-Rezeptoren.

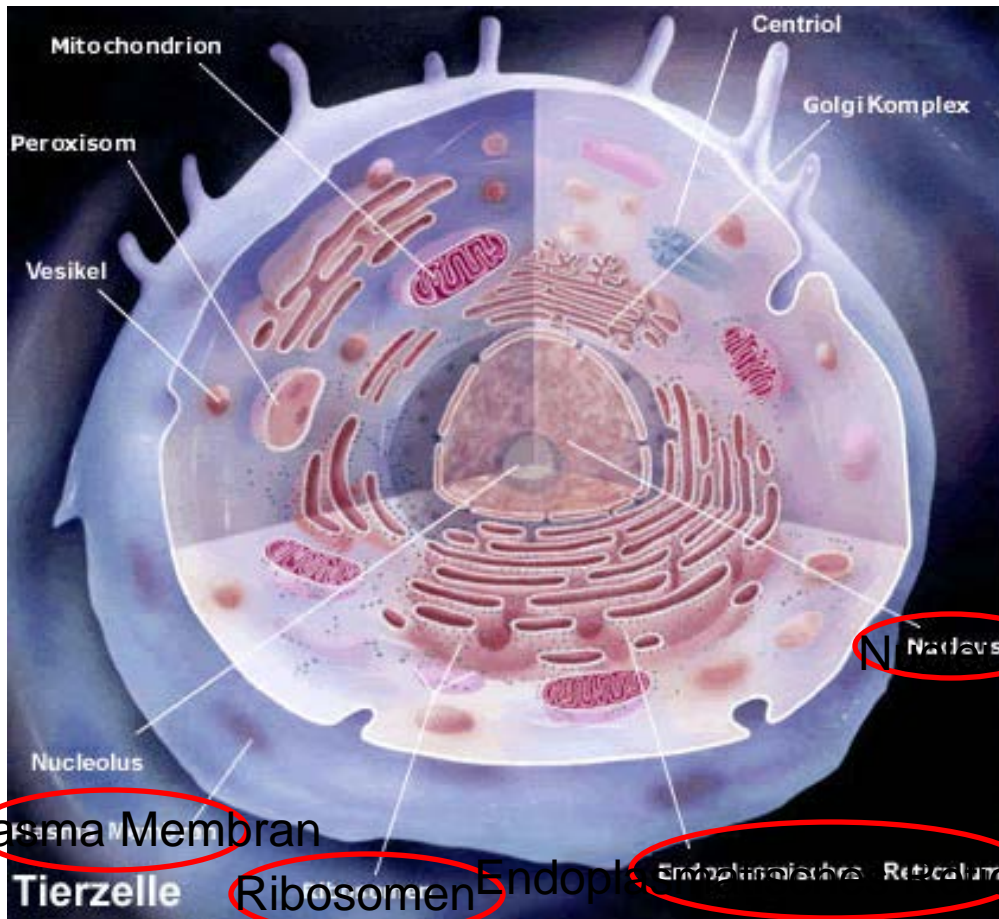




# Grundlagen der Proteinbiosynthese



# Eukaryotische Tierzelle



Plasma Membran

Tierzelle

Ribosomen

Endoplasmatisches

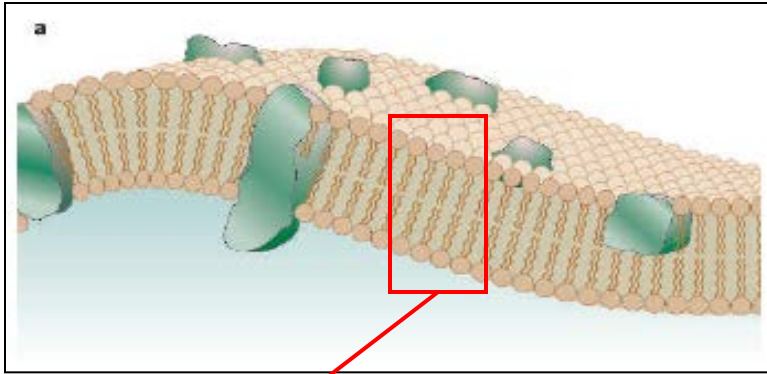
Retikulum

Tyndall-Effekt

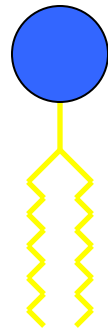
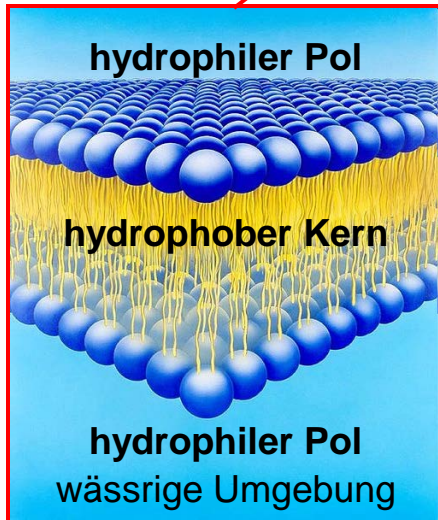
Nucleus



# Zellmembran



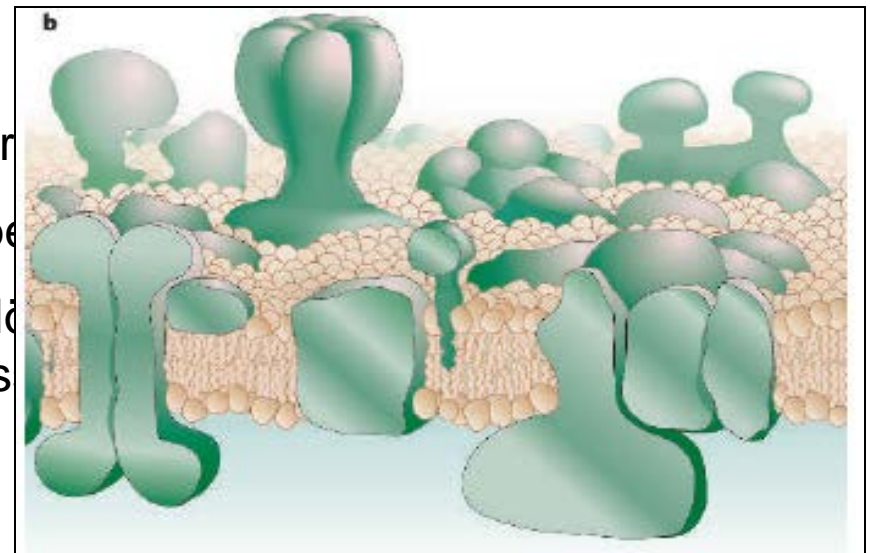
Aufgebaut aus amphiphilen Phospholipiden  
Bilden in Wasser eine Doppelschicht aus  
Eingelagerte Membranproteine  
Fluid-Mosaik-Modell



hydrophiler  
hydrophobe  
Wasserunl  
Kohlenwas

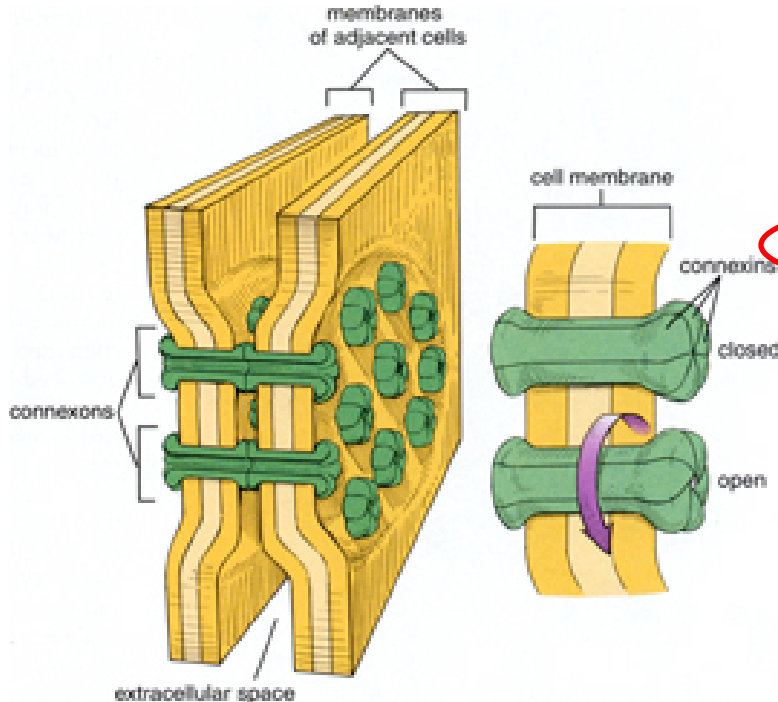
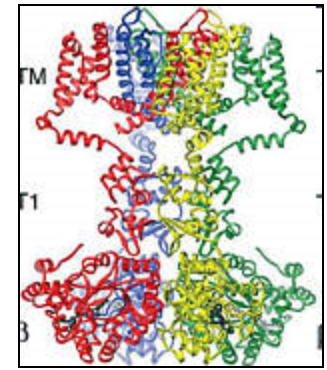
Lipid raft model

Cholesterinreiche  
Abschnitte der  
Membran



„Membranes are more mosaic than fluid“  
Donald M. Engelman, *Nature*, 438:578-580, 2005

**Ionenkanäle** sind röhrenförmig angeordnete Proteinkomplexe, die in die Zellmembran eingelagert sind. Sie sind üblicherweise selektiv nur für einzelne Ionen-Arten durchlässig.



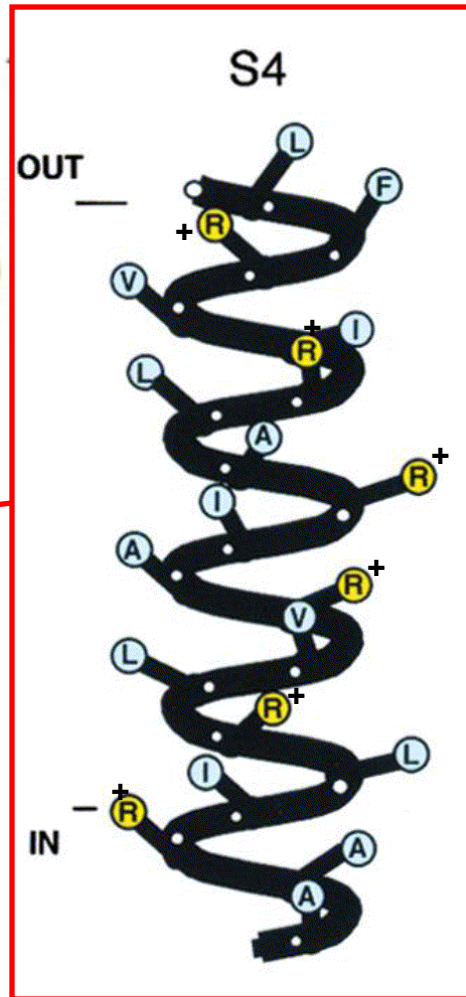
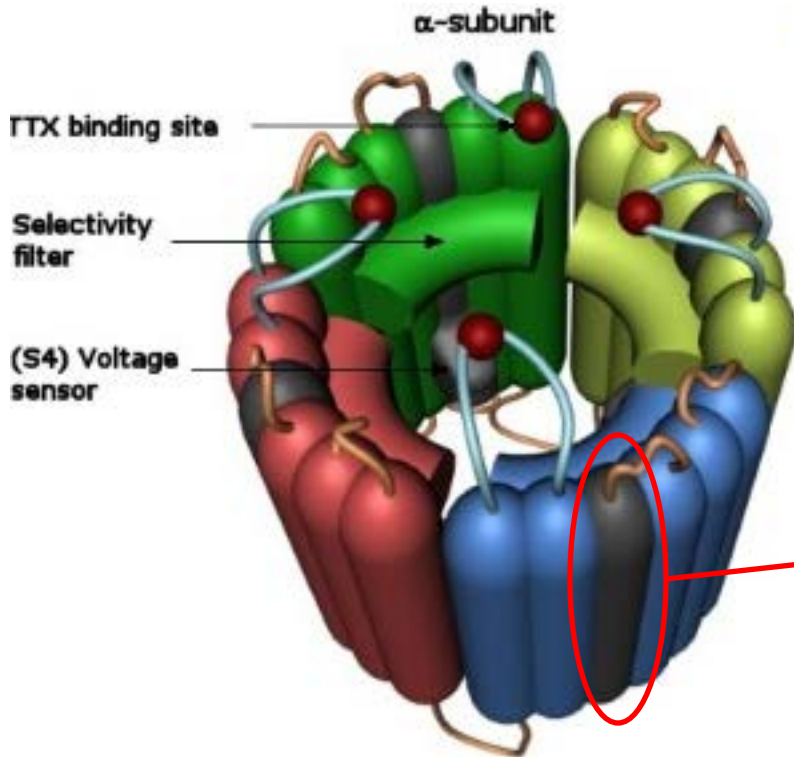
Fast alle Ionenkanäle haben einen offenen und einen geschlossenen Zustand.

**Spannungsgesteuerte Ionenkanäle:** Öffnen sich in Abhängigkeit von dem Membranpotential.

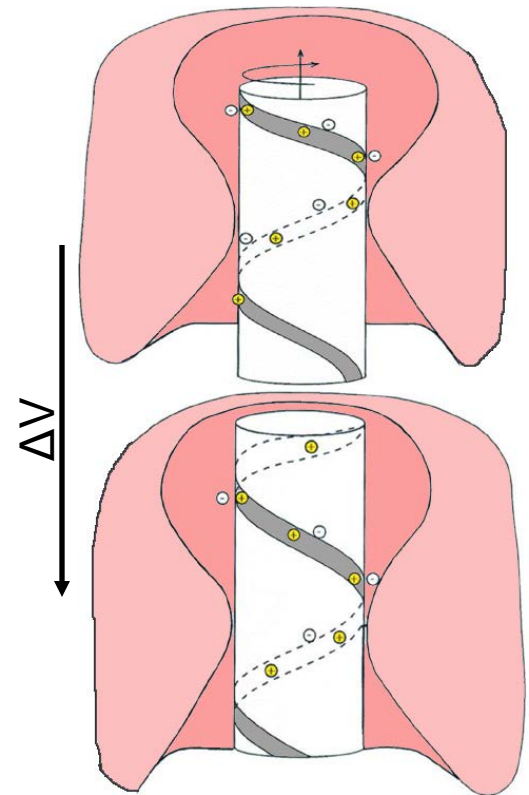
**Chemisch gesteuerte Ionenkanäle:** Öffnen sich, wenn sich ein bestimmtes Molekül (als Ligand) an sie bindet (Synapsen Sinneszellen).

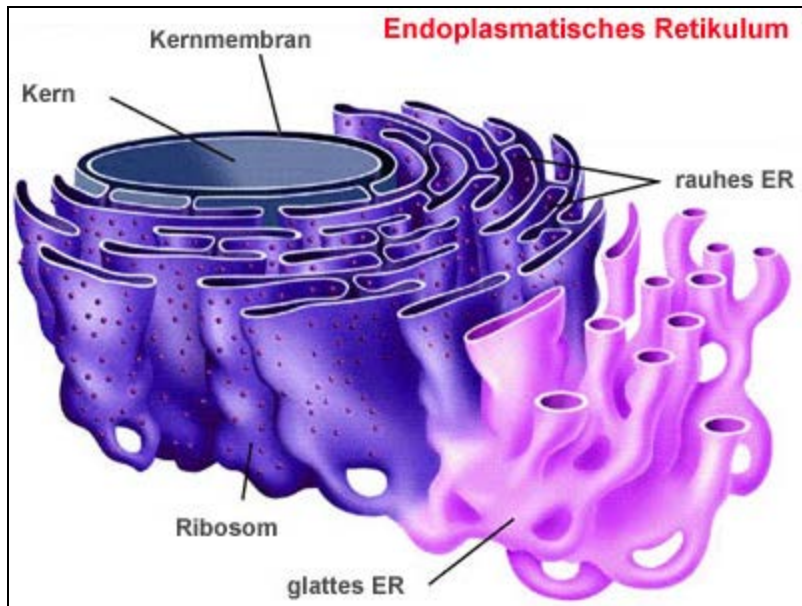
**Mechanisch gesteuerte Ionenkanäle:** Öffnen sich in Abhängigkeit von der mechanischen Spannung an der Oberfläche der Zelle (mechanische Sinneszellen)





- A hydrophober Rest
- R positiv geladener Arginin-Rest





## Glattes (agranuläres) ER :

Synthese von Lipiden (Phospholipide), Fettsäuren und Steroiden (Hormone)

Glycogenspeicherung

Calciumspeicher (bis  $10^{-3}$  M,  
Cytosol  $10^{-7}$  M)

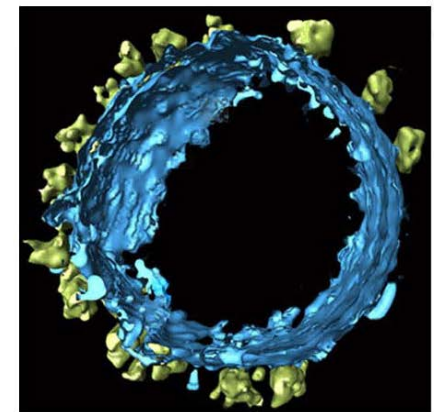
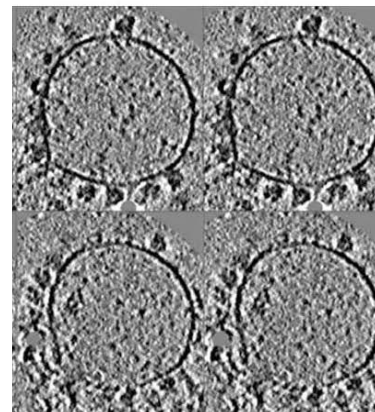
Biotransformation körperfremder Stoffe

## Rauhes ER:

Benannt anhand der Ribosomen, die auf seinen Membranoberflächen sitzen.

Proteinbiosynthese

Membranproduktion





makromolekulare Komplexe aus **Proteinen** und **Ribonukleinsäure**

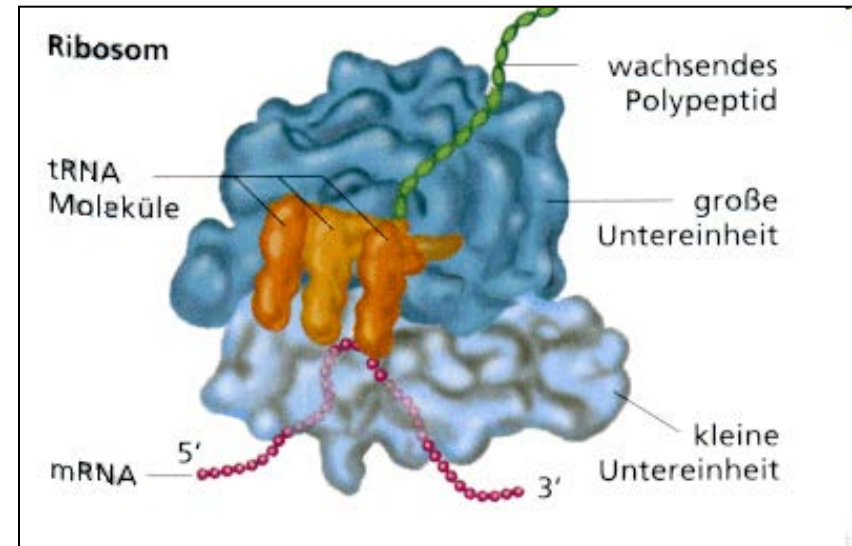
Sie bestehen aus ca 2/3 rRNA und 1/3 aus ribosomalen Proteinen

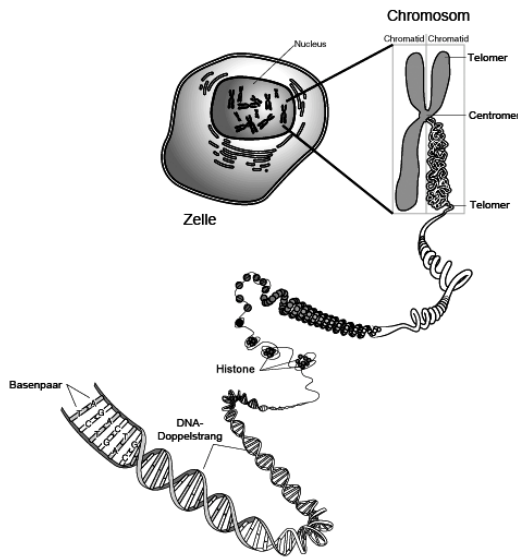
→ Fusion zu einer funktionalen Einheit während der Translation

Große Untereinheit (49 Proteine, 3 RNAs) verknüpft Aminosäuren zu einer Kette (Peptidyltransferase), kleine Untereinheit ist verantwortlich für mRNA Erkennung.

Entweder an rauhes ER gebunden oder frei im Cytoplasma

„Proteinfabriken“



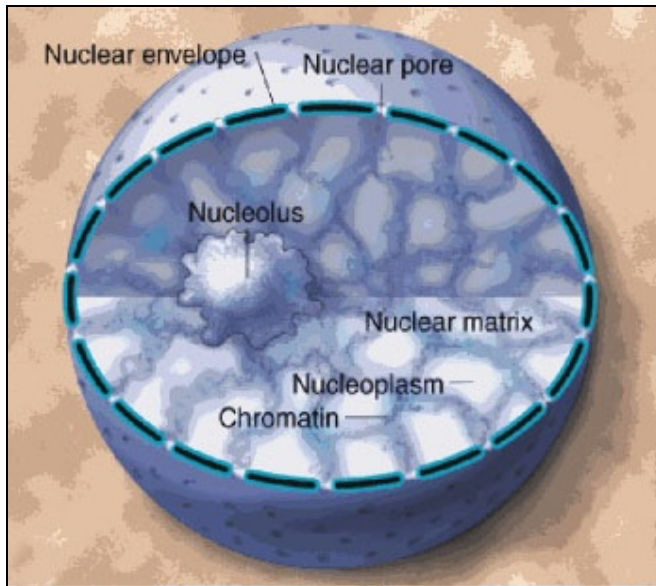


Meist kugelförmige Zellorganelle von 6-16µm Durchmesser.

Umschlossen von einer Doppelmembran mit Kernporen zum Stofftransport (Proteine nach innen, mRNA nach aussen)

Enthält das Erbgut:

- Chromosomen
- Chromatinfäden
- Histone (Proteine)
- weitere Proteine / Enzyme (Polymerasen)
- Transkriptionsfaktoren
- Ribonucleinsäuren



4 Basen (2 Purine / 2 Pyrimidine)

Purine: Adenin, Guanin

Pyrimidine: Thymin, Cytosin

Zucker (Desoxyribose)

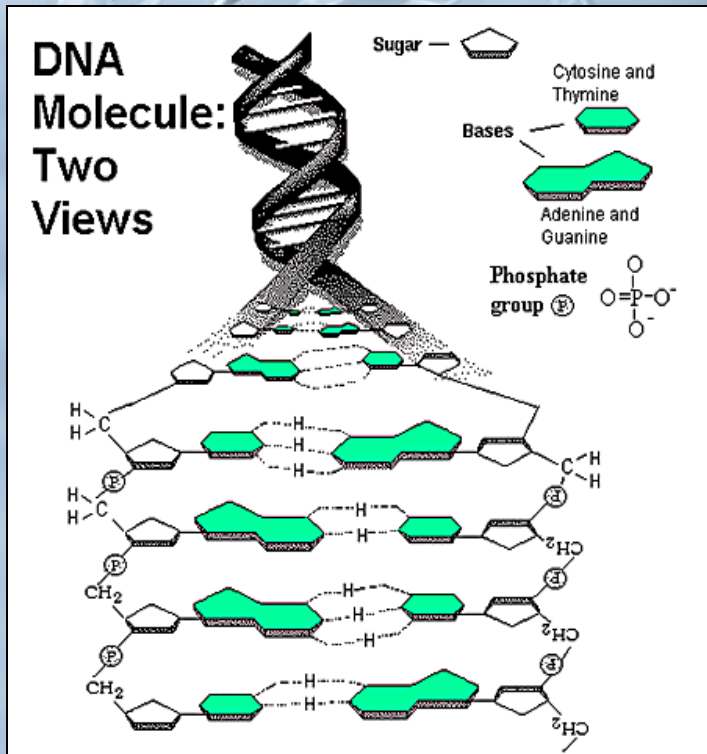
Phosphatrest

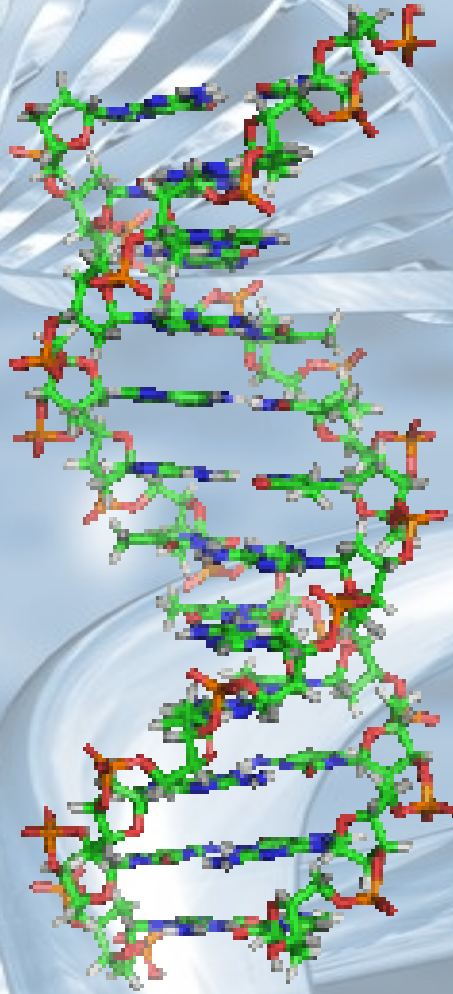
5 Kohlenstoffatome durchnummeriert  
von 1' bis 5'.

Am 1' Ende ist die Base gebunden

Am 5' Ende hängt der Phosphatrest

Am 3' Ende bildet eine OH-Gruppe  
einen Phosphodiester mit der Phos-  
phatgruppe des nachfolgenden  
Zuckers





Es paaren sich immer Adenin und Thymin bzw.  
Guanin und Cytosin → Komplementäre

A und T bilden 2 Wasserstoffbrücken

G und C bilden 3 Wasserstoffbrücken

Ausbildung der Doppelhelix durch Stapelwirkung  
aufeinanderfolgender Basenpaare. Helix kann  
(muss aber nicht) durch Wasserstoffbrücken  
stabilisiert werden.

Keine Kovalente Bindungen zwischen den  
Strängen → Aufspaltung zeitweise möglich

Die Stapel der Basenpaare liegen nicht exakt  
parallel aufeinander, sondern bilden Keile, die die  
Helix in die eine oder andere Richtung neigen. AT  
Paarungen bilden einen Bogen in der Helix  
sequenzinduzierte Beugung (vgl. Proteininduziert)

mRNA = messenger RNA:

RNA-Transkript eines zu einem Gen gehörigen Teilabschnitts der DNA bezeichnet. Wird bei der Transkription durch Enzym RNA-Polymerase II synthetisiert.

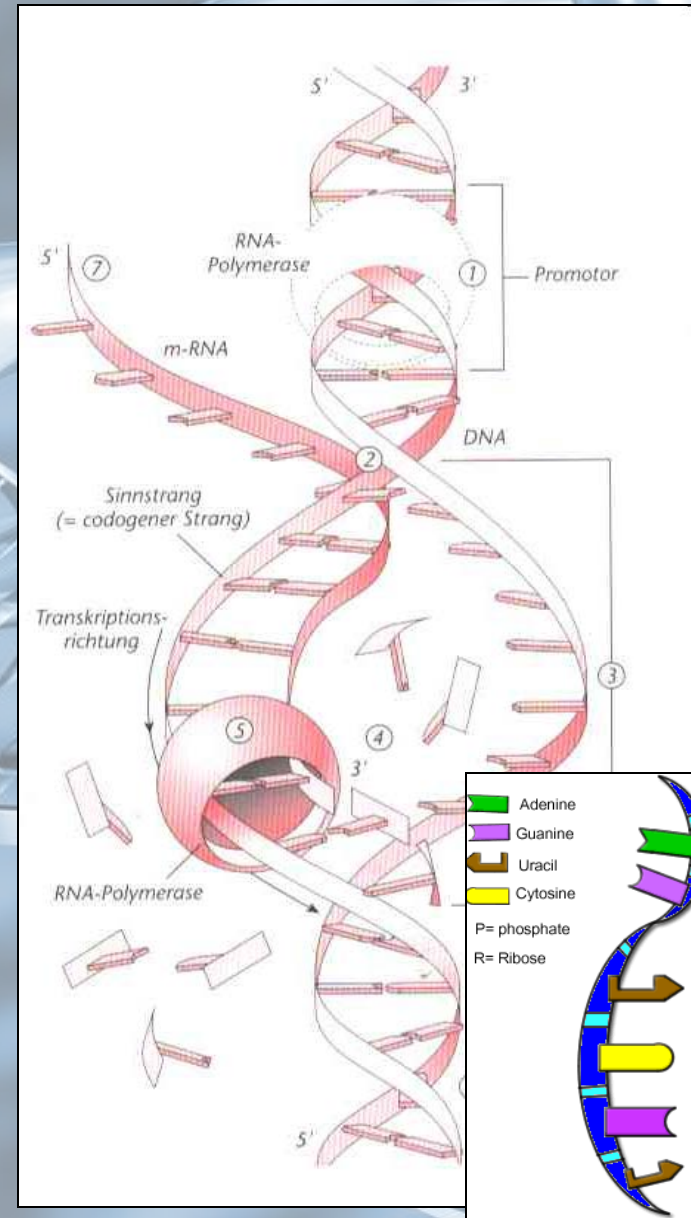
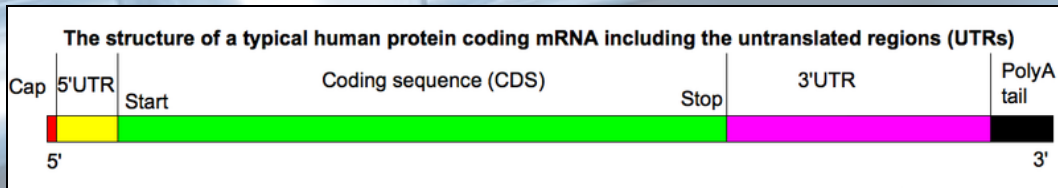
Enthält Uracil statt Thymin.

Liegt zunächst in einer Vorstufe (prä-mRNA) vor

5'-Cap (mod. Guanodin) als Schutz vor Hydro-lasen und als Andockpunkt für kleine ribosomale Untereinheit: **Capping**

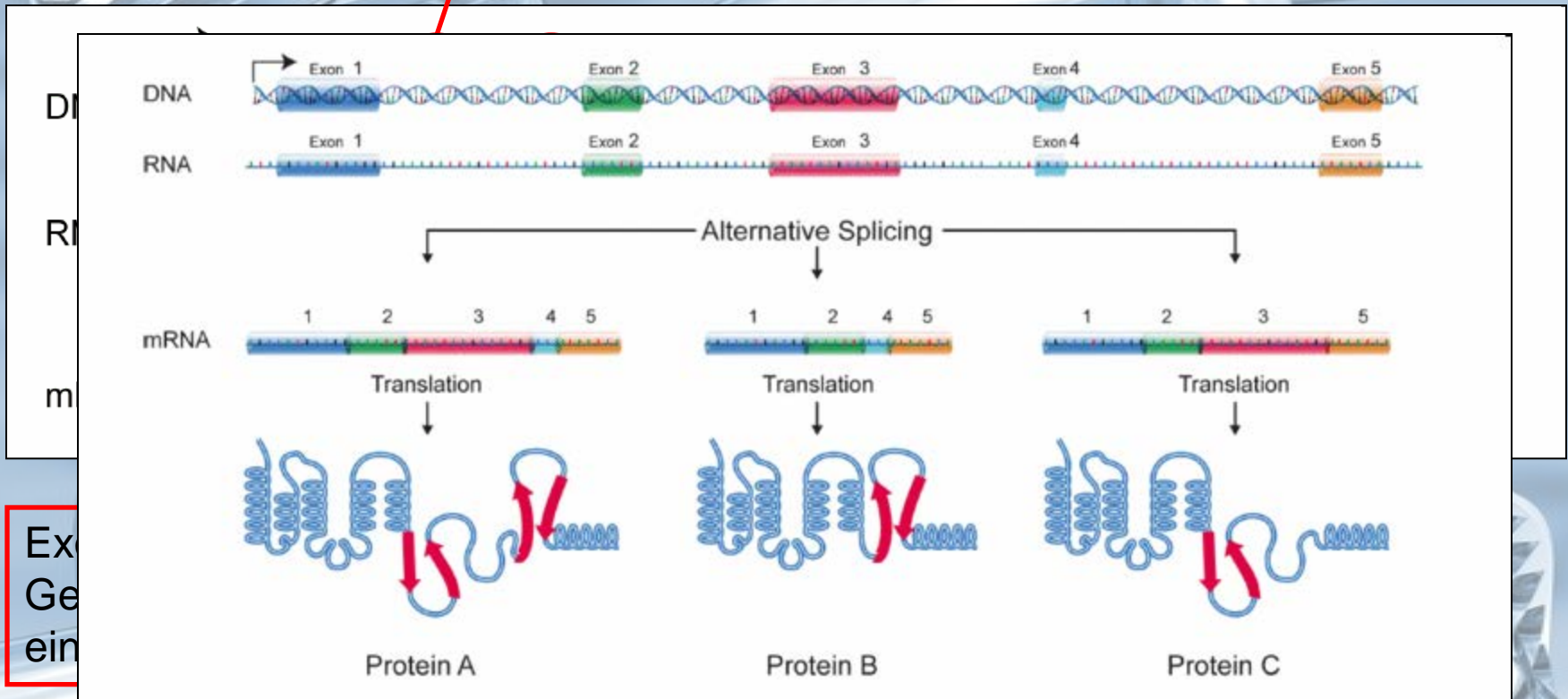
3' Ende: PolyA-Tail (Polyadenylierung) zum Schutz vor enzymalem Abbau / Erleichtert Durchtritt durch Kernpore: **Tailing**

**Splicing**



Prozessierung der prä-mRNA zu reifer mRNA durch Ribozyme

Introns (*Intervening Regions*) sind nicht codierende Bereiche der DNA innerhalb eines Gens.



Ex  
Ge  
ein

Alternatives Splicing führt zu verschiedenen Proteinexpressionen





## Universelle Gültigkeit

- Genetische Code ist in allen Organismen, von Prokaryoten zu Eukaryoten gültig
- Ausnahme: Mitochondrien
- Transkription und Translation von Genen ist damit in allen Organismen möglich

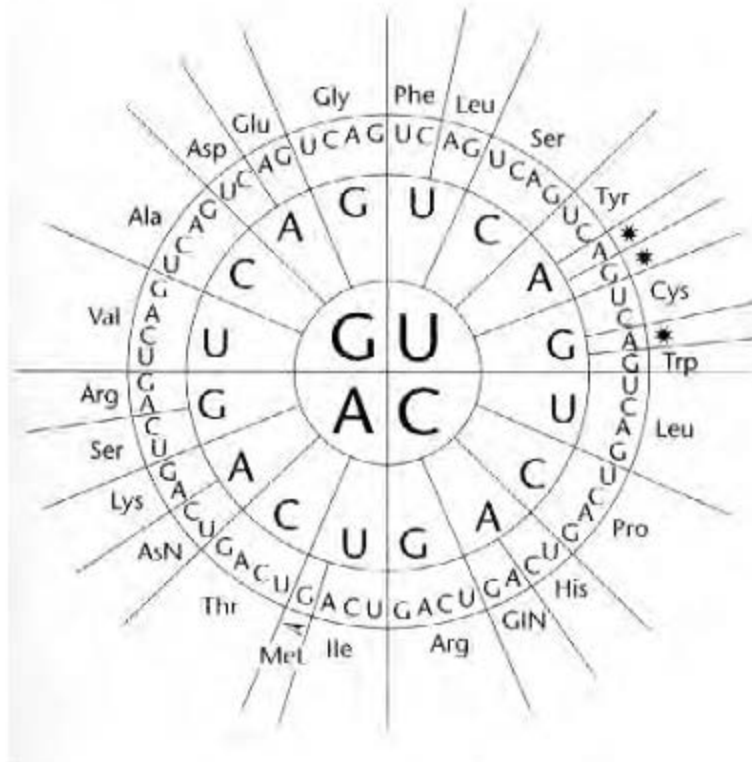


Glühwürmchen-Luziferase  
in eine Tabakpflanze



## Die Codesonne

AUG = Start  
 UAA }  
 UAG } Stopp  
 UGA }



Nur 4 Nukleotide  
 müssen 20 Aminosäuren  
 darstellen  
 Mehrere Nukleotide  
 müssen daher  
 kombiniert werden:

1 Nukleotid:  
 4 Möglichkeiten ( $4^1$ )

2 Nukleotide:  
 16 Möglichkeiten ( $4^2$ )

3 Nukleotide:  
 64 Möglichkeiten ( $4^3$ )

## mRNA-Synthese

RNA-Polymerase bindet an den Promotor (TATA-Box) der Doppelhelix

Polymerase entspiralisiert die DNA und legt 10-20 Basen zur Paarung frei

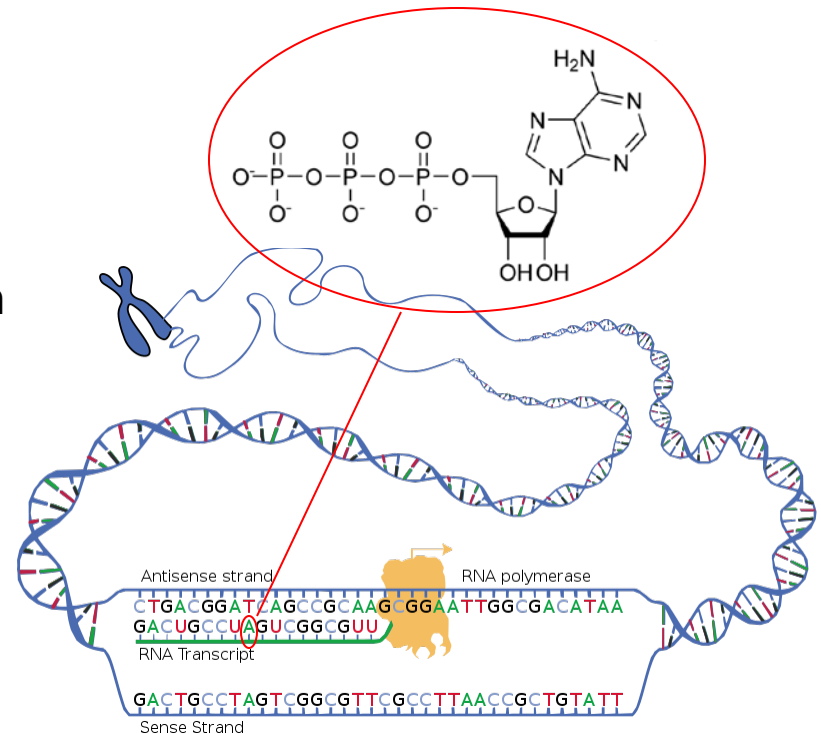
Am *Antisense-Strand* lagern sich durch Basenpaarung komplementäre Ribonucleotide an

Ribonucleotide sind Nukleosidtriphosphate, phosphorylierte Verbindungen von Ribose und Nukleobase

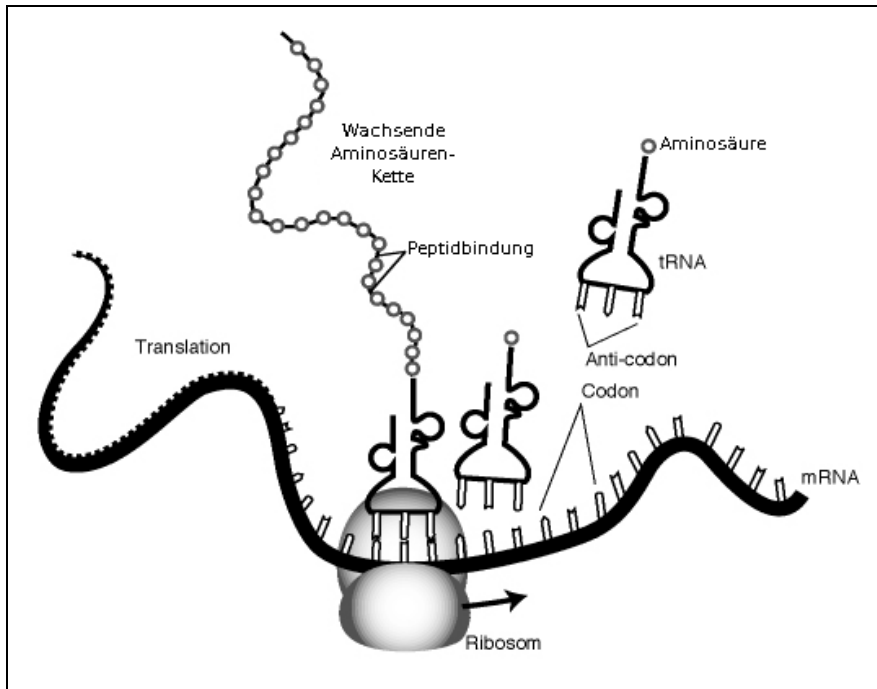
Die Ableserichtung auf dem DNA-Strang ist 3' 5' → die RNA-Synthese erfolgt von 5' nach 3'

Verknüpfung der Nucleotide erfolgt unterenspaltung von Diphosphaten

An der Terminatorsequenz endet die Transkription, die mRNA löst sich von der DNA



## Übersetzung der Basensequenz in eine Aminosäuresequenz



Aminoacyl-tRNA Synthetasen beladen t-RNA mit der zum Codon der mRNA passenden Aminosäure

Ribosom bringt mRNA und tRNA so zusammen, dass sich Anti-Codon auf passendem Codon anlagert.

Eine 2. tRNA lagert sich daneben an.

Die beiden Aminosäuren werden über eine Peptidbindung verknüpft, danach verlässt die 1. tRNA den mRNA Strang

Dieser Prozess wiederholt sich, so dass sich eine Kette von Aminosäuren bildet. Das Ribosom (Katalysator) wandert im Zuge dieses Prozesses um ein Codon weiter bis zum Stop-Codon der mRNA.

Dieses Eiweiß löst sich vom Ribosom und faltet sich zusammen, so dass eine komplexe räumliche Struktur entsteht (Sekundärstruktur und Tertiärstruktur)..



Größtes Protein (human): Titin 3600 kDa

30.000 Aminosäuren

Kleinstes Protein (artifiziert): Chignolin

10 Aminosäuren

Typisch: Haemoglobin (287 AS) – Gängige Vermutung war, dass Proteine mit < 30-50 AS keine definierte 3D Struktur ausbilden können



**Primärstruktur:** Sequenz der Aminosäuren in einem Protein

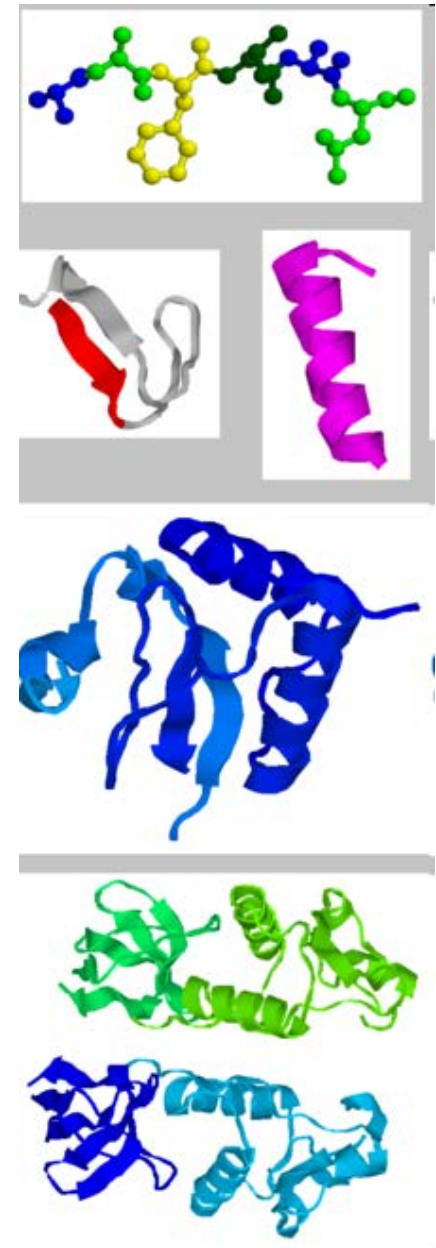
**Sekundärstruktur:**  $\alpha$ -Helix,  $\beta$ -Faltblatt,  $\beta$ -Schleifen, Random-Coil Structure durch Wasserstoffbrücken zwischen den Polypeptidbindungen des Backbone

**Tertiärstruktur:** Übergeordnete räumliche Strukturierung durch Bindungen und Kräfte der AS-Seitenketten (hydrophob, ionisch, Van-der-Waals Kräfte bzw Disulfidbindungen)

**Quartärstruktur:** Funktioneller Proteinkomplex (Ionenkanal) durch Wasserstoff- und/oder Salzbrücken bzw kovalente Bindungen

Funktionelle **Suprastrukturen** möglich (Aktin/Myosin)

In einigen Fällen erst Faltung mittels **Chaperone** möglich (Heat-Shock-Proteines)



Für arg3.1

