

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung

1.1 Grundlagen der synaptischen Übertragung

1.2 Sekretorische Vesikel und ihre Neurotransmittertransporter

1.2.1 Der vesikuläre Monoamintransporter

1.2.2 Der vesikuläre Glutamattransporter

1.2.3 Der vesikuläre Acetylcholintransporter

1.2.4 Der vesikuläre GABA- oder inhibitorische-Aminosäuren Transporter

1.3 Regulation der Aktivität vesikulärer Transporter

1.3.1 Der elektrochemische Gradient

1.3.2 Heterotrimere G-Proteine

1.3.2.1 Regulation des VMAT2 durch $G_{\alpha 2}$ und $G_{\alpha q}$ in verschiedenen Geweben

1.4 Fragestellung

2. Material und Methoden

2.1 Chemikalien und Reagenzien

2.2 Puffer und Lösungen

2.3 Antikörper

2.3.1 primäre Antikörper

2.3.2 sekundäre Antikörper

2.4 Geräte und Apparaturen

2.5 Durchführung der Experimente

2.5.1 Aufarbeitung von Gewebe und Gewinnung von Thrombozyten

2.5.1.1 Vesikelpräparation (Synaptische Vesikel und Synaptosomen)

2.5.1.2 Gewinnung von Thrombozyten

2.5.2 Permeabilisierung von Synaptosomen und Thrombozyten mit Streptolysin O

2.5.2.1 Permeabilisierung von Thrombozyten

2.5.2.2 Permeabilisierung von Synaptosomen

2.5.3 Messung der vesikulären Neurotransmitteraufnahme

2.5.3.1 Monoaminaufnahme in Synaptosomen und Thrombozyten

2.5.3.2 Monoaminaufnahme in synaptischen Vesikeln

2.5.4 Versuchstiere

2.5.4.1 Zucht

2.5.4.2 Genotypisierung der $G_{\alpha 2}$ - und $G_{\alpha 1+2}$ -Deletionsmutanten

- 2.5.5 Polyacrylamid-Gelelektrophorese und Immunreplikaanalyse (Western-Blot)
- 2.5.6 Messung der Aktivität der Monoaminoxidase
- 2.5.7 Proteinbestimmung (BCA-Methode)

3. Ergebnisse

3.1 Regulation von VMAT2 im ZNS in Wildtyp-Mäusen und

$G_{\alpha O2}$ -Deletionsmutanten - ein Vergleich

- 3.1.1 G-Protein vermittelte VMAT Regulation
 - 3.1.2 Zeitabhängigkeit der Monoaminaufnahme in Wildtyp- und $G_{\alpha O2}$ -Deletionsmutanten
 - 3.1.3 Einfluss von ΔpH und $\Delta \Psi$ auf die VMAT-Aktivität in An- und Abwesenheit von $G_{\alpha O2}$
 - 3.1.3.1 pH-Wert Abhängigkeit
 - 3.1.3.2 Hemmung der vakuolären H^+ -ATPase (V-ATPase)
 - 3.1.3.3 Einfluss der Chlorid-Konzentration
 - 3.1.4 Metabolisierende und synthetisierende Enzyme des Monoaminstoffwechsels in Wildtyp- und $G_{\alpha O2}^{-/-}$ - Mäusen
 - 3.1.4.1 Tyrosinhydroxylase
 - 3.1.4.2 Monoaminoxidase
 - 3.1.5 nachgeschaltete Signaltransduktionswege
 - 3.1.5.1 cAMP und cGMP und ihre Rolle in der Regulation des VMAT2-Transporters
 - 3.1.5.1.1 Synthese von cGMP- die Guanylatzyklase
 - 3.1.5.1.2 Abbau von cGMP- die Phosphodiesterasen
- #### 3.2 Regulation von VMAT2 durch $G_{\alpha q}$ in humanen Thrombozyten
- 3.2.1 G-Protein vermittelte VMAT Regulation
 - 3.2.2 Nachgeschaltete Signaltransduktionswege
- #### 3.3 Die Phospholipase C - die gemeinsame Endstrecke?

4. Diskussion
 - 4.1 Regulation des vesikulären Monoamintransporters 2
 - 4.2 Regulation der Serotoninkonzentration in Nervenendigungen
 - 4.3 Unterschiede und Gemeinsamkeiten in der Regulation des VMAT2 in synaptischen Vesikeln und Vesikeln aus Thrombozyten- Die Rolle der sekundären Botenstoffe cAMP und cGMP
5. Zusammenfassung/summary
6. Abkürzungen
7. Literatur
8. Danksagung
9. Lebenslauf
10. Selbstständigkeitserklärung