

Molekularbiologische und pharmakologische Manipulation der Tryptophanhydroxylasen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades des
Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

eingereicht im Fachbereich Biologie, Chemie und Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Diplom-Chemiker Jens-Uwe Peter
aus Berlin

Januar, 2006

Die hier vorliegende Arbeit wurde in der Abteilung
Molekularbiologie von Hormonen im Herz-Kreislaufsystem
des Max-Delbrück-Centrums für Molekulare Medizin
in Berlin-Buch und im Max-Planck-Institut
für Molekulare Genetik in Berlin-Dahlem
angefertigt

1. Gutachter: Prof. Dr. Fritz G. Rathjen
2. Gutachter: Prof. Dr. Michael Bader

Tag der Disputation: 13.06.2006

Molekularbiologische und pharmakologische Manipulation der Tryptophanhydroxylasen

Serotonin (5-HT) ist ein Neurotransmitter, der bei Regulierung von affektivem Verhalten wie Stimmung, Angst und Aggression beteiligt ist, aber auch vegetative Funktionen wie Schlaf, Appetit und Temperaturkontrolle beeinflusst. Dysfunktionen des serotonergen Systems spielen deshalb eine wichtige Rolle bei vielen psychiatrischen Erkrankungen wie Depression und Suizidalität, Angst- und Zwangserkrankungen, Impulskontrollstörungen und Störungen des Essverhaltens. 5-HT kommt aber auch in vielen peripheren Geweben vor und steuert dort unter anderem die primäre Hämostase, den Blutdruck, die Darmmotilität und die zellvermittelte Immunantwort.

Die 5-HT-Biosynthese wird im geschwindigkeitsbestimmenden Schritt von der Tryptophanhydroxylase (TPH) katalysiert. Das Gen einer zweiten TPH-Isoform (TPH2), die in neuronalen Geweben exprimiert wird, wurde in der vorliegenden Arbeit für die Maus, die Ratte und den Menschen zum ersten Mal kloniert, sequenziert und die Enzymeigenschaften der rekombinanten Enzyme charakterisiert. Die ermittelten biochemischen Charakteristika der TPH2 stimmen mit den Parametern überein, die in früheren Studien mit TPH aus neuronaler Quelle ermittelt wurden. Die durchgeführten Sequenzanalysen zeigen auch, dass die TPH2 phylogenetisch die jüngste Aromatische-Aminosäure-Hydroxylase neben der Phenylalanin- und Tyrosinhydroxylase ist. Der erstellte phylogenetische Stammbaum erlaubt einen interessanten Überblick auf die Evolution der Hydroxylasen, die demnach vor etwa drei Milliarden Jahren begann.

Zum genaueren Verständnis der physiologischen Bedeutung des serotonergen Systems, wurde im Tierversuch an Mäusen der 5-HT-Spiegel pharmakologisch und molekularbiologisch manipuliert. Durch die Behandlung der Mäuse mit 1-Methyltryptophan (1-MeTrp) als Inhibitor des Tryptophan abbauenden Enzyms Indolamin-2,3-dioxygenase (IDO) konnte der 5-HT-Spiegel peripher im Blutplasma um 800 % und zentral im Gehirn um 30 % erhöht werden. Um die 5-HT-Gehalte pharmakologisch zu vermindern, wurde das Tryptophanalogon 7-Hydroxytryptophan (7-HTP) synthetisiert und in Zellkultur und Tierversuchen getestet. Diese bisher noch nicht verwendete Substanz wird durch die TPH zum toxischen 5,7-Dihydroxytryptamin (5,7-DHT) metabolisiert und tötet so gezielt serotonerge Zellen ab. In Zellkulturexperimenten erwies sich 7-HTP als geeignet, um spezifisch 5-HT produzierende kleinzellige Lungenkrebs- und Karzinoidzellen abzutöten. Damit besitzt 7-HTP ein Potential als Zytostatikum gegen 5-HT produzierende Tumore. In Tierversuchen an *Drosophila* und Mäusen zeigte 7-HTP keine offensichtlichen toxischen Auswirkungen. An Mäusen konnte aber sechs Tage nach oraler Verabreichung von 7-HTP eine Verminderung der 5-HT-Spiegel im Blut um 37 % festgestellt werden.

Molekularbiologisch erfolgte die spezifische Manipulation der TPH-Expression mit Hilfe von Ribozymen. Dazu wurden drei gegen TPH1 gerichtete Mini-Hammerheadribozyme konstruiert deren Spalteffizienzen *in vitro* von den Substrat/Ribozym-Verhältnissen und der Reaktionsdauer abhängig waren und mit den berechneten freien Energien der Spaltreaktionen korrelierten. Nach der Klonierung in tRNA-Expressionskonstrukte kehrte sich die Rangfolge der *in vitro* Spalteffizienzen der drei Ribozyme um. Das beste tRNA-Ribozymkonstrukt zeigte auch in Zellkulturexperimenten mit 5-HT produzierenden Mastzellen eine deutliche Reduktion der TPH1-Expression um 79 %. Das bedeutet, dass empirische Tests immer noch notwendig sind, um die beste Zielsequenz eines Ribozyms zu ermitteln. Die mit diesem Ribozym erzeugten heterozygot transgenen Tiere zeigten im Duodenum eine leichte Herabregulation der TPH1 um 34 % und auch eine Absenkung der 5-HT-Konzentration um 17 %. Diese Ribozyme können also neue Möglichkeiten zur Beeinflussung der Hämostase, und damit zu neuen Therapien von thrombotisch bedingten Erkrankungen bieten.

Zur Untersuchung verminderter TPH2-Expression im Tiermodell wurden transgene Mäuse mit retroviralen Vektoren generiert, die Hammerheadribozyme gegen TPH2 exprimieren. Anhand dieser Mäuse konnte die Anwendung des retroviralen Gentransfers am Beispiel eines Ribozym vermittelten TPH2-Knockdowns demonstriert werden. Diese Mäuse zeigen eine verminderte 5-HT-Syntheserate im Gehirn und als Folge ein anxiolytisches Verhalten. Es ist damit gelungen, ein zweites unabhängiges serotonerges System im ZNS genauer zu charakterisieren und spezifisch zu manipulieren und daraus entscheidende Erkenntnisse für das Verständnis der 5-HT-Biosynthese zu gewinnen.

Genetic and pharmacological manipulation of the tryptophan hydroxylases

The neurotransmitter Serotonin (5-HT) is involved in the regulation of affective behavior, such as mood, anxiety, and aggression and influences vegetative functions like regulation of sleep, appetite, and body temperature. Therefore, dysfunctions of the serotonergic system play an important role in numerous psychiatric disorders such as depression and suicidality, obsessive-compulsive disorder, impulsive behavior and eating disorders. 5-HT also occurs in many peripheral tissues and regulates amongst others primary haemostasis, blood pressure, gut motility, and cell-mediated immune response.

The rate-limiting step in the biosynthesis of 5-HT is catalysed by the tryptophan hydroxylase (TPH). The gene of a newly discovered second TPH-isoform (TPH2), which is expressed in neuronal tissues, was cloned and sequenced from mouse, rat, and human and the enzymatic properties of the recombinant enzymes were characterized for the first time. The biochemical characteristics of the TPH2 were found in agreement with the parameters, which were determined in earlier studies with TPH from neuronal sources. Sequence analyses also show that TPH2 is phylogenetically the youngest aromatic amino acid hydroxylase beside the phenylalanine and tyrosine hydroxylases. The constructed phylogenetic pedigree gives an interesting overview on the evolution of hydroxylases, which thus began approximately three billion years ago.

In order to better understand the physiological impact of the serotonergic system the 5-HT-levels were pharmacologically and genetically manipulated *in vivo*. Treatment of mice with 1-methyl-tryptophan (1-MeTrp), an inhibitor of the tryptophan metabolising enzyme indolamine-2,3-dioxygenase (IDO), resulted in increased levels of 5-HT in blood by 800 % and in the central nervous system by 30 %. To deplete the 5-HT-levels pharmacologically the tryptophan analogue 7-hydroxytryptophan (7-HTP) was synthesised and tested in cell culture and animal experiments. It could be shown that this novel substance is metabolised by TPH to its toxic derivative 5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT) which is able to kill serotonergic cells specifically. In cell culture experiments 7-HTP was proven to be suitable to kill 5-HT producing small cell lung cancer cells and carcinoid tumor cells specifically showing its potential as a specific chemotherapeutic compound against 5-HT-producing tumors. Animal experiments with *Drosophila* and mice revealed no obvious toxic effects of 7-HTP, but oral administration of 7-HTP to mice diminished 5-HT blood levels by 37 % after six days.

The expression of TPH was targeted genetically using ribozymes. Therefore, three mini-hammerhead ribozymes against the *Tph1*-mRNA were designed and their efficacies were tested *in vitro*. Their determined cleavage efficiencies were dependent on the substrate/ribozyme ratios and the duration of the cleavage reactions and were correlated with their calculated free energies. After cloning these ribozymes into tRNA-expression constructs, different cleavage rates were detected *in vitro*. The most effective one of these tRNA-miniribozyme chimeras reduced the expression of TPH1 in 5-HT producing mastocytoma cells by 79 %. This shows that empirical tests are still necessary to find the best target sequence of ribozymes. Heterozygous transgenic animals expressing this tRNA-miniribozyme chimera showed a down regulation of the TPH1 in the duodenum by 34 % and of the 5-HT-levels by 17 %. New pharmacological possibilities to influence haemostasis using this ribozyme may provide novel therapies of thrombotic diseases.

To investigate a decreased expression of TPH2 *in vivo*, transgenic mice were generated using retro-viral vectors, which express hammerhead ribozymes against the TPH2. With these mice the generation of a ribozyme-mediated TPH2-knock-down using retro-viral gene transfer could be demonstrated. These mice show a decreased 5-HT synthesis in the brain, which entails anxiolytic behavior. Thus, a second independently regulated serotonergic system in the CNS was better characterized and manipulated specifically, and fundamental insights for the understanding of the 5-HT biosynthesis were gained.

INHALTSVERZEICHNIS

<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	III
<u>ABSTRACT</u>	IV
<u>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</u>	XI
<u>SYMBOLE UND EINHEITEN</u>	XIII
<u>I EINLEITUNG</u>	1
1 DAS SEROTONERGE SYSTEM	1
1.1 Vorkommen und Funktion von Serotonin (5-HT) in Säugetieren	1
1.2 Der 5-HT-Stoffwechsel	3
1.2.1 Die 5-HT-Biosynthese	3
1.2.2 Biochemische Zusammenhänge	4
1.3 Komponenten des serotonergen Systems	7
1.3.1 Transporter	7
1.3.2 5-HT-Rezeptoren (5-HTRs)	10
2 5-HT IM NERVENSYSTEM	14
2.1 Anatomie des neuronalen serotonergen Systems	14
2.2 Funktionen und Dysfunktionen des neuronalen serotonergen Systems	16
2.2.1 Neuronale Ontogenese	16
2.2.2 Einfluss auf das Verhalten	17
2.2.3 Neurologische und psychiatrische Erkrankungen	18
3 5-HT IN DER PERIPHERIE	20
3.1 Funktionen und Dysfunktionen des peripheren serotonergen Systems	20
3.1.1 Präneuronalen Ontogenese	20
3.1.2 Hämostase und Blutgerinnung	20
3.1.3 Zellvermittelte Immunantwort	21
3.1.4 5-HT bedingte Krankheiten in der Peripherie	22
4 DIE TRYPTOPHAN-HYDROXYLASE (TPH)	23
4.1 Die Superfamilie Aromatischer-Aminosäure-Hydroxylasen (AAAHs)	23
4.2 Struktur der AAAHs	24
4.3 Die TPH1	26
4.3.1 Genstruktur und Lokalisierung	26
4.3.2 Genexpression	27

4.4 Regulierung der TPH-Aktivität	27
4.4.1 Substratkontrolle	27
4.4.2 Biochemische Aktivierung	28
5 TRANSGENE TIERMODELLE SEROTONERGER DYSFUNKTION	29
6 RIBOZYMTECHNOLOGIE	31
6.1 Ribozyme als natürliche katalytische RNA	31
6.2 Einsatz von Ribozymen zur Manipulation der Genexpression	31
7 ZIELSETZUNG	34
<u>II MATERIAL UND METHODEN</u>	35
1 FEINCHEMIKALIEN UND REAGENZIEN	35
2 ENZYME UND KITS	36
3 GERÄTE	36
4 ZELLKULTUREN UND MIKROORGANISMEN	37
4.1 Säugetierzellen	37
4.1.1 Allgemeine Kulturbedingungen	37
4.1.2 Neuroblastoma × Glioma NG108-15 (Maus × Ratte)	38
4.1.3 Mastocytoma P815 (Maus)	38
4.1.4 Nierenepithelzelllinie COS-7 (Grüne Meerkatze)	39
4.1.5 Verpackungszelllinie ψCRE (Maus)	39
4.1.6 Fibroblastenzelllinie NIH3T3 (Maus)	39
4.1.7 Kleinzellige Lungenkrebszelllinien SHP-77 und NCI-H510A (human)	40
4.1.8 Pankreatische Karzinoidzelllinie BON (human)	40
4.2 Manipulation von Säugerzellen	41
4.2.1 Kalziumphosphat-Transfektion	41
4.2.2 Transfektion mit Lipofectamin	41
4.2.3 Elektroporation	42
4.2.4 Transduktion	42
4.2.5 Virustiterbestimmung	43
4.2.6 Viabilitätsmessung mit Trypanblau	43
4.2.7 Fixierung und X-Gal-Färbung von Zellkulturen	43
4.2.8 Proliferationsassays	44
4.3 Bakterien	45
5 ALLGEMEINE MOLEKULARBIOLOGISCHE TECHNIKEN	45
6 PROTEINCHEMISCHE METHODEN	46
6.1 Bestimmung der Proteinkonzentration	46
6.2 Isolierung und Lagerung von Proteinen	46
6.2.1 Protein-Isolierung mit TRIZOL	46

6.2.2 Protein-Isolierung durch nativen Zellausschluss	46
6.3 TPH-Assay	47
6.3.1 Reaktionsbedingungen	47
6.3.2 Detektion von Tryptophan- und 5-HT-Metaboliten mittels HPLC-FD	48
6.4 DISK-SDS-Page	48
6.5 Westernblot	49
7 NUKLEINSÄURE-MANIPULATIONEN	50
7.1 Konzentrationsbestimmung	50
7.2 Isolierung von Nukleinsäuren	50
7.2.1 Genomische DNA	50
7.2.2 Plasmid-DNA aus <i>E. coli</i>	51
7.2.3 DNA-Fragmente aus Agarosegelen	51
7.2.4 Konstrukte für die Transfektion von Säugerzellen	51
7.2.5 Konstrukte für die Mikroinjektion	52
7.2.6 Kurze doppelsträngige DNA aus synthetischen Oligonukleotiden	52
7.2.7 RNA und mRNA aus Zellkulturen und Geweben	53
7.2.8 RNA-Fragmente aus denaturierenden Gelen	54
7.3 Lagerung von DNA und RNA	54
7.4 Enzymatische Manipulationen der DNA	54
7.4.1 Klonierung der Ribozymkonstrukte	54
7.4.2 Klonierung der in tRNA ^{Met} integrierten Ribozymkonstrukte	55
7.4.3 Klonierung der Substrat-Vektoren	57
7.4.4 Klonierung der TPH2-Expressions-Konstrukte	58
7.4.5 Restriktionsschnitte von DNA	59
7.4.6 Dephosphorylierung von linearisierten Vektoren	59
7.4.7 Generierung stumpfer Enden	60
7.4.8 Ligation von DNA	60
7.4.9 Polymerase-Kettenreaktion (PCR)	60
7.4.9.1 Allgemeine Bedingungen	60
7.4.9.2 Long-range-PCR	63
7.4.9.3 Touch-down-PCR	63
7.4.9.4 Sequenzreaktion	64
7.4.10 Reverse Transkription	64
7.4.11 5'RACE	65
7.5 Gelelektrophorese	65
7.5.1 Agarosegele	65
7.5.2 Denaturierende Agarosegele	66
7.5.3 Denaturierende Polyacrylamidgele	66

7.6 <i>In vitro</i> Transkription	67
7.7 Spaltreaktion	67
7.8 RNase Protection Assay (RPA)	68
7.9 Southernblot	68
8 TIERVERSUCHE	69
8.1 Mausstämme und Haltung von Mäusen	69
8.2 Transgene Techniken	69
8.2.1 Superovulation von Oozyten-Spendertieren	69
8.2.2 Isolierung von Oozyten	70
8.2.3 Mikroinjektion von Oozyten	71
8.2.4 Vorbehandlung von Leihmüttern und Retransfer manipulierter Embryos	72
8.2.5 Schwanzbiopsie potentiell transgener Nachkommen	73
8.3 Hämatologische Untersuchungen	73
8.3.1 Ermittlung von Blutungszeiten	73
8.3.2 Bestimmung der Blutgehalte von 5-HT- und Trp-Metaboliten	74
8.4 Pharmakologische Untersuchungen mit 1-Methyltryptophan (1-MeTrp)	74
8.5 Verhaltenstests	75
8.6 Anzucht und Haltung von Fruchtfliegen (<i>Drosophila melanogaster</i>)	76
8.7 Behandlung und Untersuchung von Fruchtfliegen	76
9 SYNTHESCHEMISCHE METHODEN	77
9.1 Chemische Synthese von nicht käuflichen Substanzen	77
9.1.1 Die Fenton-Reaktion	77
9.1.2 Synthese von 7-HTP vom 7-Benzoyloxyindol ausgehend	77
9.1.3 Totalsynthese vom 7-HTP	79
9.2 Analyse der synthetisierten Substanzen	80
9.2.1 Farbreaktion	80
9.2.2 Dünnschichtchromatographie	81
9.2.3 Bestimmung von 7-HTP und Nebenprodukte mit HPLC-FD/UV	81
10 STATISTIK	82
<u>III ERGEBNISSE</u>	83
1 MANIPULATIONEN DER SEROTONINBIOSYNTHESE	83
1.1 Pharmakologische Manipulation mit 7-Hydroxytryptophan (7-HTP)	83
1.1.1 Vorbemerkung	83
1.1.2 Aufnahme der Neurotoxine durch den SERT	83
1.1.3 Hemmung der DHT-Aufnahme mit SSRIs	84
1.1.4 Test von 5,6- und 5,7-DHT in Zellkulturen	85
1.1.5 Synthese und Charakterisierung von 7-HTP	86

1.1.5.1 Die Fenton-Reaktion	86
1.1.5.2 Synthese nach Ek und Witkop	88
1.1.5.3 Analyse und Quantifizierung	90
1.1.6 Bestimmung der Toxizität von 7-HTP in Zellkultur	90
1.1.6.1 Toxizität in TPH-exprimierenden Zellen	90
1.1.6.2 Aufhebung der Toxizität von 7-HTP durch TPH-Inhibition	92
1.1.7 Proliferationsuntersuchungen an kleinzelligen Lungenkrebszellen	93
1.1.8 Toxizitätsuntersuchungen am Mausmodell	94
1.1.9 Wirkungen von 7-HTP auf die Entwicklung von Fruchtfliegen	95
1.2 Pharmakologische Manipulation mit 1-Methyltryptophan (1-Metrp)	96
1.2.1 Vorbemerkung	96
1.2.2 Trp-Metaboliten in peripheren Geweben nach Hemmung der IDO	97
1.2.2.1 Trp-Metaboliten im Duodenum und Blutplasma nach IDO-Hemmung	97
1.2.2.2 Trp-Metaboliten in der Leber nach TDO-Hemmung	99
1.2.3 Trp-Metaboliten im ZNS nach Hemmung der IDO	100
1.3 Manipulationen mit Nukleinsäuren	102
1.3.1 Design von Hammerheadribozymen gegen <i>Tph1</i>-mRNA	102
1.3.1.1 Erstellung von Magnesium optimierten Miniribozymkonstrukten	102
1.3.1.2 Auswahl der Ribozym bindenden Sequenz	103
1.3.1.3 Berechnung der freien Energien	104
1.3.2 <i>In vitro</i> Spaltversuche von drei Ribozymen	106
1.3.2.1 Bestimmung optimaler Bedingungen	106
1.3.2.2 Vergleich der drei Ribozyme	109
1.3.3 Design von drei in tRNA eingefügten Ribozymen	110
1.3.4 <i>In vitro</i> Spaltversuche der drei tRNA-Ribozyme	112
1.3.5 Test in Zellkulturen	114
1.3.5.1 Bestimmung der Toxizität von 7-HTP in Ribozym transfizierten Zellen	114
1.3.5.2 Bestimmung der TPH1-Expression in Ribozym transfizierten P815-Zellen	115
2 CHARAKTERISIERUNG DER NEUEN TPH-ISOFORM TPH2	117
2.1 Struktur und Expression	117
2.1.1 Ermittlung der <i>tph2</i> -Sequenz und der Genstruktur	117
2.1.2 Expression von TPH2	118
2.2 Exon-Intron-Struktur	119
2.3 Vergleich von TPH1 und TPH2	121
2.4 Phylogenetischer Stammbaum	121
2.5 Kinetische Eigenschaften von TPH1 und TPH2	123
2.5.1 Herstellung von TPH2 exprimierenden Zellen	123
2.5.2 Kinetiken bezüglich des Substrates und des Kofaktors	123

2.6 Stabilitäten von TPH1 und TPH2	125
3 GENERIERUNG VON TPH1- UND TPH2-KNOCKDOWN-MÄUSEN	127
3.1 Erzeugung transgener TPH1-Knockdown-Mäuse	127
3.1.1 Erzeugung von transgenen Mäusen durch Vorkerninjektion	127
3.1.2 Untersuchung der transgenen TPH1-Knockdown-Mäuse	127
3.1.2.1 5-HT in transgenen Mäusen	127
3.1.2.2 <i>Tph1</i> -mRNA in transgenen Mäusen	129
3.2 Erzeugung transgener TPH2-Knockdown-Mäuse	130
3.2.1 Vorbemerkung	130
3.2.2 Design von Hammerheadribozymen gegen <i>Tph2</i> -mRNA	131
3.2.3 Auswahl der Ribozym bindenden Sequenz	131
3.2.4 Erzeugung von transgenen Mäusen durch retrovirale Infektion von Zygoten	132
3.2.5 Phänotyp der transgenen TPH2-Knockdown-Mäuse	133
 <u>IV DISKUSSION</u>	 136
1 PHARMAKOLOGISCHE MANIPULATION DES SEROTONERGEN SYSTEMS	136
1.1 Erhöhung des 5-HT-Spiegels mit 1-MeTrp	136
1.2 Wirkungen von 7-HTP auf serotonerge Zellen	137
2 MANIPULATION DES SEROTONERGEN SYSTEMS MIT RIBOZYMEN	139
2.1 Ribozym vermittelte Herabregulation der TPH1-Expression	139
2.2 Ribozyme im transgenen Tiermodell	142
2.3 Bedeutung für eine antithrombotische Gentherapie	143
3 DIE NEUE NEURONALE TPH-ISOFORM (TPH2)	145
3.1 Eigenschaften der TPH2	145
3.2 Bedeutung der TPH2 für das Verhalten im Tiermodell	148
3.3 Phylogenetische Einordnung der TPH2	150
4 DIE ETABLIERTEN TIERMODELLE	152
4.1 Die transgenen TPH1-Knockdown-Mäuse	152
4.2 Die transgenen TPH2-Knockdown-Mäuse	152
 <u>V LITERATURVERZEICHNIS</u>	 155
 <u>DANKSAGUNGEN</u>	 184
 <u>PUBLIKATIONEN</u>	 185

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Akronyme	Bedeutung
129SvJ	Mauslinie
AAAD	Aromatische Aminosäure-Decarboxylase (aromatic amino acid decarboxylase)
AAAH	Aromatische-Aminosäure-Hydroxylase (aromatic amino acid hydroxylase)
aa	Aminosäure
Ab	Antikörper (antibody)
ALDH	Aldehyddehydrogenase
ADHD	Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätssyndrom (attention deficit hyperactivity disorder)
ADP	Adenosindiphosphat
Ag	Antigen
azaC	5-Azacytidin
BCIP	5-Bromo-4-chloro-indolyl-phosphat
BH ₄	Tetrahydropterin
BIS	N,N'-Methyl-bisacrylamid
bp	Basenpaar(e)
BSA	Rinderserum-Albumin (bovine serum albumine)
C57BL/6	Mauslinie
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CIP	Kälberdarm-Phosphatase (calf intestine phosphatase)
CM	Chorismat-Mutase
CpG	Cytidin-Guanin-Dinucleotid
CS	Kontaktsensibilität (contact sensitivity)
CsA	Cyclosporin A
CSF	zerebrospinale Flüssigkeit (cerebrospinal fluid)
Da	Dalton
DAT	Dopamintransporter
DMEM	Dulbeccos Modified Eagles Medium
DMF	N,N-Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxribonucleinsäure
DNase	Desoxyribonuclease
dNTP	Desoxyribonucleotidtriphosphat
dsRNA	Doppelstrang-RNA
5,6-DHT	5,6-Dihydroxytryptamin
5,7-DHT	5,7-Dihydroxytryptamin
DISK-SDS-PAG(E)	Diskontinuierliche SDS-Polyacrylamidgel-(Elektrophorese)
DMPH ₄	6,7-Dimethyl-5,6,7,8-tetrahydropterin
DTH	hypersensitive verzögerte Immunantwort (delayed-type hypersensitivity)
DTT	1,4-Dithiothreitol
EDTA	Etylendiamintetraessigsäure
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
FVBN	Mauslinie
GDP	Guanosindiphosphat
Glc	Glucose
GTP	Guanosintriphosphat
HEPES	N-(2-Hydroxymethyl)piperazin-N'-(2-ethansulfonsäure)
HIOMT	Hydroxyindol-O-Methyltransferase
HPA	Hypothalamo-Hypophysen-Achse
His	L-Histidin
HPLC-FD	Hochdruck-Flüssigchromatographie mit Fluorometrischer Detektion (high pressure liquid chromatography with fluorometric detection)
5-HIAA	5-Hydroxyindolessigsäure
5-HT	5-Hydroxytryptamin (Serotonin)
4-HTP	4-Hydroxytryptophan
5-HTP	5-Hydroxytryptophan
6-HTP	6-Hydroxytryptophan
7-HTP	7-Hydroxytryptophan
5-HTR	Serotoninrezeptor
i.c.	intrakardial
i.c.v.	intracerebroventricular
i.E.	internationale Einheiten
i.p.	intrapitoneal
IC ₅₀	Hemmungskonstante 50 % (inibition constant 50%)
IDO	Indolamin-2,3-Dioxygenase
IFN- γ	Interferon-Gamma
kb	Kilo-Basenpaare
KD	Knock-down
kDa	Kilo-Dalton
KO	Knock-out
lacZ	β -Galactosidase-Gen
Leu	L-Leucin
LSD	Lysergsäurediamid

LTP	Langzeit-Potenzierung (long term potentiation)
LTR	Lange terminale Wiederholungssequenzen (long terminal repeats)
MAO-A/B	Monoaminoxidase A/B
MCE	Mercaptoethanol
MCS	Polylinker (multiple cloning site)
MDA	3,4-Methylendioxyamphetamin
MDMA	3,4-Methylendioxymethamphetamin (= „Ecstasy“)
MEM	minimal essential medium
1-MeTrp	1-Methyltryptophan
MIC	minimale hemmende Konzentration (minimal inhibitory concentration)
MOPS	3-Morpholinopropansulfonsäure
6MPH₄	6-Methyl-5,6,7,8-tetrahydropterin
mRNA	Boten-RNA (messenger RNA)
NAT	Noradrenalintransporter
NBT	nitro blue tetrazolium
NCM	Nitrocellulose-Membran
NF-κB	nucleärer Faktor κ B
NSD1015	3-Hydroxybenzylhydrazine Hydrochlorid
nt	Nucleotide
OD_x	optische Dichte (bei x nm)
ORF	offener Leserahmen (open reading frame)
pACC	perigenualer anterior cingulate cortex
PAH	Phenylalanin-Hydroxylase
pBS	pBluescript Plasmidvektor
PBS	Phosphat gepufferte Kochsalzlösung (phosphate-buffered saline)
PCA	Perchlorsäure (perchloric acid)
PCPA	p-Chlorophenylalanin
PCR	Polymerase-Kettenreaktion (polymerase chain reaction)
PDT	Prephenat-Dehydratase
pEGFP-C1	Plasmidvektor zur Expression des starken grünen fluoreszierenden Proteins (enhanced fluorescein protein)
pGEM-T	pGEM-T-Plasmidvektor
Phe	Phenylalanin
PKC	Protein-Kinase C
PLC	Phospholipase C
PMA	Phorbol-myristat-acetat
pMSCV	retroviraler Plasmidvektor
PMSF	Phenylmethylsulfonylfluorid
PPP	Thrombozyten-armes Plasma (platelet-poor plasma)
RFLP	Restriktionsfragment-Längen-Polymorphismus
RNA	Ribonukleinsäure
RNase	Ribonuklease
RPA	RNase Protection Assay
RT	Reverse Transkriptase
Rz	Ribozym
SERT	Serotonintransporter
SD	Sprague-Dawley (Rattenlinie)
SDS	Natriumdodecylsulfat (sodium dodecyl sulfate)
siRNA	kurze interferierende RNA (short interfering RNA)
SNAT	Serotonin-N-Acetyltransferase
SNP	Einzelnukleotidaustausch (single nucleotide polymorphism)
SMBS	Natriummetabisulfit (sodium metabisulfite)
SPD	Speicherdefizienz (storage pool deficiency)
SSC	Kochsalz-Natriumcitratpuffer (saline sodium citrate)
SSRI	serotoninspezifische Wiederaufnahmehemmer (selective serotonin reuptake inhibitors)
TAE	Tris-Acetat-EDTA-Puffer
TBE	Tris-Borat-EDTA-Puffer
TBS	Tris-gepufferte physiologische Kochsalzlösung (Tris buffered saline)
TDO	Tryptophan -2,3-Dioxygenase
TE	Tris-EDTA-Puffer
TEMED	N,N,N',N'-Tetramethylenethyldiamin
TH	Tyrosinhydroxylase
TNF-α	Tumornekrosefaktor α
TPH1/2	Tryptophanhydroxylase 1/2
tpH1/2	Tryptophanhydroxylase 1/2-Gen
Tris	Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan
Triton-X-100	Octylphenol-(ethylenglykolether) _n
tRNA	transfer-RNA
tRz	in tRNA eingefügtes Ribozym
Trp	L-Tryptophan
Tyr	Tyrosin
u	enzymatische Einheit (unit)
upm	Umdrehungen pro Minute
UV	Ultraviolett
VEGF	vaskulär-endothelialer Wachstumsfaktor (vascular endothelial growth faktor)
vWF	von Willebrand-Faktor
Xaa	beliebige Aminosäure
X-Gal	4-Bromo-5-chloro-3-indolyl- β -D-galactopyranosid
ZNS	Zentrales Nervensystem

SYMBOLS UND EINHEITEN

Symbol oder Einheit	Bedeutung
(v/v)	Volumenverhältnis
(w/v)	Verhältnis Masse zu Volumen
bp	Basenpaare (1 bp entspricht $M_r = 654 \text{ g mol}^{-1}$)
cfu	Kolonie formende Einheiten (colony forming units)
cpm	Impulse pro Minute (counts per minute)
Da	Dalton (Molekulargewicht von Proteinen)
IC ₅₀	Hemmungskonstante 50 % (50 %ige Hemmung enzymatischer Aktivität oder 50 %ige Wachstumshemmung)
kb	Kilo-Basenpaare
kDa	Kilo-Dalton
K _m	Michaelis-Menten-Konstante
nt	Nukleotide (Anzahl)
μCi	Mikro-Curie
OD	Optische Dichte
Torr	1 Torr = 133,32 Pa
u	Einheit enzymatischer Aktivität (enzymatic unit)
upm	Umdrehungen pro Minute