

5. Zusammenfassung

Aktivitätsabhängige Veränderung der neuronalen Verbindungen ist eine bemerkenswerte Eigenschaft der synaptischen Übertragung und charakteristisch für plastische Ereignisse im Nervensystem. So können kurze Episoden synaptischer Aktivität zu einer lang anhaltenden Potenzierung oder Schwächung der neuronalen Konnektivität führen. Diese synaptische Plastizität ist assoziiert mit physiologischen Prozessen während der Entwicklung und im erwachsenen Gehirn. Ein besonders faszinierendes Beispiel ist in der Erforschung vom Lernen- und Gedächtnisvorgang zu sehen. Für die Konsolidierung der synaptischen Plastizität und des Langzeit-Gedächtnisses wird die Biosynthese der mRNAs und Proteine benötigt. Die Inhibition der Translation bzw. der Transkription verhindert demzufolge die Expression lang anhaltender synaptischer Plastizität sowie die Retention eines Langzeit-Gedächtnisses. Eine der zentralen Fragestellungen im Bereich der Neurowissenschaften beschäftigt sich daher mit der Identifizierung aktivitätsregulierter Gene und der Charakterisierung ihrer Funktion bei den aktivitätsinduzierten Prozessen der synaptischen Plastizität. Arc/Arg3.1 wurde vor 13 Jahren als unmittelbar frühes Gen nach neuronaler Aktivität in unserem Labor identifiziert. Besonders bemerkenswert ist, dass nach der robusten Induktion der Arc/Arg3.1-Expression durch die synaptische Aktivierung die Arc/Arg3.1-mRNA in die Dendriten transportiert wird und dort selektiv im Bereich der aktivierten Synapsen akkumuliert. Die dendritische Lokalisation der Transkripte bietet die Möglichkeit zur lokalen Translation von Arc/Arg3.1 an der Synapse und kann zu aktivitätsinduzierten synapsenspezifischen Modifizierungen beitragen. Die essentielle Rolle von Arc/Arg3.1 für die Konsolidierung der synaptischen Plastizität und des Langzeit-Gedächtnisses wird durch die elektrophysiologischen und Verhaltensphenotypen der Arc/Arg3.1-Knockout-Mäuse bestätigt.

Um die funktionelle Rolle der dendritischen Translation der Arc/Arg3.1-mRNA *in vivo* zu untersuchen wurde in dieser Arbeit eine transgene (tg) Mauslinie mit dem Arc/Arg3.1-Knockout-Hintergrund generiert. Die tg-Mäuse tragen ein *P1 derived artificial chromosome* (PAC), in dem die 3'UTR-Sequenz des Arc/Arg3.1-Gens mit der 3'UTR-Sequenz des *egr1/zif268*-Gens ausgetauscht und demzufolge die dem dendritischen mRNA-Transport benötigten Sequenz mutiert wurde. Diese zielgerichtete Modifizierung des PACs erfolgte durch homologe Rekombination in *E. coli*.

Die Expression des Arc/Arg3.1-Transgens wurde in adulten tg-Mäusen auf mRNA- und Protein-Ebene charakterisiert. Die Verhinderung der dendritischen mRNA-Translokation wurde durch *in situ* Analyse bestätigt. Die Expressionsanalysen des Arc/Arg3.1-Proteins mittels immunhistochemischer Färbung und biochemischer Methoden zeigten aber überraschenderweise eine unveränderte konstitutive Arc/Arg3.1-Expression in den Postsynapsen der tg-Mäuse auf. Das Arc/Arg3.1-Protein ist in den Dendriten lokalisiert, in der PSD angereichert und über das Gerüstprotein PSD-95/SAP90 mit dem postsynaptischen Proteinnetzwerk assoziiert. Die quantitative Western Blot-Analyse des Gehirn-Homogenats sowie der aufgereinigten PSD-Fraktion stellte eine ähnlich große Menge Arc/Arg3.1-Protein in den Wildtyp- und in den tg-Tieren fest. Diese experimentellen Befunde liefern uns einen spannenden Hinweis, dass das Arc/Arg3.1-Protein neben der dendritischen Translation auch über einen Mechanismus des aktiven Protein-Transports zielgerichtet in die Postsynapsen verteilt werden kann. Die vollständig verhinderte dendritische Arc/Arg3.1-Synthese in den tg-Mäusen mit einer unveränderten konstitutiven Arc/Arg3.1-Expression bildet die Grundlage für die Untersuchung der funktionellen Rolle der dendritischen Arc/Arg3.1-Expression für die Konsolidierung der synaptischen Plastizität und des Langzeit-Gedächtnisses.

Der Zeitverlauf der Gedächtniskonsolidierung in den tg-Mäusen während der kontextabhängigen Angstkonditionierung macht den spezifischen Beitrag der dendritischen Arc/Arg3.1-mRNA-Expression sichtbar. Die tg-Tiere zeigten eine selektive Reduktion des intermediären Gedächtnisses (24 h), während ihr Langzeit-Gedächtnis (2 Wochen) unbeeinträchtigt ist. Daher wurde zum ersten Mal im Säugetier eine intermediäre Phase der hippocampusabhängigen Gedächtniskonsolidierung nachgewiesen, die von der dendritischen Arc/Arg3.1-Synthese abhängig ist. Darüber hinaus wurde aufgrund des unveränderten

Langzeit-Gedächtnisses in den tg-Mäusen und des vollständigen Verlusts des Langzeit-Gedächtnisses in den ko-Mäusen die wesentliche Bedeutung des somatisch synthetisierten Arc/Arg3.1-Proteins für die langfristige Gedächtniskonsolidierung sichtbar. Die in dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse erlauben uns, ein neues, zelluläres Modell für die Arc/Arg3.1-abhängige Gedächtniskonsolidierung vorzustellen.

Außerdem zeigten die tg-Mäuse in verschiedenen Lernparadigmen unterschiedliche Fähigkeit, ein stabiles Langzeit-Gedächtnis auszubilden. Beobachtungen in dieser Arbeit weisen auf eine unterschiedliche Bedeutung der dendritischen Arc/Arg3.1-Expression in verschiedenen Gedächtnis-Systemen hin. Allgemein geben uns die Ergebnisse einen wichtigen Hinweis, dass verschiedene Gedächtnis-Systeme im Gehirn des Säugetiers unterschiedliche molekulare Mechanismen zur Gedächtniskonsolidierung einsetzen. Die tg-Mäuse bieten uns nun die Möglichkeit, die funktionelle Rolle der dendritischen Arc/Arg3.1-Synthese in verschiedenen Gedächtnis-Systemen genauer aufzuschlüsseln.