

# VU Research Portal

## Posttranslational regulation of synaptic strength

Schmitz, S.

2012

### **document version**

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

### **citation for published version (APA)**

Schmitz, S. (2012). *Posttranslational regulation of synaptic strength*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

### **General rights**

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

### **Take down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

### **E-mail address:**

[vuresearchportal.ub@vu.nl](mailto:vuresearchportal.ub@vu.nl)

# NEDERLANDSE SAMENVATTING

## Posttranslationale modificatie van synaptische sterkte

Bewegen, voelen, denken, leren en natuurlijk ook dit proefschrift lezen zijn maar een paar voorbeelden van dingen die wij met hulp van onze hersenen kunnen doen. Wetenschappers zijn al sinds eeuwen hierdoor gefascineerd en proberen erachter te komen hoe dit werkt. Technische ontwikkelingen zoals bijvoorbeeld de uitvinding van de microscoop leidde tot de overgang van beschrijvende anatomie naar microscopische en functionele analyse van het gezonde en zieke brein. Een belangrijke ontdekking maakte Ramón y Cajal aan het eind van de 19de eeuw toen hij de zenuwcel (het *neuron*) als functionele en structurele eenheid van het zenuwstelsel beschreef.

De menselijke hersenen bestaan uit ca. 100 miljard ( $10^{11}$ ) zenuwcellen (Figure 1.1). Een typische zenuwcel heeft een cellichaam en vele uitlopers, de zogenaamde *dendrieten* en het *axon*. In onze hersenen vormen dendrieten en axonen in totaal ongeveer 100 biljoen ( $10^{14}$ ) contact punten, de *synapsen*. Hierdoor zijn de hersenen met een soort supercomputer te vergelijken. Een enkele zenuwcel ontvangt informatie van vele anderen, integreert deze en geeft het resultaat door via zijn axon aan de dendrieten van andere zenuwcellen. Meestal zijn axon en dendriet niet direct met elkaar verbonden, maar door de *synaptische spleet* van elkaar gescheiden. Om deze afstand te overbruggen, gebruiken zenuwcellen chemische signaalstoffen (*neurotransmitters*) ter communicatie (Figure 1.2). De neurotransmitters worden in de eerste (presynaptische) cel in kleine blaasjes (*vesikels*) verpakt en in de buurt van het celmembraan bewaard. Zenuwcellen communiceren met elkaar als een elektrisch signaal (*actiepotentiaal*) calcium de presynaptische cel in laat stromen. Hier zitten eiwitten (*proteïnen*) die calcium kunnen herkennen en zo de fusie van de neurotransmitter blaasjes op gang brengen. Neurotransmitters worden dan in de synaptische spleet afgegeven en bereiken de tweede (postsynaptische) cel. Hier binden ze aan specifieke receptoren op het cel membraan en induceren het volgende elektrische signaal. Veel verschillende eiwitten zijn nodig om de verschillende stappen van deze synaptische cyclus te controleren, zodat de afgifte van neurotransmitter

altijd snel en precies kan plaatsvinden. Bovendien kan de sterkte van de neurotransmitter afgifte ook veranderd worden als er veranderingen in onze omgeving optreden. Denk hierbij bijvoorbeeld aan het leren van een nieuw onderwerp. Dit aanpassingsvermogen van de hersenen noemen wij *plasticiteit*.

Tijdens mijn promotietraject heb ik geprobeerd erachter te komen hoe dit op moleculair niveau gebeurt. Hiervoor heb ik met name naar de functie van twee synaptische eiwitten gekeken: liprin- $\alpha$ 2 en Munc18-1. Verder heb ik gekeken hoe de functie van deze eiwitten aangepast wordt als de activiteit in de hersenen sterk verandert. Deze aanpassing gebeurt door *posttranslationale modificatie*, het toevoegen van kleine chemische groepen aan het eiwit.

**Hoofdstuk 2** beschrijft de functie van de eiwitten liprin- $\alpha$ 1 en liprin- $\alpha$ 2 in de volwassen synaps. Wij laten zien dat liprin- $\alpha$ 2, maar niet liprin- $\alpha$ 1, belangrijk is voor de afgifte van neurotransmitter. Zonder liprin- $\alpha$ 2 zijn de actieve zones, de plekken waar de afgifte plaats vindt, misvormd en zitten andere eiwitten niet op de goede plek. Bovendien beïnvloedt neuronale activiteit de hoeveelheid liprin- $\alpha$ 2 die zich in de synaps bevindt door afbraak in het proteasoom. Hierdoor speelt liprin- $\alpha$ 2 een belangrijke rol bij de aanpassing van de synaptische sterkte aan de hersenactiviteit.

Hoofdstuk 3 en 4 bestuderen de veranderingen aan het eiwit Munc18-1 door *fosforylering* (het toevoegen van een fosfaatgroep) door verschillende *kinasen* (eiwitten die fosfaatgroepen toevoegen).

**Hoofdstuk 3** beschrijft een nieuwe, remmende functie van de ERK kinase op de afgifte van neurotransmitters. We laten zien dat ERK Munc18-1 fosforyleert als de neuronale activiteit hoog is, bijvoorbeeld tijdens stress bij een muis door een elektrische shock. Door de fosforylering wordt Munc18-1 door een E3 ligase eenheid herkend en vervolgens geubiquitineerd en in het proteasoom afgebroken. Hierdoor ontstaat een verminderde afgifte van neurotransmitter. Het voorkomen van fosforylering leidt tot verhoogde afgifte en blokkeert het inhibitoire effect van cannabinoïde (CB1) receptor activatie. Daardoor draagt de fosforylering van Munc18 door ERK bij aan de homeostatische controle van neuronale activiteit.

**Hoofdstuk 4** bestudeert het effect van Cdk5 fosforylering van Munc18-1. Door activatie van Cdk5 wordt de synaptische sterkte anders verdeeld, sommige synapsen worden zwakker, andere worden sterker (Mitra et al. 2011). Wij laten zien dat Cdk5 fosforylering van Munc18-1 belangrijk is voor de regulatie van synaptische sterkte. In afwezigheid van de fosforylering geven zenuwcellen minder neurotransmitter af. Hieruit kunnen we concluderen dat Cdk5 fosforylering van Munc18-1 niet bijdraagt aan het stilleggen van synapsen, maar dat het een belangrijke rol zou kunnen spelen bij de verhoging van synaptische sterkte tijdens lage neuronale activiteit.

**Hoofdstuk 5** beschrijft een computer programma, *SynD*, dat voor de automatische analyse van neuronale morfologie gebruikt kan worden. Met het programma kunnen morfologische parameters en de intensiteitsmetingen uit het cellichaam, de uitlopers en de synapsen van immunofluorescente plaatjes van zenuwcellen uitgelezen worden. Bovendien gaat de analyse met het programma duidelijk sneller dan met de hand en ontstaan er minder problemen door observer bias.

**Hoofdstuk 6** vat de hoofdbevindingen samen en probeert in een model uit te leggen hoe synaptische sterkte in de hersenen door middel van posttranslationale modificaties veranderd kan worden. Met name ligt hierbij de focus op liprin- $\alpha$ 2 en Munc18-1 en de mogelijke implicaties voor de gezondheid van de mens. Het onderzoek in dit proefschrift laat zien dat een eiwit door veel andere eiwitten beïnvloed wordt en dat al kleine veranderingen zoals het toevoegen van een fosfaatgroep de functie van een eiwit sterk kunnen veranderen. Hierdoor kunnen al kleine afwijkingen in het eiwit zelf (bijvoorbeeld punt mutaties) of in de signaalcascade grote invloed hebben op het functioneren van ons brein. In het vervolg van dit onderzoek wordt gekeken in hoeverre de beschreven paden een rol spelen bij bijvoorbeeld de ziekte van Alzheimer, angststoornissen en epilepsie.