

VU Research Portal

Kinetic models for synaptic vesicle release

Schotten, S.

2016

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

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

citation for published version (APA)

Schotten, S. (2016). *Kinetic models for synaptic vesicle release*.

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

Samenvatting

Het menselijk brein is een ingewikkeld informatieverwerkingsstelsel bestaande uit neuronen, die onderling verbonden zijn door synapsen. Tientallen jaren van onderzoek hebben aangetoond dat synapsen in staat zijn om de informatie die wordt doorgegeven van het ene neuron naar het andere op een (extreem) niet-lineaire wijze te beïnvloeden. Synaptische transmissie vindt plaats middels de afgifte van neurotransmitter, opgeslagen in zogenoemde ‘geprimeerde’ (gerijpte) blaasjes die zich bij het presynaptische celmembraan bevinden. De afgegeven neurotransmitters diffunderen naar de postsynaptische kant waar ze aan receptoren binden, waardoor informatie aan het volgende neuron kan worden doorgegeven. Het versmelten van de blaasjes met het presynaptische celmembraan is een complex proces, waarvoor een bepaalde hoeveelheid energie nodig is.

Het doel van dit proefschrift was het bestuderen van de rol van deze energiebarrière in de regulatie van signaaldoorgifte door synapsen, door gebruik te maken van experimentele technieken en kinetische modellen, en om de bijdrage van verscheidene presynaptische eiwitten aan dit proces te bestuderen. Daarnaast hebben we het effect bekeken van positionele heterogeniteit van geprimeerde blaasjes bij het presynaptische celmembraan op actiepotentiaal-geïnduceerde afgifte.

In **hoofdstuk 2** presenteerden we een nieuwe methode voor het fitten van EPSCs die opgewekt worden door een hypertone sucrose oplossing. Deze methode gebruikten we om te laten zien dat bepaalde presynaptische factoren (PDBu/DAG en Complexin) de release willingness op supralineaire wijze beïnvloeden, terwijl ze de hoogte van de energiebarrière voor het versmelten van blaasjes met het presynaptische celmembraan op additieve wijze veranderen. Deze ‘ad-

ditieve versus multiplicatieve relatie' biedt zowel een nieuwe uitleg voor eerder waargenomen niet-lineaire effecten van genetische en farmacologische veranderingen op synaptische transmissie, als een nieuwe interpretatie voor de coöperativiteit van Ca^{2+} -afhankelijke exocytose, zoals eerder gemodelleerd werd door het fenomenologische allosterische model van Synaptotagmin (Syt).

In **hoofdstuk 3** onderzochten we het effect van de aanwezigheid van Syt-1 op de activatie-energie voor de fusie van synaptische blaasjes, met behulp van de methode die we in hoofdstuk 2 presenteerden. Tot onze verrassing vonden we een kleinere hoeveelheid geprimeerde blaasjes (de zgn. 'RRP size') en een toegenomen activatie-energie in synapsen zonder Syt-1. We concludeerden dat Syt-1 de fusie van blaasjes niet tegenhoudt door een direct effect op de fusiereactie, en stelden een aantal alternatieve hypothesen voor om de toename in spontane afgifte van neurotransmitter — waargenomen na verwijdering van Syt-1 — te verklaren.

In **hoofdstuk 4** gebruikten we onze bevindingen uit hoofdstuk 2 en 3 voor de ontwikkeling van een nieuw model voor Ca^{2+} -afhankelijke fusie van synaptische blaasjes: naast Syt voegden we een tweede sensor toe, en we veronderstelden beide sensoren onafhankelijk van elkaar aan te grijpen op dezelfde energie-barrière voor fusie en dezelfde groep geprimeerde blaasjes. Dit model slaagde erin de Ca^{2+} -gevoeligheid van een aantal Syt-mutanten te ondervangen. Daarnaast hebben we bekeken wat het effect is van een verdeling van release willingness waarden over de gehele populatie van geprimeerde blaasjes, en een aantal suggesties gedaan voor het modelleren van zowel STP als (de competitie tussen) langzame en snelle afgifte van synaptische blaasjes, gebaseerd op de 'additieve versus multiplicatieve relatie' uit hoofdstuk 2.

In **hoofdstuk 5** is het effect van hoogfrequente stimulatie op release willingness bestudeerd, alsmede de correlatie hiervan met p_{vr} gedurende PTP, in zowel de aan- als afwezigheid van Syt-1. We vonden dat zowel release willingness als p_{vr} toegenomen waren na PTP, onafhankelijk van Syt-1, maar we vonden geen significante correlatie tussen deze parameters in beide genotypen (WT en Syt-1 KO). We kwamen tot de conclusie dat, naast een verandering in activatie-energie voor de fusie van synaptische blaasjes, andere mechanismen ook een bijdrage leveren aan PTP in autapsen.

In **hoofdstuk 6** onderzochten we de positionele heterogeniteit van geprimeerde blaasjes bij het presynaptische celmembraan in de zgn. 'calyx of Held'. Deze heterogeniteit modelleerden we als een (continue) waarschijnlijkheidsverdeling voor de positie van de blaasjes, die afhankelijk is van een parameter die de mate van koppeling tussen blaasje en Ca^{2+} kanaal bepaalt. Deze verdeling, die we met behulp van experimentele data begrepen, bleek zeer scheef te zijn met de bulk

van de blaasjes dicht bij (binnen ~ 100 nm van) de Ca^{2+} kanalen. Daarnaast onderzochten we de effecten van de hieruit voortkomende Ca^{2+} -afhankelijke heterogeniteit in p_{vr} , met behulp van simulaties van stimuli die typisch in electrofysiologische experimenten worden gebruikt.

Onze voornaamste bevindingen zijn bediscussieerd in **hoofdstuk 7**. We stelden voor dat fusie op een supralineaire wijze gemoduleerd wordt door een aantal verschillende presynaptische factoren/processen — iets wat in toekomstige experimenten getest zal moeten worden. Verder gaven we suggesties voor de manier waarop Syt spontane en asynchrone afgifte zou kunnen tegenhouden, en hoe het synchrone afgifte zou kunnen beïnvloeden. We sloten af met een korte discussie van een aantal kwesties die opgelost zullen moeten worden, alvorens tot een algemeen computationeel model voor de afgifte van synaptische blaasjes kan worden gekomen.