

INSTITUT FÜR PHYSIOLOGIE

Leipziger Str. 44, 39120 Magdeburg
Tel. +49 (0)391 67 15885; Fax +49 (0)391 67 15819
iphy@medizin.uni-magdeburg.de
www.med.uni-magdeburg.de/fme/institute/iphy

1. Leitung

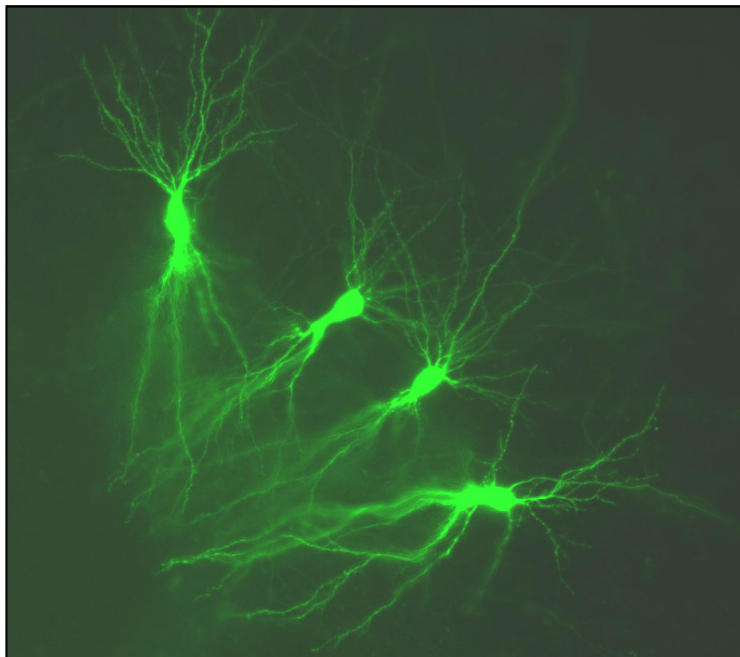
Prof. Dr. rer.nat. Volkmar Leßmann

2. Hochschullehrer

Prof. Dr. rer. nat. Volkmar Leßmann

Prof. Dr. rer. nat. Thomas Voigt

3. Forschungsprofil



GFP-transfizierte Zellen im kultivierten Hippocampus-Schnitt einer Maus

- Untersuchung der zellulären Grundlagen für Lern- und Gedächtnisprozesse in Hippocampus, Neocortex und Amygdala von Ratten und Mäusen
- Funktion neurotropher Peptide (z.B. BDNF) für die Entwicklung und Regulation der Stärke der synaptischen Übertragung
- Bedeutung des neurotrophen Faktors BDNF bei Morbus Alzheimer und andere Formen der Demenz
- Untersuchung der molekularen Mechanismen der Sekretion von Neuropeptiden
- Kombination von molekularbiologischen, elektrophysiologischen, verhaltensphysiologischen und bildgebenden Verfahren auf dem Niveau kultivierter neuronaler Netzwerke und intakter Hirnschnittpräparate
- Untersuchungen zur RNA-Interferenz in Neuronen: siRNA- und miRNA-vermittelter knockdown

neuronenspezifischer Gene in kultivierten Hirnschnitten

- Untersuchung der molekularen Grundlagen für die Selbstorganisation sich entwickelnder synaptischer Netzwerke

4. Serviceangebot

- BDNF-Proteinbestimmungen (ELISA-Messungen) in Blut und Gewebe aus humanen und tierischen Proben
- PCR-Bestimmung des Val66Met BDNF Single-Nukleotid-Polymorphismus (SNP)

5. Methoden und Ausrüstung

- Intra- und extrazelluläre elektrophysiologische Methoden
- Patch-Clamp-Techniken
- Hochauflösende Epi-Fluoreszenz-Mikroskopie
- Konfokal-Mikroskopie (Zeiss LSM 780)
- 2-Photonen-Laserscan-Mikroskopie
- Mikrostimulation, Mikroinjektion, Mikroiontophorese
- Intrazelluläre Färbungen, Tracing-Techniken
- Immunocytochemie, Histochemie
- Verschiedene lichtmikroskopische Kontrastierungsverfahren
- Proteinbiochemie (Western Blots)
- Molekularbiologie (PCR, Konstruktion von Expressionsplasmiden)
- Real-time PCR
- Neuronale Zellkulturen (dissoziierte Neurone); sekundäre Zelllinien
- Akute Hirnschnittpräparate
- Organotypische Hirnschnittkulturen
- Verschiedene Transfektionsverfahren (z.B. Einzelzell-Elektroporation)
- Verschiedene verhaltensphysiologische Methoden (z.B. Konditionierung, Water-maze)
- Stereotaktische Injektionen

6. Forschungsprojekte

Projektleiter: Prof. Dr. Volkmar Leßmann

Projektbearbeiter: Dr. Tanja Brigadski, Dr. Elke Edelmann

Förderer: Land (Sachsen-Anhalt); 01.01.2008 - 31.12.2010

Die Reizmuster-abhängige Sekretion von Neurotrophinen in synaptischen Netzwerken in vitro

In diesem Projekt werden die elektrischen Reizmuster in prä- und postsynaptischen Zellen glutamaterger Synapsen bestimmt, die zu einer effizienten Ausschüttung von BDNF führen und dadurch die synaptische Plastizität beeinflussen.

In dissoziierten Kulturen hippocampaler Neurone und in organotypischen Hirnschnitten des Hippocampus werden einzelne prä- oder postsynaptische Zellen zur Expression von BDNF-GFP gebracht. In parallelen elektrophysiologischen Ableitungen und fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen werden die Reizparameter ermittelt, die eine BDNF-Ausschüttung bewirken. Es wird überprüft, ob diese Reizparameter die synaptische Plastizität in den glutamatergen Schaltkreisen dieser neuronalen Netzwerke vermitteln. Durch elektrophysiologische Ableitungen in CA1-Pyramidenzellen des Hippocampus wird des weiteren überprüft, ob die sogenannte "Spike Timing dependent synaptic plasticity" (STDP; Form der synaptischen Plastizität, die durch gepaarte prä- und postsynaptische Aktionspotentiale ausgelöst wird) durch BDNF vermittelt wird.

Projektleiter: Prof. Dr. Volkmar Leßmann

Projektbearbeiter: Dr. Susanne Meis, Dr. Thomas Endres

Kooperationen: Prof. Dr. Herbert Schwegler, Prof. Dr. Oliver Stork, Prof. Dr. Rüdiger Linke

Förderer: DFG; 01.01.2008 - 31.12.2011

Die Rolle von BDNF für die Langzeit-Potenzierung in der Amygdala während der Furchtkonditionierung

Die Langzeitpotenzierung (LTP) ist ein anerkanntes zelluläres Modell für die Speicherung von Gedächtnisinhalten und für Lernvorgänge. In der lateralen Amygdala (LA) korreliert die LTP der thalamischen Eingänge mit aversivem Verhalten (Angstkonditionierung). Die Expression von BDNF in der LA scheint für eine erfolgreiche Angstkonditionierung essentiell zu sein.

Unsere Vorarbeiten zeigen, daß die synaptische BDNF-Sekretion durch dieselben intrazellulären Signalkaskaden reguliert wird, die im Hippocampus und Neocortex die LTP kontrollieren. Unsere methodischen Vorarbeiten lassen erkennen, daß die BDNF-Ausschüttung auf dem Niveau einzelner Zellen in Hirnschnitten detektiert, und manipuliert werden kann.

In diesem SFB-Teilprojekt sollen folgende Fragen geklärt werden:

- a) Mechanismen der Sekretion von BDNF an den glutamatergen Synapsen zwischen Thalamus und lateraler Amygdala
- b) Elektrophysiologische Untersuchungen der BDNF-abhängigen synaptischen Plastizität an diesen Synapsen
- c) Untersuchung der Furchtkonditionierung im Zusammenhang mit dem synaptischen BDNF-Stoffwechsel

Wir planen elektrophysiologische Experimente an Hirnschnitten der Amygdala von Ratten und Mäusen. Durch gleichzeitige Visualisierung der synaptischen BDNF-Sekretion mittels konfokalem Imaging von BDNF-GFP, möchten wir einen Zusammenhang zwischen BDNF-Ausschüttung (Vesikelfusion) und daraus resultierenden synaptischen Modifikationen (BDNF/TRPC-abhängige Ströme, LTP) aufzeigen. Durch getrennte Manipulation der BDNF-Expression in prä- bzw. postsynaptischen Neuronen möchten wir die LTP-Mechanismen (prä- vs. postsynaptischer TrkB, Einbau neuer AMPA-Rezeptoren) an der Thalamus-LA-Synapse klären. Durch Reduktion von BDNF in der LA in vivo (knockdown von BDNF, Überexpression inhibitorischer TrkB.T1-Rezeptoren) mit anschließender Furchtkonditionierung möchten wir klären, ob BDNF-Signalwege für dieses aversive Lernen essentiell sind.

Projektleiter: Prof. Dr. Volkmar Leßmann

Kooperationen: Prof. Dr. Beat Lutz (Mainz)

Förderer: DFG; 01.05.2008 - 29.02.2012

Generierung und Charakterisierung einer knock-in Maus, die BDNF-YFP unter Kontrolle der endogenen regulatorischen Elemente des BDNF-Gens exprimiert.

BDNF (brain-derived neurotrophic factor) ist ein aus Nervenzellen des ZNS sekretiertes Peptid aus der Familie der sog. Neurotrophine. Neben der Steuerung von Wachstums- und Überlebensfunktionen während der neuronalen Entwicklung erfüllt BDNF wichtige Funktionen als interzellulärer Botenstoff bei der synaptischen Plastizität (die Grundlage für Lern- und Gedächtnisprozesse ist) und bei der Pathophysiologie neurodegenerativer Erkrankungen.

Um diese Funktionen besser zu verstehen, ist es von zentraler Bedeutung, den Transport des Proteins entlang von Axonen und Dendriten und die lokale (synaptische) Sekretion des Faktors in situ und in vivo sichtbar zu machen. Zu diesem Zweck wird in dem vorliegenden Projekt die Generierung einer Mausmutante angestrebt, die funktionelles BDNF-YFP (yellow fluorescent protein) unter Kontrolle der endogenen regulatorischen Elemente des BDNF-Genlokus exprimiert. Dieses Mausmodell wird es erstmalig erlauben, die BDNF-Synthese und -Ausschüttung unter physiologischen Expressionsbedingungen mit Hilfe hochauflösender Fluoreszenz-Mikroskopie zu verfolgen und mit synaptischen Plastizitätsvorgängen zu korrelieren. Die Mausmodelle sollen dann mit Mauslinien gekreuzt werden, die humane Pathophysiologien modellieren (z.B. Morbus Alzheimer, Morbus Huntington). In den resultierenden doppelt-transgenen Mäusen können dann krankheitsrelevante Veränderungen des BDNF-Stoffwechsels live analysiert werden.

Projektleiter: Prof. Dr. Volkmar Leßmann

Projektbearbeiter: Dr. Thomas Munsch, Prof. Dr. Volkmar Leßmann;

Förderer: DFG; 01.04.2010 - 30.09.2014

Molekulare Regulation der Neuropeptid-Freisetzung aus sekretorischen Granula

In diesem Projekt werden mit Hilfe von Live cell imaging-Experimenten die molekularen Mechanismen der Neuropeptid-Freisetzung in Neuronen des ZNS untersucht. Durch siRNA-vermittelten knockdown sekretorisch relevanter Proteine (z.B. CAPS 1/2, Munc 13/18 und Complexin) in kultivierten Hirnschnitten und dissoziierten Neuronen des Hippocampus soll geklärt werden, welche Funktionen diese Proteine bei der Bildung und bei der Dilatation der Fusionspore von Neuropeptid-Vesikeln und bei der Ausschüttung der Peptide (z.B. BDNF) spielen. Darüber hinaus soll die Modulation dieser sekretionsrelevanten Proteine durch die Proteinkinase A und die CaMK II, die beide essentiell für die Neuropeptid-Sekretion sind, geklärt werden.

Projektleiter: Prof. Dr. Volkmar Leßmann

Projektbearbeiter: Dr. Tanja Brigadski

Kooperationen: Prof. Dr. Heiko Luhmann (Mainz), Prof. Dr. Petra Wahle (Bochum)

Förderer: Weitere Stiftungen; 01.08.2007 - 31.07.2010

Regulation der molekularen, strukturellen und physiologischen Differenzierung durch physiologische, elektrische Aktivitätsmuster im neonatalen Säugercortex

Während pränataler und früher postnataler Entwicklungsphasen weisen unreife neuronale Netzwerke des Neocortex spontane und evozierte elektrische Aktivitätsmuster auf. Diese sehr frühen, synchronen Aktivitätsmuster tragen zur Selbstorganisation neuronaler Ensembles bei. Diese von jungen Nervenzellen und Gliazellen bereits vor der Geburt in allen Hirnregionen erzeugten Aktivitätsmuster werden als riesenhafte depolarisierende Potentiale (GDPs) oder frühe Netzwerkoszillationen bezeichnet. Ihre zellphysiologischen Mechanismen sind gut charakterisiert: die Erregungswellen werden oftmals von Ca²⁺-Ionen vermittelt und treten mehr oder weniger zeitgleich in sehr vielen eng benachbart liegenden Zellen auf. Nach wie vor rätselhaft ist, wozu diese Potentiale und Oszillationen dienen. Zum Einen sind sie Ausdruck eines kontinuierlich ablaufenden Selbstorganisations-prozesses. Sie helfen den jungen Zellen beim Überleben, sie bahnen wichtige Entwicklungsereignisse, und sie steuern die Genexpression. Die an diesem interdisziplinären Projekt beteiligten Arbeitsgruppen (Frau Prof. Wahle (Bochum), Prof. Luhmann (Mainz), Prof. Leßmann (Magdeburg)) konnten bereits nachweisen, dass die Potentiale die Produktion des wichtigen Nervenwachstums- und Differenzierungsfaktors BDNF steigern. Die Oszillationen sind die Auslöser der morphologischen, molekularen und physiologischen Reifung der Nervenzellen und der Nervenzellnetzwerke. Möglicherweise prägen sie sogar die Befähigung der jungen Nervenzellnetzwerke zur später einsetzenden gebrauch- und erfahrungsabhängigen Optimierung der Netzwerkaktivität (z.B. Lernen). In dem Gemeinschaftsprojekt zwischen den Standorten Mainz, Bochum und Magdeburg wird mit Hilfe elektrophysiologischer Methoden (Multi-Elektroden-Array, Patch-clamp-Ableitungen) sowie verschiedenen histologischen und zellbiologischen Techniken versucht, die molekularen Grundlagen für die Ausbildung früher Netzwerk-Oszillationen zu untersuchen.

Projektleiter: Prof. Dr. Thomas Voigt

Kooperationen: PD Dr. Frank W. Ohl, Prof. Dr. Braun, Prof. Dr. Herrmann, Prof. Dr. Hinrichs, Prof. Dr. Michaelis, Prof. Dr. Rose, Prof. Dr. Wendemuth

Förderer: Bund; 01.02.2007 - 31.01.2010

Components of cognition: small networks to flexible rules

Die vom BMBF geförderten Bernstein-Gruppe Magdeburg untersucht die Verbindung zwischen unterschiedlich komplexen Netzwerken und zentralen Bausteinen kognitiver Funktion. Auf der Ebene kleiner Netzwerke untersuchen wir in unserem Projektteil in Zusammenarbeit mit dem Institut für Biologie (Prof. Dr. Braun) und dem Institut für Elektronik, Signalverarbeitung und Kommunikationstechnik (Prof. Dr. Michaelis und Prof. Dr. Rose) die Auswirkung spontaner Aktivität und homöostatischer Plastizität auf die Variabilität evozierter Antworten und auf die Fähigkeit zu assoziativem Lernen. Auf der Ebenen der kognitiven Funktion befassen sich zwei weitere Projekte des Verbundes mit technischen Lösungen für die komplexen Mustererkennungsleistungen, die bei sozialen Interaktionen des Menschen gefordert sind, und mit den heuristischen Algorithmen, welche derartigen Leistungen des menschlichen Gehirns möglicherweise zugrunde liegen.

Projektleiter: Prof. Dr. Thomas Voigt

Kooperationen: Dr. Karl-Heinz Smalla, Dr. Thomas Munsch, PD Dr. Frank W. Ohl, Prof. Dr. Alois Krost, Prof. Dr.

Herrmann, Prof. Dr. Katharina Braun, Prof. Dr. Michaelis, Prof. Dr.-Ing. Bernd Michaelis, Prof. Krost,
Fakultät für Naturwissenschaften

Förderer: Land (Sachsen-Anhalt); 01.06.2005 - 31.05.2010

Stimulationsinduzierte Modifikationen in neuronalen Netzwerken

Die Art der Informationsverarbeitung innerhalb des Zentralnervensystems wird durch die Spezifität der synaptischen Verbindung zwischen den beteiligten Neuronen bestimmt. Ein großer Anteil dieser spezifischen Verschaltungen wird während bestimmter Entwicklungsperioden durch die von den ausreifenden Sinnesorganen in das Gehirn kommenden elektrischen Aktivitätsmuster selbstorganisatorisch so modifiziert, dass eine optimale Informationsverarbeitung gewährleistet ist. Mit dem Ziel, die selbstorganisatorischen Prozesse innerhalb des Zentralnervensystems zu verstehen, soll in dem hier beantragten Projekt der Einfluss von zeitlich und räumlich gemusterter elektrischer Aktivität auf die intrinsische Organisation von neuronalen Netzwerken untersucht werden. Dazu werden die Nervenzellnetzwerke in den Kulturschalen über integrierte Elektroden während definierter Phasen ihrer Entwicklung elektrisch stimuliert und die durch diese Stimulation ausgelösten morphologischen und physiologischen Veränderungen innerhalb der Netzwerke untersucht. Das Ziel dieser Versuche ist es herauszufinden, welche zellulären und subzellulären Veränderungen externe Stimulationen innerhalb von neuronalen Netzwerken bewirken können.

Projektleiter: Dr. Tanja Brigadski

Projektbearbeiter: Dr.T. Brigadski; Dr. C. Spilker; Dr.A. Bittner; Dr. R. Rönicke

Förderer: Land (Sachsen-Anhalt); 01.01.2009 - 31.12.2010

Neurotrophin-Transportwege im Fokus neurodegenerativer Erkrankungen

Verschiedene Arbeiten in jüngster Zeit lassen vermuten, dass ein gestörter Transport von Neurotrophinen eine gemeinsame Ursache verschiedener neurodegenerativer Erkrankungen ist. Hierdurch wird die Freisetzung der Neurotrophine in den Zielgebieten gestört und die lebenserhaltende Wirkung der Neurotrophin-Signalwege unterbrochen. Trotz umfangreicher Studien über die neuroprotektive Wirkung von Neurotrophinen und deren Funktion bei kognitiven Prozessen ist nach wie vor wenig darüber bekannt, wie Neurotrophin-Vesikel zu den Zielgebieten ihrer neurotrophen Wirkung transportiert werden, welche Mechanismen der Exo- und Endozytose in den Zielgebieten zugrunde liegen und welche Auswirkungen gestörte Neurotrophin-Transportprozesse auf die Pathogenese neurodegenerativer Erkrankungen haben. Wir untersuchen daher mit einem multidisziplinären Ansatz auf verschiedenen Analyseebenen die unterschiedlichen Mechanismen des Neurotrophin-Transportweges und mögliche Störungen speziell der BDNF-Signalwege bei M. Alzheimer und Chorea Huntington. Die Teilprojekte reichen von der molekularen Physiologie des BDNF-Transportes, über die Dynamik der synaptischen TrkB-Rezeptor-Lokalisierung auf zellulärer Ebene, und Untersuchungen der BDNF-abhängigen LTP in Alzheimer-Mausmodellen bis hin zu Studien des BDNF-Stoffwechsels an Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen.

Projektleiter: Dr. Thomas Endres

Projektbearbeiter: Laura Psotta, Dr. Thomas Endres, Prof. Dr. Volkmar Leßmann

Förderer: Haushalt; 01.04.2010 - 31.03.2012

In vivo Untersuchungen zur protektiven Wirkung von BDNF (brain-derived neurotrophic fac-tor) auf die A β -Toxizität bei Morbus Alzheimer

In diesem Projekt wird in einem Mausmodell des Morbus Alzheimer untersucht, wie sich die Reduktion des Neurotrophins BDNF hinsichtlich des Auftretens und des Fortschreitens des Gedächtnisverlustes bei dieser Erkrankung auswirkt.

Die häufigste Ursache für eine Demenzerkrankung ist die Alzheimersche Krankheit (AK). Ein wesentlicher Teil der Alzheimerpathologie besteht in der Bildung von Plaques, die durch den inkorrekten Abbau des Amyloid-Vorläuferproteins (APP) zu zelltoxischem A β 42 entstehen. Während die histologisch nachweisbaren Plaques postum ein äußerlich sichtbares Zeichen der AK beim Menschen und in Tiermodellen darstellen, werden die degenerativen Effekte bereits durch Vorläufer der Plaques (A β -Dimere und -Oligomere) ausgelöst. Die Mechanismen, wie die A β -Oligomere und -Plaques zum Zelltod von Nervenzellen führen sind bislang noch weitgehend unbekannt. Allerdings vermutet man, dass es eine Reihe von Proteinen gibt, die Neurone vor der A β -Toxizität schützen können. Eines dieser möglichen Proteine ist BDNF (brain-derived neurotrophic factor), ein von Nervenzellen endogen synthetisiertes und sekretiertes Peptid, das das Überleben und die Differenzierung von Neuronen sowie synaptische Plastizität fördert. Erste Studien in Tiermodellen zeigen, dass eine Erhöhung von exogen hinzugefügtem BDNF die toxischen Eigenschaften von A β reduzieren und somit auch die Alzheimerpathologie verzögern kann. In wie weit ein chronischer Mangel an endogenem BDNF die Ausbildung der AK beschleunigen kann, wurde bislang noch nicht

untersucht. Dieser Ansatz ist klinisch hoch relevant, da der endogene BDNF-Gehalt im Hirngewebe durch äußere Faktoren und Training (z.B. Sport, Lernen) sowohl beim Menschen als auch im Tiermodell gesteigert werden kann. In dem hier vorliegenden Projekt möchten wir die Auswirkungen eines chronischen BDNF-Mangels in heterozygoten BDNF-k.o.-Mäusen auf die Entstehung der Alzheimerpathologie und deren kognitive Folgen im Tiermodell untersuchen. Nach Abschluss der jeweiligen Verhaltensexperimente werden die für die jeweiligen Lernaufgaben relevanten Gehirnareale (z.B. Amygdala, Hippokampus) entnommen und auf Plaqueablagerungen und BDNF-Gehalt hin untersucht.

7. Veröffentlichungen

Originalartikel in begutachteten internationalen Zeitschriften

Baltz, Thomas; Lima, Ana D. de; Voigt, Thomas

Contribution of GABAergic interneurons to the development of spontaneous activity patterns in cultured neocortical networks

In: Frontiers in cellular neuroscience. - Lausanne: Frontiers Research Foundation, Bd. 4.2010, insges. 17 S.;

[Abstract unter URL](#); 2010

Coulon, Philippe; Kanyshkova, Tatyana; Broicher, Tilman; Munsch, Thomas; Wettschureck, Nina; Seidenbecher, Thomas; Meuth, Sven G. ; Offermanns, Stefan; Pape, Hans-Christian; Budde, Thomas

Activity modes in thalamocortical relay neurons are modulated by Gq/G11 family G-proteins - serotonergic and glutamatergic signalling

In: Frontiers in cellular neuroscience. - Lausanne: Frontiers Research Foundation, Bd. 4.2010, insges. 10 S.;

[Abstract unter URL](#); 2010

Rankovic, Vladan; Ehling, Petra; Coulon, Philippe; Landgraf, Peter; Kreutz, Michael R. ; Munsch, Thomas; Budde, Thomas

Intracellular Ca²⁺ release-dependent inactivation of Ca²⁺ currents in thalamocortical relay neurons

In: European journal of neuroscience. - Oxford: Blackwell Science, Bd. 31.2010, 3, S. 439-449; [Link unter URL](#); 2010

[Imp.fact.: 3,418]

Stan, Adriana; Pielarski, Kim N. ; Brigadski, Tanja; Wittenmayer, Nina; Fedorchenko, Olga; Gohla, Antje; Lessmann, Volkmar; Dresbach, Thomas; Gottmann, Kurt

Essential cooperation of N-cadherin and neuroligin-1 in the transsynaptic control of vesicle accumulation

In: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. - Washington, DC: NAS, Bd.

107.2010, 24, S. 11116-11121; [Link unter URL](#); 2010

[Imp.fact.: 9,432]

Westerholz, Sören; Lima, Ana D. de; Voigt, Thomas

Regulation of early spontaneous network activity and GABAergic neurons development by thyroid hormone

In: Neuroscience. - Oxford: Elsevier, Bd. 168.2010, 2, S. 573-589; [Link unter URL](#); 2010

[Imp.fact.: 3,292]

Dissertationen

Shah, Mukesch Johannes

Modulation von spannungsabhängigen Kalziumströmen in Schaltneuronen des Thalamus durch den extrazellulären pH.

- Magdeburg, Univ., Medizin. Fakultät, Diss., 2010; 77 Bl.: III., graph. Darst; 2010