

Aus dem Lehrstuhl Zellbiologie (Anatomie III),
Biomedizinisches Centrum der
Ludwig-Maximilians-Universität München
Medizinische Fakultät

Vorstand: Prof. Dr. Michael Kiebler

Untersuchungen zu den molekularen Grundlagen synaptischer Plastizität im Tiermodell

Kumulative Habilitationsschrift
zur Erlangung der *Venia legendi*
für das Fach Zellbiologie

vorgelegt von

Dr.med.vet. Bastian Alexander Popper

2022

Inhaltsverzeichnis	Seite
I. Einleitung.....	3
A. Synaptische Plastizität, adulte Neurogenese und Lernen.....	3
B. Die RNA-Bindeproteine Staufen2 und Pumilio2.....	5
C. Histologischer Aufbau und funktionelle Aspekte der Hippocampusformation und der Kleinhirnrinde.....	8
II. Zielstellung der Arbeit.....	13
III. Ergebnisse	15
A. Untersuchungen zum Einfluss körperlicher Aktivität auf Änderungen des hippocampalen Proteoms im Mausmodell.....	15
B. Molekularbiologische und verhaltensbiologische Charakterisierung von Staufen2-defizienten Mäusen.....	20
C. Untersuchungen zur Synaptogenese im Kleinhirn Staufen2-defizienter Mäuse.....	27
D. Untersuchungen zu den Auswirkungen einer verminderten Pumilio2 Expression im Kontext der Entstehung epileptischer Anfälle im Mausmodell.....	32
IV. Zusammenfassung und Ausblick.....	37
V. Danksagung.....	40
VI. Abkürzungsverzeichnis.....	41
VII. Abbildungsverzeichnis.....	42
VIII. Literaturverzeichnis.....	43
IX. <i>Curriculum vitae</i>	54
X. Publikationsverzeichnis.....	56
XI. Lehrverzeichnis.....	66
XII. Eidesstattliche Erklärung.....	68
XIII. Erklärung des Habilitanden.....	68

I. Einleitung

A. Synaptische Plastizität, adulte Neurogenese und Lernen

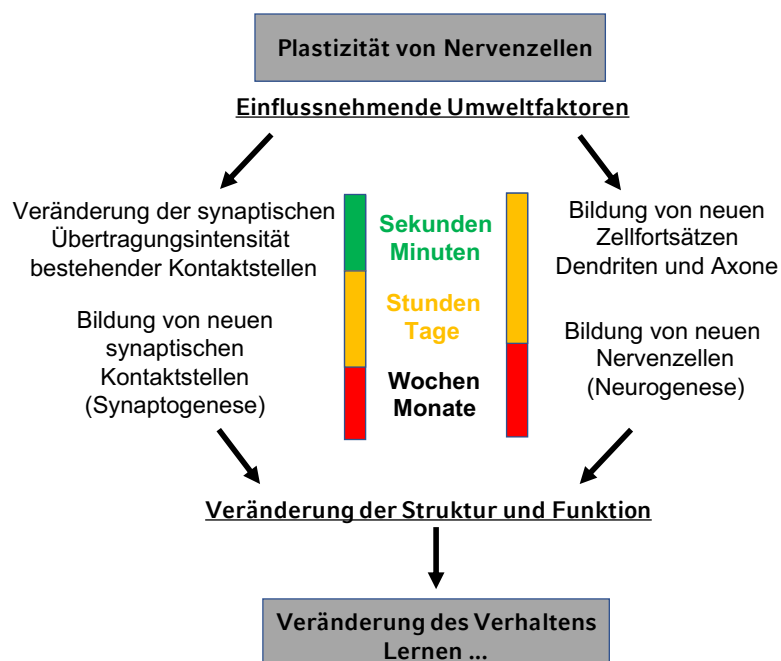
Nervenzellen (Neurone) sind spezialisierte Zellen des zentralen und peripheren Nervensystems, die zur Reizbildung, -weiterleitung und -verarbeitung befähigt sind. Untereinander bilden Nervenzellen funktionale Netzwerke mit Hilfe ihrer Zellfortsätze, bestehend aus Dendriten und Axonen, die teils weitentfernte Hirnareale miteinander verknüpfen. Als besondere Kontaktstellen zwischen einzelnen Nervenzellen sind Synapsen in unterschiedlicher Gestalt und Funktion ausgebildet. Die Kontaktstelle der Signal-sendenden Nervenzelle wird als Präsynapse bezeichnet, der Signal-empfangende Teil der Nervenzelle als Postsynapse. Neurotransmitter fungieren dabei als Botenstoffe zur Signalübertragung zwischen Prä- und Postsynapse und werden in Abhängigkeit der Frequenzintensität des elektrischen Signals – dem Aktionspotential und resultierender Änderung des Membranpotenzials – von der Präsynapse in den synaptischen Spalt ausgeschüttet. An der Postsynapse ruft der Transmitter nach Bindung an einen spezifischen Rezeptor abermals eine Änderung des Membranpotenzials hervor, nun an der empfangenden Nervenzelle. Das Signal kann dabei je nach Botenstoff erregend oder hemmend auf die Zelle wirken. Ein Reiz kann auf diese Weise über viele Nervenzellen hinweg weitergeleitet werden [78,103]. Die Homöostase von neuronalen Netzwerken basiert dabei im Wesentlichen auf sich im Gleichgewicht befindenden synaptischen Übertragungskreisläufen, einem Zusammenspiel aus Erregung und Hemmung [100,121,134]. Nervenzellen sind dabei in der Lage, sich permanent neuen Bedingungen anpassen zu können, insbesondere bei Lernprozessen. Bei der Speicherung von Informationen – dem Lernen – kommt es zu einer langfristigen Veränderung in der Konnektivität neuronaler Netzwerke. Ursache ist die Veränderung der synaptischen Signalübertragung zwischen den Zellen eines neuronalen Netzwerks [62]. Wenn dieses fein abgestimmte Zusammenspiel von Hemmung und Erregung außer Kontrolle gerät, führt dies häufig zu humanmedizinisch-relevanten Erkrankungen, wie beispielsweise der Schizophrenie, Autismus und Epilepsie [146]. Wie können diese funktionellen und strukturellen Änderungen an der Synapse vollzogen werden? Wie werden diese Prozesse reguliert? In den nächsten Abschnitten folgt eine Einführung in das Themenfeld.

Als synaptische Plastizität bezeichnet man die Anpassungsfähigkeit einer Nervenzelle in Reaktion auf einen Reiz, der insbesondere in der empfangenden, postsynaptischen Nervenzelle eine Reihe von Signalkaskaden aktiviert, die in der Folge zur Verstärkung oder Schwächung der synaptischen Übertragung führen [98]. Die Auswirkungen an der Postsynapse aktivierter Nervenzellen manifestieren sich dabei primär durch Änderungen der Synapsenmorphologie sowie in der Anzahl an neuen synaptischen Kontaktstellen [37,53]. Initiiert werden diese neuen Kontaktstellen durch die Entstehung von dendritischen Dornfortsätzen, die sich im Laufe der Synaptogenese bilden [37]. Diese *dendritic spines* sind für die synaptische Plastizität von besonderer Bedeutung, da sie bei der Reizintegration neuronaler Impulse sowie an der Bildung

und Funktion neuronaler Netzwerke essentiell beteiligt sind [21,111,154]. Die Neubildung von Kontaktstellen sowie deren Rückbildung bzw. Abbau erfolgt je nachdem, ob eine Nervenzellverbindung verstärkt werden soll oder die Verknüpfung an Übertragungsintensität verliert. Dabei verändern sich die einzelnen synaptischen Kontaktstellen schon innerhalb kurzer Zeit in ihrer Morphologie und Molekülkonfiguration. Der Kurzzeitplastizität, die schon innerhalb weniger Millisekunden durch eine Akkumulierung von präsynaptischen Ionen hervorgerufen wird und der die verstärkte Freigabe von Neurotransmittern folgt, steht die Langzeitplastizität gegenüber, die innerhalb von Minuten und Stunden durch Änderungen der Synapsenmorphologie und postsynaptischer Proteinkomposition zu einer nachhaltigen Veränderung der Netzwerkaktivität führen kann [1,23]. Jede Änderung, ob kurzfristig oder langfristig, hat unmittelbar Auswirkungen auf die Funktion der synaptischen Verbindung und damit die Netzwerkaktivität.

Ein weiteres Phänomen, das zur Plastizität neuronaler Netzwerke beitragen kann, bezeichnet man als Neurogenese. In bestimmten Hirnarealen, der subventrikulären Zone wie auch in der Hippocampusformation, können zeitlebens neugebildete Nervenzellen innerhalb weniger Wochen in bereits existierende neuronale Netzwerke integriert werden. Als Teil der strukturellen Plastizität wird dieses Phänomen auch als adulte Neurogenese bezeichnet und ihr funktionell eine essentielle Rolle bei Lernprozessen unter Einbeziehung mehrerer neuronaler Netzwerke zugesprochen [35,135]. Die Plastizität von Nervenzellen ist die Basis, damit Anpassungen des Verhaltens auf Umweltfaktoren überhaupt ablaufen können (Abbildung 1).

Abbildung 1: Strukturelle und funktionelle Plastizität von Nervenzellen



Bei Lernprozessen, der Verknüpfung bzw. Verarbeitung von Gedächtnisinhalten, kommt es zu andauernden Veränderungen von elektrischen Signalen an den aktivierten Synapsen kommunizierender Nervenzellen [98]. Wie kann eine Nervenzelle kurzfristig und äußerst dynamisch auf die neuronale Aktivierung reagieren, die unter Umständen auch nur einzelne synaptische Kontaktstellen betreffen kann?

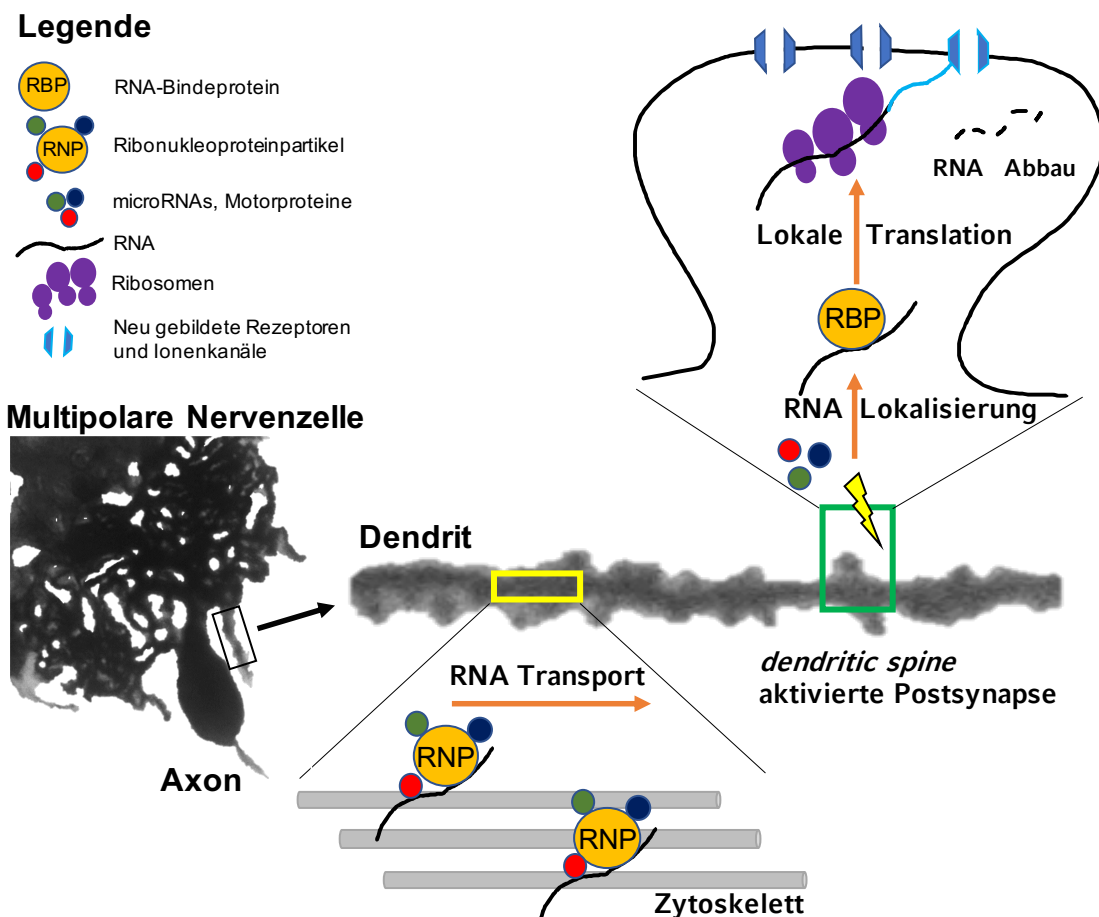
Dafür benötigt die Nervenzelle ein ausgeklügeltes intrazelluläres System zur Regulation der Transkription und Translation. Durch die oft langen Zellausläufer muss die Nervenzelle in der Lage sein, Proteine und Transkripte durch das intrazelluläre Transportsystem an eine aktivierte Synapse zu transportieren. Hierzu werden die Transkripte, die Boten-Ribonukleinsäuren (*messenger RNAs, mRNAs*) die für synaptische Moleküle kodieren, von bestimmten Transportproteinen erkannt und gebunden. Während des Transports halten diese Proteine die mRNAs in einem translationsreprimierten Zustand, um erst an der aktivierten Synapse entpackt und anschließend translatiert zu werden. Durch diese Regulation des Proteintransports und der lokalen Proteinsynthese an aktivierten Kontaktstellen kann eine Synapse die Proteinkomposition (das synaptische Proteom) und dabei auch die Rezeptorausstattung dynamisch anpassen, was zu einer Regulierung der neuronalen Reizweiterleitung führt und zu einer Festigung der synaptischen Verschaltung beiträgt - die Synapse lernt [61]. Diese lokale Proteinsynthese kann an beiden sich verbindenden Nervenzellen stattfinden, an der Präsynapse, als Bestandteil des axonalen Kompartiments der sendenden Nervenzelle sowie an der Postsynapse, als Teil des dendritischen Kompartiments der empfangenden Nervenzelle [56]. Neben der erwähnten Rolle der mRNA Lokalisierung und lokalen Translation an der lernenden Synapse, spielen diese Mechanismen eine fundamentale Rolle in der Entwicklung des Nervensystems, durch Regulation der Synaptogenese, Differenzierung neuronaler Vorläuferzellen und der Axonentwicklung [92]. Auch nach Schädigung neuronaler Faserverbindungen spielt die Lokalisierung von mRNAs und die lokale Translationskontrolle eine Rolle bei der Regeneration axonaler Zellfortsätze [69]. Spezialisierte RNA-Bindeproteine (RBPs) übernehmen in diesem komplexen Geschehen eine Schlüsselfunktion. RBPs sind an der Lokalisierung von mRNAs beteiligt, regulieren die lokale Proteinsynthese sowie den Abbau nicht benötigter Transkripte und sind damit wesentlicher Bestandteil synaptischer Plastizität [67].

B. Die RNA-Bindeproteine Staufen2 und Pumilio2

Synaptische Plastizität, Lernen und Erinnerung basieren u.a. auf der dendritischen Lokalisation von mRNA. Von zentraler Bedeutung für die funktionellen und strukturellen Veränderungen einzelner Synapsen ist dabei der asymmetrische Transport von mRNAs in Verbindung mit lokaler Proteinsynthese (Translation) an der Synapse [30,131]. Besonders die posttranskriptionelle Regulation beeinflusst die Proteinexpression und damit das synaptische Proteom, neben der Kontrolle der Genexpression (Transkription) im Kern [61]. Besonders für die komplex organisierten Neuronen stellt die Translationskontrolle eine wichtige Regulationsebene dar, da hierbei die Proteinexpression direkt über die Translation gesteuert werden kann und

nicht über die Transkription, die einen zeit- und energieintensiven Transport von Signalmolekülen zum Kern voraussetzt. Dieser Mechanismus erlaubt eine lokale Änderung des Proteoms, um auf bestimmte externe Stimuli spezifisch reagieren zu können. In Nervenzellen spielt dieser regulatorische Mechanismus besonders im dendritischen Zellkompartiment eine Schlüsselrolle für Lernprozesse (Abbildung 2). Der erste Schritt, der mRNA Transport in neuronalen RNA Granula oder auch Ribonukleoproteinpartikel (RNP) genannt, wird induziert durch die Erkennung der mRNA durch RNA-Bindeproteine (RBPs) und deren Verpackung in RNPs. Spezielle Lokalisierungselemente (LE) sind hierbei notwendige Dockingsignale für RBPs und essentiell für den Transport der jeweiligen mRNA. Diese LEs kommen meist im 3'-untranslatierten Bereich (3'-UTR) der mRNAs vor und bestehen aus Struktur- und/oder Sequenzelementen [58].

Abbildung 2: Dendritischer RNA-Transport und lokale Proteinsynthese an der aktivierten Synapse



Legende: Darstellung einer multipolaren Nervenzelle (Golgi-Imprägnierung einer Purkinjezelle). Die Vergrößerung eines Dendriten zeigt Dornfortsätze (*dendritic spines*). Die schematische Zeichnung illustriert dendritischen RNA-Transport mit Hilfe von Ribonukleoproteinpartikeln. Lokalisierung der RNA an die aktivierte Synapse und Initiation der Translation. Zur Regulierung des synaptischen Proteoms (hier gezeigt die Proteinsynthese für einen neuen Rezeptor) erfolgt der Abbau der nicht benötigten RNA vor Ort an der Synapse. Abbildung in Anlehnung an Übersichtsarbeiten von Bramham und Wells [14] sowie Martin and Kosiak [84].

Staufen2 (Stau2) und Pumilio2 (Pum2) sind, neben zipcode-Bindeproteinen (ZBP) und anderen, RNA-bindende Proteine (RBPs), die beide vorwiegend in Neuronen exprimiert werden [66,140]. Stau2 erkennt doppelsträngige mRNAs im Bereich der 3'-UTR und aktiviert diese für den Transport [34]. Pum2 hingegen erkennt eine acht Nukleotid lange Konsensussequenz (UGUANAUA) im 3'-UTR seiner Zieltranskripte [145]. Bisherige *in vitro* Versuche ergaben, dass die Bindung von Pum2 die Translation dieser Transkripte inhibiert [31,139]. Interessanterweise kommen Pum2 und Stau2 oft in den gleichen RNPs in Dendriten vor [43], was wiederum auf eine Synchronisation von Transport und translationeller Kontrolle hindeutet [27].

Stau2 ist wesentlich an der Morphogenese dendritischer Fortsätze sowie deren funktioneller Aufrechterhaltung beteiligt [30,131]. Goetze et al. assoziierten eine reduzierte Stau2 Proteinexpression mit einer verminderten Anzahl von intakten dendritischen Dornen in reifen, kultivierten hippocampalen Neuronen [47]. In der embryonalen Entwicklung führt zudem ein Mangel an Stau2 zu einer vorzeitigen und unvollständigen Differenzierung von Neuronen sowie zu einer gestörten Organisation von Kortexschichten und hippocampalen Arealen [71,138]. Stau2 ist ein wichtiger molekularer Marker für dendritische Ribonucleoproteinpartikel (RNPs) [34,47,133] und wird unter anderem, mit dem dendritischen Transport von unterschiedlichen mRNAs in Verbindung gebracht, darunter *CaMKII α* , *Calm3* und *Rgs4* [9,49,123]. Diese mRNAs kodieren für Proteine, die im Zuge synaptischer Plastizität und Langzeitgedächtnisleistung Funktionen in wichtigen Signalkaskaden an der Synapse ausüben [20,77]. In einem Rattenmodell zur Simulation einer Staufen2-Defizienz konnte bereits eine gestörte Langzeitgedächtniskonsolidierung mit einer Reihe von missregulierten mRNAs in Verbindung gebracht werden. Diese bisherigen Befunde deuten darauf hin, dass Stau2 eine essentielle Funktion bei der Regulation der synaptischen Plastizität und damit bei Lern- und Gedächtnisvorgängen einnimmt [11,73,74].

In Säugern ist Pum2 in allen Stadien der Neurogenese aktiv [140]. In Abwesenheit von Pum2 kommt es zu einer fehlerhaften Zelldifferenzierung aus neuronalen Vorläuferzellen und zu einer gestörten Migration von Neuronen [71,139,155]. Pum2 ist zudem essentiell an der Kontrolle der dendritischen Morphogenese beteiligt [39,140,151]. Neben einer verminderten Anzahl von primären Dendriten und erhöhter Dendritenkomplexität kommt es auch zu einer gestörten Morphologie der dendritischen Dornfortsätze und einer Zunahme erregender Kontaktstellen [139]. Darüber hinaus reguliert Pum2 das Auswachsen von Axonen [86]. Bei diesen Prozessen ist die Regulierung der mRNA Lokalisierung und Translation von besonderer Wichtigkeit und unterstreicht die Bedeutung der posttranskriptionellen Kontrolle. Pum2 inhibiert die Synthese des essentiellen Translationsinitiationsfaktors eIF4E und der Natriumionenkanäle Nav1.1 (*SCN1a*) und Nav1.6 (*SCN8a*) [31,89,139]. Hierdurch reguliert Pum2 nicht nur die Bildung neuer Synapsen, sondern ganz wesentlich auch die Erregbarkeit der Nervenzelle durch die Modulation spannungsgesteuerter Ionenkanäle [88,122]. Dies könnte zu einer überschießenden Erregbarkeit bzw. einer fehlerhaften Hemmung bestimmter Neuronengruppen als

auch einzelner Nervenzellen führen, ein Szenario, wie es bei der Entstehung von Epilepsien beobachtet wird. Interessanterweise konnte eine Reduktion von Pumilio2 in Gewebeproben von Patienten mit Temporallappen-Epilepsie bereits nachgewiesen werden [148]. Neben der Epilepsie sind auch zahlreiche andere neurologische Erkrankungen bekannt, darunter beispielsweise Autismus, Alzheimer, Parkinson und Schizophrenie, denen allesamt eine Fehlregulierung durch RPBs als krankheitsbeeinflussende Faktoren zugesprochen wird [17,38,63,136].

C. Aufbau und funktionelle Aspekte der Hippocampusformation und der Kleinhirnrinde

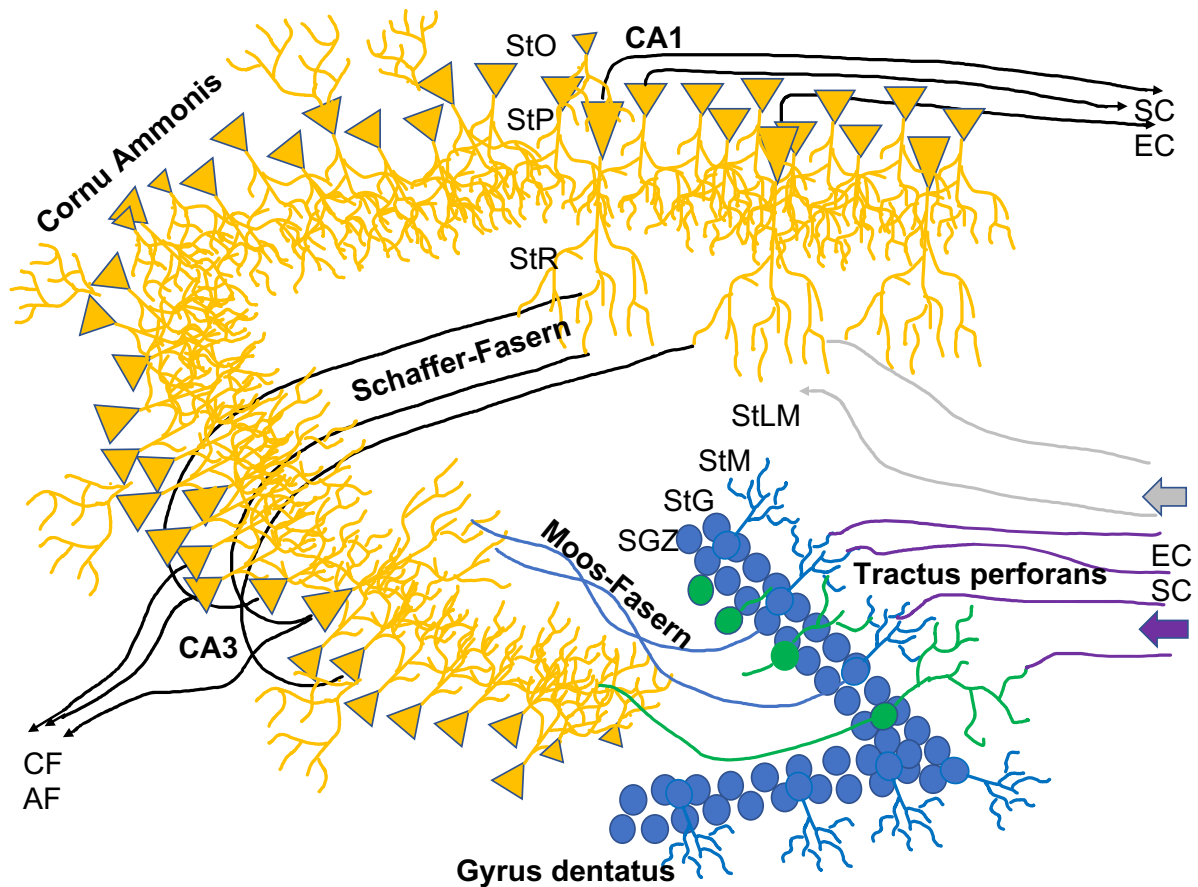
Die Hippocampusformation, bestehend aus den anatomischen Anteilen Subiculum, entorhinale Rinde und Hippocampus ist ein zum limbischen System gehörender Strukturbereich des zentralen Nervensystems, mit zahlreichen extrinsischen, insbesondere sensorischen Projektionen und ausgeprägten intrahippocampalen Faserverbindungen [60]. Beim Menschen ist die Hippocampusformation, aufgrund der Größenzunahme des Neokortex und der Hemisphärenrotation in die Tiefe des Großhirns in den Bereich des basalen Temporallappens verlagert worden [120]. Bei kleinen Nagetieren, insbesondere bei Mäusen, sind die genannten Entwicklungsschritte nicht in dieser Form ausgeprägt nachzuweisen, so dass die Hippocampusformation statt einer Basalverlagerung ihre latero-ventrale Orientierung beibehält [119]. Grob wird im Nagermodell der Hippocampus in die Bereiche dorsaler-, intermediärer- und ventraler Hippocampus untergliedert, basierend auf dessen Lagebeziehungen im Tierkörper. Funktionell wird dabei dem dorsalen Hippocampus (posterior bei Primaten) die Verarbeitung von räumlichen Mustern und die Speicherung/Verarbeitung von Gedächtnisinhalten zugesprochen, während der ventrale (anterior bei Primaten) Hippocampus für die Verarbeitung von emotionalen Komponenten wie Angst für zuständig gehalten wird [95]. Diese noch etwas grobe Gliederung in dorsale und ventrale Abschnitte des Hippocampus wird gestützt durch Untersuchungen zu Faserverbindungen, Zytoarchitektur und Rezeptorausstattung der einzelnen hippocampalen Subregionen, die ein detailliertes Muster der Hippocampusstruktur liefern und funktionelle Netzwerke voneinander abgrenzen lassen [81].

Entwicklungsgeschichtlich dem Archicortex zuzuordnen, dem zweitältesten Bereich des Großhirns, ist die Hippocampusformation, die sich entwicklungsgeschichtlich von den jüngeren neokortikalen Arealen abgrenzt. Dies wird durch die Schichtung der Nervenzellen im Archicortex deutlich, bei der die Neuronen oft in drei Schichten und nicht wie im Neocortex in sechs Schichten angeordnet sind [119]. Die Zytoarchitektur dieses Kortexbereichs ist konserviert und unterscheidet sich nicht wesentlich zwischen Nagern und Menschen [119]. Das Cornu Ammonis (CA = Ammonshorn = eigentlicher Hippocampus) lässt sich in die Bereiche CA1-CA4 gliedern und deren enthaltene Zellen und Zellfortsätze, den Schichten Stratum oriens, Stratum pyramidale, Stratum lucidum, Stratum radiatum und Stratum lacunosum-moleculare zuordnen. Der Gyrus dentatus (GD), ebenfalls Teil der Hippocampusformation bestehend aus den Schichten Stratum moleculare, Stratum

granulosum und Stratum multiforme, hat enge Faserverbindungen mit dem Ammonshorn sowie der entorhinalen Rinde. In allen Abschnitten der Hippocampusformation haben multipolare Nervenzellen eine essentielle Aufgabe bei der Reizintegration. Durch den gut ausgeprägten Dendritenbaum der multipolaren Nervenzellen können zahlreiche synaptische Verbindungen geknüpft werden. Mit den langen Axonen werden unterschiedlichste intra- und extra-hippocampale Regionen zu funktionellen Netzwerken verbunden. Bei den Faserverbindungen des Tractus perforans, stammend von Zellen des entorhinalen Kortex, die an Körnerzellen des GD enden, handelt es sich um die Hauptafferenzen übergeordneter Kortexareale. Die Körnerzellen des GD entsenden folglich selbst Axone – die Moosfasern – zu den Pyramidenzellen des Cornu Ammonis (CA) in der Region CA3. Pyramidenzellen der Region CA3 entsenden Fasern - die Schaffer Kollateralfasern - zu den Pyramidenzellen der CA1-Region und weiter über das Subiculum zurück in den entorhinalen Kortex. Über diese Faserverbindungen wird eine intra-hippocampale, tri-synaptische Neuronenkette aufgebaut. Darüber hinaus projizieren Neurone der CA3 Region mit ihren Axonen in extra-hippocampale Areale als Teil des Papez-Neuronenkreises (Abbildung 3) [102,153]. Funktionell wird der Hippocampusformation, durch die genannten Faserverbindungen, eine essentielle Rolle bei der Verarbeitung deklarativer Gedächtnisinhalte und emotionaler Gedächtniskonsolidierung zugesprochen, das heißt insbesondere bei der Überführung von Gedächtnisinhalten aus dem Kurz- in das Langzeitgedächtnis [12,94,127].

In den vorangegangenen Abschnitten wurde bereits betont, dass die Neubildung von Nervenzellen auf wenige Bereiche im adulten Gehirn begrenzt bleibt. Innerhalb der Hippocampusformation ist die subgranuläre Zone des GD ein solcher Bereich, in dem sowohl beim Menschen wie bei den Nagern zeitlebens neue Neurone heranreifen können. Aus neuronalen Stammzellen entwickeln sich in Reaktion auf zell-intrinsische Faktoren über mehrere Differenzierungsschritte schließlich reife Neurone, die bis in das Stratum granulosum migrieren und dort Faserverbindungen mit den bereits bestehenden Netzwerken eingehen können [35,135]. Das Ausmaß der adulten Neurogenese wird wesentlich durch Signale aus dem Umfeld des emotionalen wie physiologischen Status des Individuums geprägt. In Mäusen haben angereicherte Haltungsbedingungen, sowie die Steigerung der körperlichen Aktivität z.B. durch die Bereitstellung von Laufrädern, zur Neubildung von Nervenzellen im adulten Tier geführt [4,55]. Diese strukturelle wie funktionelle Plastizität leistet einen wichtigen Beitrag zur Integration/Aufrechterhaltung von neuronalen Schaltkreisen wie Steigerung der Merkfähigkeit, wie dies bereits in Verhaltensuntersuchungen gezeigt werden konnte [35,130,135]. Entscheidend für die Integration und das Überleben der neugebildeten Nervenzellen ist dabei ein fein abgestimmtes Signalgefüge aus erregenden – überwiegend vermittelt durch glutamaterge N-Methyl-D-Aspartat (NMDA) Rezeptoren - wie hemmenden Reizen, die durch die inhibierend wirkende Gamma-Aminobuttersäure (GABA) vermittelt werden. Innerhalb von ca. 4-6 Wochen können auf die beschriebene Weise neue Nervenzellen in existierende Netzwerke integriert werden [135].

Abbildung 3 : Hippocampusformation und Faserverbindungen



Legende: Gezeigt sind die in dieser Arbeit besprochenen wichtigsten Zelltypen und Faserverbindungen. In der subgranulären Zone (SGZ) sind unterschiedliche Stadien der Neurogenese illustriert (grün), daneben Körnerzellen des Gyrus dentatus (GD, hier StG) mit Moos-Faserverbindungen (blau) an Dendriten der Pyramidenzellen im Stratum pyramidale (StP). Schaffer-Fasern projizieren von Neuronen der CA3 Region an Dendriten der CA1 Zellen. Von dort ziehen Fasern in das Subiculum (SC) und entorhinale Rindengebiete (EC). Axone aus den Bereichen SC/EC terminieren an Dendriten des GD. Commissural/Assoziations-Fasern (CF/AF) verlassen die Hippocampusformation über CA3 Neurone. StO = Stratum oriens, StR = Stratum radiatum, StLM = Stratum lacunosum-moleculare, StM = Stratum moleculare. Schematische Zeichnung der Hippocampusformation und Verbindungen in Anlehnung an Neves *et al.* und Ehninger *et al.* [98,135].

Die Hippocampusformation und angrenzende Hirnareale sind aufgrund ihrer Zytoarchitektur und komplexen Verschaltung von humanmedizinischer, klinischer Relevanz - insbesondere bei neurologischen und neuropsychiatrischen Erkrankungen. Neben bestimmten Formen von Merkfähigkeitsstörungen, wie zum Beispiel der Alzheimer-Erkrankung, werden einer Dysfunktion des hippocampalen Netzwerks auch schizophrene Psychosen zugeordnet [108]. Eine besondere Form der Dysbalance neuronaler Aktivität lässt sich bei der Entstehung und Manifestation von Anfallsleiden - den Epilepsien - nachweisen. Dabei können die Anfallsleiden unterschiedlichste Ursachen haben - die molekularen Ursachen sind vielschichtig [128,141]. Gemeinsam ist allen Anfallsleiden eine synchronisierte Überaktivität -

Hyperaktivität – von Neuronen/Neuronengruppen, der oft eine fehlgesteuerte Hemmung (Inhibition) gegenübersteht [36,128]. Einen wichtigen Beitrag zur Regulierung der Membraneigenschaften von Nervenzellen leisten dabei unter anderem erregende, spannungs-abhängige Natriumkanäle, denen wiederum funktionell hemmende Rezeptoren gegenüberstehen, darunter Vertreter der GABA-Rezeptorfamilie. Dabei haben die letztgenannten Rezeptoren nicht ausschließlich eine hemmende Wirkung auf die Nervenzellen, auch erregende Eigenschaften durch Änderungen bestimmter synaptischen Ionengradienten vor allem während der Entwicklung sind für GABA-Rezeptoren beschrieben [129].

Im Folgenden soll ein kurzer Überblick über die Anordnungen und funktionellen Zusammenhänge der Zellen und Faserverbindungen im Kleinhirn gegeben werden. Die Kleinhirnrinde gliedert sich ebenfalls in drei Schichten. Die äußerste Schicht bildet das Stratum moleculare. In dieser Schicht lassen sich überwiegend inhibierende Neurone finden, zu denen die Korb- und Sternzellen gezählt werden. Dieser Schicht folgt in Richtung des Marklagers das durch die sehr prominenten Purkinjezellen charakterisierte Stratum purkinjense. Purkinjezellen gehören zur Gruppe der multipolaren Nervenzellen und besitzen einen ausgeprägten Dendritenbaum, der sich weit in das Stratum moleculare ausbreitet sowie ein Axon, das bis tief in das Marklager des Kleinhirns reicht und dort die Kleinhirnkerngebiete ansteuert. Im Stratum granulosum, der letzten Schicht der Kleinhirnrinde, lassen sich unter anderem erregende Körnerzellen und auch inhibierende Golgi-Zellen nachweisen. Wie in allen Bereichen des Nervensystems stehen die genannten Neurone in engem Kontakt mit einer Vielzahl an Gliazellen, welche wichtige Aufgaben übernehmen, die für die Funktion der Nervenzellen essentiell sind [118]. Purkinjezellen spielen eine herausragende Rolle bei der Informationsverarbeitung und Weiterleitung im Kleinhirn. Informationen aufsteigender Verbindungen – den Moosfasern – aus dem Rückenmark sowie aus Kerngebieten des Hirnstamms, unter anderem des Vestibularorgans, erreichen die Dendriten der Purkinjezellen über Parallelfasern der Körnerzellen [46]. Dabei wird das Signal bereits durch die modulierend wirkenden Impulse erregender und hemmender Neurone vorverarbeitet, ehe es die Purkinjezelle erreicht. Zusätzlich entsenden Neurone aus Kerngebieten des Hirnstamms bevorzugt in Areale, die für die Feinabstimmung motorischer Bewegungsabläufe essentiell sind, dazu gehören beispielsweise Neurone die den unteren Olivenkernen zugeordnet werden, sogenannte Kletterfasern, die direkt Kontakt mit den Dendriten der Purkinjezelle eingehen [72]. Anders als bei den Parallelfasern ist hier das Signal nicht durch Erregung und Hemmung der Impulse in der Kleinhirnrinde moduliert worden ehe es die Purkinjezelle erreicht. Die Purkinjezellen empfangen folglich eine Vielzahl an Informationen aus unterschiedlichen Bereichen des Nervensystems. Die Purkinjezelle ist bemerkenswerterweise die einzige Zelle der Kleinhirnrinde, die Kontakt mit den Kleinhirnkerngebieten im Marklager aufnimmt. Dabei hat das Signal der Purkinjezelle ausnahmslos hemmende Eigenschaften auf die Funktion der nachgeschalteten Neurone. Vermittelt wird diese Hemmung durch die Ausschüttung des Neurotransmitters GABA. Funktionell hat das Kleinhirn wichtige Aufgaben in der

Modulation von Bewegungsabläufen und Lernprozessen [6,50]. Die koordinierte Verarbeitung von senso-motorischen Impulsen im Kleinhirn wird dabei wesentlich durch die modulierenden Eigenschaften der Purkinjezellen auf die Kleinhirnkerngebiete sichergestellt [80]. Störungen der Kleinhirnfunktion äußern sich durch ein vielschichtiges Symptomspektrum, dazu gehören Beeinträchtigungen der Blickstabilisierung, ein herabgesetzter Muskeltonus und unterschiedlichste Ausprägungen von Störungen der Bewegungskoordination, die sich in Form cerebellärer Ataxien und Sprachstörungen äußern [117].

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Homöostase neuronaler Netzwerke wesentlich auf der Feinabstimmung von erregenden und hemmenden Impulsen beruht. Nervenzellen können durch ihre enorme Fähigkeit zur Plastizität den permanenten Herausforderungen wechselnder Signalintensität begegnen, indem lokal und zeitlich begrenzt die Proteinausstattung an der Synapse den Bedürfnissen der Zelle angepasst werden kann. Für die synaptische Plastizität spielen RNA-Bindeproteine eine essentielle Rolle, insbesondere beim Transport und der Lokalisation von mRNAs und deren bedarfsabhängiger Translation an der aktivierten Synapse. Innerhalb der Hippocampusformation und der Kleinhirnrinde lässt sich das Zusammenwirken der einzelnen Moleküle im Kontext synaptischer Plastizität untersuchen und aufgrund bekannter Faserverbindungen lässt sich dies mit Verhaltensuntersuchungen im Tiermodell verifizieren. Weiterführende Erkenntnisse zu den molekularen Grundlagen synaptischer Plastizität werden einen wichtigen Beitrag leisten zum Grundverständnis von Lernen und Gedächtnisbildung und ebenso zur Diagnostik und Therapie neurologischer, neurodegenerativer sowie neuropsychiatrischer Erkrankungen.

II. Zielstellung der Arbeit

Ziel des Habilitationsprojektes war es, mit Hilfe von molekularbiologischen und immunhistochemischen Verfahren sowie Verhaltensuntersuchungen neue Erkenntnisse zu gewinnen, die zum Verständnis der molekularen Grundlagen synaptischer Plastizität beitragen. Insbesondere sollten die Auswirkungen einer verminderten Expression der beiden RNA-Bindeproteine Staufen2 und Pumilio2 im Tiermodell untersucht werden. Die Untersuchungen wurden an Wildtyp-Tieren sowie eigens gezüchteten Staufen2- und Pumilio2-defizienten Mauslinien durchgeführt.

Im ersten Teil des Habilitationsprojektes wird beschrieben inwiefern sich das Gesamtproteom von Nervenzellen innerhalb der Hippocampusformation in Abhängigkeit von körperlicher Aktivität verändert. Mit Hilfe von Laufradversuchen wurde im Mausmodell die aktivitätsabhängige adulte Neurogenese entlang der dorsalen-ventralen Ausdehnung der Hippocampusformation angeregt. Ziel dieses Versuchsaufbaus war es, Erkenntnisse zur Dynamik/Plastizität der Proteomänderung in Abhängigkeit von der körperlichen Aktivität und der damit induzierten Neurogenese zu erlangen und zu ermitteln, ob sich die Änderung der neuronalen Proteinkomposition auch auf die unterschiedlichen Subregionen der Hippocampusformation und deren Signalwege (DG und CA3 – CA1) auswirkt.

Im zweiten Abschnitt der Arbeit wird die Auswirkung einer verminderten Expression des RNA-Bindeproteins Staufen2 (Stau2) im Mausmodell beschrieben. Schwerpunkt der Untersuchungen war dabei die *in vivo* Charakterisierung der durch Gene-Trap-Mutagenese (GT) generierten adulten Stau2-defizienten Mäuse (Stau2^{GT}). Für das Vorhaben wurden Stau2^{GT} Mäuse umfangreichen Lern-Verhaltensexperimenten unterzogen und anschließend Gewebe, insbesondere aus Bereichen des Hippocampus, die für Lernen und Gedächtnisbildung verantwortlich gemacht werden, mit molekularbiologischen, immunhistochemischen und pathohistologischen Methoden untersucht.

Die *in vivo* Untersuchungen an den Stau2^{GT} Mäusen wurden zudem auf andere Hirnareale ausgeweitet, um auch funktionelle Aspekte einer Stau2-Defizienz im Kleinhirn untersuchen zu können nachdem die initiale Charakterisierung der Mauslinie ein Defizit der Motorkoordination ergab. Schwerpunkt dieser dritten Studie war es, im Kleinhirn der Stau2^{GT} Mäuse molekulare Ursachen zu finden welche den gezeigten Phänotyp erklären könnten. Mithilfe eines interdisziplinären Ansatzes aus molekularbiologischen Methoden, histologischen Untersuchungen und Verhaltenstests sollte der Zusammenhang zwischen einer Stau2-Defizienz und einer veränderten Synaptogenese von Purkinjezellen im murinen Kleinhirn näher untersucht werden.

Im vierten Abschnitt des Habilitationsprojektes folgte die Charakterisierung von einer ebenfalls durch Gene-Trap-Mutagenese generierten Pumilio2-defizienten Mauslinie (Pum2^{GT}) auf Basis der in der Literatur beschriebenen Anfallsneigung der Mäuse. Der Schwerpunkt der Untersuchungen lag auf der Identifizierung von Pumilio2-assoziierten Zielmolekülen, die für die Entstehung von epileptischen Anfällen im Tiermodell prädisponieren. Mit Hilfe molekularbiologischer Methoden wurden Gehirnproben der Tiere analysiert und mit immunhistochemischen Verfahren die

identifizierten Zielmoleküle einer feingeweblichen Kartierung innerhalb der Hippocampusformation unterzogen. Die erhobenen Befunde wurden ergänzt durch Erkenntnisse weiterführender molekularbiologischer Untersuchungen, die eine direkte Regulation der identifizierten, epilepsie-relevanten Zielmoleküle durch Pumilio2 zeigen sollten.

Im folgenden Abschnitt werden die wichtigsten Erkenntnisse der vier Projektphasen näher beschrieben und deren humanmedizinische Relevanz erläutert.

III. Ergebnisse

A. Untersuchungen zum Einfluss körperlicher Aktivität auf Änderungen des hippocampalen Proteoms im Mausmodell

In diesem Projekt sollte ein Zusammenhang von körperlicher Aktivität auf die Stimulation der Neurogenese und damit verbundene Auswirkungen auf die Proteinausstattung (das Proteom) in der Hippocampusformation untersucht werden. In der Humanmedizin sind positive Auswirkungen körperlicher Aktivität auf die Gedächtnisleistung und andere kognitive Fähigkeiten beschrieben worden, die in Zusammenhang mit der Stimulation der adulten Neurogenese in der Hippocampusformation stehen [64,65,76,106]. Dass körperliche Aktivität die neuronale Plastizität stimuliert und damit präventive wie rehabilitative Effekte hervorrufen kann, insbesondere bei neurodegenerativen Erkrankungen, ist bereits bekannt [79]. Der hippocampalen adulten Neurogenese wird dabei eine wichtige Funktion bei der Verarbeitung von Gedächtnisinhalten aber auch emotionalen Erlebnissen zugesprochen. Dabei spielen unterschiedliche Funktionsbereiche der Hippocampusformation eine essentielle Rolle [4]. Es ist gut beschrieben, dass sich Laufradversuche dazu eignen, die adulte Neurogenese in der subgranulären Zone des Gyrus dentatus (GD) im Tiermodell zu initiieren [55,110]. Nicht nur die Zellproliferation wird dabei stimuliert, sondern auch das Überleben der neugebildeten Neurone und deren Integration in bestehende Netzwerke scheint eine Langzeitauswirkung körperlicher Aktivität zu sein [2]. Neben Befunden, die auf einen nachteiligen Effekt der hippocampalen Neurogenese auf die Etablierung von Gedächtnisinhalten hindeuten [3], scheint die körperliche Aktivität der Mäuse auf dem Laufrad nachhaltig auch die synaptische Plastizität im Hippocampus positiv zu beeinflussen, was sich durch verbesserte Testergebnisse bei Hippocampus-abhängigen Lernverhaltenstest widerspiegelte [137]. Die molekularen Veränderungen, die sich während und unmittelbar nach körperlicher Aktivität in den Neuronen abspielen und Einfluss auf die synaptische Aktivität nehmen können, sind bisher nicht vollständig verstanden.

Für dieses Versuchsziel wurden männliche Wildtypmäuse der Linie C57Bl/6J verwendet, die während eines mehrwöchigen Untersuchungszeitraums uneingeschränkter Zugang zu einem Laufrad im gewohnten Haltungsumfeld hatten. Als Kontrollgruppe dienten Tiere ohne Zugang zu Laufrädern in einem standardisierten Haltungsumfeld. Im Anschluss an die Laufradversuche erfolgte die Entnahme der Gehirne und die feingewebliche Untersuchung der Proben. Die Entnahme der Proben erfolgte systematisch an seriellen Schnittpräparaten entlang der dorso-ventralen Achse der Hippocampusformation. Für den Nachweis einer erfolgreichen neuronalen Zelldifferenzierung im GD wurde durch immunhistochemische Methoden an seriellen Schnittpräparaten die Bestimmung der Doublecortin (DCX) positiven Zellen vorgenommen. DCX wird dabei von sich differenzierenden Neuronen bereits in einer frühen Phase exprimiert (ca. Tag 4) und ist bis zum Stadium der synaptischen Integration der Nervenzelle (bis etwa Tag 21-28) nachweisbar [82,142]. Die Bestimmung von DCX-positiven Zellen in der

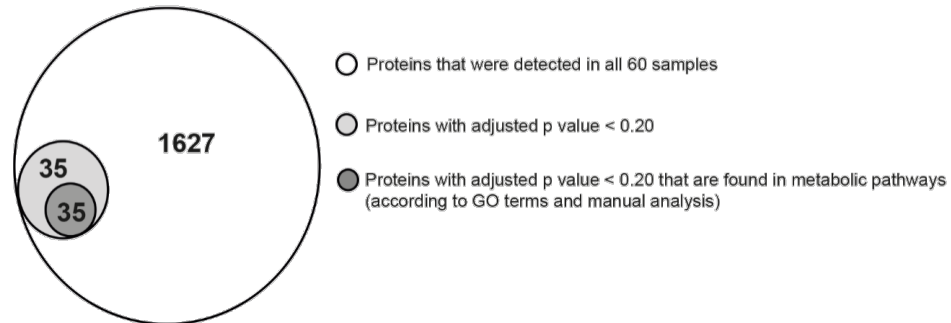
subgranulären Zone (SGZ) des GD diente dabei als Nachweis der durch körperliche Aktivität induzierten adulten Neurogenese im Mausmodell. Es folgte eine entlang der dorso-ventralen Achse ausgelegte und in die hippocampalen Subregionen untergliederte, spezifische Gewebeentnahme des GD sowie der Regionen CA3 wie CA1. Die entnommenen Proben wurden mithilfe der *label-free* Massenspektrometrie analysiert und etwaige Proteomänderungen als Antwort auf die Stimulation bestimmt. Die Auswertung der Datensätze wurde mit Hilfe von computergestützten Programmen durchgeführt (STRING Datenbank (<https://string-db.org>), *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* – KEGG und *Gene Ontology* (GO Term)) um die detektierten Proteine bestimmten Funktionskreisen (*pathways*) zuzuordnen. Die Auswertung der Ergebnisse der Massenspektrometrie wurde in Zusammenarbeit mit dem Zentrallabor für Proteinanalytik im BMC der LMU unter Leitung von Prof. Imhof durchgeführt. Die Auswertung der Datensätze erfolgte in Kollaboration mit der *Core facility Bioinformatics* im BMC der LMU unter Leitung von Dr. Straub.

Spezifisch konnte bei diesen Untersuchungen Folgendes gezeigt werden:

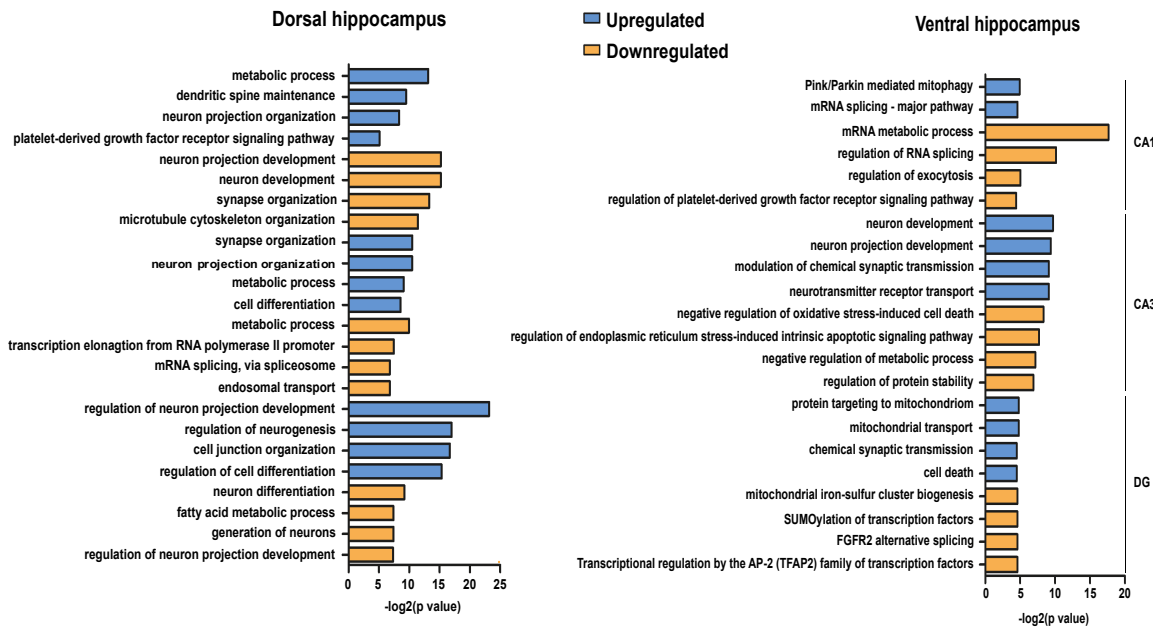
- Mehrwöchige körperliche Aktivität stimuliert die hippocampale Neurogenese im Mausmodell. Dies konnte insbesondere durch eine signifikante Zunahme an DCX-positiven Zellen in der SGZ im ventralen Hippocampus gezeigt werden.
- Sowohl im dorsalen wie im ventralen Hippocampus führt die körperliche Aktivität zu einer Zunahme der Komplexität des Dendritenbaums im Stratum granulosum/Stratum moleculare des GD.
- Dorsaler und ventraler Hippocampus zeigen Unterschiede bei der Reaktion auf körperliche Aktivität. Im dorsalen Hippocampus konnten im Vergleich zum ventralen Hippocampus deutlich mehr Proteine detektiert werden, die entweder hoch- oder runterreguliert wurden (Abbildung 4 B).
- Speziell Proteine, die in Zusammenhang mit dem Zellmetabolismus stehen, wurden in Nervenzellen nach körperlicher Aktivität verstärkt nachgewiesen (Abbildung 4 A und Abbildung 5 A, B). Darunter beispielsweise die Glucose-6-Phosphat-Isomerase, die bereits mit Mechanismen der neuronalen Plastizität in Verbindung gebracht wurde [19,93].
- *Gene Ontology*-Analysen identifizierten Signalwege, denen die detektierten Proteine zugeordnet werden konnten, darunter Proteine, die für die Regulation der neuronalen Zytoarchitektur und des Wachstums verantwortlich gemacht werden, wie beispielsweise RhoA (Ras homolog family member A) und Pfn2 (Profilin-2) [26] (Abbildung 5 B).
- Auch Proteine, die in Signalwegen neurodegenerativer Erkrankungen detektiert wurden, sowie beispielsweise Aco2 und Ndufa2 [54,152], ließen sich in den Gewebeproben nach körperlicher Aktivität nachweisen (Abbildung 5 A, C).

Abbildung 4: Körperliche Aktivität beeinflusst das Proteom in der Hippocampusformation

A



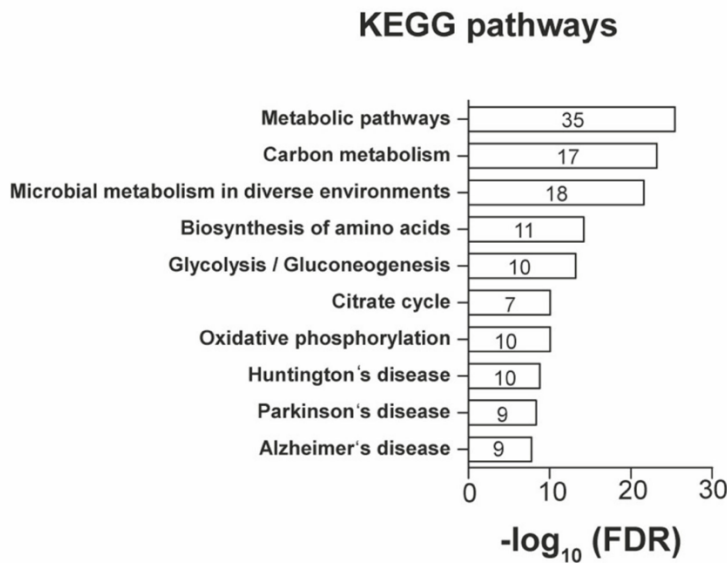
B



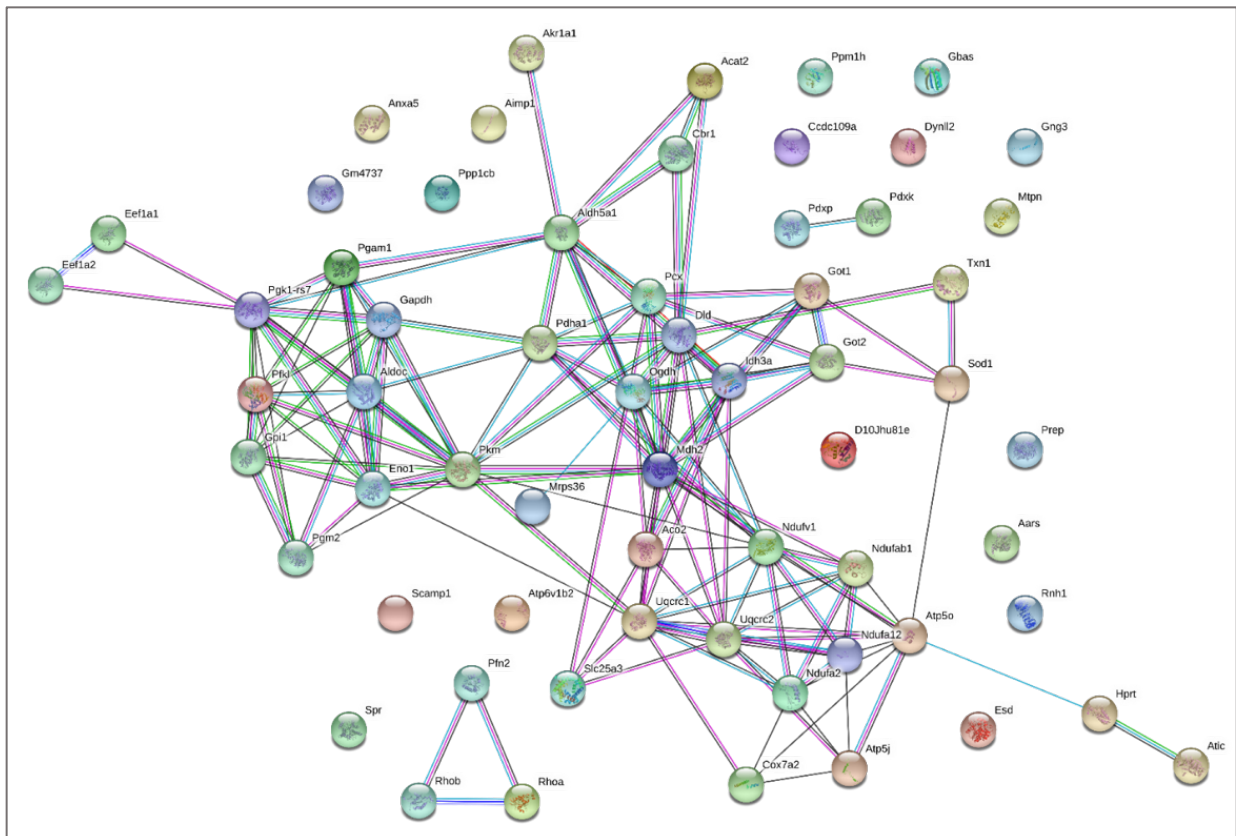
Legende: **A.** Das Venn-Diagramm zeigt die Gesamtzahl an Proteinen, die in allen entnommenen Gewebeproben der Hippocampusformation in Abhängigkeit der körperlichen Aktivität verändert nachweisbar waren. Von der Gesamtzahl an Proteinen waren insgesamt 35 Proteine signifikant verändert und konnten bestimmten metabolischen Signalwegen zugeordnet werden. **B.** Entlang der dorso-ventralen Achse der Hippocampusformation konnten zahlreiche Proteine nachgewiesen werden, die in Reaktion auf körperliche Aktivität hochreguliert (blau) oder herunterreguliert (gelb) wurden. In dorsalen Anteilen des DG den Subregionen CA1-CA3 des Cornu Ammonis, konnten insgesamt mehr veränderte Proteine nachgewiesen werden als im ventralen Abschnitt. Entnommen aus Frey *et al.* [41]

Abbildung 5: Analyse der durch körperliche Aktivität stimulierten Signalwege

A



B



Legende: A. Den nach körperlicher Aktivität veränderten Proteinen wurden die kodierenden Gene zugeordnet und Signalwege (Cluster) identifiziert, in denen die Gene gehäuft vorkommen (KEGG Analyse) B. Übersicht von Genen unterschiedlicher biologischer Funktionskreise (Linien zwischen den Gen-Namen), die nach körperlicher Aktivität vermehrt aktiviert wurden. Auswertung mittel STRING-Datenbank (<https://string-db.org>). FDR = *false discovery rate*. (A. aus Frey *et al.* [41] B. unveröffentlichte Darstellung)

Zusammenfassend gelang in dieser Studie der Nachweis, dass körperliche Aktivität die Proteinkomposition in Nervenzellen entlang der dorsalen-ventralen Achse der Hippocampusformation, sowie in den einzelnen Subregion der Hippocampusformation (CA1-CA3 und GD), dynamisch beeinflussen kann. Es handelt sich dabei insbesondere um Proteine, die für den Zellmetabolismus und die neuronale Zytoskelettarchitektur verantwortlich gemacht werden, und die nach körperlicher Aktivität hochreguliert wurden. Zu diesen Molekülen zählen unter anderem RhoA und Pfn2, zwei Proteine, die wesentlich in Mechanismen der synaptischen Plastizität eingebunden sind, indem sie das Aktin Zytoskelett in den *dendritic spines* nachhaltig verändern können [15,24,26,48]. Dass besonders im ventralen Abschnitt der Hippocampusformation eine gesteigerte Neurogeneseaktivität nachgewiesen werden konnte, demgegenüber aber dorsale Anteile eine dynamischere Änderung des Proteoms aufwiesen, verdeutlicht, wie unterschiedlich die jeweiligen Abschnitte der Hippocampusformation auf externe Stimulation reagieren und wie flexibel sich die Nervenzellen den jeweiligen Herausforderungen anpassen können. Lernen und Gedächtnisbildung, ebenso wie die Verarbeitung von emotionalen Ereignissen sind somit das Resultat eines Zusammenspiels aus dorsalen wie ventralen Anteilen und folglich eine gemeinsame Leistung der gesamten Hippocampusformation [4]. Des Weiteren zeigte diese Studie, dass körperliche Aktivität die Plastizität von Nervenzellen nachhaltig verändern kann, spezifisch durch Induktion der adulten Neurogenese und Modifikation des Zellmetabolismus. Beide stellen wichtige Aspekte dar, die zur Prävention und Therapie neurodegenerativer und neuropsychiatrischer Erkrankungen beitragen können [57,150].

Themenbezogene Publikation:

Frey S*, Schieweck R*, Forné I, Imhof A, Straub T, **Popper B***, Kiebler MA*. Physical Activity Dynamically Regulates the Hippocampal Proteome along the Dorso-Ventral Axis. *Int J Mol Sci.* 2020 May 15;21(10):3501. doi: 10.3390/ijms21103501. * Geteilte Erst- bzw. Letzt-Autorenschaft

B. Molekularbiologische und verhaltensbiologische Charakterisierung von Stau2-defizienten Mäusen

Das RNA-Bindeprotein (RBP) Stau2 wird überwiegend in Nervenzellen von Säugern exprimiert und übernimmt als Bestandteil der Ribonucleoproteinpartikel den Transport entlang dendritischer Mikrotubuli und die damit erfolgende dendritische Lokalisierung von mRNAs an die aktivierte Synapse [9,68,83,133]. In kultivierten hippocampalen Neuronen wird eine Stau2 Defizienz mit einer Abnahme dendritischer Kontaktstellen in Verbindung gebracht [47]. Zahlreiche durch Stau2 regulierte Zielmoleküle sind beschrieben worden, die allesamt im Kontext der neuronalen Plastizität wichtige Aufgaben übernehmen, darunter Calm3, Rgs4, RhoA und CaMKII α [9,49,101,123,147]. In der Arbeit von Dubnau *et al.* wird ein Zusammenhang zwischen Stau2 und Störungen der Langzeitgedächtnisleistung im Modellorganismus der Fruchtfliege hergestellt [33].

Ziel dieses Projektes war es herauszufinden, welche Auswirkungen eine verminderte Stau2 Expression in Neuronen auf den Phänotyp im Säugermodell hat. Für diese Fragestellung wurde eine Stau2-defiziente Mauslinie verwendet, die mittels Gene-Trap-Mutagenese generiert wurde und bisher keiner molekularbiologischen und verhaltensbiologischen Charakterisierung unterzogen wurde. Das Projekt gliederte sich in zwei Phasen. Es erfolgte zunächst eine molekularbiologische Analyse zur Bestimmung der Expressionsmuster von Stau2 in Gehirnen von Wildtyp- und Stau2-defizienten Mäusen sowie unter Verwendung von immunhistochemischen Techniken eine Kartierung der Stau2-Expression in Schnittpräparaten des Gehirns. Schließlich folgte die *in vivo* Charakterisierung mit Hilfe von speziellen Verhaltenstests zur Identifizierung eines mit der verminderten Stau2-Expression einhergehenden Phänotyps im Mausmodell.

Für diese Versuchsvorhaben wurden Stau2-defiziente Mäuse auf dem genetischen Hintergrund der Wildtyplinie C57Bl/6J etabliert. Die Stau2-defiziente Mauslinie wurde mit Hilfe biotechnologischer Methoden generiert. Bei der verwendeten Technik werden embryonale Stammzellen (ES Zellen) verwendet, in denen eine Gene-Trap-Kassette genau in den Bereich etabliert wird, der für das Zielprotein kodiert. Aus der Insertion kann eine veränderte wie auch verminderte Funktion des Proteins resultieren. Diese vorab modifizierten ES Zellen werden in Blastozysten weiblicher Spendertiere eingebracht und durch gezielte Zuchtfolge die Träger der neuen genetischen Modifikation selektiert und die Linie etabliert [42]. Mit der Einbringung der Gene-Trap-Kassette wurde auch ein molekularer Marker – ein LacZ-Reporter – eingebracht. Mit Hilfe des Reporters kann die erfolgreiche Insertion in den Zellen nachgewiesen werden. Dabei kodiert die LacZ-Sequenz für das Enzym Beta-Galactosidase, ein Enzym, das bei erfolgreicher Insertion der Kassette in das endogene Zielgen eine Farbreaktion hervorruft [42]. Somit lassen sich die Zellen in einem Gewebeverband identifizieren, die erfolgreich die Gene-Trap-Kassette integriert haben und somit das verkürzte Stau2 Protein exprimieren.

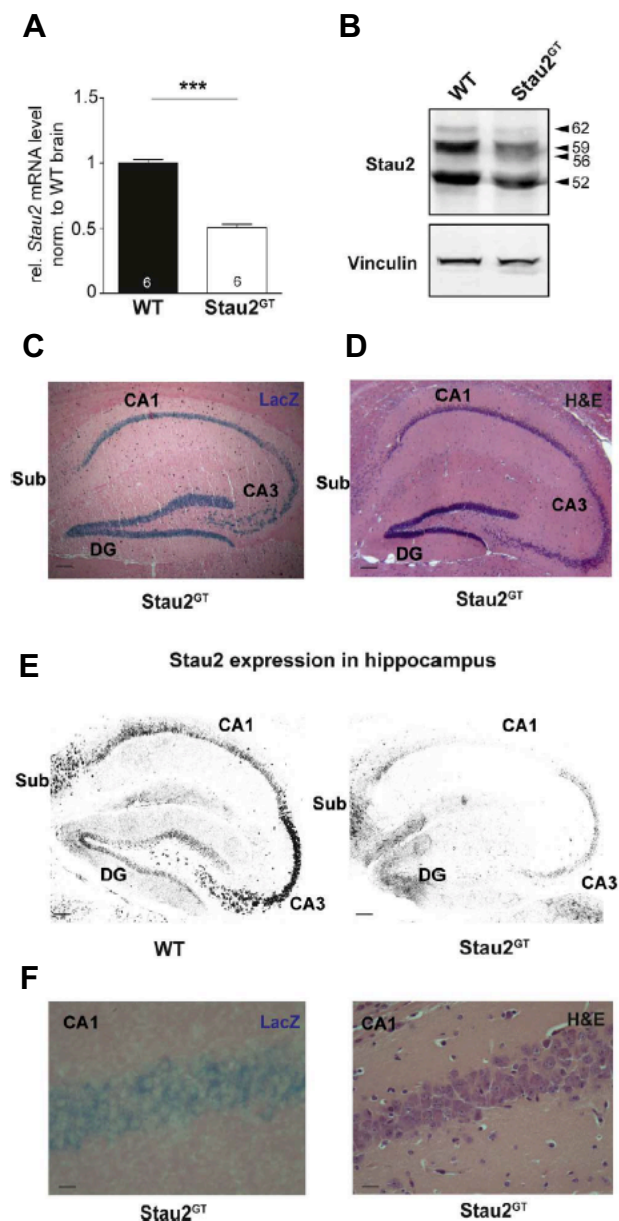
In der ersten Phase dieses Projekts, der molekularbiologischen Charakterisierung, wurden die Gehirne von adulten Stau2-defizienten Mäusen untersucht. Dabei konnte eine LacZ-Expression in allen sechs Schichten des Kortex nachgewiesen werden. Ein

starkes Reportersignal konnte in der Hippocampusformation detektiert werden, insbesondere im Gyrus dentatus (DG) sowie im Cornu Ammonis (CA). Anders als in der Arbeit von Vessey *et al.* und Kusek *et al.*, die eine gestörte Stau2-Expression in neuronalen Vorläuferzellen und sich entwickelnden Neuronen in der embryonalen Phase der Gehirnentwicklung mit einer vorzeitigen und unvollständigen Differenzierung von Nervenzellen und Kortexarealen in Verbindung brachten [71,138], hatte die Gene-Trap-Insertion in dem zu untersuchenden Mausmodell keine nachweisbaren Auswirkungen auf die Gehirnentwicklung. Es konnten bei der lichtmikroskopischen, feingeweblichen Untersuchung Hämatoxylin und Eosin gefärbter Schnittpräparate keine Hinweise für eine Abweichungen der Gehirnmorphologie in Stau2-defizienten Mäusen gefunden werden. Unter Verwendung von molekularbiologischen Techniken konnte gezeigt werden, dass in Folge der Gene-Trap-Insertion eine etwa 50% verminderte Stau2 Proteinexpression in den Mäusen resultierte. Mit Hilfe von immunhistochemischen Färbemethoden an Gehirnschnitten von Wildtyp- und Stau2-defizienten Mäusen konnte unter Verwendung von spezifischen Antikörpern gerichtet gegen das Stau2 Protein eine Kartierung der Stau2 Proteinexpression in der Hippocampusformation vorgenommen werden. Es zeigte sich eine, sowohl in den Körnerzellen des DG als auch in den Pyramidenzellen der Bereiche CA3-CA1 auftretende Abnahme der Proteinexpression in Stau2-defizienten Mäusen im Vergleich zu altersgleichen Wildtyp-Kontrolltieren. Diese Befunde wurden durch die Analysen der LacZ-Reporter-Insertion bestätigt, dabei wurde die Beta-Galactosidaseaktivität genau in den genannten Nervenzellen durch die Farbreaktion nachgewiesen.

Spezifisch zeigten die molekularbiologischen und immunhistochemischen Untersuchungen Folgendes:

- Mittels Gene-Trap-Technologie konnte eine Mauslinie etabliert werden, die eine um 40% verminderte Stau2-Expression aufweist. Dabei sind Stau2 mRNA-Level um etwa 50% vermindert (Abbildung 6).
- Das Gene-Trap-Reporter-Signal war in Nervenzellen, insbesondere in Bereichen des Kortex und der Hippocampusformation nachweisbar (Abbildung 6).
- Die verminderte Stau2-Expression hatte keinen Einfluss auf die generelle Gehirnentwicklung in diesem Mausmodell.
- Die verminderte Stau2-Proteinexpression war speziell in Neuronen des Gyrus dentatus und entlang des Cornu Ammonis nachweisbar (Abbildung 6).

Abbildung 6: Nachweis der Stau2 Expression in Gehirnen einer durch Gene-Trap-Mutagenese generierten Mauslinie



Legende: **A, B.** Die Gene-Trap-Vektor Insertion reduziert die Stau2 mRNA und Protein Level in Gehirnen der Stau2-defizienten Mauslinie (Stau2^{GT}) im Vergleich zu Wildtyp-Kontrolltieren. **C, D.** Das Reportersignal (β -Galactosidaseaktivität) des LacZ-Vektors ist überwiegend im Gyrus dentatus und in dem Cornu Ammonis nachweisbar. Hematoxylin und Eosin Färbungen an Gewebeschnitten zeigten keine groben morphologischen Auffälligkeiten. **E.** Immunhistochemische Färbungen zum Nachweis des Stau2 Proteins zeigten eine Abnahme der Färbintensität in der gesamten Hippocampusformation der Stau2^{GT} Mauslinie. **F.** Die Abnahme der Stau2 Expression in der Hippocampusformation folgt dem LacZ-Vektorsignal in Neuronen des Cornu Ammonis, insbesondere in der Subregion CA1. Abbildungen aus Popper *et al.* [107].

In der zweiten Projektphase, der verhaltensbiologischen Untersuchung, wurden adulte *Stau2*-defiziente Mäuse sowie altersgleiche Wildtyp-Kontrolltiere verwendet. Die Tiere wurden in einer spezifischen Abfolge von Verhaltenstest einer mehrwöchigen Untersuchung unterzogen, die sowohl intra- wie extra-hippocampale Funktionskreise ansprechen. Ziel war es, die verminderte *Staufen2*-Expression im Gehirn einem Verhaltensphänotyp zuzuordnen. Es wurden neben angeborenen Verhaltensweisen, wie dem Nestbautrieb [29], insbesondere Hippocampus-spezifische Fähigkeiten im Kontext der Langzeitgedächtnisleistung im Mausmodell untersucht. Die Verarbeitung von räumlichen Mustern (*spatial memory*) ist dabei wesentlich von der Integrität der hippocampalen Faserverbindungen abhängig, dies gilt ebenso für das Erinnerungsvermögen an Objekte in einem räumlichen Kontext (*object recognition memory*), bei dem auch extra-hippocampale Bereiche in das funktionelle Fasernetzwerk mit einbezogen werden [7,16].

Es wurden etablierte Testverfahren in Verbindung mit automatisierten Tracking-Programmen und Video-Analyse zur Charakterisierung der Mauslinie verwendet. Die durchgeführten Verhaltensexperimente werden im Folgenden kurz beschrieben. Die Mäuse wurden hinsichtlich ihrer Aktivität, Bewegungsabläufen und explorativem Verhalten in einer *open-field* Box untersucht [143]. Die Versuchsanordnung bestand dabei aus einer transparenten, einstreulosen Plexiglasbox, in der sich die Tiere ohne Einschränkungen für einen definierten Zeitraum frei bewegen konnten. Als wichtige Zielgrößen für die Analyse wird die Geschwindigkeit und die zurückgelegte Wegstrecke der Tiere in dem unbekanntem Umfeld erfasst. Dieser Test liefert neben Information über die Integrität wichtiger Gehirnareale, die unter anderem für Antrieb und Sensomotorik verantwortlich sind auch Erkenntnisse zu den Funktionskreisen die Flucht- und Angstverhalten der Tiere steuern [22]. Der *novel-object-recognition* (NOR)-Test untersucht die Fähigkeit der Tiere zur Objektwahrnehmung und damit verbunden, das Erinnerungsvermögen an bereits bekannte Objekte in einem räumlichen/zeitlichen Kontext [5]. Den Tieren wurden unmittelbar im Anschluss an den *open-field* Test in der ihnen nun bereits bekannten Umgebung zwei identische Objekte zur uneingeschränkten Untersuchung präsentiert. Die Tiere wurden für eine festgelegte Zeitspanne beobachtet und dabei die Kontaktzeit bestimmt, in der die Mäuse die beiden Objekte aktiv untersuchten. In einem nächsten Schritt wurde eines der bereits bekannten Objekte durch ein neues Objekt (neu in Größe und Form) ersetzt. Die Position der Objekte wurde dabei aber nicht verändert. Erneut wurden die Mäuse beobachtet und jeweils die Zeit erfasst, in der sich die Mäuse entweder mit dem bekannten Objekt oder aber dem neuen Objekt beschäftigten.

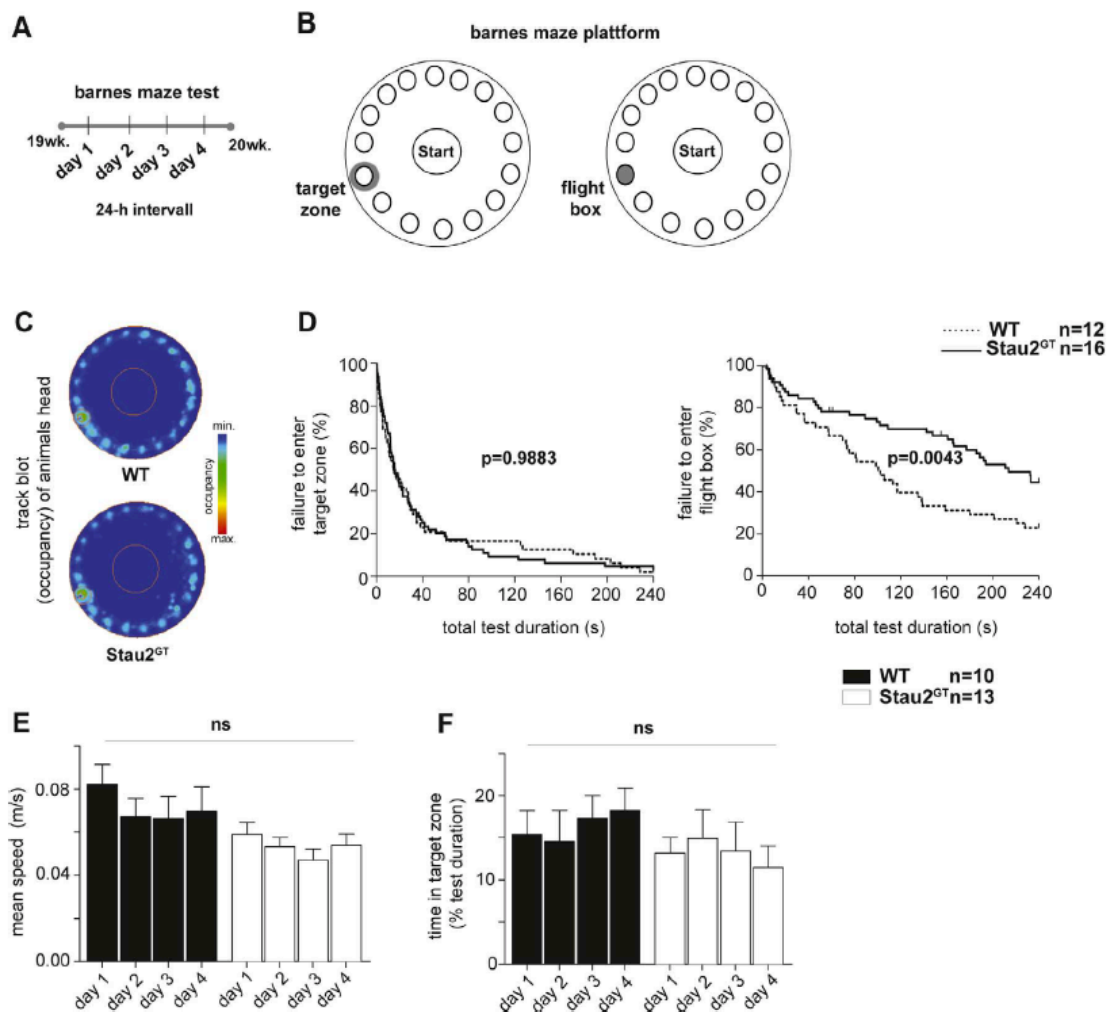
Ergänzt wurden der *open-field* und NOR-Test durch den Barnes-Maze-Verhaltenstest, der gezielt intra-hippocampale neuronale Verknüpfungen im Kontext des räumlichen Lernens untersucht [8]. Die Mäuse werden zu Beginn des Verhaltenstests in die Mitte der runden, erhöhten Testplattform gesetzt. Unter der Plattform befindet sich nur an einer Stelle eine sogenannte „Fluchtbox“, die es den Tieren ermöglicht, eine abgedunkelte, geschützte Umgebung aufzusuchen. Es wird für diesen Versuchsaufbau angenommen, dass die Mäuse die abgedunkelte Fluchtbox unterhalb der Testplattform aufsuchen, da sich Mäuse für gewöhnlich nur kurze Zeit ungeschützt im „offenen Feld“ aufhalten, das gleiche Phänomen, dass dem

open-field Test zugrunde liegt [143]. Bei wiederholter Stimulation im Testsetup wird erwartet dass sich die Mäuse ohne Beeinträchtigungen der dazu relevanten neuronalen Netzwerke die Lokalisation der Fluchtbox einprägen und dabei räumliches Lernen zeigen. Als entscheidende Zielgrößen wurde die Anzahl an Fehlversuchen bestimmt sowie die Zeit gemessen, die die Tiere bis zum Auffinden der Fluchtbox benötigen. Der Versuchsaufbau erforderte die Untersuchung der Tiere an mehreren Folgetagen mit bis zu 24-Stunden-Intervallen zwischen den einzelnen Versuchsläufen, damit eine Aussagekraft zur Langzeit-Gedächtnisleistung der Mäuse getroffen werden konnte.

Spezifisch konnte bei den Verhaltensuntersuchungen adulter *Stau2*-defizienter Mäuse Folgendes gezeigt werden:

- *Stau2*-defiziente Mäuse waren in einer neuen Umgebung weniger aktiv als altersgleiche Kontrolltiere. Das zeigte sich insbesondere durch eine signifikant verkürzte Wegstrecke, die im offenen Feldversuch zurückgelegt wurde, sowie durch eine verminderte Geh-/Laufgeschwindigkeit auch in anderen Versuchen (Abbildung 7).
- *Stau2*-defiziente Mäuse zeigten ein eingeschränktes Interesse an neuen, unbekanntem Objekten. Die Zeit, die die Tiere mit den bereits bekannten und neuen Objekten im NOR-Test verbrachten, unterschied sich dabei signifikant zu den Kontrolltieren.
- Die Langzeit-Gedächtnisleistung für räumliche Lerninhalte war in *Stau2*-defizienten Mäusen vermindert, dabei zeigten die Tiere im Barnes-Maze signifikant häufiger Fehlversuche beim Aufsuchen der Fluchtbox als die eingesetzten Kontrolltiere (Abbildung 7).

Abbildung 7: Ergebnisse der Barnes-Maze-Verhaltensexperimente in Stau2-defizienten Mäusen



Legende: **A.** Zur Untersuchung der Langzeitgedächtnisleistung für räumliche Lerninhalte von Stau2-defizienten Tieren (Stau2^{GT}) und Wildtyp-Kontrolltieren wurden die Tiere einer viertägigen Verhaltensanalyse unterzogen. Zwischen den Auswertungen im Barnes-Maze-Test lagen jeweils 24 Stunden. **B.** Das Testsetup bestand aus einer Plattform mit Startpunkt der Tiere im Zentrum. Die Fluchtbox befindet sich nur an einer Position am Rand der Plattform. Die Zielzone markiert den Bereich rund um den Zugang zur Fluchtbox. **C.** Auswertungen der Laufwege (*track blots*) zeigten, dass Wildtyp-tiere und Stau2^{GT} Mäuse dieselbe Suchstrategie zum Auffinden der Fluchtbox verwenden. **D.** Kaplan-Meier Kurven illustrieren, dass Stau2-defiziente Mäuse signifikant länger brauchen, um die Fluchtbox zu erreichen. **E,F.** Untersuchungen der Bewegungsgeschwindigkeit und der Zeit in der Zielzone zeigten keine Abweichungen zwischen Wildtyp-tieren und Mäusen der Stau2^{GT} Linie. Abbildung aus Popper *et al.* [107].

In Kooperation mit Dr. Tempel und Dr. Kusek vom Neural Stem Cell Institute der Regenerative Research Foundation, New York und Dr. Bolivar vom Wadsworth Center, New York State Department of Health/Department of Biomedical Sciences an der Universität von Albany in New York, wurden junge Stau2-defiziente Mäuse hinsichtlich ihres Phänotyps charakterisiert.

Spezifisch konnte bei den Verhaltensuntersuchungen junger Stau2-defizienter Mäuse Folgendes gezeigt werden:

- Junge Stau2-defiziente Mäuse waren im *open-field* Test genauso aktiv wie altersgleiche Kontrolltiere bei identischem Versuchsaufbau.
- Im *elevated zero-Maze*, einem Verhaltenstest zur Überprüfung des Angstverhaltens im Tiermodell [124], zeigten Stau2-defiziente Mäuse eine Präferenz für geschützte Bereiche des Testsetups und verbrachten dort mehr Zeit als altersgleiche Kontrolltiere.
- Im *three-chamber social preference* Test, einem Verhaltenstest zum Nachweis gestörter sozialer Interaktion zwischen Individuen gleicher Art, eine Verhaltensweise die auch bei Patienten mit neuropsychiatrischen Erkrankungen beobachtet wird [96,109], zeigten weibliche Stau2-defiziente Mäuse Veränderungen hinsichtlich einer gesteigerten sozialen Interaktion, während zwischen Männchen keine Unterschiede detektiert werden konnten.

Zusammenfassend gelang in dieser Studie der Nachweis, dass die verminderte Stau2 Expression im Mausmodell zu einer typischen Verhaltensänderung führt, die sich im Wesentlichen auf die Defizienz von Stau2 in der Hippocampusformation zurückführen lässt. Besonders bei der intra-hippocampalen Signalverarbeitung scheinen diese genannten Mechanismen eine wichtige Rolle bei der Verarbeitung von Lerninhalten und der Langzeitgedächtnisbildung zu spielen, aber auch bei Angstverhalten und sozialer Interaktion. In Einklang damit steht die selektive Expression von Stau2 in Neuronen der Hippocampusformation, gefolgt von der verminderten Nachweisbarkeit des Stau2 Proteins nach Gene-Trap-Insertion in den Körnerzellen des Gyrus dentatus und den Pyramidenzellen in den Subregionen des Cornu Ammonis in dem von uns charakterisierten Mausmodell. Die beschriebenen Ergebnisse, insbesondere die Defizite bei der räumlichen Langzeitgedächtnisleistung sind in Einklang mit Befunden, die mit Hilfe einer Stau2-defizienten Rattenlinie erhoben wurden [11]. In der Arbeit von Berger *et al.* sind zudem Zielmoleküle identifiziert worden, die durch Stau2 reguliert werden und für die synaptische Plastizität eine wichtige Rolle spielen, darunter auch die für RhoA kodierende mRNA [11]. Die Verhaltensbeobachtungen deuten insgesamt darauf hin, dass neben den dorsalen Anteilen der Hippocampusformation, besonders in jungen Stau2-defizienten Mäusen, die ventralen Anteile bei der Verarbeitung von Angst und Emotionen durch die verminderte Expression des RBPs, beeinträchtigt werden. Das hier beschriebene Mausmodell eignet sich für weiterführende Untersuchungen zu den molekularen Mechanismen synaptischer Plastizität entlang der dorso-ventralen Achse der Hippocampusformation, besonders hinsichtlich der durch Stau2 regulierten und synaptisch-lokalisierten mRNAs. Stau2 scheint in diesem feinabgestimmten molekularen Zusammenspiel einen modulierenden Einfluss auf unterschiedliche neuronale Netzwerke zu haben und vermag in Folge dessen zur Pathogenese humanmedizinisch-relevanter neurologischer und neuropsychiatrischer Erkrankungen beizutragen.

Themenbezogene Publikation:

Popper B*, Demleitner A*, Bolivar VJ, Kusek G, Snyder-Keller A, Schieweck R, Temple S, Kiebler MA. *Staufen2 deficiency leads to impaired response to novelty in mice.* *Neurobiol Learn Mem.* 2018 Apr;150:107-115. doi: 10.1016/j.nlm.2018.02.027.

* Geteilte Autorenschaft

C. Untersuchungen zur Synaptogenese im Kleinhirn Staufen2-defizienter Mäuse

Basierend auf den aus der molekularbiologischen und verhaltensbiologischen Charakterisierung der *Stau2*-defizienten Mäuse gewonnenen Erkenntnisse wurde in einem weiterführenden Projekt das Kleinhirn der Mäuse näher untersucht. Dass Malformationen der cerebellären Konnektivität Einfluss auch auf die Entstehung und Ausprägung von neuropsychiatrischen wie neurologischen Erkrankungen haben können [45,117], ist für diese Projektbeschreibung von besonderem Interesse, so sind bei der Grundcharakterisierung der *Stau2*-defizienten Mäuse auch Hinweise für ein gesteigertes Angstverhalten gefunden worden [107].

Für dieses Projekt wurden ausgewachsene Wildtyp- und *Stau2*-defiziente Tiere beider Geschlechter hinsichtlich ihrer Motor koordinationsfähigkeit auf dem Rotarod (sich drehender Stab) und ihre Aktivitätsprofile auf dem Laufrad in ihrem gewohnten Haltungsumfeld untersucht. Für den Rotarod-Test werden die Mäuse auf einen sich drehenden Stab gesetzt. Innerhalb einer festgelegten Untersuchungsdauer dreht sich der Stab mit zunehmender Umdrehungszahl. Als Zielgröße wird dabei die Zeitspanne erfasst, bis die Tiere von dem sich drehenden Stab abrutschen [125]. Um auch in diesem Testsetup die Tiere hinsichtlich ihrer Lernfähigkeit zu prüfen, wurden die Untersuchungen an aufeinanderfolgenden Tagen mit mehreren Durchläufen durchgeführt. Für Untersuchungen zur Motoraktivität im Tiermodell wurde das Testsetup der ersten Projektbeschreibung von Frey *et al.* übernommen [41].

Spezifisch konnte bei den Verhaltensuntersuchungen Folgendes gezeigt werden:

- Wildtypiere und *Stau2*-defiziente Mäuse zeigten keine Unterschiede hinsichtlich der Motoraktivität im Laufradversuch.
- *Stau2*-defiziente Mäuse zeigten unabhängig vom Geschlecht eine gestörte Motor koordination im Rotarod-Test.
- Bei wiederholter Stimulation im Rotarod-Test zeigten *Stau2*-defiziente männliche Tiere eine deutliche Lernkurve und verbesserte Motor koordinationsfähigkeiten.

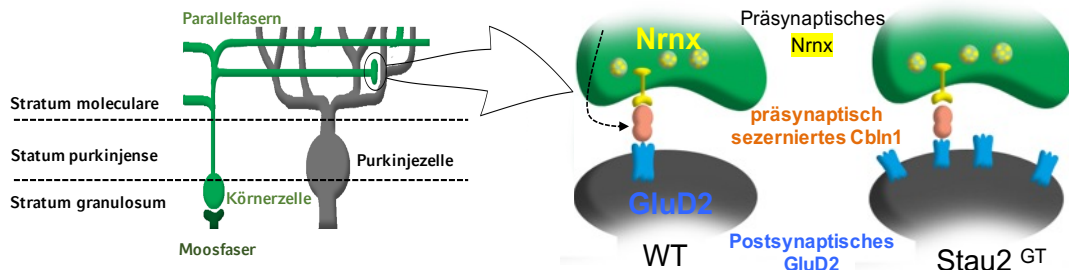
Neben den verhaltensbiologischen Untersuchungen wurden molekularbiologische und immunhistochemische Analysen an Gewebeproben der in den Verhaltenstests

verwendeten Tiere durchgeführt, um die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen des Phänotyps zu identifizieren. Bei Auswertung der *Stau2* Expressionsmuster an Gehirnschnitten der verwendeten Mäuse mittels Konfokalmikroskopie zeigte sich eine verminderte Expression des *Stau2* Proteins im Stratum purkinjense der *Stau2*-defizienten Mäuse. Das Signal des LacZ-Reporters der eingebrachten Gene-Trap-Kassette folgte den verminderten *Stau2* Expressionsmustern in Purkinjezellen der *Stau2*-defizienten Mauslinie. Der Nachweis der Gene-Trap-Insertion war dabei so spezifisch, dass nur ein Knockdown des *Stau2* Proteins in Purkinjezellen zu erwarten war. Dies konnte durch den zeitgleich durchgeführten immunhistochemischen Nachweis der Calbindin-Expression, einem Purkinjezell-spezifischen Marker im adulten Gehirn [97], bestätigt werden.

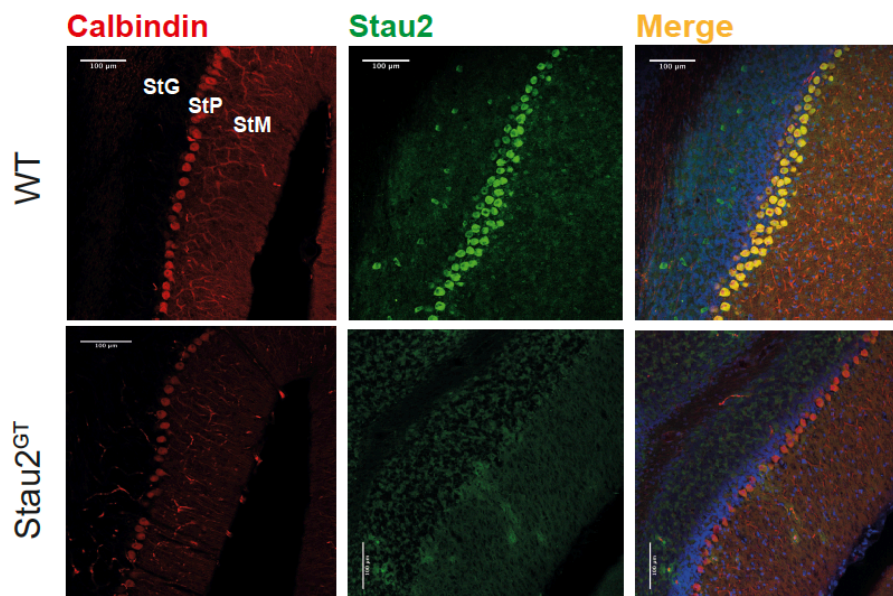
Die Genaktivität in Gehirnen von Wildtyp- und *Stau2*-defizienten Mäusen wurde mittels *microarray*-Untersuchungen im Anschluss an eine Serie von Verhaltenstests durchgeführt, die bereits im zweiten Projektabschnitt bei der Grundcharakterisierung der *Stau2*-defizienten Mäuse beschrieben wurde. Die Ergebnisse der Analyse zeigten, dass körperliche Aktivität in der Verhaltensbatterie zur Steigerung der Genaktivität im Mausmodell führt. Diese Befunde stehen in Einklang mit den Erhebungen von Frey *et al.* aus der ersten Projektbeschreibung in der eine aktivitätsabhängige Änderung der Proteinzusammensetzung – des Proteoms – in Nervenzellen nachgewiesen werden konnte. Die *microarray*-Analyse des Transkriptoms in Wildtyp und *Stau2*-defizienten Mäusen lieferte dabei Informationen zu den Genen *Cbln1* und *Grid2*: Beide Gene waren in *Stau2*-defizienten Mäusen nach körperlicher Aktivität signifikant hochreguliert. *Cbln1* und *Grid2* kodieren dabei für zwei Proteine, die an der synaptischen Bindung der Parallelfasern an die Dendriten der Purkinjezellen beteiligt sind [87]. *Grid2* kodiert für GluD2 (Glutamat-Rezeptor-Delta2 Untereinheit), ein von Purkinjezellen exprimiertes post-synaptisches Rezeptorprotein [52,132]. *Cbln1* kodiert für das von den Körnerzellen synthetisierte und sezernierte Protein Cerebellin1, das in Verbindung mit dem ebenfalls präsynaptisch gebildeten Protein Neurexin eine synaptische Kontaktstelle bestehend aus den Komponenten Neurexin-Cerebellin1-GluD2 bildet [75,87]. Dieser synaptischen Verbindung – bezeichnet als Parallelfaser-Purkinjezell (PF-PC) Verbindung – wird unter anderem eine essentielle Rolle bei der Prozessierung von Signalen, die für die Koordination von Bewegungsabläufen und Motorlernen von Bedeutung sind, zugeordnet [90]. Auch Beeinträchtigungen der Motorkoordination wurden bereits mit einer Dysfunktion der Neurexin-Cerebellin1-GluD2 synaptischen Konnektivität beschrieben [25,91].

Abbildung 8: Die Parallelfaser-Purkinjenzell-Verbindungen und die Stau2 Expression in der Kleinhirnrinde

A



B



Legende: **A.** Schemazeichnung der Moosfaser-Parallelfaser-Verbindung zwischen Körnerzellen und Purkinjenzellen im Kleinhirn in Anlehnung an Mishina *et al.* 2012 [90]. Die Vergrößerung zeigt die synaptische Kontaktstelle zwischen den Parallelfasern der Körnerzellen und den Purkinjenzellendriten, gebildet aus dem präsynaptischen Neurexin (Nrxn), dem präsynaptisch sezernierten Cerebellin1 (Cbln1) und der postsynaptisch-lokalisierten Glutamat-Rezeptor-Delta2 Untereinheit in WT und Stau2^{GT} Mäusen nach körperlicher Aktivität auf dem Laufrad. **B.** Nachweis von Stau2 mittels Immunfluoreszenz in Kleinhirn-Gewebeschnitten von Wildtyp- und Stau2-defizienten (Stau2^{GT}) Mäusen. Nachweis von Calbindin als Marker für Purkinjenzellen. Stratum moleculare (StM), Stratum purkinjense (StP) und Stratum granulosum (StG). (Bastian Popper, unveröffentlichte Abbildungen).

Um die Ergebnisse der verhaltensbiologischen Charakterisierung mit den Befunden der molekularbiologischen Analysen zu verknüpfen, wurden spezifische immunhistochemische Untersuchungen an der PF-PC-Verbindung durchgeführt. Als

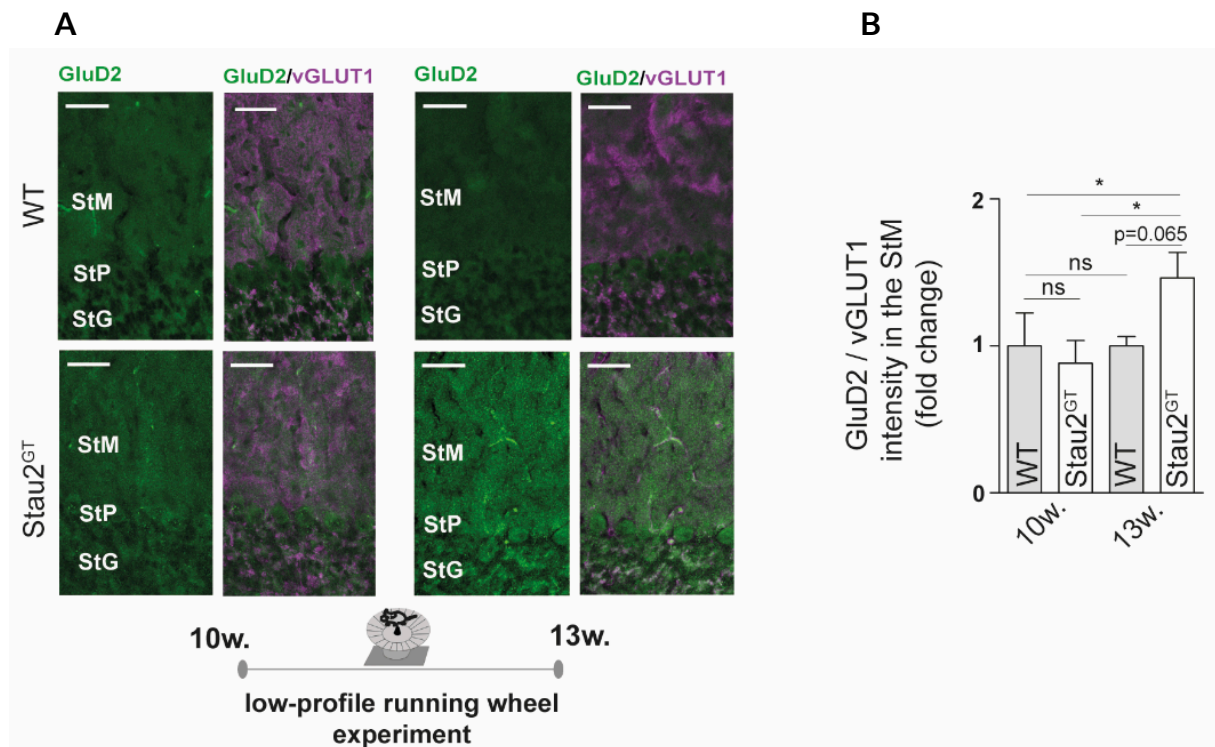
Zielgröße für den Nachweis einer veränderten Synaptogenese in Wildtyp- und *Stau2*-defizienten Mäusen wurde mit Hilfe der Konfokalmikroskopie die Intensität des detektierten Farbsignals gemessen, das sich durch Kopplung der spezifischen Antikörper mit den gekoppelten Fluoreszenzmarkern ergab. Es wurde jeweils die Signalintensität für das präsynaptisch lokalisierte Molekül vGLUT1 (vesikulärer Glutamattransporter 1) [32] und das postsynaptische Protein GluD2 bei Tieren mit bzw. ohne Zugang zu Laufrädern über den Zeitraum von mehreren Wochen verglichen. Wildtyp- und *Stau2*-defiziente Tiere unterschieden sich hierbei nach körperlicher Aktivität in der Ausprägung der Synaptogenese der PF-PC-Verbindung. Dies wurde belegt durch eine Erhöhung des GluD2/vGLUT1-Quotienten in *Stau2*-defizienten Mäusen nach Auswertung der Gewebeproben am Ende der Verhaltensexperimente. Gestützt wird diese Erhebung durch den quantitativen Nachweis der GluD2 Proteinexpression im Stratum moleculare der eine signifikante Zunahme des in Purkinjezellen exprimierten Proteins in *Stau2*-defizienten Mäusen zeigte.

Interessanterweise konnte kein Unterschied in der GluD2 Proteinkomposition zwischen Kontrolltieren und der *Stau2*-defizienten Mäuse vor Beginn der mehrwöchigen Verhaltensuntersuchungen festgestellt werden. Dieser Befund deutet darauf hin, dass primär das postsynaptisch organisierte GluD2 durch das verminderte Vorkommen von *Stau2* in seiner Expression dynamisch verändert wird. Diese Annahme wird unterstützt durch Daten, die eine Interaktion von *Grid2* und *Stau2* nahelegen [123]. Die Zunahme der *Grid2* und *Cbln1* mRNAs deutet dabei auf einen Feedback-Mechanismus hin, der sich aus einem gesteigerten Bedarf an synaptischen Proteinen bei körperlicher Aktivität und Motorlernen ergibt.

Spezifisch konnte bei den molekularbiologischen und immunhistochemischen Analysen Folgendes gezeigt werden:

- *Stau2* wird überwiegend in Purkinjezellen des Kleinhirns nachgewiesen (Abbildung 8).
- In *Stau2*-defizienten Mäusen führt die Gene-Trap-Insertion zu einer Abnahme der *Stau2* Expression um etwa 50% (Abbildung 8).
- Die Genaktivität von *Grid2* und *Cbln1* wird nach körperlicher Aktivität in *Stau2*-defizienten Mäusen hochreguliert, bestätigt durch einen Anstieg der *Grid2* und *Cbln1* mRNAs in Gewebeproben der Tiere.
- Nach körperlicher Aktivität sind in *Stau2*-defizienten Mäusen vermehrt PF-PC Verknüpfungen nachzuweisen (Abbildung 9).
- Nach Stimulation der Motoraktivität in *Stau2*-defizienten Mäusen wurde GluD2 im dendritischen Kompartiment von Purkinjezellen vermehrt detektiert (Abbildung 9).

Abbildung 9: Stau2 beeinflusst die Parallelfaser-Purkinjezell-Synaptogenese



Legende: **A.** Repräsentative Immunfluoreszenz-Aufnahmen für GluD2 und vGLUT1 in Wildtyp-Tieren und Stau2-defizienten Tieren vor (10-Wochen) und nach (13-Wochen) Laufradexposition. **B.** Quantifizierung der durchschnittlichen Färbintensität von GluD2 und vGLUT1 nach drei Wochen Laufradversuch mit Normalisierung der Daten zur Färbintensität in 10-Wochen alten Tieren. Abbildungen aus Pernice *et al.* [104].

In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass eine verminderte Stau2 Expression im Kleinhirn, insbesondere in Purkinjezellen der Kleinhirnrinde, zu einer gestörten Motorkoordination im Tiermodell führt. Es wurden mit den Molekülen *Grid2* und *Cbln1*, zwei mRNAs identifiziert, deren kodierende Proteine (GluD2 und Cerebellin1) wesentlich für die Synaptogenese und Plastizität der PF-PC Verbindungen sind [51,70]. Die beiden synaptisch lokalisierten Moleküle sind in Stau2-defizienten Mäusen in Abhängigkeit körperlicher Aktivität und Motorlernen dynamisch reguliert. In dem hier untersuchten Mausmodell deutet die dynamische Regulation der mRNAs auf einen Feedback-Mechanismus hin, der sich aus einem gesteigerten Bedarf an synaptischen Proteinen bei körperlicher Aktivität und Motorlernen ergibt. Diese Studie komplementiert die vorangegangenen Untersuchungen zur phänotypischen Charakterisierung des durch Gene-Trap-Mutagenese generierten Mausmodells einer Stau2-Defizienz und verdeutlicht, dass Stau2 eine wichtige Rolle bei der Regulation der synaptischen Aktivität - und damit Lernen - auch im Kleinhirn spielt. Ferner kann eine Missregulation des RBPs im Kleinhirn auch für Verhaltensänderungen im Kontext neuropsychiatrischer Erkrankungen prädisponieren.

Themenbezogene Publikation:

Pernice HF, Schieweck R, Jafari M, Straub T, Bilban M, Kiebler MA, **Popper B.** Altered Glutamate Receptor Ionotropic Delta Subunit 2 Expression in Stau2-Deficient Cerebellar Purkinje Cells in the Adult Brain. *Int J Mol Sci.* 2019 Apr 11;20(7):1797. doi: 10.3390/ijms20071797.

D. Untersuchungen zu den Auswirkungen einer verminderten Pumilio2 Expression im Kontext der Entstehung epileptischer Anfälle im Mausmodell

Die in diesem Studienabschnitt verwendeten Pumilio2-defizienten Mäuse wurden in gleicher Weise, wie die in den vorherigen Projekten untersuchten Stau2-defiziente Mäuse, mit Hilfe der Gene-Trap (GT)-Mutagenese generiert [149] und in der Arbeit von Siemen *et al.* einer weiterführenden Charakterisierung unterzogen. Die Ergebnisse dieser Studie zeigten, dass Pum2-defiziente Mäuse neben Defiziten der Lern- und Gedächtnisleistung, altersabhängig spontane epileptische Anfälle zeigen [126]. Genexpressionsanalysen an Gewebeproben hippocampaler Subregionen zeigten Änderungen der Expression von Genen, verantwortlich für die RNA Prozessierung und Translation, wie beispielsweise der eukaryotische Translationsinitiationsfaktor 4E (eIF4E), sowie Gene, die für Proteine kodieren, denen modulierende Eigenschaften bei der neuronalen Erregungsübertragung zugesprochen werden. Dazu gehören insbesondere die spannungsabhängigen Natriumkanäle (Na_vs) [126]. Interessanterweise konnte bereits ein Zusammenhang zwischen Pum2 und Na_vs in kultivierten hippocampalen Neuronen und der Regulation der neuronalen Erregbarkeit hergestellt werden [31,139].

In dieser Studie sollten Pum2-assoziierte Zielmoleküle identifiziert werden, die im Mausmodell für die spontanauf tretenden epileptischen Anfälle in jungen Tieren prädisponieren und für die Manifestation der Epilepsie im adulten Tier verantwortlich gemacht werden können.

Für die Untersuchungen wurden molekularbiologische, immunhistochemische und elektrophysiologische Untersuchungen an Gehirnen von Wildtyp- und Pum2-defizienten Mäusen unterschiedlicher Altersstufen durchgeführt. Zunächst wurden die Pum2 Proteinlevel in Gehirnen sowie Hippocampus-spezifischen Gewebeproben untersucht, um herauszufinden, inwieweit die Gene-Trap-Insertion die Pum2 Expression im Mausmodell beeinflusst. Diesen Untersuchungen folgte eine Transkriptom-weite Analyse der Genexpression in Gehirnen der adulten Pum2^{GT} Mäuse.

Spezifisch konnte bei den molekularbiologischen Analysen Folgendes gezeigt werden:

- Pumilio2 ist in Gehirnen der Pum2^{GT} Mauslinie um etwa 90% herunterreguliert.

- In der Hippocampusformation der *Pum2^{GT}* Mauslinie lässt sich ebenfalls eine um etwa 90% reduzierte *Pumilio2* Expression nachweisen.
- Geneexpressionsanalysen identifizierten eine Missregulierung von Natrium-, Kalium- und Calcium-Transportern und Mitgliedern des eukaryotischen Translationsinitiationsfaktor-Komplexes (eIF).
- Geneexpressionsanalysen zeigten eine Missregulation von Zielmolekülen, die für Proteine kodieren, welche der Zellkommunikation und synaptischen Transmission zugeordnet werden können, darunter beispielweise *RhoA* und *Map2k6* [12,99].
- *Gabra2*, kodierend für die Untereinheit alpha2 des GABA_A-Rezeptors, war dabei deutlich hochreguliert nachweisbar in Gehirnen der adulten Mäuse.
- mRNAs, kodierend für die spannungsabhängigen Natriumkanäle *Nav1.1* (*Scn1a*) und *Nav1.8* (*Scn8a*) dagegen waren in ihrer Expression nicht verändert.

Es folgte eine detaillierte Analyse der Epilepsie-relevanten Gene *Scn1a*, *Scn2a*, *Gabra2* und *Gabbr2* in Gewebeproben junger und adulter Wildtyp- und *Pum2^{GT}* Mäusen mittels qRT-PCR.

Spezifisch konnte bei den Analysen gezeigt werden:

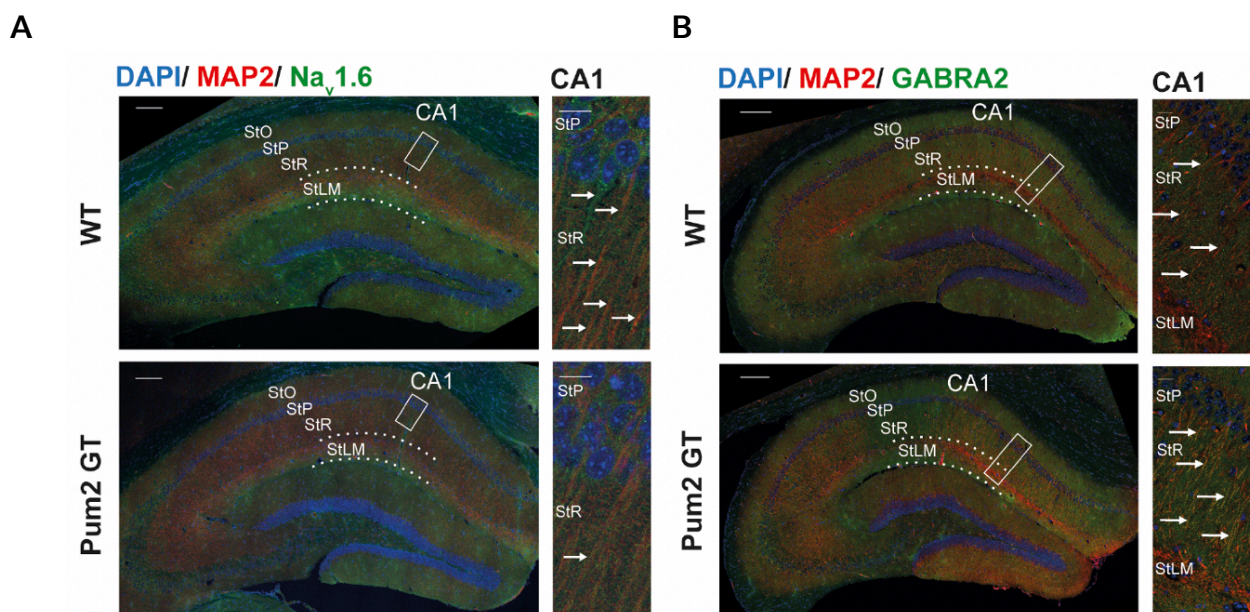
- In jungen *Pum2^{GT}* Mäusen zeigte sich eine signifikante Hochregulierung der *Scn1a*, *Scn2a* und *Scn8a* mRNAs.
- In adulten Tieren waren dagegen die mRNA-Level von *Scn1a*, *Scn2a* und *Scn8a* nicht verändert.
- In jungen wie adulten *Pum2^{GT}* Mäusen konnte eine signifikante Hochregulierung der *Gabra2* mRNA nachgewiesen werden.
- Es ließ sich kein Unterschied für das *Gabbr2* mRNA-Level in den Gehirnen der Mauslinien nachweisen.

Die molekularbiologischen Erhebungen auf mRNA-Ebene wurden ergänzt durch den Nachweis der jeweils kodierenden Proteine (*Nav1.1*, *Nav1.2* und *Nav1.6* sowie GABRA2) mittels immunhistochemischer Färbungen an hippocampalen Gehirnschnitten. Die Bestimmung der Proteinlevel in Wildtyp- und *Pum2^{GT}*-Mäusen erfolgte dabei durch Bestimmung der Fluoreszenzaktivität der farbstoffgekoppelten spezifischen Antikörper an Gehirnschnitten mittels Konfokalmikroskopie. Die Auswertung der Gewebeschnitte berücksichtigte die hippocampalen Subregionen DG, CA3 und CA1, sowie in den Bereichen CA3 und CA1 auch die zonale Gliederung in die Bereiche Stratum pyramidale (StP) und Stratum radiatum (StR). Diese feingewebliche zonale Untersuchung sollte Erkenntnisse liefern, inwiefern die detektierten Änderungen auf mRNA Ebene sich auch auf die Proteinkomposition in Nervenzellen der Hippocampusformation auswirken und ob sich dabei auch eine Lokalisierung der Proteine im Zellkörper und Dendriten nachweisen lässt.

Spezifisch konnte bei den feingeweblichen Analysen gezeigt werden:

- In jungen Wildtyp-Tieren und $Pum2^{GT}$ Mäusen unterschieden sich die mRNA Level der Na_v s 1.1, 1.2 und 1.6 nicht signifikant.
- Die Proteinlevel der Na_v s 1.1, 1.2 und 1.6 waren in adulten $Pum2^{GT}$ Tieren gegenüber den Kontrollen jedoch signifikant verändert.
- Die Na_v s zeigten im Gewebeschnitt Subregionen-spezifisch Unterschiede in der Verteilung.
- In adulten $Pum2^{GT}$ Tieren konnte auch eine signifikante Erhöhung der GABRA2 Expression in der Hippocampusformation gegenüber den Kontrolltieren nachgewiesen werden.
- Das GABRA2 Protein war insbesondere im Stratum radiatum der Region CA1 signifikant erhöht.

Abbildung 10: Die verminderte Expression von $Pum2$ beeinflusst die dendritische Lokalisierung von Na_v 1.6 und GABRA2 im Hippocampus



Legende: **A.** Gezeigt werden repräsentative Immunfluoreszenz-Aufnahmen aus der Hippocampusformation von Wildtyp- (WT) und $Pum2$ -defizienten Mäusen ($Pum2^{GT}$) für Na_v 1.6 (grünes Signal) und dem Dendritenmarker MAP2 (rotes Signal). Die Vergrößerungen der CA1 Subregion zeigen eine Verminderung der dendritischen Signalintensität in $Pum2^{GT}$ Mäusen im Vergleich zu Kontrolltieren. **B.** Gezeigt werden repräsentative Immunfluoreszenz-Aufnahmen aus der Hippocampusformation von WT – und $Pum2^{GT}$ Mäusen für GABRA2 (grünes Signal) und dem Dendritenmarker MAP2 (rotes Signal). Die Vergrößerung der CA1 Subregion zeigt in $Pum2$ -defizienten Tieren eine Zunahme der Färbintensität im dendritischen Kompartiment der Pyramidenzellen gegenüber Kontrolltieren. Pfeile markieren den Verlauf der Dendriten sowie den Färbnachweis der Zielmoleküle Na_v 1.6 und GABRA2. DAPI wurde als Kernmarker verwendet (blaues Signal). Stratum oriens (StO), Stratum pyramidale (StP), Stratum radiatum (StR), Stratum lacunosum-moleculare (StLM). Entnommen aus Follwaczny *et al.* [40].

In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Sutor (Lehnstuhl für Physiologische Genomik am BMC der LMU) wurden elektrophysiologische Messungen durch Frau Dr. Riedemann durchgeführt, die einen funktionellen Zusammenhang zwischen den Subregionen-spezifischen Veränderungen auf Proteinebene und dem epileptischen Phänotyp der Tiere herstellen sollten. Die Messungen wurden im Bereich der Schaffer-Kollateralen-Verbindung zwischen Axonen der CA3 Neurone mit den Dendriten der CA1 Pyramidenzellen im Bereich des Stratum lacunosum-moleculare durchgeführt. Auf diese Weise wurde die Netzwerkaktivität in einem Teil der intra-hippocampalen Verschaltung untersucht. Die Auswertung zeigte in jungen *Pum2^{GT}* Tieren eine reduzierte Netzwerkinhibition nach Stimulation des neuronalen Schaltkreises, die folglich eine gesteigerte synaptische Signalübertragung erwarten lässt.

Zusammenfassend konnte in dieser Studie gezeigt werden, dass in adulten *Pum2^{GT}* Mäusen Zielmoleküle die für die Regulation der synaptischen Aktivität essentiell sind, fehlerhaft reguliert sind. Diese Misregulation mag zur Epileptogenese und Manifestation des epileptischen Phänotyps bereits in jungen Tieren beitragen, vor allem dann, wenn die translationale Repression der mRNAs durch das fehlende *Pum2* Protein wegfällt, daraus eine gesteigerte Proteinsynthese resultiert und infolgedessen dies zu einer gesteigerten neuronalen Erregbarkeit führt. Insbesondere die gestörte Regulation der $\alpha 2$ Rezeptoruntereinheit des GABA_A Rezeptors in jungen *Pum2*-defizienten Tieren kann ursächlich für die fehlende Netzwerkhemmung sein, die folglich für die epileptischen Anfälle prädisponiert. Missregulierte Spannungsabhängige Natriumkanäle unterstützen darüber hinaus die Manifestation des Anfallsleidens in adulten *Pum2^{GT}* Mäusen. Die Befunde werden ergänzt durch *in vitro* Untersuchungen, in denen eine *Pum2*-vermittelte, lokale posttranskriptionelle Regulation von mRNAs in hippocampalen Neuronen mit elektrophysiologischen Änderungen an der Synapse in Verbindung gebracht wurden, die durch eine verminderte Hemmung der GABA_A-Rezeptoraktivität nach *Pum2* Depletion hervorgerufen wurde [115]. Unsere Daten zeigten einen spezifischen Einfluss der $\alpha 2$ Untereinheit des GABA_A Rezeptorkomplexes auf die verminderte *Pumilio2* Expression, während die mRNA für *Gabbr2* kodierend für die $\alpha 2$ Untereinheit des GABA_B-Rezeptors im Mausmodell unverändert blieb. Gestützt werden diese Befunde durch Erhebungen, die eine Interaktion der für GABA-Rezeptoren und deren Untereinheiten kodierenden mRNAs durch *Pum2* wie auch für weitere RBPs, darunter *Stau2* annehmen lassen [112,144].

In der vorliegenden Arbeit wurden Risikofaktoren identifiziert, die durch eine reduzierte *Pum2* Expression für das Entstehen von epileptischen Anfällen prädisponieren sowie zur Manifestation des Anfallsleidens beitragen können. Die Erkenntnisse sind von humanmedizinischer Relevanz. Patienten, die unter dem Dravet Syndrome leiden, entwickeln bereits ab einem Alter von fünf Monaten epileptische Anfälle, die durch einen Funktionsverlust in der Regulation der Erregbarkeit hemmender Neurone hervorgerufen wird. Ursächlich ist in mehr als der Hälfte der betroffenen Patienten eine Mutation im *Scn1a* Gen, das für den Spannungs-abhängigen Natriumkanal Na_v 1.1 kodiert [10]. Eine Misregulation der

Na_v 1.6 Aktivität wird ebenfalls mit der Entstehung von Epilepsien in Verbindung gebracht [13,85]. Interessanterweise konnte in hippocampalen Gewebeproben von therapieresistenten Epilepsie-Patienten eine verminderte Pum2 Expression nachgewiesen werden [148]. Die vorliegende Studie liefert wichtige Erkenntnisse zu den molekularen Ursachen einer gestörten Netzwerkaktivität, die für das Verständnis RBP-assoziiierter, genetisch bedingter Epilepsien von Bedeutung sind. Die Arbeit bietet damit neue Anhaltspunkte für die Entwicklung neuer Therapieansätze zur Behandlung genetisch bedingter Epilepsien.

Themenbezogene Publikationen:

Follwaczny P*, Schieweck R*, Riedemann T, Demleitner A, Straub T, Klemm AH, Bilban M, Sutor B, **Popper B***, Kiebler MA*. Pumilio2-deficient mice show a predisposition for epilepsy. Dis Model Mech. 2017 Nov 1;10(11):1333-1342. doi: 10.1242/dmm.029678. *Geteilte Autorenschaft

Schieweck R, Riedemann T, Forne I, Harner M, Bauer KE, Rieger D, Ang FY, Hutten S, Demleitner AF, **Popper B**, Derdak S, Sutor B, Bilban M, Imhof A, Kiebler MA. Pumilio2 and Staufen2 selectively balance the synaptic proteome. Cell Rep. 2021;35(12):109279. doi: 10.1016/j.celrep.2021.109279

IV. Zusammenfassung und Ausblick

Komplexe neurologische Erkrankungen, wie beispielweise Epilepsie oder Schizophrenie, lassen sich oftmals nicht durch ein einfaches Screening betroffener Patienten auf vorliegende Mutationen erklären. Ein Grund hierfür ist die fehlende Information zu relevanten Krankheitsgenen. Eine mögliche Verbindung ist die posttranskriptionelle Regulation, die lokal die Expression von Proteinen steuert und damit eine Brücke schlägt zwischen potentiellen Verursachergenen und deren Kontrollmechanismen. Bei zahlreichen Erkrankungen spielt unter anderem der durch bestimmte RBPs vermittelte, dendritische mRNA Transport und die nachfolgende Translation an der stimulierten Synapse eine große Rolle in der Entstehung und im Fortgang der weiteren Krankheitsprozesse, was sich in der wachsenden Zahl der mit RBP-assoziierten neurologischen Erkrankungen widerspiegelt [28,44,113,136]. Die in dieser Arbeit beschriebenen Befunde untermauern, dass die Synchronisation von mRNA Transport und synaptischer Translation essentiell ist für die synaptische Plastizität von Nervenzellen (Abbildung 11) [18]. Eine Dysfunktion hat dabei weitreichende zelluläre und neuropathologische Folgen, die zu einer gestörten neuronalen Homöostase führen [61].

Abbildung 11: Die lokale Regulation des Proteoms beeinflusst die synaptische Plastizität von Nervenzellen

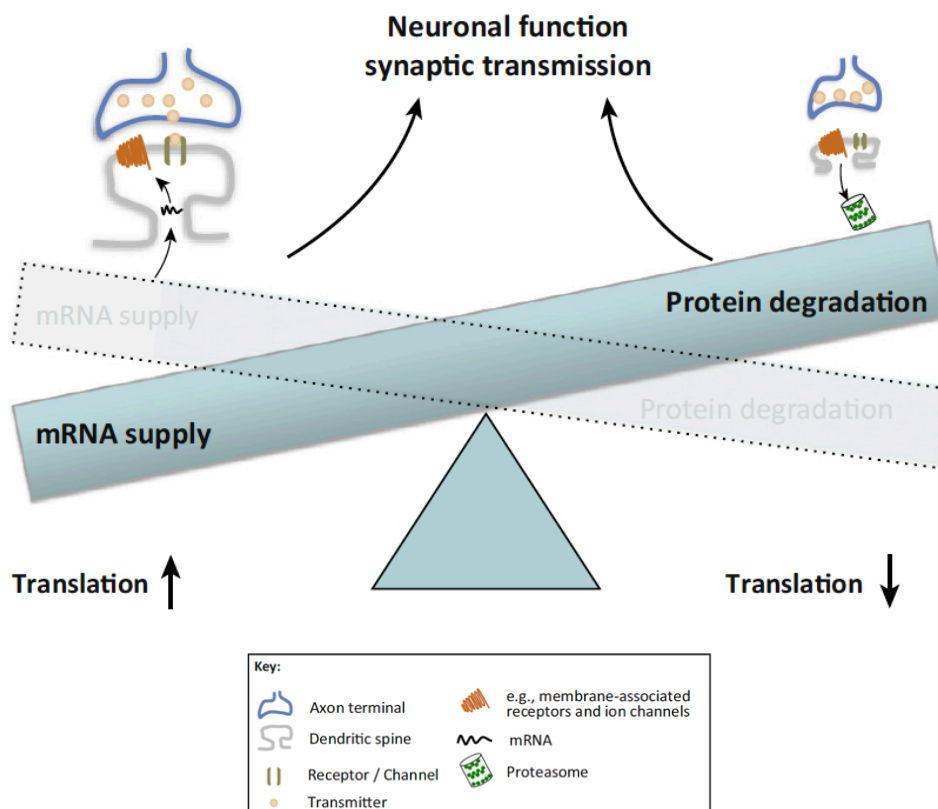


Abbildung aus Schieweck, Popper und Kiebler [114]

Körperliche Aktivität ist in den untersuchten Mausmodellen ein entscheidender Faktor bei der Veränderung des neuronalen Transkriptoms und Proteoms und folglich der neuronalen Erregbarkeit. Die Befunde betonen, welche wichtige Rolle körperlicher Aktivität bei der Prävention und Therapie neurodegenerativer sowie neuropsychiatrischer Erkrankungen spielen kann. Die in dieser Arbeit untersuchten Aspekte mit Einfluss auf die neuronale Plastizität bieten Anhaltspunkte für weiterführende Untersuchungen um beispielweise die zugrundeliegenden Mechanismen der adulten Neurogenese im Kontext neurologischer Erkrankungen zu verstehen. Die vorgestellten Mausmodelle eignen sich dabei in besonderer Weise für diese Analysen, bestehen doch für die hier untersuchten RNA-Bindeproteine Stau2 und Pum2 Zusammenhänge mit der Neubildung von Nervenzellen [71,155]. Darüber hinaus bieten die präsentierten Daten neue Anhaltspunkte für Untersuchungen die das Zusammenwirken von RBPs mit weiteren posttranskriptionellen Regulationsmechanismen zum Ziel haben. Besonders die Kinase *mechanistic target of rapamycin* (mTOR) und die *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) als übergeordnete Regulatoren der Translation in Säugerneuronen spielen eine zentrale Rolle bei der Regulation der synaptischen Plastizität und haben damit Einfluss auf die zelluläre Homöostase in neuronalen Netzwerken (Abbildung 12) [105].

Abbildung 12: Die Regulation lokalisierter Epilepsie-assoziiierter RNAs durch RBPs und die mTOR/MAPK-Signalkaskaden

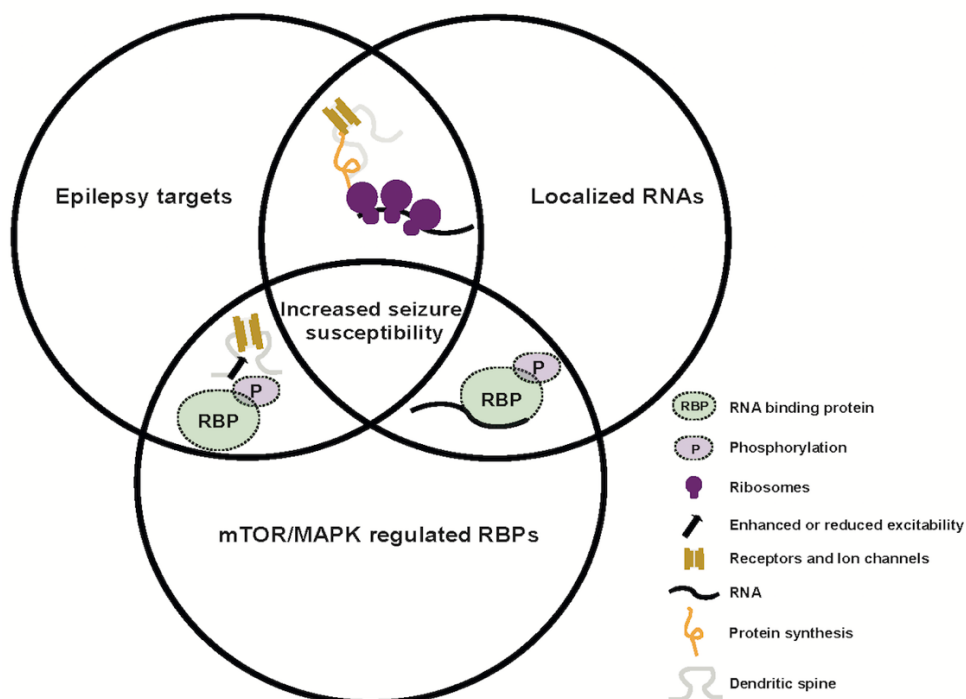


Abbildung aus Pernice, Schieweck, Kiebler und Popper [105]

Die Aktivierung des eukaryotischen Translationsinitiationsfaktors 4E (eIF4E) über die mTOR und MAPK Signalwege ist dabei ein sehr wichtiger Schritt bei der Initiation der Translation und damit der Proteinausstattung an der Synapse [14,59,105]. Erste Daten legen nahe, dass Pum2 über Bindung der eIF4E mRNA in der 3'-UTR die Regulation der mRNA direkt beeinflussen kann. Eine reduzierte Pum2 Expression in Neuronen führt zu einer verminderten Expression von eIF4E *in vitro*. Damit deutet vieles darauf hin, dass Pum2 direkt Einfluss auf die nachgeschalteten Signalkaskaden des mTOR und MAPK Signalwege nehmen kann [116]. In weiterführenden Forschungsarbeiten soll unter anderem ein Zusammenwirken der Kinasen und RBPs in Hinblick auf die Regulation der synaptischen Plastizität und der Entstehung epileptischer Anfälle im Tiermodell nachvollzogen werden.

Mit der vorgelegten kumulativen Habilitationsschrift strebe ich die Lehrbefähigung im Fach Zellbiologie an.

V. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Kiebler als Vorsitzenden des Fachmentorats für die engagierte fachliche Betreuung und Beratung der Habilitationsarbeit sowie für die Bereitstellung der großartigen Laborinfrastruktur.

Ich bedanke mich bei Frau Prof. Dr. Magdalena Götz und Herrn Prof. Martin Kerschensteiner, die bereitwillig meine Habilitation im Fachmentorat mitbetreuten, für ihre permanente Unterstützung und Förderung.

Herrn Dr. Rico Schieweck gilt mein Dank für die zahlreichen anregenden und motivierenden Gespräche und seine ausdauernde Hilfsbereitschaft in allen Aspekten des Laboralltags sowie darüber hinaus.

Ich bedanke mich zudem bei allen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe von Prof. Kiebler am Lehrstuhl für Zellbiologie im Biomedizinischen Centrum sowie den kooperierenden Arbeitsgruppen die an den Fachpublikationen mitgewirkt haben, für die sehr gute Zusammenarbeit und den wertvollen interdisziplinären Austausch.

Zuletzt gilt mein besonderer Dank meinen Eltern, meiner Frau und den zwei KLEINEN, die mich stets inspirieren, motivieren und ohne deren Unterstützung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

VI. Abkürzungsverzeichnis

CA	Cornu Ammonis
Calm3	Calmodulin3
CaMKII α	Calcium/Calmodulin-anhängige Proteinkinase II alpha
Cbln1	Cerebellin1
DG	<i>dentate gyrus</i>
GluD2	Glutamat-Rezeptur-Delta 2-Untereinheit
GluRD2	Glutamat-Rezeptur-Delta 2-Untereinheit
DCX	Doublecortin
GD	Gyrus dentatus
EC	entorhinale Rinde
ES	embryonale Stammzellen
FDR	<i>false discovery rate</i>
GABA	Gamma-Aminobuttersäure
GABRA2	GABA-Rezeptor A Untereinheit alpha2
GO	Gen-Ontologie
GT	Gene-Trap
Grid	Glutamat-Rezeptur-Untereinheit 2 (Gen)
H&E	Hämatoxylin und Eosin
eIF4E	eukaryotischer Translationsinitiationsfaktor 4E
K _v	spannungs-abhängige Kaliumkanäle
KEGG	Kyote Enzyklopädie für Gene und Genome
LacZ	Gen das für die β -Galactosidase kodiert
Pum2	Pumilio2
qRT-PCR	quantitative <i>real-time</i> Polymerase-Kettenreaktion
RBP	RNA-Bindeprotein
Rgs4	Regulator des G-Proteins-Signals 4
RhoA	Ras-Homolog Mitglied A
RNA	Ribonukleinsäure
RNP	Ribonucleoproteinpartikel
MAP2	Microtubuli-assoziiertes-Protein2
MAPK	MAP-Kinase (<i>mitogen-activated protein kinase</i>)
mRNA	<i>messenger</i> (Boten-)RNA
mTOR	<i>mechanistic target of rapamycin</i>
Nrxn	Neurexin
Na _v	spannungs-abhängige Natriumkanäle
SC	Subiculum
SGZ	Subgranuläre Zone
Stau2	Staufen2
StM	Stratum moleculare
StO	Stratum oriens
StP	Stratum pyramidale /Stratum purkinjense
StR	Stratum radiatum
StLM	Stratum lacunosum-moleculare
UTR	untranslatierte Region
vGLUT1	vesikulärer Glutamattransporter 1

VII. **Abbildungsverzeichnis**

- **Abbildung 1:** Strukturelle und funktionelle Plastizität von Nervenzellen..... Seite 4
- **Abbildung 2:** Dendritischer RNA-Transport und lokale Proteinsynthese an der aktivierten Synapse..... Seite 6
- **Abbildung 3:** Hippocampusformation und Faserverbindungen..... Seite 10
- **Abbildung 4:** Körperliche Aktivität beeinflusst das Proteom in der Hippocampusformation..... Seite 17
- **Abbildung 5:** Analyse der durch körperliche Aktivität stimulierten Signalwege..... Seite 18
- **Abbildung 6:** Nachweis der Staufen2 Expression in Gehirnen einer durch Gene-Trap-Mutagenese generierten Mauslinie..... Seite 22
- **Abbildung 7:** Ergebnisse der Barnes-Maze-Verhaltensexperimente in Staufen2-defizienten Mäusen..... Seite 25
- **Abbildung 8:** Die Parallelfaser-Purkinjezell-Verbindung und die Staufen2 Expression in der Kleinhirnrinde..... Seite 29
- **Abbildung 9:** Staufen2 beeinflusst die Parallelfaser-Purkinjezell Synaptogenese..... Seite 31
- **Abbildung 10:** Die verminderte Expression von Pumilio2 beeinflusst die dendritische Lokalisierung von Nav1.6 und GABRA2 im Hippocampus..... Seite 34
- **Abbildung 11:** Die lokale Regulation des Proteoms beeinflusst die synaptische Plastizität von Nervenzellen..... Seite 37
- **Abbildung 12:** Regulation lokalisierter Epilepsie-assoziiierter RNAs durch RBPs und die mTOR/MAPK-Signalkaskaden..... Seite 38

VIII. Literaturverzeichnis

1. Abraham, W.C.; Jones, O.D.; Glanzman, D.L. Is plasticity of synapses the mechanism of long-term memory storage? *NPJ Sci Learn* **2019**, *4*, 9, doi:10.1038/s41539-019-0048-y.
2. Aimone, J.B.; Li, Y.; Lee, S.W.; Clemenson, G.D.; Deng, W.; Gage, F.H. Regulation and function of adult neurogenesis: from genes to cognition. *Physiological reviews* **2014**, *94*, 991-1026, doi:10.1152/physrev.00004.2014.
3. Akers, K.G.; Martinez-Canabal, A.; Restivo, L.; Yiu, A.P.; De Cristofaro, A.; Hsiang, H.L.; Wheeler, A.L.; Guskjolen, A.; Niibori, Y.; Shoji, H., et al. Hippocampal neurogenesis regulates forgetting during adulthood and infancy. *Science* **2014**, *344*, 598-602, doi:10.1126/science.1248903.
4. Anacker, C.; Hen, R. Adult hippocampal neurogenesis and cognitive flexibility - linking memory and mood. *Nat Rev Neurosci* **2017**, *18*, 335-346, doi:10.1038/nrn.2017.45.
5. Antunes, M.; Biala, G. The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications. *Cogn Process* **2012**, *13*, 93-110, doi:10.1007/s10339-011-0430-z.
6. Apps, R.; Garwicz, M. Anatomical and physiological foundations of cerebellar information processing. *Nat Rev Neurosci* **2005**, *6*, 297-311, doi:10.1038/nrn1646.
7. Barker, G.R.; Warburton, E.C. When is the hippocampus involved in recognition memory? *J Neurosci* **2011**, *31*, 10721-10731, doi:10.1523/JNEUROSCI.6413-10.2011.
8. Barnes, C.A. Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *J Comp Physiol Psychol* **1979**, *93*, 74-104, doi:10.1037/h0077579.
9. Bauer, K.E.; Segura, I.; Gaspar, I.; Scheuss, V.; Illig, C.; Ammer, G.; Hutten, S.; Basyuk, E.; Fernandez-Moya, S.M.; Ehses, J., et al. Live cell imaging reveals 3'-UTR dependent mRNA sorting to synapses. *Nature communications* **2019**, *10*, 3178, doi:10.1038/s41467-019-11123-x.
10. Bender, A.C.; Morse, R.P.; Scott, R.C.; Holmes, G.L.; Lenck-Santini, P.P. SCN1A mutations in Dravet syndrome: impact of interneuron dysfunction on neural networks and cognitive outcome. *Epilepsy Behav* **2012**, *23*, 177-186, doi:10.1016/j.yebeh.2011.11.022.
11. Berger, S.M.; Fernandez-Lamo, I.; Schonig, K.; Fernandez Moya, S.M.; Ehses, J.; Schieweck, R.; Clementi, S.; Enkel, T.; Grothe, S.; von Bohlen Und Halbach, O., et al. Forebrain-specific, conditional silencing of *Staufen2* alters synaptic plasticity, learning, and memory in rats. *Genome Biol* **2017**, *18*, 222, doi:10.1186/s13059-017-1350-8.
12. Black, A.H.; Nadel, L.; O'Keefe, J. Hippocampal function in avoidance learning and punishment. *Psychol Bull* **1977**, *84*, 1107-1129.
13. Blanchard, M.G.; Willemsen, M.H.; Walker, J.B.; Dib-Hajj, S.D.; Waxman, S.G.; Jongmans, M.C.; Kleefstra, T.; van de Warrenburg, B.P.; Praamstra, P.; Nicolai, J., et al. De novo gain-of-function and loss-of-function mutations of *SCN8A* in patients with intellectual disabilities and epilepsy. *J Med Genet* **2015**, *52*, 330-337, doi:10.1136/jmedgenet-2014-102813.
14. Bramham, C.R.; Wells, D.G. Dendritic mRNA: transport, translation and function. *Nat Rev Neurosci* **2007**, *8*, 776-789, doi:10.1038/nrn2150.

15. Briz, V.; Zhu, G.; Wang, Y.; Liu, Y.; Avetisyan, M.; Bi, X.; Baudry, M. Activity-dependent rapid local RhoA synthesis is required for hippocampal synaptic plasticity. *J Neurosci* **2015**, *35*, 2269-2282, doi:10.1523/JNEUROSCI.2302-14.2015.
16. Broadbent, N.J.; Squire, L.R.; Clark, R.E. Spatial memory, recognition memory, and the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2004**, *101*, 14515-14520, doi:10.1073/pnas.0406344101.
17. Bryant, C.D.; Yazdani, N. RNA-binding proteins, neural development and the addictions. *Genes Brain Behav* **2016**, *15*, 169-186, doi:10.1111/gbb.12273.
18. Cajigas, I.J.; Will, T.; Schuman, E.M. Protein homeostasis and synaptic plasticity. *EMBO J* **2010**, *29*, 2746-2752, doi:10.1038/emboj.2010.173.
19. Camandola, S.; Mattson, M.P. Brain metabolism in health, aging, and neurodegeneration. *EMBO J* **2017**, *36*, 1474-1492, doi:10.15252/emboj.201695810.
20. Chen, D.Y.; Bambah-Mukku, D.; Pollonini, G.; Alberini, C.M. Glucocorticoid receptors recruit the CaMKIIalpha-BDNF-CREB pathways to mediate memory consolidation. *Nat Neurosci* **2012**, *15*, 1707-1714, doi:10.1038/nn.3266.
21. Chklovskii, D.B.; Mel, B.W.; Svoboda, K. Cortical rewiring and information storage. *Nature* **2004**, *431*, 782-788, doi:10.1038/nature03012.
22. Choleris, E.; Thomas, A.W.; Kavaliers, M.; Prato, F.S. A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field. *Neurosci Biobehav Rev* **2001**, *25*, 235-260, doi:10.1016/s0149-7634(01)00011-2.
23. Citri, A.; Malenka, R.C. Synaptic plasticity: multiple forms, functions, and mechanisms. *Neuropsychopharmacology* **2008**, *33*, 18-41, doi:10.1038/sj.npp.1301559.
24. Colgan, L.A.; Yasuda, R. Plasticity of dendritic spines: subcompartmentalization of signaling. *Annu Rev Physiol* **2014**, *76*, 365-385, doi:10.1146/annurev-physiol-021113-170400.
25. Coutelier, M.; Burglen, L.; Mundwiler, E.; Abada-Bendib, M.; Rodriguez, D.; Chantot-Bastarud, S.; Rougeot, C.; Cournelle, M.A.; Milh, M.; Toutain, A., et al. GRID2 mutations span from congenital to mild adult-onset cerebellar ataxia. *Neurology* **2015**, *84*, 1751-1759, doi:10.1212/WNL.0000000000001524.
26. Da Silva, J.S.; Medina, M.; Zuliani, C.; Di Nardo, A.; Witke, W.; Dotti, C.G. RhoA/ROCK regulation of neuritogenesis via profilin IIa-mediated control of actin stability. *The Journal of cell biology* **2003**, *162*, 1267-1279, doi:10.1083/jcb.200304021.
27. Dahm, R.; Kiebler, M. Cell biology: silenced RNA on the move. *Nature* **2005**, *438*, 432-435, doi:10.1038/438432a.
28. Dahm, R.; Macchi, P. Human pathologies associated with defective RNA transport and localization in the nervous system. *Biol Cell* **2007**, *99*, 649-661, doi:10.1042/BC20070045.
29. Deacon, R.M. Assessing nest building in mice. *Nat Protoc* **2006**, *1*, 1117-1119, doi:10.1038/nprot.2006.170.
30. Doyle, M.; Kiebler, M.A. Mechanisms of dendritic mRNA transport and its role in synaptic tagging. *EMBO J* **2011**, *30*, 3540-3552, doi:10.1038/emboj.2011.278.

31. Driscoll, H.E.; Muraro, N.I.; He, M.; Baines, R.A. Pumilio-2 regulates translation of Nav1.6 to mediate homeostasis of membrane excitability. *J Neurosci* **2013**, *33*, 9644-9654, doi:10.1523/JNEUROSCI.0921-13.2013.
32. Du, X.; Li, J.; Li, M.; Yang, X.; Qi, Z.; Xu, B.; Liu, W.; Xu, Z.; Deng, Y. Research progress on the role of type I vesicular glutamate transporter (VGLUT1) in nervous system diseases. *Cell Biosci* **2020**, *10*, 26, doi:10.1186/s13578-020-00393-4.
33. Dubnau, J.; Chiang, A.S.; Grady, L.; Barditch, J.; Gossweiler, S.; McNeil, J.; Smith, P.; Buldoc, F.; Scott, R.; Certa, U., et al. The staufen/pumilio pathway is involved in Drosophila long-term memory. *Curr Biol* **2003**, *13*, 286-296, doi:10.1016/s0960-9822(03)00064-2.
34. Duchaine, T.F.; Hemraj, I.; Furic, L.; Deitinghoff, A.; Kiebler, M.A.; DesGroseillers, L. Staufen2 isoforms localize to the somatodendritic domain of neurons and interact with different organelles. *J Cell Sci* **2002**, *115*, 3285-3295.
35. Ehninger, D.; Kempermann, G. Neurogenesis in the adult hippocampus. *Cell Tissue Res* **2008**, *331*, 243-250, doi:10.1007/s00441-007-0478-3.
36. Ellender, T.J.; Raimondo, J.V.; Irkle, A.; Lamsa, K.P.; Akerman, C.J. Excitatory effects of parvalbumin-expressing interneurons maintain hippocampal epileptiform activity via synchronous afterdischarges. *J Neurosci* **2014**, *34*, 15208-15222, doi:10.1523/JNEUROSCI.1747-14.2014.
37. Engert, F.; Bonhoeffer, T. Dendritic spine changes associated with hippocampal long-term synaptic plasticity. *Nature* **1999**, *399*, 66-70, doi:10.1038/19978.
38. Filali, M.; Lalonde, R. Age-related cognitive decline and nesting behavior in an APP^{swe}/PS1 bigenic model of Alzheimer's disease. *Brain Res* **2009**, *1292*, 93-99, doi:10.1016/j.brainres.2009.07.066.
39. Fiore, R.; Khudayberdiev, S.; Christensen, M.; Siegel, G.; Flavell, S.W.; Kim, T.K.; Greenberg, M.E.; Schratt, G. Mef2-mediated transcription of the miR379-410 cluster regulates activity-dependent dendritogenesis by fine-tuning Pumilio2 protein levels. *EMBO J* **2009**, *28*, 697-710, doi:10.1038/emboj.2009.10.
40. Follwaczny, P.; Schieweck, R.; Riedemann, T.; Demleitner, A.; Straub, T.; Klemm, A.H.; Bilban, M.; Sutor, B.; Popper, B.; Kiebler, M.A. Pumilio2-deficient mice show a predisposition for epilepsy. *Dis Model Mech* **2017**, *10*, 1333-1342, doi:10.1242/dmm.029678.
41. Frey, S.; Schieweck, R.; Forne, I.; Imhof, A.; Straub, T.; Popper, B.; Kiebler, M.A. Physical Activity Dynamically Regulates the Hippocampal Proteome along the Dorso-Ventral Axis. *Int J Mol Sci* **2020**, *21*, doi:10.3390/ijms21103501.
42. Friedel, R.H.; Soriano, P. Gene trap mutagenesis in the mouse. *Methods Enzymol* **2010**, *477*, 243-269, doi:10.1016/S0076-6879(10)77013-0.
43. Fritzsche, R.; Karra, D.; Bennett, K.L.; Ang, F.Y.; Heraud-Farlow, J.E.; Tolino, M.; Doyle, M.; Bauer, K.E.; Thomas, S.; Planyavsky, M., et al. Interactome of two diverse RNA granules links mRNA localization to translational repression in neurons. *Cell Rep* **2013**, *5*, 1749-1762, doi:10.1016/j.celrep.2013.11.023.
44. Gebauer, F.; Schwarzl, T.; Valcarcel, J.; Hentze, M.W. RNA-binding proteins in human genetic disease. *Nat Rev Genet* **2021**, *22*, 185-198, doi:10.1038/s41576-020-00302-y.

45. Gill, J.S.; Sillitoe, R.V. Functional Outcomes of Cerebellar Malformations. *Front Cell Neurosci* **2019**, *13*, 441, doi:10.3389/fncel.2019.00441.
46. Glickstein, M. Mossy-fibre sensory input to the cerebellum. *Prog Brain Res* **1997**, *114*, 251-259, doi:10.1016/s0079-6123(08)63368-3.
47. Goetze, B.; Tuebing, F.; Xie, Y.; Dorostkar, M.M.; Thomas, S.; Pehl, U.; Boehm, S.; Macchi, P.; Kiebler, M.A. The brain-specific double-stranded RNA-binding protein Staufen2 is required for dendritic spine morphogenesis. *The Journal of cell biology* **2006**, *172*, 221-231, doi:10.1083/jcb.200509035.
48. Heng, J.I.; Chariot, A.; Nguyen, L. Molecular layers underlying cytoskeletal remodelling during cortical development. *Trends Neurosci* **2010**, *33*, 38-47, doi:10.1016/j.tins.2009.09.003.
49. Heraud-Farlow, J.E.; Sharangdhar, T.; Li, X.; Pfeifer, P.; Tauber, S.; Orozco, D.; Hormann, A.; Thomas, S.; Bakosova, A.; Farlow, A.R., et al. Staufen2 regulates neuronal target RNAs. *Cell Rep* **2013**, *5*, 1511-1518, doi:10.1016/j.celrep.2013.11.039.
50. Hikosaka, O.; Nakamura, K.; Sakai, K.; Nakahara, H. Central mechanisms of motor skill learning. *Curr Opin Neurobiol* **2002**, *12*, 217-222, doi:10.1016/s0959-4388(02)00307-0.
51. Hirai, H.; Pang, Z.; Bao, D.; Miyazaki, T.; Li, L.; Miura, E.; Parris, J.; Rong, Y.; Watanabe, M.; Yuzaki, M., et al. Cbln1 is essential for synaptic integrity and plasticity in the cerebellum. *Nat Neurosci* **2005**, *8*, 1534-1541, doi:10.1038/nn1576.
52. Hirano, T. Glutamate-receptor-like molecule GluRdelta2 involved in synapse formation at parallel fiber-Purkinje neuron synapses. *Cerebellum* **2012**, *11*, 71-77, doi:10.1007/s12311-010-0170-0.
53. Ho, V.M.; Lee, J.A.; Martin, K.C. The cell biology of synaptic plasticity. *Science* **2011**, *334*, 623-628, doi:10.1126/science.1209236.
54. Hoefs, S.J.; Dieteren, C.E.; Distelmaier, F.; Janssen, R.J.; Epplen, A.; Swarts, H.G.; Forkink, M.; Rodenburg, R.J.; Nijtmans, L.G.; Willems, P.H., et al. NDUFA2 complex I mutation leads to Leigh disease. *Am J Hum Genet* **2008**, *82*, 1306-1315, doi:10.1016/j.ajhg.2008.05.007.
55. Holmes, M.M.; Galea, L.A.; Mistlberger, R.E.; Kempermann, G. Adult hippocampal neurogenesis and voluntary running activity: circadian and dose-dependent effects. *J Neurosci Res* **2004**, *76*, 216-222, doi:10.1002/jnr.20039.
56. Holt, C.E.; Martin, K.C.; Schuman, E.M. Local translation in neurons: visualization and function. *Nat Struct Mol Biol* **2019**, *26*, 557-566, doi:10.1038/s41594-019-0263-5.
57. Horgusluoglu, E.; Nudelman, K.; Nho, K.; Saykin, A.J. Adult neurogenesis and neurodegenerative diseases: A systems biology perspective. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* **2017**, *174*, 93-112, doi:10.1002/ajmg.b.32429.
58. Hutten, S.; Sharangdhar, T.; Kiebler, M. Unmasking the messenger. *RNA Biol* **2014**, *11*, 992-997, doi:10.4161/rna.32091.
59. Jackson, R.J.; Hellen, C.U.; Pestova, T.V. The mechanism of eukaryotic translation initiation and principles of its regulation. *Nat Rev Mol Cell Biol* **2010**, *11*, 113-127, doi:10.1038/nrm2838.
60. Jaffard, R.; Meunier, M. Role of the hippocampal formation in learning and memory. *Hippocampus* **1993**, *3 Spec No*, 203-217.

61. Jung, H.; Gkogkas, C.G.; Sonenberg, N.; Holt, C.E. Remote control of gene function by local translation. *Cell* **2014**, *157*, 26-40, doi:10.1016/j.cell.2014.03.005.
62. Kandel, E.R.; Dudai, Y.; Mayford, M.R. The molecular and systems biology of memory. *Cell* **2014**, *157*, 163-186, doi:10.1016/j.cell.2014.03.001.
63. Karlsson, R.M.; Tanaka, K.; Saksida, L.M.; Bussey, T.J.; Heilig, M.; Holmes, A. Assessment of glutamate transporter GLAST (EAAT1)-deficient mice for phenotypes relevant to the negative and executive/cognitive symptoms of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* **2009**, *34*, 1578-1589, doi:10.1038/npp.2008.215.
64. Kempermann, G.; Jessberger, S.; Steiner, B.; Kronenberg, G. Milestones of neuronal development in the adult hippocampus. *Trends Neurosci* **2004**, *27*, 447-452, doi:10.1016/j.tins.2004.05.013.
65. Kempermann, G.; Wiskott, L.; Gage, F.H. Functional significance of adult neurogenesis. *Curr Opin Neurobiol* **2004**, *14*, 186-191, doi:10.1016/j.conb.2004.03.001.
66. Kiebler, M.A.; Hemraj, I.; Verkade, P.; Kohrmann, M.; Fortes, P.; Marion, R.M.; Ortin, J.; Dotti, C.G. The mammalian staufer protein localizes to the somatodendritic domain of cultured hippocampal neurons: implications for its involvement in mRNA transport. *J Neurosci* **1999**, *19*, 288-297.
67. Klein ME; Monday H; BA., J. Proteostasis and RNA Binding Proteins in Synaptic Plasticity and in the Pathogenesis of Neuropsychiatric Disorders. *Neural Plast.* **2016**, *2016*.
68. Kohrmann, M.; Luo, M.; Kaether, C.; DesGroseillers, L.; Dotti, C.G.; Kiebler, M.A. Microtubule-dependent recruitment of Staufer-green fluorescent protein into large RNA-containing granules and subsequent dendritic transport in living hippocampal neurons. *Mol Biol Cell* **1999**, *10*, 2945-2953, doi:10.1091/mbc.10.9.2945.
69. Koley, S.; Rozenbaum, M.; Fainzilber, M.; Terenzio, M. Translating regeneration: Local protein synthesis in the neuronal injury response. *Neurosci Res* **2019**, *139*, 26-36, doi:10.1016/j.neures.2018.10.003.
70. Kurihara, H.; Hashimoto, K.; Kano, M.; Takayama, C.; Sakimura, K.; Mishina, M.; Inoue, Y.; Watanabe, M. Impaired parallel fiber-->Purkinje cell synapse stabilization during cerebellar development of mutant mice lacking the glutamate receptor delta2 subunit. *J Neurosci* **1997**, *17*, 9613-9623.
71. Kusek, G.; Campbell, M.; Doyle, F.; Tenenbaum, S.A.; Kiebler, M.; Temple, S. Asymmetric segregation of the double-stranded RNA binding protein Staufer2 during mammalian neural stem cell divisions promotes lineage progression. *Cell Stem Cell* **2012**, *11*, 505-516, doi:10.1016/j.stem.2012.06.006.
72. Lang, E.J.; Sugihara, I.; Llinas, R. Olivocerebellar modulation of motor cortex ability to generate vibrissal movements in rat. *The Journal of physiology* **2006**, *571*, 101-120, doi:10.1113/jphysiol.2005.102764.
73. Lebeau, G.; DesGroseillers, L.; Sossin, W.; Lacaille, J.C. mRNA binding protein staufer 1-dependent regulation of pyramidal cell spine morphology via NMDA receptor-mediated synaptic plasticity. *Mol Brain* **2011**, *4*, 22, doi:10.1186/1756-6606-4-22.

74. Lebeau, G.; Miller, L.C.; Tartas, M.; McAdam, R.; Laplante, I.; Badeaux, F.; DesGroseillers, L.; Sossin, W.S.; Lacaille, J.C. Staufen 2 regulates mGluR long-term depression and Map1b mRNA distribution in hippocampal neurons. *Learn Mem* **2011**, *18*, 314-326, doi:10.1101/lm.2100611.
75. Lee, S.J.; Uemura, T.; Yoshida, T.; Mishina, M. GluRdelta2 assembles four neurexins into trans-synaptic triad to trigger synapse formation. *J Neurosci* **2012**, *32*, 4688-4701, doi:10.1523/JNEUROSCI.5584-11.2012.
76. Lei, X.; Wu, Y.; Xu, M.; Jones, O.D.; Ma, J.; Xu, X. Physical exercise: bulking up neurogenesis in human adults. *Cell Biosci* **2019**, *9*, 74, doi:10.1186/s13578-019-0337-4.
77. Lerner, T.N.; Kreitzer, A.C. RGS4 is required for dopaminergic control of striatal LTD and susceptibility to parkinsonian motor deficits. *Neuron* **2012**, *73*, 347-359, doi:10.1016/j.neuron.2011.11.015.
78. Levinson, J.N.; El-Husseini, A. Building excitatory and inhibitory synapses: balancing neuroligin partnerships. *Neuron* **2005**, *48*, 171-174, doi:10.1016/j.neuron.2005.09.017.
79. Lin, T.W.; Tsai, S.F.; Kuo, Y.M. Physical Exercise Enhances Neuroplasticity and Delays Alzheimer's Disease. *Brain Plast* **2018**, *4*, 95-110, doi:10.3233/BPL-180073.
80. Lindeman, S.; Hong, S.; Kros, L.; Mejias, J.F.; Romano, V.; Oostenveld, R.; Negrello, M.; Bosman, L.W.J.; De Zeeuw, C.I. Cerebellar Purkinje cells can differentially modulate coherence between sensory and motor cortex depending on region and behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2021**, *118*, doi:10.1073/pnas.2015292118.
81. Lothmann, K.; Deitersen, J.; Zilles, K.; Amunts, K.; Herold, C. New boundaries and dissociation of the mouse hippocampus along the dorsal-ventral axis based on glutamatergic, GABAergic and catecholaminergic receptor densities. *Hippocampus* **2021**, *31*, 56-78, doi:10.1002/hipo.23262.
82. Mahmoud, R.; Wainwright, S.R.; Galea, L.A. Sex hormones and adult hippocampal neurogenesis: Regulation, implications, and potential mechanisms. *Front Neuroendocrinol* **2016**, *41*, 129-152, doi:10.1016/j.yfrne.2016.03.002.
83. Mallardo, M.; Deitinghoff, A.; Muller, J.; Goetze, B.; Macchi, P.; Peters, C.; Kiebler, M.A. Isolation and characterization of Staufen-containing ribonucleoprotein particles from rat brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2003**, *100*, 2100-2105, doi:10.1073/pnas.0334355100.
84. Martin, K.C.; Kosik, K.S. Synaptic tagging -- who's it? *Nat Rev Neurosci* **2002**, *3*, 813-820, doi:10.1038/nrn942.
85. Martin, M.S.; Tang, B.; Papale, L.A.; Yu, F.H.; Catterall, W.A.; Escayg, A. The voltage-gated sodium channel Scn8a is a genetic modifier of severe myoclonic epilepsy of infancy. *Hum Mol Genet* **2007**, *16*, 2892-2899, doi:10.1093/hmg/ddm248.
86. Martinez, J.C.; Randolph, L.K.; Iascone, D.M.; Pernice, H.F.; Polleux, F.; Hengst, U. Pum2 Shapes the Transcriptome in Developing Axons through Retention of Target mRNAs in the Cell Body. *Neuron* **2019**, *104*, 931-946 e935, doi:10.1016/j.neuron.2019.08.035.
87. Matsuda, K.; Miura, E.; Miyazaki, T.; Kakegawa, W.; Emi, K.; Narumi, S.; Fukazawa, Y.; Ito-Ishida, A.; Kondo, T.; Shigemoto, R., et al. Cbln1 is a ligand for an orphan glutamate receptor delta2, a bidirectional synapse organizer. *Science* **2010**, *328*, 363-368, doi:10.1126/science.1185152.

88. Mee, C.J.; Pym, E.C.; Moffat, K.G.; Baines, R.A. Regulation of neuronal excitability through pumilio-dependent control of a sodium channel gene. *J Neurosci* **2004**, *24*, 8695-8703, doi:10.1523/JNEUROSCI.2282-04.2004.
89. Menon, K.P.; Sanyal, S.; Habara, Y.; Sanchez, R.; Wharton, R.P.; Ramaswami, M.; Zinn, K. The translational repressor Pumilio regulates presynaptic morphology and controls postsynaptic accumulation of translation factor eIF-4E. *Neuron* **2004**, *44*, 663-676, doi:10.1016/j.neuron.2004.10.028.
90. Mishina, M.; Uemura, T.; Yasumura, M.; Yoshida, T. Molecular mechanism of parallel fiber-Purkinje cell synapse formation. *Front Neural Circuits* **2012**, *6*, 90, doi:10.3389/fncir.2012.00090.
91. Miyoshi, Y.; Yoshioka, Y.; Suzuki, K.; Miyazaki, T.; Koura, M.; Saigoh, K.; Kajimura, N.; Monobe, Y.; Kusunoki, S.; Matsuda, J., et al. A new mouse allele of glutamate receptor delta 2 with cerebellar atrophy and progressive ataxia. *PLoS one* **2014**, *9*, e107867, doi:10.1371/journal.pone.0107867.
92. Mofatteh, M. mRNA localization and local translation in neurons. *AIMS Neurosci* **2020**, *7*, 299-310, doi:10.3934/Neuroscience.2020016.
93. Moon, H.Y.; Javadi, S.; Stremlau, M.; Yoon, K.J.; Becker, B.; Kang, S.U.; Zhao, X.; van Praag, H. Conditioned media from AICAR-treated skeletal muscle cells increases neuronal differentiation of adult neural progenitor cells. *Neuropharmacology* **2019**, *145*, 123-130, doi:10.1016/j.neuropharm.2018.10.041.
94. Morris, R.G.; Inglis, J.; Ainge, J.A.; Olverman, H.J.; Tulloch, J.; Dudai, Y.; Kelly, P.A. Memory reconsolidation: sensitivity of spatial memory to inhibition of protein synthesis in dorsal hippocampus during encoding and retrieval. *Neuron* **2006**, *50*, 479-489, doi:10.1016/j.neuron.2006.04.012.
95. Moser, M.B.; Moser, E.I. Functional differentiation in the hippocampus. *Hippocampus* **1998**, *8*, 608-619, doi:10.1002/(SICI)1098-1063(1998)8:6<608::AID-HIPO3>3.0.CO;2-7.
96. Moy, S.S.; Nadler, J.J.; Perez, A.; Barbaro, R.P.; Johns, J.M.; Magnuson, T.R.; Piven, J.; Crawley, J.N. Sociability and preference for social novelty in five inbred strains: an approach to assess autistic-like behavior in mice. *Genes Brain Behav* **2004**, *3*, 287-302, doi:10.1111/j.1601-1848.2004.00076.x.
97. Nag, T.C.; Wadhwa, S. Calbindin immunoreactivity in the developing and adult human cerebellum. *J Chem Neuroanat* **1999**, *17*, 1-12, doi:10.1016/s0891-0618(99)00016-2.
98. Neves, G.; Cooke, S.F.; Bliss, T.V. Synaptic plasticity, memory and the hippocampus: a neural network approach to causality. *Nat Rev Neurosci* **2008**, *9*, 65-75, doi:10.1038/nrn2303.
99. O'Kane, E.M.; Stone, T.W.; Morris, B.J. Activation of Rho GTPases by synaptic transmission in the hippocampus. *J Neurochem* **2003**, *87*, 1309-1312, doi:10.1046/j.1471-4159.2003.02102.x.
100. Okun, M.; Lampl, I. Instantaneous correlation of excitation and inhibition during ongoing and sensory-evoked activities. *Nat Neurosci* **2008**, *11*, 535-537, doi:10.1038/nn.2105.
101. Ortiz, R.; Georgieva, M.V.; Gutierrez, S.; Pedraza, N.; Fernandez-Moya, S.M.; Gallego, C. Recruitment of Staufen2 Enhances Dendritic Localization of an Intron-Containing CaMKIIalpha mRNA. *Cell Rep* **2017**, *20*, 13-20, doi:10.1016/j.celrep.2017.06.026.

102. Papez, J.W. A proposed mechanism of emotion. 1937. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* **1995**, *7*, 103-112, doi:10.1176/jnp.7.1.103.
103. Pereda, A.E. Electrical synapses and their functional interactions with chemical synapses. *Nat Rev Neurosci* **2014**, *15*, 250-263, doi:10.1038/nrn3708.
104. Pernice, H.F.; Schieweck, R.; Jafari, M.; Straub, T.; Bilban, M.; Kiebler, M.A.; Popper, B. Altered Glutamate Receptor Ionotropic Delta Subunit 2 Expression in Stau2-Deficient Cerebellar Purkinje Cells in the Adult Brain. *Int J Mol Sci* **2019**, *20*, doi:10.3390/ijms20071797.
105. Pernice, H.F.; Schieweck, R.; Kiebler, M.A.; Popper, B. mTOR and MAPK: from localized translation control to epilepsy. *BMC neuroscience* **2016**, *17*, 73, doi:10.1186/s12868-016-0308-1.
106. Phillips, C.; Baktir, M.A.; Srivatsan, M.; Salehi, A. Neuroprotective effects of physical activity on the brain: a closer look at trophic factor signaling. *Front Cell Neurosci* **2014**, *8*, 170, doi:10.3389/fncel.2014.00170.
107. Popper, B.; Demleitner, A.; Bolivar, V.J.; Kusek, G.; Snyder-Keller, A.; Schieweck, R.; Temple, S.; Kiebler, M.A. Stauf2 deficiency leads to impaired response to novelty in mice. *Neurobiol Learn Mem* **2018**, *150*, 107-115, doi:10.1016/j.nlm.2018.02.027.
108. Pujol, N.; Penades, R.; Junque, C.; Dinov, I.; Fu, C.H.; Catalan, R.; Ibarretxe-Bilbao, N.; Bargallo, N.; Bernardo, M.; Toga, A., et al. Hippocampal abnormalities and age in chronic schizophrenia: morphometric study across the adult lifespan. *Br J Psychiatry* **2014**, *205*, 369-375, doi:10.1192/bjp.bp.113.140384.
109. Rein, B.; Ma, K.; Yan, Z. A standardized social preference protocol for measuring social deficits in mouse models of autism. *Nat Protoc* **2020**, *15*, 3464-3477, doi:10.1038/s41596-020-0382-9.
110. Sarauli, D.; Costanzi, M.; Mastroianni, V.; Farioli-Vecchioli, S. The Long Run: Neuroprotective Effects of Physical Exercise on Adult Neurogenesis from Youth to Old Age. *Curr Neuropharmacol* **2017**, *15*, 519-533, doi:10.2174/1570159X14666160412150223.
111. Scheuss, V.; Bonhoeffer, T. Function of dendritic spines on hippocampal inhibitory neurons. *Cerebral cortex* **2014**, *24*, 3142-3153, doi:10.1093/cercor/bht171.
112. Schieweck, R.; Kiebler, M.A. Posttranscriptional Gene Regulation of the GABA Receptor to Control Neuronal Inhibition. *Front Mol Neurosci* **2019**, *12*, 152, doi:10.3389/fnmol.2019.00152.
113. Schieweck, R.; Ninkovic, J.; Kiebler, M.A. RNA-binding proteins balance brain function in health and disease. *Physiological reviews* **2020**, *10.1152/physrev.00047.2019*, doi:10.1152/physrev.00047.2019.
114. Schieweck, R.; Popper, B.; Kiebler, M.A. Co-Translational Folding: A Novel Modulator of Local Protein Expression in Mammalian Neurons? *Trends in genetics : TIG* **2016**, *32*, 788-800, doi:10.1016/j.tig.2016.10.004.
115. Schieweck, R.; Riedemann, T.; Forne, I.; Harner, M.; Bauer, K.E.; Rieger, D.; Ang, F.Y.; Hutten, S.; Demleitner, A.F.; Popper, B., et al. Pumilio2 and Stauf2 selectively balance the synaptic proteome. *Cell Rep* **2021**, *35*, 109279, doi:10.1016/j.celrep.2021.109279.

116. Schieweck, R.; Schoneweiss, E.C.; Harner, M.; Rieger, D.; Illig, C.; Sacca, B.; Popper, B.; Kiebler, M.A. Pumilio2 Promotes Growth of Mature Neurons. *Int J Mol Sci* **2021**, *22*, doi:10.3390/ijms22168998.
117. Schmahmann, J.D. Disorders of the cerebellum: ataxia, dysmetria of thought, and the cerebellar cognitive affective syndrome. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* **2004**, *16*, 367-378, doi:10.1176/jnp.16.3.367.
118. Schröder H.; Moser N.; S., H. The Mouse Cerebellum. In *Neuroanatomy of the Mouse*, Springer, Cham.: 2020; pp. 153-170.
119. Schröder H.; Moser N.; S., H. *The Mouse Hippocampus*; Springer, Cham: 2020; 10.1007/978-3-030-19898-5_11.
120. Schultz C; M., E. Anatomy of the hippocampal formation. *Front Neurol Neurosci*. **2014**, *2014*, 6-17.
121. Schummers, J.; Marino, J.; Sur, M. Synaptic integration by V1 neurons depends on location within the orientation map. *Neuron* **2002**, *36*, 969-978, doi:10.1016/s0896-6273(02)01012-7.
122. Schweers, B.A.; Walters, K.J.; Stern, M. The *Drosophila melanogaster* translational repressor pumilio regulates neuronal excitability. *Genetics* **2002**, *161*, 1177-1185.
123. Sharangdhar, T.; Sugimoto, Y.; Heraud-Farlow, J.; Fernandez-Moya, S.M.; Ehses, J.; Ruiz de Los Mozos, I.; Ule, J.; Kiebler, M.A. A retained intron in the 3'-UTR of *Calm3* mRNA mediates its Staufen2- and activity-dependent localization to neuronal dendrites. *EMBO Rep* **2017**, *18*, 1762-1774, doi:10.15252/embr.201744334.
124. Shepherd, J.K.; Grewal, S.S.; Fletcher, A.; Bill, D.J.; Dourish, C.T. Behavioural and pharmacological characterisation of the elevated "zero-maze" as an animal model of anxiety. *Psychopharmacology (Berl)* **1994**, *116*, 56-64, doi:10.1007/BF02244871.
125. Shiotsuki, H.; Yoshimi, K.; Shimo, Y.; Funayama, M.; Takamatsu, Y.; Ikeda, K.; Takahashi, R.; Kitazawa, S.; Hattori, N. A rotarod test for evaluation of motor skill learning. *J Neurosci Methods* **2010**, *189*, 180-185, doi:10.1016/j.jneumeth.2010.03.026.
126. Siemen, H.; Colas, D.; Heller, H.C.; Brustle, O.; Pera, R.A. Pumilio-2 function in the mouse nervous system. *PloS one* **2011**, *6*, e25932, doi:10.1371/journal.pone.0025932.
127. Squire, L.R. Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychol Rev* **1992**, *99*, 195-231, doi:10.1037/0033-295x.99.2.195.
128. Staley, K. Molecular mechanisms of epilepsy. *Nat Neurosci* **2015**, *18*, 367-372, doi:10.1038/nn.3947.
129. Staley, K.J.; Soldo, B.L.; Proctor, W.R. Ionic mechanisms of neuronal excitation by inhibitory GABAA receptors. *Science* **1995**, *269*, 977-981, doi:10.1126/science.7638623.
130. Stone, S.S.; Teixeira, C.M.; Devito, L.M.; Zaslavsky, K.; Josselyn, S.A.; Lozano, A.M.; Frankland, P.W. Stimulation of entorhinal cortex promotes adult neurogenesis and facilitates spatial memory. *J Neurosci* **2011**, *31*, 13469-13484, doi:10.1523/JNEUROSCI.3100-11.2011.
131. Sutton, M.A.; Schuman, E.M. Dendritic protein synthesis, synaptic plasticity, and memory. *Cell* **2006**, *127*, 49-58, doi:10.1016/j.cell.2006.09.014.

132. Takeuchi, T.; Miyazaki, T.; Watanabe, M.; Mori, H.; Sakimura, K.; Mishina, M. Control of synaptic connection by glutamate receptor delta2 in the adult cerebellum. *J Neurosci* **2005**, *25*, 2146-2156, doi:10.1523/JNEUROSCI.4740-04.2005.
133. Tang, S.J.; Meulemans, D.; Vazquez, L.; Colaco, N.; Schuman, E. A role for a rat homolog of stauferin in the transport of RNA to neuronal dendrites. *Neuron* **2001**, *32*, 463-475, doi:10.1016/s0896-6273(01)00493-7.
134. Taub, A.H.; Katz, Y.; Lampl, I. Cortical balance of excitation and inhibition is regulated by the rate of synaptic activity. *J Neurosci* **2013**, *33*, 14359-14368, doi:10.1523/JNEUROSCI.1748-13.2013.
135. Toda, T.; Parylak, S.L.; Linker, S.B.; Gage, F.H. The role of adult hippocampal neurogenesis in brain health and disease. *Mol Psychiatry* **2019**, *24*, 67-87, doi:10.1038/s41380-018-0036-2.
136. Tolino, M.; Kohrmann, M.; Kiebler, M.A. RNA-binding proteins involved in RNA localization and their implications in neuronal diseases. *Eur J Neurosci* **2012**, *35*, 1818-1836, doi:10.1111/j.1460-9568.2012.08160.x.
137. van Praag, H.; Christie, B.R.; Sejnowski, T.J.; Gage, F.H. Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1999**, *96*, 13427-13431, doi:10.1073/pnas.96.23.13427.
138. Vessey, J.P.; Amadei, G.; Burns, S.E.; Kiebler, M.A.; Kaplan, D.R.; Miller, F.D. An asymmetrically localized Stauferin2-dependent RNA complex regulates maintenance of mammalian neural stem cells. *Cell Stem Cell* **2012**, *11*, 517-528, doi:10.1016/j.stem.2012.06.010.
139. Vessey, J.P.; Schoderboeck, L.; Gingl, E.; Luzi, E.; Riefler, J.; Di Leva, F.; Karra, D.; Thomas, S.; Kiebler, M.A.; Macchi, P. Mammalian Pumilio 2 regulates dendrite morphogenesis and synaptic function. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2010**, *107*, 3222-3227, doi:10.1073/pnas.0907128107.
140. Vessey, J.P.; Vaccani, A.; Xie, Y.; Dahm, R.; Karra, D.; Kiebler, M.A.; Macchi, P. Dendritic localization of the translational repressor Pumilio 2 and its contribution to dendritic stress granules. *J Neurosci* **2006**, *26*, 6496-6508, doi:10.1523/JNEUROSCI.0649-06.2006.
141. Vitaliti, G.; Pavone, P.; Marino, S.; Saporito, M.A.N.; Corsello, G.; Falsaperla, R. Molecular Mechanism Involved in the Pathogenesis of Early-Onset Epileptic Encephalopathy. *Front Mol Neurosci* **2019**, *12*, 118, doi:10.3389/fnmol.2019.00118.
142. von Bohlen und Halbach, O. Immunohistological markers for proliferative events, gliogenesis, and neurogenesis within the adult hippocampus. *Cell Tissue Res* **2011**, *345*, 1-19, doi:10.1007/s00441-011-1196-4.
143. Walsh, R.N.; Cummins, R.A. The Open-Field Test: a critical review. *Psychol Bull* **1976**, *83*, 482-504.
144. Weyn-Vanhentenryck, S.M.; Feng, H.; Ustianenko, D.; Duffie, R.; Yan, Q.; Jacko, M.; Martinez, J.C.; Goodwin, M.; Zhang, X.; Hengst, U., et al. Precise temporal regulation of alternative splicing during neural development. *Nature communications* **2018**, *9*, 2189, doi:10.1038/s41467-018-04559-0.

145. White, E.K.; Moore-Jarrett, T.; Ruley, H.E. PUM2, a novel murine puf protein, and its consensus RNA-binding site. *RNA* **2001**, *7*, 1855-1866.
146. Wondolowski, J.; Dickman, D. Emerging links between homeostatic synaptic plasticity and neurological disease. *Front Cell Neurosci* **2013**, *7*, 223, doi:10.3389/fncel.2013.00223.
147. Wu, K.Y.; Hengst, U.; Cox, L.J.; Macosko, E.Z.; Jeromin, A.; Urquhart, E.R.; Jaffrey, S.R. Local translation of RhoA regulates growth cone collapse. *Nature* **2005**, *436*, 1020-1024, doi:10.1038/nature03885.
148. Wu, X.L.; Huang, H.; Huang, Y.Y.; Yuan, J.X.; Zhou, X.; Chen, Y.M. Reduced Pumilio-2 expression in patients with temporal lobe epilepsy and in the lithium-pilocarpine induced epilepsy rat model. *Epilepsy Behav* **2015**, *50*, 31-39, doi:10.1016/j.yebeh.2015.05.017.
149. Xu, E.Y.; Chang, R.; Salmon, N.A.; Reijo Pera, R.A. A gene trap mutation of a murine homolog of the Drosophila stem cell factor Pumilio results in smaller testes but does not affect litter size or fertility. *Mol Reprod Dev* **2007**, *74*, 912-921, doi:10.1002/mrd.20687.
150. Yau, S.Y.; Gil-Mohapel, J.; Christie, B.R.; So, K.F. Physical exercise-induced adult neurogenesis: a good strategy to prevent cognitive decline in neurodegenerative diseases? *Biomed Res Int* **2014**, *2014*, 403120, doi:10.1155/2014/403120.
151. Ye, B.; Petritsch, C.; Clark, I.E.; Gavis, E.R.; Jan, L.Y.; Jan, Y.N. Nanos and Pumilio are essential for dendrite morphogenesis in Drosophila peripheral neurons. *Curr Biol* **2004**, *14*, 314-321, doi:10.1016/j.cub.2004.01.052.
152. Ye, H.; Rouault, T.A. Human iron-sulfur cluster assembly, cellular iron homeostasis, and disease. *Biochemistry* **2010**, *49*, 4945-4956, doi:10.1021/bi1004798.
153. Yeckel, M.F.; Berger, T.W. Feedforward excitation of the hippocampus by afferents from the entorhinal cortex: redefinition of the role of the trisynaptic pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1990**, *87*, 5832-5836, doi:10.1073/pnas.87.15.5832.
154. Yuste, R. Dendritic spines and distributed circuits. *Neuron* **2011**, *71*, 772-781, doi:10.1016/j.neuron.2011.07.024.
155. Zhang, M.; Chen, D.; Xia, J.; Han, W.; Cui, X.; Neuenkirchen, N.; Hermes, G.; Sestan, N.; Lin, H. Post-transcriptional regulation of mouse neurogenesis by Pumilio proteins. *Genes Dev* **2017**, *31*, 1354-1369, doi:10.1101/gad.298752.117.

IX. Curriculum vitae

Der Lebenslauf wurde aus datenschutzrechtlichen Gründen entfernt

X. Verzeichnis der wissenschaftlichen Veröffentlichungen

X.1 Originalarbeiten als Erst-Autor

1. Stau2 deficiency leads to impaired response to novelty in mice
Bastian Popper*, Antonia Demleitner*, Valerie Bolivar, Gretchen Kusek, Rico Schieweck, Sally Temple, Michael Kiebler
Neurobiol Learn Mem. 2018 Apr;150:107–115. **IF 3.010 (2018)**

* geteilte Autorenschaft

2. Neonatal obstructive nephropathy induces necroptosis and necroinflammation.
Bastian Popper*, Marian Theodor Rammer*, Mojca Gasparitsch, Teresa Singer, Ursula Keller, Yvonne Döring and Bärbel Lange-Sperandio
Sci Rep. 2019 Dec9;9(1):18600. **IF 3.997 (2019)**

* geteilte Autorenschaft

X.2 Originalarbeiten als Senior-Autor

1. Altered Glutamate Receptor Ionotropic Delta Subunit 2 expression in Stau2 deficient cerebellar Purkinje cells in the adult brain.
Helena F. Pernice, Rico Schieweck, Mehrnoosh Jafari, Tobias Straub, Martin Bilban, Michael A. Kiebler, **Bastian Popper**
Int J Mol Sci. 2019 Apr11;20(7):1797. **IF 4.556 (2019)**

2. Physical activity dynamically regulates the hippocampal proteome along the dorso-ventral axis.
Surina Frey, Rico Schieweck, Ignasi Forne, Axel Imhof, Tobias Straub, **Bastian Popper*** and Michael A. Kiebler*
Int J Mol Sci. 2020 May15;21(10):E3501. **IF 5.923 (2020)**

* geteilte Autorenschaft

3. Influence of strain and diet on urinary pH in laboratory mice
Linda F. Böswald, Dana Matzek, Ellen Kienzle and **Bastian Popper**
Animals. 2021;11(3):702. **IF 2.752 (2020)**

4. Evaluation of a configurable, mobile and modular floor pen for group-housing of laboratory rabbits
Dana Matzek, Hanna-Mari Baldauf, Rico Schieweck, **Bastian Popper**
Animals. 2021;11(4):977. **IF 2.752 (2020)**

X.3 Originalarbeiten als Korrespondierender Autor

1. Pumilio2 deficient mice show a predisposition for epilepsy
Philipp Follwaczny*, Rico Schieweck*, Therese Riedemann, Antonia Demleitner, Tobias Straub, Anna H Klemm, Martin Bilban, Bernd Sutor, **Bastian Popper***, and Michael A Kiebler*
Dis Model Mech. 2017 Nov1; 10(11):1333-1342. **IF 4.821 (2017)**

* geteilte Autorenschaft

2. Pumilio2 promotes growth of mature neurons
Schieweck R, Schöneweiss E-S, Harner M, Rieger D, Illig C, Sacca, B, **Popper B**, Kiebler MA.
Int J Mol Sci. 2021, 22(16),8998. **IF 5.923 (2020)**

X.4 Originalarbeiten als Ko-Autor sortiert nach Erscheinungsjahr

2021

1. Repetitive injury and absence of monocytes promote astrocyte self-renewal and neurological recovery
Luisa Canhos, Muxin Chen, Sven Falk, **Bastian Popper**, Tobias Straub, Magdalena Götz, Svetlana Sirko
Glia. 2021 Jan;69(1):165-181. **IF 7.452 (2020)**
2. Helicobacter hepaticus is required for immune targeting of bacterial heat shock protein 60 and fatal colitis in mice
Verena Friedrich, Ignasi Forne, Dana Matzek, Diana Ring, **Bastian Popper**, Lara Jochum, Stefanie Spriewald, Tobias Straub, Axel Imhof, Anne Krug, Bärbel Stecher, Thomas Brocker
Gut Microbes. 2021 Jan-Dec;13(1):1-20. **IF 10.245 (2020)**
3. Efficient thermal inactivation of carcasses of mice and rabbits infected with pathogens of risk groups two to four.
Hanna-Mari Baldauf, Siegfried Weingartner, Katharina Hofmann, Gerda Mitteregger-Kretzschmar, **Bastian Popper**, Martin P. Bönisch and Oliver T. Keppler
J Am Assoc Lab Anim Sci. 2021 May 25. **IF 1.235 (2019)**
4. Type I interferon mediated induction of somatostatin leads to suppression of ghrelin and appetite thereby promoting viral immunity in mice
Susanne Stutte, Janina Ruf, Ina Kugler, Hellen Ishikawa-Ankerhold, Andreas Parzefall, Peggy Marconi, Takahiro Maeda, Tsuneyasu Kaisho, Anne Krug, **Bastian Popper**, Henning Lauterbach, Marco Colonna, Ulrich von Andrian and Thomas Brocker
Brain Behav. Immun. 2021 Apr. 22:S0889-1591(21)00176-8 **IF: 7.217 (2020)**
5. Pumilio2 and Staufen2 selectively balance the synaptic proteome
Rico Schieweck, Therese Riedemann, Ignasi Forne, Max Harner, Karl E Bauer, Daniela Rieger, Foong yee Ang, Saskia Hutten, Antonia F Demleitner, **Bastian Popper**, Sophia Derdak, Bernd Sutor, Martin Bilban, Axel Imhof, Michael A Kiebler
Cell Rep. 2021;35(12):109279. **IF 9.423 (2020)**
6. Testicular adenosine acts as a pro-inflammatory molecule: role of testicular peritubular cells
Annika Missel, Lena Walenta, Katja Eubler, Nadine Mundt, Hanna Heikelä, Ulrich Pickl, Matthias Trottmann, **Bastian Popper**, Matti Poutanen, Leena Strauss, Frank-Michael Köhn, Lars Kunz, Marc Spehr, Artur Mayerhofer
Mol Hum Reprod. 2021 May 16; gaab037 **IF 3.636 (2020)**

2020

1. Evidence that TNF- β suppresses osteoblast differentiation of mesenchymal stem cells and resveratrol reverses it through modulation of NF- κ B, Sirt-1 and Runx2.
Buhrmann C, **Popper B**, Aggarwal BB, Shakibaei M
Cell Tissue Res. 2020 Mar6; 1432-0878. **IF 4.044 (2020)**
2. Calebin A potentiates the effect of 5-FU and TNF- β (lymphotoxin α) against Human Colorectal Cancer Cells: Potential role of NF-kappaB.
Constanze Buhrmann, Ajaikumar B Kunnumakkara, **Bastian Popper**, Muhammed Majeed, Bharat B. Aggarwal, Mehdi Shakibaei
Int J Mol Sci. 2020 Mar31;21(7):2393. **IF 5.923 (2020)**
3. Mitochondrial regulation of the 26S proteasome
Thomas Meul, Korbinian Berschneider, Sabine Schmitt, Christoph H Mayr, Laura F Mattner, Herbert B Schiller, Ayse S Yazgili, Xinyuan Wang, Christina Lukas, Camille Schlessler, Cornelia Prehn, Jerzy Adamski, Elisabeth Graf, Thomas Schwarzmayer, Fabiana Perocchi, Alexandra Kukat, Aleksandra Trifunovic, Laura Kremer, Holger Prokisch, **Bastian Popper**, Christine von Törne, Stefanie Hauck, Hans Zischka, Silke Meiners
Cell Rep. 2020 Aug 25;32(8):108059 **IF 9.423 (2020)**
4. Extratubular Polymerized Uromodulin Induces Leukocyte Recruitment and Inflammation In Vivo
Roland Immler, Bärbel Lange-Sperandio, Tobias Steffen, Heike Beck, Ina Rohwedder, Jonas Roth, Matteo Napoli, Georg Hupel, Frederik Pfister, **Bastian Popper**, Bernd Uhl, Hanna Mannell, Christoph A. Reichel, Volker Vielhauer, Jürgen Scherberich, Markus Sperandio and Monika Pruenster
Front. Immunol. 2020 Dez. 22; 11:588245 **IF 7.561 (2020)**

2019

1. Evidence That Calebin A, a Component of Curcuma Longa Suppresses NF-kappaB Mediated Proliferation, Invasion and Metastasis of Human Colorectal Cancer Induced by TNF- β (Lymphotoxin).
Constanze Buhrmann, **Bastian Popper**, Ajaikumar B. Kunnumakkara, Bharat B. Aggarwal, Mehdi Shakibaei
Nutrients. 2019 Dec1;11(12):2904. **IF 4.546 (2019)**
2. Connecting lysosomes and mitochondria - a novel role for lipid metabolism in cancer cell death.
Karin Bartel; Helmut Pein; **Bastian Popper**; Sabine Schmitt; Sudha Janaki-Raman; Almut Schulze; Florian Lengauer; Andreas Koeberle; Oliver Werz; Hans Zischka; Rolf Müller; Angelika M. Vollmar; Karin von Schwarzenberg
Cell Commun Signal. 2019 Jul29;17(1):87. **IF 5.111 (2019)**
3. Mitochondria Permeability Transition versus Necroptosis in Oxalate-Induced AKI.
Shrikant R. Mulay*, Mohsen Honarpisheh*, Orestes Foresto-Neto*, Chongxu Shi, Jyaysi Desai, Zhibo Zhao, Julian A. Marschner, **Bastian Popper**, Ewa Miriam Buhl, Peter Boor, Andreas Linkermann, Helen Liapi, Rostyslav Bilyy, Martin Herrmann, Paola Romagnan, Ilya Belevich, Eija Jokitalo, Jan U. Becker, Hans-Joachim Anders
J Am Soc Nephrol. 2019 Oct; 30(10):1857-1869. **IF 8.98 (2019)**

4. Induction of Epithelial-to-Mesenchymal Transition of Human Colorectal Cancer by Human TNF- β (Lymphotoxin) and Its Reversal by Resveratrol.
Buhrmann C, Yazdi M, **Popper B**, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB, Shakibaei M
Nutrients. 2019 Mar26;11(3):704. **IF 4.546 (2019)**
5. Evidence that TNF- β Induces Proliferation in Colorectal Cancer Cells and Resveratrol Can Down-modulate It.
Constanze Buhrmann, Mina Yazdi, **Bastian Popper**, Parviz Shayan, Ajay Goel, Bharat B Aggarwal, Mehdi Shakibaei
Exp Biol Med (Maywood). 2019 Jan; 244(1):1-12. **IF 3.139 (2019)**

2018

1. A high calorie diet aggravates mitochondrial dysfunction and triggers severe liver damage in Wilson disease rats.
Claudia Einer, Christin Leitzinger, Josef Lichtmanegger, Carola Eberhagen, Tamara Rieder, Sabine Borchard, Ralf Wimmer, Lena Wottke, **Bastian Popper**, Frauke Neff, Roman S. Polishchuk, Elena V. Polishchuk, Stefanie M. Hauck, Christine von Toerne, Uwe Karst, Jennifer-Christin Müller, Alan A. DiSpirito, Jeremy Semrau, Karl Heinz Weiss, Simon Hohenester and Hans Zischka
Cell Mol Gastroenterol Hepatol. 2019;7(3):571-596. **IF 7.076 (2019)**
2. Resveratrol chemosensitizes TNF- β -induced survival of 5-FU treated colorectal cancer cells.
Constanze Buhrmann, Mina Yazdi, **Bastian Popper**, Parviz Shayan, Ajay Goel, Bharat B. Aggarwal and Mehdi Shakibaei
Nutrients. 2018 Jul12;10(7):888. **IF 4.171 (2018)**
3. The exceptional sensitivity of brain mitochondria to copper.
Sabine Borchard, Francesca Bork, Tamara Rieder, Carola Eberhagen, **Bastian Popper**, Josef Lichtmanegger, Sabine Schmitt, Jerzy Adamski, Martin Klingenspor, Karl-Heinz Weiss and Hans Zischka
Toxicol In Vitro. 2018 Sep;51:11-22. **IF 3.067 (2018)**
4. PPAR α is Necessary for Radiation-Induced Activation of Non-Canonical TGF β signaling in the Heart.
Subramanian, Vikram; Borchard, Sabine; Azimzadeh, Omid; Sievert, Wolfgang; Merl-Pham, Juliane; Mancuso, Mariateresa; Pasquali, Emanuela; Multhoff, Gabriele; **Popper, Bastian**; Zischka, Hans; Atkinson, Michael; Tapio, Soile
J Proteome Res. 2018 Apr6;17(4):1677-1689. **IF 3.78 (2018)**
5. Practicable Methods for Histological Section Thickness Measurement in Quantitative Stereological Analyses.
Cyrill Matenaers, **Bastian Popper**, Alexandra Rieger, Rüdiger Wanke and Andreas Blutke
PloS One. 2018 Feb14;13(2):e0192879 **IF 2.776 (2018)**

2017

1. Phagocytosis of environmental or metabolic crystalline particles induces cytotoxicity by triggering necroptosis across broad range of particle size and shape.
Mohsen Honarpisheh, Orestes Foresto-Neto, Jyaysi Desai, Stefanie Steiger, Lidia Anguiano Gómez, **Bastian Popper**, Peter Boor, Hans-Joachim Anders, and Shrikant R. Mulay
Sci Rep. 2017 Nov14;7(1):15523. **IF 4.122 (2017)**
2. Particles of different sizes and shapes induce neutrophil necroptosis followed by the release of neutrophil extracellular trap-like chromatin.
Jyaysi Desai, Orestes Foresto-Neto, Mohsen Honarpisheh, Stefanie Steiger, Diago Nakazawa, **Bastian Popper**, Eva Miriam Buhl, Peter Boor, Shrikant R. Mulay, and Hans-Joachim Anders
Sci Rep. 2017 Nov3;7(1):15003. **IF 4.122 (2017)**
3. Resveratrol Downregulates Inflammatory Pathway Activated by Lymphotoxin α (TNF- β) in Articular Chondrocytes: Comparison with TNF- α .
Constanze Buhrmann; **Bastian Popper**; Bharat B Aggarwal; Mehdi Shakibaei
PloS One. 2017 Nov2;12(11):e0186993. **IF 2.806 (2017)**
4. Data on chow, liver tissue and mitochondrial fatty acid compositions as well as mitochondrial proteome changes after feeding mice a western diet for 6–24 weeks.
Einer C, Hohenester S, Wimmer R, Wottke L, Artmann R, Schulz S, Gosmann C, Simmons A, Leitzinger C, Eberhagen C, Borchard S, Schmitt S, Hauck SM, von Toerne C, Jastroch M, Walheim E, Rust C, Gerbes AL, **Popper B**, Mayr D, Schnurr M, Vollmar AM, Denk G, Zischka H
Data Brief. 2017 Sep18;15:163-169. **IF 0.975 (2019)**
5. Mitochondrial adaptation in steatotic mice.
Einer C, Hohenester S, Wimmer R, Wottke L, Artmann R, Schulz S, Gosmann C, Simmons A, Leitzinger C, Eberhagen C, Borchard S, Schmitt S, Hauck SM, von Toerne C, Jastroch M, Walheim E, Rust C, Gerbes AL, **Popper B**, Mayr D, Schnurr M, Vollmar AM, Denk G, Zischka H
Mitochondrion. 2018 May;40:1-12. **IF 3.226 (2017)**
6. Spinal poly-GA inclusions in a C9orf72 mouse model trigger motor deficits and inflammation without neuron loss.
Martin H. Schludi, Lore Becker, Lillian Garrett, Tania F. Gendron, Qihui Zhou, Franziska Schreiber, **Bastian Popper**, Leda Dimou, Tim M. Strom, Juliane Winkelmann, Anne von Thaden, Kristin Rentzsch, Stephanie May, Meike Michaelsen, Benjamin M. Schwenk, Jing Tan, Benedikt Schoser, Marianne Dieterich, Leonard Petrucelli, Sabine M. Hölter, Wolfgang Wurst, Helmut Fuchs, Valerie Gailus-Durner, Martin Hrabe de Angelis, Thomas Klopstock, Thomas Arzberger, Dieter Edbauer
Acta Neuropathol. 2017 Aug13;134(2):241-254. **IF 15.872 (2017)**
7. Cathepsin S inhibition combines control of systemic and peripheral pathomechanisms of autoimmune tissue injury.
Maia Tato, Santhosh V. Kumar, Yajuan Liu, Shrikant R. Mulay, Solange Moll, **Bastian Popper**, Jonathan N. Eberhard, Dana Thomasova, Arne Christian Rufer, Sabine Gruner, Wolfgang Haap, Guido Hartmann & Hans-Joachim Anders
Sci Rep. 2017 Jun5;7(1):2775. **IF 4.122 (2017)**

2016

1. MDM2 Prevents Spontaneous Tubular Epithelial Cell Death and Acute Kidney Injury.
Dana Thomasova, Martrez Ebrahim, Kristina Fleckinger, Moying Li, Jakob Molnar, **Bastian Popper**, Helen Liapis, Ahmed Kotb, Florian Siegerist, Nicole Endlich and Hans-Joachim Anders
Cell Death Dis. 2016 Nov24;7(11):e2482. **IF 5.965 (2016)**
2. Missense mutation of POU domain class 3 transcription factor 3 in Pou3f3L423P mice causes reduced nephron number and impaired development of the thick ascending limb of the loop of Henle.
Alexandra Rieger, Elisabeth Kemter, Sudhir Kumar, **Bastian Popper**, Bernhard Aigner, Eckhard Wolf, Rüdiger Wanke and Andreas Blutke
PLoS One. 2016 Jul15;11(7):e0158977. **IF 2.806 (2016)**
3. Sirt1 is required for resveratrol-mediated chemopreventive effects in colorectal cancer cells.
Buhrmann C, Shayan P, **Popper B**, Goel A, Shakibaei M
Nutrients. 2016 Mar5;8(3):145. **IF 3.550 (2016)**
4. Cytotoxicity of crystals involves RIPK3-MLKL-mediated necroptosis.
Mulay SR, Desai J, Kumar SV, Eberhard JN, Thomasova D, Romoli S, Grigorescu M, Kulkarni OP, **Popper B**, Vielhauer V, Zuchtriegel G, Reichel C, Bräsen JH, Romagnani P, Bilyy R, Munoz LE, Herrmann M, Liapis H, Krautwald S, Linkermann A, Anders HJ
Nat Commun. 2016 Jan28; 7:10274. **IF 12.124 (2016)**

2015

1. Cathepsin S Cleavage of Protease-Activated Receptor-2 on Endothelial Cells Promotes Microvascular Diabetes Complications.
Kumar Vr S, Darisipudi MN, Steiger S, Devarapu SK, Tato M, Kulkarni OP, Mulay SR, Thomasova D, **Popper B**, Demleitner J, Zuchtriegel G, Reichel C, Cohen CD, Lindenmeyer MT, Liapis H, Moll S, Reid E, Stitt AW, Schott B, Gruner S, Haap W, Ebeling M, Hartmann G, Anders HJ
J Am Soc Nephrol. 2016 Jun;27(6):1635-49. **IF 8.491 (2015)**
2. PMA and crystal-induced neutrophil extracellular trap formation involves RIPK1-RIPK3-MLKL signaling.
Desai J, Vr SK, Mulay SR, Konrad L, Romoli S, Schauer C, Herrmann M, Bilyy R, Müller S, **Popper B**, Nakazawa D, Weidenbusch M, Thomasova D, Krautwald S, Linkermann A, Anders HJ
Eur J Immunol. 2016 Jan;46(1):233-9. **IF 4.179 (2015)**
3. Resveratrol induces chemosensitization to 5-fluorouracil through up-regulation of intercellular junctions, Epithelial-to-mesenchymal transition and apoptosis in colorectal cancer.
Buhrmann C, Shayan P, Kraehe P, **Popper B**, Goel A, Shakibaei M
Biochem Pharmacol. 2015 Nov1;98(1):51-68. **IF 5.091 (2015)**
4. Curcumin potentiates antitumor activity of 5-fluorouracil in a 3D alginate tumor microenvironment of colorectal cancer.
Shakibaei M, Kraehe P, **Popper B**, Shayan P, Goel A, Buhrmann C,
BMC Cancer. 2015 Apr10;15:250. **IF 3.265 (2015)**

X.5 Übersichtsartikel

1. mTOR and MAPK: from localized translation control to epilepsy.
Helena F. Pernice, Rico Schieweck, Michael A. Kiebler and **Bastian Popper**
BMC Neurosci. 2016 Jan 28;7:10274. **IF 2.312 (2016)**
2. Co-translational folding: a novel modulator of local protein expression in mammalian neurons?
Rico Schieweck, **Bastian Popper**, Michael A. Kiebler
Trends Genet. 2016 Dec;32(12):788-800. **IF 10.844 (2016)**

X.6 Buchkapitel

The parallel testing of isolated rat liver and kidney mitochondria reveals a calcium-dependent sensitivity to diclofenac and ibuprofen.
Sabine Schulz, Sabine Borchard, Tamara Rieder, Carola Eberhagen, **Bastian Popper**, Josef Lichtmannegger, Sabine Schmitt, and Hans Zischka
Mitochondrial Dysfunction Caused by Drugs and Environmental Toxicants John Wiley&Sons. 2018 Feb23;13:217-228

X.7 Sonstige Veröffentlichungen

Zitierfähige Abstracts in peer-reviewed Zeitschriften:

B.Popper, C.Seibold, N.Herbach, A.Blutke, R.Wanke (2013): Einfluss des genetischen Hintergrundes auf die Entwicklung Diabetes-assoziiierter Nierenveränderungen bei GIPR^{dn} transgenen Mäusen. Tierärztl. Praxis (K) 3 A36

B.Popper, R.Wanke, A.Blutke (2013): Evaluation unterschiedlicher Methoden zur quantitativ-stereologischen Ermittlung der mittleren Glomerulumvolumina an perfusionsfixierten Mäusenieren. Tierärztl. Praxis (K) 3 A39

C.Seibold, **B.Popper**, N.Herbach, A.Blutke, R.Wanke (2014): Diabetes-assoziierte Nierenveränderungen GIPR^{dn} transgener Mäuse verschiedener genetischer Hintergründe, Tierärztl. Praxis (K) 2 A19

A.Rieger, **B.Popper**, R.Wanke, A.Blutke: Mutante Mäuse der Mauslinie Pou3f3^{L423P} als Modell für a priori niedrige Nephronzahlen? Nieren- und Hochdruckkrankheiten, Jahrgang 43, Nr. **4/2014**, S. 192-199

A.Rieger, U.Welsch, **B.Popper** (2015): Vergleichende Untersuchungen zum Aufbau der Tunica intima der Arteria carotis communis, Tierärztl. Praxis (K) 3 A22

Marian Rammer, Ursula Keller, Teresa Singer, Mojca Gasparitsch, **Bastian Popper**, M. Drechsler, Bärbel Lange-Sperandio. Unilaterale Ureterligatur induziert Nekroptose und Nekroinflammation in der neonatalen Niere. Nieren- und Hochdruckkrankheiten 45(09):349-350 September 2016

Antonia Demleitner, Philipp Follwaczny, Rico Schieweck, **Bastian Popper** und Michael Kiebler; Einfluss der RNA-Bindeproteine Pumilio2 und Staufen2 auf die Entwicklung von epileptischen Anfällen im Mausmodell; Zeitschrift für Epileptologie March 2016, Volume 29, Supplement 1, pp 1-38

M. Yabal, A. Wahida, **B. Popper**, K. Steiger, P. Jost; OP029 Characterisation of Paneth cell dysfunction in XIAP-deficient mice; Journal of Crohn's and Colitis, Volume 12, Issue supplement_1, 16 January 2018, Pages S020–S021,

Mulay SR, Forestes-Neto O, Honarpisheh M.M, Shi C, Steiger S, **Popper B**, Buhl EM, Boor P, Anders HJ: Crystal nephrotoxicity involves two distinct molecular pathways of regulated necrosis; May 2018, Nephrology Dialysis Transplantation 33(suppl_1):i100-i100

Abstracts in Tagungsbänden:

B.Popper, C.Seibold, N.Herbach, A.Blutke, R.Wanke, P111 - Einfluss des genetischen Hintergrundes auf die Entwicklung Diabetes-assoziiierter Nierenveränderungen im Diabetes mellitus Modell der GIPR^{dn} transgenen Maus, Abstract - USB-Stick Kongress für Nephrologie 2013 - 5. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Nephrologie, ISSN 1863-2262

C.Seibold, **B.Popper**, N.Herbach, A.Blutke, R.Wanke; Diabetes-assoziierte Nierenveränderungen GIPR^{dn} transgener Mäuse verschiedener genetischer Hintergründe; 57. Jahrestagung der Fachgruppe Pathologie der DVG, 7.-9.03.2014 in Fulda, Germany

A.Rieger, U.Welsch, **B.Popper**; Vergleichende Untersuchungen zum Aufbau der Tunica intima der Arteria carotis communis, 58. Jahrestagung der Fachgruppe Pathologie der DVG, 7./8.03.2015 in Fulda, Germany

Antonia Demleitner, **Bastian Popper**, Rico Schieweck, Sabine Maderthaler, Saskia Hutten, Michael Kiebler; FV228 - Einfluss von RNA-Bindeproteinen auf die Entwicklung von epileptischen Anfällen in Pumilio2- und Staufen2-defizienten Mauslinien; 88. Kongress der deutschen Gesellschaft für Neurologie, 23-26.9.2015 in Düsseldorf; URN: nbn:de:101:1-201509012166

Marian Rammer, Teresa Singer, Mojca Gasparitsch, **Bastian Popper**, Ursula Keller, Bärbel Lange-Sperandio. FV18 – Nekroptose und Nekroinflammation im neonatalen Tiermodell der obstruktiven Uropathie; 47. Jahrestagung der deutschen Gesellschaft für pädiatrische Nephrologie, 02-05.3.2016 in Essen, Germany

Antonia Demleitner, Philipp Follwacny, Rico Schieweck, **Bastian Popper** und Michael Kiebler; FVX - Einfluss der RNA-Bindeproteine Pumilio2 und Staufen2 auf die Entwicklung von epileptischen Anfällen im Mausmodell; 53. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Epileptologie e.V. 02.-05.3.2016 in Jena, Germany

Helena F Pernice, Rico Schieweck, **Bastian Popper** und Michael Kiebler; A possible role of mTOR kinase in regulating the RNA-binding protein Pumilio2 at the synapse: International Meeting of the German Society for Cell Biology. march 14-16.2016 in Munich, Germany

Helena F. Pernice, Rico Schieweck, **Bastian Popper** und Michael Kiebler; Einfluss der mTOR und RNA-Bindeprotein vermittelten posttranskriptionellen Regulation im Rahmen der Epileptogenese 89. Kongress der deutschen Gesellschaft für Neurologie, 21-24.9.2016 in Mannheim, Germany

M. Chen, O. Sommerfeld, **B. Popper**, S. Sirko; Proliferative Activity of Reactive Astrocytes has a Significant Impact on Post-Traumatic Behavior: Conference: XIV European Meeting on Glial Cells in Health and Disease, march 2019 Porto, Portugal

Thomas Meul, Korbinian Berschneider, Sabine Schmitt, Christoph Mayr, Herbert Schiller, Oliver Eickelberg, Cornelia Prehn, Jerzy Adamski, Fabiana Perocchi, Alexandra Kukat, Aleksandra Trifunovic, Laura Kremer, Holger Prokisch, **Bastian Popper**, Christine von Törne, Stefanie Hauck, Hans Zischka, Silke Meiners; Mitochondrial metabolism regulates cellular proteostasis: ERS Lung Science Conference 2020, 05 - 08 March, 2020 Estoril, Portugal

Posterpräsentation:

Bastian Popper, Rüdiger Wanke, Andreas Blutke; Evaluation unterschiedlicher Methoden zur quantitativ-stereologischen Ermittlung der mittleren Glomerulumvolumina an perfusionsfixierten Mäusenieren; 56. Jahrestagung der Fachgruppe Pathologie der DVG 2013, Fulda, Germany

Foong-ye Ang, Renate Fritzsche, **Bastian Popper**, Alexandra Hörmann, Maija Vukajlovic, Renate Dombi, Daniela Karra, Michael Kiebler; Characterizing the role of Staufen2, Pumilio2, and Barentsz in dendritic mRNA localization; RNA Biology Meeting 2013, Vienna, Austria

Foong-ye Ang, Simone Heber, **Bastian Popper**, Renate Fritzsche, Alexandra Hörmann, Renate Dombi, Dirk Niessing, Michael Kiebler; The role of Staufen2, Pumilio2, and Barentsz in dendritic mRNA localization; Current Methods in RNP Analysis, Method Course 2014, Regensburg, Germany

A.Rieger, U.Welsch, **B.Popper**; Vergleichende Untersuchungen zum Aufbau der Tunica intima der Arteria carotis communis; 58. Jahrestagung der Fachgruppe Pathologie der DVG 2015, Fulda, Germany

Demleitner Antonia, Schieweck R., Hutten S., Maderthaler S., **Popper B.**, Kiebler M; Novel insight into the role of RNA-binding proteins Staufen2 and Pumilio2 in memory formation and epileptogenesis; DoktaMed 2015, Medical Faculty, LMU, Munich, Germany

Helena F Pernice, Rico Schieweck, **Bastian Popper** and Michael Kiebler; A possible role of mTOR kinase in regulating the RNA-binding protein Pumilio2 at the synapse: International Meeting of the German Society for Cell Biology. March 14-16.2016 in Munich, Germany

Role of the RNA-binding proteins Pumilio 2 and Staufen 2 in epileptogenesis – Impacts on neurogenesis and long-term memory; Antonia Demleitner, Philipp Follwaczny, Rico Schieweck, Anna Klemm, Tobias Straub, **Bastian Popper** and Michael Kiebler: The 12th European Congress on Epileptology (ECE) 11-15.Sep. 2016 in Prague, Czech Republic

Rico Schieweck, Franziska Pernice, **Bastian Popper** und Michael Kiebler; Die Rolle des RNA-Bindeproteins Staufen2 in der Regulierung der Synaptogenese im Kleinhirn; P203; 89. Kongress der deutschen Gesellschaft für Neurologie, 21-24.9.2016 in Mannheim, Germany

Mulay SR, Forestes-Neto O, Honarpisheh M.M, Shi C, Steiger S, **Popper B**, Buhl EM, Boor P, Anders HJ: Crystal Nephrotoxicity involves two distinct molecular pathways of regulated necrosis, 55th ERA-EDTA congress, 24-27.5.2018,Copenhagen, Denmark

Dana Matzek, Thomas H. Brill und **Bastian Popper**; Der mobile-R-pen: Ein mobiles und modulares Bodenhaltungssystem zur Unterbringung von Kaninchen in einer SPF-Tierhaltung; 56. Wissenschaftliche Tagung der Gesellschaft für Versuchstierkunde GV-SOLAS, 12-14 September 2018 in München, Deutschland

Harald Welter, Nils Dellweg, Carola Herrmann, Kim Dietrich, **Bastian Popper**, Henryk Urbanski, J. Ullrich Schwarzer, Frank–Michael Köhn, Artur Mayerhofer; Expression of the glucocorticoid receptor NR3C1 in testicular peritubular cells is developmentally regulated and linked to the smooth muscle-like phenotype, elastin and cytokine production, XXV North American Testis Workshop, 3-6 April 2019, Chicago

L. Böswald, D. Matzek, **B. Popper**, E. Kienzle; Influence of diet and strain on urine pH in laboratory mice. 74. Tagung der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie; 3-6 March 2020, Göttingen, Germany

Urheberschutzrechtliche Eintragungen beim Deutschen Patent und Markenamt:

Blutke A, **Popper B**. Gebrauchsmuster Nr. 20 2013 002 655.3. IPC: G01N/06: Meßanordnung für die Dicke von Schnittscheiben biologischer Gewebeproben. Eintragung durch das DPMA am 26.03.2013

Es handelt sich hier um eine kumulative Habilitationsschrift. Um die Einhaltung des Urheberrechtsgesetzes zu gewährleisten, wurden alle Erst- oder Ko-Autorschaften als Quellen/Zitate entsprechend gekennzeichnet, aber nicht als Anhang beigefügt.

XI. Verzeichnis der abgehaltenen Lehrveranstaltungen

LMU, Med. Fakultät, Anatomische Anstalt, LS Zellbiologie, Auszug der betreuten/mitbetreuten Kurse und Seminare für Medizinstudenten, 2012-2021.

WiSe 2012/2013:	4,6 SWS
SoSe 2013:	1,0 SWS
WiSe 2013/2014:	5,6 SWS
SoSe 2014:	6,8 SWS
WiSe 2014/2015:	4,8 SWS
SoSe 2015:	7,1 SWS
SoSe 2016:	6,2 SWS
SoSe 2017:	1,3 SWS
SoSe 2019:	3,2 SWS
SoSe 2020:	1,9 SWS
SoSe 2021:	1,5 SWS

Semester	Beschreibung	Eigene SWS
WiSe 2012/2013	7M0211 Seminar Anatomie/Neuroanatomie, scheinpflichtige Veranstaltung, 34,66 Einzelstunden	13 Termine zu je 2h, (15 SW) = 4,6 SWS
SoSe 2013	7M0610 Organzentriertes, integriertes Seminar mit klinischen Bezügen unter Beteiligung von Anatomie, Physiologie und Biochemie, (A) Scheinpflichtige Veranstaltung, 84 Einzelstunden	5 Kurse zu je 2h (14 SW) = 1,0 SWS
WiSe 2013/2014	7M0211 Seminar Anatomie/Neuroanatomie, scheinpflichtige Veranstaltung, 34,66 Einzelstunden	6 Termine zu je 2h, 3 betreute Kurse (15 SW) = 3,2 SWS
WiSe 2013/2014	7M0204 Kursus der Mikroskopischen Anatomie, Teil 2, (A) scheinpflichtige Veranstaltung, 36 Einzelstunden	18 Termine zu je 1,5h, (15 SW) = 2,4 SWS
SoSe 2014	7M0014 Seminar Anatomie/Neuroanatomie, scheinpflichtige Veranstaltung, 10,33 Einzelstunden	7 Termine zu je 2,25h, 3 betreute Kurse (14 SW) = 4,5 SWS
SoSe 2014	7M0610 Organzentriertes, integriertes Seminar mit klinischen Bezügen unter Beteiligung von Anatomie, Physiologie und Biochemie, (A) Scheinpflichtige Veranstaltung, 84 Einzelstunden	12 Termine zu je 2h (14 SW) = 2,3 SWS
WiSe 2014/2015	7M0014 Seminar Anatomie/Neuroanatomie, scheinpflichtige Veranstaltung, 34,66 Einzelstunden	6 Termine zu je 2,25h, 2 betreute Kurse (15 SW) = 2,4 SWS
WiSe 2014/2015	7M0204 Kursus der Mikroskopischen Anatomie, Teil 2, (A) scheinpflichtige Veranstaltung, 36 Einzelstunden	18 Termine zu je 1,5h, 1 betreuter Kurs

		(15 SW) = 2,4 SWS
SoSe 2015	7M0211 Seminar Anatomie/Neuroanatomie, scheinpflichtige Veranstaltung, 10,33 Einzelstunden	9 Termine zu je 2,25h, 2 betreute Kurse (14 SW) = 3,9 SWS
SoSe 2015	7M0012 Laborpraktikum: Molekulare Grundlagen synaptischer Plastizität – RNA Bindeprotein im ZNS, (A) scheinpflichtige Veranstaltung, 20 Einzelstunden	10 Termine zu je 1,5h (15 SW) = 1,3 SWS
SoSe 2015	7M0610 Organzentriertes, integriertes Seminar mit klinischen Bezügen unter Beteiligung von Anatomie, Physiologie und Biochemie, (A) scheinpflichtige Veranstaltung, 84 Einzelstunden	10 Termine zu je 2h (14 SW) = 1,9 SWS
SoSe 2016	7M0211 Seminar Anatomie/Neuroanatomie, (A) scheinpflichtige Veranstaltung, 9 Einzelstunden	9 Termine zu je 2,25h, 2 betreute Kurse (14 SW) = 3,9 SWS
SoSe 2016	7M0610 Organzentriertes, integriertes Seminar mit klinischen Bezügen unter Beteiligung von Anatomie, Physiologie und Biochemie, (A) scheinpflichtige Veranstaltung, 84 Einzelstunden	12 Kurse zu je 2h (14 SW) = 2,3 SWS
SoSe 2017	7M0610 Organzentriertes, integriertes Seminar mit klinischen Bezügen unter Beteiligung von Anatomie, Physiologie und Biochemie, (A) scheinpflichtige Veranstaltung, 64 Einzelstunden	7 Termine zu je 2h (14 SW) = 1,3 SWS
SoSe 2019	7M0211 Seminar Anatomie/Neuroanatomie, (A) scheinpflichtige Veranstaltung 45 Einzelstunden	15 Termine zu je 2,25h (14 SW) = 3,2 SWS
SoSe 2020	7M0610 Organzentriertes, integriertes Seminar mit klinischen Bezügen unter Beteiligung von Anatomie, Physiologie und Biochemie, (A) scheinpflichtige Veranstaltung, 64 Einzelstunden	10 Termine zu je 2h (14 SW) = 1,9 SWS
SoSe 2021	7M0610 Organzentriertes, integriertes Seminar mit klinischen Bezügen unter Beteiligung von Anatomie, Physiologie und Biochemie, (A) scheinpflichtige Veranstaltung, 64 Einzelstunden	8 Termine zu je 2h (14 SW) = 1,5 SWS

XII. Eidesstattliche Erklärung

Ich, Dr. Bastian Alexander Popper, erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Habilitationsschrift mit dem Titel

Untersuchungen zu den molekularen Grundlagen synaptischer Plastizität im Tiermodell

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

München, den 31.08.2021

Dr. Bastian A. Popper

XIII. Erklärung des Habilitanden

Ich, Dr. Bastian Alexander Popper, erkläre, dass die hier vorgelegte Habilitationsschrift nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung der Lehrbefähigung eingereicht wurde. Mir wurde kein akademischer Grad entzogen und es sind keine Verfahren anhängig, die eine Entziehung des akademischen Grades zur Folge haben könnten.

München, den 31.08.2021

Dr. Bastian A. Popper