

# Der Einfluß des Lernverhaltens auf den Stoffwechsel spezifischer Glycoproteine: Biochemische und immunologische Ansätze zu funktionellen Veränderungen im Goldfischgehirn

The influence of learning behaviour on the metabolism of specific glycoproteins: A biochemical and immunological study on functional changes in goldfish brain

R. SCHMIDT

Arbeitskreis Neurochemie, Zoologisches Institut der J. W. Goethe-Universität, Postfach 111932, Siesmayerstr. 70, D-6000 Frankfurt am Main 1

Es ist seit einiger Zeit bekannt, daß die Proteinbiosynthese zwar ohne Bedeutung für die Akquisition neuer Verhaltensweisen ist, eine anschließende Phase der Gedächtniskonsolidierung aber nur dann stattfindet, wenn die Proteinsynthese ungestört ablaufen kann. Werden Goldfische in einem neuen Schwimmverhalten trainiert, so zeigen 3 spezifische Gehirnproteine,  $\alpha$  und Ependymin  $\beta$  und  $\gamma$  (Molekulargewichte: 37, 32 und 26 000 dalton), während der Phase der Gedächtniskonsolidierung eine spezifisch erhöhte Synthesegeschwindigkeit (Shashoua, V. E.: *Brain Res.* 111, 347, 1976). Ependymin  $\beta$  und  $\gamma$  sind Glycoproteine, die durch Affinitätschromatographie an Concanavalin A isoliert, gereinigt und zur Immunisierung von Kaninchen eingesetzt wurden. Die erhaltenen Antiseren verhindern ein späteres Erinnern der Goldfische an die Dressur, wenn sie zwischen 8 und 48 Stunden nach dem Training in den Ventrikularraum injiziert werden (Shashoua, V. E., Moore, M. E.: *Brain Res.* 148, 441, 1978), sie interferieren aber weder mit dem Schwimmverhalten als solchem, noch mit der Verhaltensakquisition.

Es konnte nachgewiesen werden, daß Ependymin  $\beta$  die physiologische Vorstufe für das  $\gamma$ -Protein darstellt (Schmidt, R., Shashoua, V. E.: *J. Neurochem.* 40, 652, 1983): Beide Proteine besitzen immunologisch gleichwertige Determinanten, ähnliche glycosidische Bindungen, eine verwandte Aminosäurezusammensetzung, Sequenzhomologien und  $\beta$  kann durch eine Proteaseaktivität des Extrazellulärraumes in  $\gamma$  übergeführt werden.

Mit den Antiseren wurde auch die Verteilung der Antigene untersucht. Immunhistologische Reaktivität wurde im periventriculären Grau der ependymalen Zone und in Körnerzellen des Tectum opticum, des Diencephalons und der Vaguskerne beobachtet (Schmidt, R.: *Verh. Anat. Ges.* 77, 725, 1983). Mit  $^{125}\text{I}$ -markierten Ependyminen wurde ein hochempfindlicher und spezifischer Radioimmunoassay entwickelt (Schmidt, R. u. Shashoua, V. E.: *J. Neurochem.* 36, 1368, 1981).

Mit dem Radioimmunoassay wurden die regionale und die subzelluläre Verteilung der Ependymine  $\beta$  und  $\gamma$  quantitativ analysiert. Die beiden Proteine sind spezifisch für das Nervensystem. In Übereinstimmung mit den immunhistologischen Daten wurden die höchsten Konzentrationen nach subzellulärer Fraktionierung (von Gehirnen untrainierter Goldfische) in der Extrazellulärflüssigkeit und im Cytoplasma gemessen. Das Auftreten der Proteine im Ependym und der Extrazellulärflüssigkeit legt nahe, daß sie sekretiert werden könnten. In der Tat synthetisieren Zellen aus der ependymalen Zone des Tectum opticum in vitro Ependymine de novo und sekretieren sie in das Kulturmedium (Majocha, R. E., Schmidt, R., Shashoua, V. E.: *J. Neurosci. Res.*, 8, 331, 1982).

Es ist unsere Arbeitshypothese, daß die Ependymine auch in vivo sekretiert werden und – möglicherweise nach chemischer Modifizierung durch extrazelluläre Proteasen – über die Cerebrospinalflüssigkeit an einen entfernten Wirkort transportiert werden. Beispielsweise könnten sie dort genau jene Synapsen dauerhaft modifizieren, die während der vorangegangenen Phase der Verhaltensakquisition vorübergehend durch elektrophysiologische Mechanismen aktiviert worden waren.

Im Nervengewebe anderer Cypriniden konnte mit dem Radioimmunoassay deutliche Kreuzreaktivität gemessen werden, während die Meßwerte bei höheren Vertebraten (Erdkröte, Ratte) trotz Ähnlichkeiten im Glycoproteinmuster des Gehirngewebes kleiner waren. Immunhistologisch wurde jedoch kräftige Kreuzreaktivität in isolierten Pyramidalneuronen aus dem embryonalen Hippocampus der Ratte in Kultur beobachtet (gemeinsam mit H.-W. Müller, Stanford, und W. Seifert, Göttingen). Das ist bemerkenswert, weil elektrophysiologische Experimente und klinische Beobachtungen seit langem auf eine Beteiligung der Hippocampusformation an der Gedächtniskonsolidierung hindeuten.

Ich danke der Deutschen Forschungsgemeinschaft für ihre finanzielle Unterstützung (Schm 478/3).