



Morphologie der Arciform Density in Ribbonsynapsen der Mäuseretina

D. B. Gustavus, H. Jastrow, A. Bastelberger, S. Menzler, G. Kolios und L. Vollrath
Anatomisches Institut, Histologie, J. Gutenberg-Universität, Becherweg 13, D-55128 Mainz

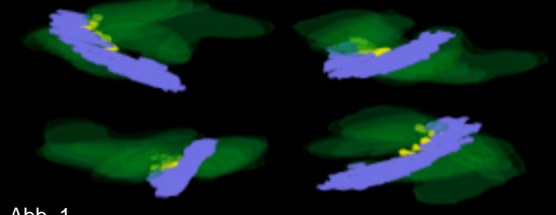
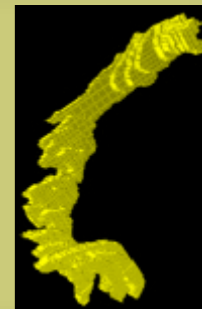


Abb. 1

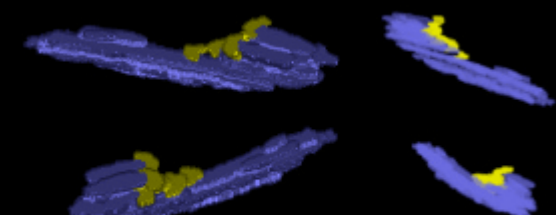


Abb. 2

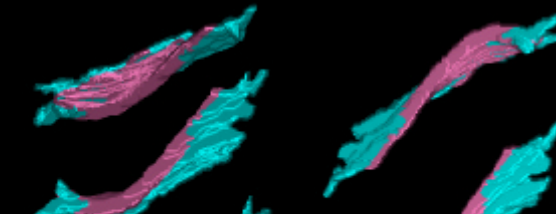


Abb. 3

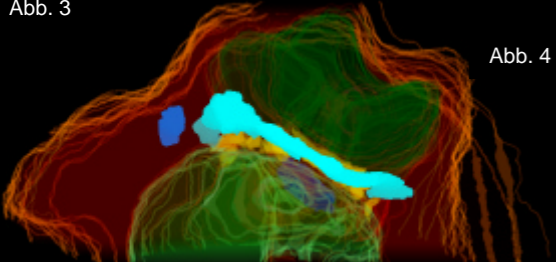


Abb. 4

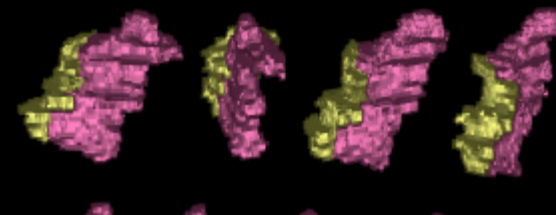


Abb. 5

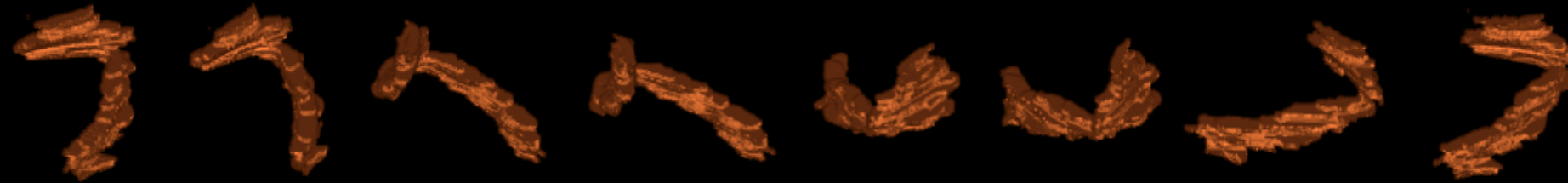
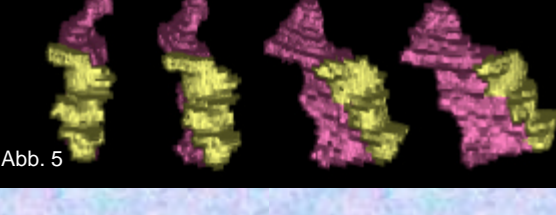


Abb. 12

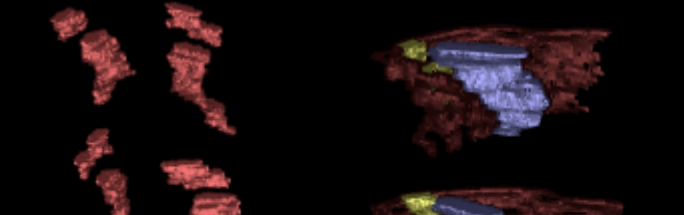
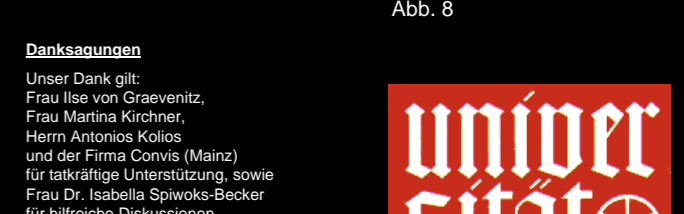
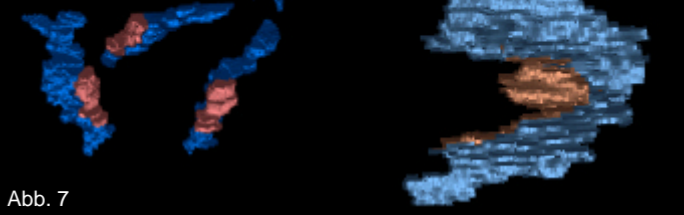
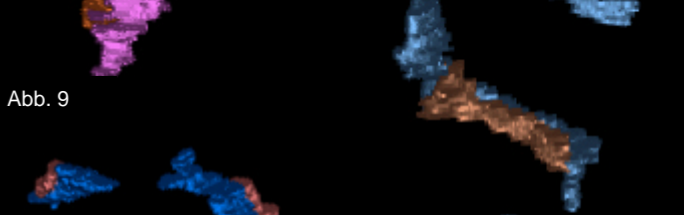
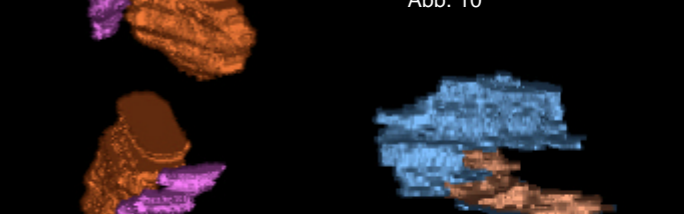
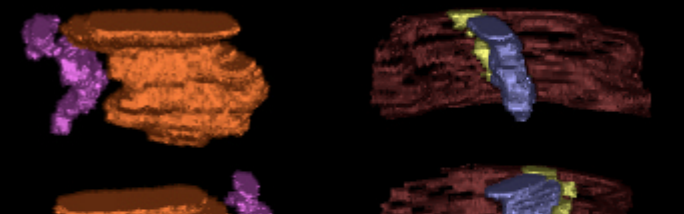


Abb. 11



Einleitung

In Ribbonsynapsen der Retina dient die Arciform Density (AD) der Verankerung der Synaptic Ribbons (SR) an der präsynaptischen Membran. Dies wird über ca. 20 nm lange, fadenförmige Proteinbrücken realisiert, die von der AD zum SR reichen. In den Terminalen der Photorezeptoren der äußeren plexiformen Schicht (OPL) liegt die AD in Form einer zelleinwärts gebogenen Rinne an der konkaven Seite der hufeisenförmigen SR (Abb.6). In 3% aller Fälle werden in der OPL zusätzlich rechteckige SR beobachtet, an denen bisher keine AD dokumentiert wurde.

In der inneren plexiformen Schicht (IPL) finden sich keine hufeisenförmigen, sondern rechteckige SR (Abb.9), die in den Terminalen der Bipolarzellen (BZ) liegen. Da sich die SR der OPL und der IPL in ihrer Morphologie her deutlich unterscheiden, sollte bei uns untersucht werden, inwiefern dies auch für die Form der AD zutrifft. Durch dreidimensionale Rekonstruktion wurde dieser Frage nachgegangen.

Material und Methode

Die Profile der AD und der zugehörigen SR von Stäbchen, Zapfen und BZ in der Retina von BALB/c-Mäusen wurden an Synapsen der OPL (Übersicht Abb.4) und der IPL mit 10.000-facher Vergrößerung an einem Transmissionselektronenmikroskop rein digital dokumentiert (Abb.13). Hierzu wurden 12 lückenlose Schnittserien mit jeweils bis zu 38 Schnitten einer Schnittdicke von 50 nm verwendet. Insgesamt wurden 18 SR mit den dazugehörigen AD rekonstruiert. Die Überlagerung der resultierenden Bilder erfolgte mit Adobe® Photoshop® und einem selbst entwickelten IDL®-Programm. Die hierbei generierten Volumendatensätze wurden mit Segmentierungssoftware der Fa. ConVis (Mainz) bearbeitet und die entsprechenden Strukturen visualisiert.

Ergebnisse

Die dachrinnenartig geformten AD der hufeisenförmigen SR in der OPL (Abb.12) wiesen eine maximale Bogenlänge von 2 µm auf. Sie folgten ohne Unterbrechung über mindestens 70% dem membran nahen Verlauf der SR (Abb.3). Die Dicke der Rinnenwand variierte zwischen 30 und 60 nm, der lichte Durchmesser der Rinne zwischen 30 und 100 nm. Auf sämtlichen Serienschnitten, die eine AD zeigten, waren die SR maximal 100 nm von der Zellmembran entfernt. Fehlte die AD an den Enden des „Hufeisens“, betrug der Abstand der SR zur Zellmembran mehr als 150 nm.

Bei den rechteckigen SR der OPL war die in nur ~50% der Fälle vorkommende AD ebenfalls rinnenförmig und durchgängig. Allerdings war sie nur über 30 bis 70% der Länge des jeweiligen SR vorhanden. Auch hier waren das SR und die AD über Proteinbrücken verbunden.

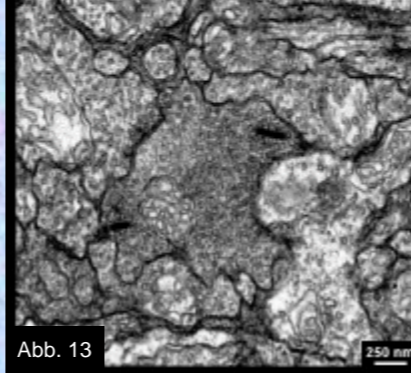
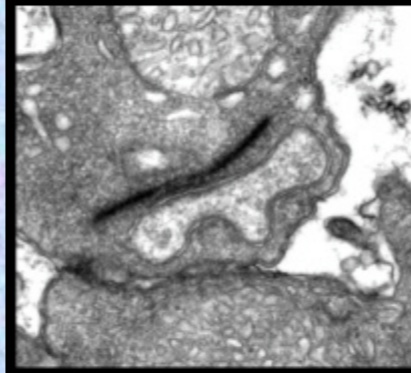
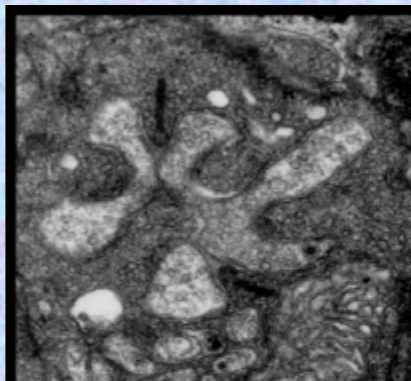


Abb. 13

250 nm

In der IPL wurde nur an 40% der überwiegend rechteckigen SR eine AD gefunden. Lediglich SR, die näher als 100 nm zur Zellmembran lagen, wiesen überhaupt eine AD auf. Die Länge der im Querschnitt ovoiden AD (Abb.11) variierte von 150 nm bis knapp über 1 µm. Die Höhe des Querschnitts betrug 20 bis 40 nm, die Breite 30 bis 70 nm. Die AD zeigten in vier von fünf Fällen eine einzige Unterbrechung von 50 bis 100 nm Länge (Abb.10). Auch in der IPL verbanden Proteinbrücken das SR mit der AD. Zwischen den SR mit und ohne AD konnten keine morphologischen Unterschiede festgestellt werden (Abb.13).

Diskussion

Es stellt sich die Frage, warum die größeren, hufeisenförmigen SR der OPL stets eine dachrinnenartige AD aufweisen (Abb.1,2), wohingegen die kleineren, rechteckigen SR der IPL in nur 40% aller Fälle eine ovoid, kürzere und mehrheitlich unterbrochene AD besitzen. Ausgehend von der Morphologie kann vermutet werden, dass die rinnenförmige Variante der AD auf Grund der größeren dem SR zugewandten Fläche mit einer höheren Anzahl von Proteinbrücken an dieses binden könnte als die ovoiden Form (Abb.5). Somit wäre die rinnenförmige AD in der Lage, größere SR zu binden (Abb.8). Wenn man zusätzlich mit einbezieht, dass SR in der OPL als „floating ribbons“ (Abb.7) auftreten können, wäre die zurückbleibende AD eine Art Wegweiser für rückkehrende oder neu gebildete SR. Dies könnte ebenfalls für die 40% der SR der IPL zutreffen, die an eine AD gebunden sind. Geklärt werden muss, ob SR mit oder ohne AD einem bestimmten postsynaptischen Zelltyp zuzuordnen sind.

Trotz der nicht durchgängigen AD bei den rechteckigen SR der IPL wurden keine Unterbrechungen im Verlauf dokumentiert. Dies spricht dafür, dass die AD nicht für die Aufrechterhaltung der Struktur, sondern lediglich für die Verankerung der SR an die präsynaptische Membran verantwortlich ist.

Die Proteinbrücken zwischen AD und SR stellen sich im elektronenmikroskopischen Bild wie diejenigen dar, die SV an das SR binden. Es wird deshalb vermutet, dass die AD ähnliche Bindungsproteine wie die Vesikelmembran enthält.

Literatur:

- Jastrow H, von Mach M-A, Vollrath L (1997). The shape of synaptic ribbons in the rat pineal gland. Cell Tiss Res 287:255-261.
- Jastrow H, Gustavus DB, Kolios G, Vollrath L (2000). Dreidimensionale Visualisierung synaptischer Körperchen im ersten und zweiten Neuron der Sehbahn. Ann Anat 183 Suppl:243
- von Gersdorff H (2001). Synaptic Ribbons: Versatile Signal Transducers. Neuron 29:7-10

Dieses Poster enthält vorab veröffentlichte Daten aus den Dissertationen von D. B. Gustavus und G. Kolios.

IDL® ist ein registriertes Handelszeichen der Firma Research Systems Inc., 2995 Wilderness Place, Suite 203, Boulder CO 80301, USA. Adobe® und Photoshop® sind registrierte Handelszeichen der Firma Adobe Systems Inc., 345 Park Avenue, San Jose Ca 95110, USA. Die verwendete Segmentierungs- und Visualisierungssoftware wurde entwickelt von der Firma ConVis Medizinische Datenverarbeitung GmbH & Co. KG, Anna-Stenner-Strasse 66, D-55129 Mainz, http://www.convis.de

Danksagungen

Unser Dank gilt:
Frau Ilse von Graevenitz,
Frau Martina Kirchner,
Herrn Antonios Kolios
und der Firma ConVis (Mainz)
für tatkräftige Unterstützung, sowie
Frau Dr. Isabella Spiwoks-Becker
für hilfreiche Diskussionen.

