

***Regulation of synaptic vesicle biogenesis and degradation in neuronal transport:
novel tools for studying the vesicle life cycle***

Introduction:

Brain function relies on chemical synapses, the contacts between neurons that are responsible for neurotransmitter release. At synapses, synaptic vesicles (SVs) store and release neurotransmitters in a highly controlled manner. These organelles are dynamic entities continuously “on the run”. Initially transported from the cell body to synapses, SVs are moved from synapse to synapse and finally sent back to the cell body to be degraded. While neurotransmitter release has been studied in detail, several aspects of the generation and the degradation of SVs remain enigmatic. With the help of the Schram Foundation, we will develop new tools and technical solutions to study these mechanisms and understand how SV quality is safeguarded, possibly preventing the appearance of brain pathologies.

Project description:

Synaptic vesicles are small functional entities whose precise assembly of proteins and lipids ensures the reliable release of neurotransmitters. For this reason, the mechanisms leading to the correct assembly and the degradation of SVs are of key importance for neuronal pathophysiology.

How is the tightly-controlled composition of SVs arising? How is vesicle identity maintained during transport? How are old and possibly nonfunctioning SVs recognized and degraded? The generous funding of the Schram Foundation will enable us to address these questions through novel technological solutions that we will develop for studying the transport, the biogenesis and the degradation of synaptic vesicles.

Organelles that give rise to SVs are born as heterogenous precursors at the Golgi, in the cell body of neurons. At this stage, “kin recognition” mechanisms based on affinity between different synaptic vesicle proteins lead to the formation of macromolecular complexes that mediate the initial sorting of heterogenous synaptic vesicle precursors. These precursors will eventually mature in SVs of the right size and molecular composition by fusing with the plasma membrane and with heterogenous endocytic compartments giving rise to mature vesicles at the synaptic boutons.

In the last few years our lab has established methods to precisely measure brain protein stability *in vivo* together with a series of computational tools to simplify the analysis and extend the use of this technology. This work gave rise to a series of significant observations

1/2

Dr. Eugenio F. Fornasiero, PhD

University Medical Center Göttingen
Institut für Neuro- und Sinnesphysiologie
Humboldtallee 23
37073 Göttingen
Germany

email: [efornas\[at\]qwdg.de](mailto:efornas[at]qwdg.de)
website: www.fornasierolab.uni-goettingen.de
twitter: [@euforna](https://twitter.com/euforna)
Tel: +49 (0) 551 39 5930
Fax: +49 (0) 551 39 6031

concerning the protein lifetimes of SV and SV-associated proteins. Overall our results confirm that there are complex sorting steps with distinct temporal dynamics during the biogenesis and the degradation of synaptic vesicles (**Fig. 1**).

In this application we will pursue three major scientific goals that will shed light on the mechanisms at the basis of the vesicle life cycle. First, we will study synaptic vesicle biogenesis and degradation in the dynamic context of neuronal transport. Second, to achieve this goal, we will develop innovative tools and technological approaches to address the questions related to organelle identity and age at the molecular level. Third, capitalizing on the results of the first two goals, we will study the perturbations that impair SV assembly and the maintenance, to challenge our findings and corroborate our results. Overall, we aim at defining a precise hierarchy of biogenesis and degradation steps at the basis of the SV cycle and clarify how vesicle formation and degradation are regulated, eventually leading to the development of rescue strategies for cognitive impairment.

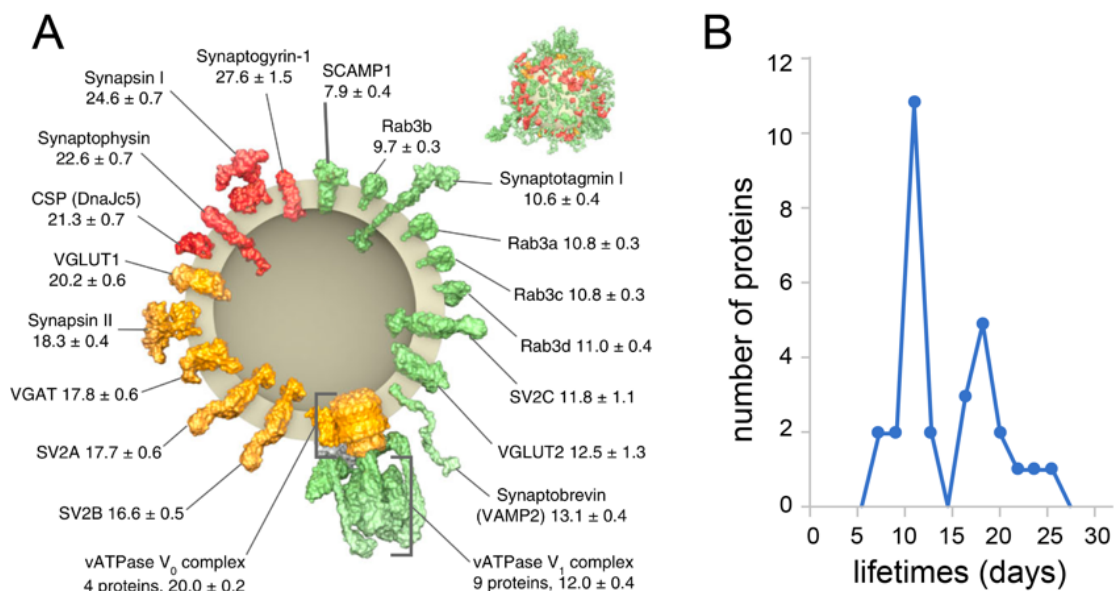


Figure 1. SV protein lifetimes indicate a complex temporal regulation at the basis of SV biogenesis/degradation. (A) A 3D view of a modeled synaptic vesicle, showing the lifetimes of 20 proteins (or protein complexes). The proteins are color-coded from short-lived (green) to long-lived (red). The numbers indicate the lifetimes, in days and the error corresponds to the 95% confidence interval. The inset in the upper right corner represents a synaptic vesicle, with proteins color coded for their lifetimes and shown in the appropriate copy numbers. **(B)** Histogram representation of the synaptic vesicle protein lifetime distribution suggesting the presence of a bimodal process at the basis of SV biogenesis and/or degradation. Adapted with permission from (*Fornasiero et al. 2018).

Kontrolle der Biogenese und des Abbaus von Synaptischen Vesikel in neuronalem Transport: neuartige Werkzeuge zur Erforschung des Lebenszyklus von Vesikeln

Zusammenfassung

Die Funktion unseres Gehirns beruht auf chemischen Synapsen, den Kontakten zwischen Neuronen, welche für die Neurotransmitterausschüttung verantwortlich sind. An Synapsen speichern und entlassen synaptische Vesikel (SV) Neurotransmitter in streng kontrollierter Manier. Diese Organelle sind dynamische Einheiten und ständig „auf dem Sprung“. Zuerst werden SV vom Zellkörper zu den Synapsen transportiert; dann von Synapse zu Synapse und schließlich zurück zum Zellkörper, um abgebaut zu werden. Während der Prozess der Neurotransmitterausschüttung im Detail erforscht ist, verbleiben mehrere Aspekte der Entstehung und des Abbaus von SV rätselhaft. Mithilfe der Schram Stiftung werden wir neue Werkzeuge und technische Lösungen entwickeln, um genau diese Mechanismen zu untersuchen. Dies wird uns dabei helfen zu verstehen, wie die Qualität von SV gewährleistet wird, was wiederum zur Prävention von Gehirnpathologien beitragen kann.

Projektbeschreibung

Synaptische Vesikel sind kleine funktionelle Einheiten deren genau definierte Zusammensetzung aus Proteinen und Lipiden eine zuverlässige Ausschüttung von Neurotransmittern sicherstellt. Deshalb sind die Mechanismen, die zum korrekten Auf- sowie Abbau der SV führen, von zentraler Bedeutung in der Neuropathologie.

Wie kommt die streng kontrollierte Zusammensetzung SV zu Stande? Wie wird die Identität eines Vesikels während des Transportes beibehalten? Wie werden alte und potenziell defekte SV erkannt und abgebaut? Durch die großzügige Finanzierung der Schram Stiftung können wir diese Fragen mit neuartigen technologischen Lösungen adressieren, welche wir zur Studie von Transport, Biogenese und Abbau von SV entwickeln werden.

Die Organelle, aus denen SV entstehen, stammen als heterogene Vorläufer aus dem Golgi im Zellkörper von Neuronen. In diesem Stadium führen Mechanismen ähnlich der ‚Verwandtenerkennung‘, basierend auf Affinitäten zwischen verschiedenen Proteinen der SV, zur Formation von makromolekularen Komplexen. Diese ermöglichen eine erste Sortierung der heterogenen Vorläufer synaptischer Vesikel. Durch Fusionierung mit der Plasmamembran und verschiedenen endozytischen Kompartimenten werden diese Vorläufer zu voll entwickelten SV der richtigen Größe und molekularen Zusammensetzung am Ort ihres Wirkens, der Synapse.

In den letzten Jahren hat unsere Arbeitsgruppe einige Methoden etabliert, um die Stabilität von Proteinen im Gehirn in vivo präzise zu bestimmen. Ebenso haben wir computergestützte Werkzeuge entwickelt, welche zugehörige Analysen vereinfachen und die Anwendbarkeit der Methoden erweitern. Die Arbeit daran hat eine Reihe von signifikanten Beobachtungen gebracht,

1/2

Dr. Eugenio F. Fornasiero, PhD

University Medical Center Göttingen
Institut für Neuro- und Sinnesphysiologie
Humboldtallee 23
37073 Göttingen
Germany

email: [efornas\[at\]gwdg.de](mailto:efornas[at]gwdg.de)
website: www.fornasierolab.uni-goettingen.de
twitter: [@euforna](https://twitter.com/euforna)
Tel: +49 (0) 551 39 5930
Fax: +49 (0) 551 39 6031

was die Lebensdauer von synaptischen Vesikelproteinen und Vesikel-assoziierten Proteinen betrifft. Insgesamt bestätigen unsere Ergebnisse, dass komplexe Schritte mit definierter zeitlicher Abfolge zum Auf- und Abbau synaptischer Vesikel notwendig sind (**Abb. 1**).

In dieser Bewerbung werden wir drei große wissenschaftliche Ziele verfolgen, um Einblicke in die Mechanismen zu gewinnen, welche dem Lebenszyklus von Vesikeln zu Grunde liegen. Wir werden erstens den Auf- und Abbau synaptischer Vesikel in ihren dynamischen Kontexten des neuronalen Transportes untersuchen. Zweitens werden wir, um dieses Ziel zu erreichen, innovative Werkzeuge und technologische Ansätze entwickeln, die Aufschluss über Fragen zur Identität und das Alter von Organellen auf molekularem Level geben werden. Drittens, aufbauend auf den Ergebnissen der ersten beiden Ziele, werden wir mögliche Fehlerquellen im Prozess des Zusammenbaus und der Aufrechterhaltung von SV studieren, um unsere Erkenntnisse zu testen und zu festigen. Zusammenfassend ist es also unser Ziel, die detaillierte Hierarchie von Auf- und Abbauschritten zu beschreiben, die dem Kreislauf eines synaptischen Vesikels zu Grunde liegt. Dabei möchten wir verstehen, wie diese Schritte reguliert sind. Dies ermöglicht langfristig die Entwicklung von Strategien zur Bekämpfung und Milderung von kognitiven Beeinträchtigungen.

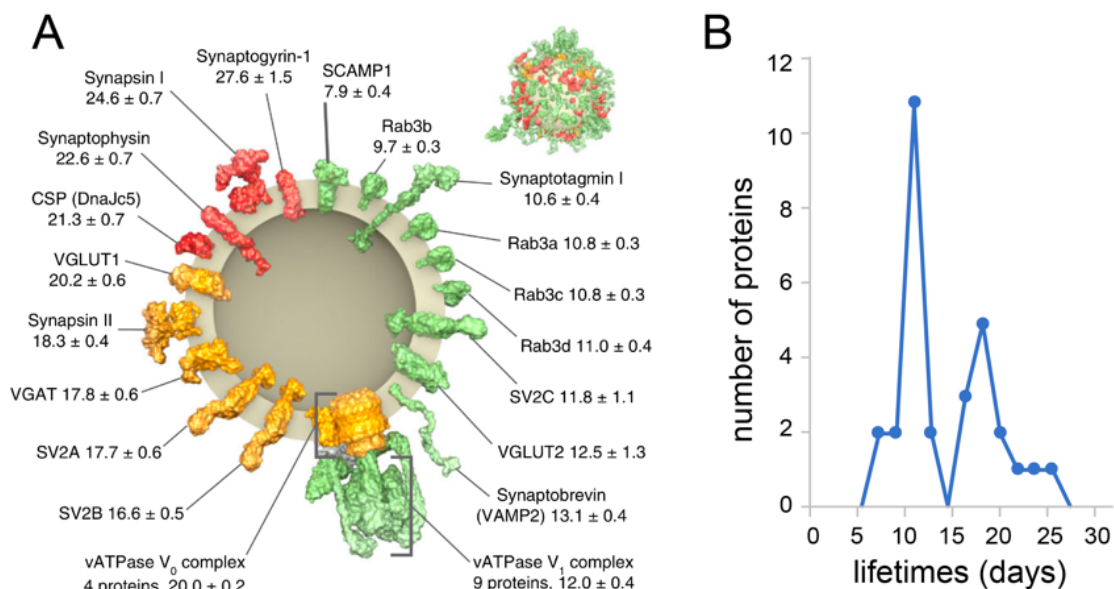


Abbildung 1. Die Lebensdauer von SV-Proteinen deutet auf eine komplexe zeitliche Regulation hin, welche dem Auf- und Abbau SV zu Grunde liegt. (A) 3D Ansicht eines modellierten synaptischen Vesikels mit Lebensdauer von 20 Proteinen (oder Proteinkomplexen). Die Proteine sind farb-kodiert von kurzlebig (grün) zu langlebig (rot). Die Zahlen geben die Lebensdauer in Tagen an und der Fehler entspricht dem 95% Konfidenzintervall. Der Einsatz in der oberen rechten Ecke repräsentiert ein synaptisches Vesikel mit farb-kodierten Proteinen und korrekten Protein-Anzahlen. (B) Histogramm der SV-Protein-Lebensdauer-Verteilung, das einen bimodalen Prozess nahelegt, auf dem der Auf- und/oder Abbau SV basiert. Verändert mit Erlaubnis aus (Fornasiero et al., Nat Commun., 2018).