



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Studies on cell differentiation and polarization using adult mouse
subventricular zone neural stem cells**

Autor: Felix Wezel
Institut / Klinik: Neurochirurgische Klinik
Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. L. Schilling

Die morphologischen und molekularen Veränderungen in der Entwicklung einer Nervenzelle, beginnend vom runden Neuroblasten bis hin zum komplex geformten und elektrophysiologisch aktiven Neuron, werden als neuronale Polarisierung bezeichnet. Neuere Studien an Primärkulturen hippocampaler Neurone zeigen, dass die Polarität durch die bei der Zellteilung determinierten Position des Centrosoms mitbestimmt wird. Die hier zugrunde liegenden Mechanismen sind bisher nicht genau geklärt. Das Ziel dieser Arbeit ist es, ein *in vitro* Zellkultursystem zu etablieren, das es ermöglicht, die Mechanismen zu untersuchen, die an der Ausbildung der neuronalen Polarität beteiligt sind, *bevor* die letzte mitotische Zellteilung abgeschlossen ist. Die Untersuchungen zeigen, dass adulte neurale Stammzellen der subventrikulären Zone (NSCs) der Maus, die in Kultur proliferieren, in Anwesenheit von Wachstumsfaktoren Neurosphären bilden und für viele Generationen in einem undifferenzierten Zustand subkultiviert werden können. Es wurden drei verschiedene Zellkulturbedingungen eingesetzt zur Differenzierung adulter NSCs in die 3 wichtigsten Subpopulationen des zentralen Nervensystems: Neurone, Astrocyten und Oligodendrocyten. In adulten NSCs, die zur Induktion der Differenzierung in Co-Kultur mit Astrocyten gehalten wurden, ist die Ausbildung von Synapsen angedeutet, ohne dass eine Polarisierung erfolgt. In Kultur mit DMEM/F-12/B27/Glukose-basiertem Medium konnte in differenzierenden Neuronen die Polarisierung der axonalen und dendritischen Domänen induziert werden. Zwei Stunden nach Induzieren der Differenzierung exprimierten 96% der Zellen den NSC-Marker Nestin. Bis 5 Tage *in vitro* konnte eine simultane Expression von β III-Tubulin als neuronaler Marker und GFAP als astroglialer Marker nachgewiesen werden. Eine endgültige Trennung dieser Marker erfolgte bis zum Tag 10 *in vitro*. Die morphologisch hochdynamische Entwicklung von NSCs in Kultur resultierte in der Ausbildung bipolarer und multipolarer Neurone. Die Daten zeigen weiterhin, dass ähnlich wie in primären hippocampalen Neuronen die Lage des Centrosoms in den meisten Zellen die Position des ersten auswachsenden Fortsatzes bestimmt. Die Applikation von Taxol[®] in den ersten 72h der Differenzierung von NSCs *in vitro* führte zu einem Arrest der Zellmigration und veränderte zudem die zelluläre Identität der differenzierenden Zellen. Darüber hinaus konnte eine erhöhte Expressionsrate von β III-Tubulin detektiert werden. Da Taxol[®] die Mikrotubuli stabilisiert, schließen wir, dass ein Arrest der dynamischen Veränderungen des mikrotubulären Systems in den ersten 72h eine wesentliche Rolle in der Zelltypspezifizierung von adulten NSCs *in vitro* spielt.