Brain explorer practicum bij ‘chemical neuroanatomy’. Januari 2016.

Als BW student ben je uitgebreid in aanraking gekomen met humane hersenanatomie. Veel kennis over verschillende neurotransmitters en hun receptoren komt uit het muizenbrein. In de ideale wereld kun je deze kennis aan elkaar koppelen.

Het doel van deze opdracht is om je kennis van neurochemie, neurofarmacologie en neuroanatomie te integreren, door in het muizenbrein expressiepatronen van genen te onderzoeken die karakteristiek zijn voor bepaalde signaalroutes in de hersenen.

Welke vragen moet je beantwoorden:

1. Waar bevinden zich de dopamine producerende cellen? Laat een plaatje zien.
2. Waar zijn de projectiegebieden hebben die neuronen? Wat is je strategie? Laat een plaatje zien! (je kunt deze vraag op twee manieren oplossen – met expressie of met connectiviteit)
3. Kun je deze vragen ook beantwoorden voor serotonine?
4. Of voor noradrenaline?
5. Of voor glutamaat?
6. Wat zit er nog meer in cellen die tyrosine hydroxylase maken? Dat wil zeggen: kun je intracellulaire interacties voorspellen?
7. Kun je vinden welke receptor als ‘autoreceptor’ voor een transmitter werkt (d.w.z. als pre-synaptische receptor)? Geef een voorbeeld.

Het middel is een webinterface met het Allen Institute for Brain Research, [www.brain-map.org](http://www.brain-map.org). Onderzoekers van dit instituut hebben op industriële schaal expressiepatronen in de hersenen bepaald voor > 15.000 genen. Hiertoe hebben ze coupes van 6000 muizenbreinen gesneden en in situ hybridisatie gedaan, voor ieder mRNA transcript op 30 coupes die de tezamen de meeste hersenkernen bevatten.

De opdracht is in wezen simpel: het is aan jouw om met behulp van informatie uit Bear, één of meerdere transcripten te bedenken die het antwoord op de vragen kunnen geven, en via de zoekfunctie van de website het expressiepatroon van dat transcript te bepalen. Je kunt je gennaam (ook die moet je dan wel opzoeken, bijvoorbeeld via NCBI), intikken, het gen selecteren. Met het bekijken van de ‘thumbnails’ krijg je al een goed overzicht van de grove expressiepatronen.

Voor vragen over verbindingen tussen hersengebieden is er de connectivity atlas. Hier zijn de projecties vanuit een bepaald gebied in beeld gebracht door het injecteren van een virus dat codeert voor een fluorescente stof die de axonen vult. Zo is te zien waar projecties heengaan vanuit de injectieplaats. Dit is soms selectief voor bepaalde celtypes, door het gebruik van specifieke promoters voor expressie van het virus

In detail voor expressie:

1. ga naar [www.brain-map.org](http://www.brain-map.org).
2. Ga naar ‘mouse brain’ in de menu-balk, onder ‘Data and Tools’)
3. Je kunt ook bij ‘other tools’ de *Reference Atlas’*  openen.
4. Selecteer ‘gene search’
5. Type de naam van het gen van interesse in (bv ‘tryptophan hydroxylase 2’, een enzym voor de synthese van serotonine)
6. Selecteer het gen uit het ‘drop-down’ menu dat verschijnt (evt al voor dat je uitgetypt bent)
7. Klik op de knop voor je gen van interesse
8. Je kunt nu kiezen uit verschillende datasets. In de regel geven coronale coupes het makkelijkst te interpreteren beeld van muizenhersenen. De data komen uit hybridisaties van probes met mRNA – de antisense probe is complementair aan de mRNA en geeft dus et specifieke signaal. Sense probes zijn identiek aan de mRNA, mogen dus niet hybridiseren en dienen als negatieve controle.

Je selecteert dus het (of een) ‘coronal antisense’ dataset, dmv ‘add’. De dataset wordt toegevoegd aan ‘your selections’

1. Klik nu op ‘view selection’, onderaan de rij met experimenten. Je krijgt bovenin een rij waarin de hersenen van voor tot achter gesneden zijn. Je kunt met de schuif een algemene indruk krijgen van de expressie. Voor een gedetailleerd beeld kun je klikken op het icoon; je krijgt dan een uitvergroting waarop je in- en uit kunt zoomen.
2. Klik op ‘atlas’ rechtsboven – dan kun je ook de atlas ernaast zien.

Klikken op het derde van vijf kleine icoontjes in de vensters synchroniseert de verschillende vensters uit de atlas (het icoontje met 4 pijlen naar het midden wijzend)

11. Bekijk in de lijst met datasets wat er samen met een gen nog meer tot expressie komt: de knop correlaties in het panel rechts (boven een plaatje met globale expressie). Dit kan ook per hersengebied.

In detail voor connectiviteit

1. Ga naar connectivity.brain-map.org

2. Vul je region of interest in by ‘Filter source structure’

3. Selecteer een dataset, links onder (onder het plaatje met de injectiesites)

4. Klik op ‘view datasets’. Je kunt nu van voor naar achter door het brein heen klikken en kijken waar signaal is dat afkomstig is uit je ‘source structure’