

УДК 576.32/36:612.014

РЕКОНСТРУКЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО ИНТЕРАКТОМА В СИСТЕМЕ ГЛУТАМАТНЫХ СИНАПСОВ

© 2014 г. А.Л. Проскура, С.О. Вечкапова, Т.А. Запара, А.С. Ратушняк

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Конструкторско-технологический институт вычислительной техники
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,
e-mail: annleop@mail.ru

Поступила в редакцию 9 октября 2014 г. Принята к публикации 31 октября 2014 г.

Субъединичный состав ионотропных глутаматергических рецепторов играет важную роль в функционировании синапсов. НМДА рецепторы опосредуют быструю возбуждающую нейротрансмиссию и способны конвертировать специфические паттерны нейрональной активности в долговременные изменения синаптической структуры и функций. Основные функциональные свойства (ионная проводимость, чувствительность к глутамату и агонистам, ионам магния, время деактивации), пространственное расположение, закрепление на мембране, чувствительность к фармакологическим агентам определяются их субъединичной композицией. Исследование системы межбелковых взаимодействий в макрокомплексах субъединиц НМДА рецепторов является актуальной задачей. Ее решение позволит приблизиться к пониманию принципов и молекулярных механизмов реализации основных функций нейронов, механизмов развития патологических состояний, поиску фармакологических и терапевтических мишеней их коррекции. Целью работы явилось проанализировать и реконструировать белок-белковые взаимодействия субъединиц НМДА рецепторов, которые обеспечивают их подвижность и закрепление на синаптической мембране, а также функциональную роль в процессах изменения и поддержания эффективности синаптической передачи в гиппокампе. Выделено три группы белков. Они обеспечивают формирование макрокомплексов НМДА рецепторов в глутаматергических синапсах гиппокампа. Белки разнесены на группы по их функции в комплексах на основании информации из различных баз данных, научных статей, в которых охарактеризованы структура гена и белка, экспрессия в мозге, их роль в процессах синаптической пластичности. Особое внимание уделялось белкам, для которых установлена связь с различными когнитивными нарушениями.

Ключевые слова: глутаматные рецепторы, макрокомплексы, синаптическая пластичность.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из структурно-функциональных элементов нейрона, опосредующих осуществление им основных информационных функций, являются межклеточные контакты – синапсы. Синаптические процессы наиболее изучены в гиппокампе, который вовлечен в процессы восприятия информации, ее распознавания, анализа и запоминания (Kjelstrup *et al.*, 2008; Hawley *et al.*, 2012). Одним из основных медиаторов синапсов гиппокампа позвоночных является глутаминовая кислота (глутамат), обеспечивающая быструю возбуждающую нейротрансмиссию (Moloney, 2002), действие которой опосредуется

через мембранные глутаматные рецепторы нескольких типов. Существуют ионотропные и метаботропные глутаматные рецепторы.

Метаботропные глутаматные рецепторы связаны с G-белковым комплексом, реализуют медленную реакцию на глутамат и модулируют уровень продукции вторичных мессенджеров (Lee *et al.*, 2004).

Ионотропные глутаматные рецепторы формируют проницаемые для катионов ионные каналы и подразделяются на три больших семейства по их чувствительности к действию различных агонистов. НМДА рецепторы чувствительны к N-метил-D-аспарагиновой (НМДАР) кислоте; АМПА рецепторы – к α -амино-3-гидрокси-

5-метил-4-изоксазолпропионово́й кислоте; каинатные рецепторы – к каинатной и квикватной кислотам (Bochet, Rossier, 1993).

По современным данным, НМДА рецепторы опосредуют быструю возбуждающую нейротрансдукцию, играя важную роль в функционировании центральной нервной системы (ЦНС) млекопитающих (Paoletti *et al.*, 2013). Этот тип глутаматных рецепторов вносит существенный вклад в обеспечение пластичности мозга и способен конвертировать специфические паттерны нейрональной активности в долговременные изменения синаптической структуры и функций, что, как предполагают, лежит в основе высших когнитивных функций (Lau, Zukin, 2007; Traynelis *et al.*, 2010).

НМДА рецепторы собираются из гликопротеин-липидных субъединиц, которые формируют несколько подтипов рецепторно-ионных комплексов с медленной динамикой запуска, так как для их активации необходимо совпадение химического сигнала (нейромедиатор) с определенным потенциалом на мембране. Для активирования также необходим глицин. НМДА рецепторы проводят ионы кальция и натрия и блокируются ионами магния (Nowak *et al.*, 1984; Сергеев и др., 1999).

Все подтипы НМДА рецепторов представляют комплексы двух копий (гомодимеров) субъединиц GluN1 (NR1), GluN2 (NR2A, NR2B, NR2C, NR2D), GluN3 (NR3A, NR3B), каждая из которых кодируется отдельным геном (*Grin1* (субъединица zeta), *Grin2a-2d* (субъединицы epsilon 1-4), *Grin3a-3b*) (Nagasawa *et al.*, 1996). Субъединичный состав варьирует в различных отделах мозга и регулируется в процессе развития (Paoletti *et al.*, 2013).

В ЦНС находится порядка 10^6 глутаматергических нейронов (Egceńska, Silver, 1990). В центральных отделах ЦНС, в частности в коре и гиппокампе, они часто формируют так называемые шипиковые синапсы, в которых постсинаптическая часть представлена небольшими выростами на поверхности дендрита – дендритными шипиками (Harris, Stevens, 1989; Smrt, Zhao, 2010).

Дендритный шипик имеет упорядоченную организацию на горизонтальном (мембрана шипика – синаптическая (собственно постсинапс в синаптическом контакте), перисинаптическая,

экстрасинаптическая) и вертикальном (межбелковые сети сигнальных и структурных белков, постсинаптическое уплотнение (ПСУ)) уровнях (Chen *et al.*, 2008; Newpher, Ehlers, 2008).

Глутаматные рецепторы закрепляются на синаптической мембране дендритных шипиков за счет взаимодействия со структурными белками (скаффолд-белки), которые формируют ПСУ наподобие ортогональной решетки (Chen *et al.*, 2008). Отличительной особенностью скаффолдов является присутствие в их молекулах PDZ доменов, которые обеспечивают специфическое одновременное объединение разнообразных белков-партнеров, например заякоривание трансмембранных рецепторов к элементам цитоскелета, а также поддержание целостности функциональных белковых макрокомплексов (Gerek *et al.*, 2009). В ПСУ обнаружено около 620 белков, более 450 объединяется с НМДА рецепторами (Collins *et al.*, 2006). Имеются данные о том, что молекулярная масса таких макрокомплексов может достигать до 2 000 кДа (Husi, Grant, 2001).

В субъединицах НМДА рецепторов выделяют несколько доменов. Внеклеточный модуль доменов отвечает за их объединение, связывание с агонистами. Трансмембранный домен обеспечивает ионную селективность. Внутриклеточный (цитоплазматический) домен вовлечен в транспортировку рецепторов, их закрепление на мембране, связь с сигнальными молекулами (Paoletti *et al.*, 2013).

На синаптической мембране дендритных шипиков комплексы НМДА рецепторов варьируют в диапазоне 1–5, являются обязательным составляющим элементом глутаматного синапса (в отличие от присутствия в нем АМПА рецепторов; Takumi *et al.*, 1999; Rassa *et al.*, 2000) и объединяются в центре синаптической мембраны (Chen *et al.*, 2008), что, как предполагают, обеспечивает строгую локализацию в пространстве входящего через них потока ионов кальция в течение синаптической активности (Raghuram *et al.*, 2012). В нейронах гиппокампа в макрокомплексах НМДА рецепторов синапсов находятся метаботропные глутаматные рецепторы (mGluR1a/5), локализованные на перисинаптической мембране шипиков (Luján *et al.*, 1997), и рецепторы, расположенные на мембране эндоплазматического ретикулаума,

ответственные за выброс ионов кальция из внутриклеточного депо (Cai *et al.*, 2004). Таким образом, в дендритных шипиках обеспечивается функциональная организация mGluR1 α /5-InsP3R-Ca²⁺ сигнального пути (Tu *et al.*, 1999, 2004; Shiraishi-Yamaguchi *et al.*, 2009). Через скаффолды также происходит физическое объединение макрокомплексов НМДА рецепторов с белками эндоцитозных зон, расположенных в экстрасинаптической мембране дендритных шипиков (Lu *et al.*, 2007; Jaskolski *et al.*, 2007).

Следовательно, цитоплазматические домены выступают в качестве остова головки шипика, вокруг которого происходит высокодинамичное функциональное объединение протеинов шипика, что регулируется ионами кальция в период синаптической активности.

По современным представлениям, считается, что четыре субъединицы NR2 определяют функциональную гетерогенность НМДА рецепторов. Для них характерен значительный разброс в профиле пространственно-временной экспрессии (Akazawa *et al.*, 1994; Monyer *et al.*, 1994; Sheng *et al.*, 1994). В мозге новорожденных экспрессируются субъединицы NR2B и NR2D. По мере взросления данные субъединицы встречаются главным образом в каудальных отделах мозга (Schito *et al.*, 1997; Paoletti *et al.*, 2013). В период активного созревания синапсов и установления межсинаптических контактов происходят активирование экспрессии гена *Grin2a* и активное включение в НМДА рецепторы субъединиц NR2A (Dumas, 2005). В мозге взрослых млекопитающих ди-гетеромерные комплексы NR1/NR2A являются доминирующими, хотя и остается популяция NR2B-содержащих рецепторов, имеющая главным образом несинаптическое расположение (Paoletti *et al.*, 2013).

Замена субъединичного состава меняет основные свойства НМДА рецепторов. NR1/NR2A характеризуются быстрой кинетикой и высокой ионной проводимостью, но низкой чувствительностью к глутамату. NR2B-содержащие рецепторы медленнее деактивируются, вероятность их срабатывания гораздо ниже, но при этом их чувствительность к глутамату выше по сравнению с NR2A. Рецепторы с субъединицами NR2C и NR2D характеризуются наиболее медленной кинетикой и низкой чувствительностью к ионам магния (Hedegaard *et al.*, 2012).

Следовательно, по мере взросления на синапсах появляются НМДА рецепторы с более высокой вероятностью открытия, лучшей проводимостью для ионов кальция, коротким интервалом деактивирования и пониженной аффинностью к глутамату. Также NR2A- и NR2B-содержащие рецепторы по-разному взаимодействуют со своими эндогенными коагонистами (d-серинном, глицином) (Parouin *et al.*, 2012). Цитоплазматические домены субъединиц отличаются по набору сайтов связывания с различными структурными и сигнальными белками дендритных шипиков (Cousins *et al.*, 2009a; Parouin, Oliet, 2014). Межбелковые взаимодействия в постсинапсе (дендритных шипиках) вслед за активированием НМДА рецепторов приводят к изменению эффективности синаптической передачи (Проскура и др., 2013; Fan *et al.*, 2014). Субъединичный состав синаптических рецепторов, следовательно, играет важную роль в функционировании синапсов. Так, нарушение баланса NR1/NR2A, NR1/NR2B лежит, по крайней мере отчасти, в основе эксайтотоксичности (значительное поступление в нейроны ионов кальция через НМДА рецепторы в результате их гиперактивации), что может приводить к гибели нейрона и, как следствие, к нарушениям в различных структурах мозга (Lau, Zukin, 2007; Paoletti, 2011; Fan *et al.*, 2014).

Таким образом, исследование системы межбелковых взаимодействий в макрокомплексах субъединиц НМДА рецепторов является актуальной задачей, решение которой позволит приблизиться к пониманию принципов и молекулярных механизмов реализации основных функций нейронов, механизмов развития патологических состояний; поиску фармакологических и терапевтических мишеней их коррекции.

Межбелковые взаимодействия в макрокомплексах НМДА рецепторов

Проанализированы и реконструированы белок-белковые взаимодействия субъединиц ионотропных глутаматных НМДА рецепторов, которые обеспечивают их подвижность и закрепление на синаптической мембране, а также функциональную роль в процессах изменения и поддержания эффективности синаптической

передачи в гиппокампе. Нами выделено три группы белков, которые обеспечивают формирование макрокомплексов НМДА рецепторов в глутаматергических синапсах, в частности нейронов CA1 поля гиппокампа. Белки разделены на группы по их функции в комплексах на основании информации из баз данных (главным образом Swiss-Prot, String, Kegg, GeneCards) научных статей (включая как экспериментальные, так и обзорные публикации), в которых охарактеризована структура гена и белка, экспрессия в мозге, в особенности на возбуждающих синапсах гиппокампа, роль в процессах синаптической пластичности. Особое внимание уделялось белкам, для которых установлена связь с различными когнитивными нарушениями.

Первую группу представляют мембранные мультидоменные белки, обеспечивающие сцепление пре- и постсинаптической мембраны синапса, формирование кластеров рецепторов, объединение различных синаптических трансмембранных рецепторов в функциональные комплексы (белки LRFN, PRR7, MPDZ, NETO1, INADL и пр.).

Вторая – скаффолд-белки ПСУ. Ключевым в данной категории выступает белок PSD95, член семейства MAGUK, который часто рассматривается как маркер ПСУ (Chen *et al.*, 2008). Семейство Sapap (Dlga1, 2, 3, 4 (Disks large-associated protein)) объединяет скаффолды семейства MAGUK между собой. Белки Begain (Brain-enriched guanylate kinase-associated protein) формируют троичный комплекс между белками PSD95 и Dlga1, выступая в роли каркасной решетки ПСУ (Deguchi *et al.*, 1998). Основная роль данной группы белков – закрепление рецепторов через взаимодействие с их цитоплазматическими доменами. Скаффолды являются наиболее представленной группой. Масс-спектрометрия и другие методы дают оценку примерно 60–400 главных молекул скаффолд-белков ПСУ (Peng *et al.*, 2004; Chen *et al.*, 2005; Cheng *et al.*, 2006). Часть скаффолдов можно рассматривать как слоты для посадки трансмембранных рецепторов синапса, их пространственного закрепления в пределах синапса, например, за счет взаимодействия с интегринами. Причем некоторые скаффолды объединяются с рецепторами еще в эндоплазматическом ретикулуме и контролируют, таким образом, их доставку к синапсам и

закрепление на ПСУ. Известно, что скаффолд Sap102 (Dlga3) играет ключевую роль именно в доставке NR2B-содержащих НМДА рецепторов, а PSD95 – в их закреплении на синаптической мембране в центре ПСУ (Chung *et al.*, 2004).

Третью группу представляют адаптерные, или вспомогательные, белки. Эти белки, по сути, являются функциональными элементами, благодаря которым происходит объединение структурно-функциональных сигнальных, эффекторных молекул в головке дендритного шипика в процессе НМДАР-зависимой индукции синаптической пластичности. В литературе нет четкого разделения между скаффолдами и адаптерами. Адаптеры, согласно нашему мнению, выступают, скорее, в роли динамичных площадок для временного или постоянного закрепления киназ, фосфатаз, малых ГТФаз, регуляторов их активности, молекул сигнальных путей, играя при этом ключевую роль в формировании функциональных комплексов разнообразных белков, межбелковые взаимодействия между которыми обеспечивают изменение и поддержание синаптической эффективности. Основными представителями данной группы в глутаматергических синапсах выступают белки семейств Homer (Homer protein homolog 1), Baiap (Brain-specific angiogenesis inhibitor 1-associated protein), GIT (G protein-coupled receptor kinase-interactor 1). **Мультимеризуясь, эти белки могут быстро перестраивать набор макрокомплекса, временно объединять белки различных сигнальных каскадов для определенных процессов.** То есть если во второй группе белки формируют устойчивые связи с определенным набором белков, играя главным образом каркасную роль в ПСУ, то адаптеры, объединяясь с предыдущей группой, предоставляют площадки для динамичного закрепления молекул, обеспечивающих функциональную и структурную (основанную на актиновом цитоскелете) пластичность синапса.

NR1 субъединицы являются облигаторными и объединяются с двумя NR2 (NR1/NR2) либо NR3 (NR1/NR3) субъединицами (дигетеромерные комплексы НМДА рецепторов). Существуют варианты тригетеромерных комплексов НМДА рецепторов (NR1/NR2/NR3) (Traynelis *et al.*, 2010; Paoletti *et al.*, 2013). Спорадические мутации в гене *Grin1* опосредуют, как считается,

несиндромные интеллектуальные нарушения. При этом наблюдаются значительное снижение интеллектуального уровня и нарушение адаптивного поведения (Hamdan *et al.*, 2011).

Дигетеромерные комплексы NR1/NR2A доминируют в мозге взрослых млекопитающих, популяция NR2B-содержащих рецепторов имеет главным образом несинаптическое расположение (Paoletti *et al.*, 2013; Papouin, Oliet, 2014).

Нами проанализирован набор белков из указанных трех групп для субъединиц NR1, NR2A и NR2B НМДА рецепторов (табл.).

NR1 субъединица объединяется с белками, которые отвечают за адгезию синаптической щели и взаимодействие с ключевыми скаффолд белками ПСУ.

Белки SALM3 и SALM5 (семейство LRFN), как считается, участвуют в индукции пресинаптической дифференцировки у контактирующих с дендритами аксонов (Nam *et al.*, 2011). Взаимодействие SALM1 через C-терминальный PDZ мотив с белком ПСУ PSD95 важно для рекрутирования и кластеризации на синаптической мембране НМДА рецепторов (Ko *et al.*, 2006). LRFN1 (SALM2) также способен взаимодействовать с GluR1 субъединицей АМПА рецепторов, чем способствует объединению НМДА и АМПА рецепторов в единый функциональный комплекс на синаптической мембране (Nam *et al.*, 2011). Таким образом, SALM1 обеспечивает раннее формирование синапсов, а SALM2 обеспечивает созревание уже существующих дендритных шипиков через сокластеризацию АМПА и НМДА рецепторов. Хромосомная транслокация t(14;21)(q21.1;p11.2) приводит к нарушению экспрессии гена, кодирующего LRFN5, что связано с аутизмом (de Bruijn *et al.*, 2010).

Интересно отметить роль предшественника амилоида APP695 для экспрессии НМДА рецепторов на синаптической мембране. Считается, что APP695 взаимодействует с NR1 субъединицей (Cousins *et al.*, 2009b), но при этом играет существенную роль в доставке во взрослые синапсы NR1/NR2A рецепторов, вероятно, через взаимодействие с трансмембранными белками НЕТО, которые взаимодействуют с NR2A субъединицами (Cousins *et al.*, 2013; Molnár, 2013). У нокаутных по гену *Neto1* мышей наблюдается нарушение

долговременной потенциации и связанного с работой НМДА рецепторов пространственного обучения и запоминания (Ng *et al.*, 2009).

Таким образом, можно сделать вывод, что NR1 субъединицы взаимодействуют главным образом с скаффолд-белками, которые мы условно относим к первой группе, обеспечивая пространственное позиционирование НМДА рецепторных комплексов на синаптической мембране при образовании и/или созревании синапсов. Вовлеченность в данные взаимодействия белка предшественника амилоида APP695 делает перспективным изучение механизмов закрепления НМДА рецепторов определенного субъединичного состава (а именно NR1/NR2A) на глутаматергических синапсах гиппокампа в исследовании когнитивных нарушений при развитии болезни Альцгеймера.

Субъединицы NR2A и NR2B непосредственно взаимодействуют с ключевым белком ПСУ – PSD95. При этом участки цитоплазматических доменов, отвечающие за данные взаимодействия, различаются у субъединиц (Cousins *et al.*, 2009a).

Цитоплазматические домены NR2B и NR2A взаимодействуют с различным, но пересекающимся набором дендритных белков (табл.).

Трансмембранные белки INADL (InaD-like protein, Channel-interacting PDZ domain-containing protein) выступают каркасом, объединяющим структурно разные, но связанные функционально белки на синаптической мембране: субъединицы НМДА рецепторов (NR2A, NR2B, NR2C, NR2D), калиевые каналы, немедиаторные рецепторы, белки клеточной адгезии. Адаптерный белок KIBRA взаимодействует с INADL и вовлечен в процессы нейропластичности, апоптоза и регулирования цитоскелета (Laugier *et al.*, 2006) (рис. 1). В гиппокампальных нейронах эти белки распределены в соматодендритных компартментах в виде гомодимеров, а также хорошо представлены в ПСУ дендритных шипиков, объединяя сигнальные молекулы с элементами цитоскелета (Johannsen *et al.*, 2008). Имеются данные, что KIBRA прямо связывается с PICK1 (protein interacting with C-kinase 1) и формирует комплексы с АМПА рецепторами (Makuch *et al.*, 2011). Показана взаимосвязь генетической вариабельности KIBRA с риском возникновения болезни Альцгеймера с возра-

Таблица

Белки макрокомплексов НМДА рецепторов

Субъединица	Белки	Функция	Взаимодействие с	Процессы	Литературный источник
NR1	LRFN 1-5 (SALM1-5)	Адгезионное взаимодействие пре- и пост-синапса возбуждающих синапсов	PSD-95, ионотропные каналы, белки клеточной адгезии, скаффолд-белки ПСУ, адапторные белки и пр.	Формирование межбелковых взаимодействий в синаптической зоне дендритного шипика	Ko <i>et al.</i> , 2006 Nam <i>et al.</i> , 2011
NR1	PRR7	Трансмембранные белки, объединяющие рецепторы с белками ПСУ			Murata <i>et al.</i> , 2005
NR1	MPDZ	Трансмембранные белки, объединение различных рецепторов, протейкиназа, малых ГТФаз	SynGAP, SamkII	Ремоделирование цитоскелета, усиление проводимости ионотропных рецепторов	Ullmer <i>et al.</i> , 1998; Krapivinsky <i>et al.</i> , 2004
NR1	APP695	Доставка НМДАР к синаптической мембране			Cousins <i>et al.</i> , 2009b
NR2B	Magi-3	Трансмембранные белки, объединение медиаторных и немедиаторных рецепторов на мембране	PTEN LPR2	Модулирование активности киназы Akt1 Регулирование MAPK, ERK1/2 и PI3K-Акт сигнальных путей	Zhang <i>et al.</i> , 2007; Hoe <i>et al.</i> , 2006
NR2B	Kalirin7	Регуляция и реорганизация цитоскелета			Penzes <i>et al.</i> , 2001; Kiraly <i>et al.</i> , 2011
NR2B NR2A	PSD-95 (Dlg4)	Центральный скаффолд ПСУ	Begain, белки семейств MAGUK, Sapar, Shank	Закрепление НМДАР, формирование структуры ПСУ	Cousins <i>et al.</i> , 2009a; Chen <i>et al.</i> , 2005, 2008; Cheng <i>et al.</i> , 2006; Deguchi <i>et al.</i> , 1998; Iida <i>et al.</i> , 2007; Park <i>et al.</i> , 2003
NR2B NR2A	INADL	Трансмембранные белки, объединение на синаптической мембране разнообразных рецепторы, белки клеточной адгезии	KIBRA, PICK1, PKCa	Зависящий от активности НМДАР эндолитоз рецепторов, в частности AMPAR	Lauriat <i>et al.</i> , 2006; Johannsen <i>et al.</i> , 2008; Makuch <i>et al.</i> , 2011

Окончание таблицы

Субъ-единица	Белки	Функция	Взаимодействие с	Процессы	Литературный источник
NR2A	S-SCAM	Трансмембранный белок, объединяющий ключевые структурные и адаптерные белки ПСУ в макрокомплексах	Dendrin, ACTN1, KIBRA; RhoA; Dlgap, Shank, GIT1, PIX; Atrophin1, Baiap2, Tiam, Wave; Shank, Drebrin Homer, IP3R PTEN KIDINS220 Нейролигины Stargasin	Ремоделирование подмембранного цитоскелета Регуляция структурной пластичности шипика Выброс внутриклеточного Ca ²⁺ Модулирование активности Akt1-сигнального пути Субстрат для PKD, опосредует работу ERK1/2 сигнального каскада, регулирует работу NTR, объединяя с рецепторами для BDNF Адгезионное взаимодействие в синаптической щели Объединение в единый функциональный комплекс НМДАР и АМРАР	Kawata <i>et al.</i> , 2006; Hirao <i>et al.</i> , 1998; Gout <i>et al.</i> , 2000; Park <i>et al.</i> , 2003; Shiraishi-Yamaguchi <i>et al.</i> , 2009; Iida <i>et al.</i> , 2004; Deng <i>et al.</i> , 2006; Iglesias <i>et al.</i> , 2000; Agévalo <i>et al.</i> , 2004
NR2A	NETO	Трансмембранный белок, закрепление на синапсах NR2A-НМДАР	Dlg3 (SAP102), Dlg2 (PSD-93)	Доставка НМДАР к синаптической мембране	Ng <i>et al.</i> , 2009; Cousins <i>et al.</i> , 2013

Примечание. ПСУ — постсинаптическое уплотнение, НМДАР — НМДА-рецептор, АМРАР — АМРА-рецептор.

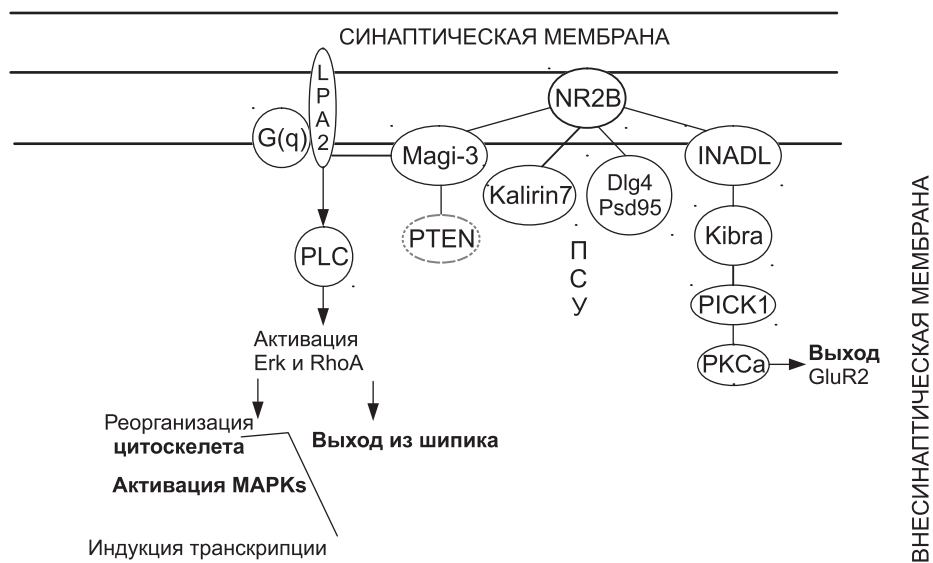


Рис. 1. Межбелковые взаимодействия белков дендритных шипиков с цитоплазматическим доменом субъединицы NR2B НМДА рецепторов.

Стрелками показаны функциональные взаимодействия в течение синаптической активности.

Fig. 1. Protein-protein interactions of dendritic spines with cytoplasmic domains of the NR2B subunit of NMDA receptors.

Arrows indicate functional interactions during the synaptic activity.

стом (Almeida *et al.*, 2008; Rodríguez-Rodríguez *et al.*, 2009; Corneveaux *et al.*, 2010; Burgess *et al.*, 2011), депрессией (Galecki *et al.*, 2010). У мышей с нарушением экспрессии данного белка наблюдаются серьезные нарушения обучения и памяти (Makuch *et al.*, 2011).

NR2A-специфическими белками выступают NETO1 и S-SCAM (рис. 2). NETO1 хорошо представлен в дендритных шипиках возбуждающих синапсов, в частности в поле CA1 гиппокампа, является крайне важным для поддержания NR2A-содержащих НМДА рецепторов на синаптической мембране и вовлечен в процессы обучения и формирования памяти (Ng *et al.*, 2009). В литературе обсуждаются его роль в качестве вспомогательной субъединицы НМДА рецепторов и взаимодействие с предшественником амилоидного белка (Molnár, 2013). Установлено, что NETO1 взаимодействует с NR2A через их внутриклеточный цитоплазматический домен. Вероятно, что NETO1 важен для закрепления NR2A-содержащих рецепторов на синапсах и в данное взаимодействие непрямо вовлечен белок APP695 (Cousins *et al.*, 2013). Поиск белка, выступающего молекулярным мостиком между APP695, NR2A и NETO1, может быть интерес-

ным для понимания развития патологии. Так, показана взаимосвязь между нарушениями синаптических контактов нейронов поля CA1 гиппокампа и когнитивными нарушениями в ранней фазе болезни Альцгеймера (Counts *et al.*, 2014).

Наш анализ наборов белков субъединиц позволяет рассматривать S-SCAM как ключевой белок, опосредующий различную функциональную вовлеченность NR2B- и NR2A НМДА рецепторов в процессы синаптической пластичности. S-SCAM – крупный мультидоменный белок, объединяющий в макрокомплексах ключевые белки ПСУ, прежде всего семейства Dlg и Dlgap. Наиболее известными из них являются белки PSD95, Gcar, Shank, дендрин, атрофин, Kiddins220, белки клеточной адгезии (Hirao *et al.*, 1998; Gout *et al.*, 2000; Iglesias *et al.*, 2000; Park *et al.*, 2003; Iida *et al.*, 2004; Deng *et al.*, 2006; Kawata *et al.*, 2006; Shiraishi-Yamaguchi *et al.*, 2009). Таким образом, данный белок, относясь к структурным белкам ПСУ, выступает площадкой для разнообразных адаптерных белков, которые, в свою очередь, выступают молекулярными мостиками для белков, обеспечивающих структурно-функциональные из-

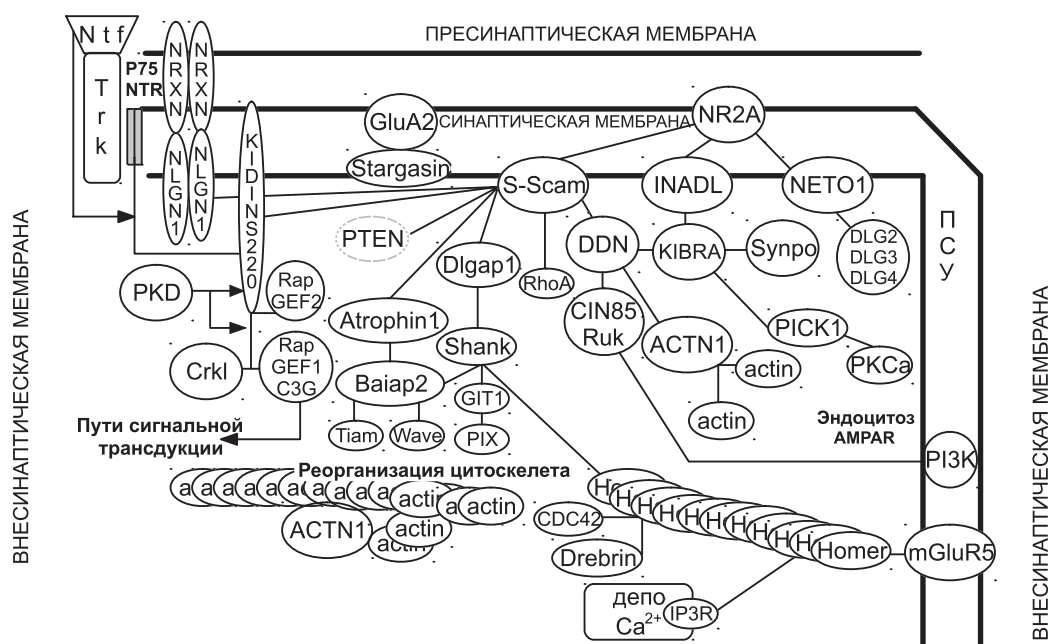


Рис. 2. Межбелковые взаимодействия дендритных шипиков с цитоплазматическим доменом субъединицы NR2A НМДА рецепторов.

Стрелками показаны функциональные взаимодействия в течение синаптической активности.

Fig. 2. Protein-protein interactions of dendritic spines with cytoplasmic domains of the NR2A subunit of NMDA receptors.

Arrows indicate functional interactions during the synaptic activity.

менения, вызванные входящими через НМДА рецепторы ионами кальция (Проскура и др., 2013; Fan *et al.*, 2014).

На рис. 2 реконструирована схема межмолекулярных взаимодействий, которые происходят в постсинапсе после активирования NR2A-НМДА рецепторов и обеспечивают связь между ионотропными рецепторами, расположенными на синаптической мембране, и рецепторами нейротрофических факторов, расположенными преимущественно в околосинаптической зоне (рис. 2, показано в виде стрелок). Ключевым при этом выступает белок Kiddins220. Kiddins220 (синоним ARMS) является интегральным мембранным белком, экспрессируется в мозге и выступает субстратом для серин-треониновой киназы D (PKD) (Iglesias *et al.*, 2000). ARMS взаимодействует с Trk и p75 рецепторами нейротрофинов через формирование тройничного комплекса, в котором экстраклеточные домены TrkA и p75 рецепторов важны для ассоциации рецепторов, а подмембранный район p75 отвечает за взаимодействие с Kidins220/ARMS. ARMS может быть фосфорилирован по

треонину Trk киназой после присоединения к Trk рецептору нейротрофинов. ARMS выступает, таким образом, посадочной площадкой для белков (CrkL-C3G complex (Arévalo *et al.*, 2004, 2006)), которые далее включают ERK киназный сигнальный путь (Rap1-зависимое включение) (рис. 2). Вероятно, данный механизм может реализоваться и для такого важного для развития мозга и синаптической пластичности нейротрофического фактора, как BDNF. У мышей ARMS/Kidins220(+/-) наблюдается упрощение ветвления дендритов, снижение плотности дендритных шипиков, нестабильность шипиков (Wu *et al.*, 2009). Выключение экспрессии гена Kidins220 приводило к ухудшению базовой активности нейронов и гибели нейронов в условиях эксайтотоксичности (Lopez-Menéndez *et al.*, 2009).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенная работа позволила структурировать разнообразный материал о межбелковых взаимодействиях в макрокомплексах субъеди-

ниц НМДА рецепторов на синапсах нейронов поля СА1 гиппокампа. Выделены ключевые белки, обеспечивающие пространственное взаимодействие протеинов партнеров, обеспечивающих изменение синаптической эффективности после активирования НМДА рецепторов и входа в постсинапс ионов кальция.

NR2A- и NR2B-содержащие НМДА рецепторы отличаются по своим основным характеристикам: ионной проводимости, чувствительности к глутамату и агонистам, ионам магния, времени деактивации. В своей работе мы наглядно демонстрируем, что помимо этого субъединичный состав определяет включенность рецептора в постсинаптические процессы, запускаемые интенсивной активацией синапса (например в результате индукции долговременной потенциации). Белковый набор NR2A взаимодействий более обширен, обеспечивает возможности формирования функциональных взаимодействий с немедиаторными рецепторами синапсов. Наиболее представлены в данных макрокомплексах регуляторы ремоделирования цитоскелета, что в очередной раз демонстрирует тесную связь функциональной (изменение силы синапса) и структурной пластичности (изменение формы, размера ПСУ и постсинапса в целом) глутаматергических синапсов гиппокампа взрослых животных.

БЛАГОДАРНОСТИ

В работе использованы материалы, полученные при выполнении интеграционного проекта Президиума СО РАН № 136, базового проекта 35.1.5, гранта РФФИ № 12-01-00639-а.

Работа поддержана грантами Минобрнауки России № RFMEFI61914X0005 и № RFMEFI62114X0010.

ЛИТЕРАТУРА

- Проскура А.А., Малахин И.А., Турнаев И.И., Суслов В.В., Запара Т.А., Ратушняк А.С. Межмолекулярные взаимодействия в функциональных системах нейрона // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2013. Т. 17. Вып. 4/1. С. 620–628.
- Proskura A.L., Malakhin I.A., Turnaev I.I., Suslov V.V., Zapara T.A., Ratuschnyuk A.S. Intermolecular interactions in functional neuron systems // Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii. 2013. V. 17. I. No. 4/1. P. 620–628. (In Russian).
- Сергеев П.В., Шимановский Н.Л., Петров В.И. Рецепторы физиологически активных веществ. Волгоград: Сем ветров, 1999. 640 с.
- Sergeev P.V., Schimanovsky N.L., Petrov V.I. Receptors of physiologically active substances. Volgograd: Sem' vetrov, 1999. P. 640. (In Russian).
- Akazawa C., Shigemoto R., Bessho Y., Nakanishi S., Mizuno N. Differential expression of five N-methyl-D-aspartate receptor subunit mRNAs in the cerebellum of developing and adult rats // J. Comp. Neurol. 1994. V. 347. P. 150–160.
- Almeida O.P., Schwab S.G., Lautenschlager N.T., Morar B., Greenop K.R., Flicker L., Wildenauer D. KIBRA genetic polymorphism influences episodic memory in later life, but does not increase the risk of mild cognitive impairment // J. Cell Mol. Med. 2008. V. 12. No. 5. P. 1672–1676.
- Arévalo J.C., Pereira D.B., Yano H., Teng K.K., Chao M.V. Identification of a switch in neurotrophin signaling by selective tyrosine phosphorylation // J. Biol. Chem. 2006. V. 281. No. 2. P. 1001–1007.
- Arévalo J.C., Yano H., Teng K.K., Chao M.V. A unique pathway for sustained neurotrophin signaling through an ankyrin-rich membrane-spanning protein // EMBO J. 2004. V. 23. No. 12. P. 2358–2368.
- Bochet P., Rossier J. Molecular biology of excitatory amino acid receptors: subtypes and subunits // EXS. 1993. V. 63. P. 224–233.
- Burgess J.D., Pedraza O., Graff-Radford N.R., Hirpa M., Zou F., Miles R., Nguyen T., Li M., Lucas J.A., Ivnik R.J., Crook J., Pankratz V.S., Dickson D.W., Petersen R.C., Younkin S.G., Ertekin-Taner N. Association of common KIBRA variants with episodic memory and AD risk // Neurobiol Aging. 2011. V. 32. No. 3. P. 557.e1-557.e9. available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3065956/>. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2010.11.004.
- Cai W., Hisatsune C., Nakamura K., Nakamura T., Inoue T., Mikoshiba K. Activity-dependent expression of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 1 in hippocampal neurons // J. Biol. Chem. 2004. V. 279. No. 22. P. 23691–23698.
- Chen X., Vinade L., Leapman R.D., Petersen J.D., Nakagawa T., Phillips T.M., Sheng M., Reese T.S. Mass of the postsynaptic density and enumeration of three key molecules // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2005. V. 102. No. 32. P. 11551–11556.
- Chen X., Winters C., Azzam R., Li X., Galbraith J.A., Leapman R.D., Reese T.S. Organization of the core structure of the postsynaptic density // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2008. V. 105. No. 11. P. 4453–4458.
- Cheng D., Hoogenraad C.C., Rush J., Ramm E., Schlager M.A., Duong D.M., Xu P., Wijayawardana S.R., Hanfelt J., Nakagawa T., Sheng M., Peng J. Relative and absolute quantification of postsynaptic density proteome isolated from rat forebrain and cerebellum // Mol. Cell Proteomics. 2006. V. 5. No. 6. P. 1158–1170.
- Chung H.J., Huang Y.H., Lau L.F., Haganir R.L. Regulation of the NMDA receptor complex and trafficking by activity-dependent phosphorylation of the NR2B subunit PDZ ligand // J. Neurosci. 2004. V. 24. No. 45. P. 10248–10259.
- Collins M.O., Husi H., Yu L., Brandon J.M., Anderson C.N., Blackstock W.P., Choudhary J.S., Grant S.G. Molecular

- characterization and comparison of the components and multiprotein complexes in the postsynaptic proteome // *J. Neurochem.* 2006. V. 97. P. 16–23.
- Corneveaux J.J., Liang W.S., Reiman E.M., Webster J.A., Myers A.J., Zismann V.L., Joshipura K.D., Pearson J.V., Hu-Lince D., Craig D.W., Coon K.D., Dunckley T., Bandy D., Lee W., Chen K., Beach T.G., Mastroeni D., Grover A., Ravid R., Sando S.B., Aasly J.O., Heun R., Jessen F., Kölsch H., Rogers J., Hutton M.L., Melquist S., Petersen R.C., Alexander G.E., Caselli R.J., Papassotiropoulos A., Stephan D.A., Huentelman M.J. Evidence for an association between KIBRA and late-onset Alzheimer's disease // *Neurobiol. Aging.* 2010. V. 31. No. 6. P. 901–909.
- Counts S.E., Alldred M.J., Che S., Ginsberg S.D., Mufson E.J. Synaptic gene dysregulation within hippocampal CA1 pyramidal neurons in mild cognitive impairment // *Neuropharmacology.* 2014. V. 79. P. 172–179.
- Cousins S.L., Kenny A.V., Stephenson F.A. Delineation of additional PSD-95 binding domains within NMDA receptor NR2 subunits reveals differences between NR2A/PSD-95 and NR2B/PSD-95 association // *Neuroscience.* 2009a. V. 158. No. 1. P. 89–95.
- Cousins S.L., Hoey S.E., Stephenson F.A., Perkinson M.S. Amyloid precursor protein 695 associates with assembled NR2A- and NR2B-containing NMDA receptors to result in the enhancement of their cell surface delivery // *J. Neurochem.* 2009b. V. 111. No. 6. P. 1501–1513.
- Cousins S.L., Innocent N., Stephenson F.A. Neto1 associates with the NMDA receptor/amyloid precursor protein complex // *J. Neurochem.* 2013. V. 126. No. 5. P. 554–564.
- de Bruijn D.R., van Dijk A.H., Pfundt R., Hoischen A., Merkx G.F., Gradek G.A., Lybæk H., Stray-Pedersen A., Brunner H.G., Houge G. Severe progressive autism associated with two *de novo* changes: A 2.6-Mb 2q31.1 deletion and a balanced t(14;21)(q21.1;p11.2) translocation with long-range epigenetic silencing of LRFN5 expression // *Mol. Syndromol.* 2010. V. 1. No. 1. P. 46–57.
- Deguchi M., Hata Y., Takeuchi M., Ide N., Hirao K., Yao I., Irie M., Toyoda A., Takai Y. BEGAIN (brain-enriched guanylate kinase-associated protein), a novel neuronal PSD-95/SAP90-binding protein // *J. Biol. Chem.* 1998. V. 273. No. 41. P. 26269–26272.
- Deng F., Price M.G., Davis C.F., Mori M., Burgess D. Star-gazin and other transmembrane AMPA receptor regulating proteins interact with synaptic scaffolding protein MAGI-2 in brain // *J. Neurosci.* 2006. V. 26. No. 30. P. 7875–7884.
- Dumas T.C. Developmental regulation of cognitive abilities: modified composition of a molecular switch turns on associative learning // *Prog. Neurobiol.* 2005. V. 76. P. 189–211.
- Erecińska M., Silver I.A. Metabolism and role of glutamate in mammalian brain // *Prog. Neurobiol.* 1990. V. 35. No. 4. P. 245–296.
- Fan X., Jin W.Y., Wang Y.T. The NMDA receptor complex: a multifunctional machine at the glutamatergic synapse // *Front Cell Neurosci.* 2014. available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4051310/pdf/fncel-08-00160.pdf>. DOI: 10.3389/fncel.2014.00160.
- Galecki P., Szemraj J., Florkowski A., Talarowska M., Bienkiewicz M., Galecka E., Lewinski A. Single nucleotide polymorphism of the KIBRA gene in recurrent depressive disorders // *Neuroendocrinol. Lett.* 2010. V. 31. No. 1. P. 97–102.
- Gerek Z.N., Keskin O., Ozkan S.B. Identification of specificity and promiscuity of PDZ domain interactions through their dynamic behavior // *Proteins.* 2009. V. 77. No. 4. P. 796–811.
- Gout I., Middleton G., Adu J., Ninkina N.N., Drobot L.B., Filonenko V., Matsuka G., Davies A.M., Waterfield M., Buchman V.L. Negative regulation of PI 3-kinase by Ruk, a novel adaptor protein // *EMBO J.* 2000. V. 19. No. 15. P. 4015–4025.
- Hamdan F.F., Gauthier J., Araki Y. Excess of *de novo* deleterious mutations in genes associated with glutamatergic systems in nonsyndromic intellectual disability // *Am. J. Hum. Genet.* 2011. V. 88. No. 3. P. 306–316.
- Harris K.M., Stevens J.K. Dendritic spines of CA 1 pyramidal cells in the rat hippocampus: serial electron microscopy with reference to their biophysical characteristics // *J. Neurosci.* 1989. No. 9. P. 2982–2997.
- Hawley D.F., Morch K., Christie B.R. Differential response of hippocampal subregions to stress and learning // *PLoS One.* 2012. V. 7. No. 12. P. E53126.
- Hedegaard M., Hansen K.B., Andersen K.T., Bräuner-Osborne H., Traynelis S.F. Molecular pharmacology of human NMDA receptors // *Neurochem. Int.* 2012. V. 61. No. 4. P. 601–609.
- Hirao K., Hata Y., Ide N., Takeuchi M., Irie M., Yao I., Deguchi M., Toyoda A., Sudhof T.C., Takai Y. A novel multiple PDZ domain-containing molecule interacting with N-methyl-D-aspartate receptors and neuronal cell adhesion proteins // *J. Biol. Chem.* 1998. V. 273. No. 33. P. 21105–21110.
- Hoe H.S., Pocivavsek A., Chakraborty G., Fu Z., Vicini S., Ehlers M.D., Rebeck G.W. Apolipoprotein E receptor 2 interactions with the N-methyl-D-aspartate receptor // *J. Biol. Chem.* 2006. V. 281. No. 6. P. 3425–3431.
- Husi H., Grant S.G. Isolation of 2000-kDa complexes of N-methyl-D-aspartate receptor and postsynaptic density 95 from mouse brain // *J. Neurochem.* 2001. V. 77. P. 281–291.
- Iglesias T., Cabrera-Poch N., Mitchell M.P., Naven T.J., Rozengurt E., Schiavo G. Identification and cloning of Kidins220, a novel neuronal substrate of protein kinase D // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. No. 51. P. 40048–40056.
- Iida J., Hirabayashi S., Sato Y., Hata Y. Synaptic scaffolding molecule is involved in the synaptic clustering of neuroligin // *Mol. Cell. Neurosci.* 2004. V. 27. No. 4. P. 497–508.
- Iida J., Ishizaki H., Okamoto-Tanaka M., Kawata A., Sumita K., Ohgake S., Sato Y., Yorifuji H., Nukina N., Ohashi K., Mizuno K., Tsutsumi T., Mizoguchi A., Miyoshi J., Takai Y., Hata Y. Synaptic scaffolding molecule alpha is a scaffold to mediate N-methyl-D-aspartate receptor-dependent RhoA activation in dendrites // *Mol. Cell. Biol.* 2007. V. 27. No. 12. P. 4388–4405.
- Jaskolski F., Martin S., Henley J.M. Retaining synaptic AMPARs // *Neuron.* 2007. V. 55. No. 6. P. 825–827.
- Johannsen S., Duning K., Pavenstädt H., Kremerskothen J.,

- Boeckers T.M. Temporal-spatial expression and novel biochemical properties of the memory-related protein KIBRA // *Neuroscience*. 2008. V. 155. No. 4. P. 1165–1173.
- Kawata A., Iida J., Ikeda M., Sato Y., Mori H., Kansaku A., Sumita K., Fujiwara N., Rokukawa C., Hamano M., Hirabayashi S., Hata Y. CIN85 is localized at synapses and forms a complex with S-SCAM via dendrin // *J. Biochem*. 2006. V. 139. No. 5. P. 931–939.
- Kiraly D.D., Lemtiri-Chlieh F., Levine E.S., Mains R.E., Eipper B.A. Kalirin binds the NR2B subunit of the NMDA receptor, altering its synaptic localization and function // *J. Neurosci*. 2011. V. 31. No. 35. P. 12554–12565.
- Kjelstrup K.B., Solstad T., Brun V.H., Hafting T., Leutgeb S., Witter M.P., Moser E.I., Moser M.B. Finite scale of spatial representation in the hippocampus // *Science*. 2008. V. 321. No. 5885. P. 140–143.
- Ko J., Kim S., Chung H.S., Kim K., Han K., Kim H., Jun H., Kaang B.K., Kim E. SALM synaptic cell adhesion-like molecules regulate the differentiation of excitatory synapses // *Neuron*. 2006. V. 50. No. 2. P. 233–245.
- Krapivinsky G., Medina I., Krapivinsky L., Gapon S., Clapham D.E. SynGAP-MUPP1-CaMKII synaptic complexes regulate p38 MAP kinase activity and NMDA receptor-dependent synaptic AMPA receptor potentiation // *Neuron*. 2004. V. 43. No. 4. P. 563–574.
- Lau C.G., Zukin R.S. NMDA receptor trafficking in synaptic plasticity and neuropsychiatric disorders // *Nature Rev. Neurosci*. 2007. V. 8. No. 6. P. 413–426.
- Lauriat T.L., Dracheva S., Kremerskothen J., Duning K., Haroutunian V., Buxbaum J.D., Hyde T.M., Kleinman J.E., McInnes L.A. Characterization of KIAA0513, a novel signaling molecule that interacts with modulators of neuroplasticity, apoptosis, and the cytoskeleton // *Brain Res*. 2006. V. 1121. No. 1. P. 1–11.
- Lee H.G., Zhu X., O'Neill M.J., Webber K., Casadesus G., Marlatt M., Raina A.K., Perry G., Smith M.A. The role of metabotropic glutamate receptors in Alzheimer's disease // *Acta. Neurobiol. Exp. (Wars)*. 2004. V. 64. No. 1. P. 89–98.
- López-Menéndez C., Gascón S., Sobrado M., Vidaurre O.G., Higuero A.M., Rodríguez-Peña A., Iglesias T., Díaz-Guerra M. Kidins220/ARMS downregulation by excitotoxic activation of NMDARs reveals its involvement in neuronal survival and death pathways // *J. Cell. Sci*. 2009. V. 122. No. 19. P. 3554–3565.
- Lu J., Helton T.D., Blanpied T.A., Rácz B., Newpher T.M., Weinberg R.J., Ehlers M.D. Postsynaptic positioning of endocytic zones and AMPA receptor cycling by physical coupling of dynamin-3 to Homer // *Neuron*. 2007. V. 55. No. 6. P. 874–889.
- Luján R., Roberts J.D., Shigemoto R., Ohishi H., Somogyi P. Differential plasma membrane distribution of metabotropic glutamate receptors mGluR1 alpha, mGluR2 and mGluR5, relative to neurotransmitter release sites // *J. Chem. Neuroanat*. 1997. V. 13. No. 4. P. 219–241.
- Makuch L., Volk L., Anggono V., Johnson R.C., Yu Y., Duning K., Kremerskothen J., Xia J., Takamiya K., Huganir R.L. Regulation of AMPA receptor function by the human memory-associated gene KIBRA // *Neuron*. 2011. V. 71. No. 6. P. 1022–1029.
- Molnár E. Are Neto1 and APP auxiliary subunits of NMDA receptors? // *J. Neurochem*. 2013. V. 126. No. 5. P. 551–553.
- Moloney M.G. Excitatory amino acids // *PLoS One*. 2002. V. 19. No. 5. P. 597–616.
- Monyer H., Burnashev N., Laurie D.J., Sakmann B., Seeburg P.H. Developmental and regional expression in the rat brain and functional properties of four NMDA receptors // *Neuron*. 1994. V. 12. P. 529–540.
- Murata Y., Doi T., Taniguchi H., Fujiyoshi Y. Proteomic analysis revealed a novel synaptic proline-rich membrane protein (PRR7) associated with PSD-95 and NMDA receptor // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2005. V. 327. No. 1. P. 183–191.
- Nagasawa M., Sakimura K., Mori K.J., Bedell M.A., Copeland N.G., Jenkins N.A., Mishina M. Gene structure and chromosomal localization of the mouse NMDA receptor channel subunits // *Brain. Res. Mol. Brain. Res*. 1996. V. 36. No. 1. P. 1–11.
- Nam J., Mah W., Kim E. The SALM/Lrfrn family of leucine-rich repeat-containing cell adhesion molecules // *Semin Cell Dev. Biol*. 2011. V. 22. No. 5. P. 492–498.
- Newpher T.M., Ehlers M.D. Glutamate receptor dynamics in dendritic microdomains // *Neuron*. 2008. V. 58. No. 4. P. 472–497.
- Ng D., Pitcher G.M., Szilard R.K., Sertié A., Kanisek M., Clapcote S.J., Lipina T., Kalia L.V., Joo D., McKerlie C., Cortez M., Roder J.C., Salter M.W., McInnes R.R. Neto1 is a novel CUB-domain NMDA receptor-interacting protein required for synaptic plasticity and learning // *PLoS Biol*. 2009. V. 7. No. 2. P. 0278–0300. available at <http://www.plosbiology.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pbio.1000041>. DOI:10.1371/journal.pbio.1000041
- Nowak L., Bregestovski P., Ascher P., Herbert A., Prochiantz A. Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones // *Nature*. 1984. V. 307. No. 5950. P. 462–465.
- Paoletti P. Molecular basis of NMDA receptor functional diversity // *Eur. J. Neurosci*. 2011. V. 33. No. 8. P. 1351–1365.
- Paoletti P., Bellone C., Zhou Q. NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease // *Nat. Rev. Neurosci*. 2013. V. 14. No. 6. P. 383–400.
- Papouin T., Ladépêche L., Ruel J., Sacchi S., Labasque M., Hanani M., Groc L., Pollegioni L., Mothet J.P., Oliet S.H. Synaptic and extrasynaptic NMDA receptors are gated by different endogenous coagonists // *Cell*. 2012. V. 150. No. 3. P. 633–646.
- Papouin T., Oliet S.H. Organization, control and function of extrasynaptic NMDA receptors // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci*. 2014. V. 369. No. 1654. available at <http://rstb.royalsocietypublishing.org/content/369/1654/20130601.long>. DOI: 10.1098/rstb.2013.0601
- Park E., Na M., Choi J., Kim S., Lee J.R., Yoon J., Park D., Sheng M., Kim E. The Shank family of postsynaptic density proteins interacts with and promotes synaptic accumulation of the beta PIX guanine nucleotide exchange factor for Rac1 and Cdc42 // *J. Biol. Chem*. 2003. V. 278. No. 21. P. 19220–19229.
- Peng J., Kim M.J., Cheng D., Duong D.M., Gygi S.P., Sheng M.

- Semiquantitative proteomic analysis of rat forebrain postsynaptic density fractions by mass spectrometry // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. No. 20. P. 21003–21011.
- Penzes P., Johnson R.C., Sattler R., Zhang X., Hugarir R.L., Kambampati V., Mains R.E., Eipper B.A. The neuronal Rho-GEF Kalirin-7 interacts with PDZ domain-containing proteins and regulates dendritic morphogenesis // *Neuron.* 2001. V. 29. No. 1. P. 229–242.
- Racca C., Stephenson F.A., Streit P., Roberts J.D.B., Somogyi P. NMDA receptor content of synapses in striatum radiatum of the hippocampal CA1 area // *J. Neurosci.* 2000. V. 20. No. 7. P. 2512–2522.
- Raghuram V., Sharma Y., Kreutz M.R. Ca⁽²⁺⁾ sensor proteins in dendritic spines: a race for Ca⁽²⁺⁾ // *Front. Mol. Neurosci.* 2012. V. 5. P. 61.
- Rodríguez-Rodríguez E., Infante J., Llorca J., Mateo I., Sánchez-Quintana C., García-Gorostiaga I., Sánchez-Juan P., Berciano J., Combarros O. Age-dependent association of KIBRA genetic variation and Alzheimer's disease risk // *Neurobiol. Aging.* 2009. V. 30. No. 2. P. 322–324.
- Schito A.M., Pizzuti A., Di M.E., Schenone A., Ratti A., Deferrari R., Bellone E., Mancardi G.L., Ajmar F., Mandich P. mRNA distribution in adult human brain of GRIN2B, a N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor subunit // *Neurosci. Lett.* 1997. V. 239. No. 1. P. 49–53.
- Sheng M., Cummings J., Roldan L.A., Jan Y.N., Jan L.Y. Changing subunit composition of heteromeric NMDA receptors during development of rat cortex // *Nature.* 1994. V. 368. P. 144–147.
- Shiraishi-Yamaguchi Y., Sato Y., Sakai R., Mizutani A., Knöpfe T., Mori N., Mikoshiba K., Furuichi T. Interaction of Cupidin/Homer2 with two actin cytoskeletal regulators, Cdc42 small GTPase and Drebrin, in dendritic spines // *BMC Neurosci.* 2009. V. 10. P. 25.
- Smrt R., Zhao X. Epigenetic regulation of neuronal dendrite and dendritic spine development // *Front. Biol.* 2010. V. 5. No. 4. P. 304–323.
- Takumi Y., Ramírez-León V., Laake P., Rinvik E., Ottersen O.P. Different modes of expression of AMPA and NMDA receptors in hippocampal synapses // *Nat. Neurosci.* 1999. V. 2. No. 7. P. 618–624.
- Traynelis S.F., Wollmuth L.P., McBain C.J., Menniti F.S., Vance K.M., Ogden K.K., Hansen K.B., Yuan H., Myers S.J., Dingledine R. Glutamate receptor ion channels: structure, regulation, and function // *Pharmacol. Rev.* 2010. V. 62. No. 3. P. 405–496.
- Tu H., Tang T.S., Wang Z. Association of type 1 inositol 1,4,5-trisphosphate receptor with AKAP9 (Yotiao) and protein kinase A // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. No. 18. P. 19375–19382.
- Tu J.C., Xiao B., Naisbitt S., Yuan J.P., Petralia R.S., Brake-man P., Doan A., Aakalu V.K., Lanahan A.A., Sheng M., Worley P.F. Coupling of mGluR/Homer and PSD-95 complexes by the Shank family of postsynaptic density proteins // *Neuron.* 1999. V. 23. No. 3. P. 583–592.
- Ullmer C., Schmuck K., Figge A., Lübbert H. Cloning and characterization of MUPP1, a novel PDZ domain protein // *FEBS Lett.* 1998. V. 424. No. 1/2. P. 63–68.
- Wu S.H., Arévalo J.C., Sarti F., Tessarollo L., Gan W.B., Chao M.V. Ankyrin Repeat-rich Membrane Spanning/Kidins220 protein regulates dendritic branching and spine stability *in vivo* // *Dev. Neurobiol.* 2009. V. 69. No. 9. P. 547–557.
- Zhang H., Wang D., Sun H., Hall R.A., Yun C.C. MAGI-3 regulates LPA-induced activation of Erk and RhoA // *Cell. Signal.* 2007. V. 19. No. 2. P. 261–268.

RECONSTRUCTION OF THE MOLECULAR INTERACTOME IN THE SYSTEM OF GLUTAMATERGIC SYNAPSES

A.L. Proskura, S.O. Vechkarova, T.A. Zapara, A.S. Ratushnyak

Design Technological Institute of Digital Techniques SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: annleop@mail.ru

Summary

The subunit composition of ionotropic glutamate receptors plays a significant role in synapse functioning. NMDA receptors mediate fast excitatory neurotransmission. They can convert specific patterns of neuronal activity to long-term changes of the synaptic structure and functions. The main functional properties (ionic conductivity, sensitivity to glutamate and agonists, sensitivity to magnesium ions, and deactivation time), spatial location, anchoring on the membrane, and sensitivity to pharmacological agents are defined by their subunit composition. The investigation of the protein-protein interaction system in macrocomplexes of NMDA receptor subunits is an urgent task. Its solution will shed light on the principles and molecular mechanisms that implement the main functions of a neuron and on mechanisms of disorder development. It will be helpful in the search for pharmacological and therapeutic targets for their corrections. The aim of this investigation is to analyze and reconstruct the protein-protein interactions of NMDA receptor subunits that support their mobility and anchoring on the synaptic membrane, as well as their role in the processes of modulation and support of synaptic transmission efficiency in the hippocampus. Three groups of proteins have been recognized. They support the formation of macrocomplexes of NMDA receptors in the glutamatergic synapses of the hippocampus. Proteins are divided into groups according to their functions in complexes. The division is based on information from different databases and scientific articles where the structures of genes and proteins, expression in the brain, and roles in the processes of synaptic plasticity are described. Special attention is focused on proteins for which associations with various cognitive disorders have been established.

Key words: glutamate receptors, macrocomplexes, synaptic plasticity.