

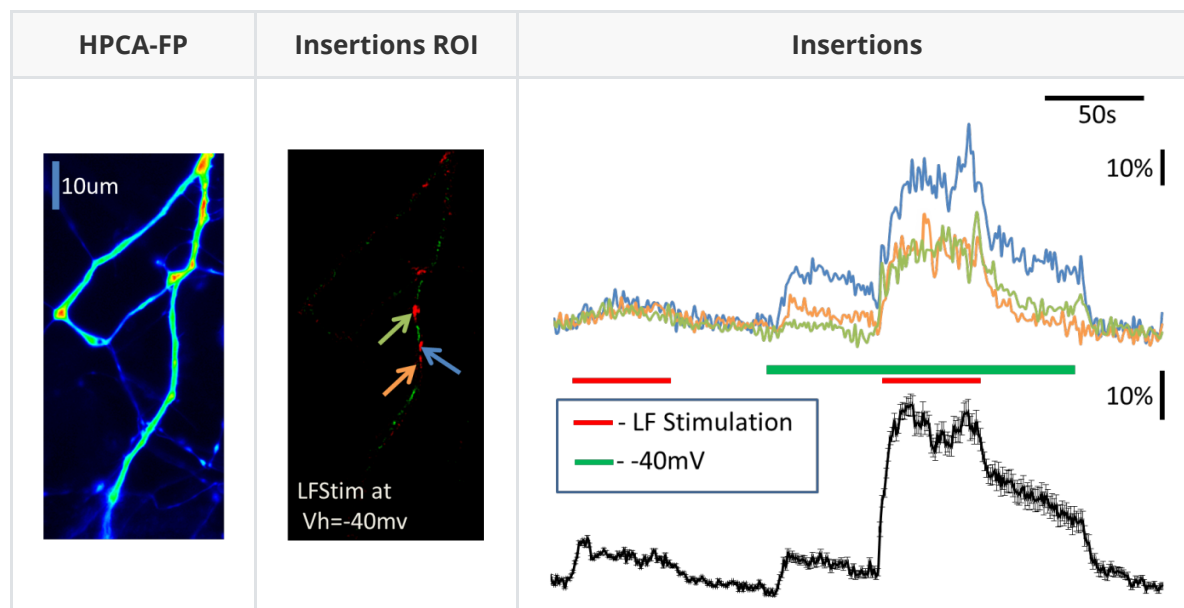
Hippocalcin involvement in NMDAR-dependent LTD of AMPAR-mediated excitatory postsynaptic currents

Borys Olifirov, 21.06.2021

Процесс развития NMDAR-зависимой LTD непосредственно связан со входом ионов кальция через NMDA каналы (*Lusher et al.*, DOI: 10.1109/MTS.2009.931859) и уменьшением количества AMPAR на постсинаптической мембране, причем если уменьшение может происходить в следствии увеличения эндоцитоза, поддержание низкой плотности рецепторов после развития LTD может происходить из-зи уменьшения экзоцитоза (*Fujii et al.*, DOI:10.1523/JNEUROSCI.3210-17.2018).

Обнаружено, что встраивание гипокальцина в следствии входа ионов кальция через NMDA каналы в течении протокола индукции LTD были неравномерны не только по максимальным амплитудам, но и по профилю встраивания в течении времени (Fig. 1). Известно, что HPCA может играть роль в процессах интернализации AMPAR, что существенно в развитии LTD (*Palmer et al.*, doi:10.1016/j.neuron.2005.06.014), однако отсутствуют данные о том динамической взаимосвязи процесса транслокации и ухода рецепторов с мембраны.

Fig 1. Spatio-temporal profile of HPCA insertions during LTD induction protocol



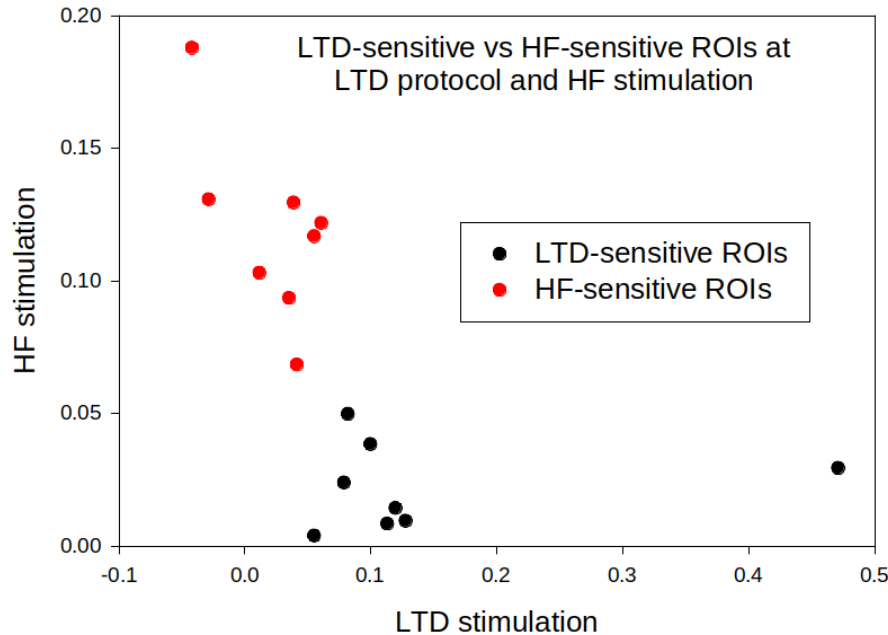
Dovgan et al. unpub.

В представленной экспериментальной модели LTD в культуре нейронов НРСА выступает не только как объект исследования, но и как удобный зонд, отображающий различия в количестве входящих ионов кальция в окрестностях отдельных синапсов в ответ на одинаковый паттерн внеклеточной стимуляции.

Интересно, что встраивание НРСА в ответ на протокол индукции LTD происходило не во всех наблюдаемых в процессе эксперимента синапсах. Более того, наблюдается кластеризация значений максимальных амплитуд встраивания на группы которые отвечали на высокочастотную стимуляцию и протокол индукции LTD (Fig. 2).

Опираясь на наблюдаемую кластеризацию максимальных амплитуд встраивания НРСА в синапсах можно выдвинуть предположения о минимальных условиях, необходимых на разделение на кластеры которые были бы связаны с пресинаптическими характеристиками: пулом готовых к высвобождению везикул (readily releasable pool, *RRP*) и вероятностью высвобождения везикул (release probability, *RP*).

Fig. 2. Two groups of insertions region depending on their answer to the stimulation pattern



Dovgan et al. unpub.

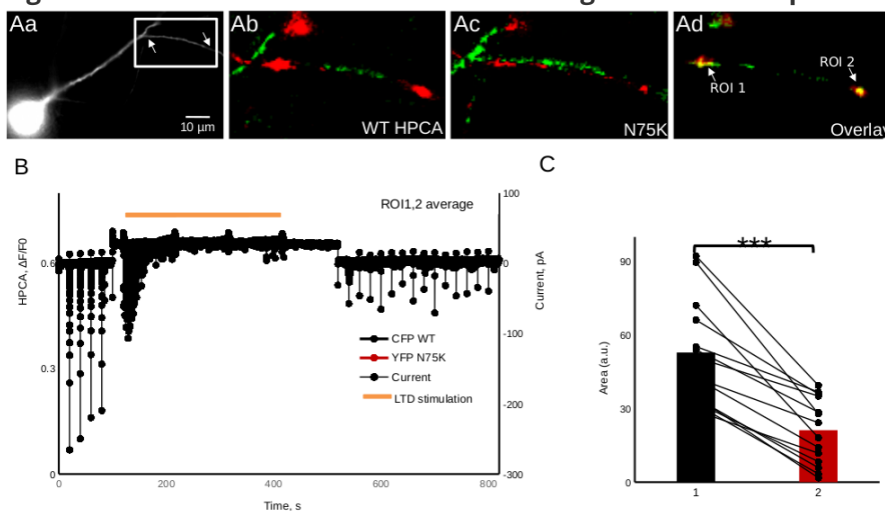
Тогда можно представить кластеры как "спринтеров", способных эффективно отвечать на стимуляцию высвобождением медиатора, но быстро истощающих свои запасы, и "марафонцев", которые уже до протокола индукции LTD обладали незначительной силой, способные высвобождать медиатор в течении всего протокола из чего условия разделения на группы:

$$RRP_{sprinter} \ll RRP_{marathoner}$$

$$RP_{sprinter} > RP_{marathoner}$$

Одновременно с этим данные регистрации встраивания мутантной формы НРСА (N75K) показывают снижение площади областей транслокации белка (Fig. 3) и неизвестно, коррелирует ли это с изменением трафика AMPAR.

Fig. 3. Loss of function of N75K mutant during LTD induction protocol



Dovgan et al. unpub.

Main points

- Связан ли паттерн транслокации в окрестностях отдельного синапса с паттерном снижения мембранной концентрации AMPAR?
- Снижение фракции AMPAR на плазматической мембране связано со снижением экзоцитоза или увеличением интернализации AMPAR?
- Как после завершения протокола LTD происходит возврат AMPR в мембрану, как меняется субъединичный состав рецепторов?
- Меняется ли характер ухода AMPAR в течении протокола LTD в присутствии мутанта N75K?

Hypothesis

- **Итоговое снижение амплитуды EPSP формируется за счет равномерного изменения трафика AMPAR в дендритном дереве в составе тех синапсов, которые отвечают на протокол индукции LTD**
Во всех "марафонцах" наблюдается схожая динамика снижения мембранной фракции AMPAR, "спринтеры" не задействованы/задействованы слабо в этом процессе и окрестности синапсов, которые произведут основной вклад в развитие LTD можно определить уже по паттерну транслокаций при предварительной HF-стимуляции
- **Изменения трафика AMPAR в различных синапсах неравномерны, вариации RRP и RP континуальны внутри группы синапсов отвечающих на протокол индукции LTD**
- **Кинетика выхода после завершения протокола LTD связана с ассоциацией HPCA с мишенями**

Если это так, то переход с -40 mV на -70 mV не должен влиять на кинетику выхода, поскольку на -40 mV возможен вход кальция через кальциевые каналы L-типа и переход на -70 mV должен убирать этот вклад.

При одновременной кальциметрии и регистрации при переходе на -70 mV кинетика выведения кальция должна ускориться, а кинетика выхода HPCA остаться неизменной, что будет говорить о его связи с мишенями на мембране.