

特集：糖鎖機能の多層性と神経 sugar code

# HNK-1糖鎖によるグルタミン酸受容体の細胞表面発現レベルの調節

森 瀬 讓 二, 森 田 一 平, 岡 昌 吾

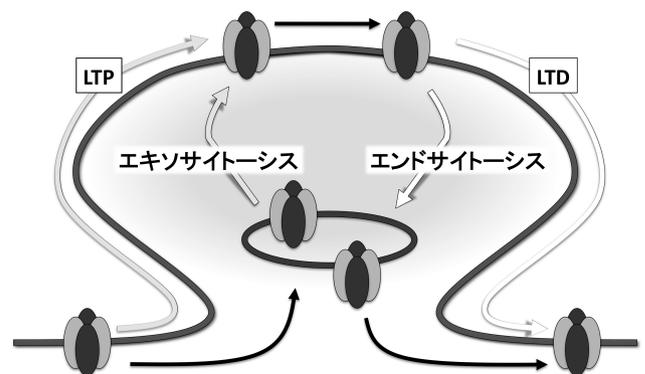
神経系は正確な神経回路が構築され、学習記憶などの脳の高次機能が発揮される。しかし、その構造は普遍的なものではなく、外界からの刺激により変化しうる可塑性と呼ばれる柔軟性を持つ。中でも神経細胞間の柔軟な情報伝達を担うシナプスの可塑性が記憶学習の形成に重要であると考えられている。従って脳の高次機能の基盤となるシナプス可塑性についての分子レベルでの理解が本質的な脳機能を知る上で重要となる。本稿ではシナプス可塑性に中心的な役割を担うグルタミン酸受容体の細胞表面量がどのような分子により調節されているのか、またその調節機構はどのようなものであるのかについて、最近の我々の知見をもとに考察する。

## はじめに

神経細胞をつなぐ構造体であるシナプスは前部と後部から成り、前部より神経伝達物質が分泌され後部で受容されることにより、情報が神経細胞間を伝達される。神経伝達物質は多種存在するが、グルタミン酸は興奮性の神経活動の中心的な役割を果たす。イオン透過型グルタミン酸受容体は、AMPA ( $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid) 受容体、NMDA (*N*-methyl-D-aspartate) 受容体、カイニン酸受容体の3種類に分類されるが、中でも速い興奮伝導を担うのがAMPA受容体である<sup>1)</sup>。AMPA受容体はGluR1~4のサブユニットのホモまたはヘテロ四量体で構成されており、そのサブユニットの構成によりチャネルの性質が決まる<sup>2)</sup>。また、刺激依存的に細胞表面のAMPA受容体数が短時間で変化し、その数の増加は長期増強(LTP; long-term potentiation)を、減少は長期抑圧(LTD; long-term depression)を引き起こすと考えられている(図1)<sup>3)</sup>。この

短時間での変動の制御には、AMPA受容体を細胞内に留め必要に応じて細胞表面へ輸送する機構や、細胞表面に安定に存在させる機構などが考えられる。従って、AMPA受容体の膜表面量調節機構を明らかにすることは、シナプス可塑性の分子機構を考える上で重要であると考えられる。

本稿ではHNK-1 (human natural killer-1) 糖鎖がAMPA受容体のサブユニットの一つのGluR2上に特異的に発現し、膜表面量調節に重要な因子であることを明らかにし



AMPA受容体

図1 AMPA受容体の膜表面輸送とシナプス可塑性  
刺激依存的な神経細胞表面でのAMPA受容体数の増減がLTPとLTDなどのシナプス可塑性調節に重要であると考えられている。短時間での変動に対応するために、細胞内にはAMPA受容体を留める機構が存在する。

京都大学医学研究科人間健康科学系専攻 (〒606-8507 京都市左京区聖護院河原町 53)

Regulation of the cell surface expression level of the glutamate receptor by HNK-1 glyco-epitope  
Jyoji Morise, Ippei Morita and Shogo Oka (Department of Biological Chemistry, Human Health Sciences, Graduate School of Medicine, Kyoto University, Shogoin, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507, Japan)

た<sup>4)</sup>。以下その結果を中心に AMPA 受容体の細胞表面量の調節機構について述べる。

### 1. HNK-1 糖鎖とは

HNK-1 糖鎖はヒトも含めた多種の動物の神経系に高発現することが知られている糖鎖抗原である。その発現は脳において時期及び部位特異的に制御され、特にシナプス形成の盛んな時期に高発現することから、脳内の神経回路網の形成や神経可塑性への関与が考えられてきた<sup>5,6)</sup>。実際にこれまでに本糖鎖は NCAM (neural cell adhesion molecule), L1, MAG (myelin-associated glycoprotein) といった免疫グロブリンスーパーファミリーに属する接着分子や、細胞外マトリックス分子のテネイシン-R 上に発現することが知られており、神経細胞の接着や移動、神経突起の伸長を制御することが報告されている<sup>7)</sup>。HNK-1 糖鎖抗原のエピトープは *N*-アセチルラクタミン構造 (Gal $\beta$ 1-4GlcNAc) の非還元末端に硫酸化グルクロン酸が結合した特徴的な三糖構造 (HSO<sub>3</sub>-3Glc $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc) であり、我々はこの生合成に重要な二つのグルクロン酸転移酵素 (GlcAT-P, GlcAT-S) および硫酸基転移酵素 (HNK-1ST)

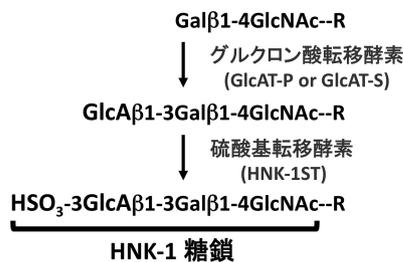


図2 HNK-1 糖鎖の生合成およびその構造

をクローニングし、さらには GlcAT-P 遺伝子欠損マウスの作製に成功している (図2)<sup>8)</sup>。GlcAT-P 遺伝子欠損マウスでは、脳内の HNK-1 糖鎖はほとんど消失し、それに伴い海馬 CA1 領域における LTP の有意な減弱や海馬依存的な空間学習能力の低下が観察された。このことから HNK-1 糖鎖は脳の高次機能を維持する上で必要不可欠な因子であることが示された。

### 2. HNK-1 糖鎖キャリアタンパク質の同定

GlcAT-P 遺伝子欠損マウスに対する電気生理学的解析の結果、LTP の減弱が神経伝達物質の放出量の変化などのシナプス前部での変化によるものではなく、シナプス後部での変化によるものであることが示唆されていた。そこで我々はシナプス後部に焦点を絞り、HNK-1 糖鎖消失による LTP 減弱の分子機構の解明を目指して実験を行った。まず、シナプス後部を構成するタンパク質が高密度に集積している PSD (postsynaptic density) 画分を調製し、HNK-1 糖鎖を発現する分子の探索を行った。マウス脳ホモジネートを分画して得た S1 (postnuclear supernatant), P2 (crude synaptosome), P3 (ミクロソーム) 画分には様々な HNK-1 糖鎖キャリア分子が存在していた。一方、PSD 画分では 100 kDa 付近に一つの主要な HNK-1 キャリアタンパク質が存在することが明らかとなった (図3A)。そこで PSD に存在する 100 kDa 付近のキャリア分子を、HNK-1 抗体カラムを用いて精製し、質量分析により解析した。その結果、100 kDa 付近のキャリア分子は AMPA 受容体サブユニットの一つの GluR2 と同定された。GluR2 は AMPA 受容体のサブユニットとして興奮性のシナプス伝

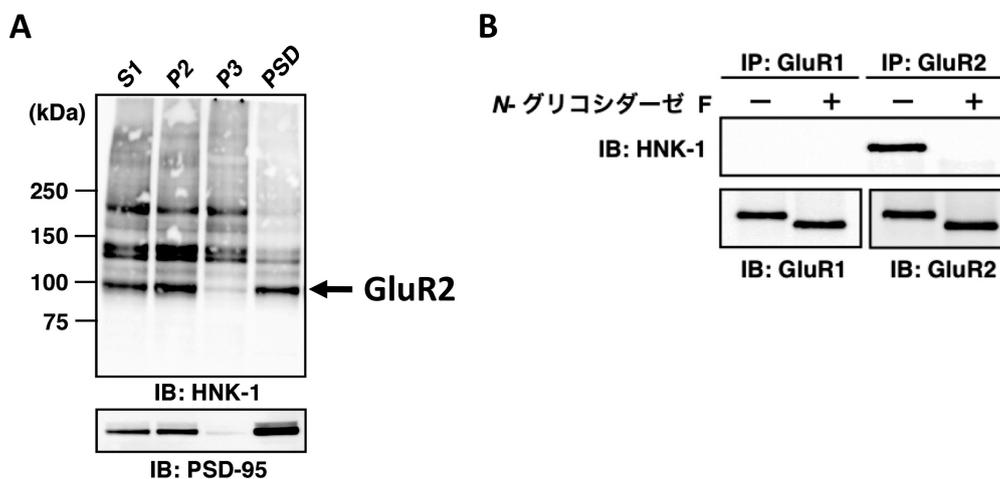


図3 HNK-1 糖鎖は GluR2 上に発現する (文献4より引用一部改変)

(A) マウス海馬より調製した S1, P2, P3, PSD 画分を電気泳動し、ウエスタンブロット法により HNK-1 糖鎖の発現パターンを検出した。PSD 画分に検出される 100 kDa 付近の HNK-1 キャリアタンパク質は GluR2 であることが同定された。

(B) マウス海馬 PSD 画分から複合体を解離させる変性条件下で GluR1 と GluR2 をそれぞれ免疫沈降しウエスタンブロット法により HNK-1 糖鎖の発現を確認した。

達の中心的役割を担う分子であり、シナプス可塑性やスパインの形態に直接関係する分子である<sup>9-11)</sup>。またマウス海馬において、GluR2の多くはGluR1との複合体としてAMPA受容体を形成している。しかし、HNK-1糖鎖の発現はGluR2のN結合型糖鎖上のみに見られ、GluR1には発現していないことが明らかとなった(図3B)。GluR1とGluR2の会合はタンパク質が合成されて間もない粗面小胞体(ER)で行われるのに対し<sup>12)</sup>、GlcAT-Pによるグルクロン酸(GlcA)の付加は、ゴルジ装置(トランスゴルジからトランスゴルジ網)で行われると考えられている。また、GluR1はGluR2と非常に高い相同性を持ち、GluR2上に存在するN結合型糖鎖付加部位の全てを共通して持つ<sup>13)</sup>。従って、GluR1はGluR2と共通したN結合型糖鎖付加部位を持ち、それぞれが結合し複合体として同じ挙動を示すにもかかわらず、HNK-1糖鎖がGluR2に選択的に付加されることになる。この事実から我々は、HNK-1糖鎖がGluR2の機能を厳密かつ特異的に調節しているのではないかと考えている。

### 3. GluR2上に発現するHNK-1糖鎖の構造解析

GluR2は4箇所(のN結合型糖鎖付加部位を持つ(図4A)。精製したGluR2よりN-グリコシダーゼFを用いてN

結合型糖鎖を遊離させ、質量分析により糖鎖構造解析を行った。HNK-1糖鎖の構造に特徴的なフラグメントイオン(GlcA-Gal-GlcNAc+(m/z 542))を指標としてHNK-1糖鎖または非硫酸化型HNK-1糖鎖を含む6種のピークを検出し、その構造を決定した(図4B)。

### 4. GluR2の細胞内輸送におけるHNK-1糖鎖の影響

AMPA受容体は興奮性シナプス後膜上に最も多量に存在する神経伝達物質受容体で、中枢神経系での興奮性シナプス伝達において中心的な役割を担う受容体である。成体の海馬に存在するAMPA受容体は主にGluR1/R2とGluR2/R3から成る2種類であり、ほとんど全てのAMPA受容体にGluR2サブユニットが含まれる。GluR2はAMPA受容体の輸送を制御する重要なサブユニットであり、細胞膜表面と細胞内プールの間を積極的に往來することで細胞表面でのAMPA受容体の存在量やシナプス伝達効率(シナプス可塑性)を調節している(図1)。このように特徴的な挙動を示すGluR2上にHNK-1糖鎖が選択的に付加されていることから、GluR2の細胞表面での存在量にHNK-1糖鎖が影響を及ぼしていることが想定された。そこで、野生型およびGlcAT-P遺伝子欠損マウスより初代海馬培養神経細胞を調製し、GluR2のエンドサイトーシ

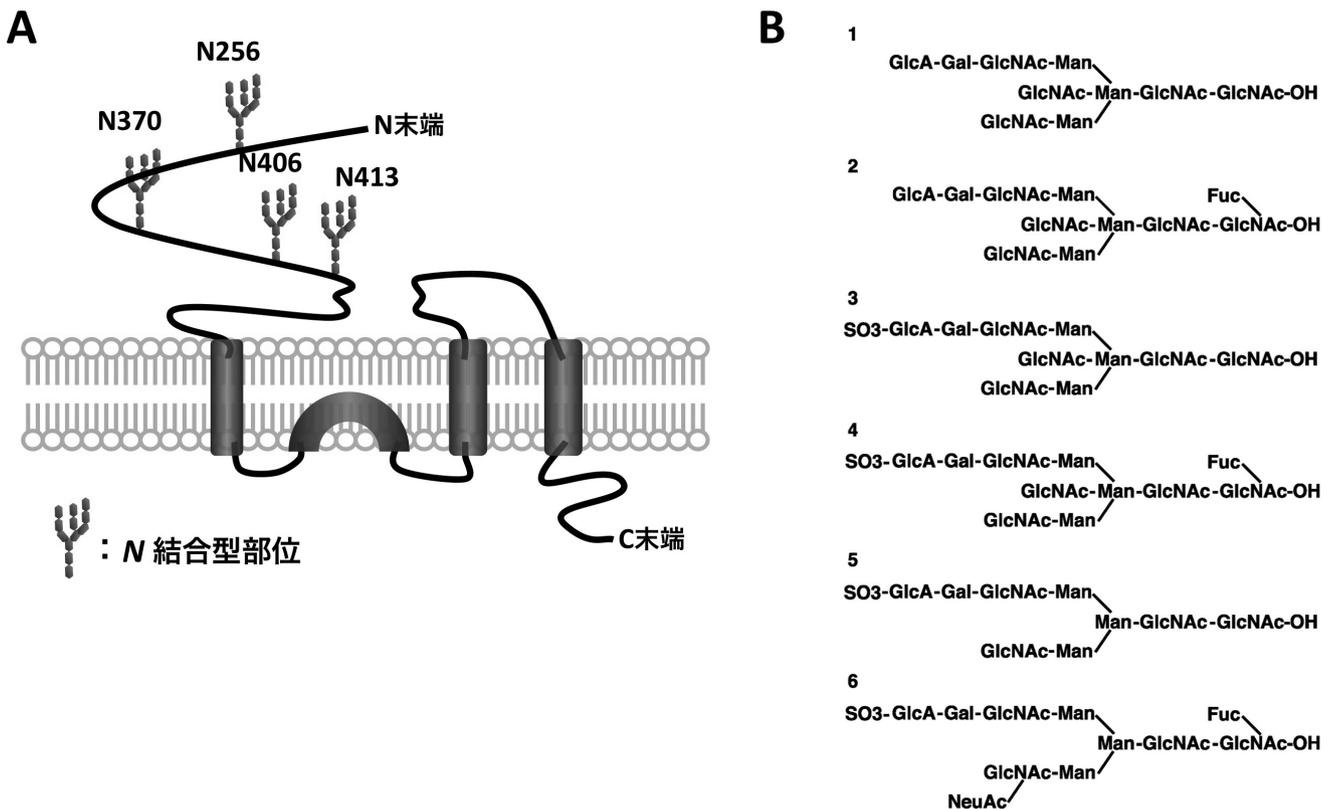


図4 GluR2上の糖鎖構造解析

(A) GluR2には4箇所(のN結合型糖鎖付加部位(N256, N370, N406, N413)が存在する。  
(B) 質量分析により決定されたHNK-1糖鎖構造(文献4より引用一部改変)。

スに与える影響について検討を行った。その結果、AMPA存在下と非存在下のいずれの場合も GlcAT-P 欠損細胞において GluR2 のエンドサイトーシスの増加が観察された。さらに細胞表面ビオチン化実験により野生型細胞と GlcAT-P 欠損細胞での細胞表面 GluR2 量を検討したところ、AMPA の存在下、非存在下で共に細胞表面 GluR2 量は有意に減少していることが明らかとなった。以上の結果より、HNK-1 糖鎖が消失することで、GluR2 は盛んに細胞内へと取り込まれ、その結果として細胞表面での存在量が減少することが明らかとなった。

### 5. HNK-1 糖鎖による GluR2 の細胞表面量調節機構

糖鎖修飾によりタンパク質の細胞外での相互作用が調節される例はこれまでに報告されている。しかしながら、GluR2 の細胞表面の存在量やエンドサイトーシス量を調節する分子の多くは GluR2 の細胞内 C 末端領域と相互作用する分子であり (図 6), 細胞外領域での相互作用分子についてはほとんど知られていなかった<sup>14)</sup>。しかし最近になって、神経細胞接着分子である N-カドヘリンが GluR2 の細胞外領域と相互作用することが示された<sup>11,15)</sup>。N-カドヘリンとの相互作用は GluR2 の膜上での安定性やスパインの形成過程に重要な役割を担うことが示されたことから、GluR2 の細胞外に存在する HNK-1 糖鎖が GluR2 と N-カドヘリンとの相互作用に参与し、細胞表面量を調節しているのではないかと予想した。そこでまず、野生型と GlcAT-P 遺伝子欠損マウス海馬組織を用いて、*in vivo* での GluR2 と N-カドヘリンとの相互作用の強さを免疫沈降法により検討した。マウス海馬より P2 画分を調製し、1% Triton X-100 に対する溶解性の違いによりシナプス前部とシナプス後部とを分画した。可溶性画分は synaptophysin

を多く含むことからシナプス前部を含み、不溶性画分は PSD-95 を多く含むことからシナプス後部を含む画分であることを確認した (図 5A)。これら二つの画分より抗 GluR2 抗体を用いて免疫沈降を行い、共沈する N-カドヘリン量を検討した。その結果、GluR2 と N-カドヘリンの相互作用はシナプス前部 (可溶性画分) ではほとんど検出されず、シナプス後部 (不溶性画分) で強く検出された。さらに、シナプス後部 (不溶性画分) での相互作用の強さを定量的に解析したところ、野生型に対して遺伝子欠損マウスでは有意に減少していた (図 5B)。以上の結果から、HNK-1 糖鎖は GluR2 と N-カドヘリンとの相互作用を調節し、GluR2 の細胞内への取り込みや細胞表面量の制御に関与しているのではないかと考えられた。

さらに HNK-1 糖鎖による GluR2 の細胞表面での安定化作用が N-カドヘリンを介してのみ起こるかどうかについて、内在性の N-カドヘリンの発現していない Chinese hamster ovary (CHO) 細胞を用いて検討を行った。CHO 細胞でも GluR2 の表面量は N-カドヘリン存在下で HNK-1 糖鎖を発現させることにより、大きく増加することが確認された。しかし、N-カドヘリン非存在下でも HNK-1 糖鎖が発現すると GluR2 の細胞表面量が増加することが明らかとなった。GluR2 をはじめとする AMPA 受容体サブユニットが細胞表面に安定的に発現するために、成熟した複合型糖鎖の発現が必要であることは報告されており、成熟糖鎖上に存在する HNK-1 糖鎖を強制的に増加させたことによって N-カドヘリン非依存的な機構により細胞表面の GluR2 量が増加したと考えられる。以上の結果より、HNK-1 糖鎖は N-カドヘリン依存的または非依存的に GluR2 の細胞表面量を増加させ、特に N-カドヘリン依存的な機構が優位に働くことが明らかとなった。HNK-1 糖

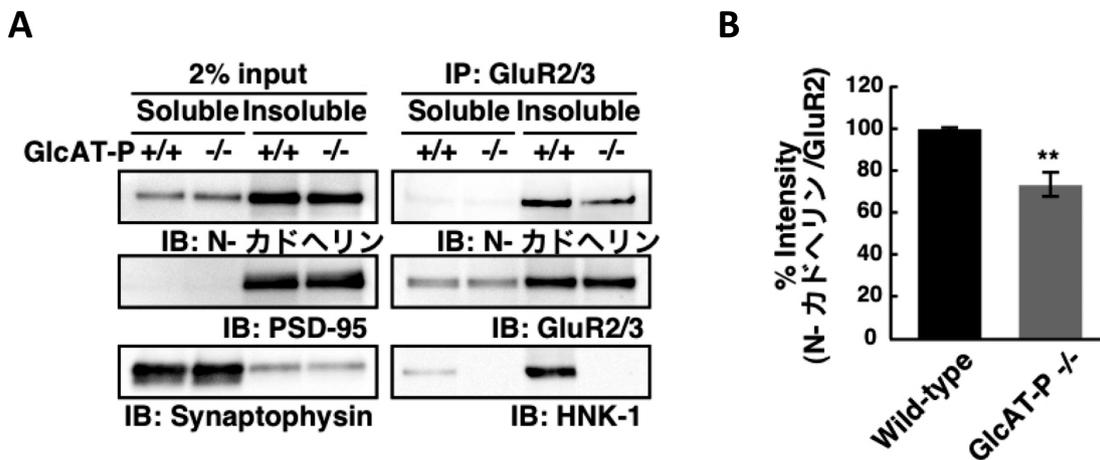


図5 GluR2 上の HNK-1 糖鎖が N-カドヘリンとの相互作用を強める (文献 4 より引用一部改変)

(A) 野生型および遺伝子欠損マウス海馬の P2 画分より、1% Triton X-100 不溶性画分と可溶性画分を調製した。抗 GluR2/3 抗体で免疫沈降後、ウエスタンブロット法を行い、N-カドヘリン、GluR2/3、HNK-1 を検出した。

(B) GluR2 と共沈する N-カドヘリン量を定量化した。

鎖が GluR2 と N-カドヘリンとの相互作用をどのように調節するのについてはまだよく分かっていない。しかし GluR2 と N-カドヘリンとの相互作用には、GluR2 の N 末端領域の約 90 アミノ酸が重要であることが報告されている<sup>11)</sup>。HNK-1 糖鎖は硫酸基が有する強い負電荷により GluR2 の構造に影響を与え、N 末端領域が N-カドヘリンと相互作用しやすい構造に変化させているのかもしれない。

## 6. 様々な AMPA 受容体輸送制御分子について

最近 AMPA 受容体の膜表面発現を制御する分子が数多く報告されている (図 6)。中でも stargazer マウスの原因遺伝子として見出された stargazin が有名である。stargazer マウスはてんかんや小脳性の運動失調を示し、小脳顆粒細胞において、AMPA 受容体応答が検出されない<sup>16,17)</sup>。これは AMPA 受容体が小脳顆粒細胞に発現していないのではなく、シナプス表面に AMPA 受容体が輸送されていないことが原因である。従って stargazin は AMPA 受容体の細胞表面への輸送に不可欠の分子であることが明らかになっている。stargazin には構造的に類似の分子が存在し、TARPs (transmembrane AMPA receptor regulatory proteins) と呼ばれる 4 回膜貫通型タンパク質のファミリーを形成している。他の TARPs も AMPA 受容体の細胞内輸送やその機能調節に関わっていることが報告されている<sup>18)</sup>。さらに最近になって、AMPA 受容体に結合し膜表面発現量の増加をもたらす補助分子として、CNIH2/3 (cornichon homolog 2/3) が見出された<sup>19)</sup>。CNIH2/3 は TARPs ほど積極的に膜表面量の増加を促さないものの、AMPA 受容体のチャネル機能調節に重要であると考えられる<sup>20)</sup>。さらに TARPs の中でも stargazin が主に局在する小脳顆粒細胞に

は、CNIH2/3 は発現していない。stargazin と CNIH2/3 とは AMPA 受容体の調節因子として類似した機能を担う一方で、特定の細胞において譲り合う分布を示すことから、相互に何らかの役割が分担されていると考えられる。

細胞内で AMPA 受容体の膜表面発現量を調節する因子としては GRIP1/2 (glutamate receptor interacting protein 1/2) と PICK1 (protein interacting C kinase 1) がよく知られている。いずれの分子も PDZ ドメインを持つタンパク質で、GluR2 の細胞内 C 末端に競合的に結合する。GRIP1/2 は通常 GluR2 と結合してシナプス後部に留める働きをしている<sup>21)</sup>。一方、LTD による GluR2 の C 末端リン酸化に伴い GRIP1/2 は解離し、PICK1 が代わりに結合してエンドサイトーシスに導くことから、そこに厳密な AMPA 受容体輸送の調節機構が存在することが明らかにされている<sup>22,23)</sup>。さらに、細胞内で相互作用する分子として NSF (*N*-ethylmaleimide-sensitive factor) が知られている。NSF は GluR2 の細胞内 C 末端側の細胞膜貫通領域の近傍の部位と相互作用し、GluR2 をシナプス部位へ輸送するための機能を担う<sup>24,25)</sup>。また、この NSF 結合領域はクラスリン依存的なエンドサイトーシスにおける積み荷タンパク質に対するアダプター分子の AP2 との相互作用部位と重複しており、これらの相互作用は GluR2 のエンドサイトーシスを調節すると考えられている<sup>26,27)</sup>。

AMPA 受容体の膜表面発現を調節する要素として興味深いものに RNA 編集による調節がある<sup>28,29)</sup>。GluR2 の 607 番目のアミノ酸は遺伝子レベルではグルタミン (Q) であるのに対し、最終的なタンパク質では大部分がアルギニン (R) である<sup>30)</sup>。これは mRNA レベルでアデノシンデアミナーゼの作用により引き起こされる現象で RNA 編集と呼ばれている。その結果、GluR2 を含まない AMPA 受容体

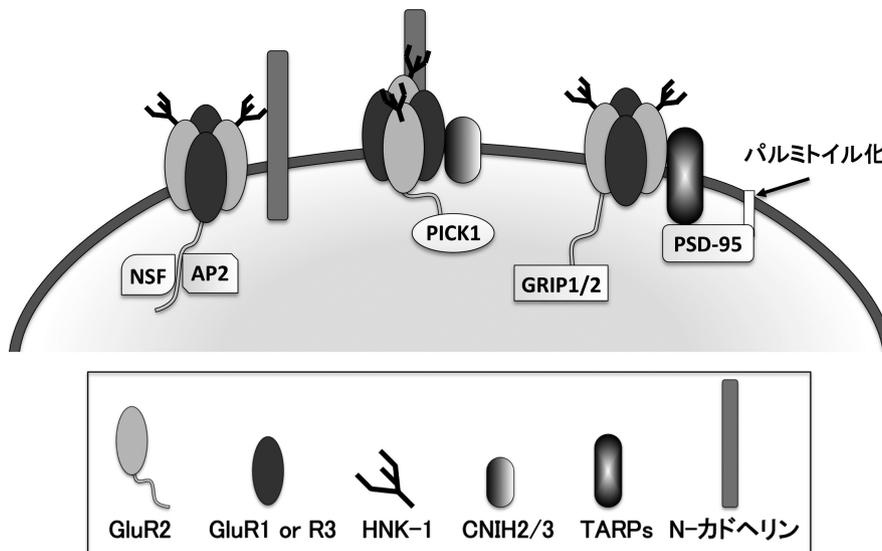


図 6 様々な AMPA 受容体輸送制御因子

はカルシウム透過性を有するが, GluR2 を含む受容体はカルシウム非透過性となる. この RNA 編集によりアルギニンに置換された GluR2 が選択的に小胞体に貯留されるというものである<sup>12)</sup>. GluR1 はこの小胞体に貯留された GluR2 と複合体を形成して細胞内に留まり, 高頻度刺激に対応して膜表面へ移行する. 一方で GluR3 は刺激に依存せずに貯留された GluR2 と複合体形成後, 恒常的に膜表面へ移行することが知られる<sup>31)</sup>. このように mRNA レベルでの置換が, AMPA 受容体の形成と膜表面移行に重要な要素であることが報告されている. この他にも PSD-95 への脂質修飾が AMPA 受容体の局在を変化させることが見出された<sup>32)</sup>. パルミトイル化酵素と呼ばれる脂質転移酵素は神経活動の低下を感知すると, PSD-95 への脂質修飾により積極的にシナプス後部に AMPA 受容体を濃縮させる働きがあることが明らかにされている<sup>33,34)</sup>. 以上のように, 様々な因子が AMPA 受容体の膜表面の発現量を制御し, 最終的な機能発現を調節していると考えられる.

### おわりに

AMPA 型のグルタミン酸受容体は哺乳類神経系の興奮性神経伝達に重要な役割を担い, 脳の高次機能の基盤となるシナプス可塑性を調節するキープレイヤーであることは間違いない. その機能調節に関わる分子は今後もたくさん見出されると予想される. しかし, その中に糖鎖の存在を忘れてはいけない. グルタミン酸受容体などの細胞の膜表面に存在するタンパク質は, 粗面小胞体で合成された後, 翻訳後修飾としての糖鎖が付加され, ゴルジ装置を経由して細胞表面に輸送される. その輸送過程で糖鎖はマンノースが主体の比較的単純な構造から, 複雑で多様な糖鎖へとダイナミックに変化していく. 本稿では神経系で特徴的な発現様式を示す HNK-1 と呼ばれる糖鎖がグルタミン酸受容体の細胞表面発現量を調節していることを明らかにしたものの, なぜ生体が複雑な糖鎖をタンパク質に付加しているのかの明確な答えは得ていない. しかし, 生体は必ず意味を持ってタンパク質に糖鎖を付加しており, 必要に応じて厳密な糖鎖の発現制御を行っているはずである. 今後神経機能の本質的理解を深める上で, 糖鎖を含めた糖タンパク質の総合的な解析が必要不可欠となってくるであろう.

### 文 献

- 1) Ozawa, S., Kamiya, H., & Tsuzuki, K. (1998) *Prog. Neurobiol.*, **54**, 581-618.
- 2) Hollmann, M. & Heinemann, S. (1994) *Annu. Rev. Neurosci.*, **17**, 31-108.
- 3) Shepherd, J.D. & Huganir, R.L. (2007) *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, **23**, 613-643.
- 4) Morita, I., Kakuda, S., Takeuchi, Y., Itoh, S., Kawasaki, N.,

- Kizuka, Y., Kawasaki, T., & Oka, S. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 30209-30217.
- 5) Schwarting, G.A., Jungalwala, F.B., Chou, D.K., Boyer, A.M., & Yamamoto, M. (1987) *Dev. Biol.*, **120**, 65-76.
- 6) Yoshihara, Y., Oka, S., Watanabe, Y., & Mori, K. (1991) *J. Cell. Biol.*, **115**, 731-744.
- 7) Kleene, R. & Schachner, M. (2004) *Nat. Rev. Neurosci.*, **5**, 195-208.
- 8) Yamamoto, S., Oka, S., Inoue, M., Shimuta, M., Manabe, T., Takahashi, H., Miyamoto, M., Asano, M., Sakagami, J., Sudo, K., Iwakura, Y., Ono, K., & Kawasaki, T. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 27227-27231.
- 9) Isaac, J.T., Ashby, M., & McBain, C.J. (2007) *Neuron*, **54**, 859-871.
- 10) Passafaro, M., Nakagawa, T., Sala, C., & Sheng, M. (2003) *Nature*, **424**, 677-681.
- 11) Saglietti, L., Dequidt, C., Kamieniarz, K., Rousset, M.C., Valnegri, P., Thoumine, O., Beretta, F., Fagni, L., Choquet, D., Sala, C., Sheng, M., & Passafaro, M. (2007) *Neuron*, **54**, 461-477.
- 12) Greger, I.H., Khatri, L., & Ziff, E.B. (2002) *Neuron*, **34**, 759-772.
- 13) Pasternack, A., Coleman, S.K., Fethiere, J., Madden, D.R., LeCaer, J.P., Rossier, J., Pasternack, M., & Keinanen, K. (2003) *J. Neurochem.*, **84**, 1184-1192.
- 14) Bassani, S., Valnegri, P., Beretta, F., & Passafaro, M. (2009) *Neuroscience*, **158**, 55-61.
- 15) Nuriya, M. & Huganir, R.L. (2006) *J. Neurochem.*, **97**, 652-661.
- 16) Noebels, J.L., Qiao, X., Bronson, R.T., Spencer, C., & Davisson, M.T. (1990) *Epilepsy Res.*, **7**, 129-135.
- 17) Chen, L., Chetkovich, D.M., Petralia, R.S., Sweeney, N.T., Kawasaki, Y., Wenthold, R.J., Brecht, D.S., & Nicoll, R.A. (2000) *Nature*, **408**, 936-943.
- 18) Tomita, S., Chen, L., Kawasaki, Y., Petralia, R.S., Wenthold, R.J., Nicoll, R.A., & Brecht, D.S. (2003) *J. Cell Biol.*, **161**, 805-816.
- 19) Schwenk, J., Harmel, N., Zolles, G., Bildl, W., Heimrich, B., Chisaka, O., Jonas, P., Schulte, U., Fakler, B., & Klockner, N. (2009) *Science*, **323**, 1313-1319.
- 20) Shi, Y., Suh, Y.H., Milstein, A.D., Isozaki, K., Schmid, S.M., Roche, K.W., & Nicoll, R.A. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 16135-16139.
- 21) Osten, P., Khatri, L., Perez, J.L., Kohr, G., Giese, G., Daly, C., Schulz, T.W., Wensky, A., Lee, L.M., & Ziff, E.B. (2000) *Neuron*, **27**, 313-325.
- 22) Lu, W. & Ziff, E.B. (2005) *Neuron*, **47**, 407-421.
- 23) Steinberg, J.P., Takamiya, K., Shen, Y., Xia, J., Rubio, M.E., Yu, S., Jin, W., Thomas, G.M., Linden, D.J., & Huganir, R.L. (2006) *Neuron*, **49**, 845-860.
- 24) Nishimune, A., Isaac, J.T., Molnar, E., Noel, J., Nash, S.R., Tagaya, M., Collingridge, G.L., Nakanishi, S., & Henley, J.M. (1998) *Neuron*, **21**, 87-97.
- 25) Noel, J., Ralph, G.S., Pickard, L., Williams, J., Molnar, E., Uney, J.B., Collingridge, G.L., & Henley, J.M. (1999) *Neuron*, **23**, 365-376.
- 26) Lee, S.H., Liu, L., Wang, Y.T., & Sheng, M. (2002) *Neuron*, **36**, 661-674.
- 27) Kastning, K., Kukhtina, V., Kittler, J.T., Chen, G., Pechstein, A., Enders, S., Lee, S.H., Sheng, M., Yan, Z., & Haucke, V. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 2991-2996.
- 28) Sommer, B., Kohler, M., Sprengel, R., & Seeburg, P.H. (1991)

- Cell*, **67**, 11–19.
- 29) Burnashev, N., Monyer, H., Seeburg, P.H. & Sakmann, B. (1992) *Neuron*, **8**, 189–198.
- 30) Nutt, S.L. & Kamboj, R.K. (1994) *Neuroreport*, **5**, 1679–1683.
- 31) Shi, S., Hayashi, Y., Esteban, J.A., & Malinow, R. (2001) *Cell*, **105**, 331–343.
- 32) Craven, S.E., El-Husseini, A.E., & Brecht, D.S. (1999) *Neuron*, **22**, 497–509.
- 33) El-Husseini, A.D., Schnell, E., Dakoji, S., Sweeny, N., Zhou, Q., Prange, O., Gauthier-Campbell, C., Aguilera-Moreno, A., Nicoll, R.A., & Brecht, D.S. (2002) *Cell*, **108**, 849–863.
- 34) Noritake, J., Fukata, Y., Iwanago, T., Hosomi, N., Tsutsumi, R., Matsuda, N., Tani, H., Iwanari, H., Mochizuki, Y., Kodama, T., Matsuura, Y., Brecht, D.S., Hamakubo, T., & Fukata, M. (2009) *J. Cell Biol.*, **186**, 147–160.
-