



ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ ЭКСПРЕССИЯ ИЗОФОРМ НЕЙРЕКСИНА-1 α В ОРГАНАХ КРЫСЫ

© 2022 г. О. В. Серова^{*, #}, Е. А. Ганцова^{*},
И. Е. Деев^{*, **}, [А. Г. Петренко]^{*}

^{*}ФГБУН “Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова” РАН,
Россия, 117997 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

^{**}Научно-технологический университет “Сириус”, Россия, 354340 Сочи, Олимпийский просп., 1

Поступила в редакцию 06.06.2021 г.

После доработки 21.07.2021 г.

Принята к публикации 24.07.2021 г.

Нейрексыны представляют собой семейство белков синаптической адгезии, которые играют ключевую роль в формировании и поддержании синапсов. Нейрексыны подвергаются обширному альтернативному сплайсингу в шести сайтах (SS1–SS6), что приводит к экспрессии множества различных изоформ. Альтернативный сплайсинг регулирует функциональную активность нейрексынов в различных типах тканей и клеток и, предположительно, играет ключевую роль в определении специфичности взаимодействия различных нейронов. В этом исследовании мы провели анализ тканевой экспрессии изоформ мРНК нейрексына-1 α , содержащих вставку в недавно обнаруженном сайте сплайсинга SS6, с использованием TaqMan ПЦР в реальном времени в различных органах крыс линии Wistar. Изоформа, содержащая вставку в сайте SS6, была обнаружена только в нейрональных тканях, что указывает на ее потенциальную функциональную важность. Положение вставки SS6 в шарнирной области между доменами LNS5 и LNS6 увеличивает вариабельность возможных конформаций молекулы, что может представлять собой дополнительный механизм регулирования функциональной активности нейрексына-1 α в головном мозге.

Ключевые слова: нейрексин, сайт сплайсинга, SS6, мозг, экспрессия генов

DOI: 10.31857/S0132342322020191

ВВЕДЕНИЕ

Нейрексыны (Nrxn1–3) представляют собой семейство белков синаптической адгезии, которые играют ключевую роль в формировании и стабилизации синапсов [1]. Нейрексыны и их лиганды образуют сложные сети взаимодействия, опосредуя многие регуляторные функции. Нарушения в работе нейрексынов и взаимодействующих с ними белков вызывают расстройство аутистического спектра (РАС), шизофрению и умственную отсталость [2]. Нейрексыны представляют собой мембранные белки 1-го типа и первоначально были обнаружены как рецепторы α -латротоксина [3]. Нейрексыны кодируются тремя гомологичными генами *Nrxn1–3*. Каждый ген, в свою очередь, транскрибируется с двух независимых промоторов (α и β), что приводит к образованию

длинной (α) и короткой (β) форм нейрексынов [4, 5]. Внеклеточная область α -нейрексынов состоит из трех модулей, содержащих два домена LNS (Laminin, Neurexin, Sex-hormone binding protein domain, который также называют доменом Laminin G), между которыми находится EGF-подобный домен. Внеклеточный фрагмент β -нейрексынов содержит только один домен LNS [4].

Нейрексыны подвергаются обширному альтернативному сплайсингу, в результате чего экспрессируется множество различных изоформ. Альтернативный сплайсинг нейрексынов по-разному регулируется в областях мозга и зависит от стадии развития и синаптической активности [6, 7]. Считается, что альтернативный сплайсинг регулирует функциональную активность нейрексынов и, предположительно, играет ключевую роль в определении специфичности взаимодействия различных нейронов. Первоначально были известны пять сайтов сплайсинга (SS1–SS5) в α -нейрексынах, два из которых (SS4 и SS5) также были обнаружены в β -нейрексынах. Позже был идентифицирован шестой сайт сплайсинга (SS6) нейрексына-1 α (Nrxn1 α), который расположен

Сокращения: LNS – ламинин, нейрексин, домен белка, связывающего половые гормоны (Laminin, Neurexin, Sex-hormone binding protein domain); EGF – эпидермальный фактор роста (epidermal growth factor); Nrxn – нейрексин; SS – сайт сплайсинга (splicing site).

[#] Автор для связи: (эл. почта: oxana.serova@gmail.com).

Таблица 1. Последовательности олигонуклеотидных праймеров и зондов, использованных в TaqMan ПЦР в реальном времени

Ген	Праймер	Последовательность (5'–3')
<i>Nrxn1</i>	Nx_probe	FAM-TGATGCTCTTTTCTGCAATGGGCAAATTGAG-BHQ1
	Nx_fw	CTTTCAAGGTTGCCTGGCATCTGT
	Nx_(SS6+)_rev	GTTGTGCTGGGGCCCTTGCAAG
	Nx_(SS6–)_rev	GTTGTGCTGGGGCCCTTCGCAT
<i>Gapdh</i>	Gapdh_probe	FAM-CCTGGAGAAACCTGCCAAGTATGATG-BHQ1
	Gapdh_fw	CATGGCCCTTCCGTGTTCCCTA
	Gapdh_rev	CGCCTGCTTACCACCTTCT

между пятым LNS и третьим EGF-подобным доменами. Вставка в этой области соответствует пептиду из 9 а.о. VALMKADLQ, который консервативен у животных [8, 9].

Первоначально было обнаружено, что гены *Nrxn* экспрессируются в головном мозге, но в более поздних исследованиях выявлена экспрессия *Nrxn* не только в нервных тканях. В меньших количествах экспрессия мРНК *Nrxn1* была обнаружена в почках, печени, сердце, желудке и легких [10]. Нейрексины также были обнаружены в сосудистой системе [11] и в β -клетках поджелудочной железы [12], где они играют функциональную роль. *Nrxn1 α* – компонент механизма регуляции экзоцитоза, он необходим для стыковки инсулиновых гранул с мембраной в β -клетках поджелудочной железы [13]. мРНК *Nrxn3* была обнаружена в тканях легких, поджелудочной железы, сердца, плаценты, печени и почек. Более того, специфические варианты сплайсинга *Nrxn3* были идентифицированы в сердце [14]. Неясно, что именно запускает экспрессию изоформ нейрексина в разных тканях.

Цель данной работы – анализ экспрессии нейрексина-1 α с альтернативным сплайсингом по сайту SS6 с помощью TaqMan ПЦР в реальном времени в различных органах крысы для выявления потенциальной роли альтернативного сплайсинга в регуляции функциональной активности нейрексинов в различных тканях.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Поскольку нейрексины обнаруживаются не только в нервных тканях, мы исследовали экспрессию *Nrxn1 α* со вставкой в недавно обнаруженном сайте сплайсинга SS6 в различных органах крыс линии Wistar с использованием анализа TaqMan ПЦР в реальном времени. Из четырех самок крыс были выделены органы: почки, печень, сердце, поджелудочная железа и головной мозг. Из каждого извлеченного органа крыс была выделена тотальная РНК. Головной мозг делили на три части: кору мозга, мозжечок и оставшуюся

часть. Тотальную РНК из каждой части мозга выделяли по отдельности. С помощью реакции обратной транскрипции были получены образцы кДНК из различных органов крысы, которые далее анализировали методом TaqMan ПЦР в реальном времени.

Для обнаружения изоформ *Nrxn1 α* (SS6+) и (SS6–) мы использовали одинаковые прямой праймер и зонд, но разные обратные праймеры (табл. 1). Один из них гибридизировался на границе экзонов 17 и 18, что позволило амплифицировать только фрагмент кДНК, содержащий вставку в SS6-сайте. Другой праймер отжигался на границе экзонов 16 и 18, что позволило получить фрагмент кДНК без вставки SS6. В качестве референсного гена использовали ген домашнего хозяйства *Gapdh*.

Изоформа рецептора, содержащая вставку SS6, была обнаружена только в головном мозге, тогда как вариант сплайсинга без вставки – во всех пяти анализируемых органах (рис. 1). В мозге уровень экспрессии изоформы нейрексина без вставки SS6 значительно превышает уровень экспрессии изоформы, содержащей вставку (рис. 1). Соотношение экспрессии этих двух изоформ в разных частях головного мозга также было разным. Наибольшее количество *Nrxn1 α* (SS6–) было обнаружено в мозжечке, тогда как максимальная экспрессия *Nrxn1 α* (SS6+) наблюдалась в коре головного мозга. Если общее обнаруженное в каждой части мозга количество *Nrxn1 α* представить как 100%, то значения экспрессии изоформ (SS6–) и (SS6+) были бы следующими: 87 и 13% в коре головного мозга, 96 и 4% в мозжечке, 94 и 6% в остальной части мозга.

В отличие от изоформы *Nrxn1 α* (SS6+), которая была обнаружена только в ткани головного мозга, изоформа (SS6–) экспрессировалась и в других тканях, таких как сердце, почки, печень и поджелудочная железа, но в гораздо меньших количествах. Среди последних названных органов наибольшее количество изоформы (SS6–) наблюдалось в поджелудочной железе.

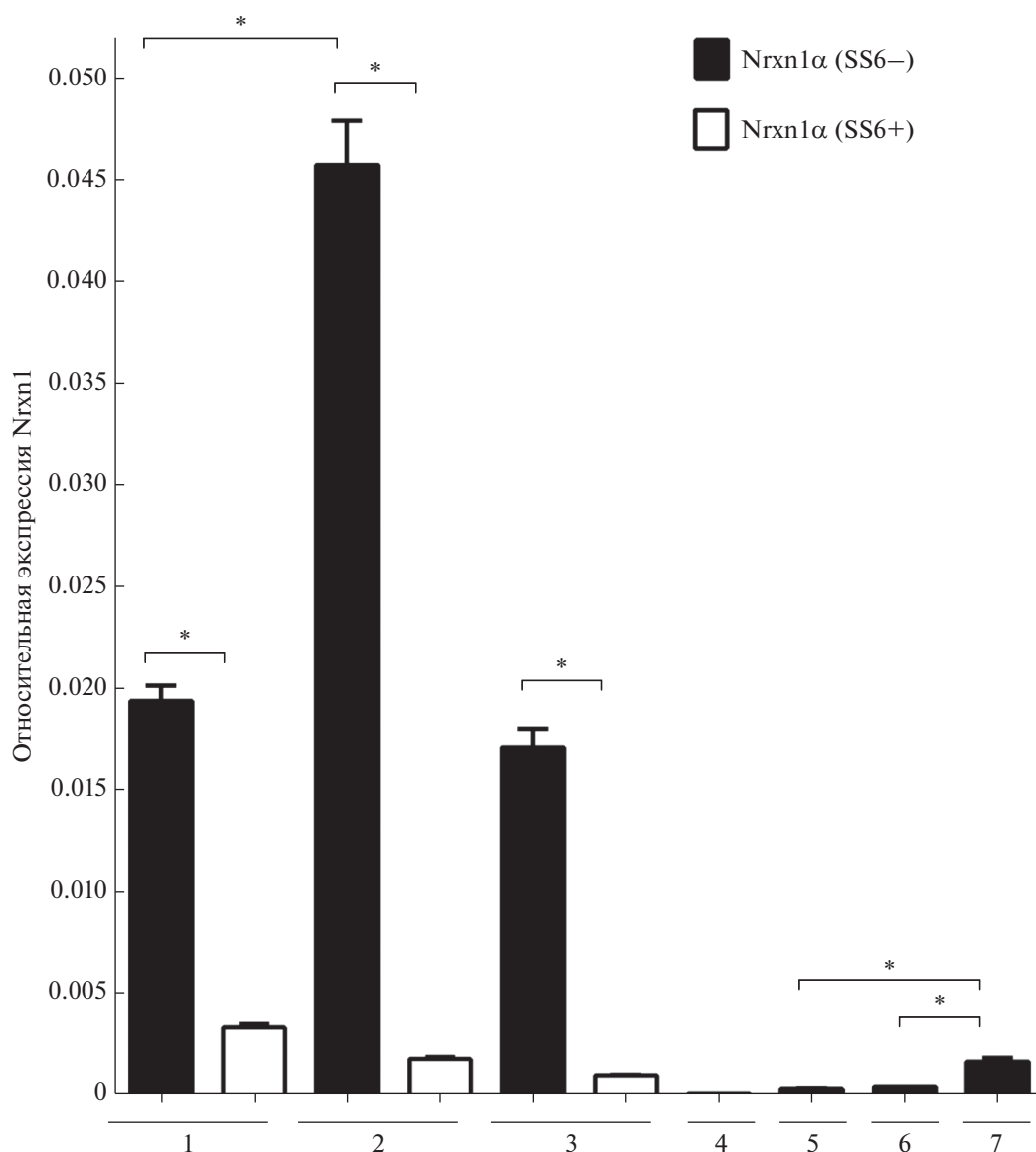


Рис. 1. Анализ экспрессии изоформ *Nrxn1 α* (SS6+) и (SS6-) в органах крыс линии Wistar ($n = 4$) с использованием TaqMan ПЦР в реальном времени. Отрезками отмечены значения средноквадратической ошибки (SEM). ПЦР с каждым образцом кДНК проводили в трех повторностях. * $p < 0.001$. Цифрами обозначены органы: 1 – кора мозга, 2 – мозгочек, 3 – остальная часть мозга, 4 – сердце, 5 – почка, 6 – печень, 7 – поджелудочная железа.

Обнаруженная нами экспрессия гена *Nrxn1* в ненейронных тканях подтверждается современными литературными данными секвенирования РНК из различных органов. Согласно данным секвенирования РНК одиночных клеток, ген *Nrxn1* экспрессируется в островках поджелудочной железы человека [15], экспрессия *Nrxn1* была выявлена в альфа-, бета-, дельта-, ацинарных клетках и клетках протоков поджелудочной железы (табл. 2). Также есть данные об экспрессии *Nrxn1* в редких гамма-клетках поджелудочной железы [16]. Секвенирование РНК почки мыши выявило экспрессию *Nrxn1* в клетках собирательных трубочек и в клетках толстой восходящей

части петли Генле. Среднее значение экспрессии гена *Nrxn1* в собирательных трубочках составило 1.8 транскриптов на миллион (TPM) [17].

Альтернативный сплайсинг по-разному регулируется среди генов нейрексинов, несмотря на их гомологию. Каждая изоформа *Nrxn* демонстрирует уникальный профиль экспрессии в зависимости от области, типа клеток и сенсорной системы [18]. Механизм регуляции экспрессии изоформ нейрексина изучен недостаточно хорошо. Недавние исследования показывают, что альтернативный сплайсинг сайтов SS3 и SS4 регулируется нейрональной активностью [1]. Мы обнаружили изоформу *Nrxn1 α* со вставкой в сайте SS6

Таблица 2. Экспрессия гена *Nrxn1* в различных типах клеток островков поджелудочной железы человека [15]

Типы клеток островков поджелудочной железы	Значения экспрессии гена <i>Nrxn1</i> , ТРМ
Ацинарные клетки	1.758
Альфа-клетки	2.718
Бета-клетки	2.343
Дельта-клетки	2.841
Клетки протоков	2.642

Примечание: ТРМ – транскриптов на миллион.

только в головном мозге, тогда как вариант сплайсинга без вставки в SS6 был выявлен во всех протестированных органах. Наибольшее количество $Nrxn1\alpha$ (SS6–) было обнаружено в мозжечке, тогда как максимальная экспрессия $Nrxn1\alpha$ (SS6+) наблюдалась в коре головного мозга. Можно предположить, что альтернативный сплайсинг в сайте сплайсинга SS6 представляет собой механизм, контролирующий функциональную активность $Nrxn1\alpha$ в различных тканях.

Недавние исследования с использованием комбинации электронной томографии отдельных частиц (IPET), рентгеновской кристаллографии и малоуглового рентгеновского рассеяния (SAXS) показали, что эктодомен $Nrxn1\alpha$ принимает несколько дискретных конформаций [19]. Разнообразие наблюдаемых конформаций обеспечивается за счет двух основных шарнирных областей внутри $Nrxn1\alpha$. Один из шарниров расположен между доменами LNS1 и LNS2, а другой – между доменами LNS5 и LNS6 [19]. Было показано, что вставка в сайте SS6, расположенная непосредственно в молекулярном шарнире между доменами LNS5 и LNS6, увеличивает вариабельность конформаций молекулы [19]. Можно предположить, что включение вставки SS6 может влиять на связывание белков-партнеров в синаптической щели, изменяя фактические сайты связывания или доступность к этим сайтам связывания. Сообщается, что вставка SS6 чувствительна к протеолизу. Таким образом, вероятная функция вставки SS6 может заключаться в том, чтобы сделать молекулу нейрексина-1 α чувствительной к протеолизу, позволяя отщепляться области L1–L5 [19] с образованием секретрируемой формы рецептора. Подобная растворимая секретрируемая форма была обнаружена для рецептора $Nrxn3$ [20, 21]. Функциональное значение растворимой формы $Nrxn3$ подтверждается сниженной экспрессией и соотношением трансмембранных и растворимых изоформ $Nrxn3$ *postmortem* в мозге при болезни Альцгеймера [22].

Тканеспецифическая экспрессия различных изоформ $Nrxn1\alpha$ указывает на потенциальную

роль альтернативного сплайсинга SS6 в регуляции функциональной активности $Nrxn1\alpha$.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Эксперименты с животными. В экспериментах использовали самок крыс линии Wistar ($n = 4$) в возрасте 3–4 месяца (Питомник лабораторных животных “Столбовая”, Россия). Животные были здоровыми и содержались в стандартных условиях. Перед хирургическим удалением органов крыс анестезировали золетилом (20 мг/кг массы тела) и ксилазином (5 мг/кг массы тела) в 0.9%-ном растворе NaCl.

Органы крысы: почки, печень, поджелудочную железу, сердце и головной мозг – вырезали, каждый орган помещали в отдельную пробирку IKA DT-20-M (IKA, Германия) с TRIzol Reagent (Invitrogen, США) и сразу же целиком гомогенизировали с использованием гомогенизатора IKA Ultra-Turrax Tube Drive. Головной мозг делили на три части: кору головного мозга, мозжечок и оставшуюся часть мозга. Каждую часть мозга гомогенизировали по отдельности.

Получение кДНК. Тотальную РНК из органов крысы выделяли с помощью реагента TRIzol (Invitrogen, США) согласно протоколу производителя. Для удаления примесей геномной ДНК образцы тотальной РНК обрабатывали ДНКазой I (Thermo Scientific, США) согласно протоколу производителя. кДНК получали реакцией обратной транскрипции с использованием набора для обратной транскрипции RevertAid RT Reverse Transcription Kit (Thermo Scientific, США) и случайных гексамерных праймеров (random hexamer primer), входящих в состав набора, согласно протоколу производителя.

ТaqMan ПЦР в реальном времени. Праймеры и специфический зонд для каждого конкретного гена были выбраны с использованием программ Gene Runner (<http://www.generunner.net/>), Oligo Explorer (<https://www.genelink.com/tools/gl-oe.asp>) и Oligo Analyzer (<https://eu.idtdna.com/pages/tools/oligoanalyzer>), специфичность праймеров и зондов подтверждали с помощью BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>). Ген *Gapdh* использовали в качестве референсного гена. Праймеры были синтезированы ЗАО “Евроген” (Россия), зонды – ООО “Люмипроб РУС” (Россия). Для обнаружения изоформ $Nrxn1\alpha$ (SS6+) и (SS6–) использовали одни и те же прямой праймер и зонд, но разные обратные праймеры. Зонд на 5'-конце содержал метку флуоресценции FAM (Fluorescein amidites), на 3'-конце – гаситель BHQ1 (Black Hole Quencher 1).

Для каждой пары праймеров рассчитывали эффективность реакции (E) по формуле: $E = 10 - 1/k$, где k берется из уравнения прямой линии: $CT =$

$= k \log P_0 + b$, в котором P_0 – концентрация кДНК, CT – количество циклов, в которых флуоресценция достигает порогового уровня, а значения k и b получены из линейной аппроксимации экспериментальных данных. Эффективность реакции для генов-мишеней и референсного гена *Gapdh* составляла 2, что соответствует максимальной эффективности реакции.

ТақМап ПЦР в реальном времени с каждым образцом кДНК проводили в трех повторностях на приборе DTrime (ДНК-Технология, Россия) в 20 мкл реакционной смеси, использовали 1 ед. Тақ ДНК-полимеразы с “горячим стартом” (ЗАО “Евроген”, Россия), концентрация праймеров составляла 0.4 мкМ, зонда – 0.2 мкМ. Параметры реакции: предварительная денатурация 95°C – 5 мин; 45 циклов амплификации: 95°C – 15 с, 60°C – 10 с, 72°C – 10 с.

Относительный уровень экспрессии (NE) вычисляли по формуле [23]:

$$NE = \frac{(E_R)^{CT_R}}{(E_T)^{CT_T}}$$

где E_R – эффективность реакции для референсного гена, E_T – эффективность реакции для гена-мишени, CT_R – количество циклов, в которых флуоресценция достигает порогового уровня для референсного гена, CT_T – количество циклов, в которых флуоресценция достигает порогового уровня для гена-мишени.

Статистическую обработку данных ПЦР в реальном времени проводили с помощью программного обеспечения Prism 6 (GraphPad Software, США), используя критерий Стьюдента (t -тест). Статистически значимыми считали отличия при $p < 0.05$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведен подробный анализ экспрессии изоформ нейрексина-1 α (Nrxn1 α) с альтернативным сплайсингом по сайту SS6 с помощью ТақМап ПЦР в реальном времени в различных органах крыс линии Wistar. Показана тканеспецифичная экспрессия изоформ Nrxn1 α . Изоформа, содержащая вставку в сайте SS6, была обнаружена только в нейрональных тканях, что указывает на ее потенциальную функциональную важность. Положение вставки SS6 в шарнирной области между доменами LNS5 и LNS6 увеличивает вариабельность возможных конформаций молекулы, что может представлять собой дополнительный механизм регулирования функциональной активности Nrxn1 α в головном мозге.

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты № 19-04-01042, 19-34-90177 и 19-34-51034).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все эксперименты с животными проводили в соответствии с протоколом комитета по уходу и использованию животных (IACUC, Institutional Animal Care and Use Committee), утвержденным Комиссией по биоэтике Института биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Sudhof T.C.* // Cell. 2017. V. 171. P. 745–769. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.10.024>
2. *Rudenko G.* // Curr. Opin. Struct. Biol. 2019. V. 54. P. 112–121. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2019.01.009>
3. *Petrenko A.G., Kovalenko V.A., Shamotienko O.G., Surkova I.N., Tarasyuk T.A., Ushkaryov Yu.A., Grishin E.V.* // Embo J. 1990. V. 9. P. 2023–2027.
4. *Ushkaryov Y.A., Petrenko A.G., Geppert M., Sudhof T.C.* // Science. 1992. V. 257. P. 50–56. <https://doi.org/10.1126/science.1621094>
5. *Geppert M., Ushkaryov Y.A., Hata Y., Davletov B., Petrenko A.G., Sudhof T.C.* // Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 1992. V. 57. P. 483–490. <https://doi.org/10.1101/sqb.1992.057.01.053>
6. *Ullrich B., Ushkaryov Y.A., Sudhof T.C.* // Neuron. 1995. V. 14. P. 497–507. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(95\)90306-2](https://doi.org/10.1016/0896-6273(95)90306-2)
7. *Schreiner D., Nguyen T.M., Russo G., Heber S., Patrignani A., Ahrne E., Scheiffele P.* // Neuron. 2014. V. 84. P. 386–398. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.09.011>
8. *Serova O.V., Radionov N.V., Shayahmetova D.M., Deyev I.E., Petrenko A.G.* // Dokl. Biochem. Biophys. 2015. V. 463. P. 239–242. <https://doi.org/10.1134/S1607672915040110>
9. *Treutlein B., Gokce O., Quake S.R., Sudhof T.C.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2014. V. 111. P. E1291–E1299. <https://doi.org/10.1073/pnas.1403244111>
10. *Saito A., Miyauchi N., Hashimoto T., Karasawa T., Han G.D., Kayaba M., Sumi T., Tomita M., Ikezumi Y., Suzuki K., Koitabashi Y., Shimizu F., Kawachi H.* // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2011. V. 300. P. R340–R348. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00640.2009>
11. *Bottos A., Destro E., Rissone A., Graziano S., Cordara G., Assenzio B., Cera M.R., Mascia L., Bussolino F., Arese M.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2009. V. 106. P. 20782–20787. <https://doi.org/10.1073/pnas.0809510106>

12. *Suckow A.T., Comoletti D., Waldrop M.A., Mosedale M., Egodage S., Taylor P., Chessler S.D.* // *Endocrinology*. 2008. V. 149. P. 6006–6017.
<https://doi.org/10.1210/en.2008-0274>
13. *Mosedale M., Egodage S., Calma R.C., Chi N.W., Chessler S.D.* // *J. Biol. Chem.* 2012. V. 287. P. 6350–6361.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M111.299081>
14. *Occhi G., Rampazzo A., Beggagna G., Antonio Danieli G.* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002. V. 298. P. 151–155.
[https://doi.org/10.1016/s0006-291x\(02\)02403-8](https://doi.org/10.1016/s0006-291x(02)02403-8)
15. *Li J., Klughammer J., Farlik M., Penz T., Spittler A., Barbicieux C., Berishvili E., Bock C., Kubicek S.* // *EMBO Rep.* 2016. V. 17. P. 178–187.
<https://doi.org/10.15252/embr.201540946>
16. *Segerstolpe A., Palasantza A., Eliasson P., Andersson E.M., Andreasson A.C., Sun X., Picelli S., Sabirsh A., Clausen M., Bjursell M.K., Smith D.M., Kasper M., Ämmälä C., Sandberg R.* // *Cell Metab.* 2016. V. 24. P. 593–607.
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.08.020>
17. *Chen L., Lee J.W., Chou C.L., Nair A.V., Battistone M.A., Paunescu T.G., Merkulova M., Breton S., Verlander J.W., Wall S.M., Brown D., Burg M.B., Knepper M.A.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2017. V. 114. P. E9989–E9998.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1710964114>
18. *Uchigashima M., Cheung A., Suh J., Watanabe M., Futai K.* // *J. Comp. Neurol.* 2019. V. 527. P. 1940–1965.
<https://doi.org/10.1002/cne.24664>
19. *Liu J., Misra A., Reddy M., White M.A., Ren G., Rudenko G.* // *J. Mol. Biol.* 2018. V. 430. P. 4325–4343.
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2018.08.026>
20. *Ushkaryov Y.A., Sudhof T.C.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1993. V. 90. P. 6410–6414.
<https://doi.org/10.1073/pnas.90.14.6410>
21. *Hishimoto A., Liu Q.R., Drgon T., Pletnikova O., Walther D., Zhu X.G., Troncoso J.C., Uhl G.R.* // *Hum. Mol. Genet.* 2007. V. 16. P. 2880–2891.
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddm247>
22. *Hishimoto A., Pletnikova O., Lang D.L., Troncoso J.C., Egan J.M., Liu Q.R.* // *Alzheimer's Res Ther.* 2019. V. 11. P. 28.
<https://doi.org/10.1186/s13195-019-0475-2>
23. *Simon P.* // *Bioinformatics.* 2003. V. 19. P. 1439–1440.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg157>

Tissue-Specific Expression of Neurexin-1 α Isoforms in Rat Organs

O. V. Serova^{*, #}, E. A. Gantsova^{*}, I. E. Deyev^{*, **}, and **A. G. Petrenko^{*}**

[#]E-mail: oxana.serova@gmail.com

^{*}*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry Russian Academy of Sciences, ul. Miklukho-Maklaya 16/10, Moscow, 117997 Russia*

^{**}*Sirius Science and Technology University, Olimpiyskii prosp. 1, Sochi, 354340 Russia*

Neurexins are a family of synaptic adhesion proteins that play a key role in synapse formation and maintenance. Neurexins undergo extensive alternative splicing at six sites (SS1–SS6) resulting in expression of thousands of different isoforms. Alternative splicing regulates the functional activity of neurexins in various types of tissues and cells and presumably plays a key role in determining the specificity of the interaction of various neurons. In this study, we have investigated the pattern of tissue expression of neurexin-1 α mRNA isoforms including and excluding an insert in the recently discovered splice site SS6 using Real-Time PCR in different rat organs. The isoform containing the insert in SS6 site was found only in neuronal tissues suggesting its potential functional importance. Position of the SS6 insert in the hinge region between the LNS5 and LNS6 domains increases variability of possible conformations of the molecule which may represent an additional mechanism for regulating functional activity of the neurexin-1 α in the brain.

Keywords: neurexin, splicing site, SS6, brain, expression