БИОХИМИЯ, 2017, том 82, вып. 3, с. 372 – 388

УДК 612.822;577.1

РОЛЬ АТИПИЧНЫХ ПРОТЕИНКИНАЗ В ПОДДЕРЖАНИИ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ПАМЯТИ И СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ

Обзор

© 2017 А.А. Бородинова*, А.Б. Зюзина, П.М. Балабан

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, 117485 Москва, Россия; электронная почта: borodinova.msu@mail.ru

Поступила в редакцию 04.08.16
После доработки 26.10.16

Одной из основных задач современной нейробиологии является изучение биохимических механизмов, лежащих в основе долговременного хранения информации клетками нервной системы. В качестве физиологического субстрата долговременной памяти были предложены, в частности, длительные изменения активности киназ, увеличение количества рецепторов в синаптических мембранах и изменение их субъединичного состава, локальное действие прионоподобных белков, эпигенетические изменения хроматина. Вероятно, сочетание всех или некоторых факторов может лежать в основе хранения долговременной памяти в мозге. Многочисленные экспериментальные работы последних лет указывают на исключительно важную роль группы атипичных протеинкиназ (PKCζ, PKMζ и PKCι/λ) в процессах обучения, формирования и поддержания памяти. Данный обзор посвящен рассмотрению механизмов транскрипционного и трансляционного контроля атипичных протеинкиназ (aPKC) и роли aPKC в индукции и поддержании долговременной синаптической пластичности и памяти у беспозвоночных и позвоночных животных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: протеинкиназа Mζ, атипичные протеинкиназы, синаптическая пластичность, память, эпигенетическая регуляция, ацетилирование гистонов, метилирование.

Одной из основных задач современной нейробиологии является изучение механизмов, лежащих в основе долговременного хранения информации клетками нервной системы. Несмотря на имеющиеся в литературе данные о вовлеченности самых разных молекулярных систем и сопряженных с ними сигнальных каскадов в формирование памятного следа, их участие в хранении памяти ставится под сомнение, поскольку блокада этих молекулярных систем вызывает неспецифические изменения в работе нервной системы, в т.ч. нарушения памяти. До недавнего времени отсутствовало единое мнение о ключевом специфическом механизме, обеспечивающем длительное поддержание памяти. В качестве основы хранения памяти в мозге рассматривали, в частности, долговременные изменения активности киназ, увеличение количества рецепторов в синаптических мембранах и изменение их субъединичного состава, локальное действие прионоподобных белков, эпигенетические изменения хроматина, а также сочетание этих факторов [1, 2].

Принятые сокращения: ФС – фосфатидилсерин; цАМФ – циклический аденозинмонофосфат; AMPA – рецептор α-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты; aPKC – атипичные протеинкиназы; CaMKII – кальций/кальмодулин-зависимая протеинкиназа II (Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase II); CBP – белок, связывающий CREB (CREB binding protein); CREB – белок, связывающий цАМФ-чувствительный элемент (CRE-binding protein); DAG – диацилглицерол; DNMT – ДНК-метилтрансфераза (DNA methyltransferase); DTEs – сигналы дендритной локализации (dendritic targeting elements); E-LTP/L-LTP – ранняя/поздняя фаза долговременной потенциации (early/late long-term potentiation); ERK – киназа, регулируемая внеклеточными сигналами (extracellular signal-regulated kinase); GluA – субъединица глутаматного рецептора AMPA; GluA1-AMPA/GluA2-AMPA – глутаматный AMPA-рецептор, содержащий GluA1/GluA2 субъединицу; HDAC – гистондеацетилаза; LTP – долговременная потенциация (long-term potentiation); mTORK – киназа мишени рапамицина млекопитающих (mammalian target of rapamycin); PICK1 – белок, взаимодействующий с C-киназой (protein interacting with C kinase); PI3K – фосфоинозитид-3-киназа (phosphoinositide 3-kinase); PIN1 – пептидил-пролил-*цис-транс*-изомераза 1 (peptidyl-prolyl cis-trans isomerase NIMA-interacting 1); PKA – протеинкиназа A; PKC – протеинкиназа C; PKMζ – протеинкиназа Mζ; PKCλ – протеинкиназа Cλ; shRNA – короткие РНК, образующие шпильки (short hairpin RNA); TSA – трихостатин A; uORF – короткая открытая рамка считывания (upstream open reading frame); UTRs – нетранслируемые области мРНК (untranslated regions); ZIP – ингибиторный пептид зета (zeta inhibitory peptide).

* Адресат для корреспонденции.

В последние 15–20 лет было обнаружено, что в нервной системе млекопитающих [3–6] и беспозвоночных [7–10] некоторые представители протеинкиназ С (атипичные РКС) играют важную роль в долговременной потенциации и других формах синаптической пластичности, составляющих физиологический субстрат долговременной памяти. Было убедительно показано, что избирательная блокада аРКС с помощью специфического для этих молекул пептида в определенной структуре мозга нарушает память, формирование которой в норме происходит с участием именно этой области мозга [6, 11–14]. Наблюдаемое в экспериментах стирание памяти не сопровождалось нарушениями других процессов жизнедеятельности и, более того, никак не отражалось на формировании нового памятного следа или повторной выработке той же самой памяти [15, 16]. Примечательно то, что эту вновь выработанную память можно было опять стереть при повторном ингибировании аРКС [16]. Полученные данные обусловили большой интерес исследователей к атипичным протеинкиназам С, в особенности к одной изоформе – протеинкиназе Mζ.

СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ И КЛЕТОЧНАЯ ЛОКАЛИЗАЦИЯ АТИПИЧНЫХ ПРОТЕИНКИНАЗ

Представители семейства протеинкиназ С (РКС) сходны по строению. Типичная белковая молекула состоит из регуляторного (*N*-конец) и каталитического (*C*-конец) доменов, соединенных перемычкой (hinge) (рис. 1, *а*) [17–19]. *N*-концевой регуляторный домен содержит область, функционирующую как псевдосубстрат, его связывание с активным сайтом *C*-концевого каталитического домена блокирует работу протеинкиназы (рис. 1, *а*) [18]. Взаимодействие вторичных посредников (в случае классических и новых РКС) или фосфолипидов и белков скаффолда (в случае атипичных РКС, рис. 1, *а*) с пос-

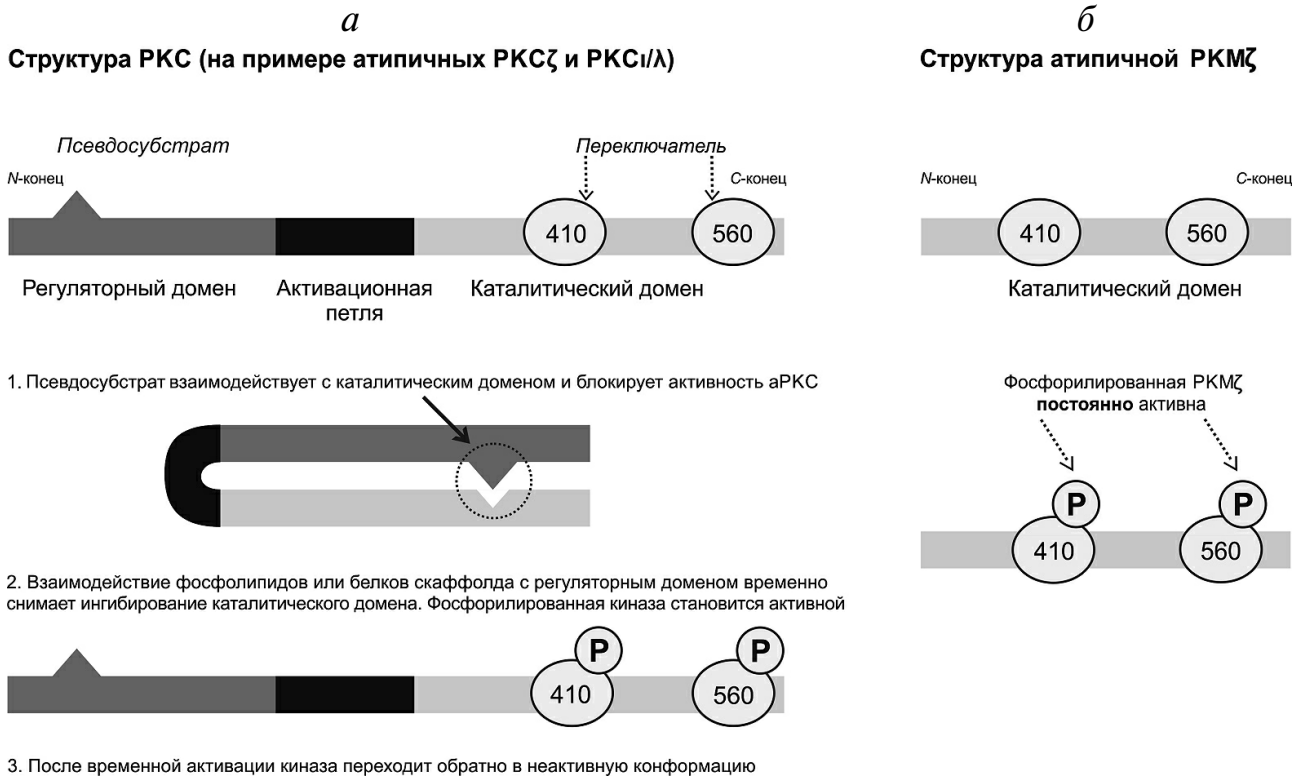

Рис. 1. Структурные особенности лежат в основе различий характеристик временнóй активности атипичных протеинкиназ С (аРКС). *а* – РКСζ и РКСι/λ состоят из регуляторного и каталитического доменов. Последовательность псевдосубстрата в регуляторном домене связывается с участком киназного домена и, таким образом, блокирует его активность. Взаимодействие фосфолипидов или белков скаффолда с регуляторным доменом ведет к временным конформационным перестройкам, определяющим активированное состояние РКСζ и РКСι/λ. Таким образом, активность киназ ограничивается временем взаимодействия этих молекул с регуляторным доменом; *б* – в белковой молекуле РКМζ отсутствует регуляторный домен, поэтому киназа постоянно активна. На схеме в каталитическом домене аРКС отмечены два сайта, фосфорилирование которых приводит к повышению киназной активности и увеличению времени жизни молекулы

ледовательностью регуляторного домена РКС запускает временные конформационные изменения, приводящие к снятию аутоингибирования каталитического домена и переносу активной киназы на мембрану [17, 19]. После разрушения вторичного посредника РКС снова переходит в неактивную конформацию (рис. 1, *а*). При ближайшем рассмотрении семейства РКС оказалось, что каталитический домен различных изоформ РКС достаточно консервативен, в то время как регуляторные домены отдельных киназ отличаются. По характеру взаимодействия с вторичными посредниками РКС можно условно разделить на три группы: классические протеинкиназы (α, β, γ), активность которых регулируется ионами кальция, диацилглицеролом (DAG) и фосфатидилсерином (ФС); новые (δ, ε, η, θ), регуляция активности которых опосредована взаимодействием регуляторного домена киназ только с DAG и ФС; атипичные протеинкиназы (ζ, ι, λ), регуляция активности которых до конца не определена, показано только, что она не зависит от присутствия ионов кальция и DAG, но может усиливаться в присутствии некоторых фосфолипидов [17–21].

По данным ряда работ последних лет представители атипичных протеинкиназ РКМζ и РКСι/λ являются важным звеном образования и поддержания долговременных изменений синаптической пластичности и памяти у беспозвоночных и позвоночных животных [1, 3–5, 7, 8, 11, 13]. Особый интерес для нейробиологов представляет изоформа РКСζ – протеинкиназа Mζ (РКМζ) (рис. 1, *б*). В нервной системе беспозвоночных РКСζ подвергается протеолитическому расщеплению с отделением регуляторного домена и образованием укороченной, конститутивно активной РКМζ [9, 22, 23]. На протяжении долгого времени РКМζ рассматривали исключительно как продукт протеолитического расщепления РКСζ [24], пока не были получены данные на нокаутных по гену *РКСζ* животных, продемонстрировавшие возможность синтеза РКМζ в мозге млекопитающих при полном отсутствии белковых молекул РКСζ [23]. При рассмотрении вопроса о происхождении нейрональной РКМζ следует обратиться к данным по организации гена *РКСζ* у позвоночных [25]. Известно, что на 5'- и 3'-концах гена располагаются кластеры экзонов, кодирующих регуляторный и каталитический домены соответственно [25]. В ходе активации промотора на 5'-конце гена происходит образование длинного транскрипта, кодирующего РКСζ. В процессе эволюционного развития внутри интрона гена *РКСζ* позвоночных, разделяющего 5'- и 3'-кластеры экзонов, образовался дополнительный промотор, активация которого гарантирует образование альтернативного (короткого) транскрипта, содержащего последовательность каталитического домена и соответствующего РКМζ [1, 23, 25]. На основании результатов одной из классических работ по РКМζ, а также факта наличия РКСζ в нервной системе в следовых количествах (см. ниже) принято считать, что основным источником белковых молекул протеинкиназы Mζ в мозге млекопитающих является синтез белка *de novo* с коротких РКМζ-транскриптов [23].

При анализе нетранслируемых 5'- и 3'-областей мРНК РКМζ (5'- и 3'-UTRs) обнаружилась еще одна интересная особенность: в этих 5'- и 3'-UTRs находятся особые сигналы дендритной локализации (DTEs), определяющие дальнейшее перемещение транскриптов в строго определенные клеточные компартменты, в которых «по запросу» осуществляется синтез белковых молекул «на местах» [26, 27]. Авторы показали, что 5'-DTE отвечает за сомато-дендритное распределение мРНК РКМζ, тогда как 3'-DTE обеспечивает внутриклеточную транспортировку транскриптов в дистальные дендриты и синапсы [26]. Сведения о распределении транскриптов РКМζ хорошо согласуются с результатами анализа внутриклеточной локализации белковых молекул аРКС у беспозвоночных и млекопитающих. По некоторым данным, белки РКСζ и РКМζ концентрируются в местах синаптических контактов клеточных отростков, где их присутствие является неотъемлемым звеном механизмов долговременной потенциации и синаптической пластичности [28, 29]. В отдельных работах было описано ядерное расположение белков РКМζ и РКСζ в активированных [30, 31] и неактивированных клетках [28], где их присутствие, по-видимому, может быть необходимым для реализации и регуляции различных эпигенетических программ, о которых будет рассказано далее.

В начале 2000-х гг. были выполнены исследования распределения аРКС в организме. Скрининг различных тканей показал широкое распространение двух изоформ (РКСζ и РКСι/λ) во внутренних органах (печень, почки, легкие и т.д.) и, в значительно меньшей степени, в мозге [23]. С другой стороны, короткая, конститутивно активная РКМζ была обнаружена исключительно в мозге, в особенности в таких структурах, как гиппокамп, неокортекс, стриатум и гипоталамус [23, 32]. Подробное исследование локализации различных аРКС в нервной ткани показало, что РКМζ является основной изоформой аРКС, характерной для мозговых структур. При этом, наряду с РКМζ, в гиппокампе экс-

прессируется PKCι/λ, а в мозжечке в следовых количествах встречается PKCζ [23, 32].

Таким образом, PKMζ является наиболее распространенной, нейронспецифичной изоформой атипичных протеинкиназ С, конститутивная активность которой в строго определенных синаптических компартментах, по-видимому, необходима для реализации программ хранения памяти у беспозвоночных и позвоночных животных.

ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ АТИПИЧНЫХ ПРОТЕИНКИНАЗ. АТИПИЧНЫЕ ПРОТЕИНКИНАЗЫ В КОНТЕКСТЕ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ

Как упомянуто ранее, атипичные протеинкиназы в мозге в основном представлены изоформой PKMζ. Синтезированные *de novo* белковые молекулы PKMζ быстро подвергаются фосфорилированию по двум сайтам в каталитическом домене (рис. 1, 2), после чего протеинкиназа переходит в активное состояние (см. ниже). Поскольку в последовательности PKMζ отсутствует регуляторный домен с псевдосубстратной областью, активация протеинкиназы носит постоянный характер [23, 25]. В этом аспекте PKMζ кардинально отличается от PKCζ и PKCι/λ, фосфорилирование и активация которых ограничены наличием регуляторного домена и поэтому реализуются только в определенных условиях (например, при LTP, см. ниже) [18, 19].

По некоторым данным, консервативный каталитический домен PKC отличается низкой субстратной специфичностью, в связи с чем для семейства PKC, в т.ч. aPKC, известен целый спектр мишеней, участвующих во взаимодействии цитоскелета с клеточной мембраной [33–35]. Широкий выбор мишеней и отсутствие субстратной специфичности ставят под сомнение существование специфических субстратов, фосфорилирование которых будет ключевым в реализации уникальных функций, приписываемых отдельным изоформам семейства aPKC в нервной системе. Данные литературы не отвечают на вопрос о механизмах избирательного фосфорилирования субстратов протеинкиназой Mζ. Однако направленное фосфорилирование субстратов другими aPKC объясняется с позиций адресной доставки протеинкиназ к различным внутриклеточным мишеням [33]. Было показано, что субстратная изоляция протеинкиназ или, наоборот перенос aPKC к мишеням в строго заданные клеточные компартменты, обусловлен взаимодействием aPKC с белками скаффолда (scaffold proteins), такими как p62 и Par (белок, определяющий клеточную полярность), которые не только правильно ориентируют aPKC в пространстве, но также могут контролировать их активность посредством конформационных перестроек, ведущих к освобождению каталитического домена из комплекса с псевдосубстратом [35, 36]. Принимая во внимание эти данные, рассмотрение механизмов синаптической пластичности и памяти требует комплексного подхода с анализом ферментативной активности атипичных PKC, взаимодействия aPKC с белками скаффолда и внутриклеточного адресного транспорта aPKC к субстратам.

При изучении механизмов формирования и хранения памяти нередко используют модели *in vitro*. Наиболее изученная и общепринятая модель долговременной синаптической потенциации (LTP) заключается в выработке длительных изменений синаптической эффективности путем высокочастотной стимуляции афферентных волокон, приводящей к активации постсинаптической клетки. Впервые LTP была убедительно показана в работе Bliss и Lomo [37]. Долговременная потенциация представлена, по меньшей мере, двумя временны́ми фазами – ранней (E-LTP) и поздней (L-LTP), которые обусловлены разными молекулярными механизмами потенциации. E-LTP рассматривается как кратковременное (до 2 ч) увеличение эффективности синапсов. Дальнейший переход от кратковременных изменений эффективности синапсов (E-LTP) к долговременным (L-LTP) является необходимым условием формирования и сохранения памятного следа. Большое количество работ указывает на важную роль aPKC в формировании памяти, поэтому далее будут рассмотрены некоторые молекулярные механизмы, лежащие в основе кратковременных и длительных синаптических модификаций.

Недавно было показано, что во время индукции LTP глутаматные кальций-проницаемые рецепторы α-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты (рецепторы AMPA с GluA1-субъединичным составом, GluA1-AMPA) в большом количестве встраиваются в постсинаптические мембраны нейронов гиппокампа [38]. Существует мнение, что наблюдаемое увеличение плотности рецепторов в постсинаптических окончаниях опосредовано PKC, поскольку активация и перенос на мембрану отдельных ее изоформ (α, βI, βII, δ, η и ζ) регистрируется во время индукции LTP [22, 39]. Отметим, что хотя через 10 мин после индукции LTP наблюдается рост количества белковых молекул PKMζ в цитозоле, тем не менее, ее присутствие несущественно для развития кратковременных

изменений пластичности [4, 39]. По некоторым данным, другая атипичная протеинкиназа – PKCλ – является критическим фактором развития E-LTP, определяющим фосфорилирование и встраивание GluA1-AMPA в мембрану в активных синапсах (рис. 2, *а*) [36]. Присутствие в клетках скаффолд-белка p62, взаимодействующего с aPKC, облегчает пространственное сближение киназы и рецепторов, а также гарантирует образование тройного комплекса PKCλ–GluA1–p62 в потенциированных синапсах во время ранней фазы LTP (рис. 2, *а*), что, по-видимому, определяет дальнейший транспорт и встраивание кальций-проницаемых рецепторов GluA1-AMPA в синаптическую мембрану [36]. Напротив, кальций-непроницаемые рецепторы AMPA (с GluA2-субъединичным составом, GluA2-AMPA) во время фазы индукции удерживаются во внутриклеточном пространстве белком PICK1 (белок, взаимодействующий с C-киназой; рис. 2, *а*), который связывается с GluA2-субъединицей рецепторов и предотвращает их транспортировку и встраивание в постсинаптическую мембрану. По некоторым данным, первоначальная активация кальций-проницаемых рецепторов GluA1-AMPA облегчает расформирование образованных комплексов PICK1–GluA2 (в первые 20 мин индукции LTP) и запускает транспортировку кальций-непроницаемых рецепторов GluA2-AMPA на мембрану [38]. Таким образом, PKCλ может играть роль в индукции LTP посредством регуляции встраивания рецепторов GluA1-AMPA

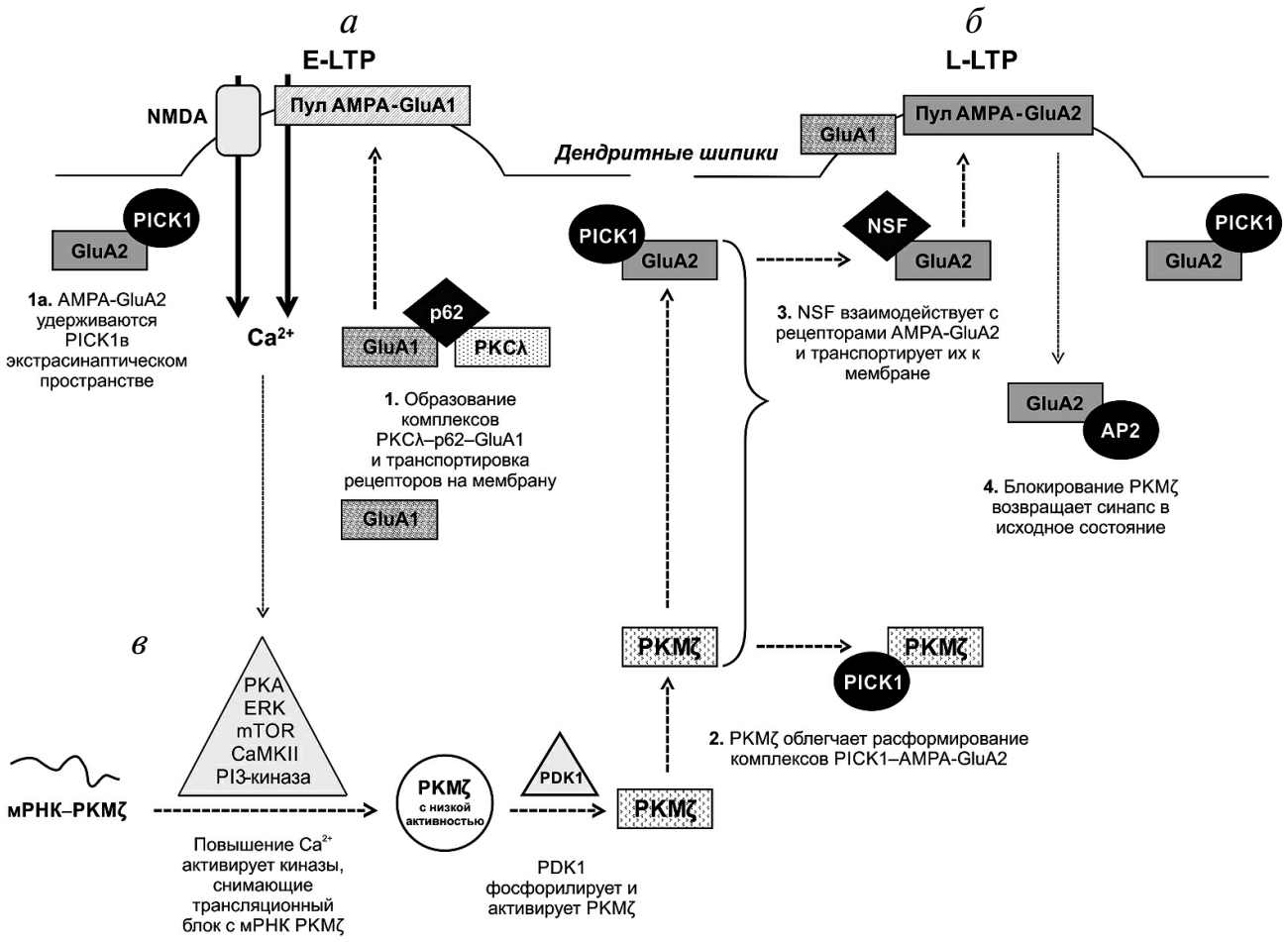

Рис. 2. Роль атипичных протеинкиназ в индукции и поддержании долговременных изменений синаптической пластичности. *а* – Во время ранней фазы потенциации PKCι/λ регулирует внутриклеточную транспортировку кальций-проводящих глутаматных рецепторов GluA1-AMPA и увеличивает их встраивание в постсинаптическую мембрану; *б* – во время поздней фазы потенциации PKMζ облегчает формирование комплексов кальций-непроводящих рецепторов GluA2-AMPA с транспортным белком NSF и их встраивание в постсинаптическую мембрану; *в* – увеличение концентрации внутриклеточного кальция в потенциированных синапсах способствует активации ряда киназ, снимающих трансляционный блок с мРНК PKMζ. Новообразованная PKMζ фосфорилируется киназой PDK1 и становится конститутивно активной. Активная PKMζ обеспечивает поддержание измененной (увеличенной) эффективности потенциированных синапсов в течение долгого времени

в постсинаптическую мембрану. Запускаемые процессы изменяют связывание белка PICK1 с другим подтипом рецепторов – GluA2-AMPA, тем самым контролируя временны́е изменения субъединичного состава глутаматных AMPA-рецепторов в активных синапсах на ранних стадиях LTP (рис. 2).

Хорошо известно, что при индукции LTP активируются рецепторы NMDA, вход кальция через которые, по-видимому, стимулирует различные внутриклеточные киназы, запускающие снятие трансляционного блока с транскриптов PKMζ и, соответственно, последующий синтез конститутивно активной протеинкиназы [22, 39].

Таким образом, одна из атипичных протеинкиназ, PKCλ, опосредует развитие E-LTP, тогда как присутствие PKMζ считается необходимым и достаточным условием дальнейшего перевода кратковременных изменений эффективности синапсов в длительные [3, 4].

Развитие L-LTP зависит от наработки новых белков, и применение неспецифических блокаторов синтеза белка предотвращает развитие поздней фазы потенциации [3, 4]. Данные экспериментов *in vitro* и *in vivo* демонстрируют увеличение количества белковых молекул PKMζ во время L-LTP и при обучении [22, 23, 27, 39, 40]. Согласно ряду работ, повышенный уровень PKMζ положительно коррелирует с усилением постсинаптических токов через рецепторы AMPA [3, 5, 22, 23, 39, 41, 42], которое, как принято считать, отражает эффективность синапсов и происходит во время формирования памяти. Подавление активности PKMζ с помощью специфического ингибиторного пептида зета (ZIP) устраняет уже сформированную долговременную потенциацию и нарушает хранение памяти [3–5, 11, 13].

Считается, что во время потенциации новообразованная, функционально активная протеинкиназа Mζ опосредует перераспределение рецепторов AMPA между синаптическим и экстрасинаптическим клеточными компартментами и регулирует их встраивание в постсинаптическую мембрану, т.е. изменяет эффективность синапсов (рис. 2, *б*) [5, 41]. Анализ фракции синаптосом, выделенных из активированных срезов гиппокампа крысы, показал существенное снижение мембранной фракции кальций-проницаемых рецепторов GluA1-AMPA и увеличение доли встроенных в мембрану кальций-непроницаемых рецепторов GluA2-AMPA [5]. По аналогии с экспериментами *in vitro*, в работах *in vivo* показано, что при обучении животных в тесте условно-рефлекторного избегания (fear conditioning) увеличение количества PKMζ положительно коррелирует с плотностью мембранных рецепторов GluA2-AMPA в прелимбической коре [40] и базолатеральной миндалине [13]. Молекулярный механизм PKMζ-зависимого транспорта рецепторов GluA2-AMPA в потенциированных синапсах был детально изучен в одной из работ, где было показано, что наработка протеинкиназы в потенциированных синапсах облегчает высвобождение рецепторов GluA2-AMPA из комплексов с белком PICK1, который удерживает их во внутриклеточном пространстве (рис. 2, *б*) [5]. По версии авторов, это может происходить за счет прямого взаимодействия PKMζ с белком PICK1, поскольку комплексы PKMζ–PICK1 были преципитированы из гомогенатов гиппокампа. Как следствие, тирозин-обогащенная область на *C*-конце свободных субъединиц GluA2 в составе AMPA-рецепторов остается открытой для связывания с транспортным белком NSF, осуществляющим перенос рецепторов на постсинаптическую мембрану (рис. 2, *б*) [5]. Показано, что другой белок AP2 (адапторный клатриновый комплекс, clathrin adaptor complex), который является одним из модуляторов эндоцитоза в плазматической мембране, может связываться с *C*-концевым участком GluA2-субъединицы и перекрывать сайт связывания с NSF [43]. В этом случае рецепторы AMPA активно удаляются из постсинаптической мембраны, возвращая синапс в исходное, непотенциированное состояние (рис. 2, *б*). Примечательно то, что предотвращение встраивания рецепторов AMPA в мембрану при введении пептида pep2m, имитирующего NSF-связывающий сайт GluA2-субъединицы, не только блокирует развитие потенциации, но и полностью устраняет сформированную L-LTP [5]. Эти эксперименты полностью повторяют результаты подавления активности PKMζ с помощью ZIP. По всей видимости, поддержание повышенного количества постсинаптических рецепторов AMPA (и, следовательно, увеличение постсинаптических токов через эти рецепторы) требует постоянного присутствия активной PKMζ, и эти изменения могут лежать в основе длительного усиления эффективности синапсов и хранения памяти.

Таким образом, PKCλ является одним из необходимых компонентов для индукции LTP за счет облегчения встраивания рецепторов GluA1-AMPA в постсинаптическую мембрану. С другой стороны, PKMζ обеспечивает поддержание LTP и памяти за счет стабилизации на определенном уровне постсинаптических рецепторов AMPA (либо за счет подавления их интернализации, либо посредством усиления NSF-опосредованного клеточного транспорта рецепторов к мембране) [1, 44].

РОЛЬ АТИПИЧНЫХ ПРОТЕИНКИНАЗ В ФОРМИРОВАНИИ И ПОДДЕРЖАНИИ ПАМЯТИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ И БЕСПОЗВОНОЧНЫХ *in vivo*

Многочисленные работы указывают на важную роль атипичных протеинкиназ, в частности PKMζ, в процессах обучения и формирования памятного следа у беспозвоночных и позвоночных животных [1]. Согласно экспериментальным данным, количество белковых молекул атипичной PKMζ ощутимо возрастает после некоторых видов обучения [6, 40, 45] и, по всей видимости, поддерживается на определенном уровне в течение долгого времени, поскольку блокирование активности PKMζ нарушает поддержание и хранение долговременной памяти, сформированной задолго до введения ингибитора [11, 16, 46]. На сегодня считается, что PKMζ является ключевым звеном в цепи событий, приводящих к формированию и хранению памяти, и опосредует избирательное поддержание отдельных форм памяти, таких как контекстная (context), сигнальная (cued), пищевая аверсия (food aversion), пространственная (spatial). Кроме того, есть основания считать, что эта молекула необходима также для процесса реконсолидации, запускаемого напоминанием [47].

Присутствие активной PKMζ является критическим фактором для поддержания контекстной (обстановочной) памяти у крыс. В недавно опубликованной работе исследование контекстной памяти в тесте условно-рефлекторного избегания проводили на фоне избирательной оверэкспрессии PKMζ в гиппокампе крыс [42]. Оказалось, что животные с гиперпродукцией PKMζ лучше обучались и демонстрировали усиление реакции на повторное предъявление контекстного стимула через неделю после обучения [42]. Напротив, локальное введение блокатора PKMζ – ZIP в базолатеральную миндалину [12, 13, 46, 48] и/или поле CA3 (cornus ammonis) гиппокампа [11, 12, 46] обученным животным препятствовало сохранению памятного следа на контекстный стимул в тесте условно-рефлекторного избегания. Отметим, что введение блокатора в дорзолатеральный гиппокамп никак не влияло на память. По мнению авторов, в случае, если наблюдаемый дефицит памяти обусловлен нарушением извлечения информации, эффекты блокатора будут временными, тогда как проблемы поддержания (сохранения) информации при введении ZIP будут носить постоянный характер [11]. В экспериментах с повторным предъявлением контекстного напоминания, как через два часа, так и через неделю после введения блокатора PKMζ, было обнаружено снижение обучаемости и памяти у крыс [11]. Таким образом, полученные данные свидетельствуют скорее о продолжительном ZIP-опосредованном нарушении хранения долговременной пространственной памяти, чем о временных проблемах с ее извлечением. Поскольку подавление активности PKMζ сопровождалось снижением ответа AMPA-рецепторов [11] и, соответственно, падением числа GluA2-AMPA [13] только в потенцированных синапсах обученных животных (но не в контроле), можно предположить, что PKMζ-опосредованное хранение памяти реализуется через поддержание определенного количества рецепторов GluA2-AMPA на постсинаптической мембране.

Интересно отметить, что данные экспериментов на мозге млекопитающих хорошо воспроизводятся и в простых нервных системах беспозвоночных. Так, в одной из недавних работ была исследована контекстная память у виноградной улитки в модели обстановочного оборонительного поведения [10]. Оказалось, что селективный блокатор PKMζ – ZIP, но не его неактивный аналог (scr-ZIP, scrambled), приводит к исчезновению памяти на обстановку у обученных животных. Интересно отметить, что действие блокатора наблюдается только в отношении уже сформированной памяти, когда образовались новые молекулы PKMζ. С другой стороны, в условиях запуска формирования новых молекул PKMζ при активации памяти напоминанием (реконсолидация, длящаяся 4–6 ч) эффекты блокатора не проявляются [10].

В модели условно-рефлекторного избегания наряду с контекстной памятью часто оценивают еще один параметр – так называемую сигнальную память (cued memory). Было показано, что реакция крыс на сигнальный (ключевой) стимул при помещении в новую обстановку снижается после подавления активности PKMζ в базолатеральной миндалине [12, 46], но не меняется на фоне уменьшения количества активной PKMζ в гиппокампе [12, 42]. Таким образом, формирование и хранение контекстной и сигнальной памяти, по-видимому, сопряжено с активностью PKMζ в отдельных зонах мозга [11, 13, 42, 46, 48].

В серии работ исследовали PKMζ-опосредованную аверсивную память крыс в тесте условно-рефлекторной пищевой аверсии (CTA, conditioned taste aversion). В основе этого вида обучения лежит применение отрицательного подкрепления и выработка отрицательной реакции животного на предъявление исходно нейтрального (нерелевантного) пищевого стимула. Введение ZIP во время или сразу после серии тренировок не приводило к нарушению обучения

крыс, что свидетельствует о PKMζ-независимом формировании кратковременной памяти [16]. Однако введение ингибитора PKMζ в островковую область коры через 3 дня, 1 или 3 мес. после обучения приводило к снижению пищевой аверсии во всех наблюдаемых временны́х точках. Это говорит об эффективном стирании аверсивной памяти в используемой экспериментальной модели и свидетельствует о необходимости функционально активной PKMζ для поддержания долговременных изменений [15, 16]. С другой стороны, локальное введение ZIP в дорзальный гиппокамп не изменяло аверсивную память, из чего следует вывод о регионспецифичном хранении аверсивной памяти у млекопитающих [15]. В экспериментах *in vivo* были приведены прямые доказательства, что продолжительное PKMζ-опосредованное фосфорилирование мишеней является обязательным условием хранения аверсивной памяти в кортикальных отделах мозга [45]. Локальная оверэкспрессия лентивирусных конструкций, кодирующих нативную форму PKMζ, положительно коррелировала с долговременными изменениями и даже приводила к усилению уже существующей памяти. С другой стороны, оверэкспрессия мутантной формы PKMζ с неактивным каталитическим сайтом, наоборот, нарушала поддержание длительных изменений [45]. Таким образом, для поддержания аверсивной памяти в течение долгого времени требуется постоянное присутствие активной PKMζ в островковой области коры.

Роль PKMζ в хранении аверсивной памяти была исследована также в серии работ на беспозвоночных. Долговременная аверсивная память у таракана *Leucophaea maderae*, выработанная при сочетании неприятного запаха с пищевым подкреплением, могла быть стерта при системном введении хелеритрина или ZIP [49]. В работе на дрозофиле *Drosophila melanogaster* были получены схожие данные: кормление мух блокатором aPKC хелеритрином или повышение экспрессии генов, подавляющих активность PKMζ, нарушало формирование оборонительного рефлекса на запах и, следовательно, вызывало стирание аверсивной памяти у насекомых [7]. Напротив, активация экспрессии гена *PKMζ* приводила к укреплению аверсивной памяти. В ходе анализа поведения виноградных улиток *Helix lucorum* в модели условного рефлекса пищевой аверсии было обнаружено, что оборонительная реакция на условный пищевой стимул исчезала после введения тренированным животным блокатора PKMζ–ZIP, но не его неактивного аналога scr-ZIP [10]. Важно подчеркнуть, что ZIP-опосредованное нарушение памяти не является необратимым и стертая один раз аверсивная память может быть выработана снова на тот же релевантный стимул [15, 16]. Что самое интересное, вновь сформированная память снова может быть стерта при введении новой порции ZIP [16].

В работе Serrano et al. была исследована одна из разновидностей пространственной памяти у крыс в тесте активного избегания места (active place avoidance) [12]. Оказалось, что введение хелеритрина в область дорзального гиппокампа приводило к нарушению памяти, что, по мнению авторов, может свидетельствовать о PKMζ-опосредованных механизмах хранения пространственной информации. Однако в свете данных последних лет о возможности активации хелеритрином других внутриклеточных мишеней полученные результаты нуждаются в тщательном пересмотре. Кроме того, исследование пространственной памяти крыс в водном лабиринте Морриса выявило интересную особенность. Оказалось, что в дорзальном гиппокампе активная PKMζ поддерживает только очень конкретную информацию о положении в пространстве, необходимую для аккуратной ориентации в лабиринте [12]. Тем не менее, присутствие протеинкиназы несущественно для сохранения общей пространственной или контекстной информации, необходимой для реализации стратегии поиска в пространстве. Аналогичное отсутствие положительных корреляций пространственной памяти с уровнем PKMζ было выявлено при тестировании мышей в водном лабиринте [50]. Оказалось, что из всех протеинкиназ класса C только для PKCγ отмечалось нарастание количества белка (через 6 ч) в гиппокампе тренированных животных, которое соотносилось со временем, проведенным мышью в целевом квадранте лабиринта. Таким образом, нельзя исключать, что формирование и извлечение пространственной памяти в гиппокампе может определяться количеством PKCγ или же существующие методики определения изменений количества белкового продукта недостаточно точны для выявления локальных изменений при формировании памяти.

С другой стороны, в сериях поведенческих тестов по нахождению объектов в пространстве (object location и object-in-place), нацеленных на исследование ассоциативной памяти в пространстве, было продемонстрировано, что хранение пространственной памяти определяется наличием активной PKMζ [13, 14, 42]. В работах использовался классический подход, основанный на ингибировании активности фермента с помощью ZIP в структурах гиппокампа и медиальной области префронтальной коры. Авторами

было показано, что ингибирование PKMζ ведет к серьезным нарушениям воспроизведения уже сформированной памяти в исследуемых структурах мозга [14]. Согласно одной из работ, действие PKMζ по поддержанию пространственной памяти в тесте на нахождение объектов в пространстве (object location) реализуется через увеличение количества встроенных в постсинаптическую мембрану рецепторов GluA2-AMPA, поскольку затруднение их удаления из мембраны препятствует ZIP-зависимой потере памяти [13]. С другой стороны, локальная оверэкспрессия PKMζ в гиппокампе крыс с помощью аденовирусных конструкций не влияет на хранение памяти о расположении объектов в пространстве [42]. Согласно полученным результатам, хранение пространственного компонента ассоциативной памяти чувствительно к падению уровня активной PKMζ, но не зависит от наработки избыточного количества фермента.

Таким образом, многочисленные экспериментальные данные указывают на исключительную значимость PKMζ для хранения отдельных разновидностей памяти: в то время как PKMζ опосредует поддержание контекстной и сигнальной памяти в миндалине, а также аверсивной памяти в островковой зоне коры, реакция на контекстные и сигнальные стимулы не требует присутствия фермента в гиппокампе. Что касается пространственной памяти, механизмы ее формирования и хранения могут быть сложнее, поскольку зависят от активности разных изоформ PKC. На основании этого можно сделать предположение о регионспецифичном хранении разновидностей памяти и избирательности PKMζ в их поддержании у млекопитающих. Кроме того, результаты экспериментов на моллюсках и насекомых схожи с данными, полученными в экспериментах на крысах и мышах, что прямо указывает на общность молекулярных механизмов хранения и поддержания некоторых разновидностей памяти у беспозвоночных и млекопитающих, несмотря на принципиальную разницу в системных механизмах памяти.

ДИРИЖЕР ДОЛГОВРЕМЕННЫХ ПЛАСТИЧЕСКИХ ПЕРЕСТРОЕК: PKMζ ИЛИ PKCλ?

Большинство свидетельств, указывающих на роль PKMζ в поддержании LTP и долговременной памяти (см. выше), базируются на ингибировании активности протеинкиназы с помощью ZIP. В этом свете некоторые работы, в которых использовались альтернативные подходы для изучения длительных изменений пластичности, поставили вопрос о наличии других молекул этого же семейства, кроме PKMζ, активно участвующих в поддержании долговременной памяти.

Основным аргументом для пересмотра роли PKMζ стали результаты, полученные в недавних работах на мышах с инактивированным геном *PKCζ/PKMζ* [6, 51, 52]. Парадоксально, но выключение гена *PKCζ/PKMζ* (conventional knockout) никак не влияло на хранение и извлечение ассоциативной, пространственной и двигательной памяти у мышей в ряде поведенческих тестов [6, 51, 52]. Данные опытов *in vivo* были дополнены серией экспериментов *in vitro*, в которых стимуляция срезов гиппокампа этих животных приводила к развитию LTP, несмотря на отсутствие PKMζ в клетках [6, 52]. Авторы показали, что долговременная потенциация в гиппокампальных срезах контрольных и *PKCζ/PKMζ*$^{-/-}$-животных одинаково снималась в присутствии ZIP, что могло свидетельствовать о наличии у него других мишеней. Одним из кандидатов на эту роль является атипичная протеинкиназа PKCλ.

Для исследования роли PKCλ в поддержании долговременной памяти Ren et al. разработали генетические конструкции с shRNA (короткими РНК, образующими шпильки) для подавления экспрессии гена *PKCλ* [36]. Сконструированные shRNA комплементарно связываются с мРНК целевого гена и вызывают ее деградацию. Оказалось, что shRNA-обусловленное падение уровня PKCλ в гиппокампе крыс сопровождалось снижением амплитуды потенциации. Дальнейшие эксперименты с использованием селективных блокаторов продемонстрировали, что активация PKCλ облегчает встраивание рецепторов GluA1-AMPA в постсинаптическую мембрану и, следовательно, опосредует поддержание изменений синаптической пластичности [36]. Основываясь на экспериментальных данных, авторы полагают, что PKCλ является необходимым компонентом для формирования долговременной памяти.

В дополнение к этому в лаборатории R.Y. Tsien были исследованы динамические изменения количества атипичных протеинкиназ в химически стимулированных культурах нейронов [53]. Для этой задачи авторами были разработаны генетически модифицированные конструкции, содержащие последовательность *PKMζ* или *PKCλ* с флуоресцентными метками, которые позволяют отслеживать судьбу соответствующих новообразованных белковых молекул. Анализ интенсивности флуоресцентного сигнала в кортикальных нейронах крысы показал, что базовый уровень PKMζ в нестимулированных культурах поддерживается на постоянном уров-

не, но количество PKMζ существенно возрастает в дендритных шипиках после химической стимуляции нейронов. Интересно отметить, что быстрая наработка меченых молекул протеинкиназы сменялась такой же быстрой деградацией PKMζ [53]. Напротив, уровень PKCλ лишь немного повышался в дендритных шипиках после химической индукции LTP, но отсутствие изменений флуоресцентного сигнала во времени свидетельствовало о стабильности новообразованной PKCλ в анализируемых культурах. Согласно данным, приведенным выше, механизмы поддержания длительных изменений в мозге могут реализовываться с участием не столько PKMζ, сколько PKCλ.

Решающую точку в разногласиях по поводу участия атипичных протеинкиназ в поддержании долговременной памяти поставила группа ученых из лаборатории T.C. Sactor. Авторы обнаружили, что обе атипичные протеинкиназы могут участвовать в поддержании длительных изменений, поскольку в пирамидных клетках поля CA1 гиппокампа мыши ZIP одинаково подавлял развитие потенциации, вызванной как PKMζ, так и PKCλ [6]. Эти данные согласуются с ранними работами, в которых было показано, что PKCλ важна во время ранней фазы синаптической потенциации [27, 36], тогда как процесс поддержания LTP может контролироваться как PKMζ, так и PKCλ [6, 14]. Согласно последним данным, в гиппокампе мышей *PKCζ/PKMζ*$^{-/-}$ наблюдается рост базового количества белковых молекул PKCλ, а также увеличивается их «продолжительность жизни» в потенциированных клетках [6]. В норме поддержание LTP *in vitro* и долговременной памяти *in vivo* опосредовано PKMζ (см. выше), однако, как показано авторами, в отсутствие активной протеинкиназы лидирующая роль в поддержании длительных изменений пластичности в гиппокампе и сохранении пространственной памяти переходит к PKCλ [6]. Таким образом, было экспериментально подтверждено, что на смену базовому механизму поддержания LTP в мозге нокаутных животных *PKCζ/PKMζ*$^{-/-}$ запускается дополнительный PKCλ-зависимый механизм сохранения длительных пластических перестроек.

В заключение отметим, что формирование и сохранение памятного следа представляет собой комплексный процесс, в котором в норме участвуют обе атипичные протеинкиназы. PKCλ, по некоторым данным, важна для формирования памяти, поскольку регулирует количество постсинаптических рецепторов GluA1-AMPA в раннюю фазу LTP (см. выше). С другой стороны, PKMζ необходима и достаточна для поддержания долговременной потенциации и памяти. Кроме того, при недостаточности экспрессии PKMζ в мозге включается компенсаторное PKCλ-опосредованное сохранение памятного следа.

ТРАНСЛЯЦИОННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ PKMζ

На сегодняшний день только для белковых молекул семейства атипичных протеинкиназ – PKMζ и PKCλ – точно доказано, что их присутствие необходимо и достаточно для поддержания памяти [1, 6, 44]. Более того, ингибирование PKMζ может приводить к стиранию старых воспоминаний [13, 16, 46, 48]. Однако при изучении механизмов памяти неизбежно возникает один из ключевых вопросов: если жизнь белковой молекулы ограничена довольно коротким временем, каким образом тогда осуществляется длительное хранение информации? Ответом на этот вопрос может быть существование некоего механизма, который запускается при обучении и приводит к изменению уровня трансляции определенных белков. Будучи активированным, данный механизм в течение долгого времени поддерживает количество молекул этих белков на новом, измененном уровне. На сегодняшний день только для одной молекулы – PKMζ – экспериментально показано длительное поддержание измененного количества белка протеинкиназы в обученных нейронах, обусловленное существованием уникальных механизмов регуляции трансляции мРНК PKMζ. Поэтому данный раздел будет посвящен рассмотрению некоторых аспектов трансляции PKMζ.

Регуляция активности трансляции PKMζ. Механизмы регуляции трансляции протеинкиназы отчасти обусловлены ее структурными особенностями. Показано, что в 5'-UTR мРНК PKMζ присутствуют семь участков с открытой рамкой считывания (uORF, upstream open reading frames), которые, по данным экспериментов *in vitro*, затрудняют ее трансляцию в состоянии покоя [23, 54]. Предполагается, что подавление трансляции PKMζ обусловлено конкуренцией uORF сайтов с основной рамкой считывания (main coding frame) за связывание факторов инициации трансляции и формирование комплексов инициации трансляции [54]. Искусственное укорочение этой 5'-UTR посредством удаления первых четырех сайтов uORF снимает трансляционный блок и способствует повышению синтеза целевого фрагмента *in vitro* [23]. Аналогичное повышение трансляционной активности достигается и при точечном «выключении» сайтов uORF посредством внесения в

них мутаций с сохранением общей длины 5'-UTR мРНК PKMζ [54]. Однако в активных нейронах трансляционный блок преодолевается, и такой тип матрицы с сайтами uORF в 5'-UTR области получает преимущество при трансляции, что выражается в увеличении количества белковых молекул PKMζ в дендритах [54].

Описанный общий механизм uORF-опосредованной регуляции трансляции PKMζ, по-видимому, может быть дополнен в дендритах механизмами локального контроля трансляционной активности PKMζ. В одной из недавних работ были получены свидетельства трансляционной регуляции PKMζ белком PIN1 (пептидил-пролил-*цис-транс*-изомераза 1) [55]. В состоянии покоя активный белок PIN1 в большом количестве присутствует в дендритах и подавляет локальную трансляцию многих мишеней, в т.ч. PKMζ. Выключение гена *PIN1*, наоборот, приводит к возрастанию количества белка PKMζ и PKCζ в коре и гиппокампе мышей *PIN1*$^{-/-}$ вдвое по сравнению с контрольной группой [55].

Показано, что в активированных нейронах PIN1-опосредованный трансляционный блок исчезает, и экспрессия белков увеличивается [55], однако детальный механизм снятия этого блока точно не установлен (см. ниже).

Активация трансляции и поддержание стабильного уровня PKMζ. Как было отмечено ранее, мРНК PKMζ в покое подвергается трансляционной репрессии [1]. Напротив, активация нейронов сопровождается снятием трансляционного блока и быстрой наработкой новых белковых молекул PKMζ. Известно, что ранняя фаза LTP (индукция) сопряжена с активацией трансляции и синтезом белков, в т.ч. PKMζ, *de novo*. Количество PKMζ может увеличиваться в 1,5–2 раза через 30–60 мин после индукции LTP в срезах гиппокампа [22, 23, 27, 39, 40]. Увеличение уровня внутриклеточного кальция стимулирует работу ряда киназ (кальций/кальмодулин-зависимая протеинкиназа II, CaMKII; фосфоинозитид-3-киназа, PI3K; киназа, регулируемая внеклеточными сигналами, ERK; протеинкиназа A, PKA; киназа мишени рапамицина млекопитающих, mTORK), присутствие которых необходимо для индукции синтеза белков (рис. 2, *в*). В работе Kelly et al. [27] было продемонстрировано, что ингибирование любой из этих киназ блокирует трансляцию PKMζ и препятствует развитию LTP. Эти данные наводят на мысль, что сигнальные каскады, опосредованные киназами CaMKII, PI3K, ERK, PKA и mTORK, сходятся в одной точке, и поддержание фосфорилированного статуса их мишеней критично для активации трансляции PKMζ. Одной из таких мишеней, возможно, является PIN1, поскольку в его последовательности есть сайты фосфорилирования для некоторых киназ [55, 56].

Новообразованные атипичные протеинкиназы (PKCζ и PKMζ) характеризуются сравнительно низкой активностью, и достижение ими конформации с максимальной активностью определяется взаимодействием так называемой активационной петли (activation loop) в каталитическом домене (T410 у aPKC) с фосфоинозитид-зависимой протеинкиназой 1 (PDK1) (рис. 1, *а*, *б*; рис. 2, *в*) [18, 19, 27]. Показано, что различные киназы, участвующие в индукции трансляции PKMζ, не влияют на дальнейший уровень ее фосфорилирования и, следовательно, ферментативной активности. Кроме того, PKMζ может увеличивать собственную киназную активность посредством аутофосфорилирования концевого домена T560. В то время как молекулы PKMζ конститутивно фосфорилированы и активны (рис. 1, *б*), статус фосфорилирования и, следовательно, уровень активности другой атипичной протеинкиназы PKCι/λ увеличивается только после индукции LTP [27]. По некоторым данным, количество фосфорилированных сайтов протеинкиназы (рис. 1) положительно коррелирует со временем жизни молекулы, что отчасти может объяснять столь продолжительные эффекты, опосредованные PKMζ [57, 58].

Для поддержания повышенного уровня белковых молекул PKMζ в дендритах обученных нейронов существует петля положительной обратной связи: новообразованная и конститутивно активная протеинкиназа может активировать процесс собственной трансляции путем снятия трансляционного блока [59]. Напротив, блокирование PKMζ с помощью хелеритрина и ZIP препятствует наработке белка PKMζ в стимулированных срезах гиппокампа крысы [27]. Механизм снятия трансляционного блока PKMζ сводится к фосфорилированию S^{16} в молекуле PIN1, что вызывает конформационные изменения, приводящие к потере его функциональной (пептидил-пролил-изомеразной) активности [55]. Таким образом, локальное усиление трансляции PKMζ в потенциированных синапсах приводит к длительному поддержанию в них концентрации PKMζ на высоком уровне и повышенной эффективности синапсов, в которых увеличена концентрация PKMζ, что может служить основой долговременной памяти.

Сопоставляя полученные данные, можно выстроить следующую картину: активация нейронов и рост внутриклеточного кальция приводит в активное состояние многие киназы (CaMKII, PI3K, ERK, PKA и mTORK) и сопряженные с ними внутриклеточные каскады, в результате чего происходит фосфорилирование

мишеней, среди которых есть PIN1. Его фосфорилирование снимает трансляционный блок и увеличивает количество белка PKMζ в активных нейронах. Синтезированная *de novo* PKMζ подвергается фосфорилированию PDK1 и становится конститутивно активной. Далее эта PKMζ через петлю положительной обратной связи пропорционально увеличивает свою трансляцию в активированных клетках, тем самым способствуя длительному поддержанию концентрации белка PKMζ на новом уровне и сохранению памятного следа.

АТИПИЧНЫЕ ПРОТЕИНКИНАЗЫ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ

Работы последних десяти лет свидетельствуют о том, что длительные изменения синаптической пластичности могут быть сопряжены с модификациями хроматина (метилирование ДНК, ацетилирование и метилирование гистонов), которые определяют степень конденсации ДНК, тем самым регулируя доступ транскрипционных факторов и сопутствующую транскрипционную активность генов [2, 60]. Ацетилирование гистонов обычно связывают с увеличением активности генов, тогда как метилирование рассматривают в большинстве случаев как маркер подавления транскрипционной активности генов.

Большое количество экспериментальных работ, направленных на выяснение роли PKMζ в процессах обучения и поддержания памяти, касается ее регуляции на уровне трансляции и посттрансляционных модификаций. Тем не менее, рассмотрение PKMζ в качестве одной из мишеней эпигенетических модификаций, учитывая ее роль в поддержании долговременной потенциации и, в конечном итоге, памяти, представляется перспективным направлением исследований. С другой стороны, присутствие атипичных протеинкиназ может быть критично для реализации и регуляции различных эпигенетических программ, особенно принимая во внимание тот факт, что в последних работах молекулы PKMζ и PKCζ находят в ядерном компартменте активированных [30, 31] и неактивированных клеток [28]. Данный раздел будет посвящен рассмотрению потенциальной роли PKMζ и как мишени, и как регулятора эпигенетических модификаций.

Ацетилирование и PKMζ. Уровень ацетилирования гистонов в клетке определяется соотношением двух групп ферментов с противоположной активностью – гистондеацетилаз (HDAC) и гистонацетилтрансфераз. Согласно ряду работ, увеличение деацетилированного статуса гистонов может быть одной из причин угашения памяти [61, 62]. В частности, удаляя ацетильные группы с H3K9 (9-й лизин 3-го гистона), HDAC1 вызывает избирательную репрессию генов в гиппокампе и опосредует угашение контекстной памяти в модели условно-рефлекторного избегания, не влияя при этом на другие разновидности памяти [62].

С другой стороны, многочисленные данные экспериментов *in vitro*, в которых повышали ацетилирование гистонов в гиппокампе за счет избирательного подавления активности HDAC3 [63] или при инкубации с неселективным ингибитором HDAC – трихостатином A (TSA), показали существенное усиление долговременной потенциации (LTP) – одной из характеристик синаптической пластичности [63–65]. Полученные данные хорошо согласуются с результатами экспериментов *in vivo* и демонстрируют ключевую роль повышенного ацетилирования гистонов при обучении и консолидации памяти у млекопитающих [64–68] и беспозвоночных [9, 69]. Используя подход по снижению ацетилирования гистонов за счет контролируемого генетического выключения одной из ключевых гистонацетилтрансфераз – CBP (белок, связывающий CREB), авторы выявили нарушение консолидации пространственной памяти у трансгенных животных *CBP*$^{-}$ в серии поведенческих тестов (водный лабиринт Морриса, тест на распознавание новых объектов) [66]. При этом дефицита консолидации памяти у мышей *CBP*$^{-}$ можно было избежать при искусственном увеличении доли ацетилированных гистонов с помощью блокатора HDAC – TSA. В другой работе было показано, что повышение ацетилирования гистонов (H3 и H4) в гиппокампе при добавлении ингибитора HDAC приводило к избирательному усилению контекстной памяти в тесте условно-рефлекторного избегания, в то время как сигнальная память оставалась без изменений [65]. Контролируя время введения ингибитора HDAC, авторам удалось продемонстрировать, что наблюдаемые изменения опосредованы усилением консолидации, но никак не извлечения памяти. Оказалось, что усиление контекстной памяти обусловлено избирательным повышением транскрипционной активности отдельных генов вследствие рекрутирования комплексов транскрипционного фактора CREB (белок, связывающий cAMP-чувствительный элемент) с гистонацетилтрансферазой CBP в промоторные области этих генов. Большой интерес представляет работа Kim et al. [70], показавшая, что после обучения животных в тесте условно-рефлекторного избегания в от-

дельных нейронах миндалины наблюдается повышенная экспрессия CREB, которая была достаточна для реактивации памяти и ее дальнейшей реконсолидации, ведущей к усилению памятного следа. Вопрос о том, какие мишени могут быть активированы при запуске CREB-сигнального пути, остается открытым. По некоторым данным, в промоторной области PKMζ были обнаружены сайты связывания CREB [23, 25], что, принимая во внимание ключевую роль протеинкиназы в обучении и поддержании памяти (см. выше), позволяет рассматривать PKMζ как потенциальную мишень для эпигенетической регуляции синаптической пластичности и памяти.

Неоднократно отмечалось, что PKMζ является ключевым звеном памяти, и наработка белковых молекул протеинкиназы в фазу L-LTP опосредует избирательное поддержание отдельных форм памяти (см. выше). До недавнего времени считалось, что продолжительные эффекты PKMζ опосредованы локальным изменением синаптических характеристик. Однако недавние исследования дают основание рассматривать PKMζ в качестве одного из потенциальных эпигенетических регуляторов пластичности и памяти. Было показано, что в последовательности PKMζ есть сигналы ядерной локализации белка, и при клеточной активации PKMζ транспортируется в ядро, где фосфорилирует и активирует гистонацетилтрансферазу CBP и повышает ацетилирование гистонов H2B и H3 [31]. В нескольких работах на беспозвоночных и млекопитающих было показано, что подавление ферментативной активности PKMζ с помощью ZIP или хелеритрина вызывало нарушение долговременной памяти, которого можно было избежать при предварительном искусственном снижении деацетилирования гистонов (с помощью бутирата натрия или TSA) и, соответственно, увеличении количества ацетилированных гистонов [9, 31]. Примечательно, что искусственное повышение уровня ацетилирования гистонов при введении ингибиторов гистондеацетилаз (TSA или бутират натрия) не только улучшало обучение млекопитающих и беспозвоночных, но и способствовало длительному хранению той информации, которая в обычных условиях не «переводится» в долговременную память [9, 67, 69].

Приведенные данные свидетельствуют, что определенный эпигенетический баланс в нейронах играет важную роль в поддержании долговременной памяти у беспозвоночных и позвоночных животных, а изменение соотношения ацетилирования/деацетилирования гистонов можно использовать в качестве одного из инструментов для коррекции пластичности и памяти [60]. Особая роль в этой системе отводится PKMζ. По некоторым данным, PKMζ можно рассматривать как в качестве мишени, так и в роли регулятора CBP–CREB-зависимого эпигенетического механизма увеличения транскрипционной активности отдельных генов при обучении и формировании памяти.

Метилирование и PKMζ. В работах последних лет подчеркивается, что динамические изменения в метилировании ДНК могут являться критическим фактором при формировании и поддержании памяти [2]. Было показано, что через 30 мин после обучения в тесте условнорефлекторного избегания уровень экспрессии ДНК-метилтрансфераз 3A и 3B (DNMT), ответственных за метилирование *de novo*, увеличивался в гиппокампе крыс [71]. Локальное введение ингибиторов DNMT в область CA1 гиппокампа сразу после обучения приводило к последующему снижению способности животных к обучению, что подтверждает необходимость присутствия активных ДНК-метилтрансфераз для консолидации памяти [71]. Дальнейшие эксперименты показали, что контекстное обучение крыс сопровождается выборочным и продолжительным гиперметилированием ДНК тех генов, активация которых обычно связана с дефицитом обучения и памяти [2]. С другой стороны, метилирование генов, опосредующих синаптическую пластичность и память (рилин, PKMζ), наоборот, снижается во время обучения [2, 40, 71]. Кроме того, колебания уровня метилирования отдельных генов могут отличаться по временно́й динамике, тем самым обеспечивая тонкие пластические изменения в мозге [72].

В 2016 г. группой ученых из Китая было показано, что не только обучение в норме, но и возрастные нарушения когнитивных функций могут быть обусловлены изменениями метилирования ДНК, в т.ч. *PKMζ* [40]. Оценка контекстной (contextual fear conditioning), пространственной памяти (водный лабиринт Морриса) и распознавание новых объектов (novel object recognition test) при тестировании крыс трех возрастных групп (3, 9 и 24 мес.) выявила существенные нарушения долговременной памяти у старых 24-месячных животных. Дальнейшие эксперименты показали, что наблюдаемый у старых крыс дефицит памяти обусловлен локальными эпигенетическими изменениями в промоторной области гена *PKMζ* в прелимбической коре (prelimbic cortex), которые сопровождались дефицитом экспрессии белка PKMζ и сопряженных с ней мишеней (GluA2-субъединица AMPA-рецепторов и белок постсинаптической плотности 95, PSD-95) [40]. Было проде-

монстрировано, что при контекстном обучении количество неметилированной ДНК *PKMζ* у обученных молодых и взрослых животных возрастало, а у старых оставалось на том же низком уровне, что и до обучения. Это, в свою очередь, приводило к росту количества мРНК и белка PKMζ при обучении у первых двух групп, в то время как пониженный деметилированный статус ДНК *PKMζ* у старых животных мог сопровождаться падением транскрипции гена *PKMζ* и нарушением когнитивных функций [40]. Эти данные свидетельствуют о том, что поддержание длительных изменений синаптической пластичности и, в конечном счете, формирование долговременной памяти могут определяться характером эпигенетических модификаций генов, в т.ч. *PKMζ*.

В настоящем обзоре предпринята попытка проанализировать на различных уровнях (от молекулярного до поведенческого) роль aPKC в синаптической пластичности и долговременной памяти. Поскольку PKCζ обнаружена в мозге в следовых количествах, основной акцент при исследовании механизмов формирования памяти делается на PKMζ и PKCλ. Согласно данным литературы, формирование и сохранение памятного следа представляет собой комплексный процесс, в котором в норме участвуют обе атипичные протеинкиназы. PKCλ, по некоторым данным, важна для формирования ранней памяти (early memory), поскольку ее активация регулирует встраивание в постсинаптическую мембрану глутаматных кальций-проницаемых рецепторов AMPA и приводит к повышению эффективности синапсов во время индукции LTP. С другой стороны, PKMζ необходима и достаточна для поддержания долговременной потенциации и памяти. Изменение различных внутриклеточных характеристик, в т.ч. уровня внутриклеточного кальция в потенциированных нейронах во время индукции LTP, может стимулировать работу киназ (CaMKII, PI3K, ERK, PKA и mTORK), необходимых для снятия трансляционного блока и наработки белковых молекул конститутивно активной PKMζ *de novo*. Новообразованная PKMζ увеличивает количество встраиваемых в постсинаптическую мембрану глутаматных кальций-непроницаемых рецепторов AMPA и поддерживает эти изменения эффективности синаптической передачи в течение долгого времени. Существование петли положительной обратной связи между количеством PKMζ и уровнем ее трансляции гарантирует длительное локальное поддержание повышенного уровня PKMζ в потенцированных синапсах активированных нейронов и, таким образом, обеспечивает усиление LTP и длительное хранение памяти. Некоторые работы свидетельствуют о регионспецифичном хранении разновидностей памяти и избирательности PKMζ в их поддержании у млекопитающих.

Помимо классических работ, в которых эффекты PKMζ объясняются с позиций локальной регуляции синаптических характеристик, появляются данные о направленном транспорте aPKC в ядерный компартмент, где их присутствие может быть критичным для реализации и регуляции различных транскрипционных и эпигенетических программ. Отдельные исследования указывают на потенциальную роль PKMζ и как мишени, и как регулятора эпигенетических модификаций.

Таким образом, конститутивно активная PKMζ является ключевым компонентом поддержания долговременных изменений синаптической пластичности и памяти у беспозвоночных и позвоночных животных. При недостаточной экспрессии PKMζ в мозге млекопитающих включается компенсаторное, PKCλ-опосредованное сохранение памятного следа. Многочисленные данные, полученные на беспозвоночных (моллюски, насекомые) и позвоночных, демонстрируют достаточно схожие результаты и, по-видимому, могут указывать на консервативность молекулярных механизмов хранения и поддержания памяти у беспозвоночных и позвоночных животных.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 16-34-00918) и РНФ (грант № 14-25-00072, анализ участия протеинкиназ в пластичности синапсов).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sacktor, T.C. (2012) Memory maintenance by PKMζ – an evolutionary perspective, *Mol. Brain*, **5**, 31.
2. Morris, M.J., and Monteggia, L.M. (2014) Role of DNA methylation and the DNA methyltransferases in learning and memory, *Dialogues Clin. Neurosci.*, **16**, 359–371.
3. Ling, D.S., Benardo, L.S., Serrano, P.A., Blace, N., Kelly, M.T., Crary, J.F., and Sacktor, T.C. (2002) Protein kinase Mζ is necessary and sufficient for LTP maintenance, *Nat. Neurosci.*, **5**, 295–296.
4. Serrano, P., Yudong, Y., and Sacktor, T.C. (2005) Persistent phosphorylation by protein kinase Mzeta maintains late-phase long-term potentiation, *J. Neurosci.*, **25**, 1979–1984.
5. Yao, Y., Kelly, M.T., Sajikumar, S., Serrano, P., Tian, D., Bergold, P.J., Frey, J.U., and Sacktor, T.C. (2008) PKM zeta

maintains late long-term potentiation by N-ethylmaleimide-sensitive factor/GluR2-dependent trafficking of postsynaptic AMPA receptors, *J. Neurosci.*, **28**, 7820–7827.
6. Tsokas, P., Hsieh, C., Yao, Y., Lesburgueres, E., Wallace, E.J., Tcherepanov, A., Jothianandan, D., Hartley, B.R., Pan, L., Rivard, B., Farese, R.V., Sajan, M.P., Bergold, P.J., Hernandez, A.I., Cottrell, J.E., Shouval, H.Z., Fenton, A.A., and Sacktor, T.C. (2016) Compensation for PKMζ in long-term potentiation and spatial long-term memory in mutant mice, *eLife*, **5**, e14846.
7. Drier, E.A., Tello, M.K., Cowan, M., Wu, P., Blace, N., Sacktor, T.C., and Jin, J.C. (2002) Memory enhancement and formation by atypical PKM activity in *Drosophila melanogaster*, *Nat. Neurosci.*, **5**, 316–324.
8. Cai, D., Pearce, K., Chen, S., and Glanzman, D.L. (2011) Protein kinase M maintains long-term sensitization and long-term facilitation in aplysia, *J. Neurosci.*, **31**, 6421–6431.
9. Chen, S., Cai, D., Pearce, K., Sun, P.Y., Roberts, A.C., and Glanzman, D.L. (2014) Reinstatement of long-term memory following erasure of its behavioral and synaptic expression in Aplysia, *Elife*, **3**, e03896.
10. Balaban, P.M., Roshchin, M., Timoshenko, A.Kh., Zuzina, A.B., Lemak, M., Ierusalimsky, V.N., Aseyev, N.A., and Malyshev, A.Y. (2015) Homolog of protein kinase Mzeta maintains context aversive memory and underlying long-term facilitation in terrestrial snail Helix, *Front. Cell Neurosci.*, **9**, 222.
11. Pastalkova, E., Serrano, P., Pinkhasova, D., Wallace, E., Fenton, A.A., and Sacktor, T.C. (2006) Storage of spatial information by the maintenance mechanism of LTP, *Science*, **313**, 1141–1144.
12. Serrano, P., Friedman, E.L., Kenney, J., Taubenfeld, S.M., Zimmerman, J.M., Hanna, J., Alberini, C., Kelley, A.E., Maren, S., Rudy, J.W., Yin, J.C., Sacktor, T.C., and Fenton, A.A. (2008) PKMzeta maintains spatial, instrumental, and classically conditioned long-term memories, *PLoS Biol.*, **6**, 2698–2706.
13. Migues, P.V., Hardt, O., Wu, D.C., Gamache, K., Sacktor, T.C., Wang, Y.T., and Nader, K. (2010) PKMzeta maintains memories by regulating GluR2-dependent AMPA receptor trafficking, *Nat. Neurosci.*, **13**, 630–634.
14. Evuarherhe, O., Barker, G.R., Savalli, G., Warburton, E.C., and Brown, M.W. (2014) Early memory formation disrupted by atypical PKC inhibitor ZIP in the medial prefrontal cortex but not hippocampus, *Hippocampus*, **24**, 934–942.
15. Shema, R., Sacktor, T.C., and Dudai, Y. (2007) Rapid erasure of long-term memory associations in the cortex by an inhibitor of PKM, *Science*, **317**, 951–953.
16. Shema, R., Hazvi, S., Sacktor, T.C., and Dudai, Y. (2009) Boundary conditions for the maintenance of memory by PKMzeta in neocortex, *Learn. Mem.*, **16**, 122–128.
17. Nishizuka, Y. (1988) The molecular heterogeneity of protein kinase C and its implications for cellular regulation, *Nature*, **334**, 661–665.
18. Newton, A.C. (1997) Regulation of protein kinase C, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **9**, 161–167.
19. Newton, A.C. (2003) Regulation of the ABC kinases by phosphorylation: protein kinase C as a paradigm, *Biochem. J.*, **370**, 361–371.
20. Ono, Y., Fujii, T., Ogita, K., Kikkawa, U., Igarashi, K., and Nishizuka, Y. (1989) Protein kinase C zeta subspecies from rat brain: its structure, expression, and properties, *PNAS*, **86**, 3099–3103.
21. Nakanishi, H., Brewer, K.A., and Exton, J.H. (1993) Activation of the zeta isozyme of protein kinase C by phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate, *J. Biol. Chem.*, **268**, 13–16.
22. Sacktor, T.C., Osten, P., Valsamis, H., Jiang, X., Naik, M.U., and Sublette, E. (1993) Persistent activation of the zeta isoform of protein kinase C in the maintenance of long-term potentiation, *PNAS*, **90**, 8342–8346.
23. Hernandez, A.I., Blace, N., Crary, J.F., Serrano, P.A., Leitges, M., Libien, J.M., Weinstein, G., Tcherapanov, A., and Sacktor, T.C. (2003) Protein kinase Mζ synthesis from a brain mRNA encoding an independent protein kinase C zeta catalytic domain. Implications for the molecular mechanism of memory, *J. Biol. Chem.*, **278**, 40305–40316.
24. Bougie, J.K., Lim, T., Farah, C.A., Manjunath, V., Nagakura, I., Ferraro, G.B., and Sossin, W.S. (2009) The atypical protein kinase C in Aplysia can form a protein kinase M by cleavage, *J. Neurochem.*, **109**, 1129–1143.
25. Marshall, B.S., Price, G., and Powell, C.T. (2000) Rat protein kinase c zeta gene contains alternative promoters for generation of dual transcripts with 5'-end heterogeneity, *DNA Cell Biol.*, **19**, 707–719.
26. Muslimov, I.A., Nimmrich, V., Hernandez, A.I., Tcherepanov, A., Sacktor, T.C., and Tiedge, H. (2004) Dendritic transport and localization of protein kinase Mzeta mRNA: implications for molecular memory consolidation, *J. Biol. Chem.*, **279**, 52613–52622.
27. Kelly, M.T., Crary, J.F., and Sacktor, T.C. (2007) Regulation of protein kinase Mζ synthesis by multiple kinases in long-term potentiation, *J. Neurosci.*, **27**, 3439–3444.
28. Hernandez, A.I., Oxberry, W.C., Crary, J.F., Mirra, S.S., and Sacktor, T.C. (2013) Cellular and subcellular localization of PKMζ, *Philos. Trans. R Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **369**, 20130140.
29. Иерусалимский В.Н., Бородинова А.А., Балабан П.М. (2015) Локализация атипичной протеинкиназы Cζ в нервной системе наземного моллюска Helix, *Нейрохимия*, **32**, 295–301.
30. Neri, L.M., Martelli, A.M., Borgatti, P., Colamussi, M.L., Marchisio, M., and Capitani, S. (1999) Increase in nuclear phosphatidylinositol 3-kinase activity and phosphatidylinositol (3,4,5) trisphosphate synthesis precede PKC-zeta translocation to the nucleus of NGF-treated PC12 cells, *FASEB J.*, **13**, 2299–2310.
31. Ko, H.G., Kim, J.I., Sim, S.E., Kim, T., Yoo, J., Choi, S.L., Baek, S.H., Yu, W.J., Yoon, J.B., Sacktor, T.C., and Kaang, B.K. (2016) The role of nuclear PKMζ in memory maintenance, *Neurobiol. Learn. Mem.*, **135**, 50–56.
32. Naik, M.U., Benedikz, E., Hernandez, I., Libien, J., Hrabe, J., Valsamis, M., Dow-Edwards, D., Osman, M., and Sacktor, T.C. (2000) Distribution of protein kinase Mζ and the complete protein kinase C isoform family in rat brain, *J. Comp. Neurol.*, **426**, 243–258.
33. Jaken, S. (1996) Protein kinase C isozymes and substrates, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **8**, 168–173.
34. Naz, F., Islam, A., Ahmad, F., and Hassan, M.I. (2015) Atypical PKC phosphorylates microtubule affinity-regulating kinase 4 in vitro, *Mol. Cell Biochem.*, **410**, 223–228.
35. Tobias, I.S., and Newton, A.C. (2016) Protein scaffolds control localized protein kinase Cζ activity, *J. Biol. Chem.*, **291**, 13809–13822.
36. Ren, S.Q., Yan, J.Z., Zhang, X.Y., Bu, Y.F., Pan, W.W., Yao, W., Tian, T., and Lu, W. (2013) PKCλ is critical in AMPA receptor phosphorylation and synaptic incorporation during LTP, *EMBO J.*, **32**, 1365–1380.
37. Bliss, T.V., and Lomo, T. (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path, *J. Physiol.*, **232**, 331–356.
38. Jaafari, N., Henley, J.M., and Hanley, J.G. (2012) PICK1 mediates transient synaptic expression of GluA2-lacking

AMPA receptors during glycine-induced AMPA receptor trafficking, *J. Neurosci.*, **32**, 11618–11630.
39. Osten, P., Valsamis, L., Harris, A., and Sacktor, T.C. (1996) Protein synthesis-dependent formation of protein kinase Mzeta in long-term potentiation, *J. Neurosci.*, **16**, 2444–2451.
40. Chen, C., Meng, S.Q., Xue, Y.X., Han, Y., Sun, C.Y., Deng, J.H., Chen, N., Bao, Y.P., Zhang, F.L., Cao, L.L., Zhu, W.G., Shi, J., Song, W.H., and Lu, L. (2016) Epigenetic modification of PKMζ rescues aging-related cognitive impairment, *Sci. Rep.*, **6**, 22096.
41. Ling, D.S., Benardo, L.S., and Sacktor, T.C. (2006) Protein kinase Mzeta enhances excitatory synaptic transmission by increasing the number of active postsynaptic AMPA receptors, *Hippocampus*, **16**, 443–452.
42. Schuette, S.R., Fernandez-Fernandez, D., Lamla, T., Rosenbrock, H., and Hobson, S. (2016) Overexpression of protein kinase Mζ in the hippocampus enhances long-term potentiation and long-term contextual but not cued fear memory in rats, *J. Neurosci.*, **36**, 4313–4324.
43. Lee, S.H., Liu, L., Wang, Y.T., and Sheng, M. (2002) Clathrin adaptor AP2 and NSF interact with overlapping sites of GluR2 and play distinct roles in AMPA receptor trafficking and hippocampal LTD, *Neuron*, **36**, 661–674.
44. Sacktor, T.C. (2011) How does PKMzeta maintain long-term memory? *Nat. Rev. Neurosci.*, **12**, 9–15.
45. Shema, R., Haramati, S., Ron, S., Hazvi, S., Chen, A., Cacktor, T.C., and Dudai, Y. (2011) Enhancement of consolidated long-term memory by overexpression of protein kinase Mzeta in the neocortex, *Science*, **331**, 1207–1210.
46. Kwapis, J.L., Jarome, T.J., Lonergan, M.E., and Helmstetter, F.J. (2009) Protein kinase Mzeta maintains fear memory in the amygdala but not in the hippocampus, *Behav. Neurosci.*, **123**, 844–850.
47. Зюзина А.Б., Балабан П.М. (2015) Угашение и реконсолидация памяти, *Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова*, **65**, 564–576.
48. Kwapis, J.L., Jarome, T.J., Gilmartin, M.R., and Helmstetter, F.J. (2012) Intra-amygdala infusion of the protein kinase Mzeta inhibitor ZIP disrupts foreground context fear memory, *Neurobiol. Learn. Mem.*, **98**, 148–153.
49. Deng, Z., Lubinski, A.J., and Page, T.L. (2015) Zeta inhibitory peptide (ZIP) erases long-term memories in a cockroach, *Neurobiol. Learn. Mem.*, **118**, 89–95.
50. Li, L., You, L., Sunyer, B., Patil, S., Hoger, H., Pollak, A., Stork, O., and Lubec, G. (2014) Hippocampal protein kinase C family members in spatial memory retrieval in the mouse, *Behav. Brain Res.*, **258**, 202–207.
51. Lee, A.M., Kanter, B.R., Wang, D., Lim, J.P., Zou, M.E., Qiu, C., McMahon, T., Dadgar, J., Fischbach-Weiss, S.C., and Messing, R.O. (2013) Prkcz null mice show normal learning and memory, *Nature*, **493**, 416–419.
52. Volk, L.J., Bachman, J.L., Johnson, R., Yu, Y., Huganir, R.L. (2013) PKM-ζ is not required for hippocampal synaptic plasticity, learning and memory, *Nature*, **493**, 420–423.
53. Palida, S.F., Butko, M.T., Ngo, J.T., Mackey, M.R., Gross, L.A., Ellisman, M.H., and Tsien, R.Y. (2015) PKMζ, but not PKCλ, is rapidly synthesized and degraded at the neuronal synapse, *J. Neurosci.*, **35**, 7736–7749.
54. Bal, N., Susorov, D., Chesnokova, E., Kasyanov, A., Mikhailova, T., Alkalaeva, E., Balaban, P., and Kolosov, P. (2016) uORFs located in the 5'UTR of PKMζ mRNA regulate its translation, *Front. Mol. Neurosci.*, **9**, 103.
55. Westmark, P.R., Westmark, C.J., Wang, S., Levenson, J., O'Riordan, K.J., Burger, C., and Malter, J.S. (2010) Pin1 and PKMzeta sequentially control dendritic protein synthesis, *Sci. Signal.*, **3**, ra18.
56. Smet-Nocca, C., Launay, H., Wieruszeski, J.M., Lippens, G., and Landrieu, I. (2013) Unraveling a phosphorylation event in a folded protein by NMR spectroscopy: phosphorylation of the Pin1 WW domain by PKA, *J. Biomol. NMR*, **55**, 323–337.
57. Smith, L., Wang, Z., and Smith, J.B. (2003) Caspase processing activates atypical protein kinase C zeta by relieving autoinhibition and destabilizes the protein, *Biochem. J.*, **375**, 663–671.
58. Jalil, S.J., Sacktor, T.C., and Shouval, H.Z. (2015) Atypical PKCs in memory maintenance: the roles of feedback and redundancy, *Learn. Mem.*, **22**, 344–353.
59. Sacktor, T.C. (2010) PINing for things past, *Sci. Signal.*, **3**, pe9.
60. Penney, J., and Tsai, L.H. (2014) Histone deacetylases in memory and cognition, *Sci. Signal.*, **7**, re12.
61. Lattal, K.M., Barrett, R.M., and Wood, M.A. (2007) Systemic or intrahippocampal delivery of histone deacetylase inhibitors facilitates fear extinction, *Behav. Neurosci.*, **121**, 1125–1131.
62. Bahari-Javan, S., Maddalena, A., Kerimoglu, C., Wittnam, J., Held, T., Bahr, M., Burkhardt, S., Delalle, I., Kugler, S., Fischer, A., and Sananbenesi, F. (2012) HDAC1 regulates fear extinction in mice, *J. Neurosci.*, **32**, 5062–5073.
63. Franklin, A.V., Rusche, J.R., and McMahon, L.L. (2014) Increased long-term potentiation at medial-perforant path-dentate granule cell synapses induced by selective inhibition of histone deacetylase 3 requires Fragile X mental retardation protein, *Neurobiol. Learn. Mem.*, **114**, 193–197.
64. Levenson, J.M., O'Riordan, K.J., Brown, K.D., Trinh, M.A., Molfese, D.L., and Sweatt, J.D. (2004) Regulation of histone acetylation during memory formation in the hippocampus, *J. Biol. Chem.*, **279**, 40545–40559.
65. Vecsey, C.G., Hawk, J.D., Lattal, K.M., Stein, J.M., Fabian, S.A., Attner, M.A., Cabrera, S.M., McDonough, C.B., Brindle, P.K., Abel, T., and Wood, M.A. (2007) Histone deacetylase inhibitors enhance memory and synaptic plasticity via CREB: CBP-dependent transcriptional activation, *J. Neurosci.*, **27**, 6128–6140.
66. Korzus, E., Rosenfeld, M.G., and Mayford, M. (2004) CBP histone acetyltransferase activity is a critical component of memory consolidation, *Neuron*, **42**, 961–972.
67. Stefanko, D.P., Barrett, R.M., Ly, A.R., Reolon, G.K., and Wood, M.A. (2009) Modulation of long-term memory for object recognition via HDAC inhibition, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 9447–9452.
68. Hawk, J.D., Florian, C., and Abel, T. (2011) Post-training intrahippocampal inhibition of class I histone deacetylases enhances long-term object-location memory, *Learn. Mem.*, **18**, 367–370.
69. Federman, N., Fustinana, M.S., and Romano, A. (2009) Histone acetylation is recruited in consolidation as a molecular feature of stronger memories, *Learn. Mem.*, **16**, 600–606.
70. Kim, J., Kwon, J.T., Kim, H.S., Josselyn, S.A., and Han, J.H. (2014) Memory recall and modifications by activating neurons with elevated CREB, *Nat. Neurosci.*, **17**, 65–72.
71. Miller, C.A., and Sweatt, J.D. (2007) Covalent modification of DNA regulates memory formation, *Neuron*, **53**, 857–869.
72. Miller, C.A., Gavin, C.F., White, J.A., Parrish, R.R., Honasoge, A., Yancey, C.R., Rivera, I.M., Rubio, M.D., Rumbaugh, G., and Sweatt J.D. (2010) Cortical DNA methylation maintains remote memory, *Nat. Neurosci.*, **13**, 664–666.

ROLE OF ATYPICAL PROTEIN KINASES IN MAINTENANCE OF LONG-TERM MEMORY AND SYNAPTIC PLASTICITY

A. A. Borodinova*, A. B. Zuzina, and P. M. Balaban

Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Russian Academy of Sciences, 117485 Moscow, Russia; E-mail: borodinova.msu@mail.ru

Received August 4, 2016
Revision received October 26, 2016

One of the main directions in neurobiology is investigation of biochemical mechanisms underlying long-term storage of information in the nervous system. As molecular bases for long-term memory, changes in activity of kinases, local increase in receptor density, or changes in subunit composition of receptors in synaptic membranes, local activity of prion-like proteins, and epigenetic modifications of chromatin have been suggested. It is possible that a combination of all or some of these factors underlies maintenance of long-term memory in the brain. Many recent studies evidence a key role of atypical protein kinases (PKCζ, PKMζ, and PKCι/λ) in learning, consolidation, and maintenance of memory. This review analyzes mechanisms of transcriptional and translational control of atypical protein kinases and their role in induction and maintenance of long-term synaptic plasticity and memory in vertebrate and invertebrate animals.

Keywords: protein kinase Mζ, atypical protein kinases, synaptic plasticity, memory, epigenetic regulation, histone acetylation, methylation