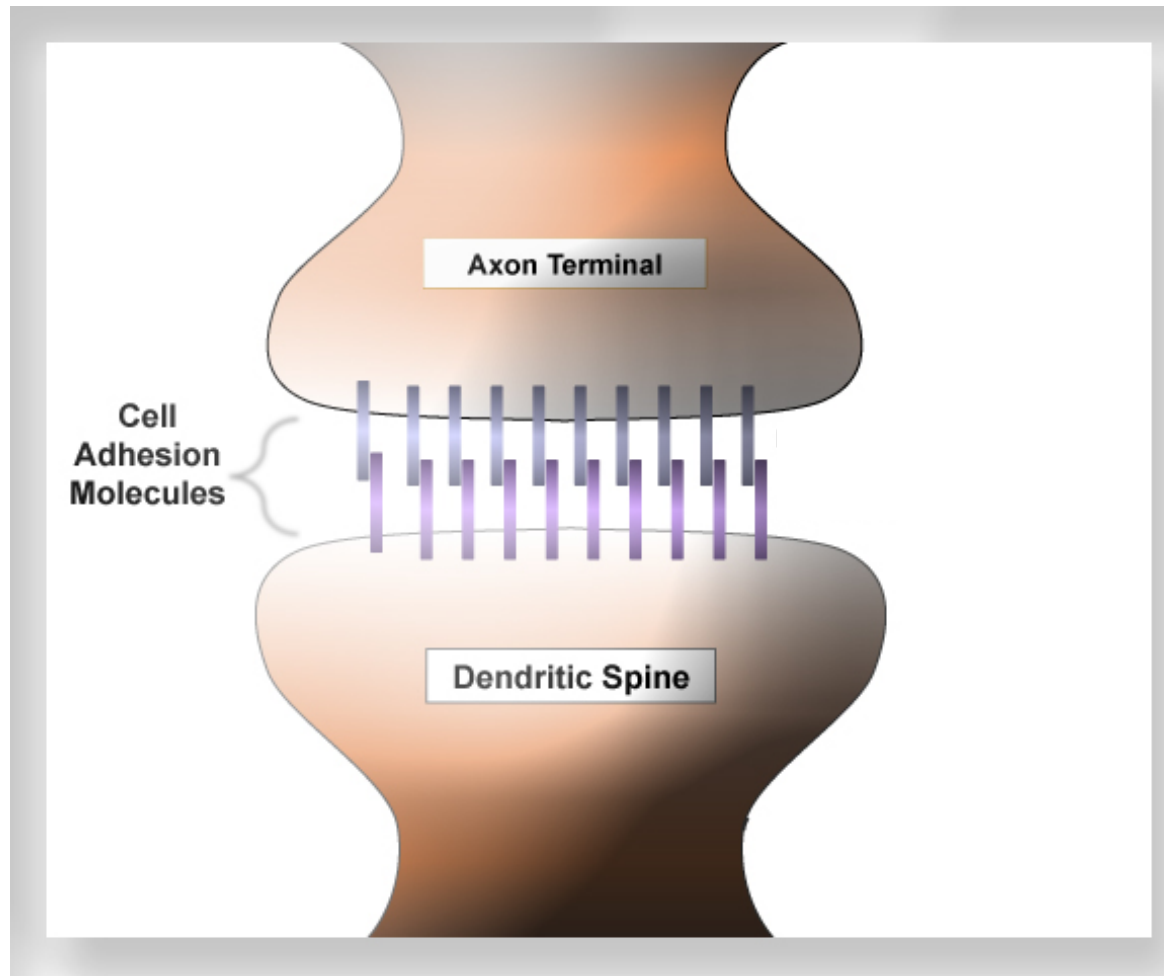


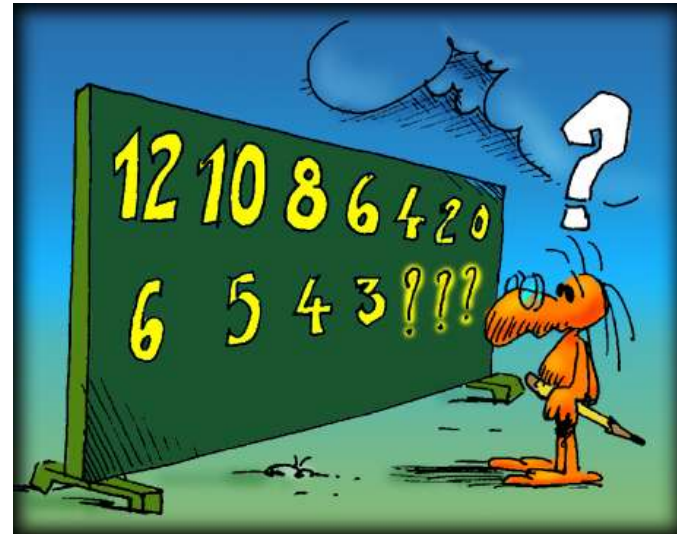
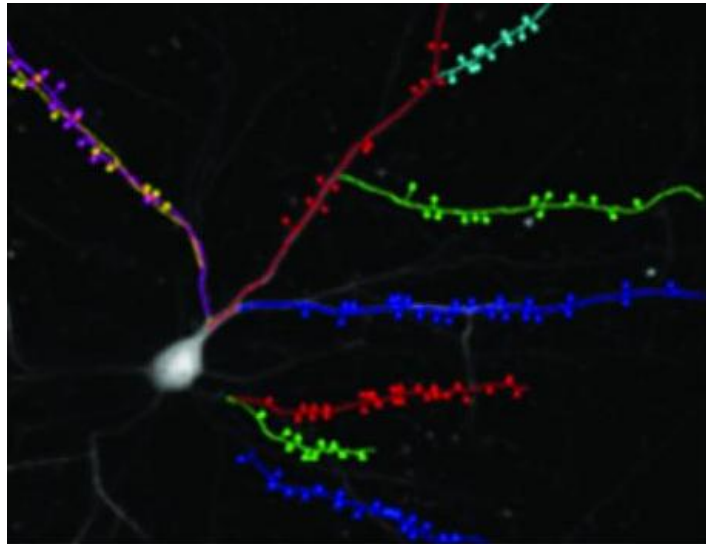
Molecole di adesione alla sinapsi

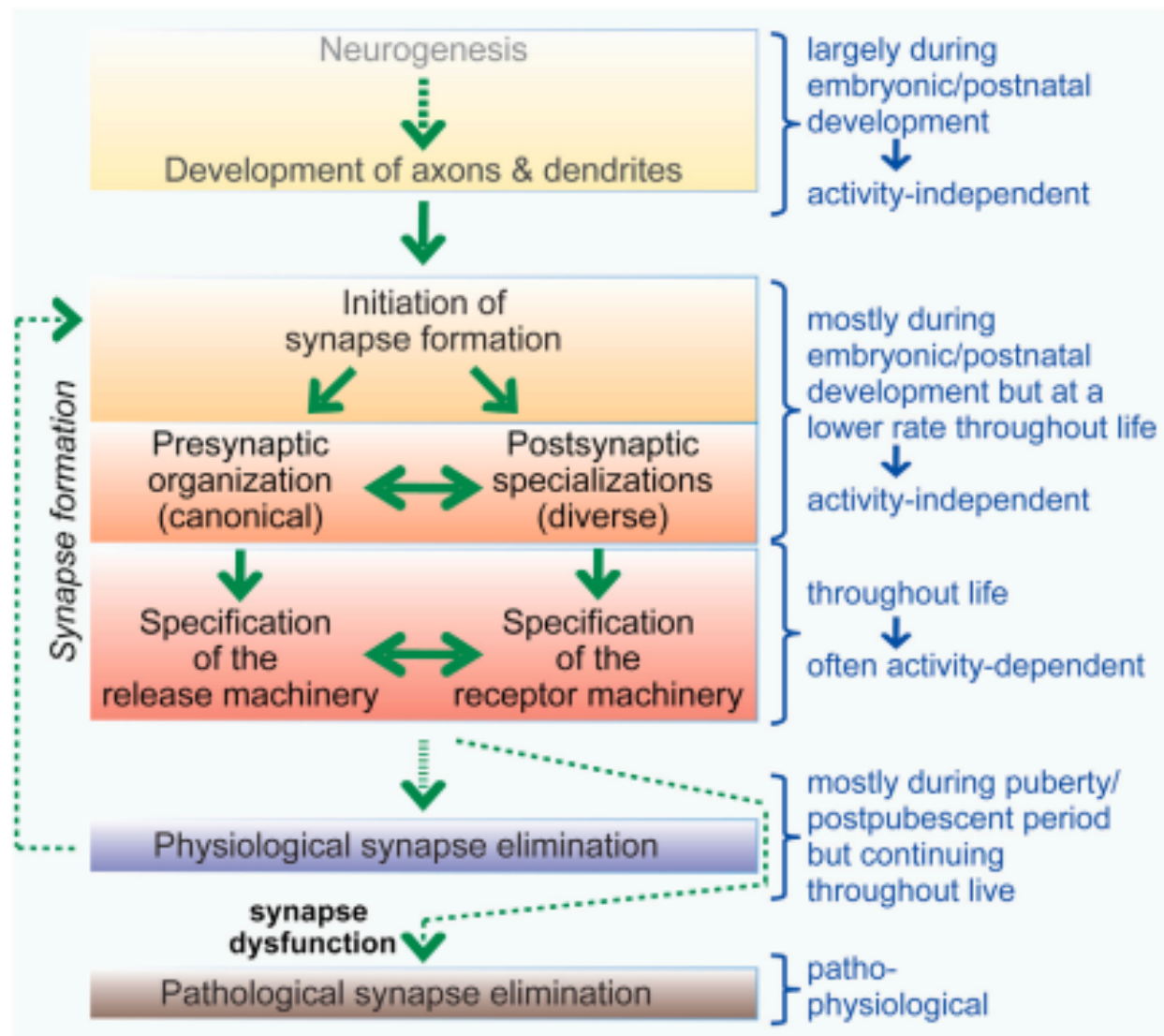
PARTE 1

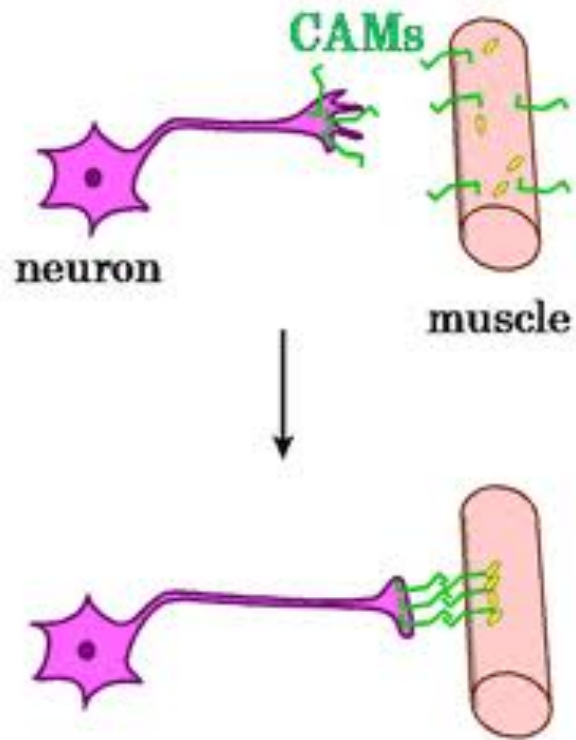


Iniziamo dando un po' di numeri....

- 1) Si stima che nel cervello umano ci siano centinaia di bilioni di neuroni, connessi l'uno all'altro centinaia di trilioni di punti di contatto chiamati sinapsi.
- 2) Le sinapsi contengono un gran numero di proteine, da studi di proteomica: circa 2000 proteine si localizzano alla sinapsi.
- 3) Più di 10 anni fa, si è iniziato a capire che difetti alla sinapsi possono essere alla base di disturbi del neuro-sviluppo. Oggi sappiamo che tra i geni implicati con l'autismo ci sono molti che codificano per proteine sinaptiche.

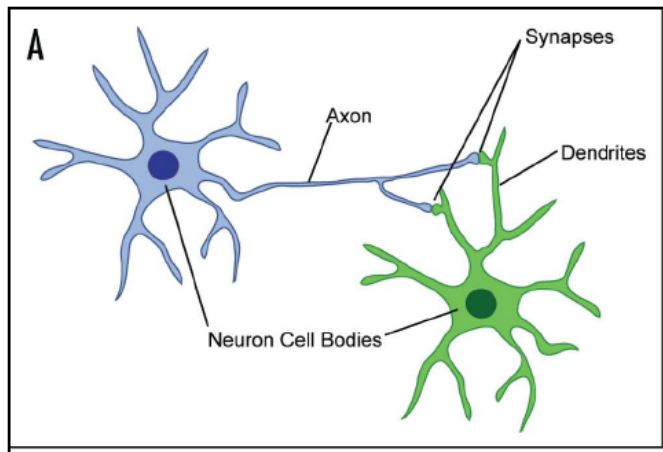






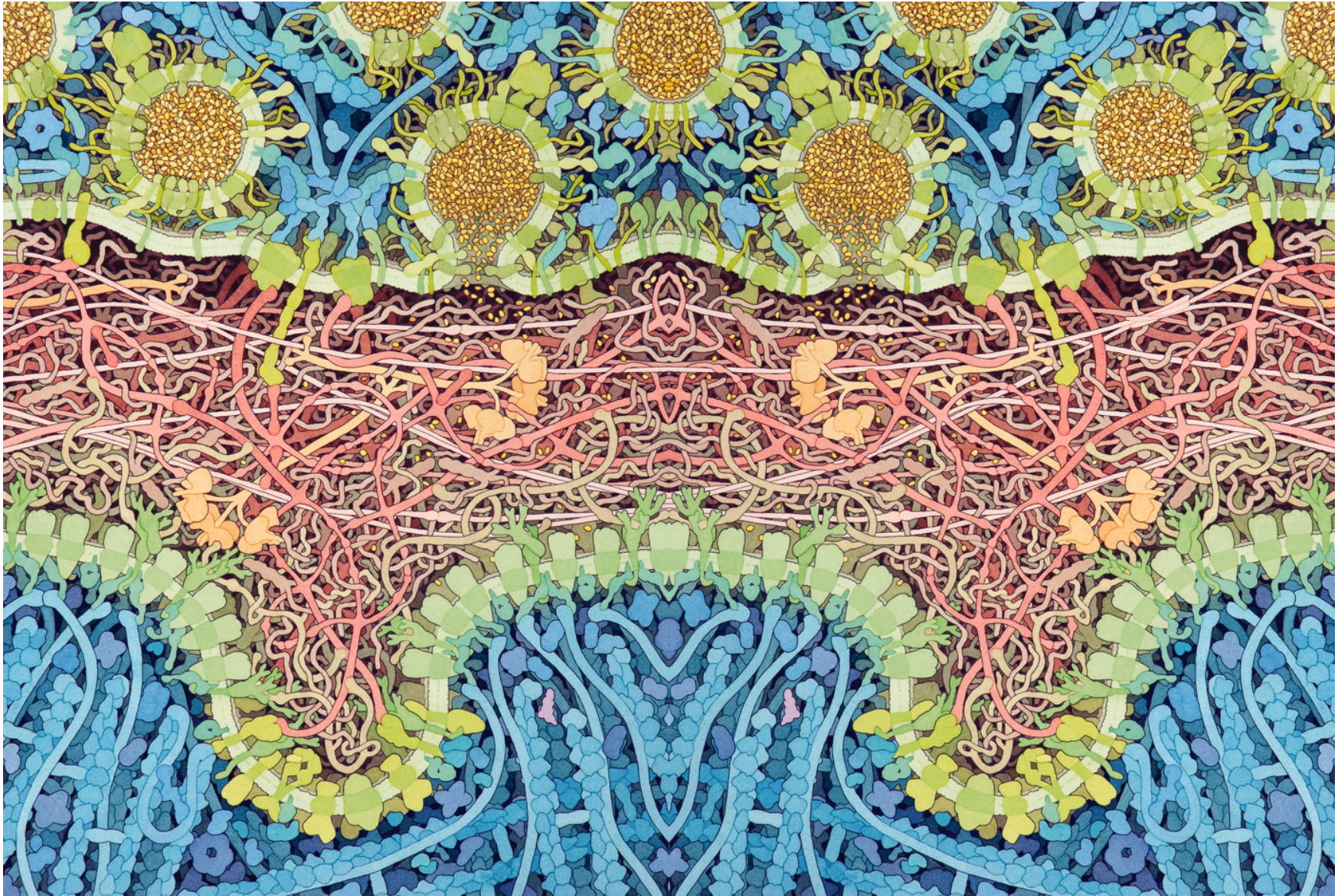
Le sinapsi sono giunzioni cellulari specializzate di tipo **asimmetrico**

Alla giunzione neuro-muscolare lo spazio sinaptico e' di 50nm ed e' costituito da lamina basale

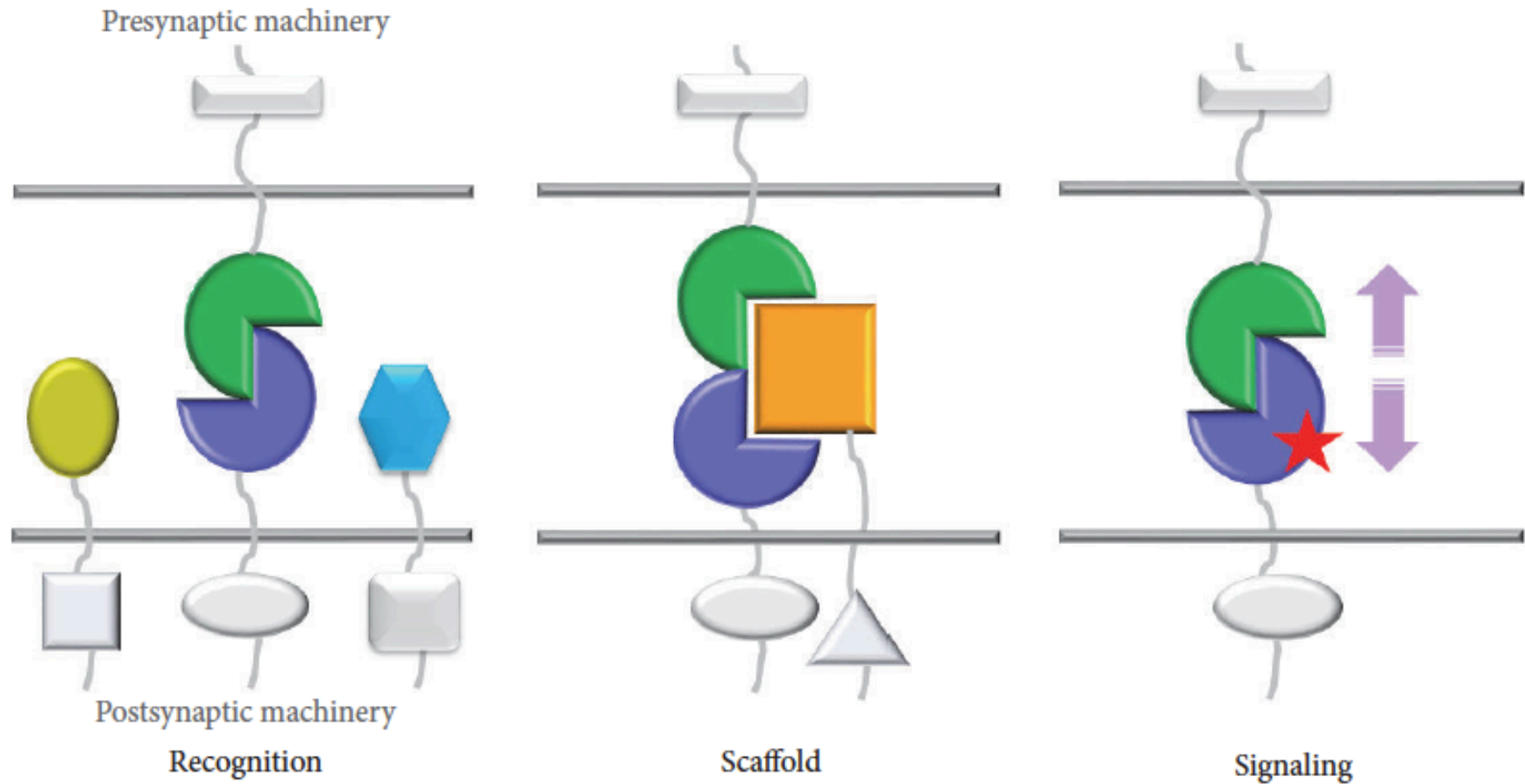


Alla giunzione neurone-neurone la sinapsi si forma tra assoni e dendriti, lo spazio sinaptico e' minore, 20nm e la lamina basale e' assente

The Synaptic Cleft

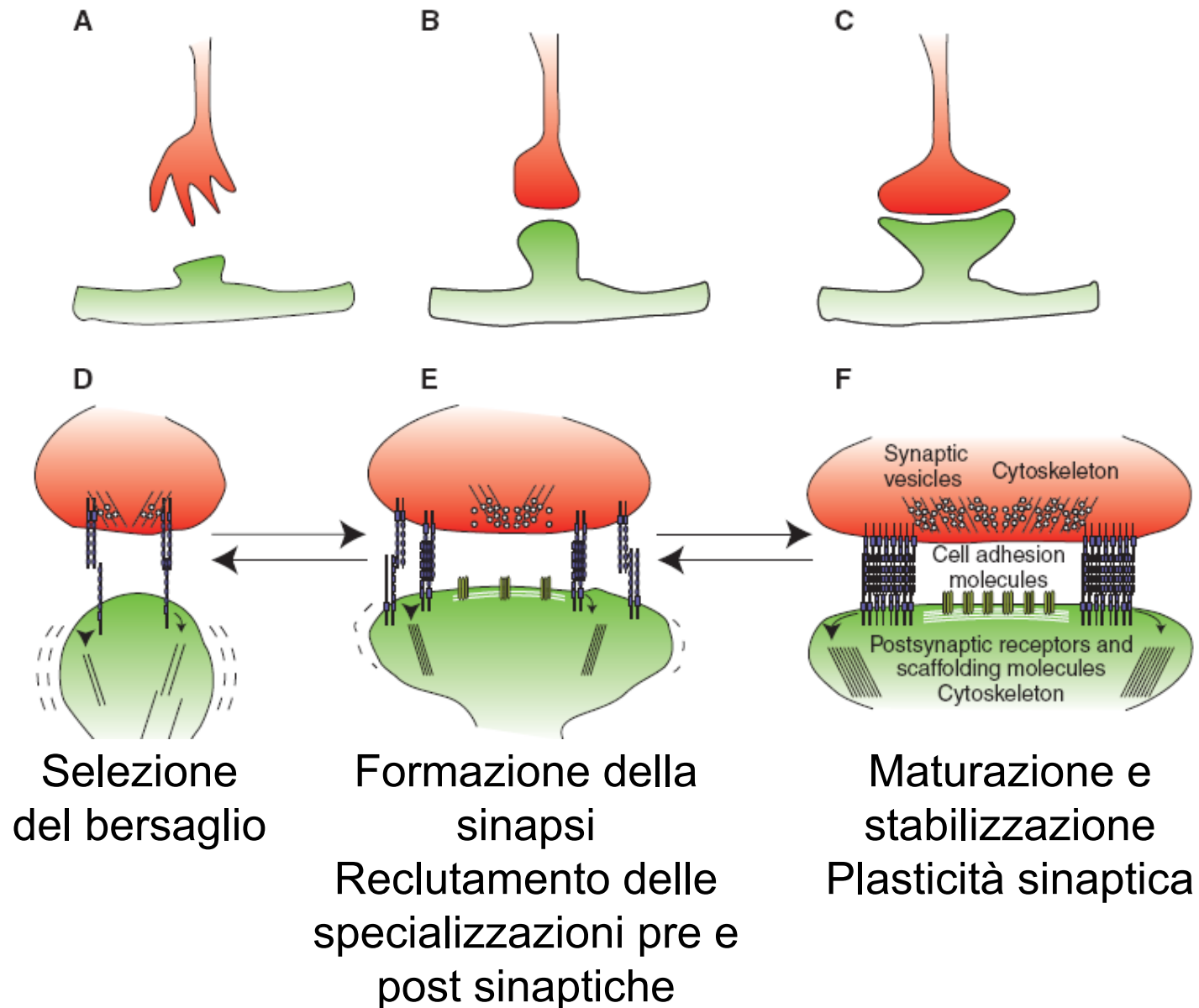


Funzioni delle molecole di adesione sinaptica e meccanismi



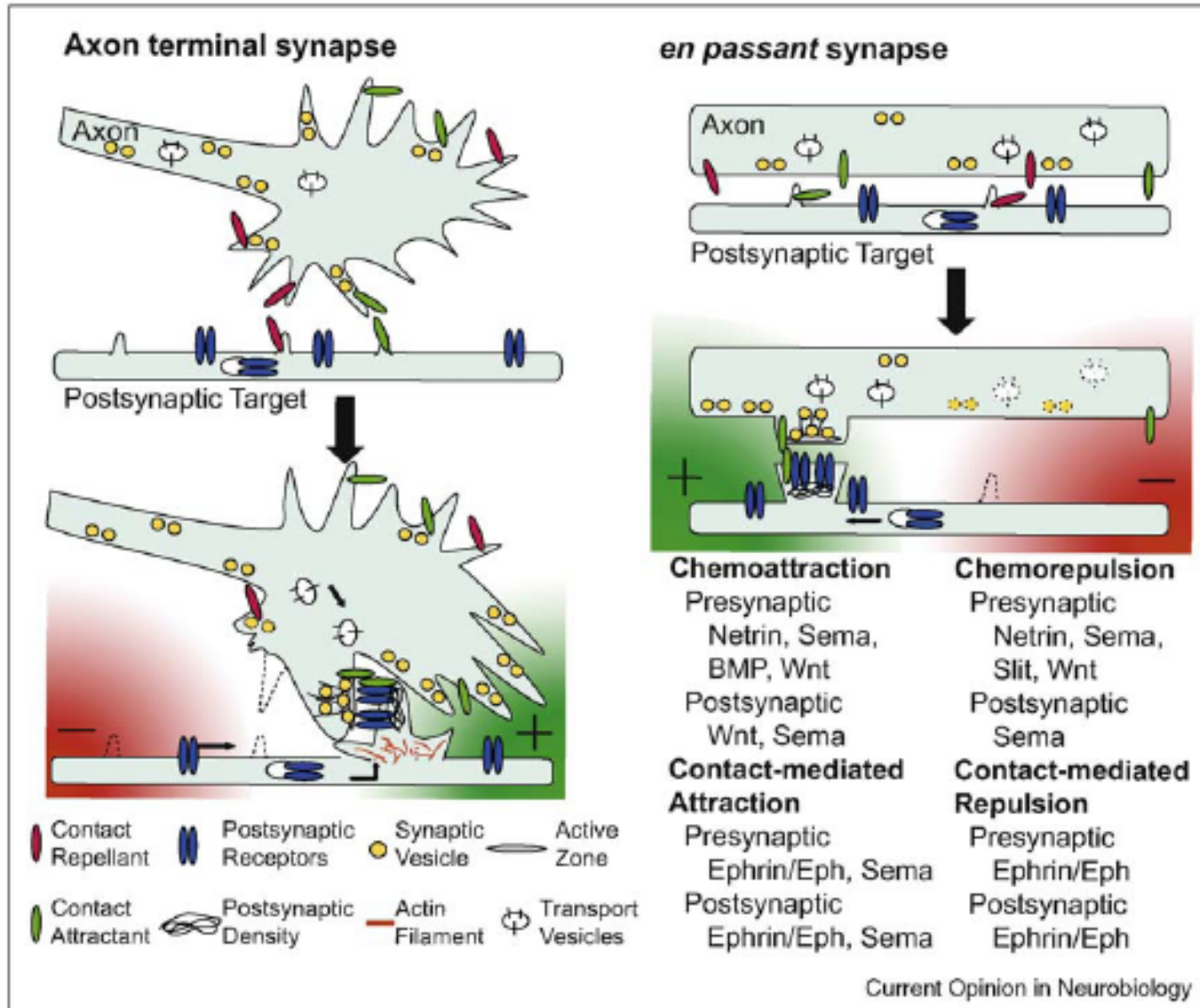
SAMs/CAMs possono reclutare e organizzare una rete di interazioni proteiche nella fessura sinaptica: (a) tramite meccanismi di riconoscimento di specifici partners ma non di altri, attraverso legame diretto b) legando altre molecole per generare una impalcatura in cui una terza proteina può interagire (c) legando un partner ed inducendo un evento di segnalazione attraverso un meccanismo per esempio allosterico.

...INFATTI PARTECIPANO AI VARI STADI DURANTE LA FORMAZIONI DI UNA SINAPSI



GUIDA SINAPTICA

Recettori Eph/Efrine sono molecole di guida e partecipano nei fenomeni di attrazione/repulsione mediati da contatto



RICONOSCIMENTO DEL TARGET

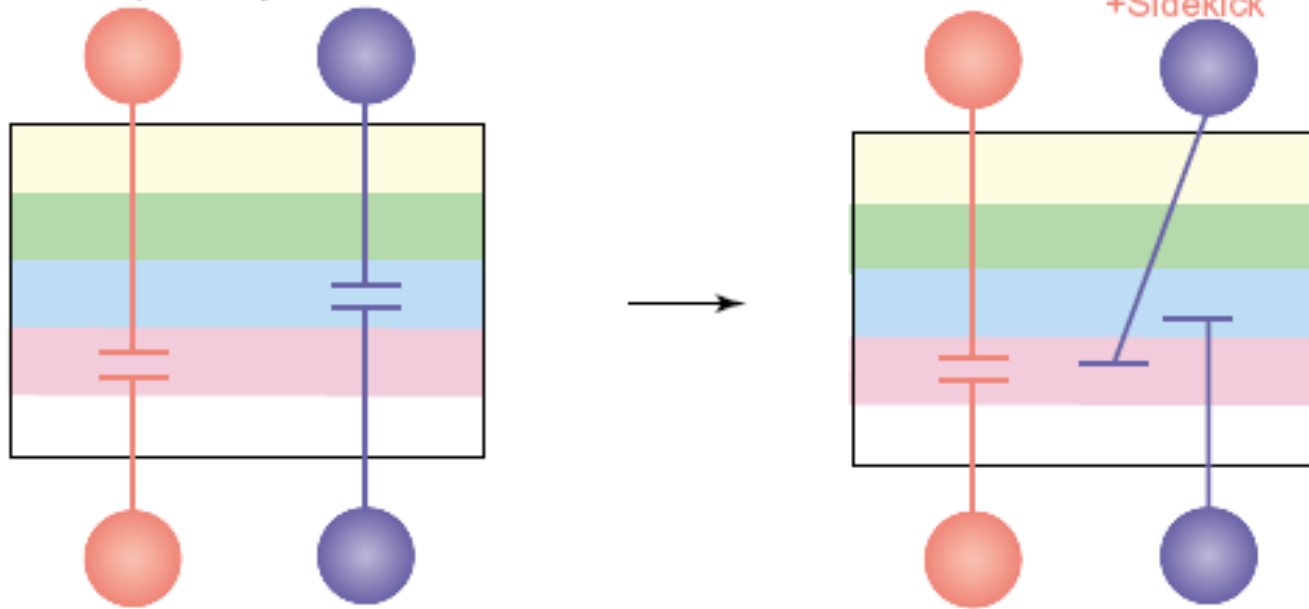
Il preciso indirizzamento degli assoni dipende dall'espressione di molecole di adesione. Esempi:

Eph/ephrins

NEPH-1/nephrin (SYG-1 Drosophila)

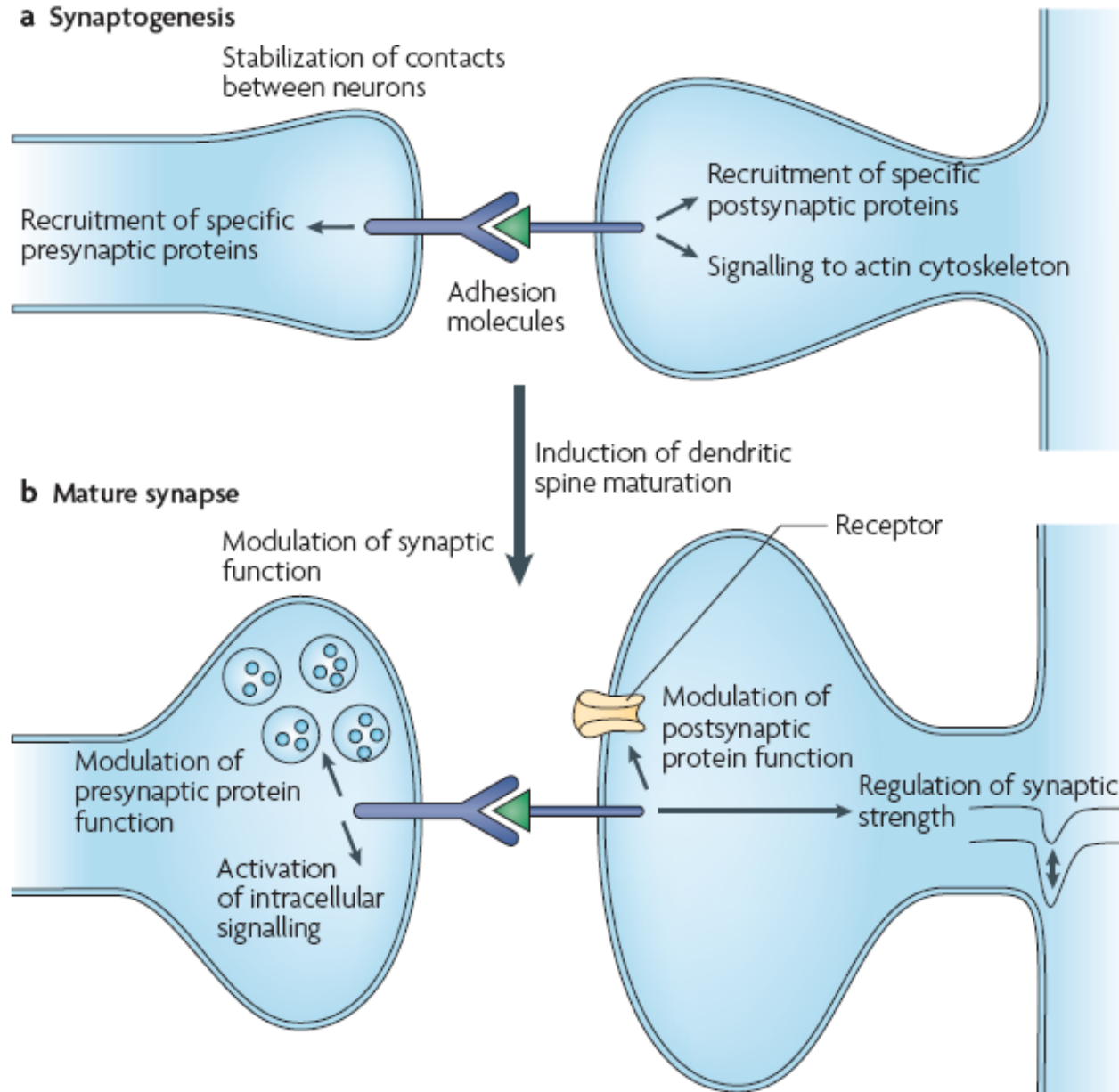
SIDEKICK (famiglia delle immunoglobuline): formazione di sinapsi selettive in zone stratificate (specificità laminare) nella retina di pollo

(a) Laminar specificity

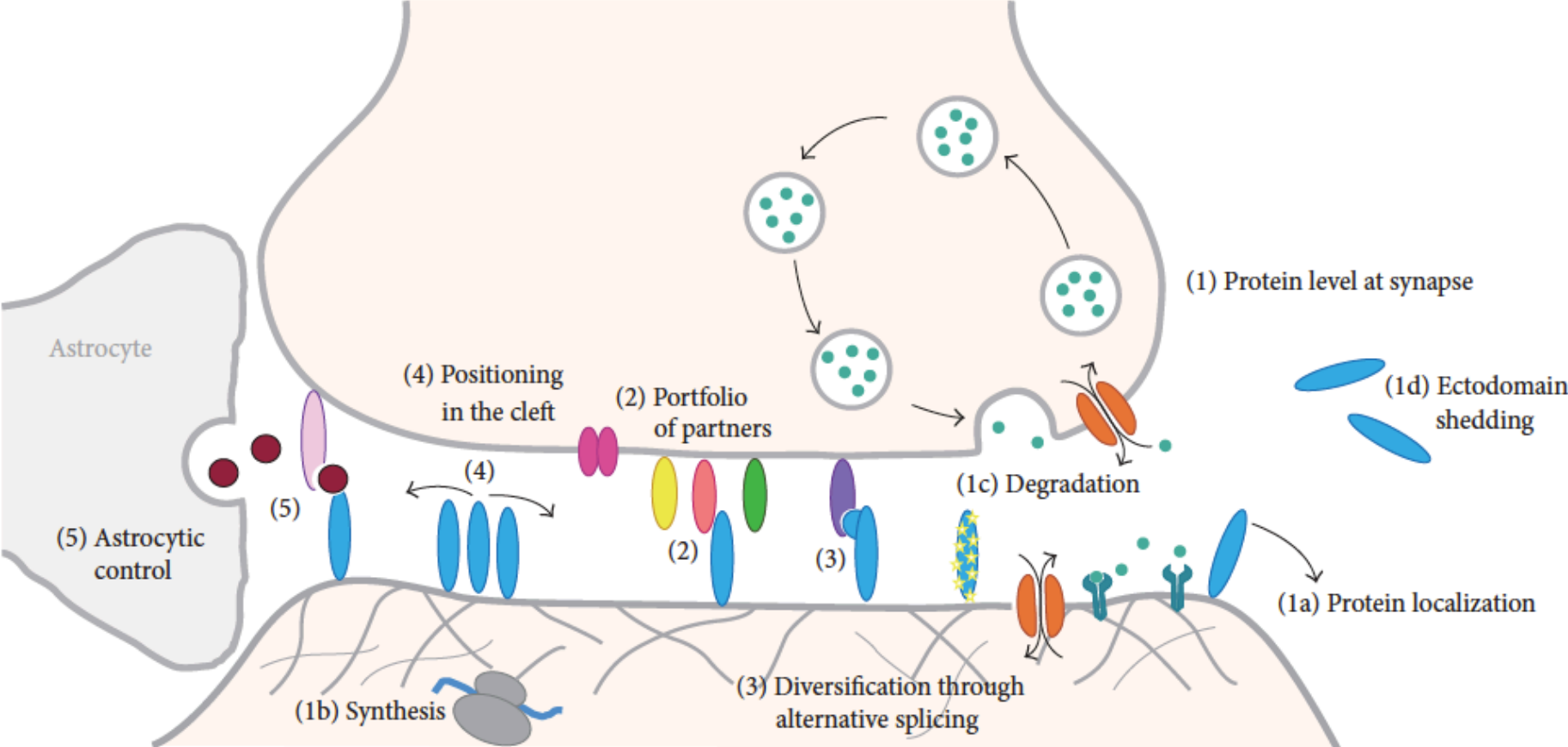


La sovraespressione di sidekick altera la connettività

SINAPTOGENESI E MATURAZIONE SINAPTICA

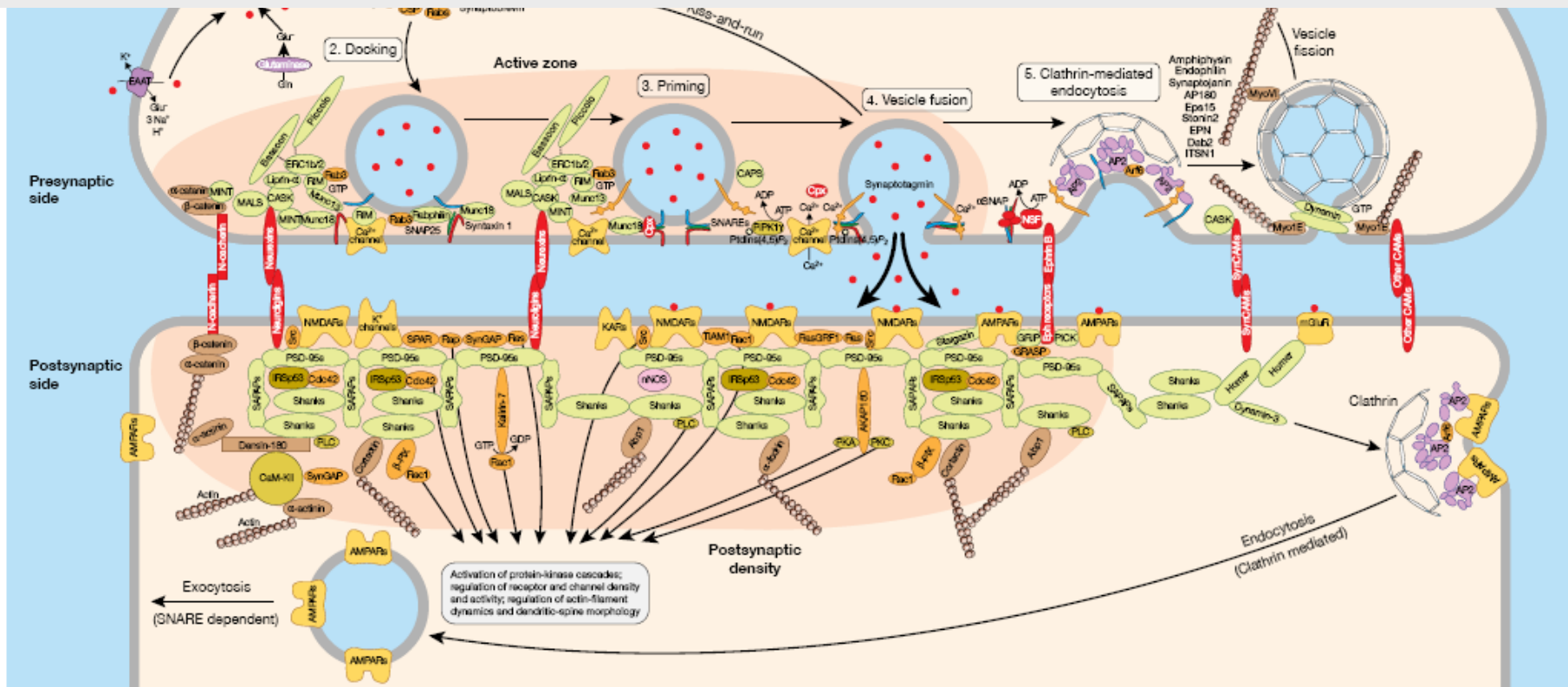


SAMs sono strategicamente posizionate per contribuire alla plasticità sinaptica, infatti possono modificare la struttura della sinapsi e la sua funzione attraverso la loro capacità di scolpire e regolare la rete delle interazioni proteiche alla sinapsi.

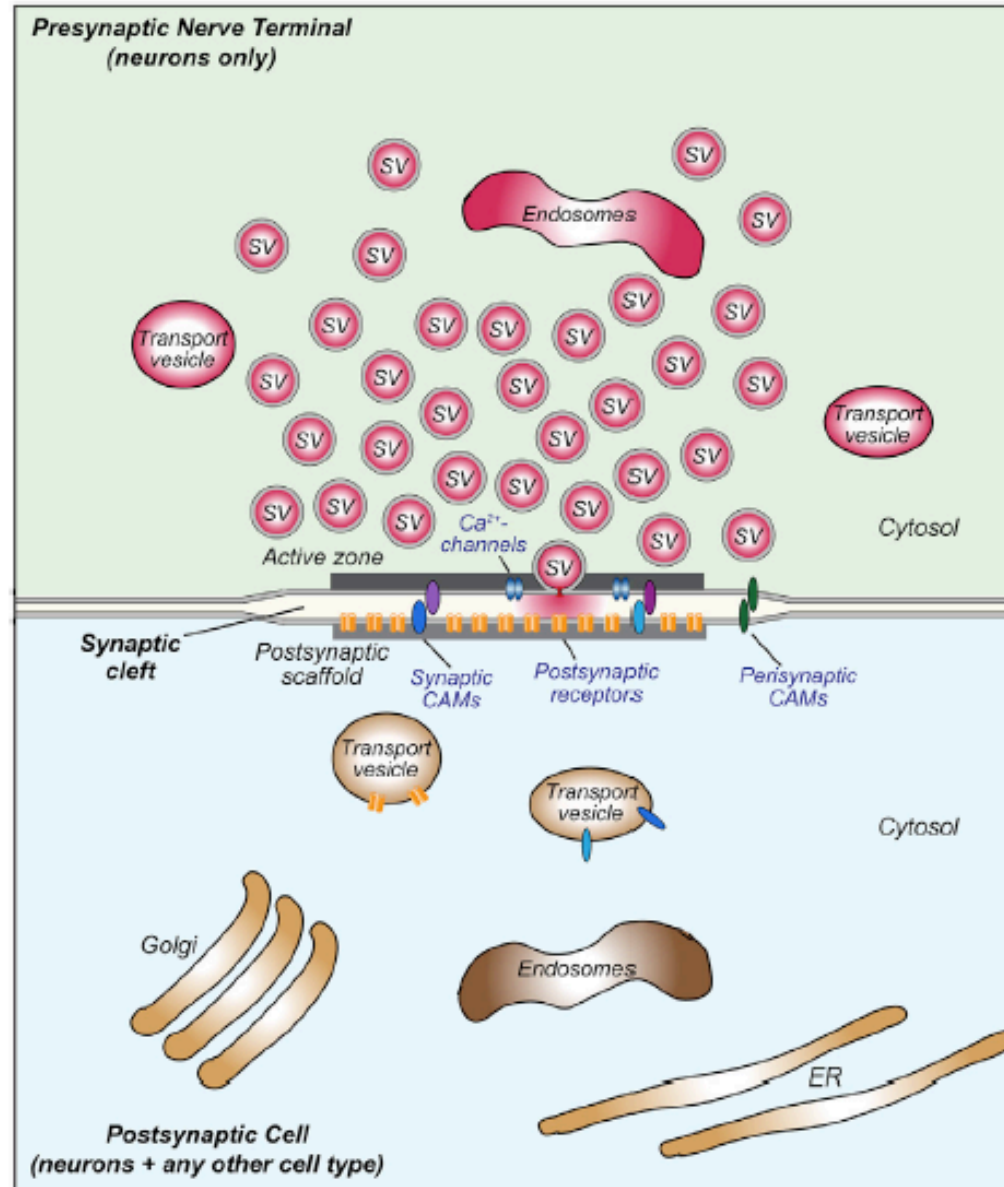


Ancoraggio e segnalazione intracellulare delle molecole di adesione sinaptiche: impalcature multimolecolari

- Interazione fra proteine tramite domini citoplasmatici e/o proteine scaffold
- Caderine: interazione con catenine e col citoscheletro di actina
- Integrine: interazione col citoscheletro di actina tramite vinculina e spectrina
- Segnalazione via attività enzimatica propria o tramite interazione con altre proteine (kinasi, fosfatasi)



RAPPRESENTAZIONE CLASSICA DELLA SINAPSI

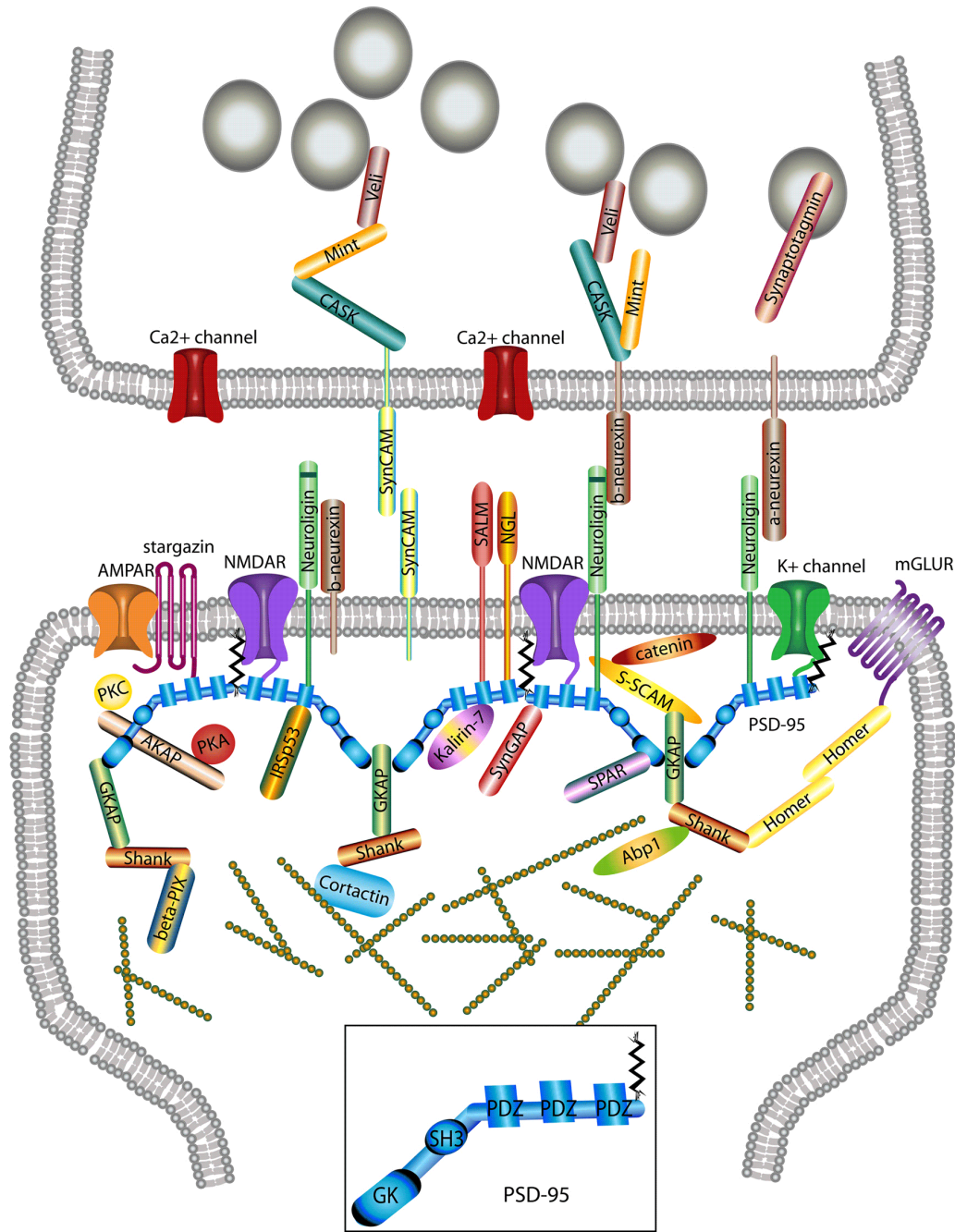


Tutte le sinapsi contengono componenti pre-sinaptici simili indipendentemente dal tipo, anche se le isoforme specifiche di varie proteine variano.

In contrasto, i componenti postsinaptici di sinapsi eccitatorie e inibitorie non mostrano omologia, né a livello dei recettori né in quello delle proteine di impalcatura postsinaptiche.

Inoltre, le specializzazioni presinaptiche si formano esclusivamente nei neuroni, mentre le specializzazioni postsinaptiche possono formarsi in qualsiasi cellula del corpo.

DOMINII DI INTERAZIONE INTRACELLULARE: IL DOMINIO PDZ



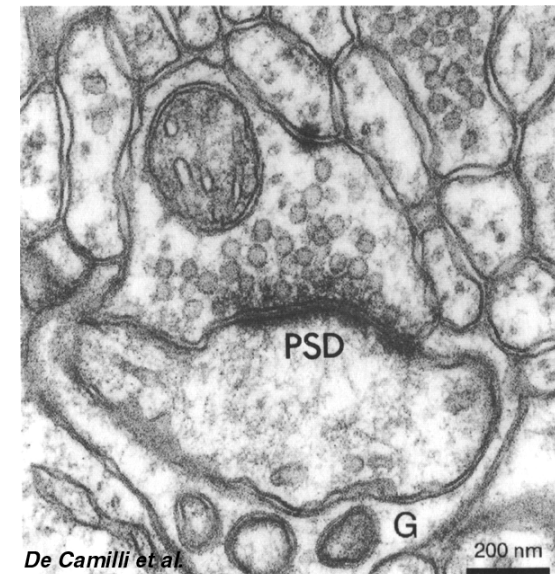
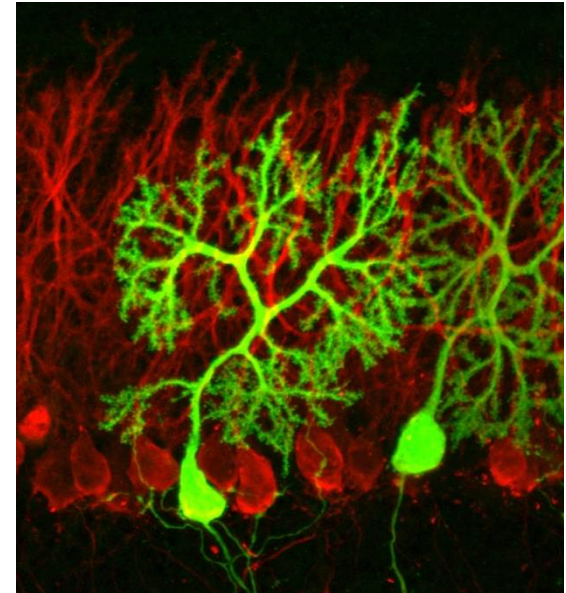
Domini PDZ: lunghi 90 residui, identificati come regioni omologhe in diverse proteine di segnalazione

Il nome PDZ deriva dalle prime 3 proteine in cui il dominio è stato identificato: PSD-95 (proteina di 95 kDa nella densità post-sinaptica; Dlg (the *Drosophila* discs large protein), and ZO1 (proteina della zonula occludente).

DALLE MOLECOLE DI ADESIONE AI COMPLESSI SINAPTICI

REGOLAZIONE DELLA STRUTTURA E FUNZIONE

- Le molecole di adesione sono i regolatori centrali della polarizzazione cellulare, della migrazione e dell'organizzazione tri-dimensionale della sinapsi
- I complessi sinaptici composti da molecole di adesione cellulare ed altre molecole sinaptiche sono regolati in maniera dinamica per modificare la architettura e la funzione cellulare.



Si stima che nell'uomo ci siano 470 molecole di adesione sebbene non sia noto quante di queste siano espresse nel cervello e quante siano quelle sinaptiche.

Come è raggiunta la diversità:

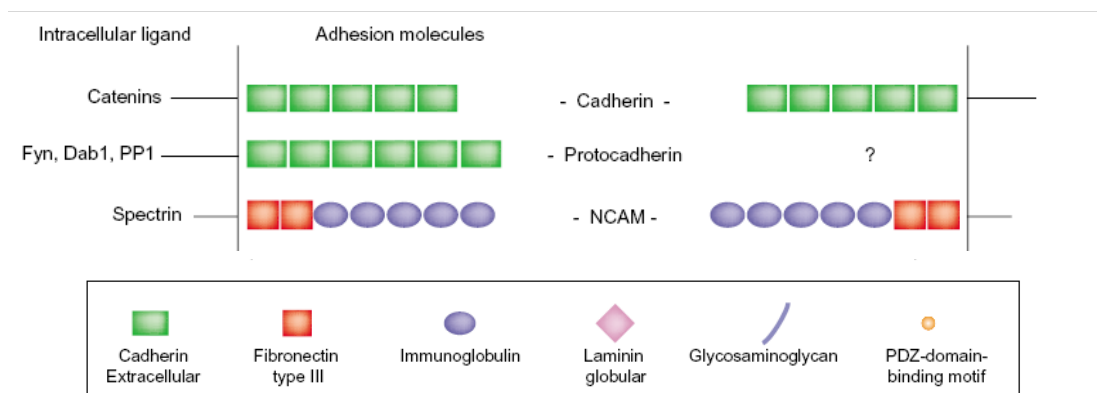
-La maggior parte ha una regione extracellulare con un'organizzazione modulare che alterna differenti moduli strutturali.

-In più, la maggior parte delle famiglie di molecole di adesione sinaptica contengono diversi membri che pur presentando strutture conservate hanno un certo grado di diversità nella sequenza aminoacidica.

- possono assumere funzioni diverse durante fasi diverse dello sviluppo mentre le connessioni si stanno formando e nel cervello maturo:

Es. in fasi precoci dello sviluppo: neuroligins and LRRTMs si compensano;

Ma una volta formate le sinapsi, hanno effetti diversi sulla trasmissione di tipo eccitatoria



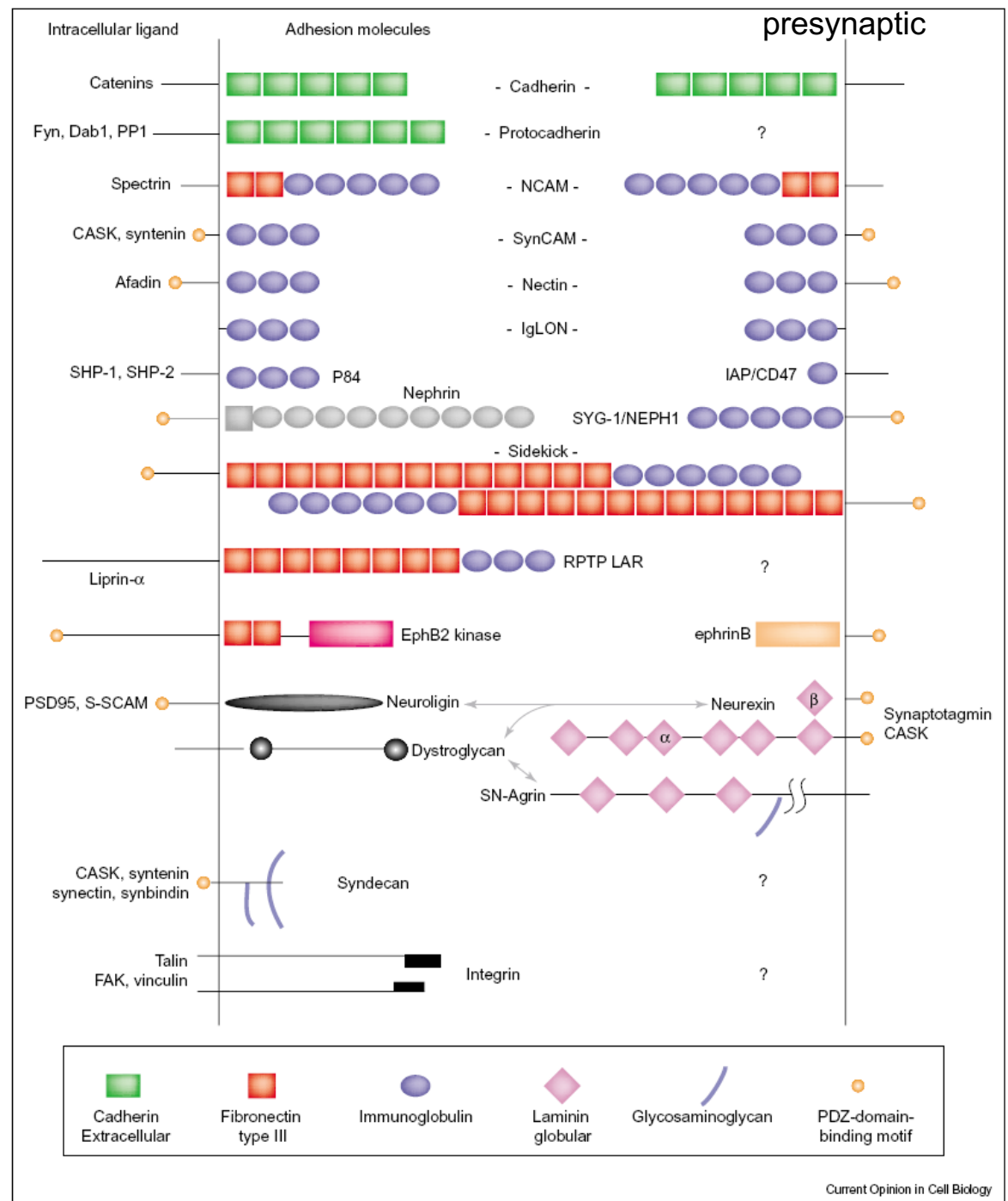
Sebbene ad oggi si conoscano molte molecole di adesione sinaptica, di molte di loro ancora non si conosce l'esatto ruolo funzionale....

MOLECOLE DI ADESIONE (CAM/SAM) CONCENTRATE ALLE SINAPSI NEURONE-NEURONE

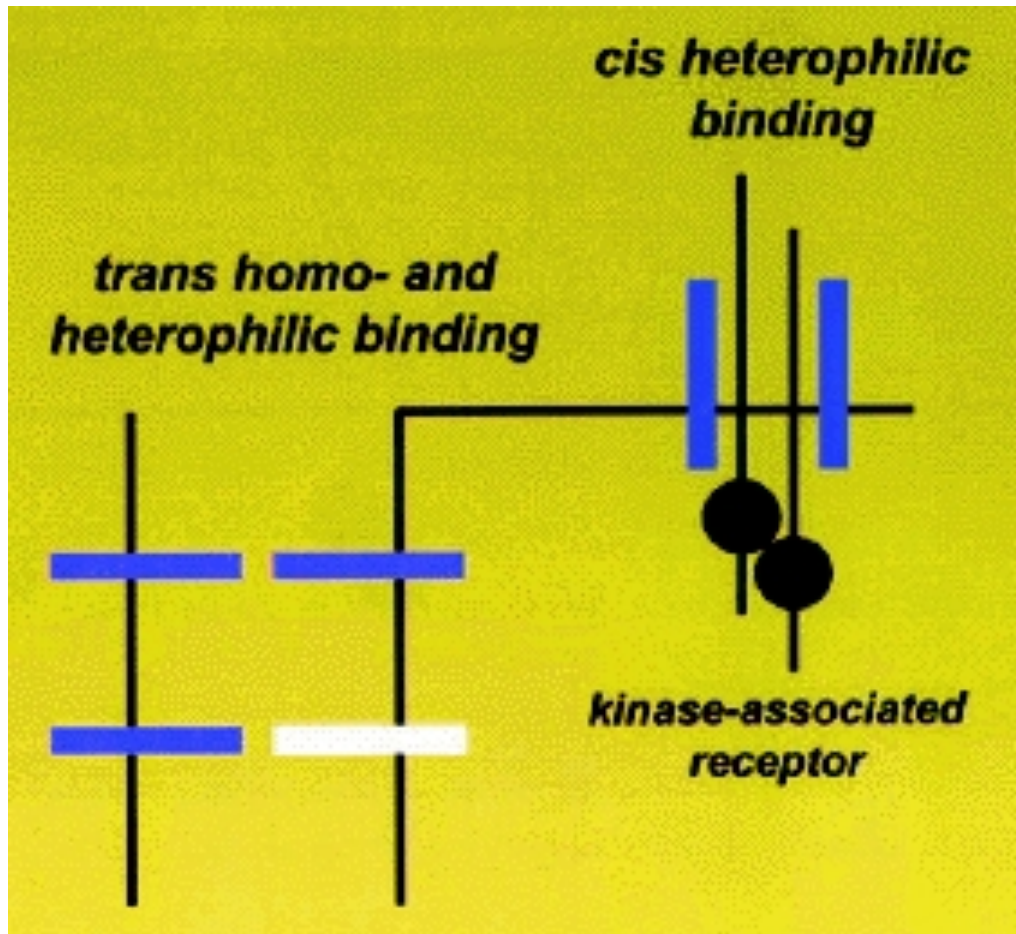
è possibile raggrupparle in base alla loro struttura in sottofamiglie.
Quelle principali sono:

- Caderine
- Immunoglobuline CAM
- Recettori Eph-efrine
- Neurexine-neurolighine

La classifica delle famiglie di molecole di adesione puo' avvenire in base a diversi criteri, uno dei quali e' il tipo di legame che i componenti di ogni famiglia mediano



LEGAME OMOFILICO ED ETEROFILICO



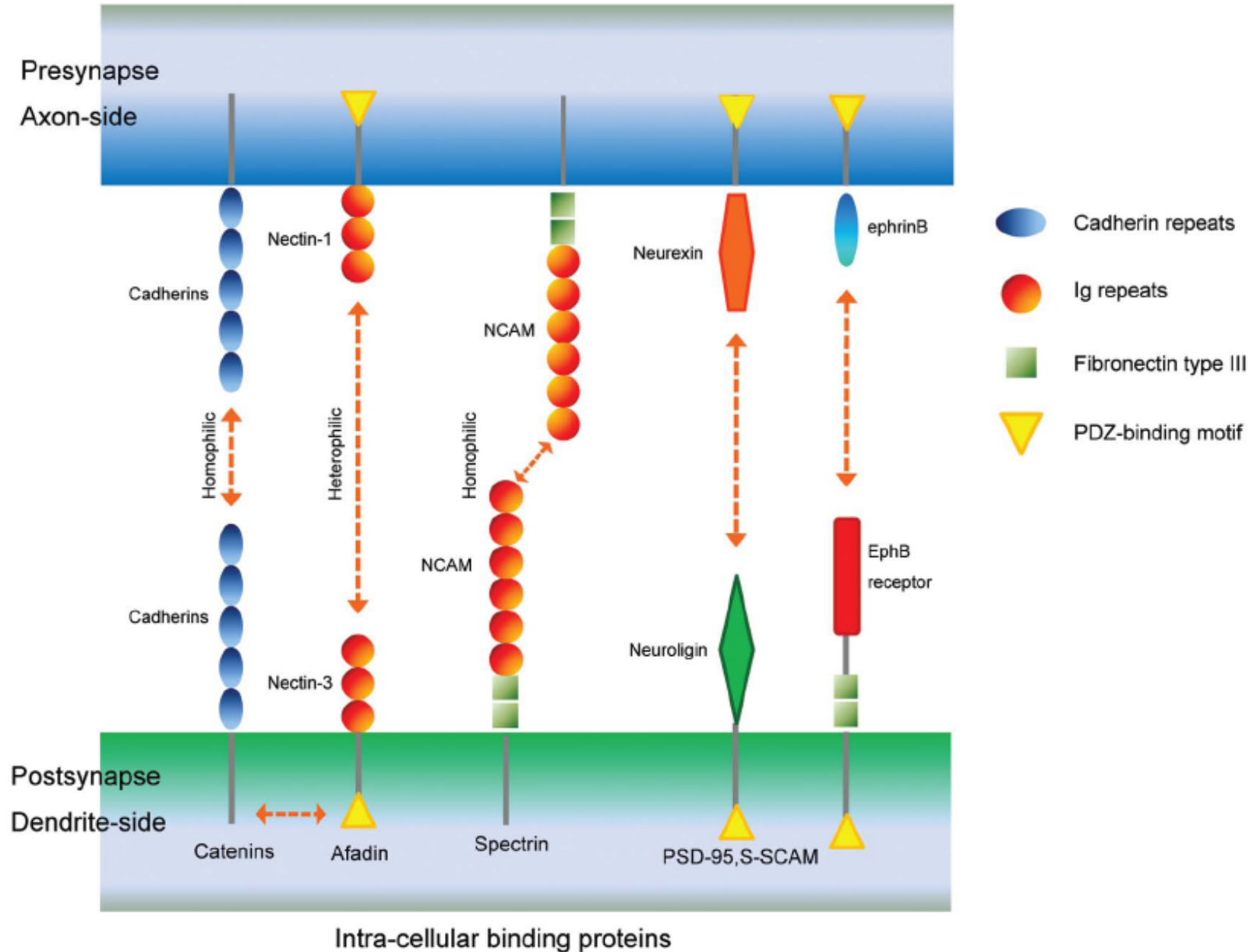
Omoofilico: legame con la stessa molecola sulla membrana della cellula adiacente

Eterofilico: legame con una molecola differente sulla membrana della cellula adiacente

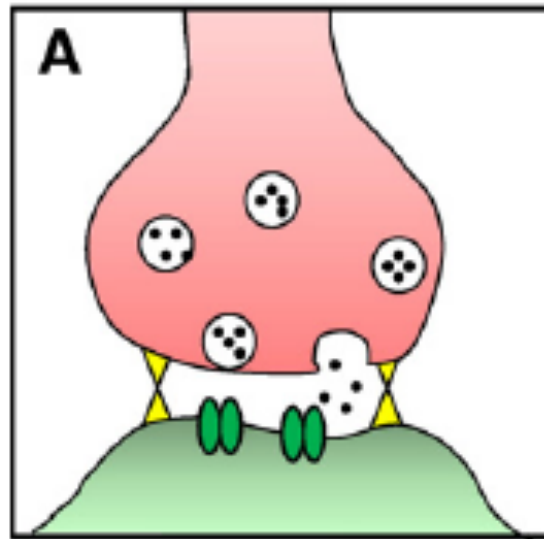
Le molecole di adesione possono interagire in maniera etero- o omofilica tra due cellule diverse (interazione in trans) o sullo stesso piano della membrana di una singola cellula (interazione in cis)

Legame omofilico: caderine, famiglia delle immunoglobuline (NCAM)

Legame eterofilico: recettori Eph/ Efrine, neurolighine/neurexine



LEGAME OMOFILICO



LA SUPERFAMIGLIA DELLE CADERINE

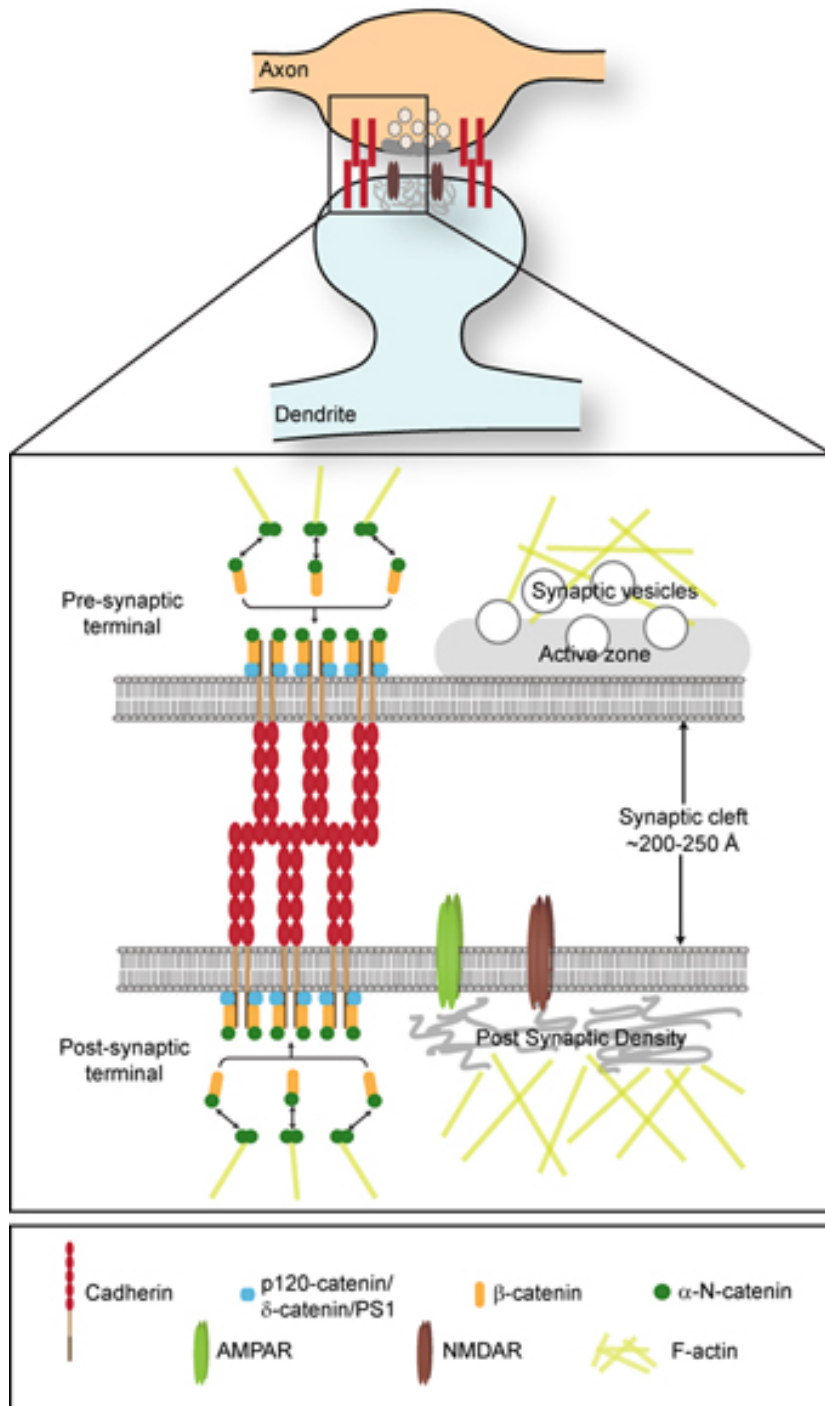
Presenti sia ai terminali presinaptici che post-sinaptici

Legano altre Caderine sia in cis che in trans

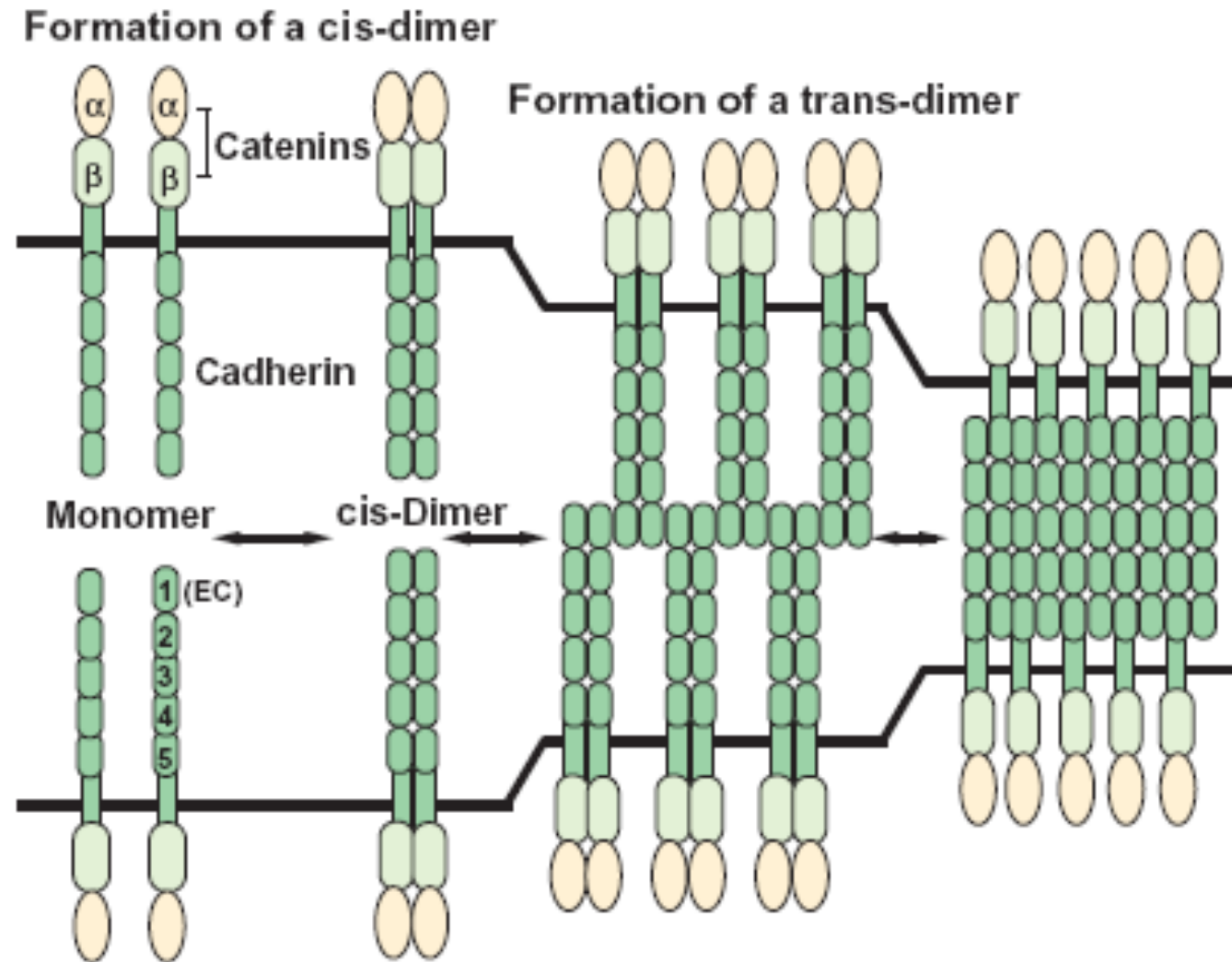
Legame calcio dipendente

Dimeri in cis che poi associano con altri dimeri in cis nello spazio sinaptico per formare complessi di adesione in trans (legame a cerniera)

Interazione con il citoscheletro tramite catenine

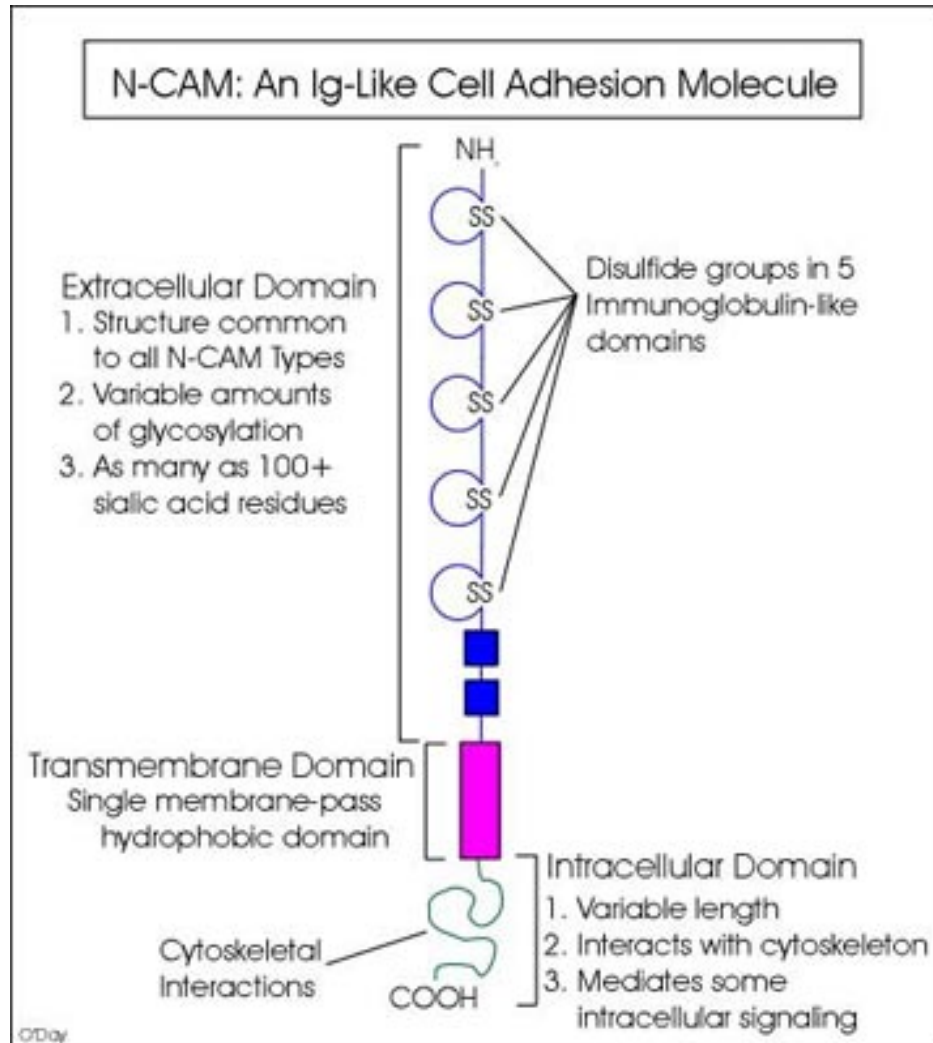


Si formano dimeri in *cis* che associano con altri dimeri in *trans* nello spazio sinaptico per formare complessi di adesione altamente resistenti



MOLECOLE DI ADESIONE SUPERFAMIGLIA IMMUNOGLOBULINE

Maggiori rappresentanti: NCAM, L1, Sidekick, SynCAM, Nectina



Legami di tipo omofilico sia in trans che in cis

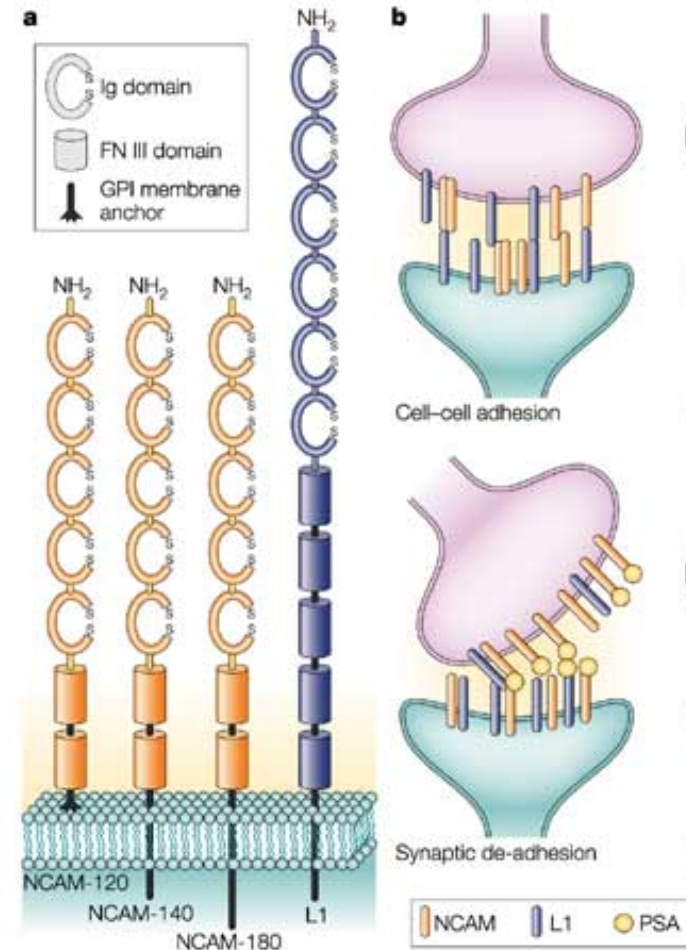
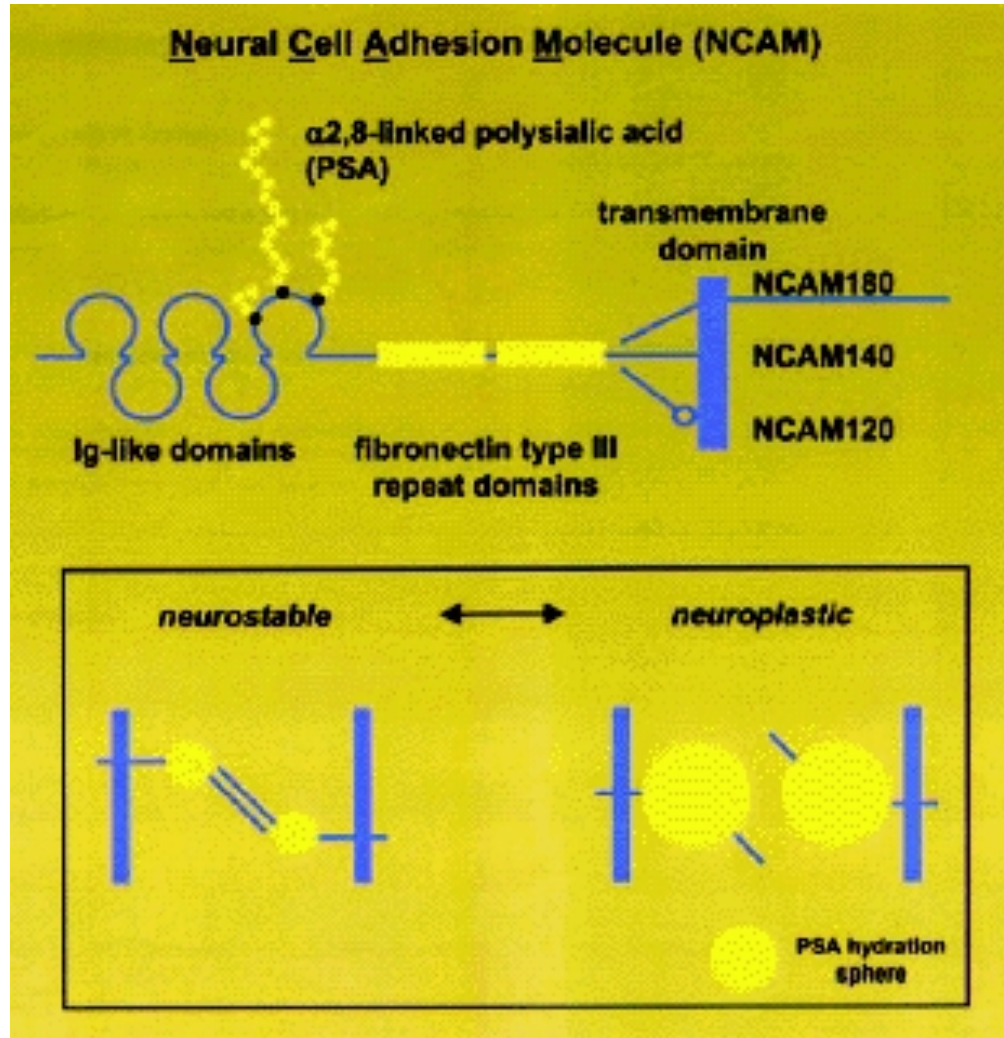
Legame indipendente dal calcio

Il dominio extracellulare ha 5 domini tipici delle immunoglobuline seguiti da domini tipici della fibronectina (in blu)

Dominio Ig media legame omofilico

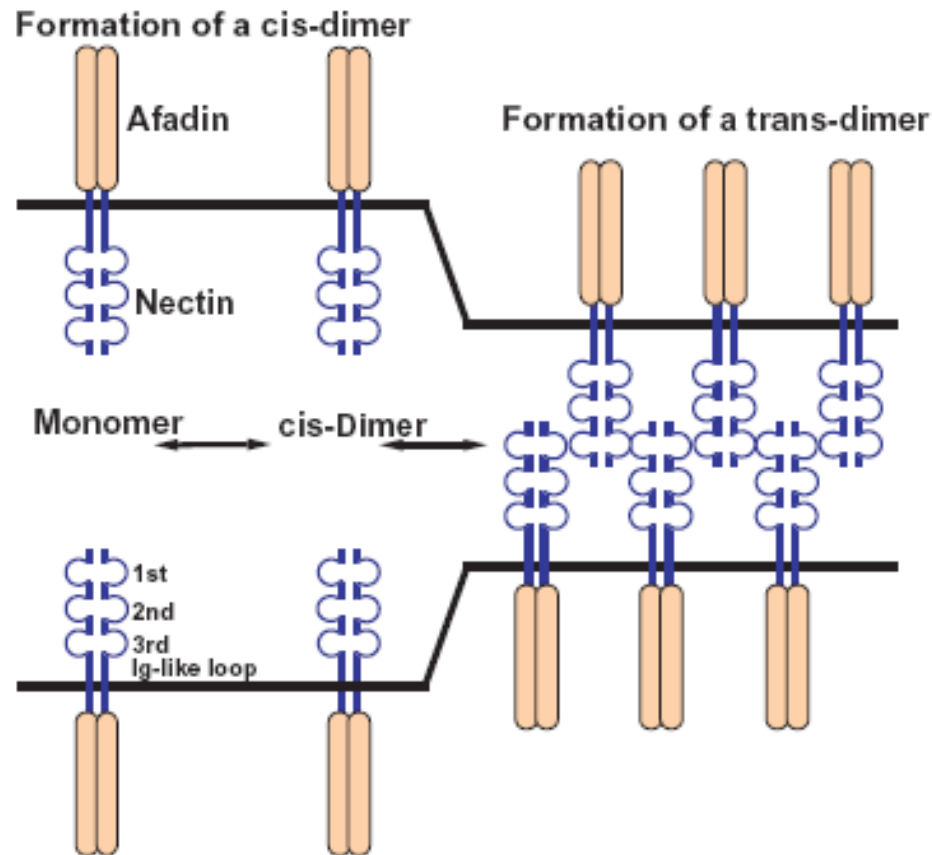
L'acido polisialico (PSA) regola il legame omofilico di NCAM

NCAM è glicosilata e viene modificata post-traduzionalmente per aggiunta di acido polisialico al quinto dominio Ig, questo sembra ridurre la sua capacità di adesione in eventi di migrazione cellulare



“Con-nectin axons and dendrites”

Le nectine fanno parte della famiglia delle immunoglobuline e si associano principalmente tramite legami di tipo omofilico che ricordano le interazioni tra le caderine, ma possono anche legarsi in maniera eterofilica con nectine di tipo diverso (principalmente nectina 1 con nectina 3).

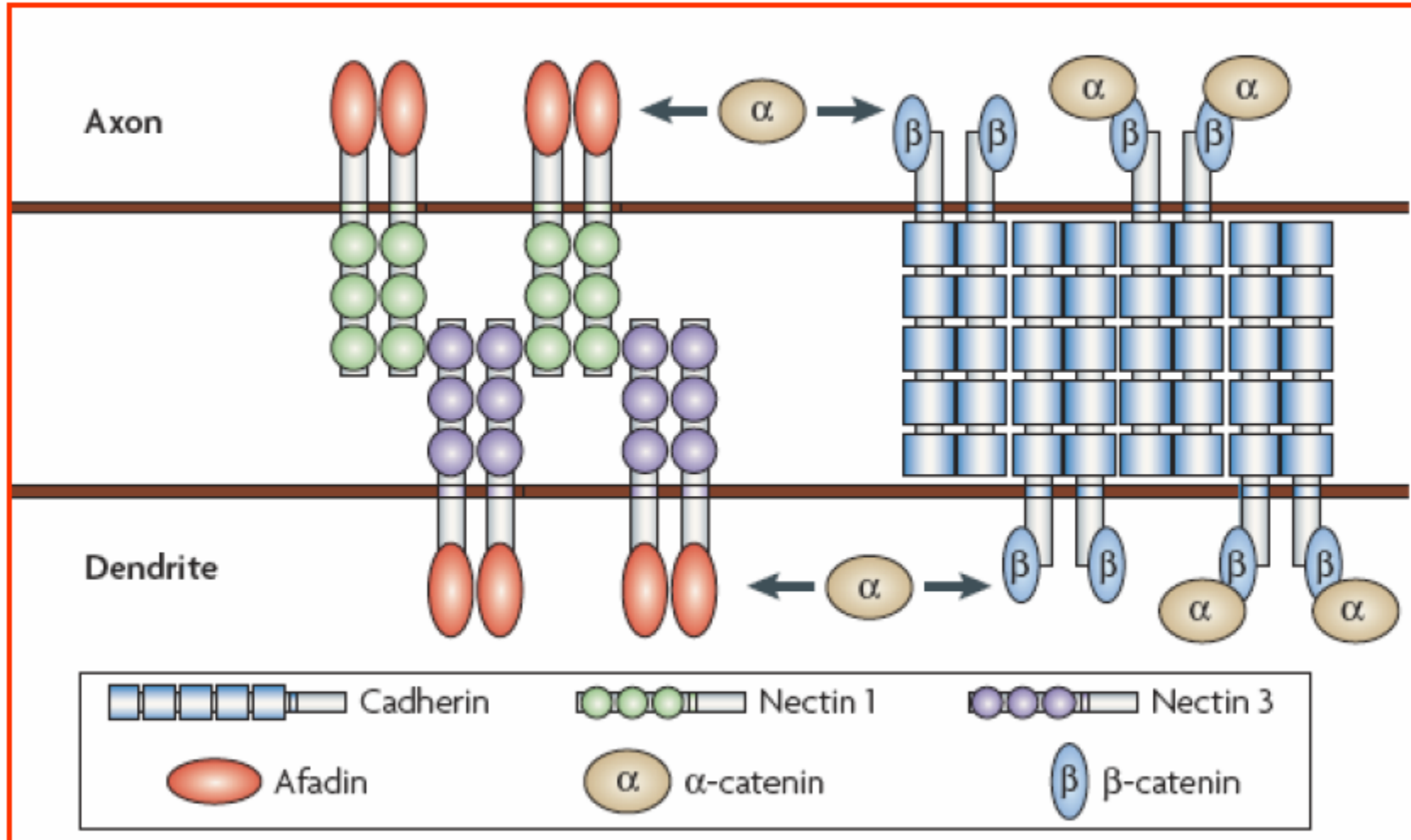


In maniera analoga al sistema caderine/catenine, nectine interagiscono con il dominio intracitoplasmatico con le afidine

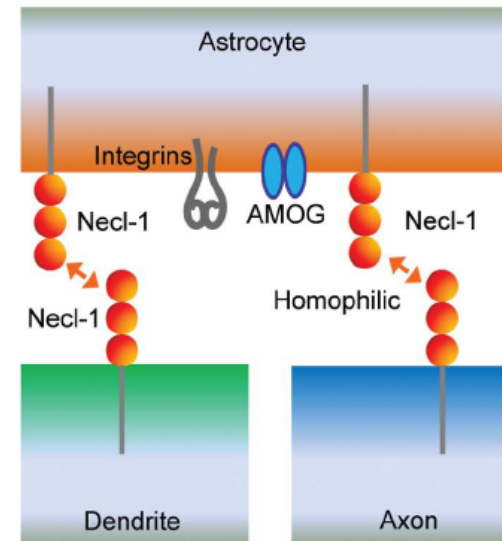
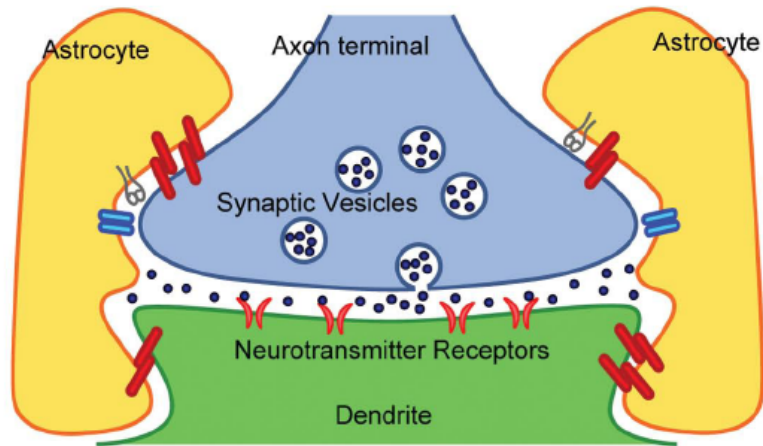
COMPLESSI DI NECTINE E CADERINE SONO CONNESSI DA INTERAZIONI INTRACITOPLASMATICHE

COMPLESSI COMPOSTI
DA NECTINE

COMPLESSI COMPOSTI
DA CADERINE



MOLECOLE DI ADESIONE SPECIFICHE FRA NEURONE E GLIA

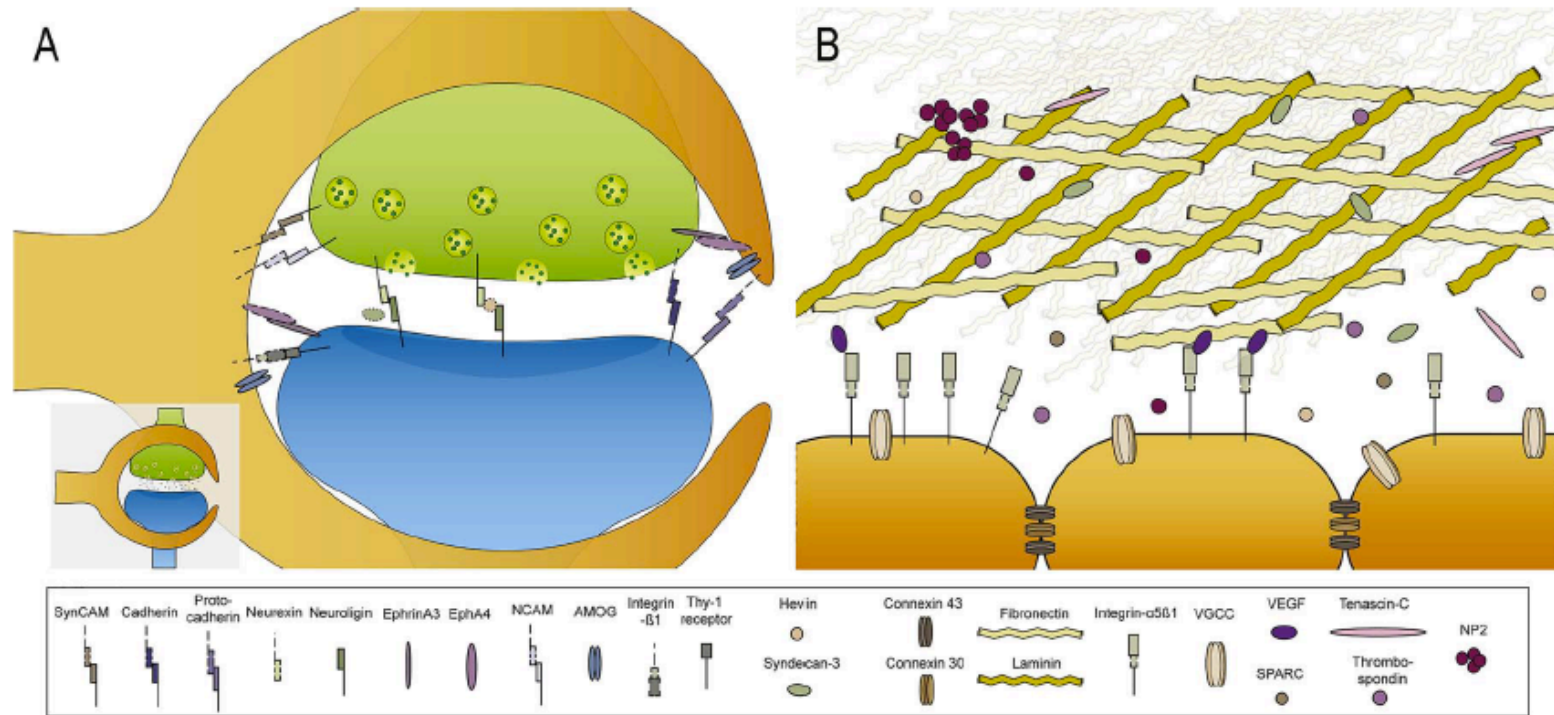


Le proteine Necls (Nectin like) sono molecole di adesione di tipo omofilico con struttura simile alle Nectine, non richiedono calcio per adesione e sono importanti per la interazione neurone-glia

Table 1 **Lists of the neuron-neuron and neuron-glia interactions in the nervous systems**

Classification	Adhesion molecules	Localization
Cadherin Super Family	Classic cadherins	Synapse (PAJs), Neuron-Glia
	Proto-cadherins	Synapse (?)
Ig-like Molecules	Nectins	Synapse (PAJs), Neuron-Glia
	Nectin-like molecules (Necls)	Neuron-Glia
	NCAM	Synapse
	Syg-1, Syg-2	Synapse
	Sidekicks	Synapse
Others	Integrins	Synapse, Neuron-Glia
	Neuroligins, neuexins	Synapse (SJs)
	Eph receptors, ephrins	Synapse (SJs)

LA SINAPSI TRIPARTITA



A schematic representation of a tripartite synapse, with a presynaptic neuron (green), a postsynaptic neuron (blue), and astrocyte processes (orange) surrounding the synaptic cleft. A selection of interactions between neuronal and/or astrocytic cell adhesion molecules (CAMs) are depicted. Dashed outer lines of CAMs indicate astrocytic localization; solid lines indicate neuronal localization. (B) A schematic representation of interactions between astrocytes (orange) and the ECM. Connexins allow for cellular communication within the astrocytic network. Astrocyte-secreted matricellular molecules are incorporated in the scaffold-like structures of the ECM.

SynCAMs (synaptic cell adhesion molecules)

subfamily of the immunoglobulin superfamily of cell adhesion molecules.

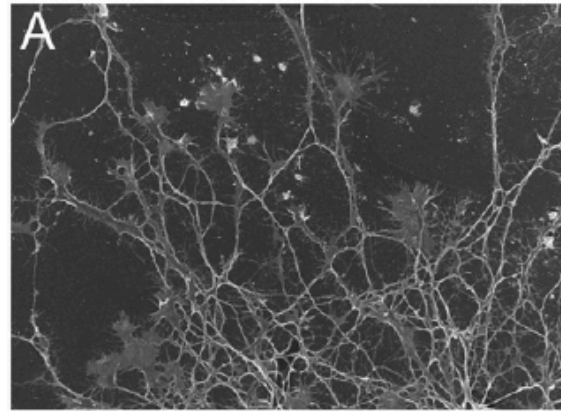
They were first identified as cell adhesion molecules at the synapse which were sufficient to trigger synapse formation.

axon guidance,

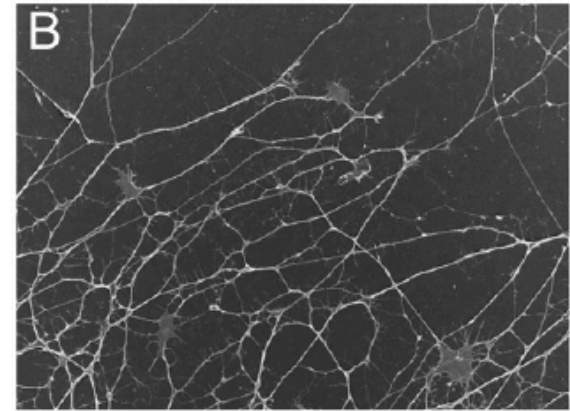
synapse formation,

synaptic plasticity.

SynCAM1



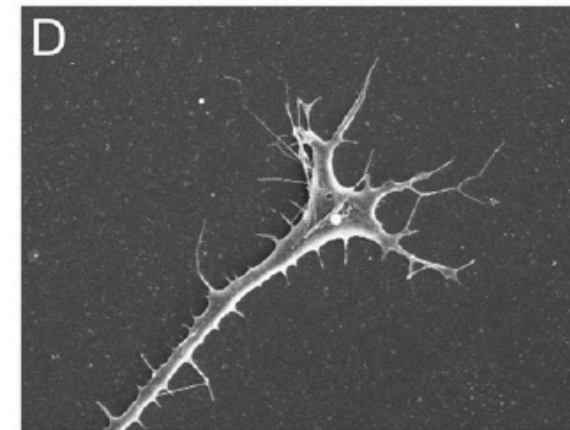
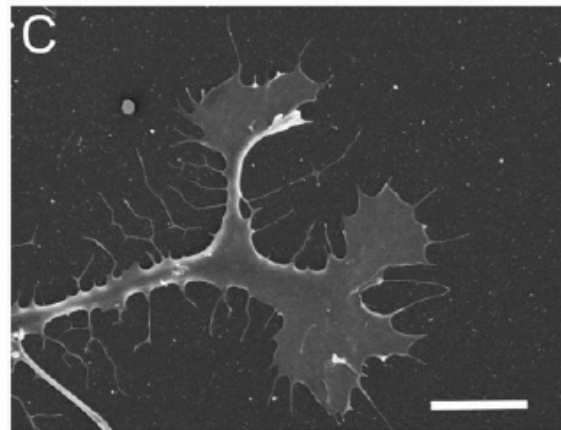
Laminin



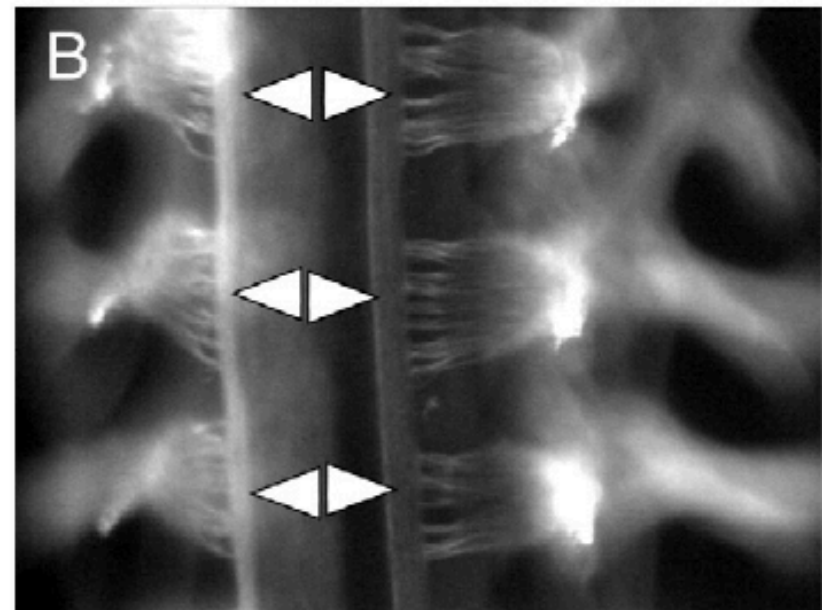
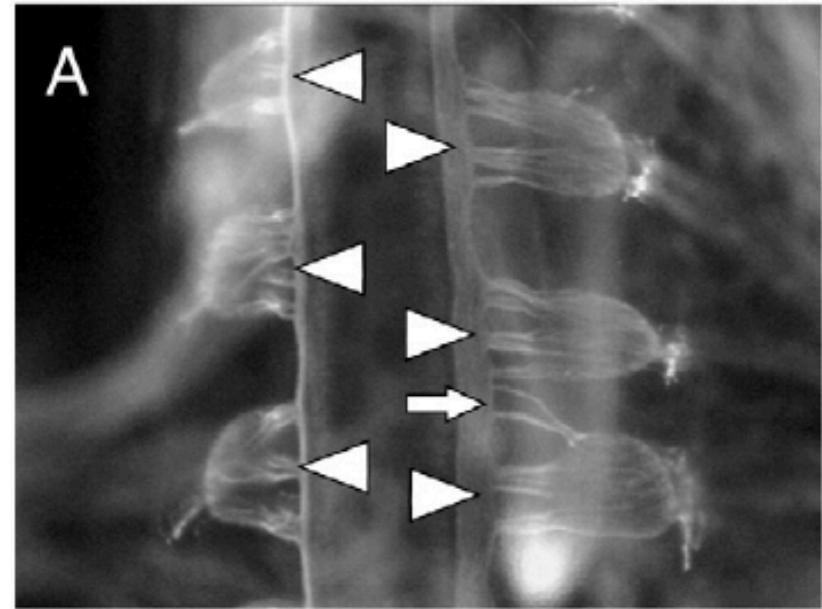
Sensory neurons grown on SynCAM1 substrate exhibit

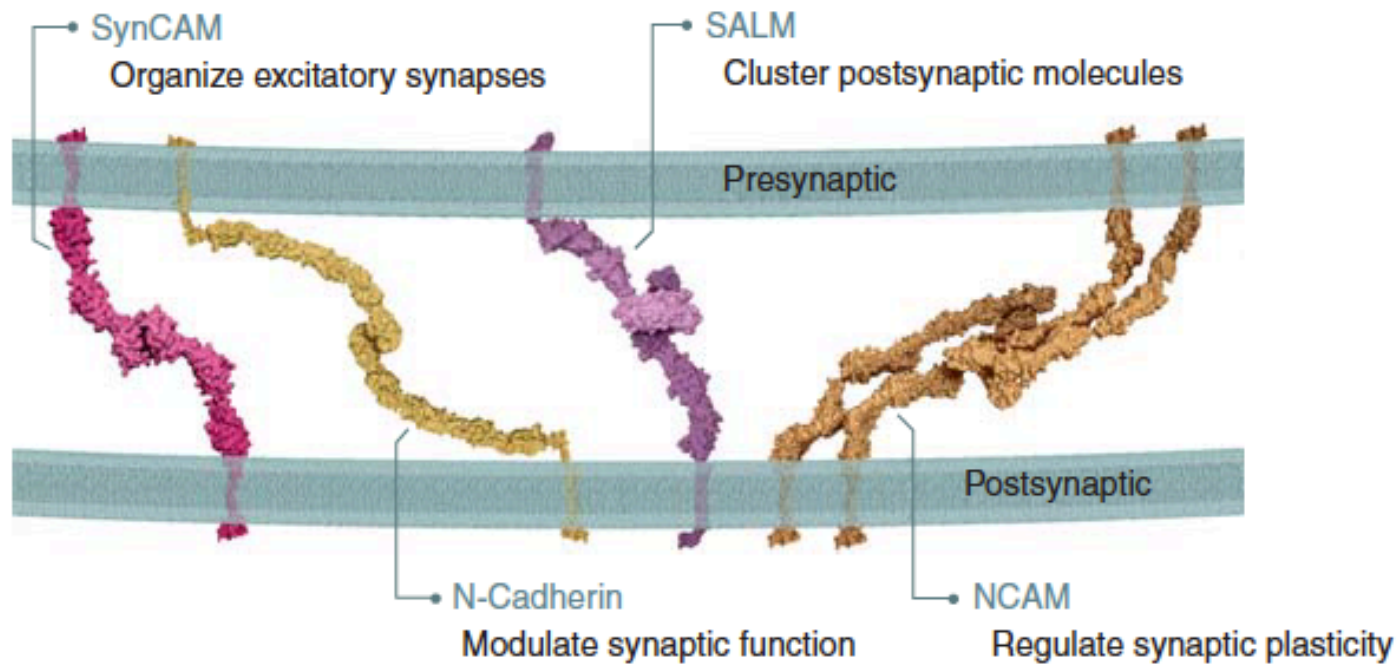
a striking axonal flattening compared to Laminin.

The growth cones on SynCAM1 are three times larger than those on Laminin.



dorsal root ganglia and dorsal roots. Silencing SynCAM3 in neural crest cells by in ovo RNAi resulted in aberrant arrangement of dorsal root ganglia (compare position of arrowheads in the embryo lacking SynCAM3, shown in A, with a control-treated embryo shown in B)





SynCAM1 knockout



- Density of excitatory synapses ↓
- PSD length ↓
- Mini (mEPSC) frequency ↓
- Induction of LTD ↑
- Spatial learning behavior ↑

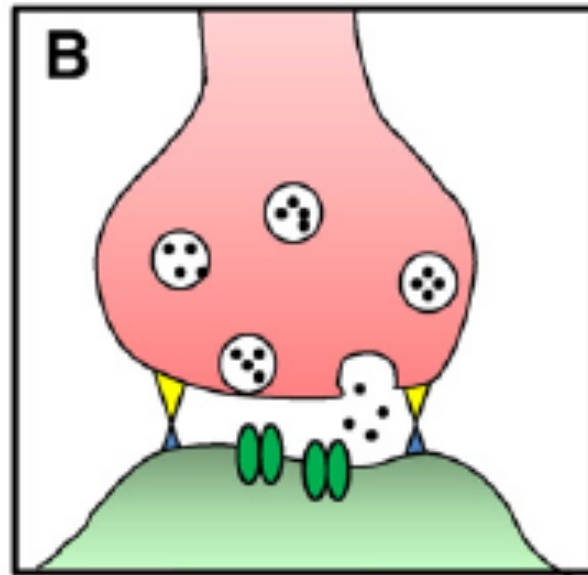


SynCAM1 overexpression



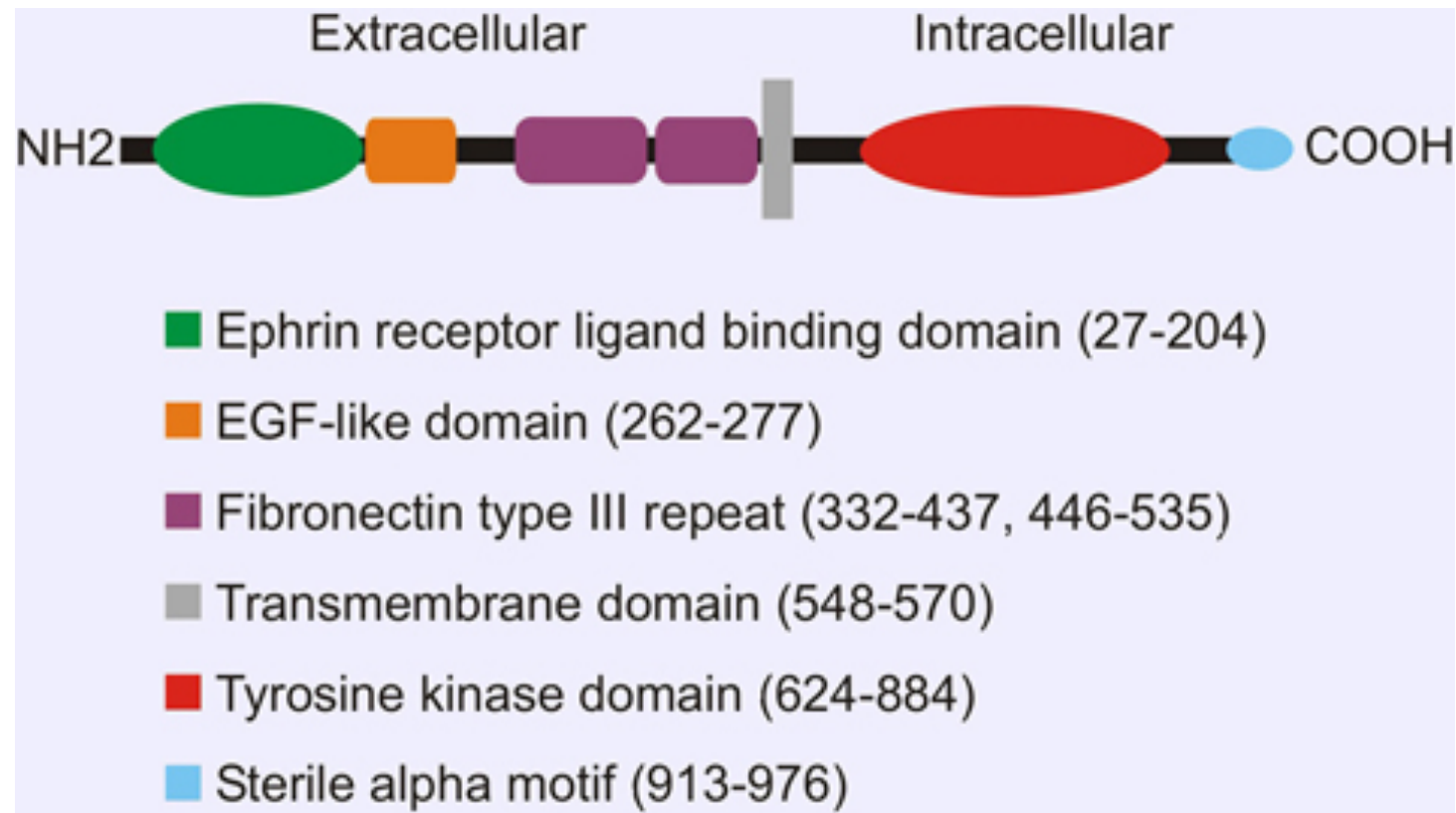
- Density of excitatory synapses ↑
- Mini (mEPSC) frequency ↑
- Induction of LTD ↓
- Spatial learning behavior ↓

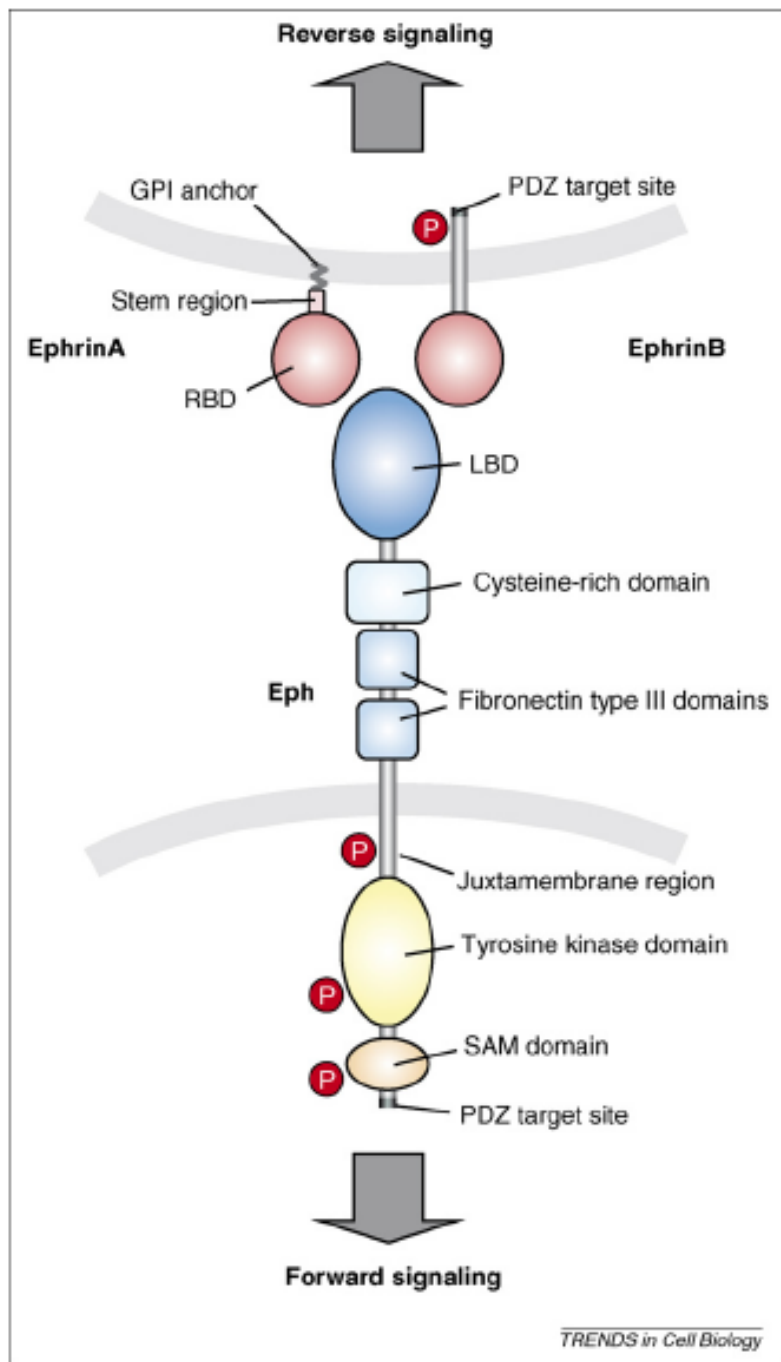
LEGAME ETEROFILICO



I RECETTORI EPH e LE EFRINE

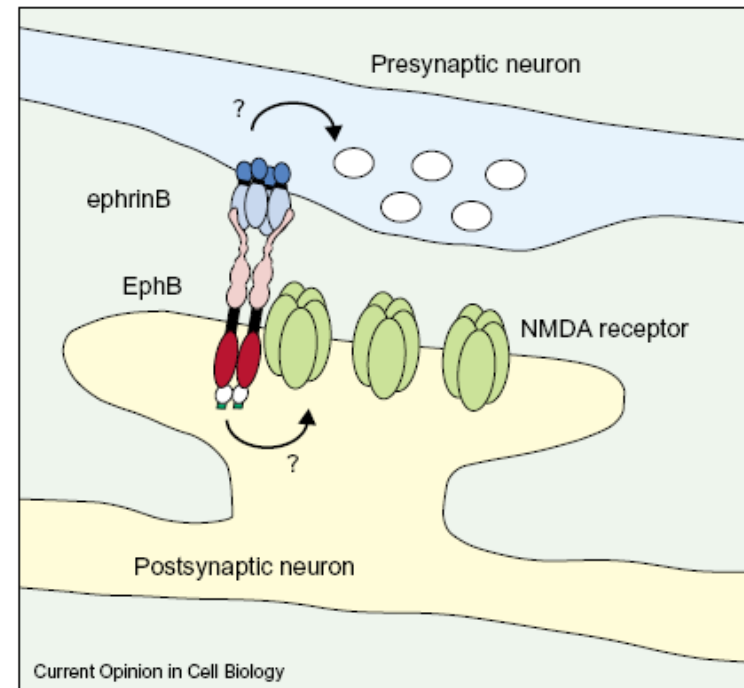
- Recettori tirosin chinasi (EphA, EphB)
- Legano proteine di membrana, le efrine (efrineA, efrineB)



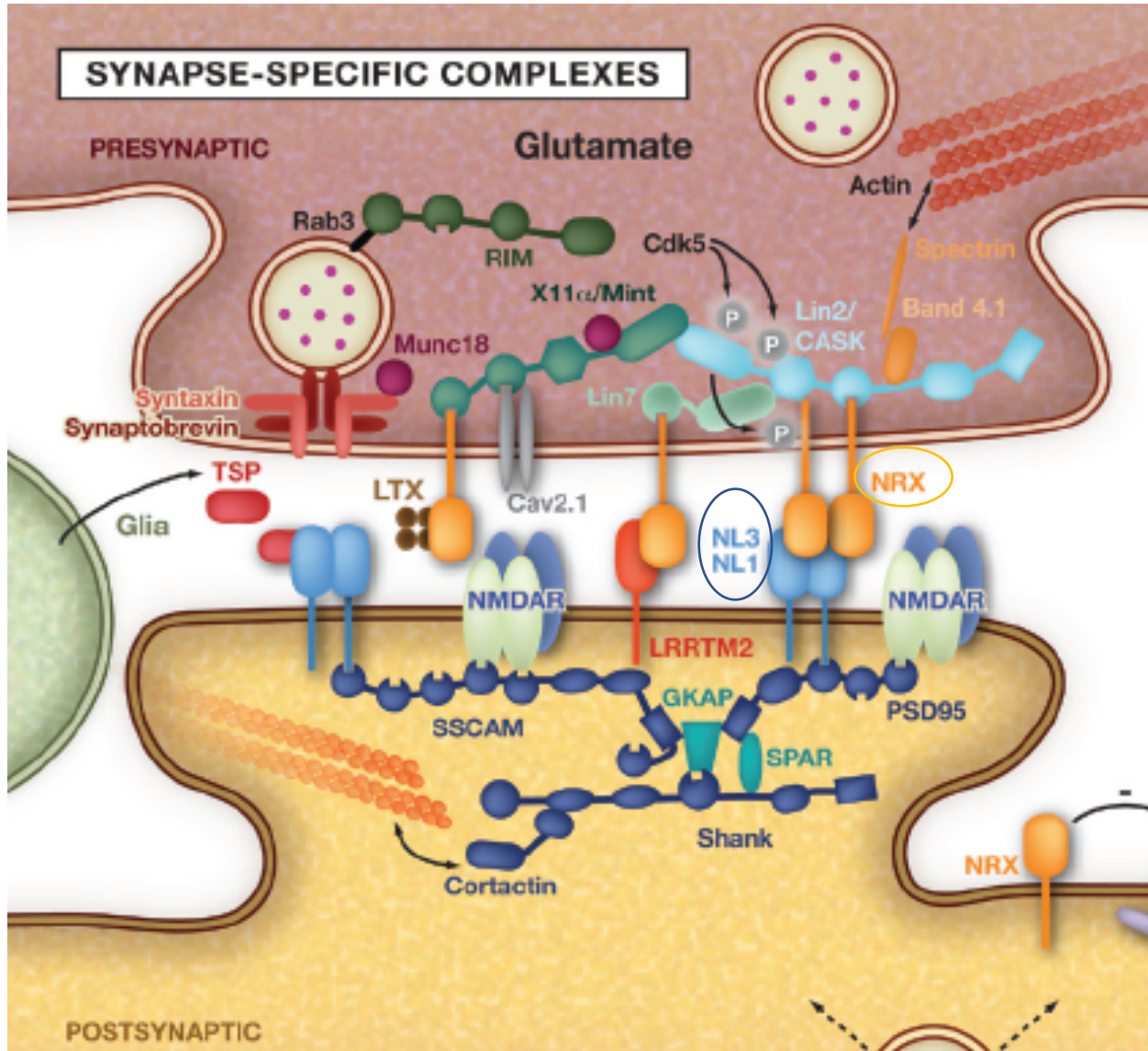


L'INTERAZIONE RECETTORE EPH-EFRINA NON E' UN ESEMPIO CLASSICO DI ADESIONE PERCHE' PUO' MEDIARE ANCHE REPULSIONE

I RECETTORI EphB SONO STATI LOCALIZZATI ALLA SINAPSI ECCITATORIE NELLE DENSITA' POST-SINAPTICHE DOVE LEGANO I RECETTORI DEL GLUTAMMATO DI TIPO NMDA



Neurotrophine e Neurexine



The Neuroligin Family

- 4 genes: NL1, NL2, NL3, NL4 :
(NL3 e NL4 map on X chr in humans)

- Form non-covalent dimers

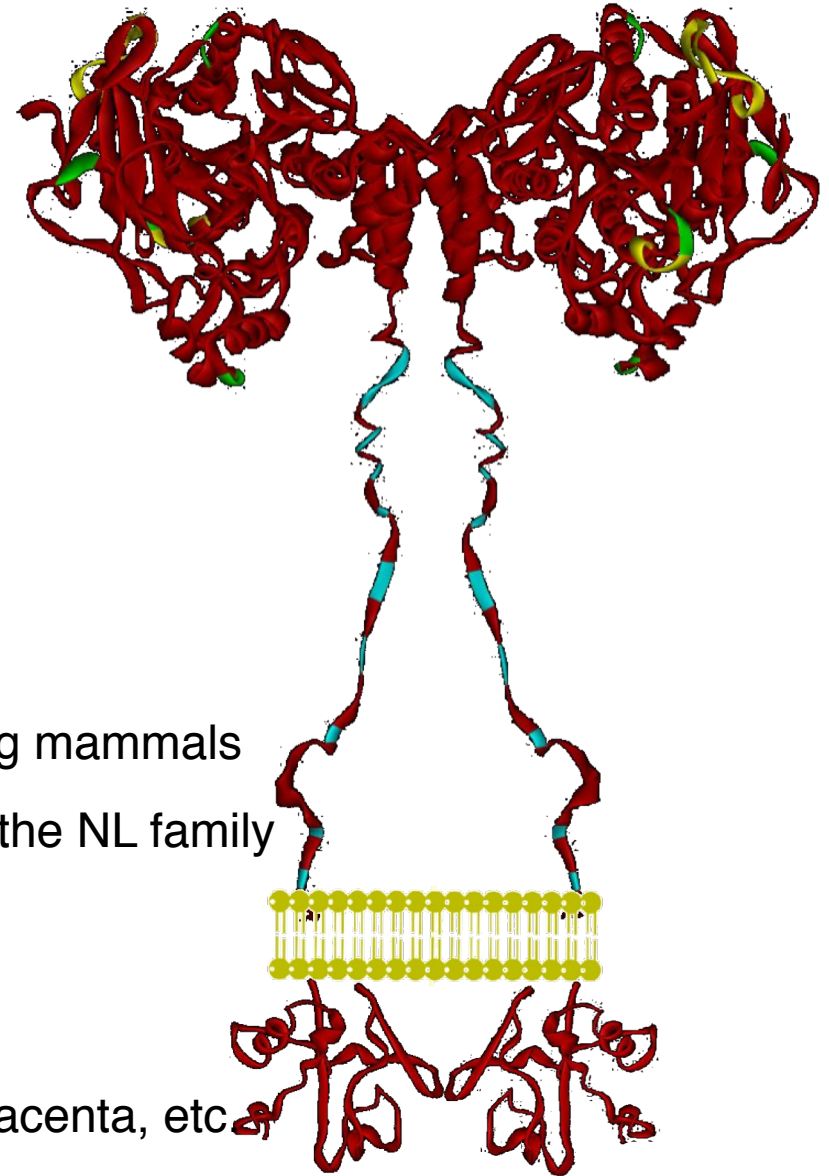
- Extra-cellular cholinesterase-like domain:
 - 2 splice inserts
 - An oligomerization domain
 - Several N- and O-linked glycosylation sites
 - Binds to the Neurexins

- High degree (~99% identity) of conservation among mammals

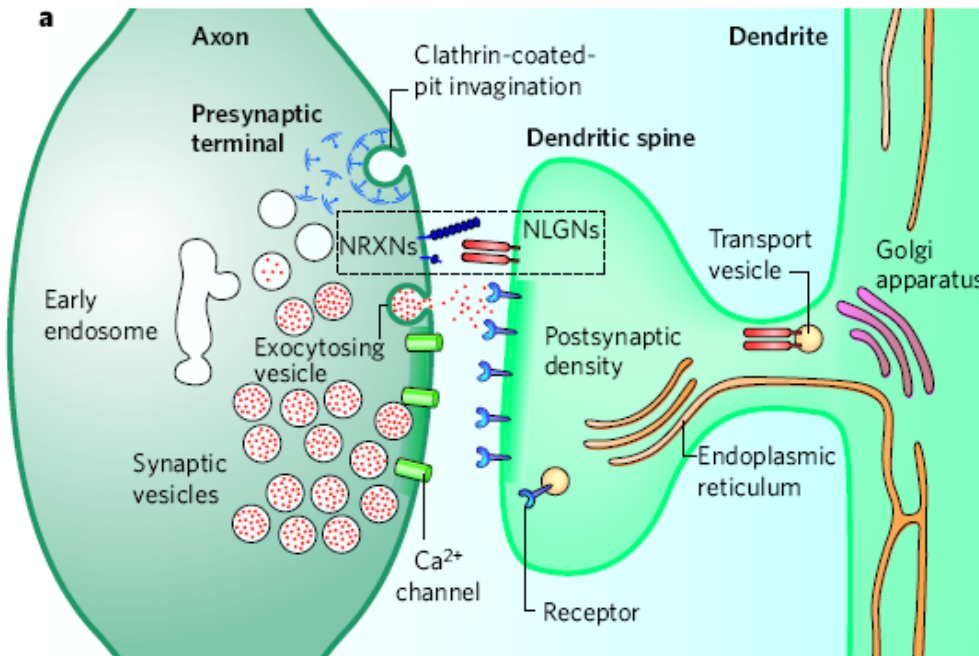
- High degree (~60% identity) of conservation within the NL family

- NL1 to 4 mainly expressed in the CNS

- NL3 and 4 also in heart, lung, pancreas, muscle, placenta, etc.



NEUREXINE E NEUROLIGINE MEDIANO ADESIONE ETEROFILICA ALLA SINAPSI

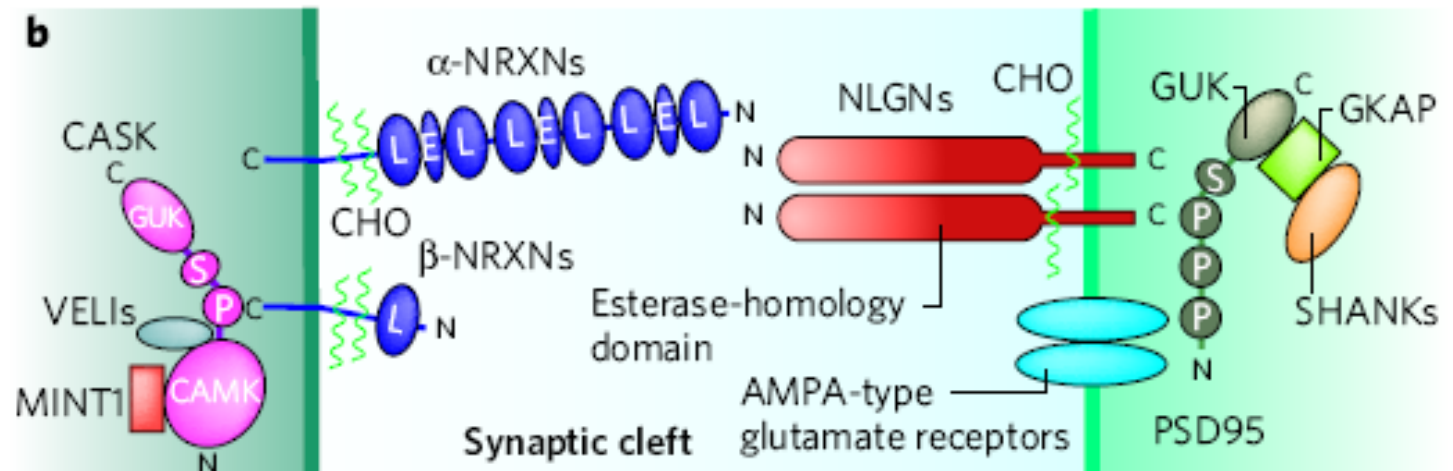


NEUREXINE

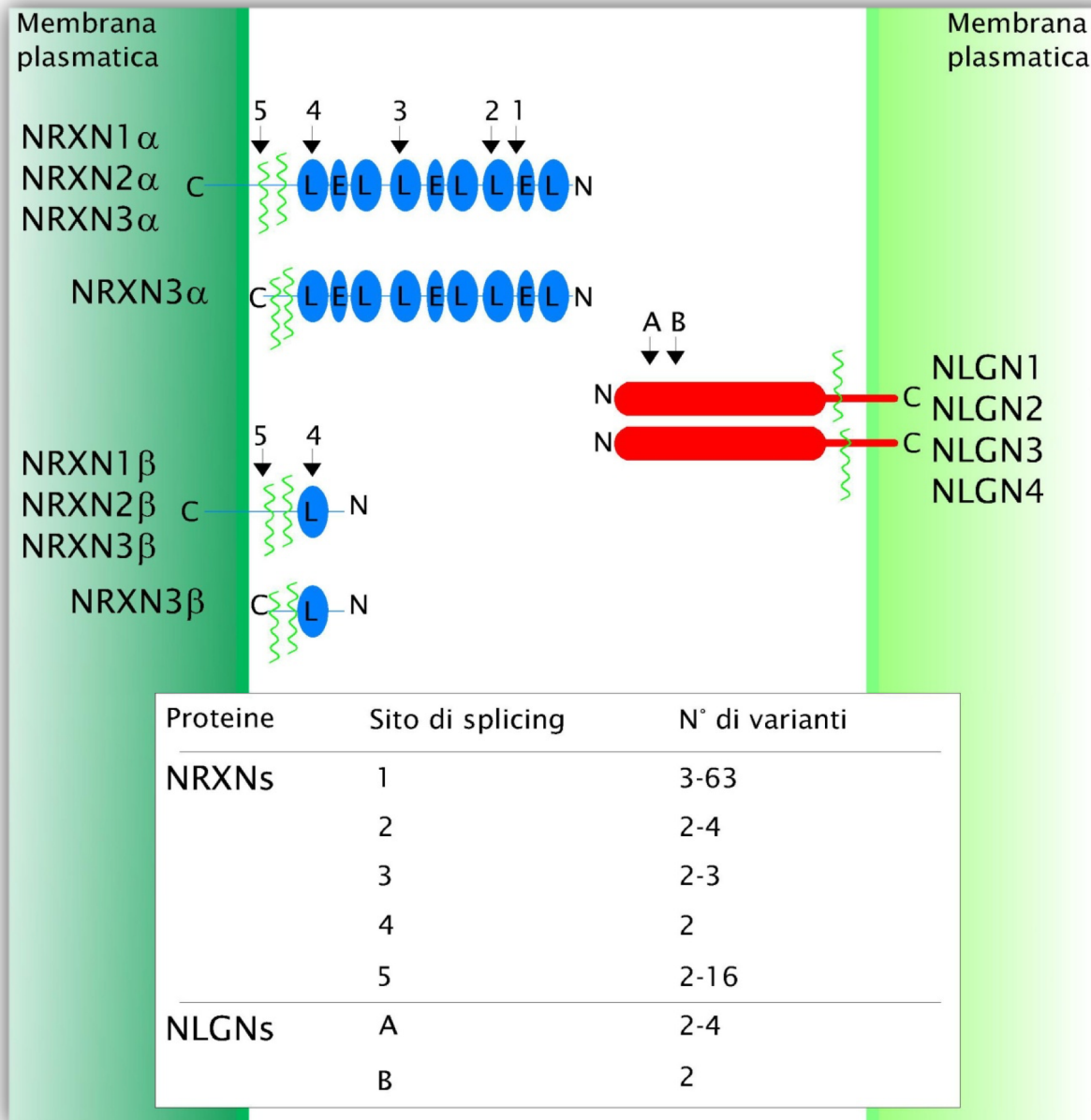
- Esprese nel SNC a livello presinaptico
- Esistono neurexine α e β
- Differiscono nel dominio extracellulare ma hanno identici domini transmembrana e citoplasmatico.

NEUROLIGINE

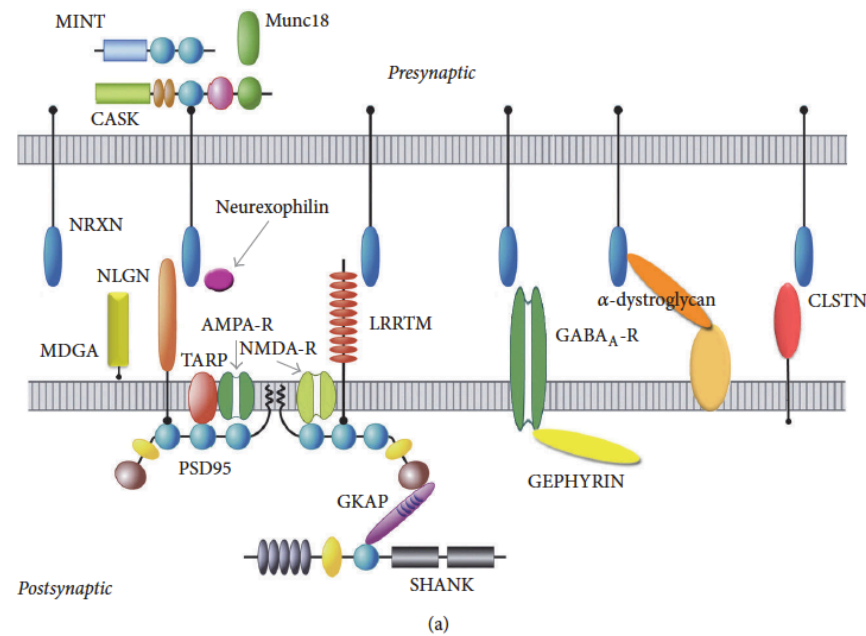
- Esprese nel SNC a livello postsinaptico
- Dominio extracellulare e' simile all' acetilcolinesterasi e lega le neurexine



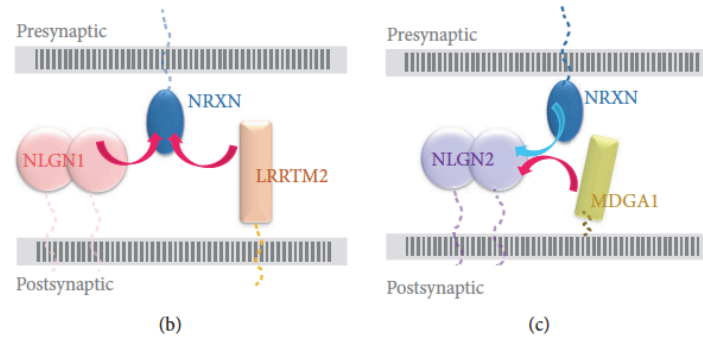
Cosa regola il legame tra Neuroligine e Neurexine?



- Il dominio extracellulare delle α -NRXNs contiene 5 siti di splicing e 2 nelle β -NRXNs
- Questo significa che esistono più di 3000 isoforme delle Neurexine!
- Le Neuroligine contengono solo 2 siti di splicing alternativo



(a)



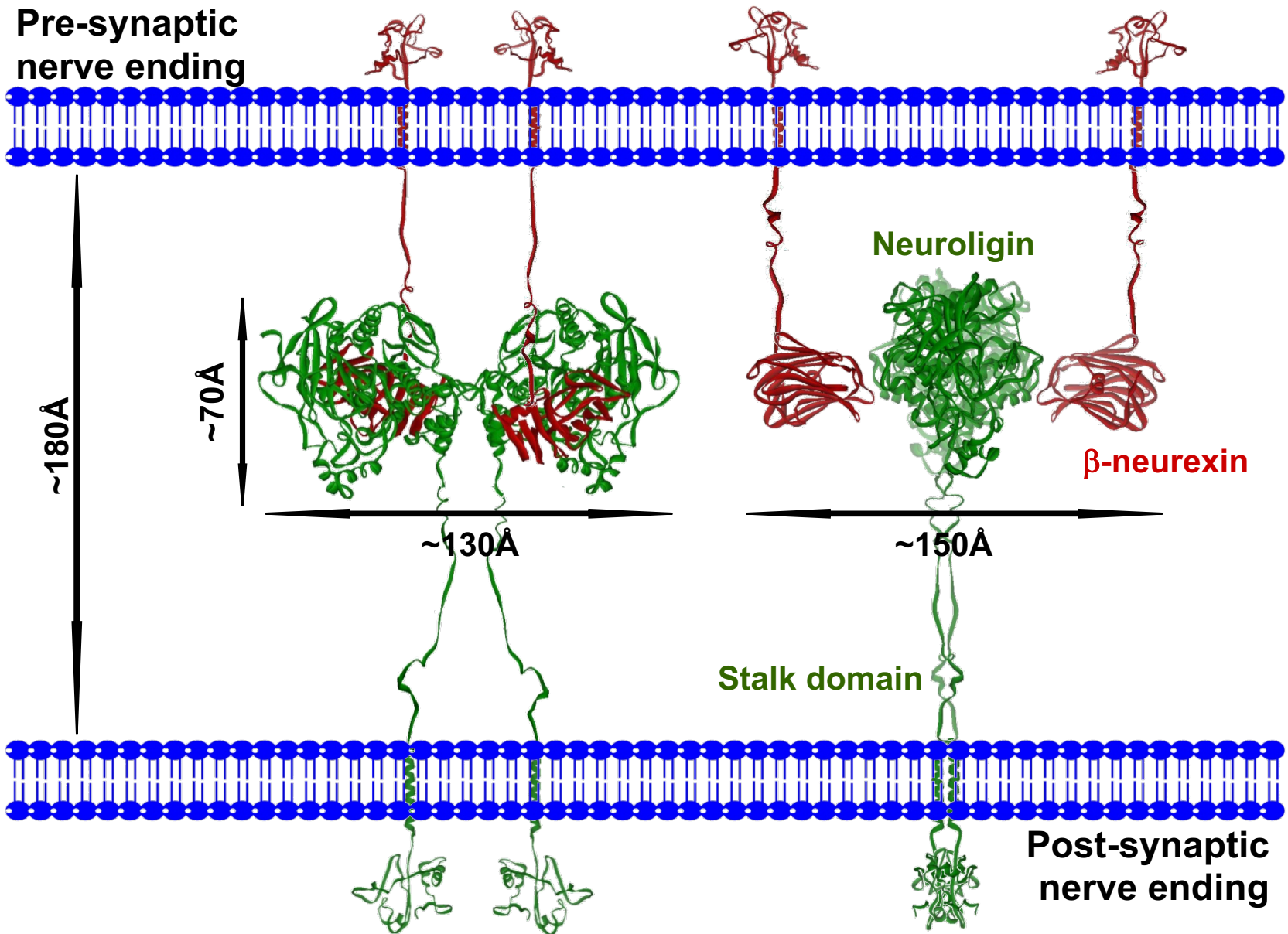
(b)

(c)

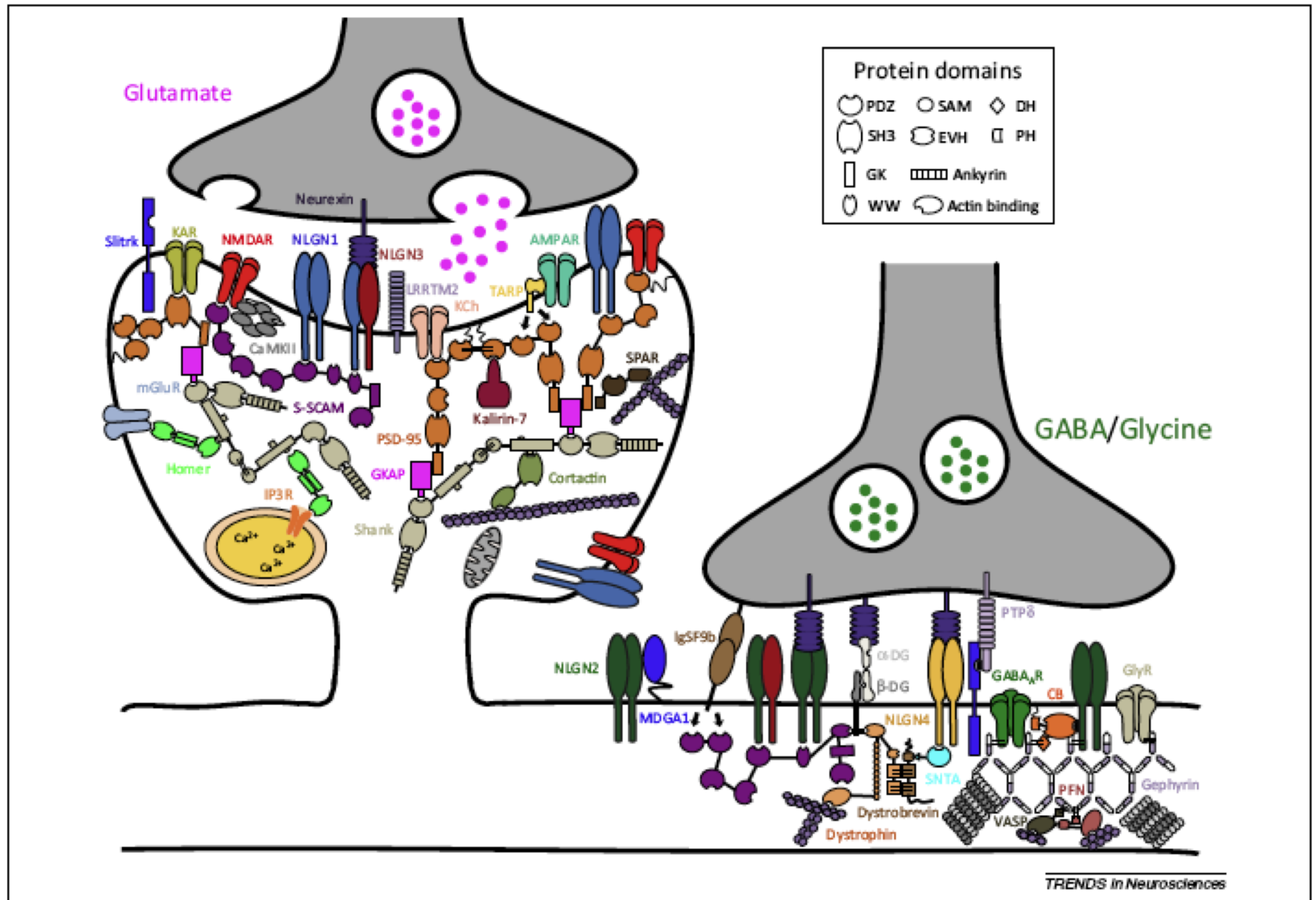
Neurexins (blue ovals) bind many protein partners tethered to the postsynaptic membrane including neuroligins, LRRTMs, α -dystroglycan, calyntenins (CLSTN), and the GABA_A-receptor, as well as partners that are secreted such as neurexophilins. (

b) NLGN1 and LRRTM2 can both bind neurexins at an overlapping binding site generating two competing trans-interactions.

(c) Neurexins and MDGA1 can both bind NLGN2 at an overlapping binding site generating competing cis- and trans-interactions.

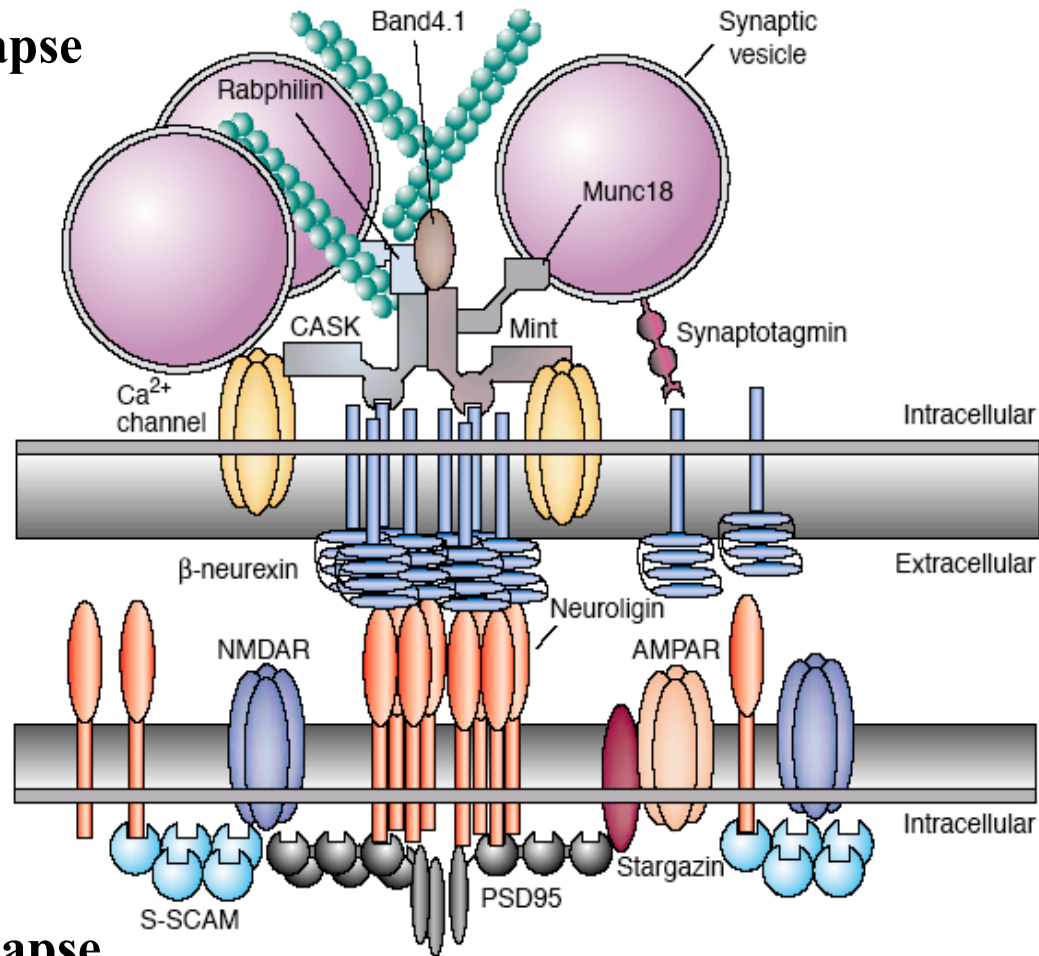


Distribuzione di Neuroligina 1, 2, 3 e 4 alle sinapsi



Interazione *in trans*: Neurexina/Neuroligina

Pre-synapse



Post-synapse

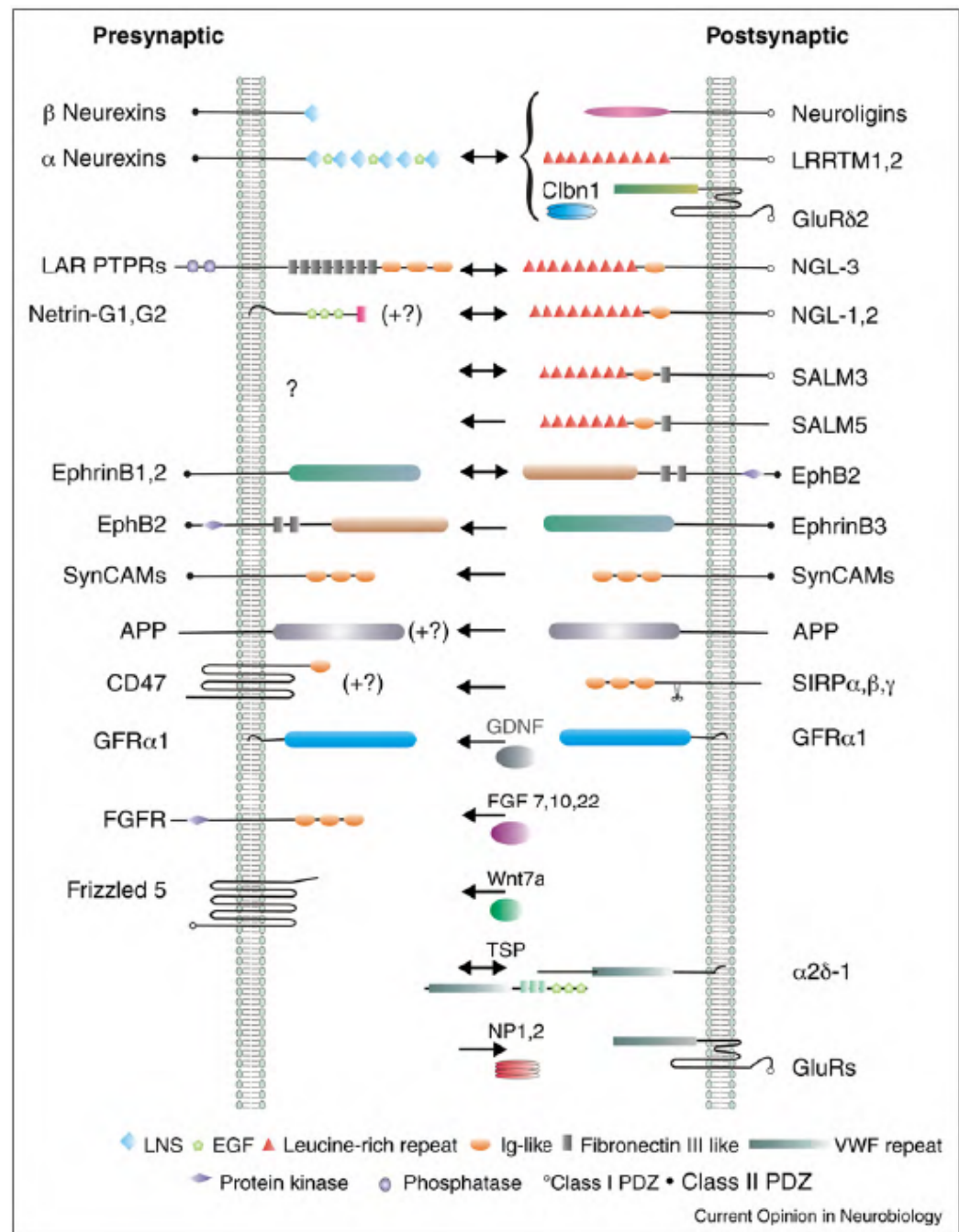
TRENDS in Neurosciences

NEUROLIGINE E NEUREXINE LEGANO CON LA REGIONE CITOPLOSMATICA PROTEINE CHE PRESENTANO DOMINII PDZ, IN PARTICOLARE CASK PER NEUREXINA E PSD95 PER NEUROLIGINA CHE HANNO IL RUOLO DI “ANCORARE” LE MOLECOLE DI ADESIONE ALLA RETE DI PROTEINE SOTTOSTANTI LA MEMBRANA

Le Neurexine non legano solo le Neurolighine

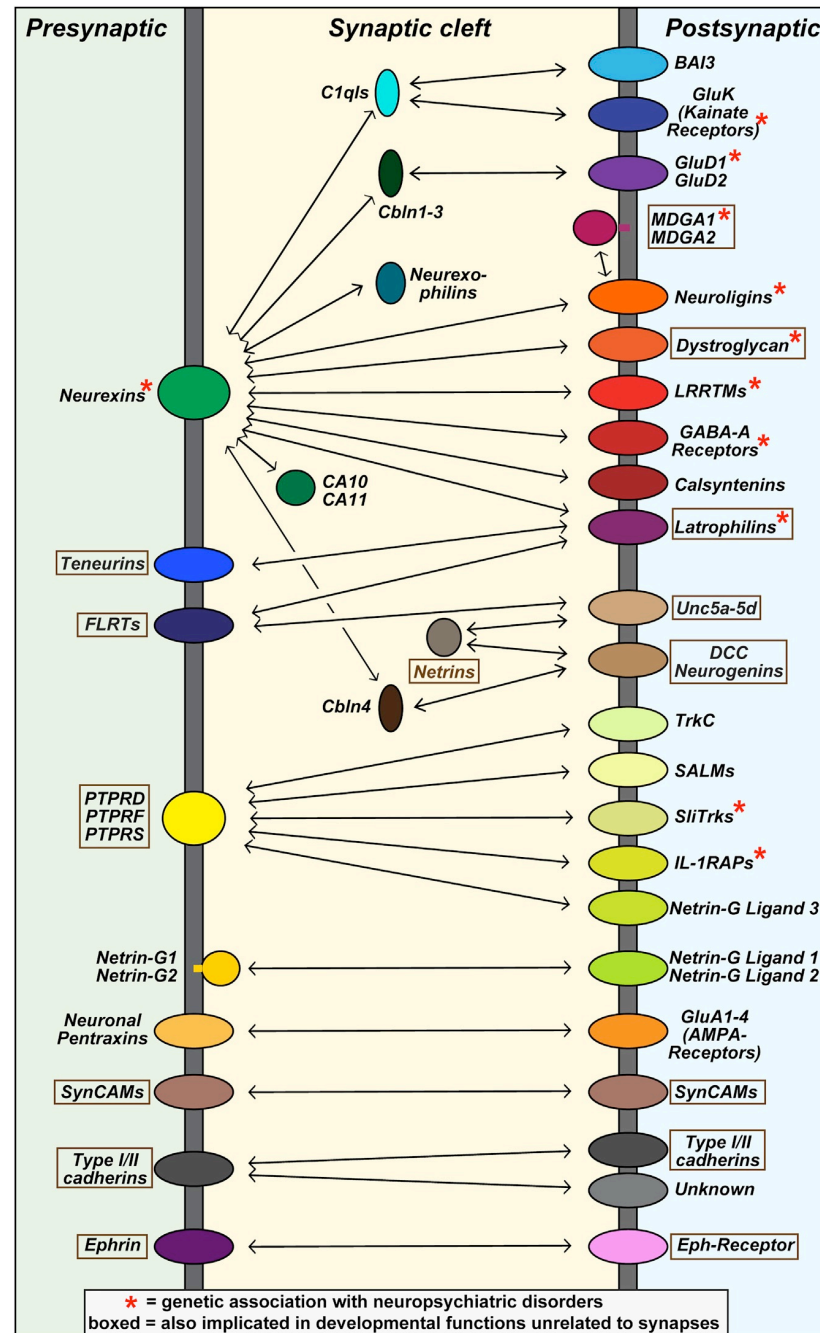
leucine-rich repeat (LRR) domains

LRRTMs and Slitrks



ALCUNE MOLECOLE CAMs HANNO PIU' INTERATTORI

* GENETIC
ASSOCIATION WITH
NEUROPSYCHIATRIC DISORDERS



The LRR-containing proteins

mainly localized to postsynaptic sites and bind across the synaptic cleft to their presynaptic partners

- leucine-rich-repeat transmembrane neuronal proteins (LRRTMs) (Linhoff et al.,2009),
- netrin-G ligands (NGLs)
- SLIT and NTRK-likeprotein (Slitrks)
- synaptic adhesion like molecules (SALMs)
- fibronectin leucine richtransmembrane proteins (FLRTs)

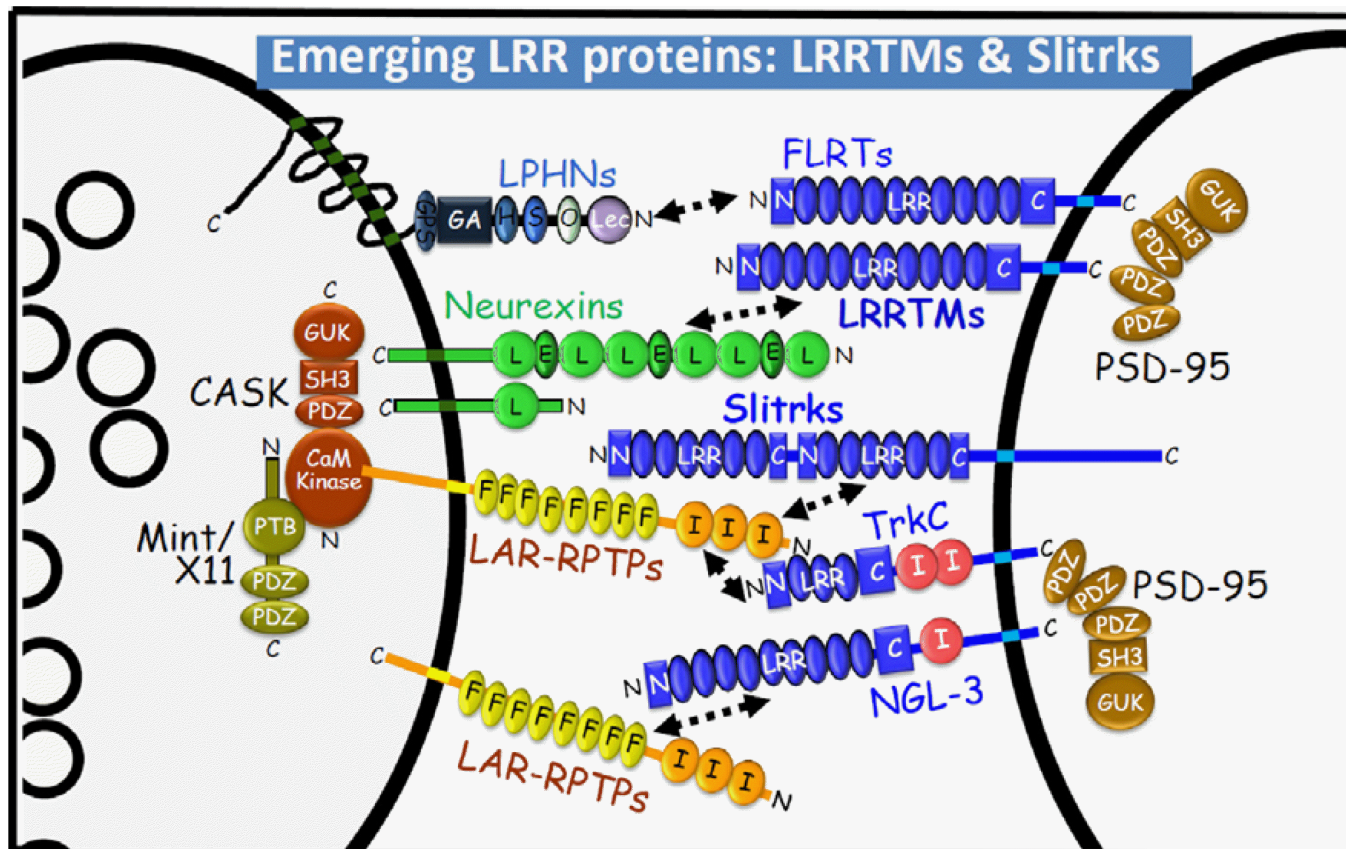


Table 1

Leucine-rich repeat containing synapse organizing proteins and their presynaptic binding partners.

Proteins	Protein domains	Presynaptic partner
LRR-TMs		
LRR-TM1	LRRNT, LRR1-10, LRRCT, TM, C-terminal	Neurexin 1,2,3 α/β (-S4)
LRR-TM2	LRRNT, LRR1-10, LRRCT, TM, C-terminal	Neurexin 1,2,3 α/β (-S4)
LRR-TM3	LRRNT, LRR1-10, LRRCT, TM, C-terminal	Neurexin 1 β (-S4)
LRR-TM4	LRRNT, LRR1-10, LRRCT, TM, C-terminal	Heparan sulphate proteoglycans
SlitRks		
Slitrk1	LRRNT1, LRR1-6, LRRCT1, LRRNT2, LRR7-12, LRRCT2, TM, C-terminal	PTP σ , PTP δ
Slitrk2	LRRNT, LRR1-6, LRRCT1, LRRNT, LRR7-12, LRRCT2, TM, C-terminal	PTP σ , PTP δ
Slitrk3	LRRNT, LRR1-6, LRRCT1, LRRNT, LRR7-12, LRRCT2, TM, C-terminal	PTP δ
Slitrk4	LRRNT, LRR1-6, LRRCT1, LRRNT, LRR7-12, LRRCT2, TM, C-terminal	PTP σ
Slitrk5	LRRNT, LRR1-6, LRRCT1, LRRNT, LRR7-12, LRRCT2, TM, C-terminal	PTP σ , PTP δ
Slitrk6	LRRNT1, LRR1-5, LRRCT1, LRRNT2, LRR6-11, LRRCT2, TM, C-terminal	PTP σ
NGLs		
NGL-1	LRRNT, LRR1-9, LRRCT, Ig, TM, C-terminal	Netrin-G1, LAR
NGL-2	LRRNT, LRR1-9, LRRCT, Ig, TM, C-terminal	Netrin-G2
NGL-3	LRRNT, LRR1-9, LRRCT, Ig, TM, C-terminal	LAR-RPTPs
SALMs		
SALM1	LRRNT, LRR1-7, LRRCT, Ig, FNIII, TM, C-terminal	
SALM2	LRRNT, LRR1-7, LRRCT, Ig, FNIII, TM, C-terminal	
SALM3	LRRNT, LRR1-7, LRRCT, Ig, FNIII, TM, C-terminal	LAR-PTPs
SALM4	LRRNT, LRR1-6, LRRCT, Ig, FNIII	SALM4
SALM5	LRRNT, LRR1-7, LRRCT, Ig, FNIII	SALM5, LAR-RPTPs
Trks		
TrkC	LRRNT, LRR1-3, LRRCT, Ig1, Ig2, TM, C-terminal	PTP σ
FLRTs		
FLRT1	LRRNT, LRR1-7, LRRCT, Ig, FNIII, C-terminal	Not known
FLRT2	LRRNT, LRR1-7, LRRCT, Ig, FNIII, C-terminal	LPHN3
FLRT3	LRRNT, LRR1-6, LRRCT, Ig, FNIII, C-terminal	LPHN3, Unc5

Tecniche di studio per le molecole di adesione sinaptica

Tecniche di guadagno di funzione (gain of function)

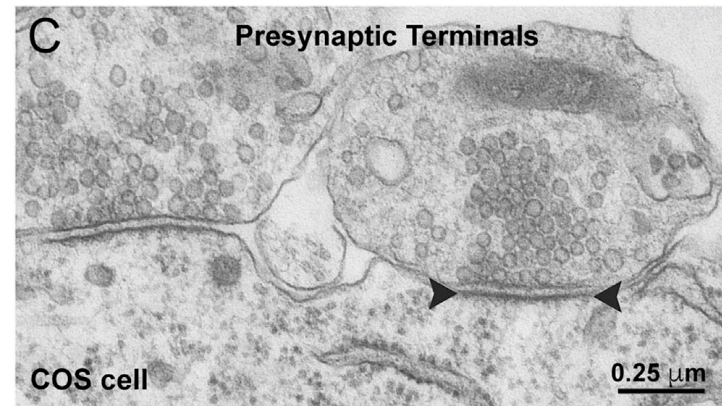
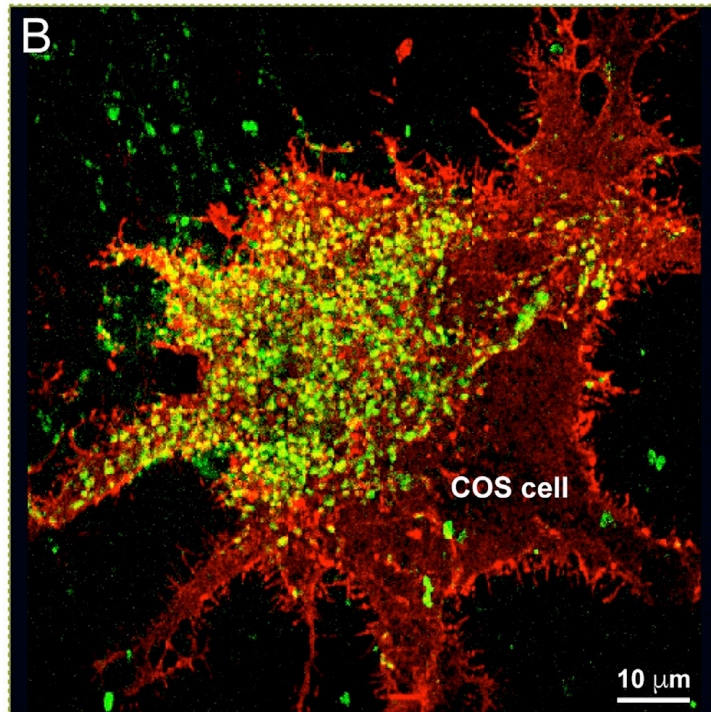
- Saggi di adesione cellulare (sopra-espressione della molecola in studio in cellule non-neuronali in coltura)
- Saggio di formazione di sinapsi artificiali (co-coltura di neuroni e cellule non-neuronali trasfettate)
- Saggio di trasfezione di neuroni

Tecniche di perdita di funzione (loss of function)

- RNA interference. Limitazione: knockdown inefficiente; redundancy; reazioni compensatorie
- Manipolazione genetica (animali transgenici), costitutiva o condizionale. Limitazioni per quella costitutiva: fenotipo di malformazione o morte embrionale
- Inibizione farmacologica. Limitazioni: mancanza d'inibitori per tutte le molecole sotto studio

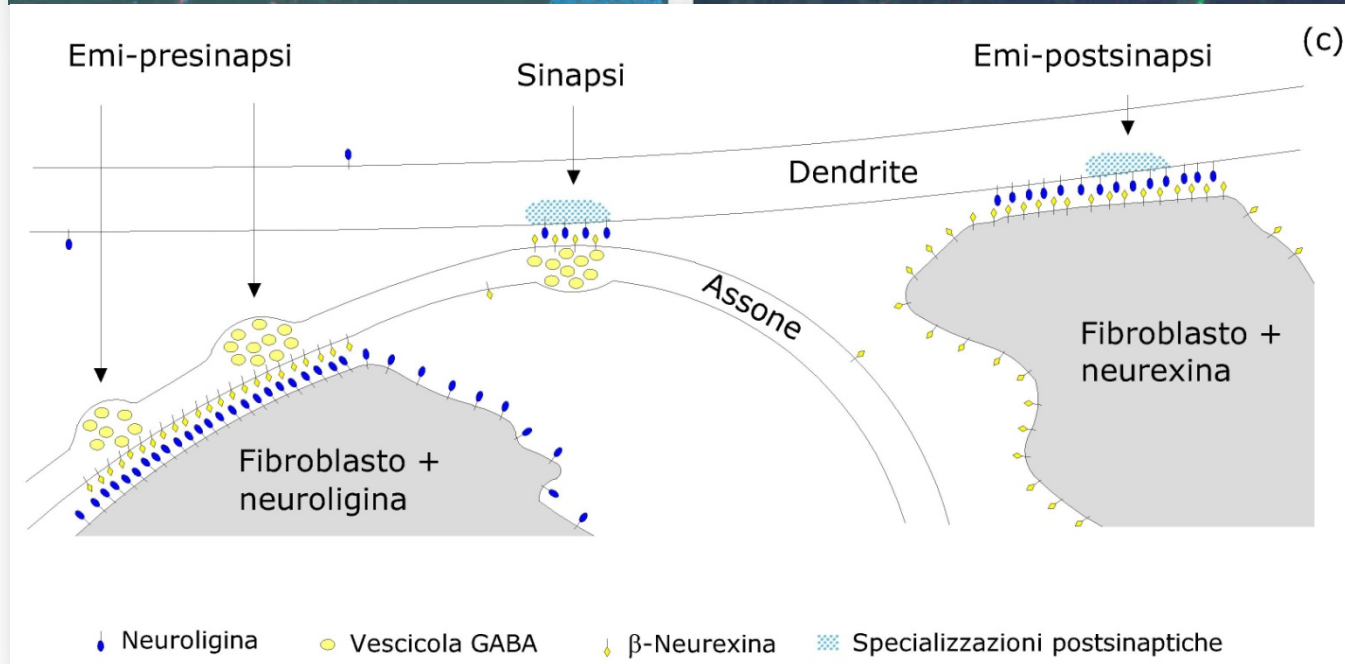
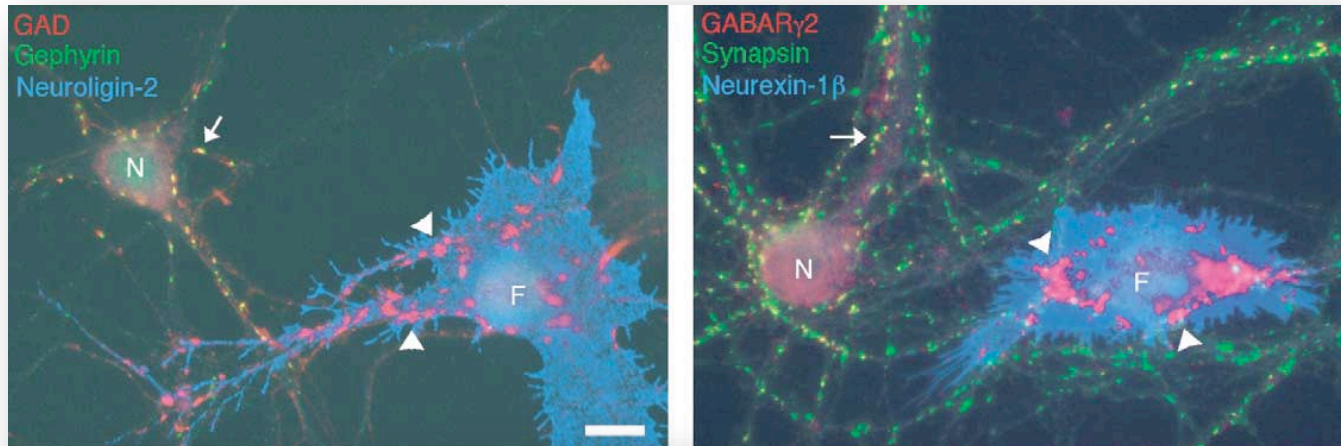
ESPERIMENTI DI STUDIO DI FUNZIONE PER CAMS

A	<i>Protein expressed in non-neuronal cell</i>	<i>Synaptic feature induced in co-cultured neuron</i>
	Neuroligins LRRTMs SALMs SliTrks SALMs	→ Presynaptic
	Neurexins Neur. pentraxin receptor Teneurins PTPRs	→ Postsynaptic



ESPRESSIONE ESOGENA DI NLGNs E NRXNs

“Saggio di formazione di sinapsi artificiali”



- Esperimenti di RNAi knockdown delle NLGNs correlano un decremento di NLGNs con un decremento nel numero di sinapsi (Chih et al., 2004).
- Overespressione di NLGN1 in neuroni in coltura aumenta il numero delle sinapsi eccitatorie mentre NLGN2 aumenta il numero delle sinapsi inibitorie (Chih et al., 2005).
- Overespressione di NLGN1 in neuroni in coltura aumenta il numero delle sinapsi eccitatorie e queste nuove sinapsi sono funzionali (capaci di evocare neurotrasmissione). NLGN1 e' selettiva per le sinapsi di tipo eccitatorio. Mentre NLGN2 incrementa il numero delle sinapsi inibitorie (Chubykin et al., 2007).

MOLECOLE DI ADESIONE E SINAPTOGENESI

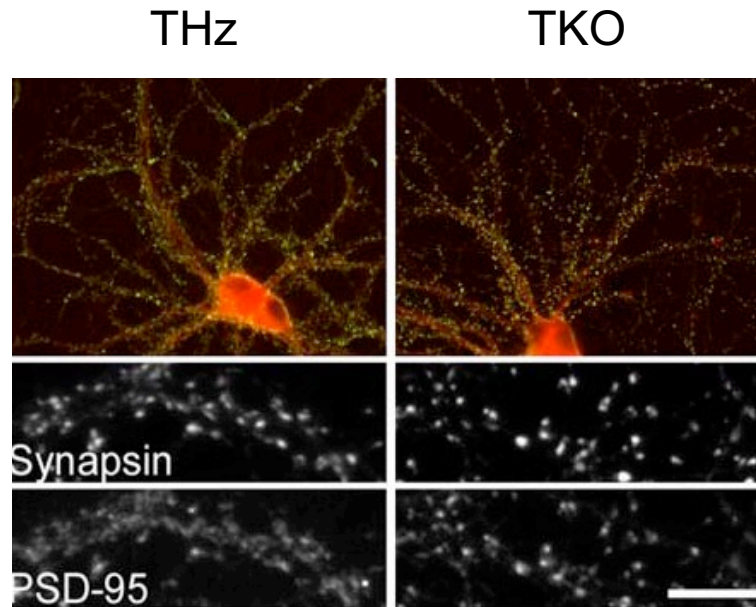
Table 1 | *In vitro* evidence for trans-synaptic signalling in synaptogenesis

SAM	Excitatory postsynaptic differentiation	Inhibitory postsynaptic differentiation	Presynaptic differentiation	Dendritic spine formation
Neurexins/ neuroligins	Direct association with PSD-95 via PDZ binding domain interactions ¹⁴ ; NMDARs recruited by neuroligin ^{17,20} , but mechanism unclear; AMPARs recruited in co-culture only in the presence of glutamate ²²	Recruitment of GABAR and gephyrin in co-culture ²⁰ ; fewer inhibitory synapses with neuroligin knockdown ¹⁷	Induced in co-culture ²¹ ; neurexin associates with CASK/MINT ^{15,16,25}	Induced with overexpression of neuroligins ¹⁷ ; mechanism unknown
EphBs/ ephrin-Bs	Direct extracellular domain interaction of EphB2 with NMDARs ⁴³ ; EphB2 also associates with AMPARs via PDZ binding domain interactions ^{46,50}	ND	Induced in co-culture and requires ephrin binding domain ⁵⁰ ; mechanism unknown	Induced by EphBs/ ephrin-Bs via multiple signalling pathways (Rho GEFs, syndecan, FAK) ^{44,49,51,53,54} . Fewer spines form with expression of EphB2 kinase inactive mutant ⁵¹
SynCAM	Direct association with PSD-95 via PDZ binding domain interactions ⁵⁷	ND	Induced in co-culture ⁵⁷ ; SynCAM binds CASK/MINT ⁵⁷	ND
SALM2	Direct association with PSD-95 via PDZ binding domain interactions ⁵⁹ ; AMPARs recruited in co-culture, but NMDARs less so ⁵⁹	ND	No induction in co-culture ⁵⁹ ; presynaptic ligand is unknown	Induced with overexpression ⁵⁹ ; mechanism unknown
NGL2	Direct association with PSD-95 via PDZ binding domain interactions ⁶⁰ ; NMDARs recruited in co-culture, but not AMPARs ⁶⁰	ND	Induced in co-culture and requires NGL2 extracellular domain ⁶⁰ ; mechanism unknown	Induced with overexpression of NGL2 via PSD-95-dependent and -independent mechanisms ⁶⁰
N-cadherin	Fewer clusters of PSD-95 with inhibition of cadherin signalling ⁷⁶ ; evidence for interaction with AMPARs ⁷⁸	ND	No induction in co-culture ⁸⁰ (but see <i>in vivo</i> evidence in TABLE 2)	Fewer spines with N-cadherin dominant-negative ⁷⁶ ; α -catenin stabilizes spines ⁸² ; p120 required for spine formation and maturation ⁸¹

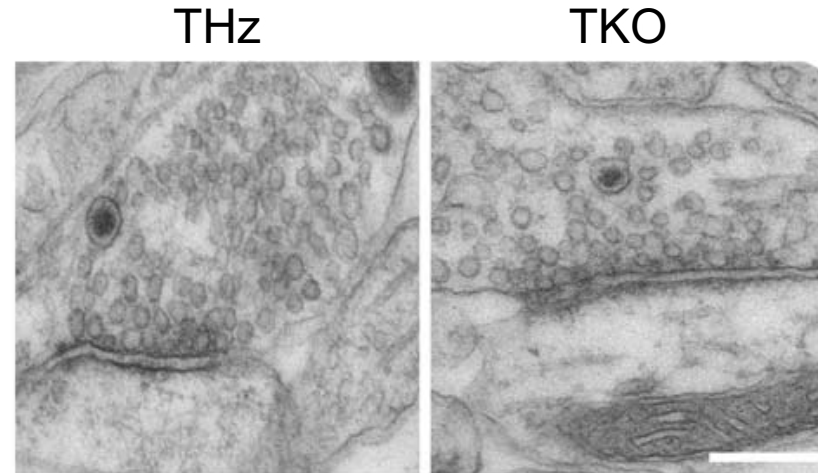
FUNZIONE: PROVE *IN VIVO*

THz: neuroni di controllo (tripli eterozigoti)

TKO: neuroni con triplo knockout per le NLGNs 1-3



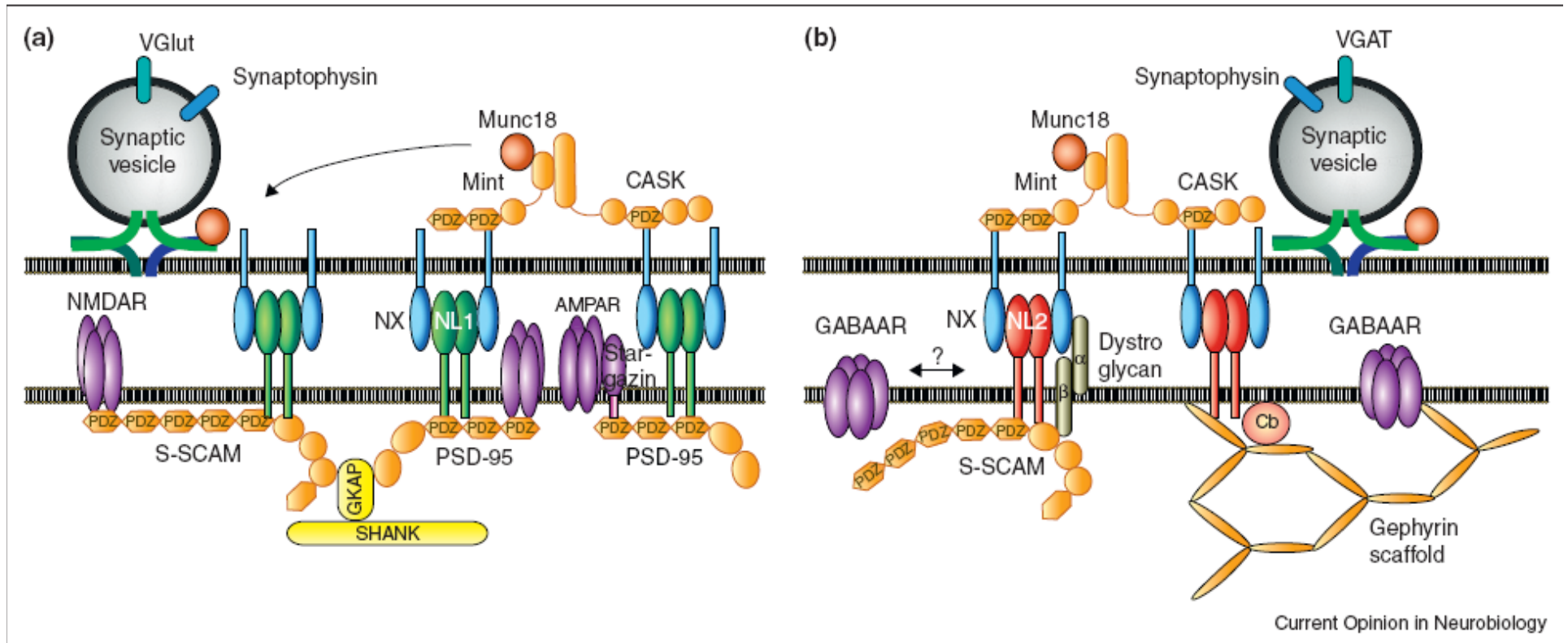
Sinapsina: marker presinaptico
PSD-95: marker postsinaptico



Espianti corticali
dopo 2 settimane in coltura

Topi KO per Neuroligine 1-3 muoiono per insufficienza respiratoria, ma il numero delle sinapsi e' normale ed anche la ultra struttura al microscopio elettronico

Proposed roles for the Neuroligins proteins



***In vitro* studies:**

Neuroligins and Neurexins may induce synapse formation

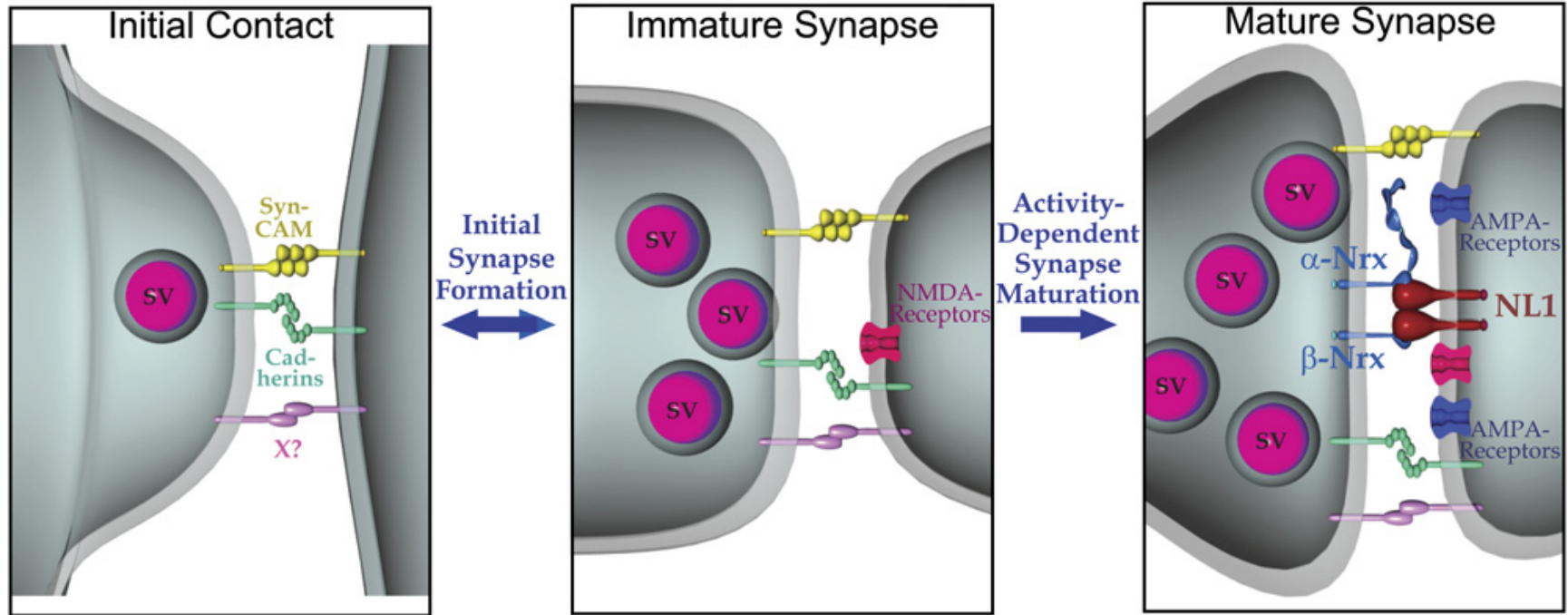
(Artificial synapse formation assay, Neuronal transfection assay)

Gene Knock out studies:

Neuroligins and Neurexins are essential for **synapse function**

Role in the specification and identity of synaptic connections

LA TEORIA CORRENTE



Contatti sinaptici iniziali coinvolgono diverse molecole di adesione che conferiscono specificità. La sinapsi immatura è funzionale ma ha bisogno di acquisire proprietà specifiche attraverso processi dipendenti dall'attività. Le neuropeptidi possono mediare la stabilizzazione dipendente dall'attività dei contatti sinaptici transienti. Neuropeptidi e neurexine non sono fondamentali per la formazione della sinapsi ma sono importanti per formazione di complessi sinaptici funzionali.