

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Biologie



Tomáš Knotek

Membránové vlastnosti NG2 gliových buněk v CNS

Membrane properties of NG2 glia in CNS

Bakalářská práce

Školitel: Ing. Miroslava Anděrová, CSc.

Praha, 2016

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 13. 05. 2016

Podpis:

Poděkování:

Rád bych poděkoval vedoucí mé bakalářské práce Ing. Miroslavě Anděrové, CSc. za vstřícnost, pomoc a cenné rady při řešení mé práce.

Abstrakt:

NG2 glie jsou typ gliových buněk v centrální nervové soustavě, jenž nepatří mezi astrocyty, oligodendrocyty ani mikroglie a k jejich identifikaci se nejčastěji používá chondroitin sulfát proteoglykan NG2. Tyto buňky si v dospělém mozku udržují schopnost proliferace a obecně se uznává, že z nich mohou vznikat oligodendrocyty. Tato práce se věnuje shrnutí membránových vlastností NG2 glií, které na své membráně exprimují řadu iontových kanálů a ionotropních i metabotropních receptorů. Vyskytují se u nich vně i dovnitř usměrněné napěťově řízené K^+ kanály, Ca^{2+} aktivované K^+ kanály a K^+ kanály tvořené dvěma póry. Kromě K^+ kanálů exprimují napěťově řízené Na^+ kanály, Ca^{2+} kanály typu T, L a P/Q a N a napěťově řízené Cl^- kanály. U NG2 glií byly identifikovány i nescifické kationtové kanály (HCN a TRP), a ve velké míře také exprimují Na^+/Ca^{2+} výměník. Na membráně NG2 glií se dále vyskytují ionotropní i metabotropní glutamátové a GABA receptory, nikotinové i muskarinové receptory, adrenergní a glycinové receptory, metabotropní i ionotropní purinergní receptory, receptory pro serotonin, dopamin a histamin. Významnou rolí iontových kanálů a receptorů zastoupených u NG2 glií je regulace jejich proliferace, diferenciaci a migrace.

Klíčová slova: NG2 glie, oligodendrocyty, iontové kanály, ionotropní a metabotropní receptory, membránové vlastnosti chondroitin sulfát proteoglykan

Abstract:

NG2 glia represent a new type of glial cells in central nervous system, which does not belong to astrocytes, oligodendrocyte or microglia. and their most frequent marker is chondroitine sulphate proteoglycan NG2. These cells keep their proliferation ability in adult brain and it is generally accepted that they can differentiate into oligodendrocytes. This thesis summarize the current knowledge about membrane properties of NG2 glia, namely expression of numerous types of ion channels and ionotropic and metabotropic receptor on their membrane. NG2 glia express outwardly and inwardly rectifying K⁺ channels, Ca²⁺ activated K⁺ channels and two-pore domain K⁺ channels. Interestingly, they also express voltage gated Na⁺ channels, L, T, P/Q and N type Ca²⁺ channels and voltage gated Cl⁻ channels. Furthermore, nonspecific cationic channels, such as HCN and TRP, were identified in NG2 glia and they express Na⁺/Ca²⁺ exchanger at high level. There are also ionotropic and metabotropic glutamate and GABA receptors on NG2 glia membrane, together with nicotinic and muscarinic receptors, adrenergic and glycine receptors, metabotropic and ionotropic purinergic receptors, receptors for serotonin, dopamine and histamine. Ion channels and receptors in NG2 glia play an important role in their proliferation, differentiation and migration.

Keywords: NG2 glia, polydendrocytes, ion channels, ionotropic and metabotropic receptors, chondroitin sulphate proteoglycan

Obsah

1. Seznam zkratek.....	1
2. Úvod	3
3. Obecné vlastnosti NG2 glií	3
3.1. Historie NG2 glií.....	3
3.2. Morfologie NG2 glií	4
3.3. Diferenční potenciál NG2 glií	4
3.4. Identifikace NG2 glií	6
4. Původ NG2 glií	7
5. Membránové vlastnosti NG2 glií	8
5.1. Pasivní membránové vlastnosti.....	8
5.2. Napětově řízené kanály	9
5.3. Další iontové kanály.....	14
5.4. Receptory pro neurotransmitery	14
5.4.1. Glutamátové receptory	14
5.4.2. Receptory pro GABA.....	17
5.4.3. Acetylcholinové receptory.....	18
5.4.4. Adrenergní receptory	19
5.4.5. Glycinové receptory	20
5.4.6. Purinergní receptory	20
5.4.7. Receptory pro serotonin	21
5.4.8. Receptory pro dopamin.....	22
5.4.9. Histaminové receptory	22
6. Závěr	22
7. Seznam literatury	23

1. Seznam zkratek

5HT – 5-hydroxytryptamin

A2B5 – gangliosid plasmatické membrány

AEP – Anteriorní ektopedunkulární oblast

AMPA – α -amino-3-hydroxy-5-metyl-4-isoxazolepropionová kyselina

AN2 – proteoglykan, myší homolog NG2 proteoglykanu

ATP – adenosintrifosfát

BDNF - brain derived neurotrophic factor, neurotrofní faktor odvozený od mozku,

BrdU – bromodeoxyuridin

cAMP – cyklický adenosinmonofosfát

CGE – kaudální gangliová eminence

CNP – 2',3' cyklický nukleotid 3'-fosfodiesteráza

CNS – centrální nervový systém

Cspg4 – chondroitinsulfát proteoglykan 4

E14 – čtrnáctý den embryonálního vývoje

EGFP – enhanced green fluorescent protein, zesílený zelený fluorescenční protein

ErbB – tyrozinkinázový receptor z rodiny receptorů epidermální růstového faktoru

EYFP – enhanced yellow fluorescent protein, zesílený žlutý fluorescenční protein

FCS – fetální telecí sérum

GABA – kyselina γ -aminomáselná

GC – galaktocerebrosid

GD3 – Marker oligodendrocytů

GFAP – Glial fibrillary acidic protein, gliový fibrilární acidický protein

GluR – Glutamátový receptor

HCN – hyperpolarizací aktivované cyklickým nukleotidem otevírané nespecifické kationtové kanály

K_{DR} – zpožděně usměřující K^+ kanál

K_{IR} – dovnitř usměřující K^+ kanál

LGE – laterální gangliová eminence

mAChR – muskarinový acetylcholinový receptor

MAPK – mitogenem aktivovaná protein kináza

MBP – myelin basic protein, zásaditý myelinový protein

MGE – mediální gangliová eminence

mGluR – metabotropní glutamátový receptor

mRNA – messenger RNA

nAChR – nikotinový acetylcholinový receptor

NG2 – nerve/glial antigen 2, nervový/gliální antigen 2

NKCC1 – Na⁺ K⁺ Cl⁻ kotransporter

Nkx6 – Homeobox protein

NMDA – N-methyl-D-asparagová kyselina

NPB – neurální progenitorové buňky

O2A – Oligodendrocyt, typ 2 astrocyt

O4 – Marker oligodendrocytů

Olig 1 – Marker prekurzorů oligodendrocytů

OPC – prekurzorová buňka oligodendrocytů

P1 – adenosinový receptor

P2X – ionotropní purinergní receptor

P2Y – metabotropní purinergní receptor

P5 – pátý den postnatálního vývoje

PDGFaR – platelet derived growth factor α receptor, receptoru pro růstový faktor

krevních destiček α

PI3K – fosfatidylinositol 3 kináza

PKB – proteinkináza B

RMP – resting membrane potential, klidový membránový potenciál

RNA – ribonukleová kyselina

RT-PCR – Reverse transcription polymerase chain reaction, polymerázové řetězové

reakce s reverzní transkripcí

Shh – sonic hedgehog

siRNA – small interfering RNA, malá interferující RNA

SVZ – subventrikulární zóna

TPD – two-pore domain, doména tvořená dvěma póry

TRP – transient receptor potential kanál

TTX – tetrodotoxin

YFP – yellow fluorescent protein, žlutý fluorescenční protein

2. Úvod

NG2 glie jsou novým typem gliových buněk, mezi které se tradičně řadí astrocyty, oligodendrocyty a mikroglie. První zmínky o NG2 gliích se objevují po roce 1980. NG2 glie získaly své jméno podle chondroitin sulfát proteoglykanu NG2, který exprimují a který se používá jako jeden z jejich specifických markerů. Nazývají se také polydendrocyty nebo synantocyty; pro subpopulaci buněk, která dává vznik oligodendrocytům, se používá označení prekursor oligodendrocytů, OPC (z anglického oligodendrocyte precursor cells). Funkce NG2 glií v centrálním nervovém systému (CNS) není dosud objasněna, současné poznatky ukazují, že se jedná o buňky schopné proliferace a diferenciaci, které se vyskytují v bílé i šedé hmotě, mohou diferencovat v oligodendrocyty a astrocyty a jsou schopné tvořit synapse s neurony. Na základě jejich schopnosti diferencovat i v jiné buněčné typy NG2 glie získávají na významu i díky své možné roli v regenerační medicíně.

Předkládaná bakalářská práce shrnuje základní vlastnosti NG2 glií a pojednává o jejich membránových vlastnostech.

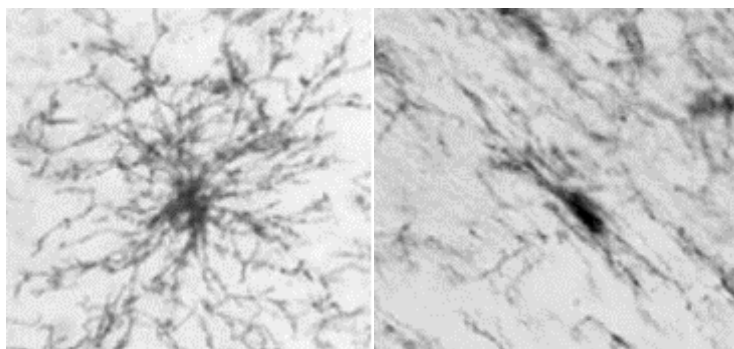
3. Obecné vlastnosti NG2 glií

3.1. Historie NG2 glií

První zmínka o NG2 gliích pochází z roku 1981. V nervové tkáni byly objeveny buňky, které exprimují nervový/gliální antigen 2 (NG2) proteoglykan (chondroitin sulfát proteoglykan 4, cspg4) a zároveň nenesou charakteristické znaky ostatních typů gliových buněk. Stallcup a spolupracovníci ukázali, že tyto buňky u 15 dní staré myši postrádaly gliální fibrilární acidický protein (GFAP), typický marker astrocytů, i galaktocerebrosid (GC), typický marker oligodendrocytů. Některé NG2 glie reagovaly na tetanus toxin, marker neuronů (William B. Stallcup 1981) a stejné buňky také vázaly A₂B₅ antigen (W B Stallcup and Beasley 1987). Na základě jejich kontaktu s neurony byly také nazývány synantocyty (Butt et al. 2002; Wigley and Butt 2009) a určitá subpopulace NG2 glií reprezentuje progenitory oligodendrocytů a astrocytů typu 2 (O2A) (Raff, Miller, and Noble 1983). Kromě přítomnosti NG2 proteoglykanu se tyto buňky vyznačují současnou přítomností receptoru pro růstový faktor krevních destiček (platelet derived growth factor α receptor, PDGF α R) (Hart et al. 1989; Dawson 2003). Početně tvoří NG2 glie 8-9 % z celkového počtu buněk v bílé hmotě a 2-3 % buněk v šedé hmotě (Dawson 2003).

3.2. Morfologie NG2 glií

Morfologicky se NG2 glie dospělého mozku liší v bílé a šedé hmotě. V šedé hmotě mají mnoho dlouhých výběžků, které se rozpínají do všech stran, zatímco v bílé hmotě mají prodloužená těla a jejich výběžky jsou souběžné s axony (A. Nishiyama et al. 1996). Své morfologické vlastnosti si udržují i během přirozené proliferace (Ge et al. 2009), avšak při proliferaci, která je navozená poškozením, se jejich tvar mění. První den po poškození jsou těla zvětšená a výběžky zbytnělé, sedmý den tvoří gliovou jizvu NG2 glie s krátkými výběžky. Původní morfologie je obnovena až 56 dní po poškození. Při použití elektronového mikroskopu se NG2 glie vyznačují světlým jádrem nepravidelného tvaru s vrstvou heterochromatinu pod jadernou membránou a cytoplazma je také světlejší. Tím se NG2 glie liší od oligodendrocytů a mikroglíí, které mají tmavší jádro i cytoplazmu. Od astrocytů se liší nepravidelným tvarem jádra, větší pravidelností buněčných těl a užšími mitochondriemi. Cisterny NG2 glií mají větší koncentraci ribosomů na vnějším povrchu a zároveň, u NG2 glií nejsou přítomná intermediální filamenta (Peters 2004).



Obr. 1: Morfologie NG2 glií v šedé (vlevo) a v bílé (vpravo) hmotě. Převzato z (Dawson 2003).

3.3. Diferenční potenciál NG2 glií

Už od svého objevu jsou NG2 glie spojené s diferenciací aktivitou. Pokud jsou kultivovány ve fetálním telecím séru (fetal cow serum, FCS), dávají vznik astrocytům druhého typu. Naopak v nepřítomnosti séra diferencují v oligodendrocyty (Raff, Williams, and Miller 1984). Schopnost NG2 glií tvořit oligodendrocyty byla opakovaně potvrzena (X. Zhu, Bergles, and Nishiyama 2007; Rivers et al. 2008) a tato schopnost se udržuje i v dospělosti, avšak s věkem klesá (Xiaoqin Zhu et al. 2011). Při navození demyelinizace bylo možné pozorovat rychlý nárůst množství NG2 glií v okolí poškození, zatímco ve vzdálenějších oblastech se míra proliferace neměnila. Dva týdny od navození poškození se počet NG2 glií v okolí začal snižovat, což naznačuje, že se diferencovaly v oligodendrocyty a podílely se tak na obnovení myelinizace (Keirstead, Levine, and Blakemore 1998). V oblasti

navozeného poškození byly pozorovány buňky pozitivní na NG2 i 2',3' cyklický nukleotid 3'-fosfodiesterázu (CNP), což může značit přechodový stav mezi polydendrocytem a oligodendrocytem (Reynolds et al. 2002). Diferenciace NG2 glií v oligodendrocyty byla pozorována i v nepřítomnosti poškození, např. v oblasti optického nervu u dospělého zvířete, kde se zřejmě podílí na remodelaci myelinové pochvy (Young et al. 2013). Na vzniku oligodendrocytů se mohou podílet i neurální progenitorové buňky (NPB). Myelinové pochvy odvozené od NG2 glií jsou tenčí než myelinové pochvy, které vznikají diferenciací NPB. Zároveň se tyto dva progenitory liší v zastoupení. Zatímco v rostrální oblasti corpus callosum převažuje vznik oligodendrocytů z NPB, v ostatních oblastech vznikají oligodendrocyty z NG2 glií (Xing et al. 2014).

Vznik astrocytů z NG2 glií je rozporuplný. Při použití NG2creBAC:Z/EG dvojité transgenické myši se ukázalo, že *in vitro* mohou v šedé hmotě vznikat protoplazmatické astrocyty z NG2 glií. Tyto astrocyty vykazovaly expresi reportérového zesíleného zeleného fluorescenčního proteinu (enhanced green fluorescent protein, EGFP), ale už ne NG2 proteoglykanu (X. Zhu, Bergles, and Nishiyama 2007). Při použití GFAP-EGFP reportéru a imunohistochemického značení NG2 se při kultivaci řezů objevovaly buňky pozitivní na NG2 i EGFP, a to i v nepřítomnosti FCS, což může značit přechodové stádium mezi NG2 glií a astrocytem (Leoni, Rattray, and Butt 2009). Zdá se, že *in vivo* dávají NG2 gliie vznik astrocytům pouze během embryonálního vývoje (Rivers et al. 2008; Xiaoqin Zhu et al. 2011).

Objevují se i práce, které popsaly vznik neuronů z NG2 glií, např. v piriformním kortexu byl pozorován vznik projekčních neuronů z těchto buněk (Rivers et al. 2008). *In vitro* jsou NG2 gliie schopné diferencovat v neurony, které generují akční potenciály a stejnou schopnost mají i *in vivo* v oblasti hippocampu. Zdá se tedy, že alespoň určitá subpopulace NG2 glií je schopna diferencovat v neurony (Shibeshih Belachew et al. 2003). *In situ* byl pozorován vznik neuronů z NG glií značených zesíleným žlutým fluorescenčním proteinem (enhanced yellow fluorescent protein, EYFP) v oblasti piriformního kortexu. Tyto neurony vykazovaly vlastnosti pyramidových neuronů a byly zřejmě integrované do funkčních okruhů (Guo et al. 2010). Nicméně, výsledky jiných výzkumných týmů zaměřené na sledování buněčného osudu těchto buněk možnost vzniku neuronů z NG2 glií nepotvrdily (Xiaoqin Zhu et al. 2011). Zkoumání vlastností NG2 glií v oblasti subventrikulární zóny (SVZ) také nepotvrdilo schopnost těchto buněk tvořit neurony a ukázalo, že tvoří velmi malou část proliferujících buněk v této oblasti. To naznačuje, že NG2 gliie v SVZ se liší od buněk, které dávají vznik neuronům (Komitova et al. 2009).

3.4. Identifikace NG2 glií

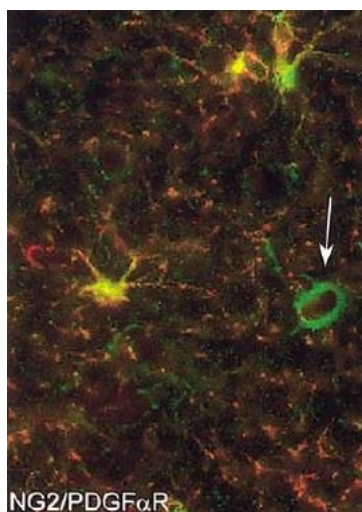
Identifikace NG2 glií probíhá na základě přítomnosti několika molekul. Hlavní z nich je proteoglykan NG2, podle kterého dostaly tyto glie své jméno. NG2 ale není exprimován výhradně v NG2 gliích. Vyskytuje se i v kardiomyocytech, hladké svalovině cév a v pericytech (Ozerdem et al. 2001). Při navozeném zranění může být exprimován i makrofágy (Bu, Akhtar, and Nishiyama 2001).

NG2 proteoglykan je protein o celkové délce 2325 aminokyselin. Je složen z dlouhé extracelulární domény, jedné transmembránové domény a krátké intracelulární domény. Molekulární hmotnost NG2 proteoglykanu je 251 kDa (Akiko Nishiyama et al. 1991). Proteoglykan má různé funkce, může přenášet signál k reorganizaci cytoskeletu (Fang et al. 1999), má schopnost vázat kolagen V a VI a jeho interakce s kolagenem VI hraje roli v tvorbě aktinových lamellipodií (Tillet et al. 2002). Pravděpodobně se podílí i na komunikaci s neurony, u kterých hraje roli v modulaci dlouhodobé potenciace NMDA (N-methyl-D-asparagová kyselina) receptorů (Sakry et al. 2014).

Dalším výrazným identifikačním znakem NG2 glií je přítomnost PDGF α R, který reaguje na růstový faktor odvozený z krevních destiček s řetězcí AA, BB i AB (Hart et al. 1989). PDGF α R se v buňkách vyskytuje vzájemně s O4 a G_{D3}, tj. markery oligodendrocytů, avšak nevyskytuje se současně s GC, který značí dospělé oligodendrocyty. Vyskytuje se tedy na prekurzorech oligodendrocytů (Ellison and de Vellis 1994). Buňky nesoucí PDGF α R jsou zároveň pozitivní na NG2 proteoglykan (A. Nishiyama et al. 1996).

NG2 glie jsou zároveň pozitivní na A₂B₅ antigen. Takto značené buňky jsou z 95 % pozitivní na přítomnost NG2, proto je možné používat k identifikaci NG2 glií i značení pomocí A₂B₅ (W B Stallcup and Beasley 1987).

Ke značení NG2 glií se používají kromě imunohistochemických metod také transgenní myši, u kterých je gen pro fluorescenční protein vložen do kódující oblasti genu pro marker NG2 glie. V případě (X. Zhu, Bergles, and Nishiyama 2007) do exonu genu *ng2*. Jiným způsobem je použití Cre rekombinázy (Rivers et al. 2008), kdy byla použita transgenní myš *Pdgfra-creER^{T2}/Rosa26-YFP*, která má v kódující oblasti genu *Pdgfar* vloženou Cre rekombinázu. Ta spouští rekombinaci v oblasti Rosa26, ve které je gen pro *YFP*.



Obr. 2: Imunofluorescenčně značené NG2 glie, zeleně protilátkou k proteoglykanu, červeně protilátkou k PDGF α R. Šipka označuje cévu pozitivní na NG2 ale ne na PDGF α R. Převzato z (Dawson 2003).

4. Původ NG2 glií

K určení přítomnosti prekurzorových buněk oligodendrocytů byly sledovány buňky exprimující *PDGF α R* v embryonální páteřní míše. První PDGF α R⁺ buňky se objevily v bazální oblasti ventrikulární zóny v čtrnáctém dni embryonálního vývoje (E14). Jednalo se o dvě sousedící buňky, jejichž počet během vývoje narůstal. V E18 byly již buňky exprimující *PDGF α R* rozmístěné rovnoměrně celou míchou (Pringle and Richardson 1993). Dalším markerem prekurzorových buněk oligodendrocytů jsou *Olig1* a *Olig2*. Jejich exprese předchází expresi *PDGF α R*. Už v E12,5 lze pozorovat migraci Olig⁺ buněk laterálně a dorzálně v neurální trubici. Exprese *Olig* ve vyvíjejícím se CNS je závislá na působení morfogenu Sonic hedgehog (Shh) (Lu et al. 2000), který je přítomen ve ventrální ventrikulární zóně dříve než první prekurzory oligodendrocytů a v jeho nepřítomnosti prekurzorové buňky nevznikají. Pro proliferaci již vzniklých NG2 glií není již přítomnost tohoto morfogenu nutná (Orentas et al. 1999). K vývoji prekurzorových buněk oligodendrocytů dochází i v dorzální oblasti páteřní míchy, kde není jejich vývoj závislý na signalizaci Nkx6 a Shh (Vallstedt, Klos, and Ericson 2005).

V mozku se první *PDGF α R* exprimující buňky objevují v rozmezí E12-E14 v dorzální a ventrální polovině diencefalonu. Prekurzorem oligodendrocytů jsou pravděpodobně jen buňky ve ventrální části. V předním mozku se *PDGF α R* exprimuje ve ventrální části v E15 (Pringle and Richardson 1993). V mozku dochází ke korelaci v expresi *PDGF α R*, *Olig2*, *Nkx2.1* a *Shh*. *Shh* je exprimováno v mediální gangliové eminenci (MGE) a podílí se na vývoji oligodendrocytů (Nery, Wichterle, and Fishell 2001). Při sledování buněčného osudu

se první prekuzory oligodendrocytů objevovaly v E11,5-E12,5 v MGE a v anteriorní ektopedunkulární oblasti (AEP) a postupně migrovaly z ventrální oblasti dorzálně. V E15 se objevovaly v oblasti laterální a kaudální gangliové eminence (LGE a CGE) a postnatálně v kortexu. První populační vlna během vývoje vymizí (Kessaris et al. 2006).

V dospělosti je hlavním zdrojem NG2 glií SVZ, kde dochází k proliferaci NG2 glií a jejich migraci (Aguirre and Gallo 2007). Větší míra oligodendrogliogeneze v SVZ je v její dorzální oblasti (Ortega et al. 2013).

NG2 glie vznikají během ontogeneze také z radiálních glií. Buňky značené na myši homolog NG2 proteoglykanu AN2 zároveň exprimovaly *NG2* a *PDGF α R* a nacházely se během vývoje v E13-E16 v páteřní míše v těsné blízkosti radiálních glií. V E15 byla těsná blízkost těchto dvou buněčných typů pozorována i v předním mozku (Diers-Fenger et al. 2001). V oblasti gangliových eminencí byl pozorován vznik AN2 buněk z radiálních glií (Malatesta et al. 2003). Při sledování vývoje radiálních glií byl pozorován vznik NG2 glií a oligodendrocytů v kortexu a subkortikální bílé hmotě (Ventura and Goldman 2007).

5. Membránové vlastnosti NG2 glií

5.1. Pasivní membránové vlastnosti

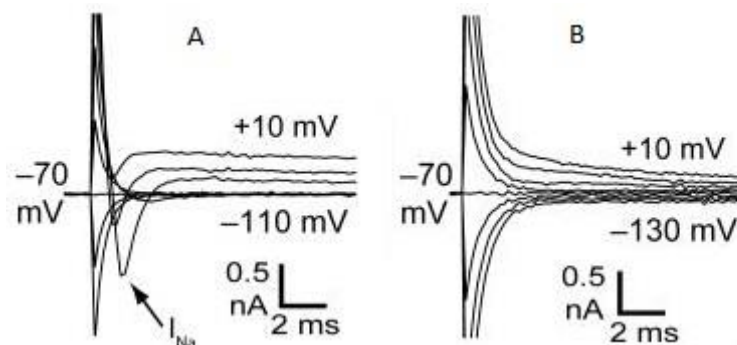
Klidový membránový potenciál (resting membrane potential, RMP) NG2 glií v tkáňových řezech se liší v závislosti na stáří organismu a na oblasti CNS (Clarke et al. 2012; Chittajallu, Aguirre, and Gallo 2004). V bílé hmotě nabývá hodnoty -70 ± 5 mV (Chittajallu, Aguirre, and Gallo 2004), v šedé hmotě se pohybuje v rozmezí od -68 ± 5 mV (P5-P8) (Kukley et al. 2008) až do $-94 \pm 3,8$ mV (P9) (Clarke et al. 2012). Elektrická kapacita membrány se pohybuje v rozmezí od $20 \pm 1,3$ pF (De Biase, Nishiyama, and Bergles 2010) do 40 ± 1 pF (Chittajallu, Aguirre, and Gallo 2004), vstupní odpor NG2 glií je v rozmezí od 193 ± 157 M Ω (Haberlandt et al. 2011) do 869 ± 220 M Ω (Kukley et al. 2008).

Při zablokování sodíkových kanálů 100 nM tetrodotoxinem (TTX) došlo k depolarizaci membrány NG2 glií, tj. k poklesu RMP o 15,5 mV a při aplikaci 200 nM TTX byl tento pokles ještě vyšší, což naznačuje roli Na⁺ kanálů v udržování hodnoty RMP. Propustnost NG2 glií pro Na⁺ je třikrát vyšší než u astrocytů (Xie, Lynch, and Schools 2007). Sekvenování ribonukleové kyseliny (RNA) podíl Na⁺ kanálů na RMP potvrdilo, ukázalo expresi *Nalcn*, což je gen pro neselektivní Na⁺ kanál (Zhang et al. 2014).

Roli K⁺ kanálů v udržování RMP naznačuje jeho hodnota, která se blíží rovnovážné konstantě pro K⁺ (Xie, Lynch, and Schools 2007). Delece dovnitř usměrněných K⁺ kanálů

(inward rectifying, K_{ir}) $K_{ir4.1}$ u gliových buněk, z nichž část vykazuje expresi NG2, způsobila výraznou depolarizaci, která poukazuje na možnou přítomnost tohoto typu K^+ kanálu u NG2 glií. Při zablokování K^+ kanálů pomocí $100 \mu\text{M Ba}^{2+}$ došlo k úplnému zastavení dovnitř směřovaných proudů a k depolarizaci, což potvrzuje roli K_{ir} kanálů v udržování RMP (Djukic et al. 2007). RNA-sekvenování ukázalo vysokou expresi *Kcnj10* u NG2 glií, což potvrzuje, že $K_{ir4.1}$ je u těchto buněk přítomný (Zhang et al. 2014). $K_{ir4.1}$ ale nehraje roli pouze v udržování klidového membránového potenciálu, funguje také jako senzor koncentrace K^+ v okolí buňky. Tato funkce NG2 gliím umožňuje komunikaci s neurony, která není závislá na neurotransmiterech, ale změně koncentrace K^+ , ke které dochází při generování akčního potenciálu neuronů (Maldonado et al. 2013).

Při snížení koncentrace Cl^- v elektrodě na 6 mM se ukázalo, že RMP neprochází žádnou výraznou změnou, přestože elektrický potenciál pro Cl^- by při takovém snížení měl klesnout na -82 mV. To naznačuje, že toky chloridových iontů se na RMP podílejí jen zanedbatelně (Xie, Lynch, and Schools 2007).



Obr. 3: NG2 glie s Na^+ proudy (A) a bez nich (B). Převzato z (Káradóttir et al. 2008).

5.2. Napěťově řízené kanály

U NG2 glií lze pozorovat proudy citlivé na TTX, které vznikají při depolarizaci, z čehož vyplývá, že tyto buňky mají na svém povrchu napěťově řízené Na^+ kanály. Ty se vyskytují v šedé i bílé hmotě v dospělém i vyvíjejícím se mozku (De Biase, Nishiyama, and Bergles 2010; Káradóttir et al. 2008). Některé výzkumy ukázaly přítomnost Na^+ napěťově řízených kanálů přibližně u poloviny NG2 glií (Káradóttir et al. 2008), zatímco z jiných prací vyplývá, že je mají všechny NG2 glie (De Biase, Nishiyama, and Bergles 2010). Poměr elektrické vodivosti pro Na^+ a pro K^+ se během vývoje zvyšuje, což ukazuje na vyšší množství Na^+ kanálů v membráně NG2 glií v dospělém mozku (Peng-hui Chen et al. 2008). Při diferenciaci NG2 glií v oligodendrocyty se zastoupení Na^+ kanálů v cytoplazmatické membráně těchto buněk snižuje (De Biase, Nishiyama, and Bergles 2010). Hodnota IC_{50} pro TTX vypovídá o

tom, že na povrchu NG2 glií je pravděpodobně několik různých izoform Na^+ napěťově řízených kanálů (Xie, Lynch, and Schools 2007), což potvrdila i analýza pomocí genových čipů. Z té vyplývá, že NG2 glie exprimují *Scn3b* (napěťově řízený Na^+ kanál typu III, β podjednotka), *Scn2a1* (typ II, α), *Scn8a* (typ VIII, α), *Scn3a* (typ III, α), *Scn1a* (typ I, α), *Scn2b* (typ II, β) a *Scn1b* (typ I, β) (Cahoy et al. 2008). Takové zastoupení genů potvrdila i data z transkriptomu NG2 glií získaná RNA-sekvenováním (Zhang et al. 2014).

Přítomnost napěťově řízených Na^+ kanálů naznačuje možnost tvořit akční potenciál, což se pro některé oblasti mozku potvrdilo. Ukázalo se, že některé NG2 glie v mozkové kůře jsou schopny reagovat na depolarizaci tvorbou jednotlivých hrotů, jejichž hodnoty se pohybují od 0 mV výš (Chittajallu, Aguirre, and Gallo 2004). Ve zrakové kůře může část NG2 glií tvořit akční potenciál a tuto schopnost si udržuje i během dělení. Prahová hodnota nutná k vyvolání akčního potenciálu je ale vyšší (-30 mV) než u neuronů (Ge et al. 2009). V corpus callosum v raných fázích vývoje (P5-P8) se u malého množství NG2 glií také vyskytuje schopnost tvořit jednotlivé hroty, ale vysoká prahová hodnota (-22 ± 1 mV) a nízká amplituda, která nedosáhla hodnoty 0 mV, neodpovídají definici pro akční potenciál (De Biase, Nishiyama, and Bergles 2010).

Z charakteru vně usměrněných K^+ proudů se dá usoudit, že se v NG2 gliích vyskytují alespoň dva typy K^+ proudů, které se objevují až při depolarizaci (Anna V Williamson, Compston, and Randall 1997). NG2 glie v bílé i šedé hmotě exprimují zpožděné vně usměrněné napěťově závislé K^+ kanály (delayed rectifier, K_{DR}), které způsobují proudy s pomalou aktivací. Jejich zastoupení je vyšší na membránách NG2 glií v bílé hmotě. Reakce kanálů na testovací napěťové pulzy se lišila, což naznačuje, že se napěťově řízené K^+ kanály NG2 glií v bílé a šedé hmotě liší ve složení podjednotek. Kromě K_{DR} byla zjištěna i přítomnost draslíkového kanálu typu A (K_{A}), který byl u obou typů NG2 glií zastoupený stejně a odpovídá proudům s rychlou aktivací (Chittajallu, Aguirre, and Gallo 2004; Peng-hui Chen et al. 2008; Penghui Chen et al. 2015). Ukázala se i změna proudů po použití specifického blokátoru Ca^{2+} aktivovaných K^+ kanálů, proud K^+ se navíc mění i při snížení koncentrace Ca^{2+} v pipetě, což ukazuje na přítomnost tohoto typu kanálů (Barres et al. 1990). Pomocí polymerázové řetězové reakce s reverzní transkripcí (RT-PCR) byla zjištěna schopnost prekursorů oligodendrocytů exprimovat napěťově řízené K^+ kanály z rodiny *shaker* (Kv1), a to konkrétně Kv1.2 , Kv1.3 , Kv1.4 , Kv1.5 , Kv1.6 . Kanály Kv1.3 a Kv1.4 byly zastoupeny v menším množství. S použitím protilátek specifických pro jednotlivé kanály se zjistilo, že na povrchu buňky jsou přítomny jen Kv1.4 , Kv1.5 a Kv1.6 . Při změnění proudů za použití specifických blokátorů pro jednotlivé typy kanálů se ukázalo, že jediný homomerní

kanál je Kv1.5, ostatní kanály se vyskytují ve formě heteromerů; pravděpodobně se jedná o kombinace Kv1.4/Kv1.6, Kv1.5/Kv1.6 a Kv1.4/Kv1.5/Kv1.6 (Schmidt et al. 1999). Metoda genových čipů potvrdila přítomnost kanálů Kv1.4, Kv1.5 a Kv1.6, zároveň ale odhalila vysokou expresi *Kcna1*, genu pro Kv1.1. Kromě kanálů z rodiny *shaker* tato metoda detekovala expresi genů *Kcnd1*, *Kcnd2* a *Kcnd3*, které kódují K⁺ kanály typu A Kv4.1, Kv4.2 a Kv4.3, genů pro Ca²⁺ aktivované kanály K_{Ca}1.1 (BK), K_{Ca}2.1, K_{Ca}2.2, K_{Ca}4.1, K_{Ca}4.2 a K_{Ca}5.1. Dále byly detekovány kanály tvořené dvěma póry (TPD) K2p1.1, K2p2.1, K2p31 a K2p6.1 a kanály Kv2.1, Kv3.1, Kv3.2, Kv5.1, Kv7.1, Kv7.2, Kv7.3, Kv11.1 a Kv12.1 (Cahoy et al. 2008). Přítomnost kanálů typu BK se ukázala i při použití specifických blokátorů a imunocytochemického značení (Buttigieg et al. 2011). S výjimkou Kv1.4, Kv1.5, Kv7.1, K2p3.1 a K_{Ca}5.1 byla exprese těchto kanálů potvrzena i RNA-sekvenováním. Použitím této metody se navíc ukázala exprese genů pro Kv1.2 a Kv1.3 z rodiny *shaker*, TPD kanály K2p10.1, K2p12.1, K2p13.1, Ca²⁺ aktivovaný K⁺ kanál K_{Ca}2.3 a kanály Kv2.1, Kv3.3, Kv3.4, Kv6.3, Kv7.4, K10.2, Kv12.2, Kv12.3 a Mirp3 (Zhang et al. 2014). Pro přehlednost jsou výsledky shrnuty v tabulce 1, 2 a 3.

Typ kanálu	Metoda				
	RT-PCR	Protilátky	Blokátory	Genové čipy	RNA-seq
Kv1.1	x	x	x	Cahoy	Zhang
Kv1.2	Schmidt	x	x	x	Zhang
Kv1.3	Schmidt	x	x	x	Zhang
Kv1.4	Schmidt	Schmidt	x	Cahoy	x
Kv1.5	Schmidt	Schmidt	x	Cahoy	x
Kv1.6	Schmidt	Schmidt	x	Cahoy	Zhang
Kv2.1	x	x	x	Cahoy	Zhang
Kv3.1	x	x	x	Cahoy	Zhang
Kv3.2	x	x	x	Cahoy	Zhang
Kv3.3	x	x	x	x	Zhang
Kv3.4	x	x	x	x	Zhang
Kv4.1	x	x	x	Cahoy	Zhang
Kv4.2	x	x	x	Cahoy	Zhang
Kv4.3	x	x	x	Cahoy	Zhang
Kv5.1	x	x	x	Cahoy	Zhang
Kv6.3	x	x	x	x	Zhang
Kv7.1	x	x	x	Cahoy	x
Kv7.2	x	x	x	Cahoy	Zhang

Tabulka 1: Zastoupení K⁺ kanálů Kv u NG2 glií (Kv1.1 – Kv7.2) (Schmidt et al. 1999; Cahoy et al. 2008; Zhang et al. 2014)

Typ kanálu	Metoda				
	RT-PCR	Protilátky	Blokátory	Genové čipy	RNA-seq
Kv7.3	x	x	x	Cahoy	Zhang
Kv7.4	x	x	x	x	Zhang
Kv10.2	x	x	x	x	Zhang
Kv11.1	x	x	x	Cahoy	Zhang
Kv12.1	x	x	x	Cahoy	Zhang
Kv12.2	x	x	x	x	Zhang
Kv12.3	x	x	x	x	Zhang

Tabulka 2: Zastoupení K⁺ kanálů Kv u NG2 glií (Kv7.3-Kv12.3) (Buttigieg et al. 2011; Cahoy et al. 2008; Zhang et al. 2014)

Typ kanálu	Metoda				
	RT-PCR	Protilátky	Blokátory	Genové čipy	RNA-seq
Kca1.1	x	Buttigieg	Buttigieg	Cahoy	Zhang
KCa2.1	x	x	x	Cahoy	Zhang
KCa2.2	x	x	x	Cahoy	Zhang
KCa2.3	x	x	x	x	Zhang
KCa4.1	x	x	x	Cahoy	Zhang
KCa4.2	x	x	x	Cahoy	Zhang
KCa5.1	x	x	x	Cahoy	x
K2p2.1	x	x	x	Cahoy	Zhang
K2p1.1	x	x	x	Cahoy	Zhang
K2p3.1	x	x	x	Cahoy	x
K2p6.1	x	x	x	Cahoy	Zhang
K2p10.1	x	x	x	x	Zhang
K2p12.1	x	x	x	x	Zhang
K2p13.1	x	x	x	x	Zhang
Mirp3	x	x	x	x	Zhang

Tabulka 3: Zastoupení K⁺ kanálů typu KCa, K2p a Mirp (Buttigieg et al. 2011; Cahoy et al. 2008; Zhang et al. 2014).

Draslíkové kanály mají významný vliv na chování buněk. Ven směřující proud K⁺ má zřejmě vliv na proliferaci NG2 glií a je ovlivňován vnitrobuněčnými koncentracemi Na⁺ (Knutson et al. 1997). Při přechodu buněk do G₁ fáze dochází ke zvýšené expresi vně usměrněných K⁺ kanálů, jmenovitě Kv1.3 a Kv1.5. Blokování jejich zvýšené exprese mělo za následek zastavení buněčného cyklu v G₁ fázi (Chittajallu et al. 2002). Zvýšená exprese Kv1.3 a Kv1.4 podporuje proliferaci v nepřítomnosti mitogenu, zatímco zvýšená exprese Kv1.6 inhibuje mitogenem spuštěnou proliferaci. Kv1.6 také zamezuje efektu PDGF a Kv1.4 na proliferaci a částečně inhibuje vliv Kv1.3. Tyto podjednotky ale nemají vliv na diferenciaci

NG2 glií v oligodendrocyty. Podjednotka Kv1.5 nemá vliv na proliferaci buněk v přítomnosti mitogenu, ani v jeho nepřítomnosti (Vautier et al. 2004).

Při zablokování K^+ kanálů a použití extracelulárního roztoku, který postrádá Na^+ ionty, byly zaznamenány dovnitř usměrněné proudy, které přetrvaly i v přítomnosti TTX, což naznačuje přítomnost proudů Ca^{2+} v NG2 gliích, jejich aktivita však klesá s maturací (Blankenfeld, Verkhratsky, and Kettenmann 1992). Při snížení koncentrace Ca^{2+} v extracelulárním roztoku se snížila i odpověď na draslíkovou depolarizaci, což naznačuje, že vápník vstupuje do buňky přes její cytoplazmatickou membránu (Kirischuk et al. 1995).

V NG2 gliích lze pozorovat dva typy Ca^{2+} proudů, které se liší odpovědí na depolarizaci (Blankenfeld, Verkhratsky, and Kettenmann 1992). Při mírné draslíkové depolarizaci (20 mM K^+ , což odpovídá depolarizaci o 35 mV) došlo k aktivaci Ca^{2+} napětově ovládaných kanálů ve výběžcích, ale ne v tělech buněk. Při dalším zvýšení extracelulární koncentrace K^+ se ve výběžcích odpověď snižovala, zatímco v tělech buněk docházelo k odpovědi až při 50 mM [K^+] (55 mV). Zároveň docházelo ke snížení odpovědi ve výběžcích při použití antagonisty pro Ca^{2+} kanály, které jsou aktivovány nízkým napětím (Kirischuk et al. 1995). Nízkým napětím aktivované proudy Ca^{2+} jsou citlivé na Ni^{2+} , což ukazuje, že se na těchto proudech podílí kanály typu T. Proud, který se aktivoval až při vyšším napětí, vykazuje citlivost na nifedipin, čímž se ukazuje, že na tvorbě těchto proudů se podílí vápníkové kanály typu L (D. Fulton et al. 2010). Pomocí RT-PCR se zjistila přítomnost mRNA pro $Ca_v1.2$ a $Ca_v1.3$ izoformy kanálu typu L, $Ca_v3.1$ a $Ca_v3.2$ izoformy kanálů typu T a v menší míře i transkripty $Ca_v2.1$ a $Ca_v2.2$ pro P/Q a N typy kanálů (Haberlandt et al. 2011). Metoda genových čipů potvrdila přítomnost těchto kanálů, s výjimkou $Ca_v2.1$. Ukázala navíc přítomnost genů pro podjednotky $\alpha2/\delta1$, $\alpha2/\delta3$, β 1-4 a γ 4 a 5 (Cahoy et al. 2008). RNA-sekvenování se s metodou genových čipů na přítomnosti těchto kanálů shoduje, navíc potvrzuje i přítomnost $Ca_v2.1$. Kromě těchto kanálů se touto metodou zjistila přítomnost mRNA pro $Ca_v2.3$ a pro podjednotky $\alpha2/\delta2$ a γ 3, 7 a 8 (Zhang et al. 2014).

Při zablokování kanálů typu L došlo k zabránění diferenciaci NG2 glií v dospělé oligodendrocyty. Hlavní roli v diferenciaci mají $Ca_v1.2$ kanály. Při zablokování tvorby $Ca_v1.2$ kanálů pomocí siRNA navíc docházelo k prodloužení buněčného cyklu a to i v přítomnosti růstových faktorů. Zároveň docházelo k úplnému zastavení proliferace některých buněk. $Ca_v1.2$ má vliv i na tvorbu proteinů souvisejících s myelinizací (Cheli et al. 2015). Při blokaci napětově senzitivních kanálů za přítomnosti proteinu golli docházelo k potlačení tvorby výběžků, což naznačuje roli spolupráce golli a těchto kanálů v růstu výběžků (P. M. Paez et al. 2007). Tato spolupráce má vliv i na pohyblivost NG2 glií a jejich migraci (P M Paez et al.

2009). Protein golli také spolupracuje s napětově ovládanými Ca^{2+} kanály při navození buněčné smrti v nepřítomnosti mitogenu (Pablo M Paez et al. 2009).

Při sledování proudů v NG2 gliích byla zaznamenána složka, která nereaguje na specifické blokátory pro K^+ , Ca^{2+} ani Na^+ kanály. Jedná se o proud Cl^- iontů, který je napětově závislý (Anna V Williamson, Compston, and Randall 1997). Při delecí genu pro Clc-2 nastala absence hyperpolarizací aktivovaného chloridového proudu v komplexních astrocytech (Makara et al. 2003). Genové čipy ukázaly přítomnost Clc-2, Clc-3, Clc-4, Clc-5, Clc-6 a Clc-7 (Cahoy et al. 2008), což potvrdilo i RNA-sekvenování (Zhang et al. 2014). Při absenci genů pro kanál Clc-2 dochází k tvorbě vakuol v myelinu, zdá se, že tento kanál má tedy důležitou roli v myelinizaci (Blanz et al. 2007).

5.3. Další iontové kanály

Kromě výše zmíněných iontových kanálů vykazují NG2 glie přítomnost dalších kanálů, které nepatří mezi klasické napětově ovládané kanály, ani mezi kanály ovládané ligandem. Dochází u nich k expresi genů *Hcn2* a *Hcn3*, které kódují hyperpolarizací aktivované cyklickým nukleotidem otevírané nespecifické kationtové kanály (HCN) (Cahoy et al. 2008; Zhang et al. 2014), NG2 glie ale nevykazovaly přítomnost těchto kanálů při histochemickém značení (Notomi and Shigemoto 2004). NG2 glie obsahují také mRNA pro kanály typu transient receptor potential (TRP) *Trpc1*, *Trpc2*, *Trpc3*, *Trpc4ap*, *Trpm2*, *Trpm3*, *Trpm4*, *Trpm7*, *Trpv2* (Cahoy et al. 2008; Zhang et al. 2014). Pomocí RT-PCR se ukázala přítomnost mRNA pro TRPC1-6 (Pablo M Paez et al. 2011). Přítomnost *Trpc1* lze určit i pomocí imunoznačení (Weerth, Holtzclaw, and Russell 2007), TRPC3 byl touto metodou určen zatím jen v oligodendrocytech (Fusco et al. 2004). TRPC1 kanál má funkci spojenou s vychytáváním Ca^{2+} v buňce a tato funkce je spojena s proteinem golli (Pablo M Paez et al. 2011). Protilátkovým značením se ukázala i přítomnost *Trpm3* na některých NG2 gliích (Hoffmann et al. 2010). Pomocí imunologického značení se u NG2 glií ukázala vysoká exprese $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ výměníku NCX1 (Tong et al. 2009).

5.4. Receptory pro neurotransmitery

5.4.1. Glutamátové receptory

In vitro i *in vivo* bylo ukázáno, že NG2 glie v reakci na glutamát vykazují proud (Barres et al. 1990). V prostředí s quisqualátem, aktivátorem APMA (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionová kyselina) receptorů, docházelo k vychytávání kobaltu NG2

gliemi a k tomuto jevu nedocházelo v přítomnosti blokátoru glutamátových receptorů. Ve stejném pokusu buňky reagovaly i na přítomnost kainátu, což naznačuje přítomnost AMPA a kainátových receptorů v těchto buňkách (B. P. Fulton, Burne, and Raff 1992). Přítomnost AMPA a kainátových receptorů se potvrdila i v dalších publikacích (Patneau et al. 1994; Káradóttir et al. 2005; Ziskin et al. 2007; Kukley and Dietrich 2009). Přestože ve většině pokusů nebyla pozorována žádná aktivita v odpovědi na NMDA (B. P. Fulton, Burne, and Raff 1992; Patneau et al. 1994), bylo v některých výzkumech pozorované snížení proudu při použití specifických blokátorů NMDA receptorů (Káradóttir et al. 2005). Zdá se, že proudy způsobené NMDA receptory jsou malé a jsou přítomné jen u části NG2 glií (Ziskin et al. 2007).

Kainátové receptory pravděpodobně nemají GluR₅ podjednotku, protože nebyly citlivé k jejímu specifickému agonistovi (Kukley and Dietrich 2009). Nízká exprese mRNA pro GluR₅ byla pozorována i pomocí northern blotu. Ten ukazoval přítomnost mRNA pro podjednotky GluR₆, GluR₇, KA-1 a KA-2 (Patneau et al. 1994). Metoda genových čipů se shodovala v přítomnosti GluR₆ a KA-1 a KA-2, ale nepotvrdila přítomnost GluR₇ a ukázala navíc přítomnost GluR₅ (Cahoy et al. 2008). RNA-sekvenování se s těmito daty shoduje, navíc ukázalo i přítomnost GluR₇ (Zhang et al. 2014). Northern blot potvrdil i přítomnost mRNA pro GluRB, C a D, ale ne pro GluRA (Patneau et al. 1994), což se potvrdilo i metodou genových čipů, kde se ovšem podjednotka GluRA vyskytovala (Cahoy et al. 2008). RNA-sekvenování poskytuje shodné výsledky a naznačuje nízkou míru exprese *GluRA* (Zhang et al. 2014). Přestože přítomnost NMDA receptorů se v pokusech často nedaří prokázat, nebo se ukazuje jen ve velmi malé míře, genové čipy ukázaly přítomnost mRNA pro NMDA receptory GluN1 a 3A (Cahoy et al. 2008) a RNA-sekvenování to potvrzuje. Ukázalo navíc přítomnost GluN2D, ale všechny mRNA pro NMDA receptory se vyskytují jen v malé míře (Zhang et al. 2014). Imunohistochemickým značením se také ukázala přítomnost GluN1 podjednotky a navíc i podjednotek GluN2A a GluN2B (Li et al. 2013).

V řezech mozečkem při aplikaci agonistů AMPA/kainátových receptorů došlo k poklesu zastoupení NG2 glií, což naznačuje snížení jejich proliferace, agonisté NMDA receptorů ale takové účinky neměli (Yuan et al. 1998), což se dále potvrdilo (Fannon, Tarmier, and Fulton 2015). Aktivace AMPA a kainátových receptorů navíc zvýšila migraci NG glií po lamininu a fibronektinu (Gudz, Komuro, and Macklin 2006). Blokace AMPA receptorů nebo snížení aktivity neuronů vedlo k tomu, že NG2 glie diferencovali v oligodendrocyty, které se ale zřejmě nepodílí na myelinizaci, naopak aktivace AMPA receptorů či aktivity neuronů podpořila prodlužování a větvení výběžků NG2 glií (Fannon,

Tarmier, and Fulton 2015). Při poškození demyelinizací se v prvním týdnu po poškození exprimují hlavně AMPA a kainátové receptory. Jejich blokace snížila remyelinizaci, stejně jako blokace výlevu neurotransmiterů demyelinizovaných neuronů, což naznačuje jejich roli v remyelinizaci. Tu mají ale nejspíš jen v prvním týdnu po poškození, protože pozdější blokace těchto receptorů remyelinizaci již nijak neovlivnila. Naopak v druhém týdnu se objevují proudy způsobené NMDA receptory (Gautier et al. 2015). Při aplikaci NMDA se také zvýšila míra migrace NG2 glií pomocí změny uspořádání aktinu na formu filament. NMDA navíc funguje jako chemoatraktant. Na migračním účinku NMDA na NG2 gliie se významně podílí podjednotka NMDA receptorů GluN1 a GluN2A (Xiao et al. 2013). Stimulace NMDA receptorů NG2 glií zvýšila jejich diferenciaci v oligodendrocyty a také míru větvení výběžků (Li et al. 2013). Navíc jsou tyto receptory důležité pro následnou tvorbu myelinu (Li et al. 2013; Lundgaard et al. 2013) a hrají roli i v remyelinizaci po navozeném demyelinizačním poškození (Li et al. 2013), a to i *in vivo* (Lundgaard et al. 2013). V rozporu s těmito výsledky se ale v jiných experimentech ukázalo, že blokace NMDA receptorů nijak neovlivnila proliferaci, diferenciaci ani morfologii NG2 glií (Fannon, Tarmier, and Fulton 2015; De Biase et al. 2011) ale ovlivňovala expresi AMPA receptorů propustných pro Ca^{2+} (De Biase et al. 2011).

NG2 gliie mají na svých membránách přítomné metabotropní receptory pro glutamát (mGluR). Pomocí RT-PCR, western blotu a značení protilátkami se ukázala přítomnost metabotropních glutamátových receptorů mGluR3 a 5a (Luyt, Varadi, and Molnar 2003; Luyt et al. 2004). NG2 gliie také reagovaly na antagonisty proti první a druhé skupině glutamátových receptorů, do kterých patří mGluR1, 3 a 5 (Mangin et al. 2008; Haberlandt et al. 2011). Imunohistochemická analýza ukázala i přítomnost mGluR4 (Spampinato et al. 2015) a mGluR1. Expresse mGluR klesá během diferenciaci NG2 glií v oligodendrocyty (Deng et al. 2004). RNA-sekvenováním byla prokázána exprese genů pro mGluR3, 4, 5 a v nízké míře 7 (Zhang et al. 2014). Metodou genových čipů se nepotvrdila přítomnost mGluR3 a 4, v přítomnosti mGluR5 a 7 se shoduje s RNA-sekvenováním (Cahoy et al. 2008).

Metabotropní glutamátové receptory fungují prostřednictvím zvyšování hladiny vápníku v gliových buňkách (Holzwarth et al. 1994). Není to však jejich jediná funkce, působí také prostřednictvím inhibice adenylát cyklázy, čímž snižují koncentraci cyklického adenosinmonofosfátu (cAMP) v buňce (Luyt, Varadi, and Molnar 2003). Pod vlivem agonistů třetí skupiny mGluR, kam spadá i GluR4, docházelo ke zvýšené diferenciaci oligodendrocytů (Spampinato et al. 2015). První skupina mGluR navíc prostřednictvím fosfolipázy C a protein kinázy Ca reguluje efekt poškození, které bylo navozeno anoxií

kombinovanou s aglykemií (Deng et al. 2004). Tako skupina mGluR navíc při své aktivaci zvyšovala zastoupení AMPA receptorů propouštějících vápník na povrchu NG2 glií (Zonouzi et al. 2011).

5.4.2. Receptory pro GABA

Při aplikaci kyseliny γ -aminomáselné (GABA) na NG2 glie pěstované v kultuře se objevily změny v proudu (A. V. Williamson et al. 1998). Při aplikaci GABA na buňky měřené pomocí metody patch-clamp, vykazovaly GABA receptory NG2 glií rychlý, dovnitř usměrněný proud, který klesal biexponenciálně, což naznačuje přítomnost GABA_A receptorů (Lin and Bergles 2004). Přítomnost tohoto typu receptorů pro GABA potvrdila i reakce buněk na specifického agonistu GABA_A receptorů muscimol a na antagonistu tohoto typu receptorů bicuculin methochlorid (A. V. Williamson et al. 1998). To, že GABA receptory NG2 glií jsou vystavené krátkodobým vysokým koncentracím GABA, jaké jsou typické pro synaptický přenos, ukazuje spolu s jejich schopností tvořit s neurony synapse na synaptický přenos signálu zprostředkovaného GABA (Lin and Bergles 2004). To ale nejspíš platí jen pro NG2 glie v krátkém období od druhého do čtvrtého postnatálního týdne, poté synaptická GABA-ergní komunikace s neurony ustupuje a převažuje GABA-ergní komunikace extrasynaptická (Vélez-Fort et al. 2010). Tato možnost se potvrdila i tím, že se mění zastoupení podjednotek GABA receptorů během vývoje (Balía et al. 2015).

Metodou RT-PCR bylo zjištěno, že NG2 glie exprimují podjednotky α 2-5 a γ 2 a 3. Navíc exprimují i γ 1, ale jen velmi málo (A. V. Williamson et al. 1998). Metodou genových čipů se potvrdila přítomnost podjednotek α 2 a 4 a γ 1 a 2, navíc se zde ukázala přítomnost podjednotky α 1, GABA_{B1} a GABA_A β podjednotek 1 a 3 (Cahoy et al. 2008). Jejich přítomnost nebyla v předchozím pokusu (A. V. Williamson et al. 1998) testována, jiný výzkum jejich přítomnost ale ověřoval a pomocí RT-PCR přítomnost GABA_B podjednotek GABA_{B1} a GABA_{B2} potvrdil (Luyt et al. 2007). RNA-sekvenování potvrdilo přítomnost všech podjednotek zjištěných metodou genových čipů, navíc ukázalo GABA_{B2}, GABA_A podjednotku α 3, ale ne α 5, podjednotku β 2 a γ 3 (Zhang et al. 2014). V souvislosti se změnou způsobu GABA-ergní signalizace během vývoje (Vélez-Fort et al. 2010) se podařilo pomocí RT-PCR ukázat, že se mění podjednotkové zastoupení GABA receptorů NG2 glií. U mladších jedinců (P7-11) jsou více exprimované podjednotky α 1, 2 a 5, zatímco později (P21-29) se exprese α 2 a 5 podjednotek snižuje a stoupá exprese α 3 a 4. Podobné změny se týkají i β 1 podjednotky, jejíž exprese v průběhu vývoje klesá. Z γ podjednotek dochází k poklesu exprese γ 2 podjednotky. Tento pokles začíná během druhého postnatálního týdne a přímo

odpovídá přechodu ze synaptické na extrasynaptickou GABA-ergní signalizaci (Balía et al. 2015).

Přestože funkce GABA receptorů NG2 glií není příliš známá (Balía et al. 2015), ukazuje se několik rolí, které v těchto buňkách mohou hrát. Při stimulaci GABA receptorů NG2 glií docházelo ke zvýšení vodivosti, což vedlo ke snížení amplitudy proudu procházejícího přes AMPA receptory. Aplikace GABA vedla k inhibici AMPA receptorů a ta přetrvala i po odstranění GABA a obnovení původní vodivosti membrány. Je tedy pravděpodobné, že GABA receptory mají význam v regulaci signalizace způsobené AMPA receptory (Lin and Bergles 2004). GABA_B receptory hrají roli v regulaci adenylát cyklázy, protože při jejich aktivaci baclofenem došlo ke snížení hladiny cAMP. Dále tento typ receptorů ovlivňuje migraci NG2 glií. Jejich aktivací se také zvýšila proliferace, prokázaná inkorporací bromodeoxyuridinu (BrdU) (Luyt et al. 2007). Po navození neonatální hypoxie došlo k poškození myelinizace cerebelárních axonů a zároveň ke zvýšení počtu NG2 buněk, které proliferují, ale ke snížení počtu zralých oligodendrocytů. Tato změna však byla jen dočasná, v P60 bylo možné pozorovat návrat k běžnému zastoupení buněk. Tento jev zřejmě souvisí s GABA-ergní signalizací mezi lokálními interneurony a NG2 gliemi. Stejný efekt jako při hypoxii byl pozorován u myši, které byl podán specifický antagonist GABA_A receptorů. Naopak zvýšení dostupnosti GABA vedlo ke zvýšení počtu oligodendrocytů a ke snížení počtu proliferujících NG2 glií. *In vitro* reagovaly tyto buňky na ovlivnění GABA_A receptorů podobným způsobem, lze tedy usuzovat, že depolarizace navozená GABA_A receptory podporuje vývoj cerebelárních NG2 glií *in vivo*. Tato depolarizace je navozená působením GABA receptorů skrz Na⁺ K⁺ Cl⁻ kontransporter (NKCC1). Při zvýšení GABA docházelo *in vivo* k tvorbě nových oligodendrocytů a následné myelinizaci i po hypoxickém poškození (Zonouzi et al. 2015). GABA receptory mají svůj význam i při ischemických zraněních. Při jejich stimulaci byla pozorována zvýšená exprese neurotrofního faktoru odvozeného od mozku (brain derived neurotrophic factor, BDNF), který má důležitou úlohu v růstu axonů. Tato funkce GABA receptorů má svůj význam v reparačních mechanismech po ischemickém poškození mozku. Behaviorální testy ukázaly, že blokace GABA receptorů vede k menší obnově sensorických funkcí (Tanaka et al. 2009).

5.4.3. Acetylcholinové receptory

Aplikace acetylcholinu vyvolala u NG2 glií malé dovnitř usměrněné proudy, které se po aplikaci neselektivního antagonisty nikotinových acetylcholinových receptorů (nAChR) vytratily. Protože při použití specifického antagonisty pro $\alpha 7$ podjednotku nAChR došlo

k úplnému vymizení těchto proudů, dá se usuzovat, že se nAChR NG2 glií skládají pouze z těchto podjednotek (Vélez-Fort, Audinat, and Angulo 2009). Přítomnost $\alpha 7$ podjednotky byla potvrzena později (Shen and Yakel 2012).

RT-PCR zjistilo přítomnost této podjednotky ovšem jen na hranici detekovatelnosti, zato ukázalo přítomnost podjednotek $\alpha 3$, 4 a 5 a $\beta 2$ a 4. Všechny tyto podjednotky byly detekovatelné i pomocí imunocytochemických metod (Rogers et al. 2001). Pomocí RT-PCR byly u NG2 glií nalezeny podjednotky muskarinových acetylcholinových receptorů (mAChR) M1, 2, 3, 4 a 5 a jejich přítomnost byla dále potvrzena farmakologicky (Ragheb et al. 2001). Tyto výsledky byly znovu potvrzeny RT-PCR s tím, že M3 je nejvíce exprimovaná a následně potvrzeny imunochemicky (De Angelis et al. 2012). Při použití metody genových čipů se ukázala přítomnost nikotinových podjednotek $\alpha 3$, 4 a 7 a $\beta 2$ a muskarinového receptoru M1 (Cahoy et al. 2008). RNA-sekvenování také ukázalo přítomnost podjednotek $\alpha 4$ a 7, $\beta 2$ a receptoru M1, neukázalo však přítomnost $\alpha 3$. Navíc ukázalo, že NG2 glie tvoří i receptor M2 (Zhang et al. 2014).

Při aplikaci muscarinu docházelo ke zvýšené inkorporaci tritiem značeného thymidinu, což ukazuje na roli mAChR v regulaci proliferace NG2 glií. Aplikací specifických antagonistů jednotlivých podjednotek se ukázalo, že receptory M1, 3 a 4 se na této regulaci podílí, zatímco M2 pravděpodobně ne. Tento receptor má ale vliv na životaschopnost buněk, jeho aktivace totiž vedla ke zvýšení počtu mrtvých buněk v kultuře. Stimulace mAChR vedla ke zvýšení exprese PDGF α R a snížení exprese tyrozinkinázových receptorů ErbB3 a ErbB4 a muskarin snižoval hladinu zásaditého myelinového proteinu (myelin basic protein, MBP) v NG2 gliích, což je protein specifický pro maturující oligodendrocyty (De Angelis et al. 2012). Stimulace muskarinových receptorů vedla také k aktivaci mitogenem aktivovaných protein kináz (MAPK) (Larocca and Almazan 1997) a Fyn kináz z rodiny Src. Podporuje životnost buněk v nepřítomnosti růstových faktorů skrz spolupráci s PI3K (fosfatidylinositol 3 kináza) a PKB (protein kináza B, též označovaná jako Akt) (Cui, Fogle, and Almazan 2006). Proliferaci NG2 glií se podařilo navodit anticholinergikem benztropinem a po podání agonistů mAChR klesla, což naznačuje roli těchto receptorů v regulaci proliferace NG2 glií. Benztropin navíc vedl k obnově myelinové pochvy a to i *in vivo* (Deshmukh et al. 2013).

5.4.4. Adrenergní receptory

Při imunohistochemickém testování přítomnosti $\alpha 1B$ adrenergních receptorů v mozku byly nalezeny pozitivní buňky, které zároveň vázaly protilátky proti NG2. $\alpha 1B$ pozitivní NG2

glie byly nalezeny v cerebelárním kortexu, v molekulární vrstvě (Papay et al. 2004). Později byly ve stejné oblasti nalezeny i $\alpha 1A$ receptory (Papay et al. 2006).

Metodou genových čipů se ukázala přítomnost $\beta 1$ adrenergního receptoru, testování přítomnosti $\alpha 2A$ receptoru ukázalo, že tento receptor zřejmě přítomný není (Cahoy et al. 2008). RNA-sekvenování potvrdilo přítomnost receptorů $\alpha 1A$ a $\alpha 1B$, ale mRNA pro druhý z nich byla přítomná jen ve velmi malém množství. Dále se ukázala přítomnost $\alpha 2A$ receptoru a receptoru $\beta 1$ a 2 (Zhang et al. 2014).

5.4.5. Glycinové receptory

Aplikace glycinu a dvou specifických agonistů glycinových receptorů β -alaninu a taurinu na NG2 glie vedla k vyvolání proudu, který je způsobený tokem chloridových iontů. Proud vyvolaný agonisty se ale od glycinem vyvolaného proudu lišil (Shibeshih Belachew, Rogister, et al. 1998). Při použití strychninu, specifického antagonisty glycinových receptorů, docházelo k inhibici odpovědi na glycin (Shibeshih Belachew, Malgrange, et al. 1998). Glycinové receptory NG2 glií mají zřejmě na rozdíl od neuronů dvě podjednotky vážící strychnin, nikoliv pouze jednu. Protilátkovým značením a RT-PCR bylo ukázáno, že glycinové receptory NG2 glií neobsahují $\alpha 1$ podjednotku (Shibeshih Belachew, Rogister, et al. 1998). Depolarizace navozená glycinem vedla ke vtoku vápníku do buňky. Na tomto procesu se glycinové receptory podílí ještě s glycinovými transportéry, které jsou závislé na Na^+ iontech (S Belachew et al. 2000). Jak metoda genových čipů (Cahoy et al. 2008), tak RNA-sekvenování (Zhang et al. 2014) ukázaly, že NG2 glie exprimují pouze gen pro β podjednotku glycinových receptorů.

5.4.6. Purinergní receptory

Použitím polyklonálních antisér proti části peptidového řetězce ionotropních a metabotropních purinergních (P2X a P2Y) receptorů se ukázala přítomnost P2X_{1-4, 7} a P2Y_{1, 2, 4} (Agresti et al. 2005). Při aplikaci adenosintrifosfátu (ATP) na kultury NG2 glií docházelo k rychlému a velkému zvýšení intracelulární koncentrace Ca^{2+} . Stejnou reakci ATP vyvolalo i u NG2 glií v izolovaném optickém nervu potkana (Hamilton, Hubbard, and Butt 2009). Použitím specifického agonisty purinergních receptorů P2Y₁ byl vyvolaný podobný efekt jako při aplikaci ATP a odpověď byla inhibovaná specifickým antagonistou P2Y₁ receptorů. Při zopakování stejného postupu se specifickým agonistou P2X₇ receptorů došlo také ke zvýšení intracelulární koncentrace Ca^{2+} , ale toto zvýšení bylo nižší než při použití ATP. Reakce byla opět blokována specifickým antagonistou tohoto receptoru, což ukazuje, že

NG2 glie mají tyto dva purinergní receptory. Ty mohou sloužit jako způsob komunikace mezi neurony či astrocyty a NG2 gliemi, protože ATP uvolněné neurony a astrocyty vyvolává u NG2 glií odpověď (Hamilton et al. 2010). NG2 glie vykazují také přítomnost purinergních receptorů typu P1, které reagují na adenosin. Pomocí RT-PCR a fluorescenčního zobrazování změn intracelulárního Ca^{2+} se ukázala přítomnost všech receptorů typu P1 (A_1 , $\text{A}_{2\text{A}}$, $\text{A}_{2\text{B}}$, A_3). Tyto receptory se podílí i na přijímání signálu od neuronů (Stevens et al. 2002).

Metoda genových čipů ukázala, že v NG2 gliích se vyskytují purinergní receptory $\text{P2X}_{4,7}$ a $\text{P2Y}_{5,12,13}$ a adenosinové receptory A_1 a $\text{A}_{2\text{B}}$ (Cahoy et al. 2008). RNA-sekvenování potvrdilo přítomnost všech těchto receptorů s výjimkou P2Y_5 . Navíc ukázalo přítomnost mRNA pro $\text{P2Y}_{1,2,6}$ a A_3 (Zhang et al. 2014).

P1 receptory zastávají funkci při ovlivňování proliferace a diferenciaci NG2 glií a hrají také roli v myelinizaci. Při aplikaci adenosinu či specifických agonistů docházelo ke snížení množství proliferujících NG2 glií. Zvýšila se však jejich diferenciaci a docházelo i k indukci myelinizace. Žádný z těchto efektů nebyl pozorován při aplikaci ATP (Stevens et al. 2002). V další studii se nepodařilo potvrdit funkci adenosinových P1 receptorů při diferenciaci a proliferaci, ukázal se ale jejich vliv na migraci, která se při aktivaci receptorů agonistou zvyšuje (Othman, Yan, and Rivkees 2003). Z jiného výzkumu ale vyplývá, že migrace se zvyšuje aktivací receptorů P2 a ne P1 (Agresti et al. 2005). Přestože Stevens a spoluautoři (Stevens et al. 2002) nepozorovali žádný vliv ATP na jejich proliferaci či diferenciaci, jiný výzkum ukázal, že i ATP může u NG2 glií vyvolat snížení proliferace (Agresti et al. 2005).

5.4.7. Receptory pro serotonin

Imunologickým značením serotoninových (5-hydroxytryptamin, 5HT) receptorů se ukázala přítomnost receptorů 1A a 2A u NG2 glií. Jejich aktivace vedla ke zvýšení intracelulární koncentrace Ca^{2+} (Fan et al. 2015). Metodou genových čipů se ukázala přítomnost receptorů 5HT-2C a 5HT-5A (Cahoy et al. 2008), ale RNA-sekvenování neukázalo přítomnost žádných podjednotek s výjimkou 5HT-5A (Zhang et al. 2014).

Serotonin svým působením na NG2 glie vedl k tomu, že tyto buňky měly oproti kontrolní skupině méně vyvinuté výběžky a jejich počet byl snížen. Při vysoké koncentraci serotoninu nebo agonisty serotoninových receptorů docházelo také k častější buněčné smrti NG2 glií (Fan et al. 2015).

5.4.8. Receptory pro dopamin

Dvojitým imunocytochemickým barvením se ukázala přítomnost dopaminového receptoru D3r na povrchu NG2 glií (Bongarzone et al. 1998). Metoda genových čipů ani RNA-sekvenování však neukázali přítomnost žádných dopaminergních receptorů (Cahoy et al. 2008; Zhang et al. 2014).

Při použití haloperidolu, antipsychotika, které působí na dopaminergní receptory, docházelo ke zvýšení počtu NG2 glií v corpus callosum, zatímco v kortexu ani hippocampu se počet NG2 glií oproti kontrole nezměnil (Wang et al. 2010). Další pokus s haloperidolem potvrdil vliv této látky na proliferaci NG2 glií, zatímco na jejich diferenciaci vliv neměl. Pomocí RT-PCR se ukázalo, že haloperidol snižuje expresi mRNA pro receptor D3 (Niu et al. 2010).

5.4.9. Histaminové receptory

Při aplikaci histaminu na NG2 glie docházelo ke zvýšení intracelulární hladiny vápníku, ale pouze u 12 % těchto buněk (Kastritsis and McCarthy 1993). Metoda genových čipů i RNA-sekvenace souhlasně ukázaly přítomnost histidinového receptoru H1, RNA-sekvenace ukazuje navíc i nízkou míru exprese mRNA pro receptor H3 (Cahoy et al. 2008; Zhang et al. 2014).

6. Závěr

NG2 glie mají na svém povrchu velké množství kanálů a receptorů, které se podílí na jejich elektrofyziologických vlastnostech, přestože v zastoupení jednotlivých typů a podjednotek se výsledky výzkumů často liší. Svou aktivitou se mohou podílet na regulaci proliferace, diferenciaci na myelinizující oligodendrocyty, na migraci a na ovlivňování buněčného cyklu NG2 glií. Tyto jejich vlastnosti by mohly být v budoucnosti využitelné při léčbě některých patologií NS, například roztroušené sklerózy.

7. Seznam literatury

- Agresti, C., M.E. Meomartini, S. Amadio, E. Ambrosini, B. Serafini, L. Franchini, C. Volonté, F. Aloisi, and S. Visentin. 2005. "Metabotropic P2 Receptor Activation Regulates Oligodendrocyte Progenitor Migration and Development." *Glia* 50 (2): 132–44. doi:10.1002/glia.20160.
- Aguirre, Adan, and Vittorio Gallo. 2007. "Reduced EGFR Signaling in Adult Progenitors of the Subventricular Zone Attenuates Oligodendrogenesis after Demyelination." *Neuron Glia Biology* 3 (3): 209–20. doi:10.1017/S1740925X08000082.Reduced.
- Balia, Maddalena, Mateo Vélez-Fort, Stefan Passlick, Christoph Schäfer, Etienne Audinat, Christian Steinhäuser, Gerald Seifert, and María Cecilia Angulo. 2015. "Postnatal down-Regulation of the GABAA Receptor γ 2 Subunit in Neocortical NG2 Cells Accompanies Synaptic-to-Extrasynaptic Switch in the GABAergic Transmission Mode." *Cerebral Cortex* 25 (4): 1114–23. doi:10.1093/cercor/bht309.
- Barres, Barbara a, Walter J Koroshetz, Kenton J Swartz, Linda L.Y. Chun, and David P Corey. 1990. "Ion Channel Expression by White Matter Glia: The O-2A Glial Progenitor Cell." *Neuron* 4 (4): 507–24. doi:10.1016/0896-6273(90)90109-S.
- Belachew, S, B Malgrange, J M Rigo, B Rogister, P Leprince, G Hans, L Nguyen, and G Moonen. 2000. "Glycine Triggers an Intracellular Calcium Influx in Oligodendrocyte Progenitor Cells Which Is Mediated by the Activation of Both the Ionotropic Glycine Receptor and Na⁺ - Dependent Transporters." *European Journal of Neuroscience* 12 (6): 1924–30.
- Belachew, Shibeshih, Ramesh Chittajallu, Adan a. Aguirre, Xiaoqing Yuan, Martha Kirby, Stacie Anderson, and Vittorio Gallo. 2003. "Postnatal NG2 Proteoglycan-Expressing Progenitor Cells Are Intrinsically Multipotent and Generate Functional Neurons." *Journal of Cell Biology* 161 (1): 169–86. doi:10.1083/jcb.200210110.
- Belachew, Shibeshih, Brigitte Malgrange, Jean-Michel Rigo, Bernard Rogister, Paul Coucke, Cécile Mazy-Servais, and Gustave Moonen. 1998. "Developmental Regulation of Neuroligand-Induced Responses in Cultured Oligodendroglia." *Neuroreport* 9 (6): 973–80. doi:10.1097/00001756-199804200-00004.
- Belachew, Shibeshih, Bernard Rogister, Jean-Michel Rigo, Brigitte Malgrange, Cecile Mazy-Servais, Gael Khaufaire, Paul Coucke, and Gustave Moonen. 1998. "Cultured Oligodendrocyte Progenitors Derived from Cerebral Cortex Express a Glycine Receptor Which Is Pharmacologically Distinct from the Neuronal Isoform." *European Journal of*

- Neuroscience* 10 (11): 3556–64. doi:10.1046/j.1460-9568.1998.00369.x.
- Blankenfeld, V. G., A. N. Verkhratsky, and H. Kettenmann. 1992. “Ca²⁺ Channel Expression in the Oligodendrocyte Lineage.” *European Journal of Neuroscience* 4 (11): 1035–48. doi:10.1111/j.1460-9568.1992.tb00130.x.
- Blanz, Judith, Michaela Schweizer, Muriel Auberson, Hannes Maier, Adrian Muenscher, Christian a Hübner, and Thomas J Jentsch. 2007. “Leukoencephalopathy upon Disruption of the Chloride Channel ClC-2.” *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience* 27 (24): 6581–89. doi:10.1523/JNEUROSCI.0338-07.2007.
- Bongarzone, E R, S G Howard, V Schonmann, and a T Campagnoni. 1998. “Identification of the Dopamine D3 Receptor in Oligodendrocyte Precursors: Potential Role in Regulating Differentiation and Myelin Formation.” *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience* 18 (14): 5344–53.
- Bu, Jie, Nadia Akhtar, and Akiko Nishiyama. 2001. “Transient Expression of the NG2 Proteoglycan by a Subpopulation of Activated Macrophages in an Excitotoxic Hippocampal Lesion.” *Glia* 34 (4): 296–310. doi:10.1002/glia.1063.
- Butt, Arthur M., Jennifer Kiff, Paul S Hubbard, and Martin Berry. 2002. “Synantocytes : New Functions for Novel NG2 Expressing Glia.” *JOURNAL OF NEUROCYTOLOGY* 31 (6-7): 551–65. doi:10.1023/A:1025751900356.
- Buttigieg, Josef, Eftekhar Eftekharpour, Soheila Karimi-Abdolrezaee, and Michael G. Fehlings. 2011. “Molecular and Electrophysiological Evidence for the Expression of BK Channels in Oligodendroglial Precursor Cells.” *European Journal of Neuroscience* 34 (4): 538–47. doi:10.1111/j.1460-9568.2011.07789.x.
- Cahoy, J. D., B. Emery, A. Kaushal, L. C. Foo, J. L. Zamanian, K. S. Christopherson, Y. Xing, et al. 2008. “A Transcriptome Database for Astrocytes, Neurons, and Oligodendrocytes: A New Resource for Understanding Brain Development and Function.” *Journal of Neuroscience* 28 (1): 264–78. doi:10.1523/JNEUROSCI.4178-07.2008.
- Clarke, Laura E, Kaylene M Young, N. B. Hamilton, Huiliang Li, W. D. Richardson, and D. Attwell. 2012. “Properties and Fate of Oligodendrocyte Progenitor Cells in the Corpus Callosum, Motor Cortex, and Piriform Cortex of the Mouse.” *Journal of Neuroscience* 32 (24): 8173–85. doi:10.1523/JNEUROSCI.0928-12.2012.
- Cui, Qiao Ling, Eli Fogle, and Guillermina Almazan. 2006. “Muscarinic Acetylcholine Receptors Mediate Oligodendrocyte Progenitor Survival through Src-like Tyrosine

- Kinases and PI3K/Akt Pathways.” *Neurochemistry International* 48 (5): 383–93.
doi:10.1016/j.neuint.2005.11.014.
- Dawson, M. 2003. “NG2-Expressing Glial Progenitor Cells: An Abundant and Widespread Population of Cycling Cells in the Adult Rat CNS.” *Molecular and Cellular Neuroscience* 24 (2): 476–88. doi:10.1016/S1044-7431(03)00210-0.
- De Angelis, Federica, Antonietta Bernardo, Valerio Magnaghi, Luisa Minghetti, and Ada Maria Tata. 2012. “Muscarinic Receptor Subtypes as Potential Targets to Modulate Oligodendrocyte Progenitor Survival, Proliferation, and Differentiation.” *Developmental Neurobiology* 72 (5): 713–28. doi:10.1002/dneu.20976.
- De Biase, Lindsay M, Shin H Kang, Emily G Baxi, Masahiro Fukaya, Michele L Pucak, Masayoshi Mishina, Peter a Calabresi, and Dwight E Bergles. 2011. “NMDA Receptor Signaling in Oligodendrocyte Progenitors Is Not Required for Oligodendrogenesis and Myelination.” *The Journal of Neuroscience* 31 (35): 12650–62.
doi:10.1523/jneurosci.2455-11.2011.
- De Biase, Lindsay M, Akiko Nishiyama, and Dwight E Bergles. 2010. “Excitability and Synaptic Communication within the Oligodendrocyte Lineage.” *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience* 30 (10): 3600–3611.
doi:10.1523/JNEUROSCI.6000-09.2010.
- Deng, Wenbin, Hong Wang, Paul a Rosenberg, Joseph J Volpe, and Frances E Jensen. 2004. “Role of Metabotropic Glutamate Receptors in Oligodendrocyte Excitotoxicity and Oxidative Stress.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101 (20): 7751–56. doi:10.1073/pnas.0307850101.
- Deshmukh, Vishal A, Virginie Tardif, Costas A Lyssiotis, Chelsea C Green, Bilal Kerman, Hyung Joon Kim, Krishnan Padmanabhan, et al. 2013. “A Regenerative Approach to the Treatment of Multiple Sclerosis.” *Nature* 502 (7471). Nature Publishing Group: 327–32.
doi:10.1038/nature12647.
- Diers-Fenger, M, F Kirchhoff, H Kettenmann, J M Levine, and J Trotter. 2001. “AN2/NG2 Protein-Expressing Glial Progenitor Cells in the Murine CNS: Isolation, Differentiation, and Association with Radial Glia.” *Glia* 34 (3): 213–28. doi:10.1002/glia.1055.
- Djukic, Biljana, Kristen B Casper, Benjamin D Philpot, Lih-shen Chin, and Ken D Mccarthy. 2007. “Conditional Knock-Out of K Ir 4 . 1 Leads to Glial Membrane Depolarization , Inhibition of Potassium and Glutamate Uptake , and Enhanced Short-Term Synaptic Potentiation.” *Neuroscience* 27 (42): 11354–65. doi:10.1523/JNEUROSCI.0723-07.2007.

- Ellison, J A, and J de Vellis. 1994. "Platelet-Derived Growth Factor Receptor Is Expressed by Cells in the Early Oligodendrocyte Lineage." *J.Neurosci.Res.* 37: 116–28.
- Fan, Lir Wan, Abhay Bhatt, Lu Tai Tien, Baoying Zheng, Kimberly L. Simpson, Rick C S Lin, Zhengwei Cai, Praveen Kumar, and Yi Pang. 2015. "Exposure to Serotonin Adversely Affects Oligodendrocyte Development and Myelination in Vitro." *Journal of Neurochemistry* 133 (4): 532–43. doi:10.1111/jnc.12988.
- Fang, X, M a Burg, D Barritt, K Dahlin-Huppe, a Nishiyama, and W B Stallcup. 1999. "Cytoskeletal Reorganization Induced by Engagement of the NG2 Proteoglycan Leads to Cell Spreading and Migration." *Molecular Biology of the Cell* 10 (10): 3373–87.
- Fannon, Jessica, Wynnavie Tarmier, and Daniel Fulton. 2015. "Neuronal Activity and AMPA-Type Glutamate Receptor Activation Regulates the Morphological Development of Oligodendrocyte Precursor Cells." *Glia* 63 (6): 1021–35. doi:10.1002/glia.22799.
- Fulton, B P, J F Burne, and M C Raff. 1992. "Visualization of O-2A Progenitor Cells in Developing and Adult Rat Optic Nerve by Quisqualate-Stimulated Cobalt Uptake." *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience* 12 (12): 4816–33.
- Fulton, Daniel, Pablo M. Paez, Robin Fisher, Vance Handley, Christopher S. Colwell, and Anthony T. Campagnoni. 2010. "Regulation of L-Type Ca⁺⁺ Currents and Process Morphology in White Matter Oligodendrocyte Precursor Cells by Golli-Myelin Proteins." *Glia* 58 (11): 1292–1303. doi:10.1002/glia.21008.
- Fusco, Francesca R., Alessandro Martorana, Carmela Giampà, Zena De March, Fabrizio Vacca, Alessandro Tozzi, Patrizia Longone, et al. 2004. "Cellular Localization of TRPC3 Channel in Rat Brain: Preferential Distribution to Oligodendrocytes." *Neuroscience Letters* 365 (2): 137–42. doi:10.1016/j.neulet.2004.04.070.
- Gautier, H el ene O. B., Kimberley A. Evans, Katrin Volbracht, Rachel James, Sergey Sitnikov, Iben Lundgaard, Fiona James, et al. 2015. "Neuronal Activity Regulates Remyelination via Glutamate Signalling to Oligodendrocyte Progenitors." *Nature Communications* 6: 8518. doi:10.1038/ncomms9518.
- Ge, Woo-Ping, Wei Zhou, Qingming Luo, Lily Yeh Jan, and Yuh Nung Jan. 2009. "Dividing Glial Cells Maintain Differentiated Properties Including Complex Morphology and Functional Synapses." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106 (1): 328–33. doi:10.1073/pnas.0811353106.
- Gudz, Tatyana I, Hitoshi Komuro, and Wendy B Macklin. 2006. "Glutamate Stimulates Oligodendrocyte Progenitor Migration Mediated via an AlphaV Integrin/myelin

- Proteolipid Protein Complex.” *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience* 26 (9): 2458–66. doi:10.1523/JNEUROSCI.4054-05.2006.
- Guo, F., Y. Maeda, J. Ma, J. Xu, M. Horiuchi, L. Miers, F. Vaccarino, and D. Pleasure. 2010. “Pyramidal Neurons Are Generated from Oligodendroglial Progenitor Cells in Adult Piriform Cortex.” *Journal of Neuroscience* 30 (36): 12036–49. doi:10.1523/JNEUROSCI.1360-10.2010.
- Haberlandt, Christian, Amin Derouiche, Alexandra Wyczynski, Julia Haseleu, Jörg Pohle, Khalad Karram, Jacqueline Trotter, et al. 2011. “Gray Matter NG2 Cells Display Multiple Ca²⁺-Signaling Pathways and Highly Motile Processes.” *PLoS One* 6 (3): e17575. doi:10.1371/journal.pone.0017575.
- Hamilton, Nicola, Paul S Hubbard, and Arthur M Butt. 2009. “Effects of Glutamate Receptor Activation on NG2-Glia in the Rat Optic Nerve.” *Journal of Anatomy* 214 (2): 208–18. doi:10.1111/j.1469-7580.2008.01017.x.
- Hamilton, Nicola, Steve Vayro, Rebekah Wigley, and Arthur M. Butt. 2010. “Axons and Astrocytes Release ATP and Glutamate to Evoke Calcium Signals in NG2-Glia.” *Glia* 58 (1): 66–79. doi:10.1002/glia.20902.
- Hart, I K, W D Richardson, C H Heldin, B Westermark, and M C Raff. 1989. “PDGF Receptors on Cells of the Oligodendrocyte-Type-2 Astrocyte (O-2A) Cell Lineage.” *Development (Cambridge, England)* 105 (3): 595–603.
- Hoffmann, Anja, Christian Grimm, Robert Kraft, Olaf Goldbaum, Arne Wrede, Christiane Nolte, Uwe Karsten Hanisch, et al. 2010. “TRPM3 Is Expressed in Sphingosine-Responsive Myelinating Oligodendrocytes.” *Journal of Neurochemistry* 114 (3): 654–65. doi:10.1111/j.1471-4159.2010.06644.x.
- Holzwarth, James a, Simon J Gibbons, James R Brorson, Louis H Philipson, and Richard J Miller. 1994. “Glutamate Receptor Agonists Stimulate Diverse Calcium Responses in Different Types of Cultured Rat Cortical Glial Cells.” *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience* 14 (4): 1879–91.
- Cheli, V. T., D. A. Santiago Gonzalez, V Spreuer, and P. M. Paez. 2015. “Voltage-Gated Ca⁺⁺ Entry Promotes Oligodendrocyte Progenitor Cell Maturation and Myelination in Vitro.” *Experimental Neurology* 265 (March). Elsevier Inc.: 69–83. doi:10.1016/j.expneurol.2014.12.012.
- Chen, Peng-hui, Wen-qin Cai, Li-yan Wang, and Qi-yue Deng. 2008. “A Morphological and Electrophysiological Study on the Postnatal Development of Oligodendrocyte Precursor Cells in the Rat Brain.” *Brain Research* 1243. Elsevier B.V.: 27–37.

doi:10.1016/j.brainres.2008.09.029.

- Chen, Penghui, Liyan Wang, Qiyue Deng, Huaizhen Ruan, and Wenqin Cai. 2015. "Alteration in Rectification of Potassium Channels in Perinatal Hypoxia Ischemia Brain Damage." *Journal of Neurophysiology* 113 (2): 592–600. doi:10.1152/jn.00144.2014.
- Chittajallu, R, a Aguirre, and V Gallo. 2004. "NG2-Positive Cells in the Mouse White and Grey Matter Display Distinct Physiological Properties." *The Journal of Physiology* 561 (Pt 1): 109–22. doi:10.1113/jphysiol.2004.074252.
- Chittajallu, R, Y Chen, H Wang, X Yuan, C a Ghiani, T Heckman, C J McBain, and V Gallo. 2002. "Regulation of Kv1 Subunit Expression in Oligodendrocyte Progenitor Cells and Their Role in G1/S Phase Progression of the Cell Cycle." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99 (4): 2350–55. doi:10.1073/pnas.042698399.
- Káradóttir, Ragnhildur, Pauline Cavelier, Linda H Bergersen, and David Attwell. 2005. "NMDA Receptors Are Expressed in Oligodendrocytes and Activated in Ischaemia." *Nature* 438 (7071): 1162–66. doi:10.1038/nature04302.
- Káradóttir, Ragnhildur, Nicola B Hamilton, Yamina Bakiri, and David Attwell. 2008. "Spiking and Nonspiking Classes of Oligodendrocyte Precursor Glia in CNS White Matter." *Nature Neuroscience* 11 (4): 450–56. doi:10.1038/nn2060.
- Kastritsis, C H, and K D McCarthy. 1993. "Oligodendroglial Lineage Cells Express Neuroligand Receptors." *Glia* 8 (2): 106–13. doi:10.1002/glia.440080206.
- Keirstead, Hans S., Joel M. Levine, and William F. Blakemore. 1998. "Response of the Oligodendrocyte Progenitor Cell Population (Defined by NG2 Labelling) to Demyelination of the Adult Spinal Cord." *Glia* 22 (2): 161–70. doi:10.1002/(SICI)1098-1136(199802)22:2<161::AID-GLIA7>3.0.CO;2-A.
- Kessarlis, Nicoletta, Matthew Fogarty, Palma Iannarelli, Matthew Grist, Michael Wegner, and William D Richardson. 2006. "Competing Waves of Oligodendrocytes in the Forebrain and Postnatal Elimination of an Embryonic Lineage." *Nature Neuroscience* 9 (2): 173–79. doi:10.1038/nn1620.
- Kirischuk, Sergei, Jürgen Scherer, Thomas Möller, Alexei Verkhratsky, and Helmut Kettenmann. 1995. "Subcellular Heterogeneity of Voltage-Gated Ca²⁺ Channels in Cells of the Oligodendrocyte Lineage." *Glia* 13 (1): 1–12. doi:10.1002/glia.440130102.
- Knutson, Peter, Cristina A Ghiani, J M Zhou, Vittorio Gallo, and C J McBain. 1997. "K⁺ Channel Expression and Cell Proliferation Are Regulated by Intracellular Sodium and Membrane Depolarization in Oligodendrocyte Progenitor Cells." *The Journal of*

- Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience* 17 (8): 2669–82.
- Komitova, Mila, Xiaoqin Zhu, David R. Serwanski, and Akiko Nishiyama. 2009. “NG2 Cells Are Distinct from Neurogenic Cells in the Postnatal Mouse Subventricular Zone.” *Journal of Comparative Neurology* 512 (5): 702–16. doi:10.1002/cne.21917.
- Kukley, Maria, and Dirk Dietrich. 2009. “Kainate Receptors and Signal Integration by NG2 Glial Cells.” *Neuron Glia Biology* 5 (1-2): 13–20. doi:10.1017/S1740925X09990081.
- Kukley, Maria, Maia Kiladze, Reshmi Tognatta, Michael Hans, Dieter Swandulla, Johannes Schramm, and Dirk Dietrich. 2008. “Glial Cells Are Born with Synapses.” *The FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. doi:10.1096/fj.07-090985.
- Larocca, Jorge N., and Guillermina Almazan. 1997. “Acetylcholine Agonists Stimulate Mitogen-Activated Protein Kinase in Oligodendrocyte Progenitors by Muscarinic Receptors.” *Journal of Neuroscience Research* 50 (5): 743–54. doi:10.1002/(SICI)1097-4547(19971201)50:5<743::AID-JNR11>3.0.CO;2-2.
- Leoni, Giampaolo, Marcus Rattray, and Arthur M. Butt. 2009. “NG2 Cells Differentiate into Astrocytes in Cerebellar Slices.” *Molecular and Cellular Neuroscience* 42 (3). Elsevier Inc.: 208–18. doi:10.1016/j.mcn.2009.07.007.
- Li, Cui, Lin Xiao, Xiuyun Liu, Wenjing Yang, Weiran Shen, Chun Hu, Guang Yang, and Cheng He. 2013. “A Functional Role of NMDA Receptor in Regulating the Differentiation of Oligodendrocyte Precursor Cells and Remyelination.” *Glia* 61 (5): 732–49. doi:10.1002/glia.22469.
- Lin, Shih-chun, and Dwight E Bergles. 2004. “Synaptic Signaling between GABAergic Interneurons and Oligodendrocyte Precursor Cells in the Hippocampus.” *Nature Neuroscience* 7 (1): 24–32. doi:10.1038/nn1162.
- Lu, Q R, D Yuk, J a Alberta, Z Zhu, I Pawlitzky, J Chan, a P McMahon, C D Stiles, and D H Rowitch. 2000. “Sonic Hedgehog--Regulated Oligodendrocyte Lineage Genes Encoding bHLH Proteins in the Mammalian Central Nervous System.” *Neuron* 25 (2): 317–29. doi:10.1016/S0896-6273(00)80897-1.
- Lundgaard, Iben, Aryna Luzhynskaya, John H. Stockley, Zhen Wang, Kimberley A. Evans, Matthew Swire, Katrin Volbracht, et al. 2013. “Neuregulin and BDNF Induce a Switch to NMDA Receptor-Dependent Myelination by Oligodendrocytes.” *PLoS Biology* 11 (12). doi:10.1371/journal.pbio.1001743.
- Luyt, Karen, Timothy P. Slade, Jienchi J. Dorward, Claire F. Durant, Yue Wu, Ryuichi Shigemoto, Stuart J. Mundell, Anik?? V??radi, and Elek Moln??r. 2007. “Developing

- Oligodendrocytes Express Functional GABAB Receptors That Stimulate Cell Proliferation and Migration.” *Journal of Neurochemistry* 100 (3): 822–40. doi:10.1111/j.1471-4159.2006.04255.x.
- Luyt, Karen, Aniko Varadi, Christopher A. Halfpenny, Neil J. Scolding, and Elek Molnar. 2004. “Metabotropic Glutamate Receptors Are Expressed in Adult Human Glial Progenitor Cells.” *Biochemical and Biophysical Research Communications* 319 (1): 120–29. doi:10.1016/j.bbrc.2004.04.158.
- Luyt, Karen, Aniko Varadi, and Elek Molnar. 2003. “Functional Metabotropic Glutamate Receptors Are Expressed in Oligodendrocyte Progenitor Cells.” *Journal of Neurochemistry* 84 (6): 1452–64. doi:10.1046/j.1471-4159.2003.01661.x.
- Makara, Judit K., Angelika Rappert, Katja Matthias, Christian Steinhilber, Andreas Spitzer, and Helmut Kettenmann. 2003. “Astrocytes from Mouse Brain Slices Express ClC-2-Mediated Cl⁻ Currents Regulated during Development and after Injury.” *Molecular and Cellular Neuroscience* 23 (4): 521–30. doi:10.1016/S1044-7431(03)00080-0.
- Malatesta, Paolo, Michael a. Hack, Eva Hartfuss, Helmut Kettenmann, Wolfgang Klinkert, Frank Kirchhoff, and Magdalena Götz. 2003. “Neuronal or Glial ProgenyRegional Differences in Radial Glia Fate.” *Neuron* 37 (5): 751–64. doi:10.1016/S0896-6273(03)00116-8.
- Maldonado, Paloma P, Mateo Vélez-Fort, Françoise Levavasseur, and María Cecilia Angulo. 2013. “Oligodendrocyte Precursor Cells Are Accurate Sensors of Local K⁺ in Mature Gray Matter.” *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience* 33 (6): 2432–42. doi:10.1523/JNEUROSCI.1961-12.2013.
- Mangin, J.-M., A. Kunze, R. Chittajallu, and V. Gallo. 2008. “Satellite NG2 Progenitor Cells Share Common Glutamatergic Inputs with Associated Interneurons in the Mouse Dentate Gyrus.” *Journal of Neuroscience* 28 (30): 7610–23. doi:10.1523/JNEUROSCI.1355-08.2008.
- Nery, S, H Wichterle, and G Fishell. 2001. “Sonic Hedgehog Contributes to Oligodendrocyte Specification in the Mammalian Forebrain.” *Development (Cambridge, England)* 128 (4): 527–40.
- Nishiyama, A., X H Lin, N Giese, C H Heldin, and W B Stallcup. 1996. “Co-Localization of NG2 Proteoglycan and PDGF Alpha-Receptor on O2A Progenitor Cells in the Developing Rat Brain.” *Journal of Neuroscience Research* 43: 299–314. doi:10.1002/(SICI)1097-4547(19960201)43:3<299::AID-JNR5>3.0.CO;2-E.
- Nishiyama, Akiko, K J Dahlin, J T Prince, S R Johnstone, and W B Stallcup. 1991. “The

- Primary Structure of NG2, a Novel Membrane-Spanning Proteoglycan.” *The Journal of Cell Biology* 114 (2): 359–71. doi:10.1083/jcb.114.2.359.
- Niu, Jianqin, Feng Mei, Nan Li, Hanzhi Wang, Xinmin Li, Jiming Kong, and Lan Xiao. 2010. “Haloperidol Promotes Proliferation but Inhibits Differentiation in Rat Oligodendrocyte Progenitor Cell Cultures.” *Biochemistry and Cell Biology = Biochimie et Biologie Cellulaire* 88 (4): 611–20. doi:10.1139/O09-178.
- Notomi, Takuya, and Ryuichi Shigemoto. 2004. “Immunohistochemical Localization of Ih Channel Subunits, HCN1-4, in the Rat Brain.” *Journal of Comparative Neurology* 471 (3): 241–76. doi:10.1002/cne.11039.
- Orentas, D M, J E Hayes, K L Dyer, and R H Miller. 1999. “Sonic Hedgehog Signaling Is Required during the Appearance of Spinal Cord Oligodendrocyte Precursors.” *Development (Cambridge, England)* 126 (11): 2419–29.
- Ortega, Felipe, Sergio Gascón, Giacomo Masserdotti, Aditi Deshpande, Christiane Simon, Judith Fischer, Leda Dimou, D. Chichung Lie, Timm Schroeder, and Benedikt Berninger. 2013. “Oligodendroglial and Neurogenic Adult Subependymal Zone Neural Stem Cells Constitute Distinct Lineages and Exhibit Differential Responsiveness to Wnt Signalling.” *Nature Cell Biology* 15 (6): 602–13. doi:10.1038/ncb2736.
- Othman, Timothy, Henglin Yan, and Scott A. Rivkees. 2003. “Oligodendrocytes Express Functional A1 Adenosine Receptors That Stimulate Cellular Migration.” *Glia* 44 (2): 166–72. doi:10.1002/glia.10281.
- Ozderdem, U, K a Grako, K Dahlin-Huppe, E Monosov, and W B Stallcup. 2001. “NG2 Proteoglycan Is Expressed Exclusively by Mural Cells during Vascular Morphogenesis.” *Developmental Dynamics* 222 (2): 218–27. doi:10.1002/dvdy.1200.
- Paez, P M, D J Fulton, V Spreuer, V Handley, C W Campagnoni, W B Macklin, C Colwell, and A T Campagnoni. 2009. “Golli Myelin Basic Proteins Regulate Oligodendroglial Progenitor Cell Migration through Voltage-Gated Ca²⁺ Influx.” *J.Neurosci.* 29 (20): 6663–76. doi:10.1523/JNEUROSCI.5806-08.2009.
- Paez, P. M., V. Spreuer, V. Handley, J.-M. Feng, C. Campagnoni, and A. T. Campagnoni. 2007. “Increased Expression of Golli Myelin Basic Proteins Enhances Calcium Influx into Oligodendroglial Cells.” *Journal of Neuroscience* 27 (46): 12690–99. doi:10.1523/JNEUROSCI.2381-07.2007.
- Paez, Pablo M, Daniel J Fulton, Vilma Spreuer, Vance Handley, Celia W Campagnoni, and Anthony T Campagnoni. 2009. “Regulation of Store-Operated and Voltage-Operated Ca²⁺ Channels in the Proliferation and Death of Oligodendrocyte Precursor Cells by

- Golli Proteins.” *ASN Neuro* 1 (1): 25–41. doi:10.1042/AN20090003.
- Paez, Pablo M, Daniel Fulton, Vilma Spreuer, Vance Handley, and Anthony T Campagnoni. 2011. “Modulation of Canonical Transient Receptor Potential Channel 1 in the Proliferation of Oligodendrocyte Precursor Cells by the Golli Products of the Myelin Basic Protein Gene.” *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience* 31 (10): 3625–37. doi:10.1523/JNEUROSCI.4424-10.2011.
- Papay, Robert, Robert Gaivin, Archana Jha, Dan F. Mccune, John C. Mcgrath, Manoj C. Rodrigo, Paul C. Simpson, Van A. Doze, and Dianne M. Perez. 2006. “Localization of the Mouse α 1A-Adrenergic Receptor (AR) in the Brain: α 1AAR Is Expressed in Neurons, GABAergic Interneurons, and NG2 Oligodendrocyte Progenitors.” *The Journal of Comparative Neurology* 497 (2): 209–22. doi:10.1002/cne.20992.
- Papay, Robert, Robert Gaivin, Dan F. McCune, Boyd R. Rorabaugh, Wendy B. Macklin, John C. McGrath, and Dianne M. Perez. 2004. “Mouse alpha1B-Adrenergic Receptor Is Expressed in Neurons and NG2 Oligodendrocytes.” *The Journal of Comparative Neurology* 478 (1): 1–10. doi:10.1002/cne.20215.
- Patneau, Doris K., Paul W. Wright, Christine Winters, Mark L. Mayer, and Vittorio Gallo. 1994. “Glial Cells of the Oligodendrocyte Lineage Express Both Kainate- and AMPA-Preferring Subtypes of Glutamate Receptor.” *Neuron* 12 (2): 357–71. doi:10.1016/0896-6273(94)90277-1.
- Peters, Alan. 2004. “A Fourth Type of Neuroglial Cell in the Adult Central Nervous System.” *Journal of Neurocytology* 33 (3): 345–57. doi:10.1023/B:NEUR.0000044195.64009.27.
- Pringle, N P, and W D Richardson. 1993. “A Singularity of PDGF Alpha-Receptor Expression in the Dorsoventral Axis of the Neural Tube May Define the Origin of the Oligodendrocyte Lineage.” *Development (Cambridge, England)* 117 (2): 525–33.
- Raff, M C, R H Miller, and M Noble. 1983. “A Glial Progenitor Cell That Develops in Vitro into an Astrocyte or an Oligodendrocyte Depending on Culture Medium.” *Nature* 303 (5916): 390–96. doi:10.1038/303390a0.
- Raff, M C, B P Williams, and R H Miller. 1984. “The in Vitro Differentiation of a Bipotential Glial Progenitor Cell.” *The EMBO Journal* 3 (8): 1857–64.
- Ragheb, Fadi, Eduardo Molina-Holgado, Qiao Ling Cui, Amani Khorchid, Hsueh Ning Liu, Jorge N. Larocca, and Guillermina Almazan. 2001. “Pharmacological and Functional Characterization of Muscarinic Receptor Subtypes in Developing Oligodendrocytes.” *Journal of Neurochemistry* 77 (5): 1396–1406. doi:10.1046/j.1471-4159.2001.00356.x.
- Reynolds, Richard, Mary Dawson, Dimitrios Papadopoulos, Annabella Polito, Isabelle Cenci

- Di Bello, Danielle Pham-Dinh, and Joel Levine. 2002. "The Response of NG2-Expressing Oligodendrocyte Progenitors to Demyelination in MOG-EAE and MS." *Journal of Neurocytology* 31 (6-7): 523–36. doi:10.1023/A:1025747832215.
- Rivers, Leanne E, Kaylene M Young, Matteo Rizzi, and Françoise Jamen. 2008. "PDGFRA / NG2 Glia Generate Myelinating Oligodendrocytes and Piriform Projection Neurons in Adult Mice" 11 (12): 1–24. doi:10.1038/nn.2220.PDGFRA/NG2.
- Rogers, Scott W., Ninel Z. Gregori, Noel Carlson, Lorise C. Gahring, and Mark Noble. 2001. "Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptor Expression by O2A/Oligodendrocyte Progenitor Cells." *Glia* 33 (4): 306–13. doi:10.1002/1098-1136(20010315)33:4<306::AID-GLIA1029>3.0.CO;2-W.
- Sakry, Dominik, Angela Neitz, Jeet Singh, Renato Frischknecht, Daniele Marongiu, Fabien Binamé, Sumudhu S. Perera, et al. 2014. "Oligodendrocyte Precursor Cells Modulate the Neuronal Network by Activity-Dependent Ectodomain Cleavage of Glial NG2." *PLoS Biology* 12 (11): e1001993. doi:10.1371/journal.pbio.1001993.
- Shen, Jian-xin, and Jerrel L. Yakel. 2012. "Functional $\alpha 7$ Nicotinic ACh Receptors on Astrocytes in Rat Hippocampal CA1 Slices." *Journal of Molecular Neuroscience* 48 (1): 14–21. doi:10.1007/s12031-012-9719-3.
- Schmidt, Kathrin, Dirk Eulitz, Rüdiger W. Veh, Helmut Kettenmann, and Frank Kirchhoff. 1999. "Heterogeneous Expression of Voltage-Gated Potassium Channels of the Shaker Family (Kv1) in Oligodendrocyte Progenitors." *Brain Research* 843 (1-2): 145–60. doi:10.1016/S0006-8993(99)01938-1.
- Spampinato, Simona Federica, Sara Merlo, Mariangela Chisari, Ferdinando Nicoletti, and Maria Angela Sortino. 2015. "Glial Metabotropic Glutamate Receptor-4 Increases Maturation and Survival of Oligodendrocytes." *Frontiers in Cellular Neuroscience* 8 (January): 462. doi:10.3389/fncel.2014.00462.
- Stallcup, W B, and L Beasley. 1987. "Bipotential Glial Precursor Cells of the Optic Nerve Express the NG2 Proteoglycan." *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience* 7 (9): 2737–44.
- Stallcup, William B. 1981. "The NG2 Antigen, a Putative Lineage Marker: Immunofluorescent Localization in Primary Cultures of Rat Brain." *Developmental Biology* 83 (1): 154–65. doi:10.1016/S0012-1606(81)80018-8.
- Stevens, Beth, Stefania Porta, Laurel L. Haak, Vittorio Gallo, and R. Douglas Fields. 2002. "Adenosine: A Neuron-Glial Transmitter Promoting Myelination in the CNS in Response to Action Potentials." *Neuron* 36 (5): 855–68. doi:10.1016/S0896-

6273(02)01067-X.

- Tanaka, Yuichi, Yusuke Tozuka, Tetsuo Takata, Naoyuki Shimazu, Naoto Matsumura, Aya Ohta, and Tatsuhiro Hisatsune. 2009. "Excitatory GABAergic Activation of Cortical Dividing Glial Cells." *Cerebral Cortex* 19 (9): 2181–95. doi:10.1093/cercor/bhn238.
- Tillet, Emmanuelle, Blandine Gentil, Robert Garrone, and William B Stallcup. 2002. "NG2 Proteoglycan Mediates beta1 Integrin-Independent Cell Adhesion and Spreading on Collagen VI." *Journal of Cellular Biochemistry* 86 (4): 726–36. doi:10.1002/jcb.10268.
- Tong, Xiao Ping, Xiang Yao Li, Bing Zhou, Wanhua Shen, Zhi Jun Zhang, Tian Le Xu, and Shumin Duan. 2009. "Ca²⁺ Signaling Evoked by Activation of Na⁺ Channels and Na⁺/Ca²⁺ Exchangers Is Required for GABA-Induced NG2 Cell Migration." *Journal of Cell Biology* 186 (1): 113–28. doi:10.1083/jcb.200811071.
- Vallstedt, Anna, Joanna M. Klos, and Johan Ericson. 2005. "Multiple Dorsoventral Origins of Oligodendrocyte Generation in the Spinal Cord and Hindbrain." *Neuron* 45 (1): 55–67. doi:10.1016/j.neuron.2004.12.026.
- Vautier, François, Shibeshih Belachew, Ramesh Chittajallu, and Vittorio Gallo. 2004. "Shaker-Type Potassium Channel Subunits Differentially Control Oligodendrocyte Progenitor Proliferation." *Glia* 48 (4): 337–45. doi:10.1002/glia.20088.
- Vélez-Fort, Mateo, Etienne Audinat, and María Cecilia Angulo. 2009. "Functional α 7-Containing Nicotinic Receptors of NG2-Expressing Cells in the Hippocampus." *Glia* 57 (10): 1104–14. doi:10.1002/glia.20834.
- Vélez-Fort, Mateo, Paloma P Maldonado, Arthur M Butt, Etienne Audinat, and María Cecilia Angulo. 2010. "Postnatal Switch from Synaptic to Extrasynaptic Transmission between Interneurons and NG2 Cells." *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience* 30 (20): 6921–29. doi:10.1523/JNEUROSCI.0238-10.2010.
- Ventura, R. E., and J. E. Goldman. 2007. "Dorsal Radial Glia Generate Olfactory Bulb Interneurons in the Postnatal Murine Brain." *Journal of Neuroscience* 27 (16): 4297–4302. doi:10.1523/JNEUROSCI.0399-07.2007.
- Wang, Hanzhi, Haiyun Xu, Jianqin Niu, Feng Mei, Xinmin Li, Jiming Kong, Wenqin Cai, and Lan Xiao. 2010. "Haloperidol Activates Quiescent Oligodendroglia Precursor Cells in the Adult Mouse Brain." *Schizophrenia Research* 119 (1-3). Elsevier B.V.: 164–74. doi:10.1016/j.schres.2010.02.1068.
- Weerth, Susanna H., Lynne A. Holtzclaw, and James T. Russell. 2007. "Signaling Proteins in Raft-like Microdomains Are Essential for Ca²⁺ Wave Propagation in Glial Cells." *Cell Calcium* 41 (2): 155–67. doi:10.1016/j.ceca.2006.06.006.

- Wigley, Rebekah, and Arthur M Butt. 2009. "Integration of NG2-Glia (synantocytes) into the Neuroglial Network." *Neuron Glia Biology* 5 (1-2): 21–28.
doi:10.1017/S1740925X09990329.
- Williamson, Anna V, D A Compston, and Andrew D Randall. 1997. "Analysis of the Ion Channel Complement of the Rat Oligodendrocyte Progenitor in a Commonly Studied in Vitro Preparation." *The European Journal of Neuroscience* 9 (4): 706–20.
- Williamson, A. V., J. R. Mellor, A. L. Grant, and A. D. Randall. 1998. "Properties of GABA(A) Receptors in Cultured Rat Oligodendrocyte Progenitor Cells." *Neuropharmacology* 37 (7): 859–73. doi:10.1016/S0028-3908(98)00016-1.
- Xiao, Lin, Chun Hu, Wenjing Yang, Dazhi Guo, Cui Li, Weiran Shen, Xiuyun Liu, Huang Aijun, Wang Dan, and Cheng He. 2013. "NMDA Receptor Couples Rac1-GEF Tiam1 to Direct Oligodendrocyte Precursor Cell Migration." *Glia* 61 (12): 2078–99.
doi:10.1002/glia.22578.
- Xie, M, DT Lynch, and GP Schools. 2007. "Sodium Channel Currents in Rat Hippocampal NG2 Glia: Characterization and Contribution to Resting Membrane Potential." *Neuroscience* 150: 853–62. doi:10.1016/j.neuroscience.2007.09.057.
- Xing, Y. L., P. T. Roth, J. A. S. Stratton, B. H. A. Chuang, J. Danne, S. L. Ellis, S. W. Ng, T. J. Kilpatrick, and T. D. Merson. 2014. "Adult Neural Precursor Cells from the Subventricular Zone Contribute Significantly to Oligodendrocyte Regeneration and Remyelination." *Journal of Neuroscience* 34 (42): 14128–46.
doi:10.1523/JNEUROSCI.3491-13.2014.
- Young, Kaylene M., Konstantina Psachoulia, Richa B. Tripathi, Sara Jane Dunn, Lee Cossell, David Attwell, Koujiro Tohyama, and William D. Richardson. 2013. "Oligodendrocyte Dynamics in the Healthy Adult CNS: Evidence for Myelin Remodeling." *Neuron* 77 (5). Elsevier Inc.: 873–85. doi:10.1016/j.neuron.2013.01.006.
- Yuan, X, a M Eisen, C J McBain, and V Gallo. 1998. "A Role for Glutamate and Its Receptors in the Regulation of Oligodendrocyte Development in Cerebellar Tissue Slices." *Development (Cambridge, England)* 125 (15): 2901–14.
- Zhang, Y., Kenian Chen, Steven A Sloan, Mariko L Bennett, Anja R Scholze, S O'Keefe, Hemali P Phatnani, et al. 2014. "An RNA-Sequencing Transcriptome and Splicing Database of Glia, Neurons, and Vascular Cells of the Cerebral Cortex." *Journal of Neuroscience* 34 (36): 11929–47. doi:10.1523/JNEUROSCI.1860-14.2014.
- Zhu, X., D. E. Bergles, and A. Nishiyama. 2007. "NG2 Cells Generate Both Oligodendrocytes and Gray Matter Astrocytes." *Development* 135 (1): 145–57.

doi:10.1242/dev.004895.

- Zhu, Xiaoqin, Robert a Hill, Dirk Dietrich, Mila Komitova, Ryusuke Suzuki, and Akiko Nishiyama. 2011. "Age-Dependent Fate and Lineage Restriction of Single NG2 Cells." *Development (Cambridge, England)* 138 (4): 745–53. doi:10.1242/dev.047951.
- Ziskin, Jennifer L, Akiko Nishiyama, Maria Rubio, Masahiro Fukaya, and Dwight E Bergles. 2007. "Vesicular Release of Glutamate from Unmyelinated Axons in White Matter." *Nature Neuroscience* 10 (3): 321–30. doi:10.1038/nn1854.
- Zonouzi, Marzieh, Massimiliano Renzi, Mark Farrant, and Stuart G Cull-Candy. 2011. "Bidirectional Plasticity of Calcium-Permeable AMPA Receptors in Oligodendrocyte Lineage Cells." *Nature Neuroscience* 14 (11). Nature Publishing Group: 1430–38. doi:10.1038/nn.2942.
- Zonouzi, Marzieh, Joseph Scafidi, Peijun Li, Brian McEllin, Jorge Edwards, Jeffrey L Dupree, Lloyd Harvey, et al. 2015. "GABAergic Regulation of Cerebellar NG2 Cell Development Is Altered in Perinatal White Matter Injury." *Nature Neuroscience* 18 (5): 674–82. doi:10.1038/nn.3990.