

АДРЕНОРЕАКТИВНЫЕ БЕЛКИ МОЗГА— ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

М. В. ХАНБАБЯН, О. А. НАЗАРЯН, И. Х. ЕРИЦЯН

Ключевые слова: голубое пятно, белки мозга.

Вопросы, связанные с трансинаптической регуляцией биосинтеза макромолекул в нервной клетке, очень важны для понимания таких сложных явлений нервной деятельности как память и обучение [2, 4].

В предыдущих наших работах было показано, что норадренергическая система ствола мозга, образующая синапсы на клетках различных структур мозга, может оказывать значительное влияние на содержание РНК и белков в нейронах этих структур [1, 2], а также на состав белков мозга [3].

Задача настоящего исследования заключалась в выявлении отдельных белковых фракций, подвергающихся длительным норадренергическим синаптическим воздействиям. Изучались воднорастворимые белки мозга, поскольку большинство известных мозгоспецифических белков находится в этой фазе.

Материал и методика Опыты проводились на крысах-самцах линии Вистар массой 180—200 г под уретановым наркозом (1,2 г на кг массы). Активация норадренергических синапсов производилась электрической стимуляцией голубого пятна (*locus coeruleus*) в течение 7 мин при помощи стереотаксически введенного в это ядро электрода (частота стимуляции 20 Гц, напряжение 5—6 В, длительность импульсов 0,5 имп/сек). Через 40 мин после стимуляции животных забивали быстрым обезглавливанием, после чего извлекали головной мозг и выделяли из него в холодных условиях кору больших полушарий (б.п.) и мозжечок, навески которых гомогенизировали в 2 объемах физ. раствора в течение 3 мин. Гомогенат центрифугировали в эфирной среде (2500 об/мин) 55 мин, шприцем отсасывали надосадочную жидкость. Водные экстракты указанных отделов мозга подвергали электрофорезу в полиакриламидном геле. Одновременно исследовали контрольный материал, взятый у интактных животных, не подвергавшихся стимуляции голубого пятна. Денситометрию окрашенных амидошварцем гелей производили на микрофотометре МФ-4. С помощью электрофореза в градиенте концентрации полиакриламидного геля определяли молекулярные массы разделенных белков. Предварительно получали калибровочную кривую. Калибровку вели белками с известными молекулярными массами: трипсин (м. м. 24000), бычий альбумин (м. м. 66000), каталаза (м. м. 60000), РНКаза (м. м. 13700).

Результаты и обсуждение. В нашей предыдущей работе при кратковременной стимуляции (1 мин) были обнаружены определенные сдвиги в составе белкового спектра как в коре б. п., так и в мозжечке. В частности, наблюдалось увеличение одной из белковых фракций (6-й) и уменьшение другой (4-й).

В настоящей же работе при длительной стимуляции (7 мин) норадренергических волокон в обеих исследованных структурах наблюдалось образование новой белковой фракции—1¹.

Белки воднорастворимых экстрактов коры б. п. и мозжечка подразделялись на 10—12 фракций. Стимуляция голубого пятна (*locus coeruleus*) вела к заметным изменениям белкового спектра (состава) коры б. п. Кроме появления новой фракции 1¹, как указывалось выше, наблюдалось увеличение фракций 2, 3 и 6 (рис. 1).

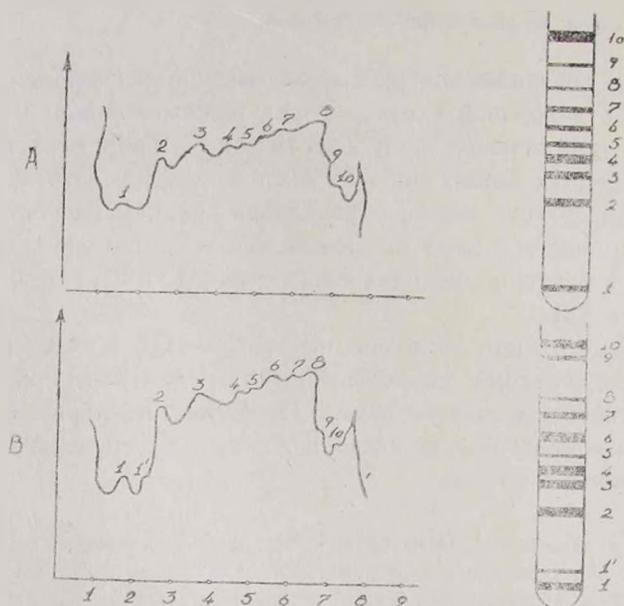


Рис. 1. Денситограммы электрофорезграмм воднорастворимых белков коры больших полушарий (А, В). А—контрольный опыт, В—после стимуляции голубого пятна мозга. По оси ординат—относительное поглощение, по оси абсцисс—размер геля в см.

В белковом спектре мозжечка выявлена следующая картина: фракция 3 уменьшалась, фракция 6 увеличивалась, появлялась новая фракция 1¹ (рис. 2).

Таким образом, как в мозжечке, так и в коре б. п. при длительной стимуляции голубого пятна (*locus coeruleus*) белковая фракция 6 значительно увеличивается. Согласно нашим данным, молекулярная масса фракции 6 приблизительно равна 22000, а электрофоретическая подвижность—0,47. Другая фракция—фракция 1¹—является или новообразованным белком, или субфракцией другого белка. Она имеет низ-

комолекулярную массу, равную приблизительно 12400 и обладает высокой электрофоретической подвижностью—0,9.

Обнаруженные в наших экспериментах значительные сдвиги в составе воднорастворимых белков мозга ставят вопрос об их функциональном значении. Однако данные о функциональной природе отдельных белков, синтез которых специфически изменяется при возбуждении или торможении нейрона, крайне скудны [2]. Можно полагать, что бел-

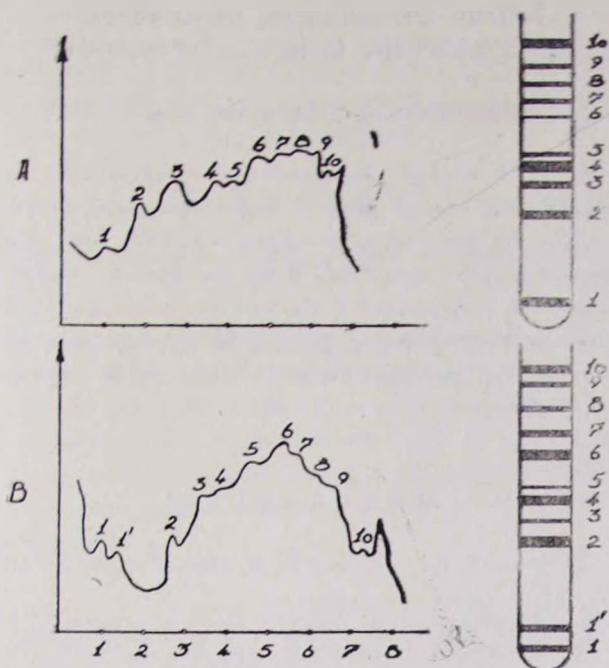


Рис. 2. Денситограммы электрофорезов воднорастворимых белков мозжечка (А, В). А—контрольный опыт, В—после стимуляции голубого пятна мозга. По оси ординат—относительное поглощение, по оси абсцисс—размер геля в см.

ки, подвергающиеся изменениям при стимуляции голубого пятна (locus coeruleus), имеют важное значение для адренергической синаптической передачи. Среди них специфические белки—рецепторы мембран, мембранные, а также цитоплазматические белки постсинаптического нейрона, белки синаптических окончаний, ферментные белки, обеспечивающие медиаторные функции [5, 6].

По некоторым свойствам, в частности, молекулярным массам и электрофоретической подвижности, белки, подвергающиеся сдвигам при стимуляции норадренергических синапсов, соответствуют мозго-специфическим S-100 (фракция 6) и G-350 (фракция 1') [7, 9]. Однако необходимы дальнейшие исследования для идентификации обнаруженных белковых фракций. Хотя S-100 имеет преимущественно глянцевую локализацию, однако он обнаруживается и в субсинаптической мембране нейронов. Что касается белка GP-350, то он обнаруживается в основ-

ном в нервных окончаниях. Таким образом, и локализация этих белков в области синаптических образований говорит в пользу их реактивности при трансинаптических воздействиях.

Институт физиологии им. Л. А. Орбели
АН Армянской ССР

Поступило 1.VI 1981 г.

ՈՒՂԵՂԻ ԱԴՐԵՆՈԱԿՏԻՎ ՍՊԻՏԱԿՈՒՑՆԵՐԻ ԷԼԵԿՏՐԱՖՈՐԵՏԻԿ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

Մ. Վ. ԽԱՆԲԱԲՅԱՆ, Օ. Հ. ՆԱԶԱՐՅԱՆ, Ի. Խ. ԵՐԻՑՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է ուղեղի նորաղբեներգիկ սիստեմի LS-ի էլեկտրագրգուման այդեցությունը ուղեղի ջրալուծ սպիտակուցների կազմի վրա:

Հայտնաբերվել են որոշ փոփոխություններ մեծ կիսագնդերի կեղևի և ուղեղիկի սպիտակուցային կազմում՝ 6-րդ ֆրակցիան ավելանում է երկու ստրուկտուրաներում և առաջանում է մի նոր սպիտակուցային ֆրակցիա 1:

Հաշվել ենք նշված փոփոխվող ֆրակցիաների մոլեկուլային մասսաները: Ենթադրվում է, որ այդ ֆրակցիաները մեծ դեր ունեն նորաղբեներգիկ սինապտիկ մեխանիզմներում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Палладин А. В., Белик Я. В., Поляков Н. М. Белки головного мозга и их обмен. Киев, 312, 1972.
2. Ханбабян М. В., Караманукян А. К., Манукян Л. А. Цитология, 20, 8, 922—925, 1978.
3. Ханбабян М. В., Назарян О. А. Биолог. ж. Армении, 31, 4, 418—421, 1978.
4. Hyden H., Landa P. W. J. Chromat., 35, 1, 336, 1968; Proc. Nat. Acad. of Sciences USA, 67, 4, 1959, 1970.
5. John E. In: Mechanism of Memory. Acad. Press, N—J, London, 1967.
6. Mahler H. In: Advances in Biochemical Psychopharmacology, 1, 49, 1969.
7. Moore B. W. In: Intern Rev. Neurobiol., 15, 215, 1972.
8. Olson L., Fluxé K. Brain Res., 28, 165—172, 1971.
9. Van Nieu Amerongen A., Roukema P. J. Neurochem., 21, 125, 1973.