

МНОЖЕСТВЕННЫЕ ФОРМЫ КАРДИОАКТИВНЫХ НЕЙРОГОРМОНОВ ГИПОТАЛАМУСА

ГАЛОЯН А. А., СРАПЦИОЯН Р. М., КАРАПЕТАН Р. О., АБЕЛЯН Ж. Г.,
СААКЯН Ф. М., СААКЯН С. А., АБРАМЯН С. С., ГРИГОРЯН Л. А.,
ОДАБАШЯН А. Б., БОЧКО И. Ф.

Институт биохимии АН АрмССР, Ереван

Ранее нами были выделены новые гормоны гипоталамо-нейрогипофизарной системы млекопитающих [1]. Первоначально было показано наличие в гипоталамической области мозга крупного рогатого скота трех коронарорасширяющих соединений, условно обозначенных «К», «С» и «Г» [2], а также их регулирующее влияние на сердечную деятельность и коронарное кровообращение [3]. Наиболее изученным является нейрогормон «С» — активный регулятор ряда метаболических процессов. Выявлено его участие в регуляции гликолитических процессов, в частности в сердечной мышце [4], и уровня циклических нуклеотидов посредством ингибирования ФДЭ сАМР [5]. Установлено ингибирующее действие нейрогормона «С» на аспарат-трансферазу [6], сАМР-зависимую протенинкиназу [7] мозга быка. Было показано, что это соединение является низкомолекулярным и, по данным масс-спектрального анализа, относится к гликопептидам [8], резистентно по отношению к денатурирующим агентам, температурным (110°) и ферментативным (протеазы) воздействиям, обнаруживает высокую стабильность к действию щелочей (1 н. NaOH) и кислот (6 н. HCl). При всех описанных условиях он сохраняет в значительной степени (до 70%) биологическую активность. Были обнаружены две молекулярные формы нейрогормона «С» [9].

Имеющиеся экспериментальные данные по изучению двух других нейрогормонов крайне ограничены и не позволяют сделать определенных выводов о биологической роли этой группы соединений.

В настоящем исследовании мы попытались изолировать в гомогенном виде множественные формы кардиоактивных нейрогормонов «К», «С» и «Г» и изучить некоторые их свойства.

Материалы и методы

Кардиоактивные соединения выделяли двумя способами: 1) из уксуснокислого экстракта гипоталамической ткани по методу, описанному ранее [10]; 2) диссоциировали от своих белковых носителей [11].

Гель-фильтрацию низкомолекулярных соединений уксуснокислого экстракта гипоталамусов крупного рогатого скота проводили на колонках с модифицированным и немодифицированным сефадексом G-10. Глицинамидированную обработку сефадекса G-10 вели по методу Steig с некоторыми модификациями [12].

Ионообменную хроматографию проводили на колонках, заполненных ДЭАЭ-и, уравновешенных 0,005 М натрий-фосфатным буфером, pH 6,5. Применяли линейную градиентную элюцию по соответствующей схеме [13], где значительный градиент:

концентрации соли (0,02—0,5 М) сочетался с понижением рН буфера от 6,5 до 5,0. Скорость элюции составляла 20 мл/ч.

Нисходящую хроматографию на бумаге FN-II осуществляли в системе растворителей бутанол—уксусная кислота—вода (4:1:1,5).

Ферментативный гидролиз трипсином и химотрипсином проводили в аммоний-бикарбонатном буфере, рН 8, пепсином—в буферной смеси растворов муравьиной и уксусной кислот, рН 2 в течение 1—24 ч. Соотношение фермент/субстрат поддерживали 1:80.

Кислотный и щелочной гидролиз проводили 6 н. HCl при 110° и 1 н. NaOH при комнатной температуре в течение 1—24 ч.

Активность ФДЭ сАМР мозга крыс определяли по количеству гидролизованного субстрата при его инкубации с ферментом по методу Рёби [24], модифицированному применением радиоизотопного микрометода, предусматривающего разделение продуктов гидролиза с помощью входящей тонкослойной хроматографии на пластинках «Silufol UV-254» [15]. В качестве источника ФДЭ сАМР использовали супернатант гомогената (2000г, 20 мин) мозга крыс. Детально методика описана ранее [5]. Счет радиоактивности продуктов гидролиза сАМР производили на жидкостном сцинтилляционном спектрофотометре SFH—30 (Франция).

Активность фосфоорилазы (КФ 2.4.1.1) определяли в условиях *in vivo* по Shingworth, Cori [16]. В качестве подопытных животных использовали самцов нелинейных белых крыс массой 150—180 г, содержащихся на обычном пищевом рационе. Водные растворы препаратов кардиотропных нейрогормонов вводили животным в яремную вену в количестве 0,1 мл на животное, что соответствовало 0,05 Е биологической активности (условно за 1 единицу активности принимали то количество препарата, которое увеличивало объемную емкость крови, оттекающей из венозных сосудов сердца за единицу времени, на 100%). Через 30 мин животных декалтировали и обработку быстро извлеченных тканей и дальнейшие процедуры проводили по ранее описанной схеме [17]. Активность фосфоорилазы *б* (ФБ) вычисляли по разнице между тотальной фосфоорилазной активностью и активностью фосфоорилазы *а* (ФА). Количество неорганического фосфора определяли по методу Tausky, Shorr [18].

Содержание гликогена в гомогенатах ткани определяли по методу Morris [19].

Биологическое тестирование проводили в условиях *in situ* на кошках под уретановым наркозом по методу Morawitz, Zahn [20].

В работе были использованы следующие реактивы: трипсин («Sigma», США), сефадекс G-10 («Pharmacia», Швеция), диметилформамид («Merck», ФРГ), ДДС-Na, какодиловая кислота, водорастворимый карбонимид («Ferak», ГДР), ДЭАЭ-ц, («Whatman», Англия).

Результаты и обсуждение

На рис. 1 приведена схема различных способов выделения множественных форм кардиотропных нейрогормонов из гипоталамуса крупного рогатого скота. Данные профиля элюции низкомолекулярных соединений уксуснокислого экстракта гипоталамуса, представленные на рис. 2, демонстрируют высокую селективность ДЭАЭ-целлюлозы. Одновременно проводимое биологическое тестирование выявило наличие нейрогормона «Г» (нГ) во фракции, элюируемой в I пике (160—180 мл). Фракция, элюируемая в IV пике, преимущественно содержала нейрогормон «С» (нС) (540—560 мл); последним элюировался нейрогормон «К» (нК)—в V пике (680—720 мл). Фракции, соответ-

ствующие пикам коронароактивности нейрогормонов, объединяли (8—9; 27—28 и 34—36) и лиофилизировали. При гель-фильтрации этих соединений на сефадексе G-25, в свою очередь, обнаруживается их гетерогенность (рис. 3) и, кроме того, отмечено появление второго пика активности в каждой из полученных коронароактивных фракций. Как видно из рис. 3, выявляются существенные различия между про-

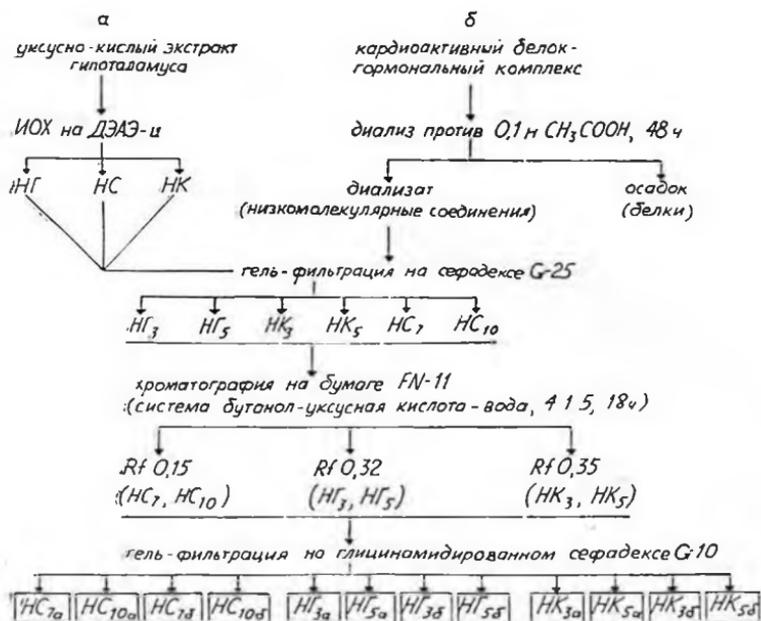


Рис. 1. Основные стадии очистки кардиоактивных нейрогормонов гипоталамуса, выделенных различными способами: а—низкомолекулярные соединения гипоталамуса, экстрагированные из ткани, б—диссоциированные от белковых носителей. В рамках обозначены конечные продукты.

цедиями фильтрации нейрогормональных фракций, проявляющиеся как в интенсивности, так и в количестве обнаруживаемых пептидных соединений (рис. 3, а и 3, б), наряду с ослаблением или исчезновением (рис. 3, а) характерного спектра поглощения при 206 нм. Уместно отметить, что замена фильтра обусловлена тем, что в случае детектирования при 280 нм элюатов, выходящих из колонки G-25 при гель-фильтрации даже концентрированных образцов ИС, не обнаруживались характерные УФ-поглощающие соединения. Примечательно также, как отмечалось выше, появление II пика активности при гель-фильтрации всех кардиоактивных фракций. При разделении фракции ИГ, кроме характерного для него выхода в 3-м объеме элюата, отмечено наличие активности, выходящей в 5-м объеме, в случае гель-фильтрации ИК, наоборот, появление, кроме соответствующей ему зоне

5-го объема, также и в 3-м объеме. При разделении фракции иС активные соединения выявлены в 7- и 10-м объемах элюата. Активные фракции условно обозначали по порядку выхода с колонки как иГ₃ и иГ₅, иК₃ и иК₅, иС₇ и иС₁₀ (рис. 1). Выявленные при детекции иС на 206 нм два спектральных пика не обладают биологической активностью. Пики активности иК, особенно одной из форм—иК₅, совпада-

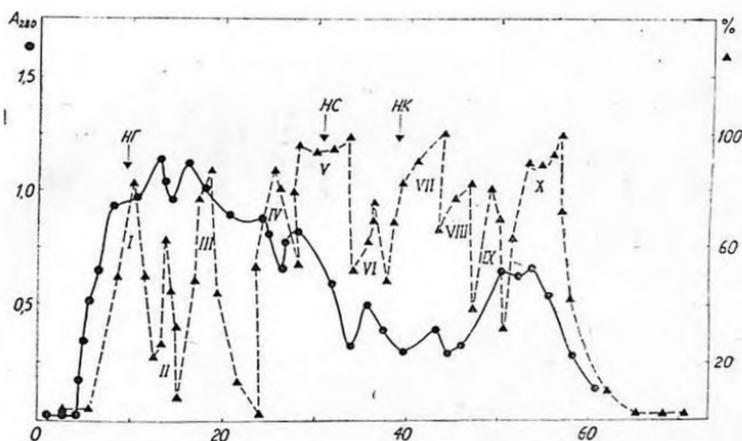


Рис. 2. Профиль элюции низкомолекулярных соединений уксуснокислого экстракта гипоталамуса крупного рогатого скота в ходе хроматографии на колонке с ДЭАЭ-ц (3×60 см). Элюцию проводили линейным градиентом 0,005 М фосфатного буфера, рН 5—6,5 со скоростью 20 мл/ч. Соединения идентифицированы измерением оптического поглощения при 280 нм (●), по степени ингибирования ФДЭ сАМР—нейрогормоном в % (▲), определением коронарорасширяющей активности (измеряли отток крови, оттекающей из венных сосудов сердца за единицу времени); стрелкой обозначены места выхода коронароактивных соединений. По оси абсцисс—номера фракций.

ют с УФ-поглощающим пиком. Аналогичный результат получен с препаратом иГ₃ (рис. 3, а), где отмечено полное совпадение пика активности с УФ-поглощающим соединением. Необходимо отметить, однако, что несмотря на значительную вариабельность как по количественному выходу, так и по относительному содержанию коронароактивных компонентов, описанные 6 фракций по распределительной хроматографии сгруппированы в трех зонах: для фракций иК в зоне с R_f—0,35, иГ—0,32 и иС—0,15.

Исходя из полученных результатов, элюаты фракций, выявляющих коронарорасширяющую активность, были вновь подвергнуты гель-фильтрации на модифицированном сефадексе G-10, позволяющем, как было установлено ранее для иС [12], дифференцировать перекрывающиеся молекулярные кардиоактивные формы. Как видно из полученных данных, иС₇ дополнительно разделяется на иС_{7a} и иС_{10a}, а иС₁₀—на иС_{7b} и иС_{10b} (рис. 1).

Изменение коронарорасширяющей активности нейрогормонов гипоталамуса под влиянием различных факторов. Исследования были проведены на препаратах, полученных на стадии гель-фильтрации ч бумажной хроматографии.

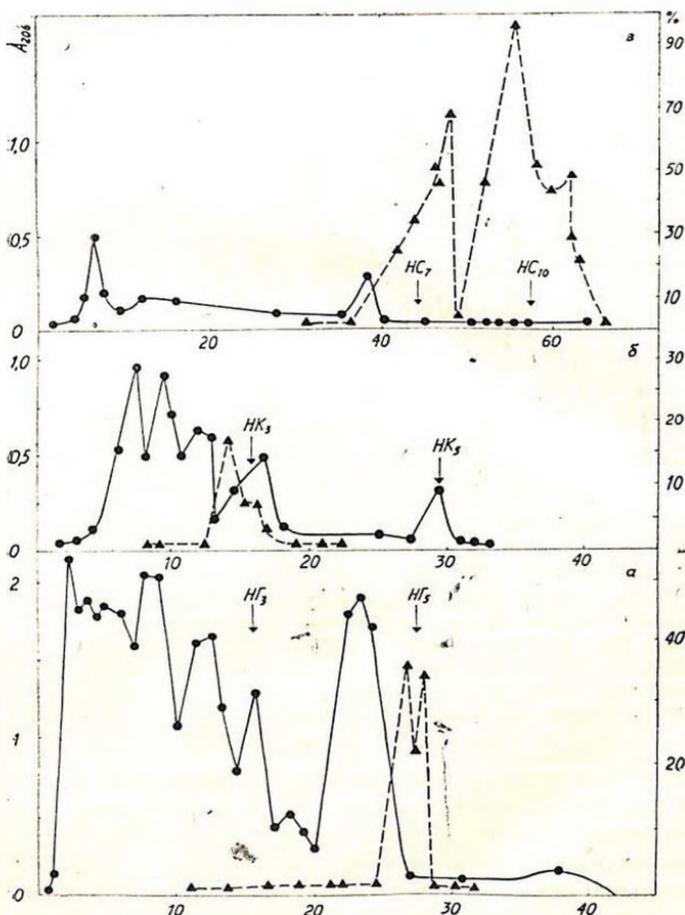


Рис. 3. Гель-фильтрация на колонке с сефадексом G-25 (3×60 см) нейрогормональных кардиоактивных соединений, полученных после ИОХ на ДЭАЭ-ц. Элюцию вели бидистиллированной водой со скоростью 40 мл/ч: а—профиль элюции ИГ, б—ИК, в—ИС. Стрелки показывают места выхода коронарорасширяющих соединений. Обозначения те же, что на рис. 2.

Эксперименты, проведенные на кошках в условиях *in situ*, выявили различный характер воздействия внутривенно введенных нативных препаратов указанных нейрогормонов на изменение объемной емкости

сти крови, оттекающей из венозных сосудов сердца. В отличие от иС, имеющего достаточный латентный период, иГ и иК уже через 10 мин после введения увеличивают отток крови, максимум эффекта отмечается на 30- и 10-й мин соответственно и равен 150—200% по сравнению с нормой. Отсутствует характерное для иС динамичное нарастание эффекта и продолжительность действия сокращается от 4—5 до 2—3 ч.

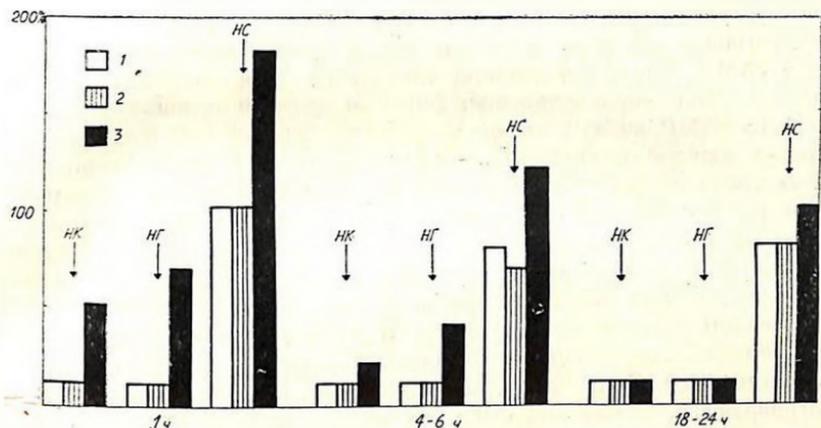


Рис. 4. Биологическая активность кардиоактивных соединений при воздействии различных факторов (%): 1—гидролиз 6 н. HCl при 110°, 2—гидролиз 1 н. NaOH при 37°, 3—протеолиз (трипсин, химотрипсин, проназа, пепсин), фермент-субстратное соотношение 1:80

В следующей серии экспериментов изучали зависимость изменения активности иГ и иК под воздействием различных факторов (температурный, кислотный, щелочной) и денатурирующих агентов. Как явствует из диаграммы, приведенной на рис. 4, иГ и иК оказались неустойчивыми к кислотным (6 н. HCl) и щелочным (1 н. NaOH) условиям, температурной обработке (до 100°), теряя полностью свою пативную активность. В зависимости от продолжительности действия ряда протеолитических ферментов (химотрипсин, трипсин, проназа) иГ и иК либо частично инактивируются (1 ч), либо полностью теряют способность расширять коронарные сосуды сердца (18—24 ч). Активность иС под действием этих факторов, как видно из диаграммы (рис. 4), не подвергается существенным изменениям.

При интерпретации полученных данных, по-видимому, прежде всего надо иметь в виду различную природу этих гормонов и важную роль углеводного компонента иС, достаточно резистентного к описанным воздействиям, в частности к протеолизу. Это объяснение допущается на основании ранее полученных данных масс-спектрального [8] и углеводного [2] анализа, свидетельствующих о гликопептидной

природе этого соединения и о гетерогенности олигосахаридной цепи углеводного компонента.

Изменение активности фосфодиэстеразы (ФДЭ) сАМР под воздействием кардиоактивных нейрогормонов. Исходным пунктом проведения исследований кардиотропных нейрогормонов «К» и «Г» на активность ФДЭ сАМР послужили полученные ранее данные об участии иС в регуляции внутриклеточного уровня циклических нуклеотидов путем ингибирования этого фермента [5]. Как показали результаты ИОХ уксуснокислого экстракта гипоталамической ткани на ДЭАЭ-и, этот регион мозга отличается высокой гетерогенностью ингибирующих ФДЭ сАМР (рис. 2) пептидных соединений. При этом, как видно из рисунка, пики коронарорасширяющей активности совпадают с пиками ФДЭ сАМР ингибирующей активности. Однако в ходе дальнейшей очистки каждой из нейрогормональных фракций гель-фильтрацией через сефадексе G-25 (рис. 3) пики коронарорасширяющей активности лишь в некоторых случаях совпадали с пиками ингибирующей активности (иГ₅—рис. 3, а и иК—рис. 3, б), которая при этом снижалась до 38 и 17% соответственно. Ингибирующая способность иС₇ и иС₁₃, наоборот, по мере очистки возрастала (рис. 3, а). Сопоставление данных свидетельствует о том, что в ряду кардиоактивных нейрогормонов иС занимает особое место по способности в значительной степени ингибировать ФДЭ сАМР мозга, за ним следует иГ, проявляющий слабее ингибирующую активность ФДЭ, что касается иК, то последний теряет указанную способность по мере очистки, присущей, по-видимому, примесным соединениям.

Изменение активности фосфорилазы под действием кардиоактивных нейрогормонов. Исходя из вышеописанных результатов, в частности действия кардиотропных нейрогормонов на активность ФДЭ сАМР, логично было ожидать также изменения активности фосфорилазы. Были изучены изменения в активности общей фосфорилазы и в соотношении двух форм гликогенфосфорилазы—фосфорилазы а (ФА) и б (ФБ), катализирующей распад гликогена до глюкозо-1-фосфата. Результаты исследований по изучению сдвигов в активности вышеуказанного фермента под действием некоторых форм нейрогормонов «К» и «Г» (иК₅ и иГ₃) приведены в табл. 1, 2. Ранее были изучены данные в отношении иС [22]; мы не сочли нужным приводить их в данном сообщении. Как видно из табл. 1, внутривенная инъекция крысам иК₅ в количестве 0,1 мл, которая соответствует 0,05 Е биологической активности, приводила к увеличению тотальной фосфорилазной активности во всех исследуемых органах с разной интенсивностью. При этом, как показывают результаты изучения сдвигов в соотношении между ФА и ФБ, иК₅, по-видимому, не оказывает влияния на переход ФА \rightleftharpoons ФБ в указанных органах, значительное же повышение активности тотальной фосфорилазы с одновременным увеличением двух форм активностей в общем балансе нуждается в дополнительном экспериментальном анализе.

Таблица 1

Влияние нейрого르몬а „К₅“ на активность фосфориллазы (мка Р_i мин/г ткани), n=4

Исследуемая ткань	Общая фосфориллаза		Фосфориллаза а (ФА)		Фосфориллаза б (ФБ)		ФА ФБ	
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
Мозг	4,25±0,8 0,05>	9,5±0,2 p > 0,01	1,0±0,2 p < 0,2	2,8±1,2	3,25±1,18 p < 0,05	6,7±1,8	0,30	0,42
Цепель	3,42±0,5 p < 0,01	10, ±0,8	1,9±0,5 p < 0,2	3,8±1,2	1,52±0,54 p < 0,01	6,7±1,1	1,25	1,52
Сердце	9,2±1,0 p > 0,01	19,8±1,3	1,0±0,2 p < 0,2	2,6±0,1	8,2±0,6 p ≤ 0,1	17,2±1,3	0,12	0,15
Мышца	5,9±1,1 p < 0,1	9,4±1,3	0,4±0,27 p < 0,1	0,7±0,3	5,5±1,3 p < 0,2	8,7±1,4	0,07	0,08
Почка	3,6±0,8 p < 0,02	7,2±0,5	1,3±0,4 p < 0,1	2,5±0,7	2,3±1,4 p ≤ 0,5	4,7±1,3	0,56	0,53

Таблица 2

Влияние нейrogормона „Г₃“ на активность фосфорилазы (мка Р; мигт ткани), n=5

Исследуемая ткань	Общая фосфорилаза		Фосфорилаза а (ФА)		Фосфорилаза б (ФБ)		ФА ФБ	
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
Мозг	4,2±0,8	6,6±0,5	1,0±0,2	2,9±0,6	3,2±1,1	3,7±0,8	0,30	0,78
	p>0,1		p>0,01		p>0,5			
Печень	3,4±0,5	6,3±1,4	1,9±0,5	2,3±1,0	1,5±0,5	4,6±0,5	1,25	0,57
	p>0,005		p>0,5		p>0,1			
Сердце	9,2±1,0	9,7±0,7	1,0±0,2	3,6±1,5	8,2±0,5	6,1±0,5	0,12	0,60
	p<0,5		p>0,1		p<0,5			
Мышца	5,9±1,1	7,2±0,8	0,1±0,2	5,2±3,0	5,5±1,3	2,0±1,1	0,07	2,60
	p≤0,1		p>0,1		p<0,5			
Почка	3,6±0,8	5,0±1,0	1,3±0,36	2,9±1,0	2,3±1,4	2,1±1,0	0,56	1,38
	p>0,05		p>0,2		p>0,2			

Под действием $n\Gamma_3$ четкие изменения наблюдаются в мозгу и скелетной мышце (табл. 2), где на фоне значительного увеличения общего баланса фосфорилазной активности прослеживаются сдвиги в сторону нарастания активности ФА. Нарастание активности ФА, хотя и не столь интенсивное, отмечается также в почках. Известно существование нескольких путей регуляции этого фермента [23]; в данном случае, по-видимому, имеет место ковалентная модификация, проявляющаяся в изменении коэффициента ФА/ФБ. Значительное увеличение коэффициента ФА/ФБ отмечается также в сердечной мышце, где на фоне неизменяющейся общей активности фосфорилазы $n\Gamma_3$ активизирует фермент, переводя его из формы Б в форму А. Полученные результаты позволяют в известной степени судить об усилении гликогенолиза в этих органах. Подтверждением этого предположения, наряду с вышеописанными фактами, послужили данные по изучению изменения содержания гликогена в сердце и скелетной мышце, где отмечается его понижение с $391,0 \pm 11,5$ до $151,0 \pm 27,5$ (на 60%) и 476 ± 94 до 277 ± 88 (на 42%) соответственно.

Согласно полученным данным, последовательность процессов, происходящих в этих органах в результате действия $n\Gamma_3$, можно представить следующим образом. Увеличение коэффициента ФА/ФБ обуславливает гликогенолиз, приводящий к понижению запасов гликогена в этих тканях. С другой стороны, известно, что механизм адренергической стимуляции гликогенолиза *in vivo* включает повышение синтеза сАМР, который ускоряет активацию киназы фосфорилазы с последующим переходом ФА в ФБ. [24, 25]. Выявленное нами увеличение содержания сАМР в мозгу вследствие ингибирования активности ФДЭ, под действием $n\Gamma_3$ хорошо коррелирует с увеличением коэффициента ФА/ФБ, происходящим под его же действием. В свете изложенного становится объяснимой также характерная связь между указанными метаболическими сдвигами и кардиотропным эффектом нейrogормона «Г».

Участие nK_3 и $n\Gamma_3$ в регуляции гликогенолиза в ряде висцеральных органов, судя по полученным данным, очевидно. Отмеченные же различия между действиями этих гормонов можно объяснить, по-видимому, их структурными особенностями.

Резюмируя приведенные данные, можно заключить о существовании множественных форм кардиоактивных нейrogормонов, предполагая их структурное, молекулярное и биологическое различия, исходя из полифункциональной значимости. Однако это допущение нуждается в дальнейшей экспериментальной аргументации, вплоть до расшифровки химической структуры.

MULTIPLE FORMS OF CARDIOTROPIC NEUROHORMONES FROM HYPOTHALAMUS

GALOYAN A. A., SRAPIONYAN R. M., KARAPETYAN R. O., ABELYAN J. G.,
SAAKYAN F. M., SAAKYAN C. A., ABRAMYAN S. S., GRIGORYAN L. A.,
ODABASHYAN A. B., BOCHIKO I. F.

Institute of Biochemistry, Arm. SSR Academy of Sciences, Yerevan

The multiple form of the earlier discovered cardiotropic neurohormones „K“, „C“ and „G“ have been purified from bovine hypothalamus. The multiple forms mentioned differ in molecular weight, biological activity and effect on the activity of cAMP PDE and on that of phosphorylase in brain and other organs.

The detection and identification of these compounds makes it possible to reevaluate their involvement in the regulation of metabolic processes in brain and visceral organs.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Галоян А. А. Докл. АН АрмССР, т. 34, с. 109—151, 1962.
2. Галоян А. А. Вопр. биохимии мозга, Изд-во АН АрмССР, т. 3, с. 291—311, 1967.
3. Галоян А. А. Вопр. биохимии мозга, Изд-во АН АрмССР, т. 13, с. 9—38, 1978.
4. Галоян А. А., Алексанян Р. А. Докл. АН АрмССР, т. 58, с. 183—186, 1974.
5. Галоян А. А., Гурвиц Б. Я., Погосян М. А. Вопр. биохимии мозга, Изд-во АН АрмССР, т. 11, с. 89—97, 1976.
6. Галоян А. А., Галстян Р. Г., Алексанян Р. А. Биол. журн. Армении, т. 28, с. 79—81, 1975.
7. Галоян А. А., Кирикосова А. С., Сарибекян Г. А., Марукян Т. Х. Докл. АН АрмССР, т. 64, с. 242—246, 1976.
8. Галоян А. А., Срапионян Р. М., Медведев Ф. А. Докл. АН АрмССР, т. 66, с. 302—305, 1978.
9. Галоян А. А., Срапионян Р. М., Карапетыан Р. О., Саакян Ф. М., Саакян С. А., Сарибекян Г. А. Докл. АН АрмССР, т. 67, с. 176—179, 1978.
10. Галоян А. А., Алексанян Р. А. Докл. АН АрмССР, т. 37, с. 157—160, 1963.
11. Срапионян Р. М., Джамбазян Т. А., Галоян А. А. Вопр. биохимии мозга, Изд-во АН АрмССР, т. 6, с. 157—160, 1970.
12. Chen M., Creig S., Stoner J. Biochemistry, v. 11, p. 3559—3563, 1972.
13. Срапионян Р. М., Саакян С. А., Галоян А. А. Вопр. биохимии мозга, Изд-во АН АрмССР, т. 11, с. 97—106, 1976.
14. Poch G., Kukowetz W. R. Life Sci., v. 10, p. 133—141, 1971.
15. Бериташвили Д. Р., Кафцани К. А. Вопр. мед. химии, т. 21, с. 322—329, 1975.
16. Pillingworth B., Cori C. T. Biochem. Preparations, v. 3, p. 1—9, 1953.
17. Срапионян Р. М., Саакян С. А., Абелян Ж. Г., Галоян А. А. Нейрохимия, т. 1, с. 36—42, 1982.
18. Tayssky H. K., Shorr E. J. Biol. Chem., v. 202, p. 672—683, 1953.
19. Morris D. E. Science, v. 107, p. 254—262, 1948.
20. Morawitz P. L., Zahn A. Deutsch. Klin. Med., v. 116, p. 364—397, 1914.
21. Срапионян Р. М., Саакян С. А., Галоян А. А. Нейрохимия, т. 2, с. 263—271, 1983.
22. Парсидинян Г. К., Абелян Ж. Г., Галоян А. А. Докл. АН АрмССР, т. 66, с. 164—167, 1978.

23. Lieve F., Glinsmann W. H. Biochem. and Biophys. Res. Commun., v. 50, p. 872—878, 1973.
24. Posner J. B., Stern R., Krebs E. G. J. Biol. Chem., v. 210, p. 982—985, 1965.
25. Namik D. H., Mayer S. E. Mol. Pharmacol., v. 4, p. 61—69, 1968.

Поступила 25. II 1986

УДК 577.112.017.23:612.82+577.112.4

О НАЛИЧИИ НЕЙРОСПЕЦИФИЧЕСКОГО БЕЛКА S-100 В ЛАМИННО-ПОРОВОМ КОМПЛЕКСЕ ЯДЕР КЛЕТОК МОЗГА И ЕГО ВЛИЯНИИ НА ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ БЕЛКОВ ЯДЕРНОЙ МЕМБРАНЫ

КАПРАЛОВ А. А., ТЮЛЕНЕВ В. И., БЕЛНИК Я. В.

Институт биохимии им. А. В. Палладина АН УССР, Киев

Показано, что белок S-100 входит в состав ламинно-порового комплекса ядер мозга. Под влиянием этого белка увеличивается фосфорилирование белков ядерных мембран мозга. Это происходит главным образом за счет белков с величиной M_r около 70 кД. Наряду с этим обнаружены белковые фракции, фосфорилирование которых в этих условиях уменьшается. Высказывается предположение, что действие белка S-100 на белки ядерных мембран и ламинно-порового комплекса обуславливает усиление ядерно-цитоплазматического транспорта РНК и увеличение активности АТРаза ядерных мембран в его присутствии.

В предыдущей работе [1] показано, что нейроспецифический белок S-100 усиливает ядерно-цитоплазматический транспорт РНК и увеличивает активность АТРаза ядерных мембран. Важную роль в процессе транспорта РНК играет ядерная оболочка. Ее особенностью является наличие ламинно-порового комплекса—слоя, прилежащего к внутренней ядерной мембране и морфологически отличающегося от нее [2]. Установлено, что ламинно-поровый комплекс принимает участие в процессах переноса РНК из ядра в цитоплазму [3]. В его состав входит АТРаза ядерных мембран, необходимая для транспорта РНК [4]. Добавление к ядрам антител против обогащенной поровым комплексом фракции ингибирует транспорт РНК и активность АТРаза ядер [5]. В связи с этим можно предположить, что, если белок S-100 участвует в регуляции транспорта РНК, он может входить в состав ламинно-порового комплекса.

Регуляция белком S-100 транспорта РНК и активности АТРаза может осуществляться посредством воздействия его на процесс фосфорилирования—дефосфорилирования. Так, имеются данные о том, что белок S-100 увеличивает уровень фосфорилирования ряда ядерных белков [6, 7].