

УДК 591.481.1+612.8

ОСОБЕННОСТИ ФРАКЦИОННОГО СОСТАВА ПОЛИПЕПТИДОВ ТРЕХ ГРУПП НЕЙРОНОВ МОЗГА КРЫСЫ

Веретенников Н.А., Леонтович Т.А.

Институт мозга ВНЦ психического здоровья АМН СССР, Москва

В последнее время получены данные о наличии белков, специфичных для идентифицированных нейронов беспозвоночных животных [1, 2], для нейронов определенного типа мозга млекопитающих (крысы) — клеток Пуркиньи [3—5] и показана антигенная неоднородность разных видов нейронов некоторых образований мозга млекопитающих [6—11] с использованием иммунологических и биохимических методов.

Целью настоящего исследования было определение особенностей фракционного состава полипептидов функционально различных классов нейронов: релейных—сенсорных—(ННКТ) наружного коленчатого тела, гигантских мультиполярных (НГЯ) — интегративно-пусковых — [12] гигантоклеточного ретикулярного ядра продолговатого мозга и пирамидных (НСА) — ассоциативных — CA_3 — CA_4 полей гиппокампа.

Нейроны из ткани мозга 64 взрослых крыс линии *Wistar* извлекали при помощи модифицированного нами [13] метода микроманипуляции по Hyden [14]. Экстракцию полипептидов производили в одинаковых условиях: нейроны помещали в 0,5 мкл буфера, содержащего 2% ДДС-Na и 5% 2-меркаптоэтанола, приготовленных на 0,0625 М трис-HCl с pH 6,8. Для каждого анализа требовалось по 20 НГЯ, или 25 НСА, или 30 ННКТ. Образцы термостатировали 30 мин при 60°.

Фракционирование образцов, сканирование электрофореграмм, обсчет полученных денситограмм и статистическую обработку проводили, как было описано ранее [15]. Всего были проанализированы 24 денситограммы для НГЯ, 22 — для НСА и 18 — для ННКТ.

При фракционировании на 15%-ных ПААГ определено 17 фракций полипептидов у НГЯ и по 15 фракций — у НСА и ННКТ (рисунок, табл. 1, 2).

При экстракции полипептидов в идентичных условиях найден целый ряд фракций, различающихся у каждого из исследованных классов нейронов по относительным концентрациям полипептидов в них и локализующихся также в низкомолекулярном диапазоне. Так, фракции с величиной M_r 20,3 кД (4) и с величиной M_r 10,8 кД (7) в НСА достоверно больше соответствующих им фракций (4) и (7) в НГЯ (более чем в 1,8 раз), не имея достоверных различий от тех же фракций у ННКТ. Фракции с M_r 16,2 кД (5) и с величиной M_r 12,3 кД (6) у НСА достоверно превосходят соответствующие им фракции у ННКТ и НГЯ (достоверно не различают

щихся) более чем в 1,6 раз. Достоверно больше содержится полипептидов

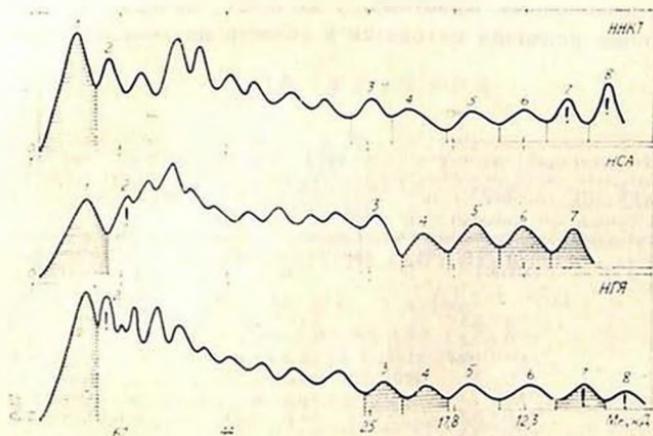


Рис. Специфичные для указанных классов нейронов полипептиды найдены в основном в низкомолекулярных фракциях. В НГЯ это полипептиды с M_r 8,8 кД из фракции (8), а ННКТ — с M_r 9,5 кД (8). В НГЯ преобладают полипептиды с M_r 10,7 кД из фракции (7), а в ННКТ — с M_r 11,2 кД (7); НСА в большей мере присущи полипептиды с M_r 64,6 кД (2), а для НГЯ — 70,6 кД (2).

Таблица 1

Подвижности R_f полипептидных фракций гигантских мультиполярных нейронов продолговатого мозга, релейных нейронов таламуса и пирамидных нейронов гиппокампа (в относительных единицах $\times 10^{-3}$, получены делением миграционных расстояний каждой полипептидной фракции к таковому цитохрома С1).

№ пика	Релейные нейроны (ННКТ)	Пирамидные нейроны (НСА)	Гигантские мультиполярные нейроны (НГЯ)
1	83,0 ± 11,3	106,0 ± 8,1	98,0 ± 9,1
2	148,0 ± 14,4 (2)	176,0 ± 11,0 (2)	132,0 ± 9,8 (2)
3	211,0 ± 16,3	221,0 ± 12,8	162,0 ± 9,9
4	290,0 ± 17,0	271,0 ± 12,8	192,0 ± 10,6
5	331,0 ± 15,6	306,0 ± 12,9	236,0 ± 11,6
6	388,0 ± 16,4	350,0 ± 12,3	276,0 ± 12,0
7	445,0 ± 20,3	418,0 ± 11,7	333,0 ± 10,3
8	521,0 ± 21,1	476,0 ± 14,3	380,0 ± 10,0
9	590,0 ± 20,4	546,0 ± 16,1	448,0 ± 10,9
10	679,0 ± 18,7	609,0 ± 15,3	523,0 ± 12,7
11	756,0 ± 20,1	682,0 ± 14,0	610,0 ± 12,0
12	891,0 ± 16,1	790,0 ± 11,1	697,0 ± 11,4
13	1000 ± 0	904,0 ± 7,1	793,0 ± 7,9
14	1087,0 ± 7,9 (7)	1000 ± 0	893,0 ± 6,2
15	1176,0 ± 12,2 (8)	1104,0 ± 7,5 (7)	1000 ± 0
16			1113,0 ± 8,4 (7)
17			1214,0 ± 11,9 (8)

в фракциях с величиной M_r 24,4 кД (3) у НСА и ННКТ (достоверно не различающихся) по сравнению с таковой НГЯ. И, наконец, достоверно различаются по относительным концентрациям полипептидов фракции M_r 75,3 кД (1) всех трех классов нейронов: максимальна она у НГЯ, меньше—

у НККТ и минимальна — у НСА.

Наши данные подтверждают работы [1, 2] на идентифицированных нейронах беспозвоночных животных, у которых основные качественные и количественные различия находятся в области низкомолекулярных

Таблица 2

Относительные концентрации полипептидов во фракциях у гигантских мультиполярных нейронов продолговатого мозга, релейных нейронов таламуса и пирамидных нейронов гиппокампа (в относительных единицах $\times 10^{-3}$, получены делением площади каждого пика на денситограмме к суммарной площади всей денситограммы).

№ пика	Релейные нейроны (НККТ)	Пирамидные нейроны (НСА)	Гигантские мультиполярные нейроны (НГЯ)
1	143,0 ± 10,7 (1)	87,0 ± 11,1 (1)	184,0 ± 11,3 (1)
2	92,0 ± 8,8	84,0 ± 5,5	105,0 ± 7,3
3	77,0 ± 7,2	88,0 ± 9,6	75,0 ± 5,6
4	135,0 ± 10,4	99,0 ± 5,5	94,0 ± 8,5
5	112 ± 9	83,0 ± 8,7	96,0 ± 10,0
6	74,0 ± 7,7	80,0 ± 6,3	91,0 ± 7,8
7	63,0 ± 6,1	55,0 ± 3,5	63,0 ± 6,1
8	50,0 ± 5,8	60,0 ± 6,2	49,0 ± 3,4
9	44,0 ± 5,3	54,0 ± 4,7	48,0 ± 4,7
10	42,0 ± 5,3 (3)	56,0 ± 4,2	43,0 ± 4,0
11	30,0 ± 4,7 (4)	54,0 ± 5,3 (3)	44,0 ± 5,2
12	26,0 ± 5,3 (5)	37,0 ± 3,6 (4)	28,0 ± 2,7 (3)
13	29,0 ± 5,2 (6)	49,0 ± 6,1 (5)	20,0 ± 2,3 (4)
14	31,0 ± 4,3 (7)	46,0 ± 4,5 (6)	24,0 ± 2,9 (5)
15	42,0 ± 6,6	42,0 ± 7,2 (7)	27,0 ± 3,0 (6)
16	—	—	21,0 ± 2,8 (7)
17	—	—	12,0 ± 2,0

белков и менее выраженные — в высокомолекулярных. В работах по определению особенностей белкового состава иммунологическими и биохимическими методами клеток Пуркинье крысы и мыши также была показана их локализация преимущественно в низкомолекулярной области — M_r 23 кД [3] и M_r 27 кД [5], и в меньшей степени — высокомолекулярной с M_r 74 кД [3]. Таким образом, данные литературы в сочетании с результатами нашего исследования развивают положение о том, что специфика фракционного состава полипептидов нейронов различных классов связана с их морфофункциональными особенностями.

SOME PECULIARITIES OF COMPOSITION OF THREE DIFFERENT GROUPS NEURONS OF RAT BRAIN

Veretennikov N.A., Leontovich T.A.

Brain Research Institute, National Research Centre of Mental
Health, USSR Academy of Medical Sciences, Moscow

Specific polypeptides were identified in three different groups of rat brain neurons: magnocellular multipolar neurons of *n. reticularis gigantocellularis*, relay sensory neurons of *corpus genicularis lateralis* and pyramidal neurons of the pyramidal layer of CA₃-CA₅ fields of hippocampus. Material was collected by modified free hand neuron dissection method and analyzed by SDS slab gel microelectrophoresis. Specific polypeptides were detected for every class of

investigated neurons. Their molecular masses were mostly in the range 8.8-24.3 kD, though a small fraction with molecular weights of 64.6-75.3 kD was also detected.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gainer H. *Anal. Biochem.*, v. 44, N2, p. 589—605, 1971.
2. Loh Y.P., Peterson R.P. *Brain Res.*, v. 78, N 1, p. 83—96, 1974.
3. Schlichter D.J., Detre J.A., Asward D.W., Chehra I.B., Greengard P. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA, Biol. Sci.*, v. 77, N 9, p. 5537—5541, 1980.
4. De Camilly P., Miller P.E., Levitt P., Walter U. *Neuroscience*, v.11, N4, p.761—817, 1984.
5. Yamakuni T., Usui H., Iwanaga T., Odani S., Takahashi Y. *Neurosci. Lett.*, v. 45, N 3, p. 235—240, 1984.
6. Barnstable C. *Nature*, v. 286, N 570, p. 231—235, 1980.
7. McKay R., Hockfield S. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, v. 79, N 21, p. 6747—6751, 1982.
8. Herrup K. *Trends Neurosci.*, v. 223, N 10, p. 361—362, 1984.
9. Levitt P. *Science*, v. 7, N 4633, p. 299—301, 1984.
10. Fujita S.C., Mori K., Imamura K., Obata K. *Brain Res.*, v. 326, N 21, p. 192—196, 1985.
11. Yats C.M., Laslo I., Pink G., Hastings I., Boyd J., James K. *Neuroscience*, v. 18, N 1, p. 183—191, 1986.
12. Леонтович Т.А. Нейронная организация подкорковых образований переднего мозга. — М., Медицина, 1978.
13. Микичур Н.И., Веретенников Н.А. — В сб.: *Новые методы для медицинской практики и медико-биологических исследований (под ред. Ю.П. Никитина)*, с. 50—52, Новосибирск, ред.-изд. отдел СО АМН СССР, 1983.
14. Huden H. *Nature*, v. 184, N 4684, p. 433—435, 1959.

Поступила 20.03.1989