



УДК 577.15+577.3+591.39

ВЛИЯНИЕ НЕЙРОСПЕЦИФИЧЕСКОГО БЕЛКА S-100 НА  
АТРАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ МОЗГА

СИМОНЯН А. А., \*БОДЬЕ Ж., \*\*ХАГЛИД К. Г.

Институт биохимии АН АрмССР, Ереван

\*Лаборатория физики Института фармацевтических наук, Страсбург, Франция

\*\*Институт нейробиологии Гетеборгского университета, Швеция

Благодаря фундаментальным исследованиям, проведенным в лаборатории Н. Нуден, была обнаружена функциональная взаимосвязь между белком S-100, окислительным фосфорилированием и процессом трансмембранного переноса ряда ионов и аминокислот [1]. Было высказано предположение о возможном взаимодействии белка S-100 и  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРаза, которое нашло экспериментальное подтверждение [2].

Далее было обнаружено, что нейроспецифический белок S-100 повышает фосфорилирование определенной группы белков [3] и стимулирует активность АТРаза во фракции мембран ядер [4, 5] головного мозга.

Первоначально предполагалось, что белок S-100 является гомогенным, однако позднее выяснилось, что он состоит из двух компонентов, относящихся к  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимым (S-100a) и  $\text{Zn}^{2+}$ -зависимым (S-100b) белкам [6—7]. Определение величины  $M_r$  в присутствии ДДС-На показало, что белок S-100b состоит из двух идентичных  $\beta$ -субъединиц, а белок S-100a из субъединиц  $\alpha$  и  $\beta$  с  $M_r$  10,5 кД каждая [6]. Таким образом, оба белка содержат  $\beta$ -субъединицу в качестве общего структурного компонента, хотя не исключены аминокислотные различия в структуре  $\beta$ -субъединицы из белков S-100a и S-100b. Первичная структура  $\alpha$ -субъединицы гомологична таковой  $\beta$ -субъединицы, но характеризуется наличием единичного триптофана и цистеина [6]. Добавление  $\text{Ca}^{2+}$  изменяет конформацию белка S-100 [4, 5], при этом происходит образование дисульфидных мостиков между двумя из трех молекул цистеина, входящих в его состав [8].

С целью изучения роли нейроспецифических белков S-100a и S-100b в энергетическом метаболизме нервной ткани в данной работе было исследовано их влияние на АТРАЗНУЮ активность в различных

субклеточных фракциях (митохондрии, синапсомы, миелин) мозга монгольской песчанки.

Опыты проводили на самцах монгольских песчанок массой 100—120 г. Методы гомогенизации ткани мозга, выделения субклеточных фракций приведены в предыдущей работе [9]. Об активности АТРазы судили по нарастанию  $P_i$  в следующей инкубационной среде:  $Ca^{2+}$ —0,1—0,5 мМ, АТР—1,2 мг в пробу и субклеточные фракции, соответствующие 0,5—1,0 мг белка; объем смеси—1,0 мл. Время инкубации—30 мин при 37°.  $P_i$  определяли спектрофотометрическим методом Lowry, Lopez [10]. Полученные данные пересчитывали на мг белка, который определяли по Lowry и соавт. [11].

Белок S-100 был выделен и очищен из ткани мозга быка методом Moore [12] и Nika и соавт. [13, 14]. Белок S-100a получен по Isobe и соавт. [15] и Deinum и соавт. [16] с некоторыми модификациями Baudier и соавт. [17]. Белок S-100b получен Zn-зависимой аффинной хроматографией по Baudier и соавт. [18]. Чистоту антигенных препаратов контролировали электрофорезом в 20%-ном ПААГ с мочевиной и ДДС-Na [17].

Таблица 1

Влияние белков S-100a и S-100b на АТРазную активность ( $\Delta P$  в мкатомах/мг белка) в субклеточных фракциях мозга монгольской песчанки

Условия опыта	Мозг				Печень		
	митохондрии	% активации	синапсомы	% активации	миелин	% активации	митохондрии
Контроль	25,9 $\pm$ 2,1 (8)		39,5 $\pm$ 2,8 (8)		29,1 $\pm$ 4,2 (9)		13,8 $\pm$ 1,0 (8)
Белок S-100a	52,4 $\pm$ 4,6 (16) $p < 0,001$	102,5	43,1 $\pm$ 2,3 (12)	9,1	64,1 $\pm$ 6,9 (18) $p < 0,001$	120,4	13,7 $\pm$ 0,5 (16)
Белок S-100b	72,1 $\pm$ 7,6 (16) $p < 0,001$	178,4	46,0 $\pm$ 2,4 (12)	16,6	60,3 $\pm$ 3,4 (18) $p < 0,001$	107,2	14,4 $\pm$ 0,5 (16)

Примечание. Белок S-100a или белок S-100b добавляли в количестве  $1,4 \cdot 10^{-6}$  М ( $10 \mu\text{г/мл}$ ) на 0,5—1,0 мг белка. Здесь и в табл. 2 в скобках указано количество опытов.

Полученные результаты (табл. 1) показывают, что под влиянием белка S-100a активность АТРазы в митохондриях мозга повышается более чем в 2 раза. В присутствии такого же количества белка S-100b активность фермента составляет 178,4% по сравнению с контролем. Активирующее влияние белков S-100a и S-100b в синапсомной фракции АТРазы значительно менее выражено и составляет всего 9,1 и 16,6% соответственно. Заметный эффект активирования белком S-100 отмечался в отношении АТРазы миелиновой фракции мозга. В опытах с белком S-100a активирование составляло 120,4%; более чем вдвое повышалась активность фермента в присутствии добавленного белка S-100b.

Представляло интерес сравнительное изучение влияния нейроспецифического белка S-100 на активность АТРазы в изолированных митохондриях

хондриях печени монгольской песчанки. Данные, приведенные в табл. 1, показывают, что добавление белков S-100a или S-100b не вызывает сдвигов в активности фермента в митохондриях печени и не оказывает влияния на активность АТФазы митохондриальной фракции печени также при совместном добавлении с  $Ca^{2+}$  или  $Zn^{2+}$  (табл. 2). Это дает основание полагать, что активирование АТФазы в субклеточных образованиях мозга белками S-100a и S-100b является специфическим процессом, присущим только нервным клеткам.

Интересные результаты получены при использовании белков S-100a и S-100b в качестве активатора АТФазы в отдельных фракциях мозга с  $Ca^{2+}$  и  $Zn^{2+}$  соответственно. Как показывают результаты этих исследований (табл. 2), при совместном добавлении  $Ca^{2+}$  и белка S-100a активность АТФазы в митохондриях мозга монгольской песчанки повышается на 32,5% по сравнению с пробами, содержащими только  $Ca^{2+}$ . В этих же условиях активирование фермента в присутствии  $Zn^{2+}$  и белка S-100b составляет 12,8 и 11,9% (при концентрации цинка 0,5 и 0,1 мМ соответственно).

В синапсомной фракции мозга по существу не отмечается активирования АТФазы при совместном добавлении соответствующих ионов и белка S-100a и S-100b.

Совместное добавление белка S-100a и S-100b и  $Ca^{2+}$  или  $Zn^{2+}$  достоверно повышает активность АТФазы в миелиновой фракции мозга. Так, активирование фермента в присутствии  $Ca^{2+}$  и S-100a составляет 29,0% по сравнению с  $Ca^{2+}$ . Активирование фермента белком S-100b в присутствии  $Zn^{2+}$  обратно пропорционально концентрации добавленного цинка: при добавлении 0,5 мМ  $Zn^{2+}$  оно составляет 35%, а в присутствии 0,1 мМ достигает 85%.

Таблица 2

Влияние белков S-100a и S-100b и двухвалентных катионов на АТФазную активность ( $\Delta P$  в мкатомах/мг белка) в субклеточных фракциях мозга монгольской песчанки

Условия опыта	Мозг					Печень митохон- дрии
	митохон- дрии	% акти- вации	синапсомы	миелин	% акти- вации	
$Ca^{2+}$ 0,5 мМ	76,2 $\pm$ 9,5 (16)		51,7 $\pm$ 2,5 (12)	107,0 $\pm$ 12,2 (18)		23,3 $\pm$ 0,6 (16)
$Ca^{2+}$ 0,5 мМ S-100a	101,0 $\pm$ 7,9 (16)	32,5	53,3 $\pm$ 2,7 (12)	138,1 $\pm$ 8,6 (18)	29,0	23,9 $\pm$ 0,9 (16)
$Zn^{2+}$ 0,5 мМ	142,7 $\pm$ 7,7 (16)		52,5 $\pm$ 1,7 (8)	95,1 $\pm$ 5,3 (18)		19,7 $\pm$ 0,6 (16)
$Zn^{2+}$ 0,5 мМ S-100b	161,0 $\pm$ 8,3 (16)	12,8	55,8 $\pm$ 1,9 (8)	128,4 $\pm$ 13,2 (18)	35,0	19,5 $\pm$ 1,0 (16)
$Zn^{2+}$ 0,1 мМ	119,7 $\pm$ 7,5 (16)		54,4 $\pm$ 2,7 (8)	73,4 $\pm$ 7,5 (16)		17,4 $\pm$ 0,5 (16)
$Zn^{2+}$ 0,1 мМ S-100b	134,0 $\pm$ 9,7 (16)	11,9	58,3 $\pm$ 2,8 (8)	135,8 $\pm$ 23,3 (16)	85,0	18,4 $\pm$ 0,6 (16)
	p<0,4			p=0,025		
				p<0,01		

Таким образом, полученные результаты позволяют заключить, что под влиянием белка S-100 заметно активируется катаболизм макроэргов головного мозга. Этот процесс интенсивно протекает в изолированных митохондриях и миелиновой фракции и гораздо менее заметно — в синапсосомах мозга.

Авторы выражают признательность д-ру А. Хамбергеру за советы и содействие при выполнении работы.

## EFFECT OF S-100 PROTEIN ON THE ATPase ACTIVITY IN BRAIN

SIMONIAN A. A. \*BAUDIER J. \*\*HAGLID K. G.

Institute of Biochemistry, ArmSSR Acad. Sci., Yerevan

\*Institute of Neurobiology, University of Goteborg, Sweden

\*\*Laboratoire de Physique, ERA, UER des Sciences Pharmaceutiques, Strasbourg, France

The effect of the purified components of S-100 protein—S-100a and S-100b—on the ATPase activity was examined in mitochondria, myeline and synaptosomes of the mongolian gerbils brain. S-100a protein significantly activates the  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent ATPase in mitochondria and myeline; the same is the effect of S-100 on the activity of  $\text{Zn}^{2+}$ -dependent ATPase. Data obtained are discussed in view of the possible involvement of S-100 protein in nervous tissue bioenergetics.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Hyden H.—In: Biological Psychiatry Today, p. 177—188, Amsterdam, Elsevier, 1979.
2. Полтаев А. В., Грудень М. А. Нейрохимия, т. 4, № 3, с. 245—253, 1985.
3. Тюленев В. И., Капралов А. А., Смерчинская Л. С., Белик Я. В. Биохимия, т. 48, № 5, с. 827—831, 1985.
4. Капралов А. А., Тюленев В. И., Назаренко В. И. Нейрохимия, т. 5, № 2, с. 219—220, 1986 (деп. в ВИНТИ, № 3112—В86).
5. Капралов А. А., Тюленев В. И., Белик Я. В. Нейрохимия, т. 5, № 4, с. 365—370, 1986.
6. Isobe T., Ishioka N., Okuyama T. Eur. J. Biochem., v. 115, p. 469—474, 1981.
7. Isobe T., Okuyama T. J. Neurochem., v. 37, p. 522—524, 1981.
8. Палладин А. В., Смерчинская Л. С. Укр. биохим. журн., т. 41, № 3, с. 398—406, 1971.
9. Симонян А. А., Степанян Р. А., Восканян Л. О. Биол. журн. Армения, т. 31, № 11, с. 1181—1186, 1978.
10. Lowry O. H., Lopez J. A. J. Biol. Chem., v. 162, p. 421, 1946.
11. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Biol. Chem., v. 193, p. 265, 1951.
12. Moore B. W. Biochem. and Biophys. Res. Commun., v. 19, p. 739—744, 1965.
13. Nika H., Haglid K. G., Wronsky A., Hansson H. A. J. Neurochem., v. 39, p. 601—612, 1982.

14. Nika H., Haglid K. G., Wronsky A., Hansson H. A.—In: Proteins of the Biological Fluids. Proceedings of the thirtieth colloquium, p. 33—42, N. Y., Pergamon Press, 1982.
15. Isobe T., Nakajima G., Okuyama T. Biochim. et Biophys. acta, v. 494, p. 222—231, 1977.
16. Deinum J., Baudier J., Briving C., Rosengren L., Wallin M., Gerard D., Haglid K. FEBS Lett., v. 163, № 2, p. 287—291, 1983.
17. Baudier J., Mandel P. G., Gerard D. J. Neurochem., v. 40, p. 145—152, 1983.
18. Baudier J., Holtzcherer Ch., Gerard D. FEBS Lett., v. 148, № 2, p. 231—234, 1982.

Поступила 15. VIII 1986.

---

*Антидепрессанты и функция рецепторов. 123-й симпозиум фонда Ciba (пер. с англ.). J. Willey and Sons, 302 с., 1986.*

*Antidepressants and Receptor Function. Ciba Foundation Symposium 123 (Ed. by R. Portera and G. Bock). J. Willey and Sons Ltd., Baffins Lane, England, 302 p., 1986.*

В книге представлены труды симпозиума по антидепрессантам и функции рецепторов (Лондон, 19—21 ноября 1985 г.). Описываются различные методы исследования связей между системами моноаминов, депрессией и применяемыми для ее лечения антидепрессантами. Обсуждаются новые данные о рецепторах и участках, по которым осуществляется захват моноаминов в мозгу и периферических тканях. Особое внимание уделено  $\alpha$ - и  $\beta$ -адренорецепторам, участкам связывания [ $^3$ H]импрамина и серотониновым рецепторам. Приводятся данные мониторинга аминометаболитов в спинномозговой жидкости и результатов изучения нейроэндокринных, физиологических и поведенческих реакций в ответ на введение фармакологических агентов, что служит источником информации о моноаминергических функциях у больных, страдающих депрессией, и у подопытных животных в ходе и после лечения антидепрессантами или электроконвульсивным шоком. Рассмотрено значение генетических факторов в степени доступности рецепторов при лечении депрессивных состояний, для чего использованы подходящие модели заболеваний на подопытных животных, например, обусловленное стрессом подавление поведенческих реакций у крыс или воздействие социальных стрессоров на макаку-резус. Книга предназначена для нейрофармакологов, психофармакологов и специалистов, изучающих поведенческие реакции.