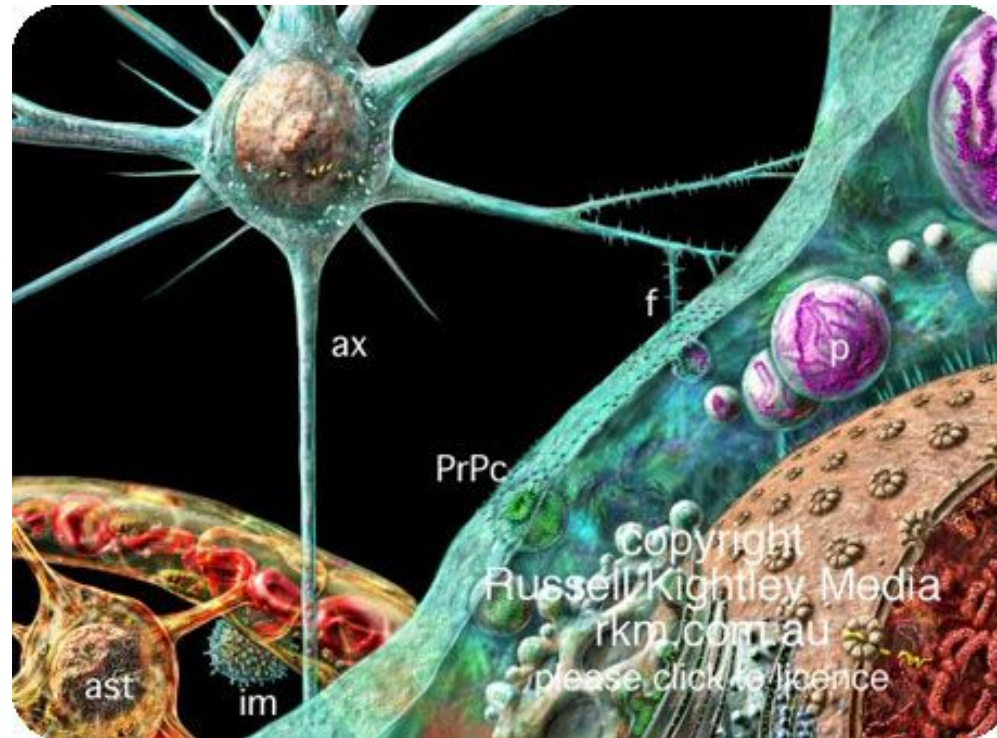




Белки нервной системы: нейроспецифические Ca^{2+} -связывающие белки, белки адгезии и межклеточного узнавания, нейроферменты, белки миелина, глии, регуляторные и транспортные нейроспецифические белки

Критерии специфичности белков нервной ткани:

а) наличием их преимущественно в нервной ткани, причем их количество должно существенно превышать таковое в остальных тканях животного организма, - условный, но общепринятый критерий; б) участием этих белков в реализации специфических функций нервной системы, например процессах генерации и проведения нервного импульса, установлении межклеточных контактов в нервной ткани, регуляции проницаемости ионных каналов, в механизмах обучения и формировании памяти; в) тесной взаимосвязью между биоактивностью нейроспецифических белков и функциональным состоянием нервной системы.

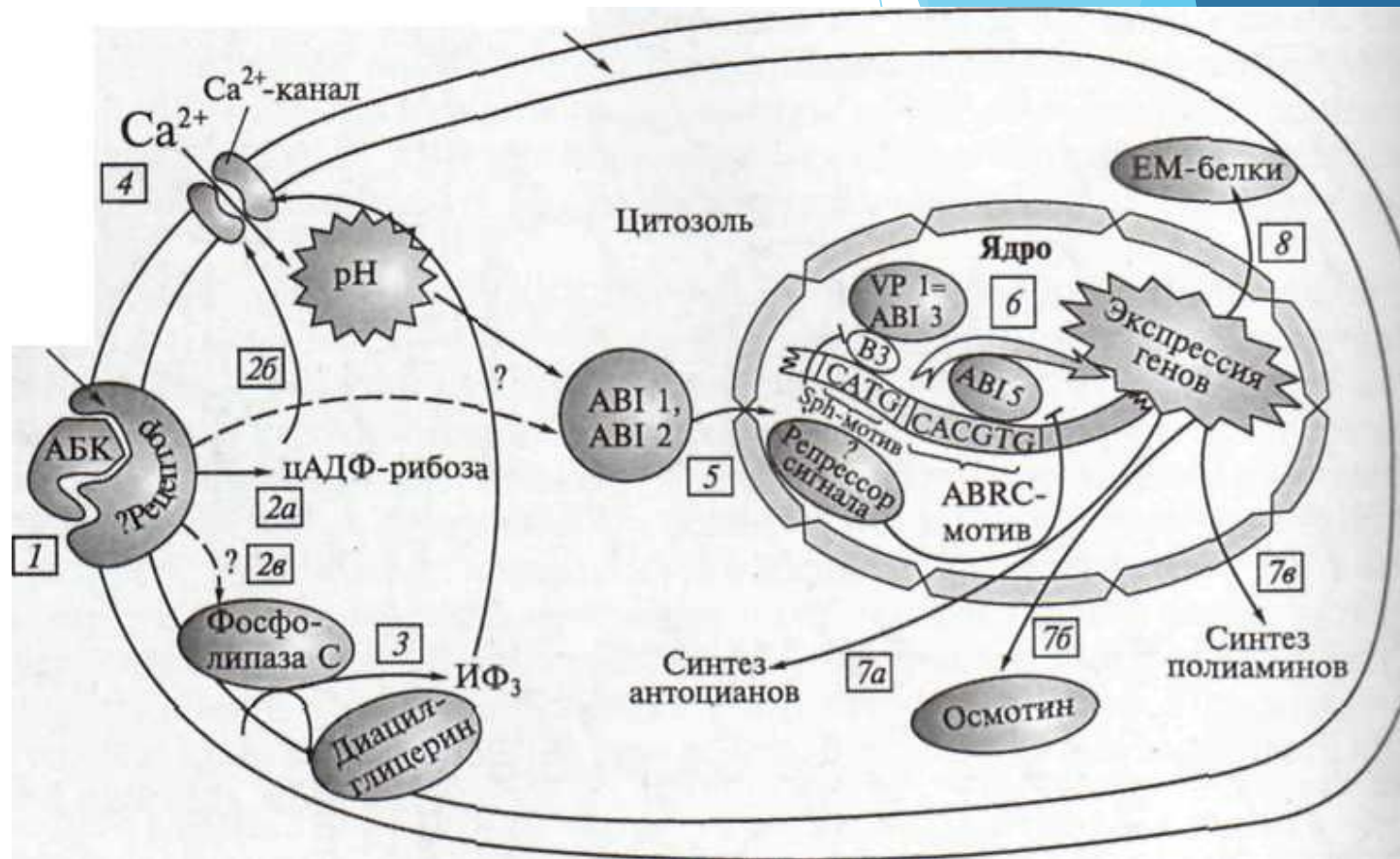


Идентификация нейроспецифических белков может быть осуществлена различными способами:

- 1) сравнением белкового спектра мозга с белковыми спектрами других органов, в том числе путем наложения электрофореграмм после двумерного электрофореза; при этом могут быть выявлены как новые белки, характерные только для нервной ткани, так и их изоэлектрические точки, молекулярные массы, субъединичный состав и даже примерное количество;
- 2) с использованием иммунохимических методов, позволяющих определить нейроспецифические антигенные детерминанты, в том числе методом моноклональных антител и с помощью истощенных антисывороток; обработанные таким образом антисыворотки содержат антитела только к нейроспецифическим антигенным детерминантам;
- 3) с помощью направленного поиска нейроспецифических белков в различных участках и отделах мозга, в клеточных популяциях и в субклеточных структурах;
- 4) с помощью направленного поиска нейроспецифических изоферментов путем выявления ферментативной активности уже известных ферментов у вновь выделенных нейроспецифических белков;
- 5) с использованием методов генной инженерии, когда в качестве исходного материала применяется м-РНК мозга, с которой транскрибируется характерный нейроспецифический белок;
- 6) посредством «дедуктивного» определения аминокислотных последовательностей белков нервной ткани - по нуклеотидным последовательностям генетической ДНК и м-РНК.

Неферментные Ca^{2+} -связывающие белки

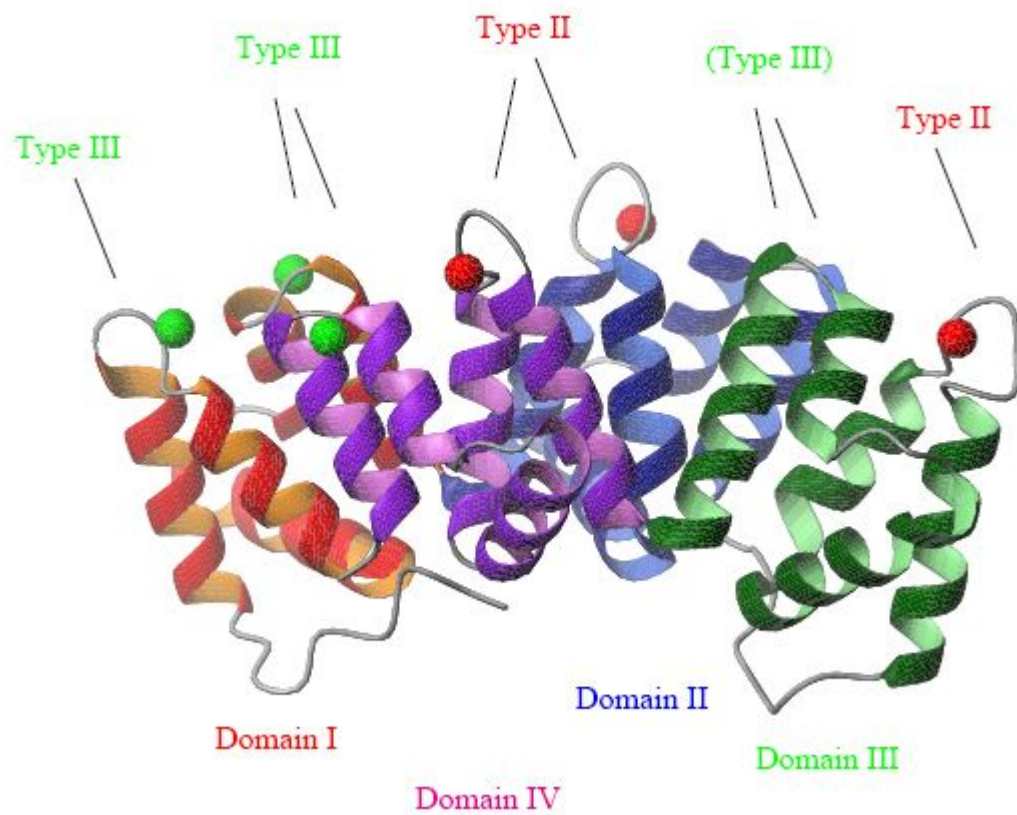
Очень многие белки ЦНС так или иначе взаимодействуют с ионами Ca^{2+} . Однако особо выделяют группу белков с довольно таки высоким сродством к Ca^{2+} , которые регулируют перемещения и концентрации Ca^{2+} и, благодаря способности менять конформацию при связывании Ca^{2+} , участвуют в разнообразных специфических процессах. Многие из белков этой группы называют **калбиндинами**. По особенностям структуры различают **аннексины**, содержащие длинные консервативные последовательности аминокислот, преимущественно дикарбоновых, и **белки, обладающих так называемой «EF-руKoff» - петлей** из 12-14 аминокислот, образующих как бы гнездо для Ca^{2+}



Калбиндины

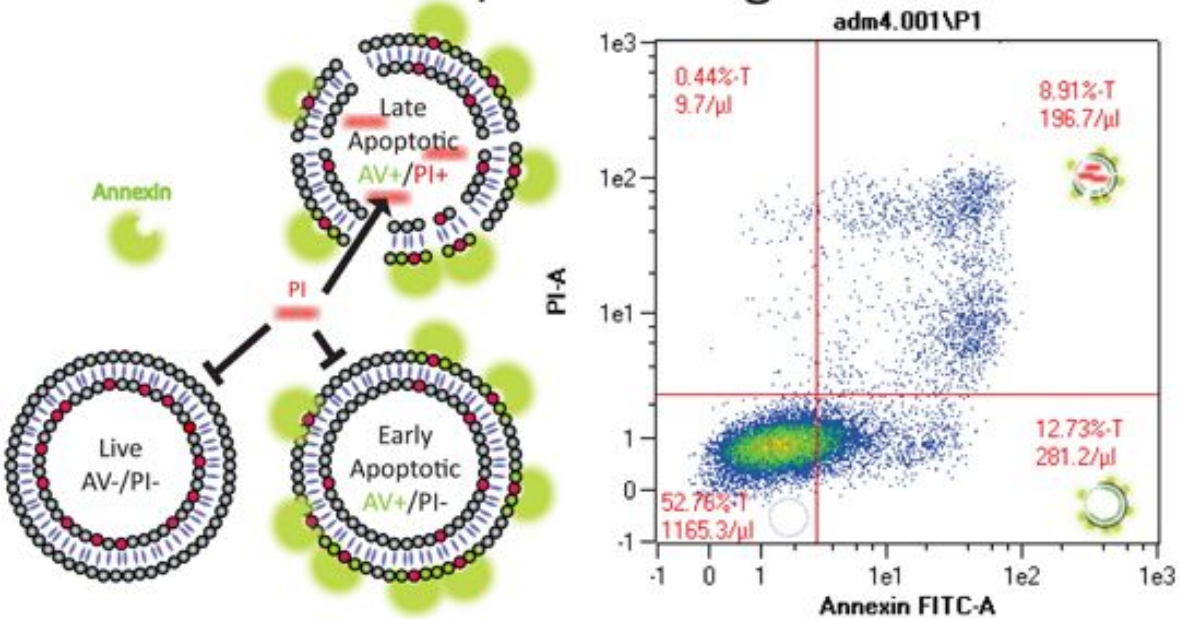
Аннексины

EF-руKoff



петля из 12-14 аминокислот, образующих гнездо для Ca²⁺

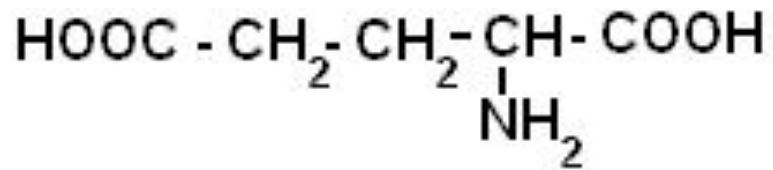
Annexin/PI Staining



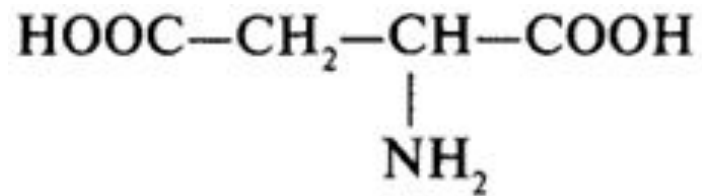
Известно около 10 видов данных белков
Содержат 4 Ca²⁺ связывающих домена
В присутствии ионов кальция связывают
фосфолипиды мембран, тем самым
-Участвуют в процессах слияния и агрегации
мембран
-Ингибируют фосфолипазу A2
-Контролируют пролиферацию и
дифференцировку клеток

Белок S-100

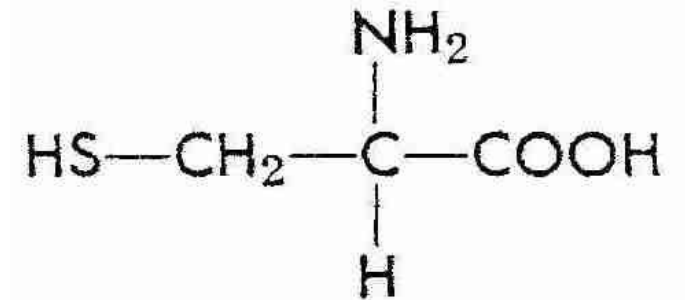
Характерно высокое содержание кислых аминокислот - около 36% приходится на остатки глутаминовой и 22% - на остатки аспарагиновой кислоты, т.е. более половины состава белка приходится на моноаминодикарбоновые аминокислоты. Из оставшихся 42% основная масса приходится на гидрофобные алифатические аминокислоты, придающие глобулам гидрофобный характер. 3-4% приходится на цистеин. Часть SH-групп цистеина свободна и способна к взаимодействию с ионами кальция. Такое взаимодействие ведет к изменению конформации молекул белка S-100.



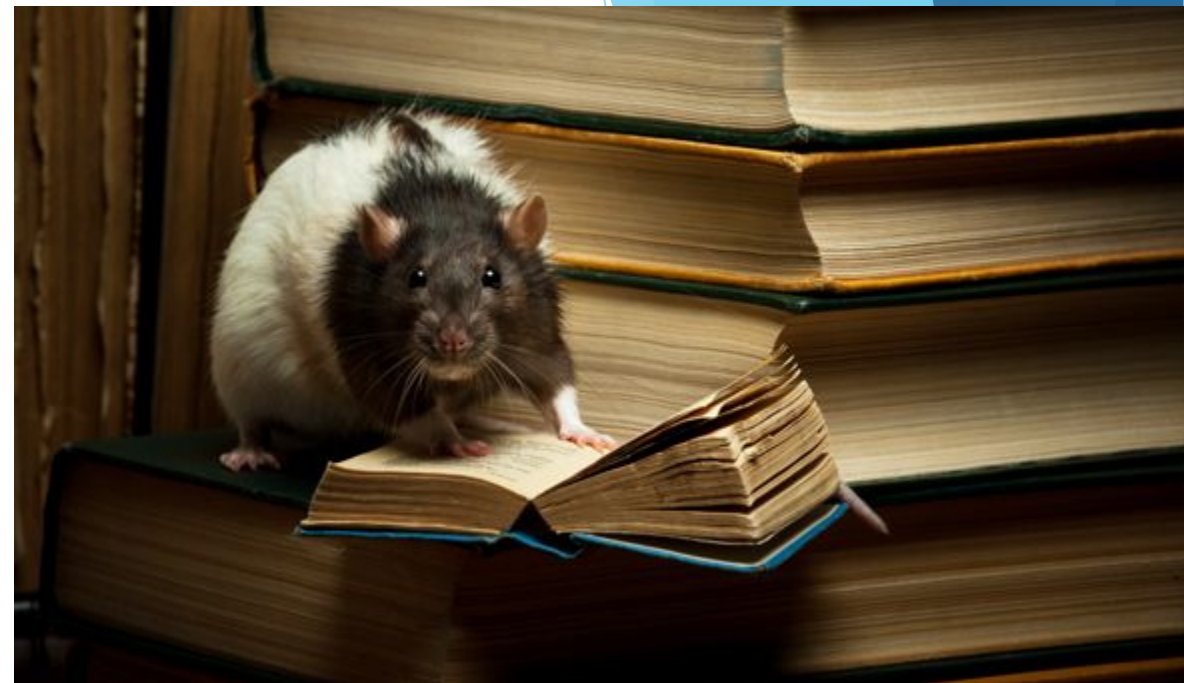
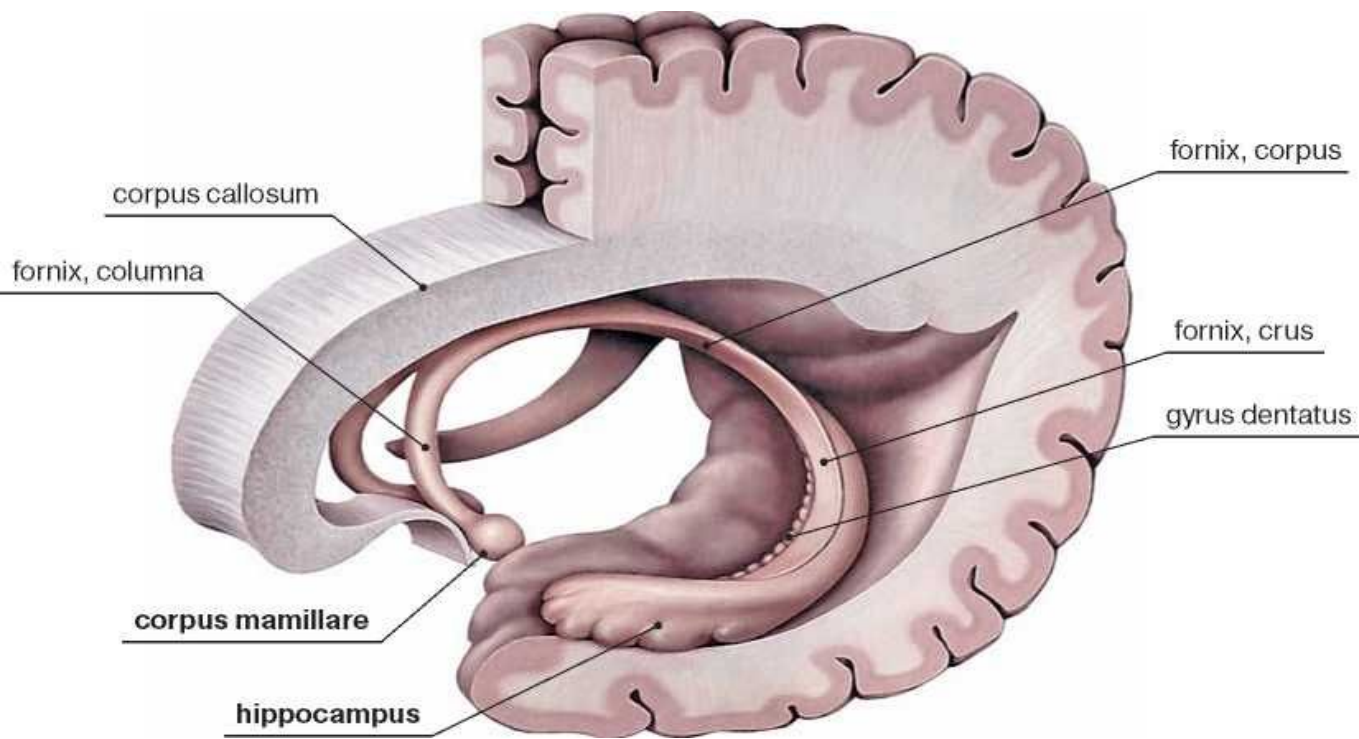
Глутаминовая кислота



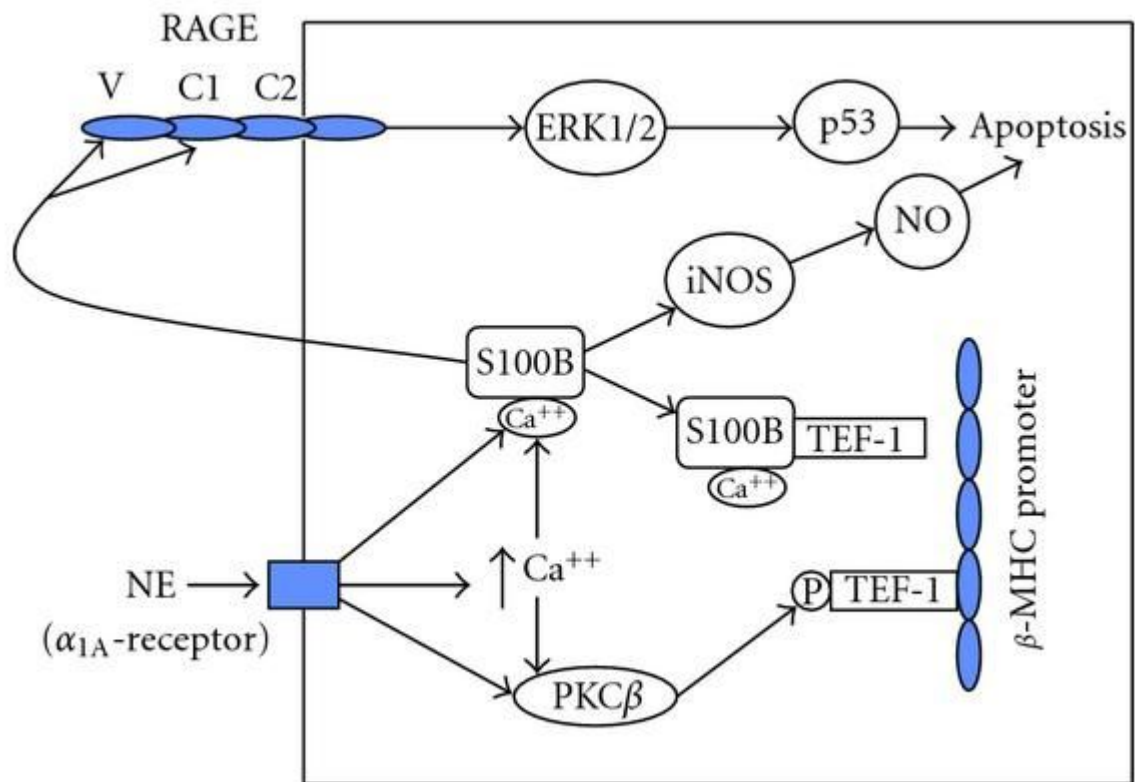
Аспарагиновая кислота



Цистеин

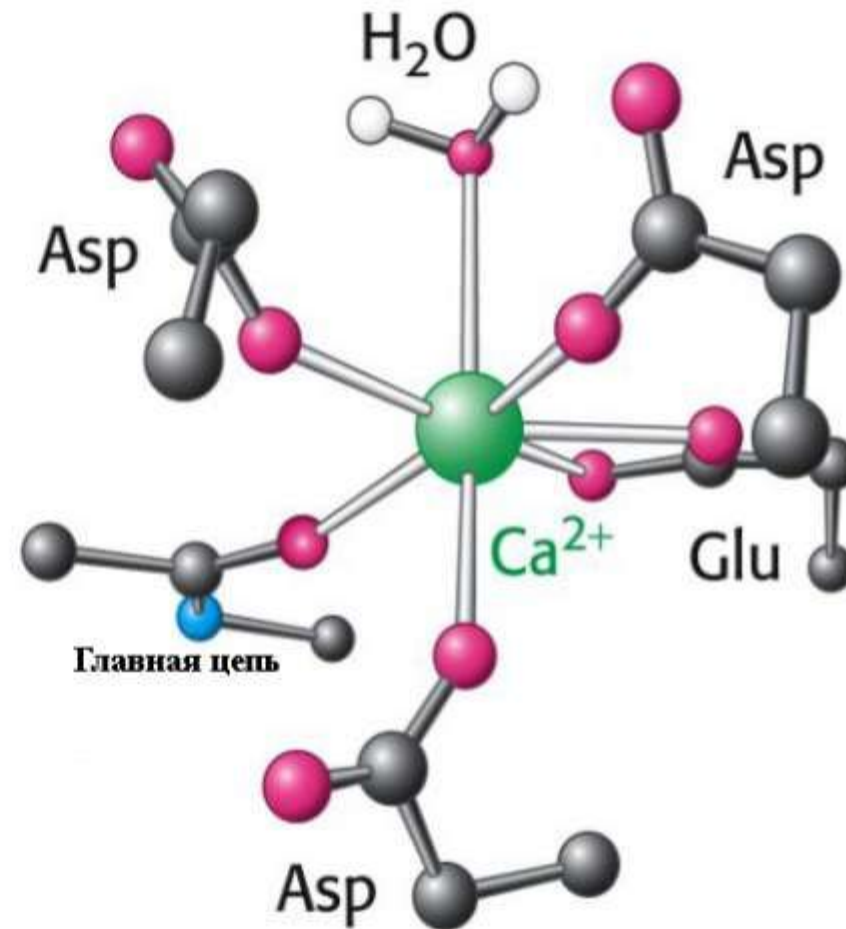
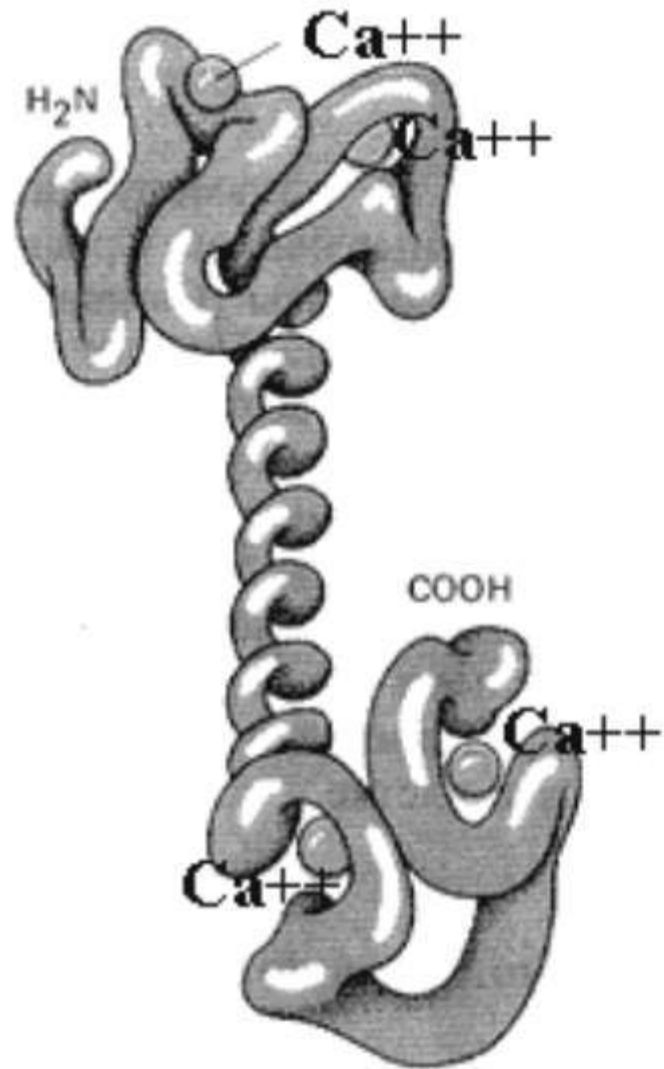


Основная область синтеза белков S100 - пирамидальные нейроны гиппокампа. Данные белки отвечают за процессы обучения у человека животных, в период обучения происходит активный биосинтез S100



На основании экспериментальных материалов и косвенных данных выдвинуто несколько предположений о возможных молекулярных механизмах участия белка S100 в специфических функциях нервной системы. Большинство авторов отдает предпочтение гипотезе о роли упомянутых выше конформационных изменений молекул белка S100, наступающих при взаимодействии его SH групп с ионами Ca^{2+} с последующим возрастанием на поверхности белковой глобулы количества гидрофобных групп. При проведении нервного импульса важным лимитирующим фактором служит проницаемость ионных каналов; в присутствии свободных ионов Ca^{2+} ряд каналов становится непроницаемым для ионов K^+ и Na^+ . В этом случае функциональная роль белка S100, по-видимому, связана с регуляцией проницаемости ионных каналов посредством связывания свободных ионов Ca^{2+} .

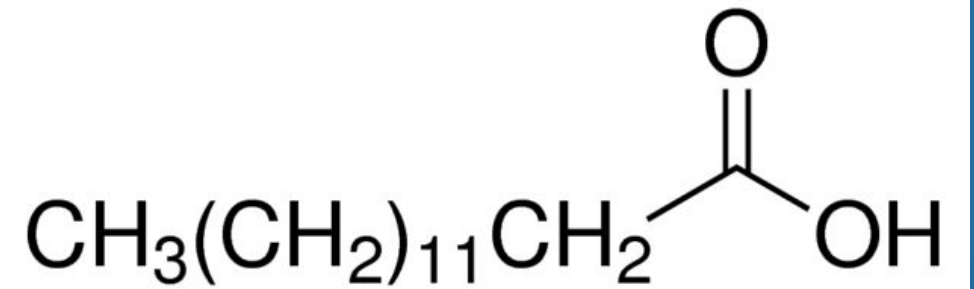
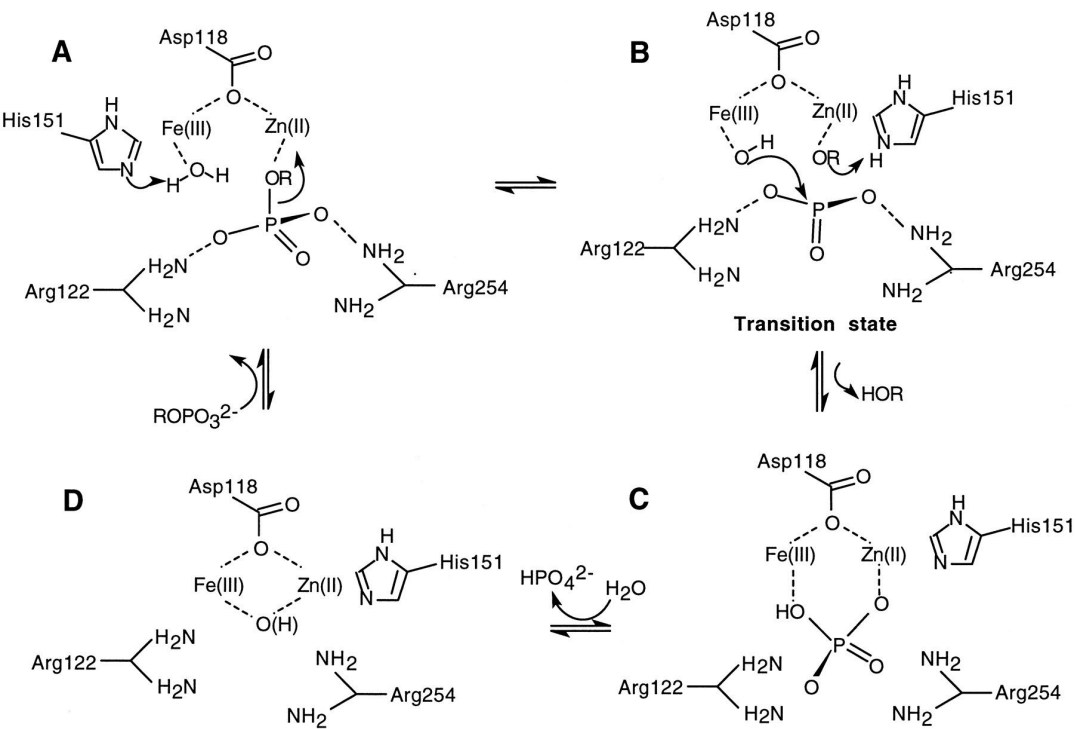
Кальмодулин



Кальмодулин контролируется двумя белками

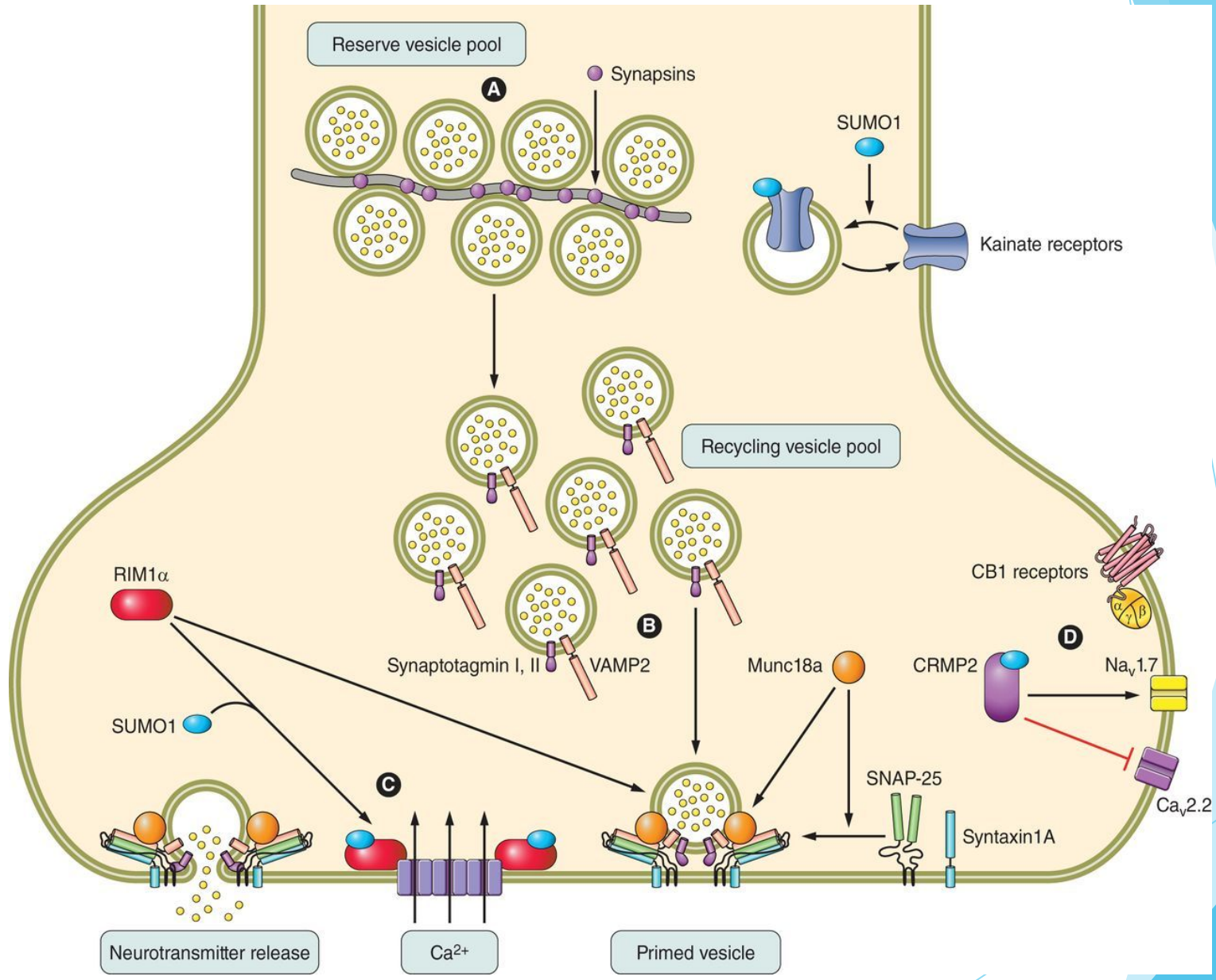
Кальцинейрин

Фосфомиристин

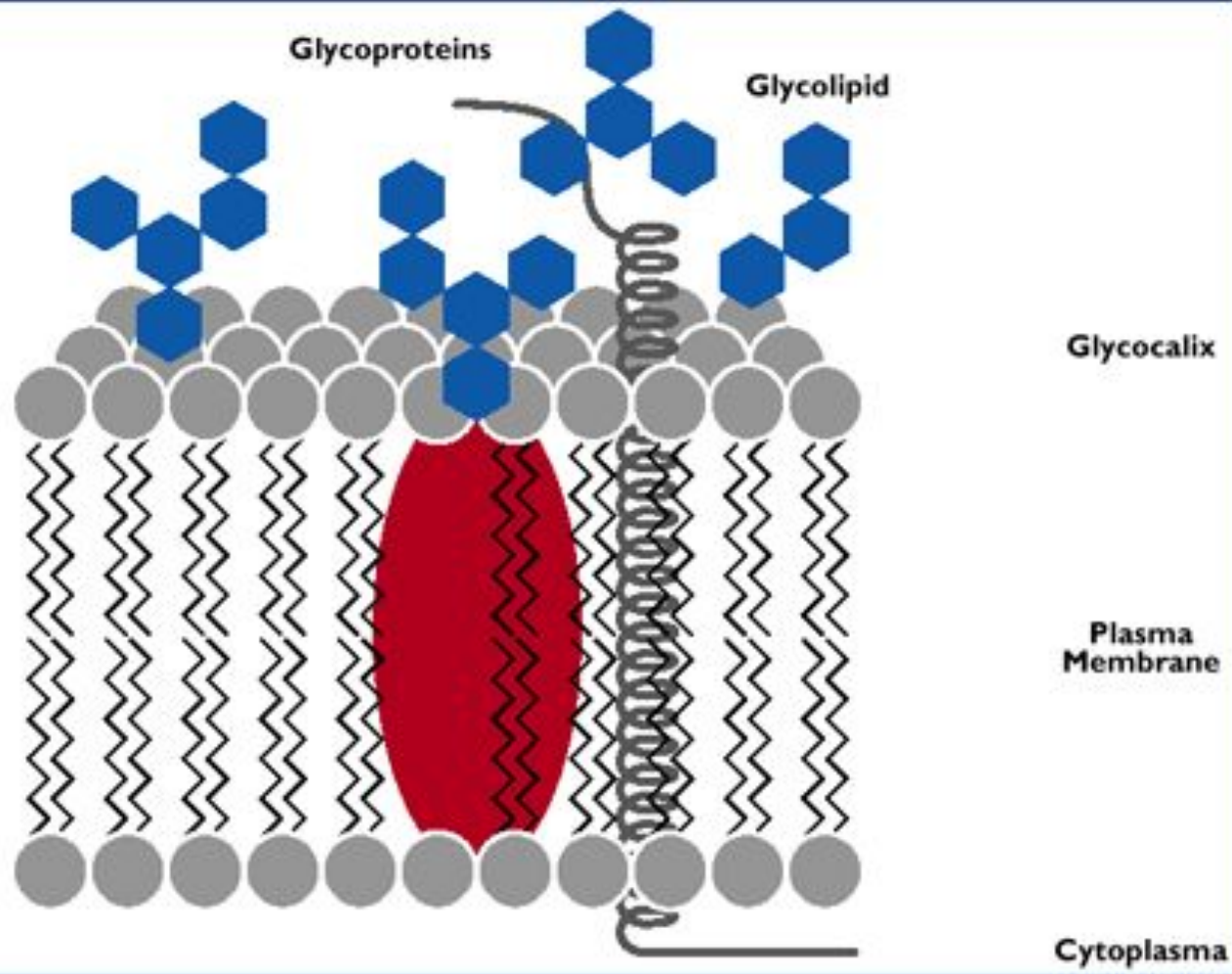


Гипотеза Vaudry и Lynch, 1980



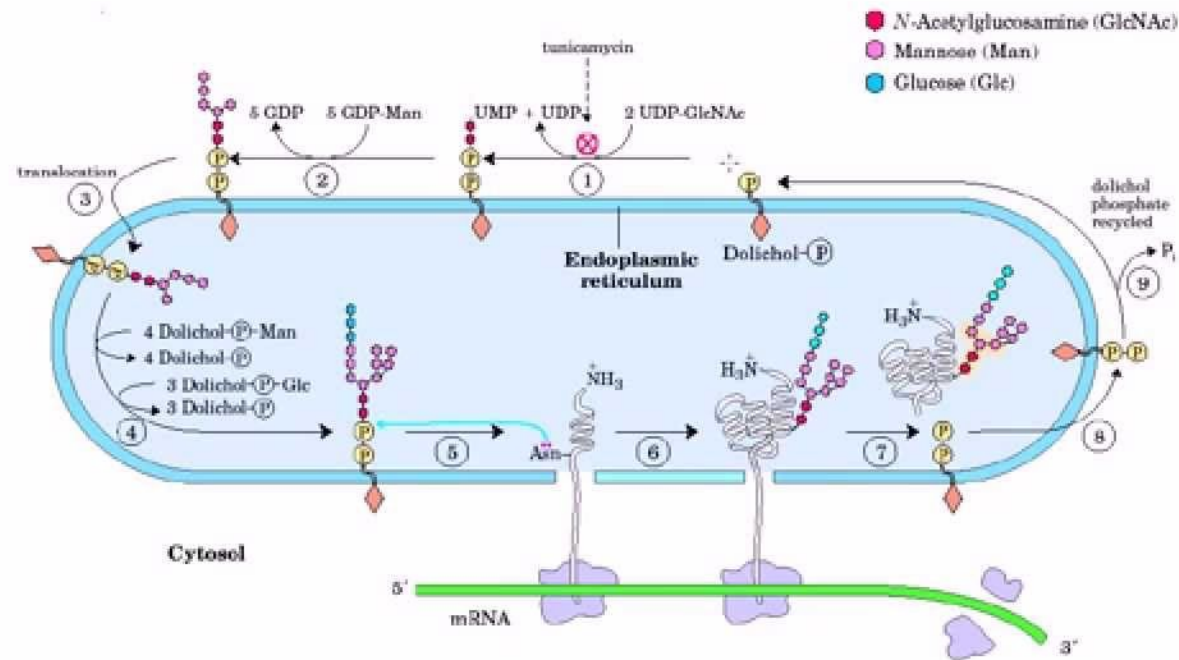


Неферментные белки, отвечающие за процессы адгезии и межклеточного узнавания

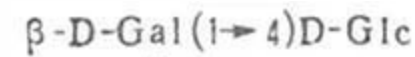


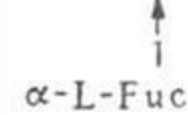
В эту группу входят преимущественно гликопротеины. Они представляют собой исключительно гетерогенную группу белков. Гликопротеины являются важнейшими участниками межклеточных контактов, обеспечивая взаимное узнавание и адгезию определенных нейронов, участвуют в синаптической передаче, рецепторных реакциях, формировании и хранении памяти. Они входят в состав сложных надмолекулярных образований синаптических мембран и других цитоструктурных образований.

Synthesis of core oligosaccharide of glycoproteins

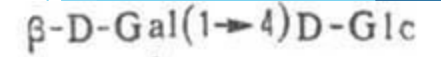


Пептидная часть синтезируется на рибосомах независимо от биосинтеза углеводных компонентов. Далее полипептидная цепь транспортируется через эндо-плазматический ретикулум в аппарат Гольджи, где происходит последовательное присоединение отдельных углеводных компонентов при участии гликозилтрансфераз. При этом N-ацетилнейраминовая кислота и фукоза присоединяются последними.

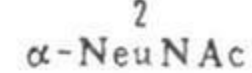


$$\uparrow 2$$


Фукозиллактоза



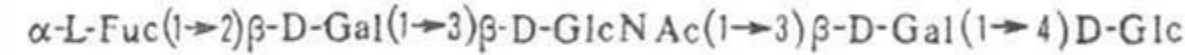
$$\uparrow 3$$

$$\uparrow 2$$


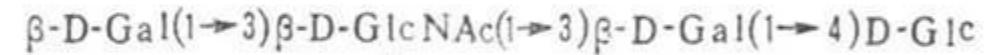
Нейраминиллактоза



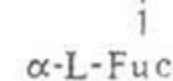
Лакто-N-тетраоза



Лакто-N-фукопентаоза I



$$\uparrow 4$$

$$\uparrow 1$$


Лакто-N-фукопентаоза II



$$\uparrow 1$$

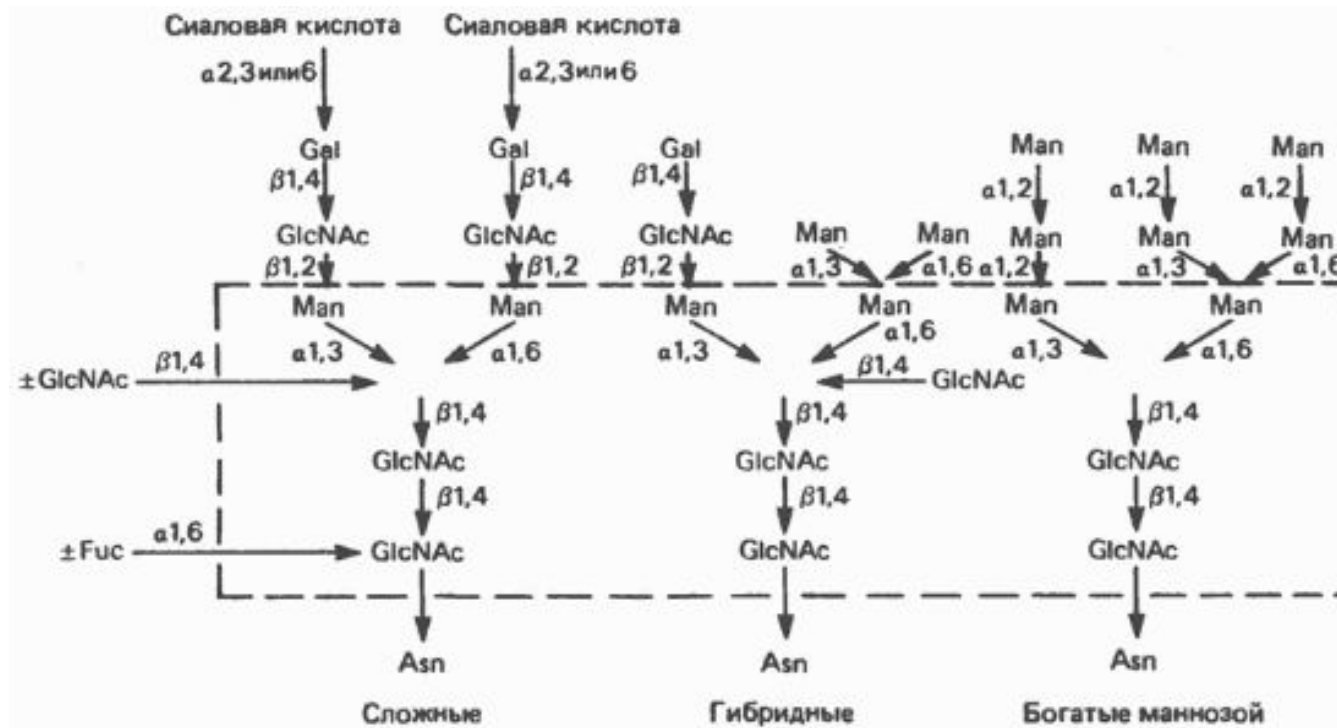
$$\uparrow 4$$


Лакто-N-дифукогексаоза I

Гликопротеины делят на две основные группы по количеству белков и углеводов в составе их молекул.

Первая группа содержит от 5 до 40% углеводов и их производных. Белковая часть сходна с альбуминами и глобулинами. Между пептидными и углеводными компонентами гликопротеинов существуют не только ковалентные, но и водородные, гидрофобные и вандерваальсовы связи.

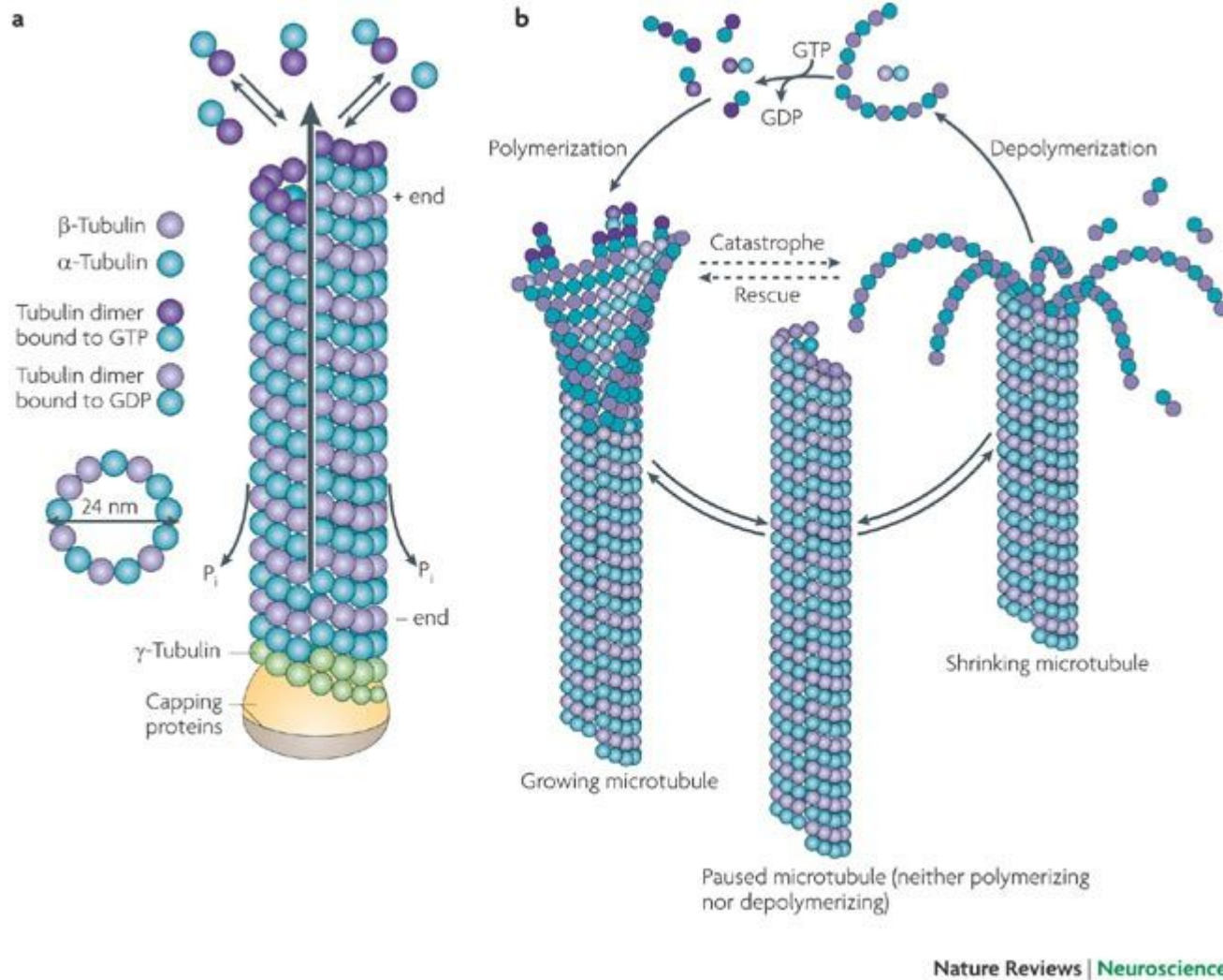
Вторая группа гликопротеинов содержит большое количество углеводов - от 40 до 85%; в состав представителей этой группы иногда входят липидные компоненты. В последнем случае образуются более сложные комплексы - гликолипопротеины. Например, в состав одного из гликолипопротеинов, выделенных из серого вещества головного мозга человека, входят 208 остатков галактозы, 26 - глюкозы, 36 - галактозамина, 150 - нейраминовой кислоты, 100 - лигноцерино-вой кислоты, 100 - сфингозина. Пептидная часть состоит из 61 а.о.: 13 - глутамата, 10 - глицина, 10 - пролина, 8 - серина, 6 - аланина; остальные аминокислоты содержатся в незначительных количествах. Как видно, пептидная часть молекулы довольно монотонна по составу, даже по сравнению с углеводным компонентом.



Особый интерес представляют поверхностные гликопротеины, участвующие в клеточной адгезии. Довольно хорошо исследованы 6 таких белков: D2, N-CAM, K4, BSP-2, Ng-CAM и L-1. Первые четыре обеспечивают гомотопическую адгезию между нейронами. Характерной особенностью их является модификация структуры в ходе онтогенеза, которая затрагивает в основном углеводную часть молекулы. В эмбриональный период во время интенсивной миграции нейронов и постнатально в стадии активного синаптогенеза нейроспецифические белки клеточной адгезии представлены в значительной мере полисиалогликопротеинами. В мозге взрослых животных они модифицируются в олигосиало- или асиалогликопротеины, состоящие из 2-3 полипептидных цепей. Предполагается, что модуляция адгезии происходит именно за счет изменения числа остатков сиаловых кислот в полисиалогликопротеине.

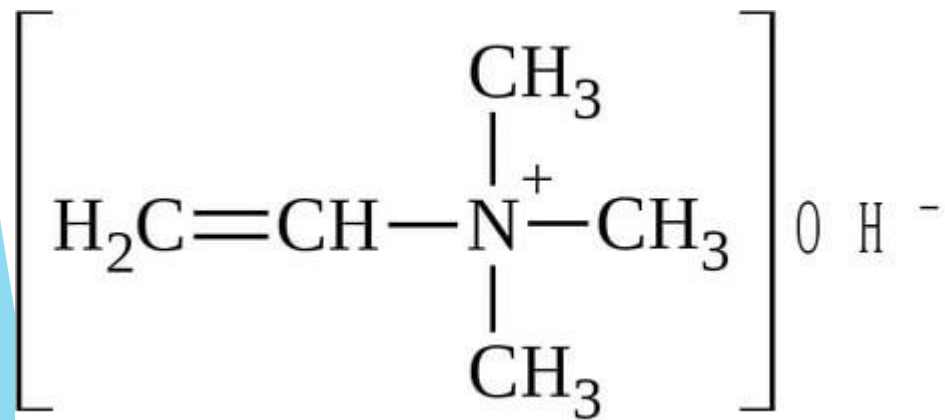
Гетеротипическая Ca^{2+} -независимая адгезия между нейронами и глиальными клетками опосредована специфическим гликопротеином Ng-CAM, имеющим $M_r = 135$ кД. По сравнению с гликопротеином N-CAM, влияющим на межнейрональные контакты, белок Ng-CAM содержит меньшее количество сиаловых кислот. Он локализован исключительно на поверхности плазматической мембраны нейронов и в ходе онтогенеза появляется на более поздних стадиях, чем гликопротеин N-CAM.

Сократительные и цитоскелетные белки нервной ткани

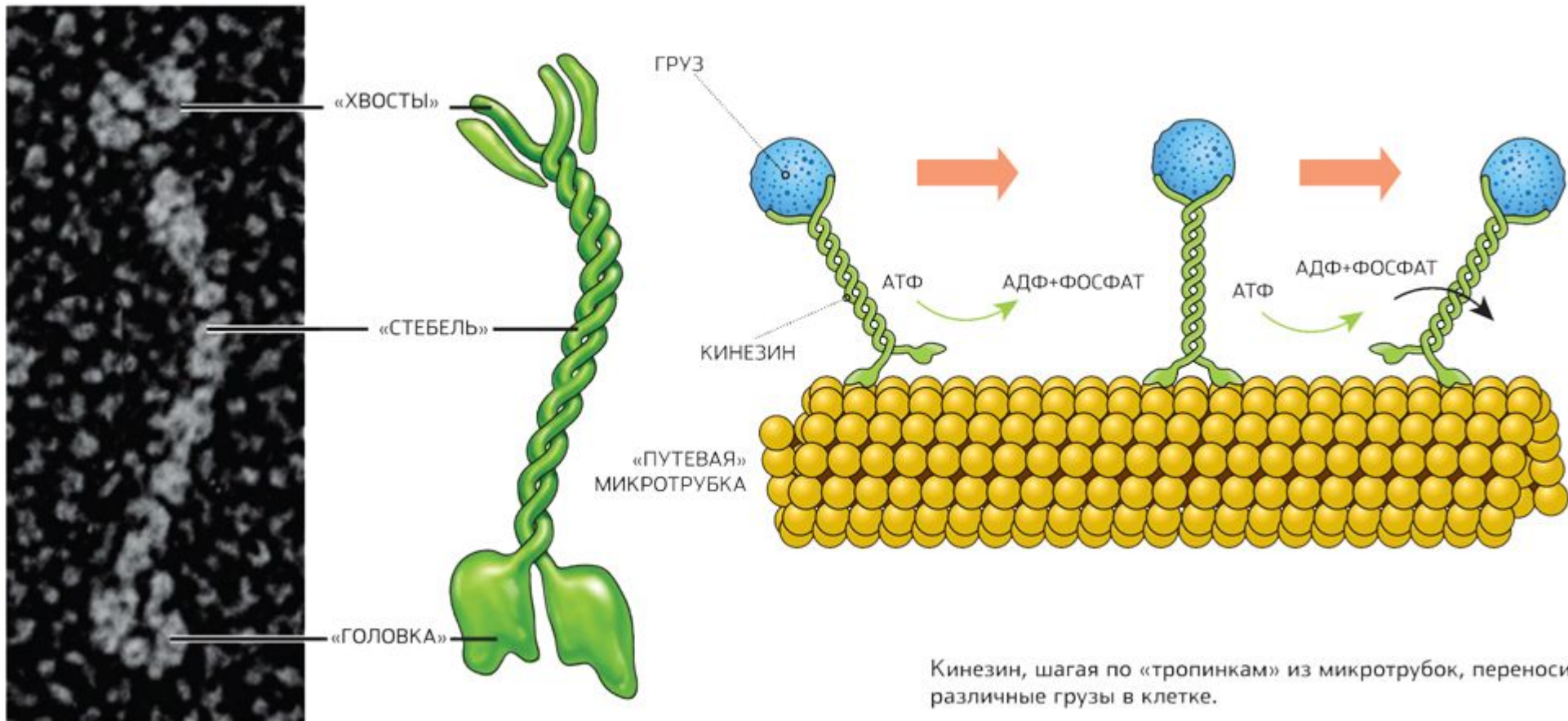


Микротрубочки представляют собой образования цилиндрической формы, диаметр которых достигает 24 нм, а наибольшая длина соизмерима с длиной отростков нейронов. Основная масса белка, входящего в состав микротрубочек, приходится на долю нейротубулина. Нейротубулин является димером, в его состав входят 2 субъединицы - α -тубулин и β -тубулин. В микротрубочках нейротубулин находится в виде спиральных полимеров, состоящих из 10-14 молекул нейротубулина. Формирование полимерной трубчатой структуры протекает с потреблением макроэргов - за счет ГТФ. Сам нейротубулин обладает ГТФазной активностью. В полимеризации тубулина принимает также участие специальный белок сборки тубулина - Т-фактор. Сборка и разборка микротрубочек *in vivo* происходит очень быстро. Подавляется сборка микротрубочек колхицином, винбластином и винкрестином.

К актомиозинподобным белкам ЦНС относится нейростенин. Он состоит из двух белков - нейрина и стенина. Взаимодействуя между собой, они образуют комплекс - нейростенин. Он имеет много общего с актомиозином мышцы по структуре и по функциям, хотя и не идентичен ему.



Нейростенин обладает АТФазной активностью и активируется ионами Ca^+ и Mg^+ . Количество нейростенина составляет около 1-1,5% от общего белка мозга; однако в синаптических образованиях его содержание достигает 8-10%. Нейрин локализован преимущественно в пресинаптических мембранах, а стенин - на наружной поверхности мембран везикул. С формированием нейростенина в присутствии АТФ и ионов Ca^{2+} связывают предположительно контакт везикул с пресинаптическими мембранами. Полагают, что сократительные белки мозга, в том числе нейростенин, участвуют в раскрытии везикул и выходе нейромедиатора в цитоплазму и синаптическую щель. В «плавлении» мембраны везикул, происходящем при выбросе медиатора, важную роль играют также синапсины и другие Ca -связывающие белки

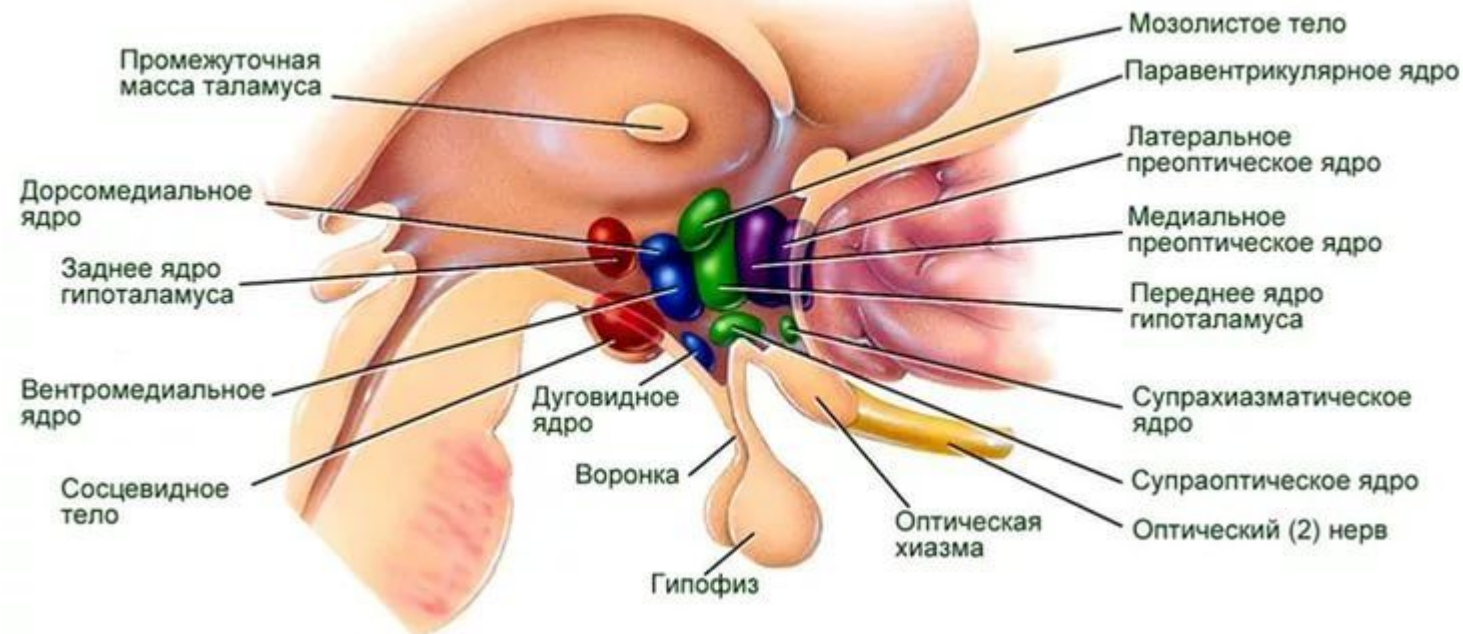


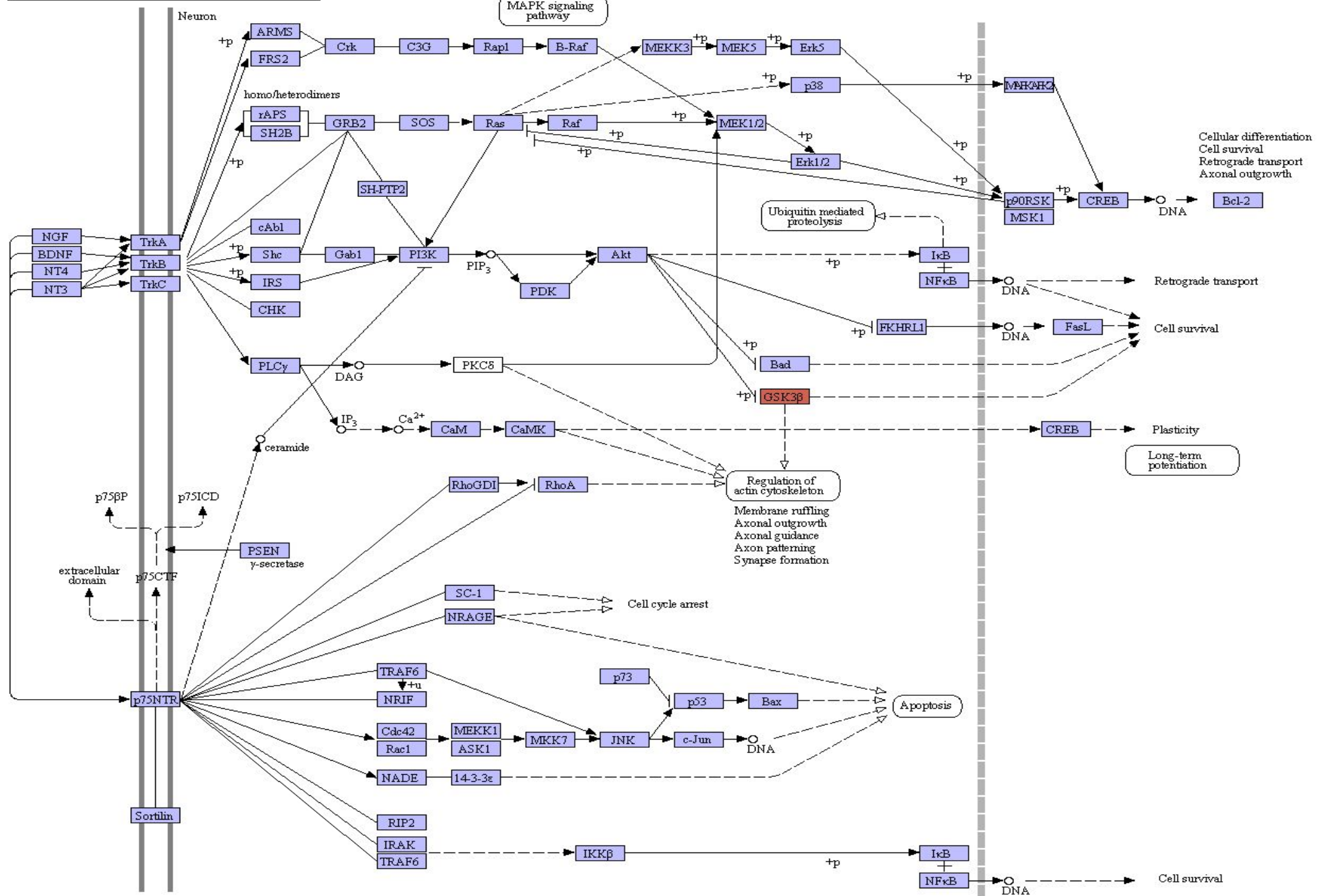
Кинезин, шагая по «тропинкам» из микротрубок, переносит различные грузы в клетке.

Большой интерес представляет другой сократительный белок нейронов - кинезин. Этот недавно открытый цитоплазматический транслокатор является «механохимической» АТФа-зой, способной обеспечивать скольжение внутриклеточных органелл вдоль микротрубочек. Он служит одним из двигателей anterograde axonal transport.

Регуляторные белки

Особо необходимо остановиться на секретируемых белках, выполняющих функцию транспорта и защиты от разрушения пептидных регуляторов, вырабатываемых ЦНС. Из них наиболее изучены нейрофизины, локализованные преимущественно в задней доле гипофиза и гипоталамуса. Они представляют собой гетерогенную группу низкомолекулярных кислых белков. Нейрофизины головного мозга человека и ряда животных достаточно хорошо исследованы. Выделены три фракции этих нейроспецифических белков - НФ1, НФ2, НФ3, а также четыре минорные фракции.





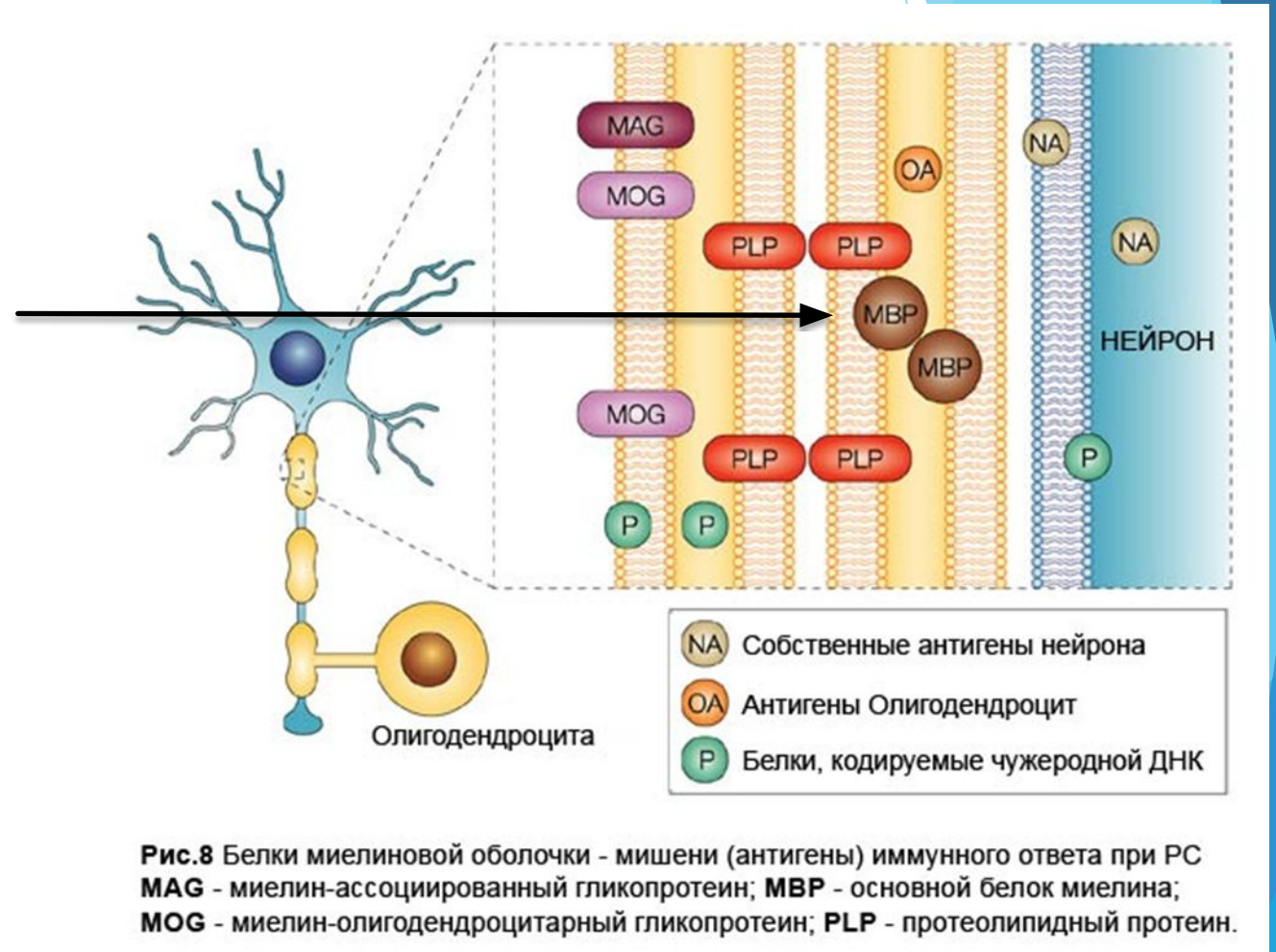
К настоящему времени наиболее изучены три нейротрофина, близких друг другу по структуре: NGF, BDNF и NT3. Они представляют собой относительно небольшие белки. В частности, минимальная по размеру активная форма NGF состоит из двух субъединиц. Различные нейротрофины имеют определенную специализацию:

NGF - «опекает» нейроны периферических симпатических ганглиев, а также холинергические нейроны переднего мозга,

BDNF - часть моторных и сенсорных нейронов, а NT3 - нейроны гиппокампа. Трофическая функция и стимуляция роста аксонов нейротрофинами имеют особое значение в онтогенезе, при повреждениях ЦНС, а также в некоторых критических состояниях, например при эпилептических судорогах. В онтогенезе мозга достижение тем или иным аксоном клетки-мишени ведет к ретроградному сигналу, осуществляемому нейротрофином, который обеспечивает выживание соответствующего нейрона. Нейроны, аксоны которых не достигают мишени, погибают.

Основные белки миелина

В миелине велика доля катионного белка - КБМ. Он представляет собой относительно небольшой полипептид. КБМ содержит значительную долю диаминокислот и в то же время около половины составляющих его аминокислот - неполярные. Это обеспечивает, с одной стороны, тесный контакт с гидрофобными компонентами липидов миелина, а с другой стороны, определяет его способность к образованию ионных связей с кислыми группировками липидов.



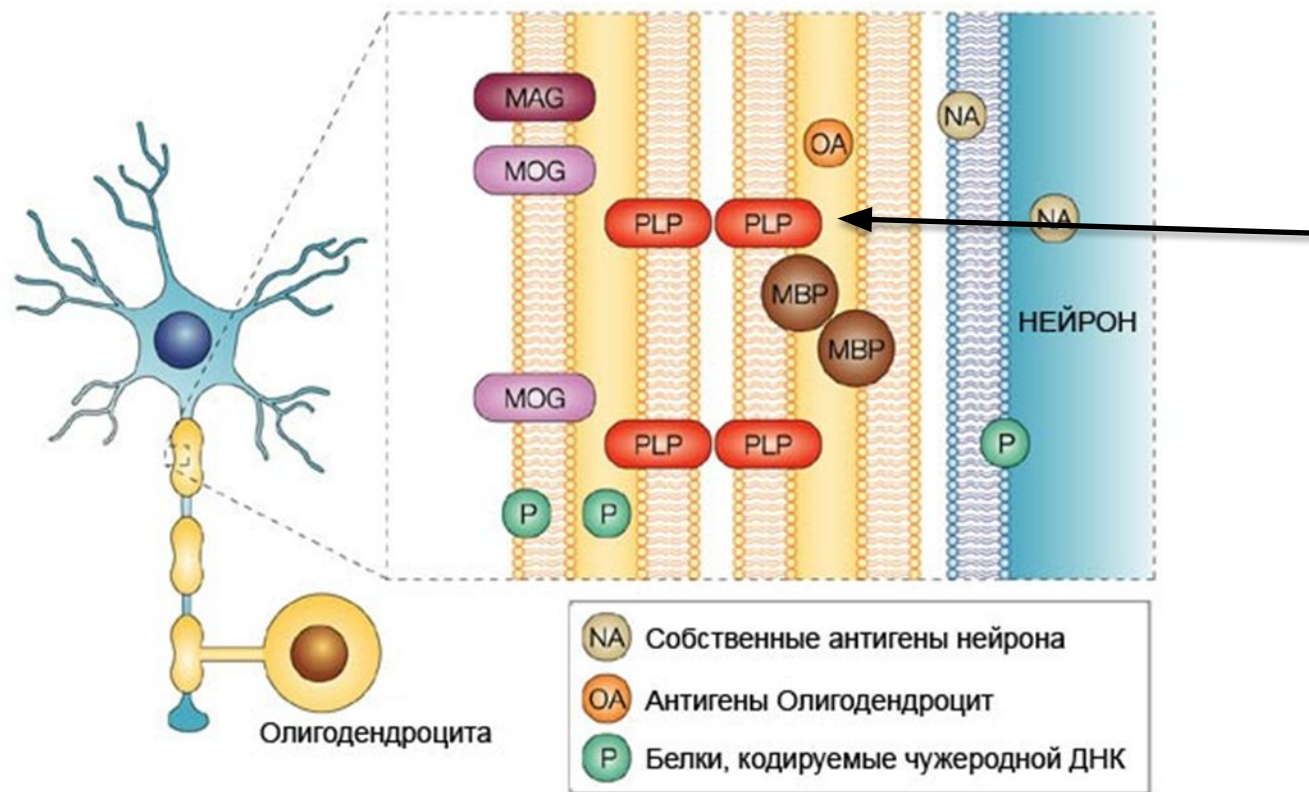
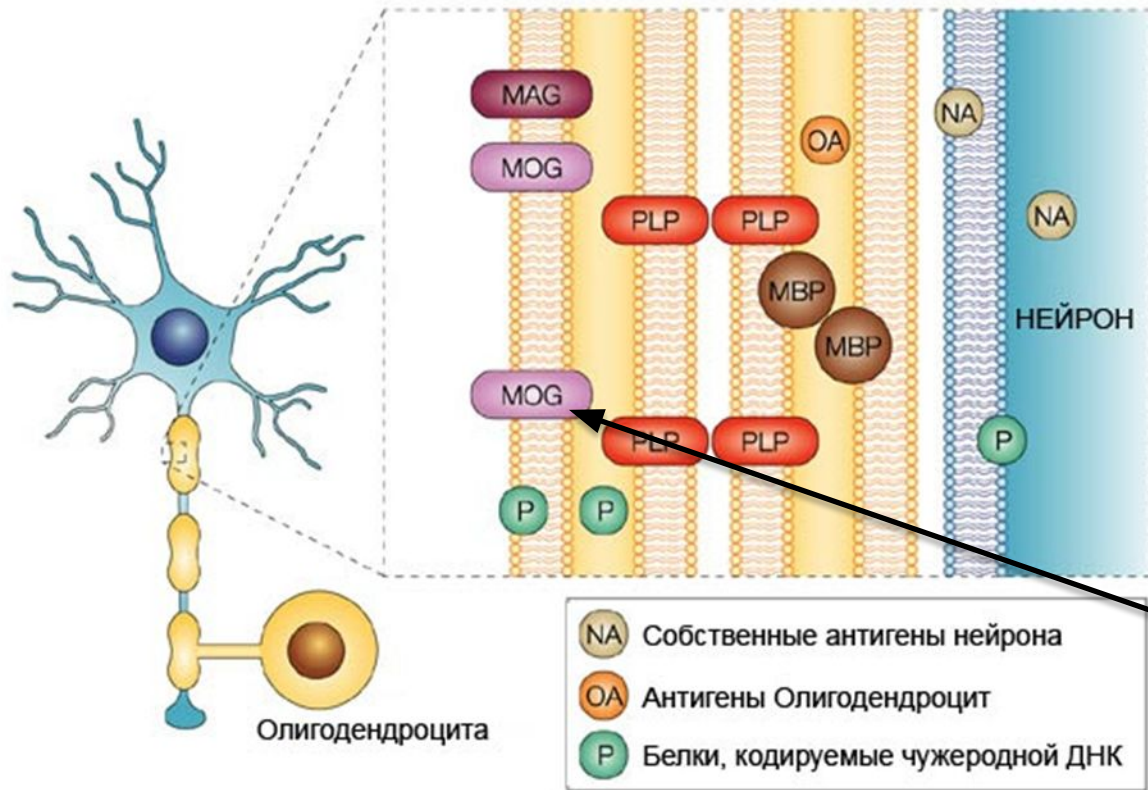


Рис.8 Белки миелиновой оболочки - мишени (антигены) иммунного ответа при РС
MAG - миелин-ассоциированный гликопротеин; **MBP** - основной белок миелина;
MOG - миелин-олигодендроцитарный гликопротеин; **PLP** - протеолипидный протеин.

Необычайно высокой гидрофобностью характеризуются так называемые протеолипидные белки Фолча, составляющие большую часть остальных белков миелина. В свою очередь, главный из этих белков - липофилин, в котором 2/3 составляющих аминокислот - неполярные. Интересна определенная избирательность контактов липофилина с липидами, например, вытеснение холестерина из его окружения. Полагают, что это связано с особенностями вторичной структуры липофилина.



Довольна велика также доля так называемого белка Вольфграма - кислого протеолипида, довольно богатого остатками дикарбоновых аминокислот, и, в то же время, содержащего около половины остатков неполярных аминокислот. Входит в состав миелин-олигодендрокитарного гликопротеина

Рис.8 Белки миелиновой оболочки - мишени (антигены) иммунного ответа при РС
MAG - миелин-ассоциированный гликопротеин; **MBP** - основной белок миелина;
MOG - миелин-олигодендрокитарный гликопротеин; **PLP** - протеолипидный протеин.

Миелинассоциированный гликопротеин, расположен на экстраделлюлярной поверхности мембран; он встречается, кроме того, в олигодендроцитах до миелинизации и в миелине периферической нервной системы. В ЦНС человека он представлен тремя полипептидными цепями, а в периферической нервной системе - одним белком. МАГ относится к гликопротеинам с относительно низким содержанием углеводных остатков - около 30% от массы молекулы, но содержит характерный для гликопротеинов набор углеводов: N-ацетилглюкозамин, N-ацетилнейраминная кислота, фукоза, манноза и галактоза. Для белковой части молекулы характерно высокое содержание глутаминовой и аспарагиновой кислот.

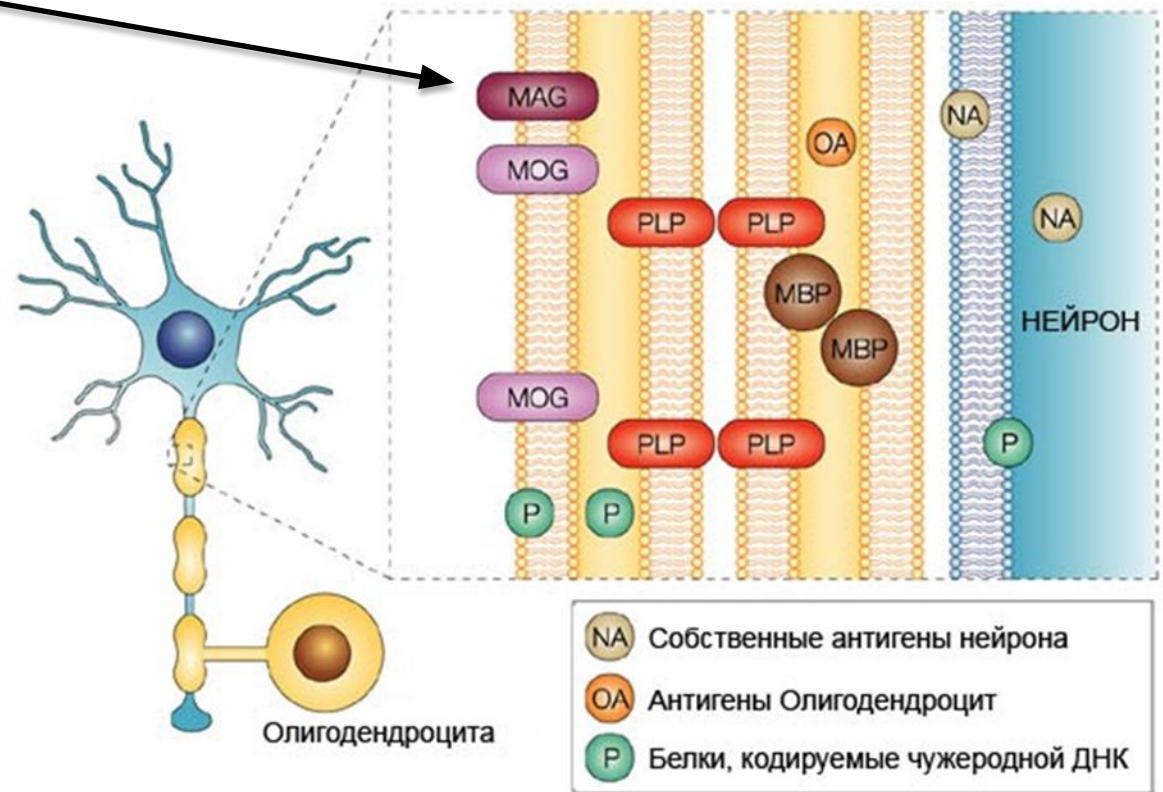


Рис.8 Белки миелиновой оболочки - мишени (антигены) иммунного ответа при РС
MAG - миелин-ассоциированный гликопротеин; **MBP** - основной белок миелина;
MOG - миелин-олигодендрогликопротеин; **PLP** - протеолипидный протеин.

Основные белки глии

1. Нейроспецифический $\alpha 2$ -гликопротеин. В мозге человека он появляется на 16-й неделе эмбрионального развития. Углеводные компоненты его включают глюкозамин, маннозу, глюкозу, галактозу, галактозамин и N-ацетилнейраминовую кислоту. $\alpha 2$ -гликопротеин локализован только в астроцитах, но отсутствует в нейронах, олигодендроцитах и в клетках эндотелия. Поэтому его можно рассматривать как один из специфических маркеров астроцитов.

2. Глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP). Он специфичен только для ЦНС, а в ПНС он не обнаружен. Содержание его в белом веществе головного мозга превышает таковое в сером веществе. В онтогенезе максимальное содержание GFAP наблюдается между 10м и 14м днями постнатального развития, т.е. совпадает по времени с периодом миелинизации и пиком дифференцировки астроцитов. Глиальная локализация этого белка также позволяет использовать его как «маркерный» белок для этих клеток.



1. В нервной ткани обнаружены характерные только для нее нейроспецифические белки. По химической природе они могут быть кислыми или основными, простыми или сложными, часто они представляют собой гликопротеины или фосфопротеины. Многие нейроспецифические белки имеют субъединичную структуру. Число открытых нейроспецифических белков уже превысило 200 и быстро возрастает.
2. Нейроспецифические белки прямо или косвенно участвуют в осуществлении всех функций нервной системы - генерации и проведении нервного импульса, процессах переработки и хранении информации, синаптической передаче, клеточном узнавании, рецепции и др.
3. По локализации в ткани нервной системы различают исключительно или преимущественно нейрональные и глиальные нейроспецифические белки. По субклеточной локализации они могут быть цитоплазматическими, ядерными или мембрано-связанными. Особое значение имеют нейроспецифические белки, локализованные в мембранах синаптических образований.
4. Многие кислые кальций связывающие нейроспецифические белки участвуют в процессах транспорта ионов. Предполагается, что, в частности, они играют значительную роль в формировании памяти.
5. Особую группу нейроспецифических белков представляют сократительные белки нервной ткани, которые обеспечивают ориентацию и подвижность цитоструктурных образований, активный транспорт ряда компонентов нейрона и участвуют в нейромедиаторных процессах в синапсах.
6. К группе нейроспецифических белков, связанных с гуморальной регуляцией, осуществляемой головным мозгом, относятся некоторые гликопротеины гипоталамуса, а также нейрофизины и подобные им белки, являющиеся носителями пептидных регуляторов.
7. Разнообразные нейроспецифические гликопротеины участвуют в формировании миелина, в процессах клеточной адгезии, нейрорецепции и взаимном узнавании нейронов в онтогенезе и при регенерации.
8. Ряд нейроспецифических белков представляет собой мозговые изоэнзимы известных ферментов, например енолазы, альдолазы, креатинкиназы и др.
9. Многие нейроспецифические белки весьма активно метаболизируют в головном мозге животных, причем интенсивность метаболизма различна в разных отделах мозга и зависит от функционального состояния нервной системы. В целом по интенсивности обновления белки мозга значительно превосходят белки других тканей и органов.