

УДК577.122

М.Н. Богданова (6 курс, каф. БФ), В.В.Захаров, к.б.н. (ПИЯФ РАН)

СИГНАЛЬНЫЕ БЕЛКИ НЕРВНЫХ ОКОНЧАНИЙ GAP-43 И BASP1: ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНЫХ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ АСПЕКТОВ

Актуальной проблемой современной нейробиологии является описание процессов, протекающих в мозге в ответ на поступающие извне сигналы. В числе важнейших проявлений этих процессов — обучение и память. Одним из основных этапов решения данной проблемы является максимально полная характеристика белков нервных окончаний (пресинаптической области). Этим определяется интерес к задаче, поставленной в данной работе, — изучению сигнальных пресинаптических белков мозга GAP-43 и BASP1.

Объект данных исследований, белки BASP1 и GAP-43, являются преобладающими белками нервных окончаний. GAP-43 — это исключительно нейроспецифический белок, в то время как экспрессия белка BASP1 наблюдается в некоторых других тканях. У взрослых нейронов большое количество этих белков содержится в синаптических бляшках на концах аксонов, а у развивающихся нейронов — в конусах роста на конце нейритов. Их экспрессия непосредственно связана с ростом и регенерацией аксонов, установлением новых синаптических связей при развитии нервной системы, а также с пластичностью синапсов во взрослом организме. Путем субклеточного фракционирования, выделения синапсом выделения и очистки белков GAP-43 и BASP1 с помощью препаративного электрофореза (обнаружение белков и их фрагментов проводили с помощью иммуноблоттинга) было показано, что наряду с белком GAP-43 в клетке присутствуют продукты его специфического кальций-зависимого протеолиза: GAP-43-2 и GAP-43-3, лишённые четырех из сорока аминокислот с N-конца соответственно. Нами доказано, что этот протеолиз обусловлен действием цистеиновой кальций-зависимой нейтральной протеазы кальпаин. Также нами была исследована первичная структура белка GAP-43, и в ней были выявлены молекулярно-структурные детерминанты, обуславливающие подверженность белка GAP-43 действию кальпаина. Для определения типа кальпаина (либо кальпаина μ , либо m), участвующего в процессе протеолиза белка GAP-43, была исследована кальциевая зависимость протеолиза GAP-43 в синапсоммах. Наши данные свидетельствуют в пользу того, что полная активация протеазы, расщепляющей белок GAP-43, происходит при концентрации ионов кальция в миллимолярном диапазоне. Это однозначно свидетельствует о том, что в процессе образования фрагмента GAP-43-3 участвует m -кальпаин. Это согласуется с тем, что m -кальпаин локализован в нейронах, главным образом, в нервных окончаниях.

В ходе работы также было исследовано распределение фрагментов GAP-43-2 и GAP-43-3 по различным субклеточным фракциям. Одна из новых концепций, выдвигаемых в настоящей работе, заключается в рассмотрении специфического протеолиза белка GAP-43 как важного механизма регуляции его активности, в отличие от тенденции других авторов рассматривать образование фрагментов GAP-43-2 и GAP-43-3 как деградацию белка в процессе выделения или хранения ткани (McMaster et al., 1988).

В данной работе впервые показано, что белок BASP1 содержится в клетке совместно с рядом его минорных изоформ, обнаруживаемых с помощью поликлональных антител к белку BASP1. Данные изоформы были выделены в чистом виде и частично охарактеризованы. Показано также, что они являются фрагментами белка BASP1, укороченными с C-конца на участки различной длины. Исследовано распределение минорных изоформ в различных тканях, а также в мозге различных организмов.