

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА В НЕЙРОБИОЛОГИИ

СТАРОСТИНА М.В., ШТАРК М.Б.

Институт медицинской и биологической кибернетики СО РАМН, г. Новосибирск

Приведены материалы об использовании моноклональных антител в нейробиологических исследованиях при изучении структуры и функций макромолекул нейрональной мембраны и цитоскелета, молекулярных механизмов развития нервной системы, процессов, лежащих в основе формирования нейропатологии.

Ключевые слова: моноклональные антитела, исследование нервной системы, структура и функция макромолекула, нейропатология.

Прогресс нейробиологии тесно связан с успехами многих научных направлений, в первую очередь - иммунологии, биохимии, фармакологии, молекулярной биологии. Представления о взаимодействии лиганда и рецептора, молекулах, опосредующих межклеточные взаимодействия, о сопряженных с рецепторами системах вторичных и третичных мессенджеров, преобразующих экстраклеточные сигналы в изменения метаболизма и активности генетического аппарата клетки, о "немедленных" генах способствовали развитию новых теоретических подходов к изучению молекулярных механизмов деятельности центральной нервной системы.

Новые методические решения, разработанные в смежных областях биологии и химии, широко применяются в нейробиологии. Так, наряду с биохимическими, иммунохимические методы исследования оказались исключительно перспективными в изучении высоко- и низкомолекулярных соединений, присутствующих в нервной системе.

Использование антител к антигенам нервной ткани не только обеспечило возможность исследования распределения в различных областях головного мозга и количественного измерения содержания многих биологически активных веществ, но позволило идентифицировать класс белков, специфичных для нервной ткани, получивших название нейроспецифических (НСБ) [1-3]. Существование НСБ является биохимическим выражением морфологической и функциональной дифференцировки нервных и глиальных клеток. Видовая специфичность у большинства НСБ отсутствует, что указывает на их связь с базовыми механизмами функционирования нервной системы. Неудивительно, что эти белки привлекают внимание широкого круга исследователей и клиницистов.

К настоящему времени описано около 30 НСБ [2,3], функциональное значение многих из них не исследовано, но условно можно выделить несколько групп:

- специфичные для нервной ткани ферменты синтеза нейромедиаторов и изоформы общеметаболических ферментов, (14-3-2 или нейронспецифическая энзолаза, карбоангидраза С, глутаматдекарбоксилаза);
- кальций-связывающие белки (S-100, кальцинейрин, белок Р-57 и др.);
- белки клеточной адгезии (молекула клеточной адгезии нейронов - NCAM, молекула адгезии нейрон-глия - NgCAM, и т.д.);
- белки цитоскелета (кислый фибриллярный белок глии - GFAP, белки нейрофиламентов, синаптин и т.д.);
- белковая часть рецепторов и ионных каналов;

- белки, образующие и поддерживающие структуру миелина (основной белок миелина, протеолипид).

Большая часть НСБ не может быть отнесена к какой-либо из указанных групп, так как функциональные характеристики их неизвестны.

Антитела в качестве высокоспецифичного реагента используются не только для изучения локализации, оценки физико-химических свойств и аффинного выделения антигенов (НСБ), но и для анализа их функции - путем блокирования или модификации определенных регистрируемых параметров.

Так, класс молекул клеточной адгезии удалось идентифицировать по способности антител нарушать нормальное формирование клеточных слоев в органотипических культурах нервной ткани [4, 5]. Значительное число работ посвящено анализу электрофизиологических эффектов антител к НСБ при аппликации их на изолированные нейроны, полунтактные препараты простых нервных систем беспозвоночных, срезы различных структур головного мозга, и *in vivo* - при интрацентральном введении антител [2].

К наиболее важным итогам этих исследований могут быть отнесены:

- установление избирательности действия антител к различным структурам головного мозга, что позволило предположить антигенную неоднородность последних;
- достаточно убедительные доказательства участия некоторых антигенов в молекулярных механизмах осуществления определенных физиологических реакций;
- получение характеристик взаимодействия живой нервной клетки с антителами - обнаружение эффекта регуляции взаимодействия антитело-антиген клеточной поверхности трансмембранным потенциалом нейрона (потенциалозависимость);
- идентификация на уровне суммарного ответа (ЭЭГ) эпилептических разрядов при действии интрацентрально введенных антител, что послужило основой для создания представлений о возможных механизмах непосредственного действия аутоантител в случае нарушении целостности гематоэнцефалического барьера.

Однако подобные работы вызвали и ряд серьезных возражений. Большинство протестированных поли- и моноспецифических антисывороток оказывало влияние на электрические характеристики нейронов, причем "однотипность" клеточного ответа на различные антитела затрудняла точную интерпретацию полученных результатов, поскольку сходные эффекты наблюдали как при аппликации антител к мембранным, так и к внутриклеточным антигенам [6]. Нерешенным остается и вопрос о способности антител проникать в ткань мозга при интрацентральном введении.

Трудности в интерпретации полученных результатов могут быть преодолены использованием новых экспериментальных подходов, в частности - модификацией антител, увеличивающей их проникновение через клеточные и тканевые мембраны [7,8] и прежде всего - получением антител предельно узкой специфичности.

Свойства моноклональных антител. Работа с полиспецифическими сыворотками к антигенам нервной ткани в целом не давала возможности использовать количественные методы исследования, изучать локализацию и функциональные характеристики индивидуальных антигенов. Анализ затруднялся также большим количеством перекрестнотканевых антигенов, выявляемых этими антисыворотками. Что же касается моноспецифических антисывороток, то получены они были преимущественно к тем антигенам, содержание которых в нервной ткани было относительно велико и имелись сравнительно доступные процедуры их выделения (S-100, 14-3-2, основной белок миелина). Большинство же функционально значимых белков нейрональных мембран - белковых компонентов ионных каналов, рецепторов, молекул межклеточного узнавания - оставались

мало доступными для изучения иммунохимическими методами, так как процедуры их очистки приводили к потере присущей им в нативном состоянии конформации и, следовательно, потере или модификации антигенных свойств.

Это существенно ограничивало возможности проведения электрофизиологических исследований, так как при использовании антител в качестве блокаторов определенных функциональных сайтов предпочтительно иметь антитела с предельно узкой специфичностью, избирательно реагирующие с отдельными участками макромолекул, например, с транспортной или воротной частями ионного канала. Моноспецифические антисыворотки, представляющие собой смесь антител к разным детерминантам исследуемого антигена, такой возможности не обеспечивали.

Преодолеть эти трудности оказалось возможно с развитием гибридной иммунобиотехнологии. С момента опубликования работы Келера и Мильштейна, в которой описывалось получение гибридом [9], этот метод стал широко применяться в биологии и медицине, появилось значительное количество методических пособий по технике гибридизации, а многие фирмы, выпускающие иммунопрепараты, предлагают моноклональные антитела к различным антигенам.

Моноклональные антитела (МКА) представляют собой практически первый препарат антител, сопоставимый по своим характеристикам с широко используемыми в биологии аффинными метками - токсинами, аналогами нейромедиаторов и т.п. По сравнению с обычными сывороточными антителами МКА - продукты потомков одной единственной антителопродуцирующей клетки - обладают исключительно высокой степенью гомогенности: принадлежат к одному классу и подклассу иммуноглобулинов, специфичны к одной антигенной детерминанте и характеризуются одинаковой константой взаимодействия с антигеном, то есть обладают одинаковой аффинностью. Отбор клонов гибридом, продуцирующих высокоаффинные антитела, позволяет повысить точность и чувствительность радиоиммунного и иммуноферментного анализа, в то время как антитела со средней аффинностью более удобны для приготовления иммуносорбентов, так как, с одной стороны, благодаря одинаковой константе взаимодействия можно подобрать стандартные условия удаления неспецифически сорбированного материала, с другой, - достаточно полно элюировать специфически сорбированный материал, не применяя для этого жестких денатурирующих антиген сред. Однородность препарата МКА облегчает и возможность последующей химической их модификации. Появились методы, позволяющие при последующей работе с МКА избежать применения "вторых" антител непосредственным включением меченых предшественников в культуральные среды [10] или получением так называемых "квадром", продуцирующих биспецифические МКА, реагирующие с исследуемым антигеном и одновременно - с ферментом, доступным далее для выявления [11,12].

Отбор, поддержание и сохранение стабильных клонов дает возможность получения стандартных препаратов МКА, повышая воспроизводимость экспериментальных исследований, в то время как при работе с сывороточными антителами изменяющиеся характеристики этих препаратов (зависящие от используемого животного, цикла иммунизации и т.д.) требуют постоянного контроля соответствия.

Особенности клонирования и субклонирования позволяют использовать для иммунизации невысокоочищенные материалы, а применение специальных методов иммунизации снижает "доминирование" нежелательных антигенов, делая возможным получение МКА к антигенам с низким содержанием в ткани или низкой иммуногенностью [13].

Разработка методов иммунизации "in vitro" снимает тормозящие влияния Т-супрессоров [14].

В то же время необходимо отметить и ряд проблем, возникающих при работе с МКА, причем в ряде случаев недостатки МКА являются оборотной стороной их достоинств. Так, высокая избирательность МКА, специфичность по отношению к одному эпитопу может создавать трудности при использовании их в иммуногистохимии и иммуноблоттинге, где в результате применения додецилсульфата натрия или некоторых видов фиксации ткани может быть изменена конформация молекул. При этом МКА, реагирующие с "конформационными" антигенными детерминантами, оказываются неактивными. Достаточно серьезной является проблема потери хромосом гибридными клетками, затрудняющая получение стабильных клонов-продуцентов. В некоторых случаях возникают сложности с сопоставлением результатов, полученных различными группами экспериментаторов, когда невозможно определить сходство или различие выявляемых МКА антигенов, что, вероятно, может быть упрощено созданием крупных гибридных банков.

Тем не менее, преимущества МКА все-таки превышают их недостатки, и число работ с их использованием постоянно растет.

В 1984 году, суммируя результаты применения гибридной технологии в нейробиологии [15], мы выделили ряд направлений, где, как нам казалось, использование МКА было наиболее перспективным, прежде всего - это исследования структуры и функции белков, клеточных мембран и молекулярных механизмов развития нервной системы.

Моноклональные антитела в изучении организации и функции клеточной мембраны. Мембрана нейрона - это высокоспециализированная структура клетки, ответственная за восприятие, трансформацию и передачу информации, которая может быть разбита на функциональные домены, различные по морфологическим и биохимическим характеристикам. Нейрональная мембрана несет на себе определенным образом сгруппированные надмолекулярные комплексы рецепторов и сопряженных с ними ионных каналов, регуляторных белков, молекул клеточной адгезии. Иммунохимические методы, в том числе и с использованием МКА, нашли широкое применение в идентификации, локализации, изучении структуры и функции макромолекул нейрональной мембраны.

Так, с помощью антител удалось охарактеризовать различные субъединицы потенциалзависимого натриевого канала [16,17], включающего одну альфа-субъединицу (175 - 260 кДа), присутствующую во всех типах потенциалзависимых каналов и имеющую структуру, необходимую для управляемой потенциалом проводимости [18, 19], и двух нековалентно ассоциированных с ней бета-субъединиц (бета1 и бета2), имеющих в гликозилированном состоянии молекулярную массу 38 кДа, причем карбогидратные остатки составляют около 36% [20, 21]. Стехиометрическое соотношение субъединиц в натриевом канале 1:1:1. С помощью антител было показано, что характерное для зрелой нервной ткани содержание натриевых каналов достигается сравнительно поздно и определяется задержкой в экспрессии бета-субъединиц по сравнению с альфа - [22]. Некоторые из полученных МКА к натриевому каналу электрического органа электрического угря и ската были функционально неактивны, и использовались в основном для исследования распределения и плотности каналов на мембране [23], а также для выявления эволюционно консервативных и изменяемых участков и аффинного выделения полипептидов [24,25]. Были получены и панели МКА [26], которые удалось использовать для изучения функциональных сайтов канала [27-29]. МКА SC-72-14 и SC-72-38 взаимодействовали с эволюционно консервативным участком на поверхности альфа-субъединицы, и блокировали проведение нервного импульса по аксону, выявляя при иммуногистохимическом картировании перехваты Ранвье. В экспериментах с фиксацией потенциала МКА уменьшали амплитуду натриевого тока, не оказывая влияния на временные параметры, ток утечки и калиевый ток.

Примерно половина эффекта обуславливалась сдвигом стационарного уровня инактивации каналов натриевого тока вдоль оси потенциалов в сторону гиперполяризации. Так как кинетики взаимодействия МКА с фракцией мембран были различны, а МКА SC-72-38, кроме того, конкурировали с токсином Titius гамма за связывание с элементами натриевого канала, можно полагать, что хотя эффекты МКА сходны, они взаимодействуют с различными эпитопами молекулы. Впоследствии сходные эффекты были выявлены при работе с антителами к пептидному фрагменту C1+, которые при аппликации на внешнюю сторону мембраны культивируемых нейронов дорзального ганглия увеличивали скорость инактивации каналов натриевого тока с медленной кинетикой. Это позволило авторам сделать вывод о том, что все виды протестированных ими антител связываются с эпитопом, присутствующим на внешней стороне мембраны и ассоциированным с инактивационной частью канала [30].

С помощью МКА удалось установить идентичность альфа-субъединицы натриевого канала альфа1-субъединице потенциалзависимого кальциевого канала [31], образованного трансмембранно-расположенными альфа1, альфа2 (143 кДа), гамма (30 кДа) и дельта (24 кДа) субъединицами и примыкающей к альфа1 с внутренней стороны мембраны бета-субъединицей (54 кДа) [32]. МКА были использованы также для изучения локализации кальциевого канала в нервной ткани млекопитающих [33] и цыпленка [34], и для выявления сходства кальциевых каналов нейронов и скелетных мышц [35].

Потенциалзависимый калиевый канал состоит из общей для семейства потенциалзависимых каналов альфа-субъединицы [32] и специфичной для калиевого канала бета-субъединицы, которая впервые была идентифицирована иммунохимически [36]. Как известно, нейротормоны и медиаторы контролируют функции ионных каналов через активацию сопряженных с рецепторами ГТФ-связывающих белков (G-белков) и формирование вторичных мессенджеров. Однако некоторые виды ионных каналов, например, мускариновый калиевый канал кардиомиоцитов, один из нейрональных калиевых каналов (inwardly rectifying K-channel) и кальциевые каналы N-типа могут регулироваться непосредственно G-белками без последующего вовлечения цитозольного мессенджера [37]. Связывание нейротрансмиттера вызывает активацию гетеротримера G-белка, приводя к его диссоциации на ГТФ-связывающую альфа-субъединицу (Гальфа-GTP) и бета-гамма-комплекс (Гбетагамма). Для определения субъединицы, вовлеченной в регуляцию калиевого канала, использовали МКА, различающие Гальфа и Гбетагамма. При добавлении в среду первые из них блокировали активацию калиевого канала мускарином, связываясь либо с G-белком в голомерной форме, либо с диссоциированной альфа-субъединицей [38].

Получение специфических антител способствовало не только изучению распределения G-белков в нервной ткани [39, 40], но и выявлению множественности изоформ образующих их субъединиц [41], а также обнаружению замены одной изоформы альфа-субъединицы Go на другую в ходе развития нервной системы [42, 43].

Одним из наиболее интенсивно исследуемых в настоящее время рецепторов являются ионо- и метаболитные рецепторы глутамата. Интерес к этому классу рецепторов обусловлен их ролью в пластичности нервной системы [44]. МКА к глутаматному рецептору ингибировали специфическое связывание глутамата препаратами синапсомембранных мембран и выявляли около 30% нейронов на срезах головного мозга, преимущественно в гиппокампе и полосатом теле, окрашивая мембрану и отростки пирамидных, биполярных и униполярных нейронов [45]. В электрофизиологических экспериментах на нейронах моллюска *Planorbargius corneus* МКА снижали гиперполяризационный ответ, вызываемый аппликацией глутамата, не изменяя мембранный потенциал клетки. При этом МКА не

вливали на функцию сопряженного с рецептором ионного канала, но препятствовали взаимодействию глутамата с рецептором.

С помощью МКА удалось идентифицировать несколько видов ионотропных NMDA-чувствительных рецепторов глутамата и исследовать распределение NMDAR1 в различных областях головного мозга [46,47]. Применяя же антитела к различным нейроспецифическим антигенам, удалось показать, что NMDAR1 присутствует в 90% нейронов коры, содержащих парвальбумин, но лишь в 6-9% нервных клеток, содержащих другой кальций связывающий белок, калретинин [47].

Иммунохимические методы были использованы и для изучения функций метаботропных рецепторов глутамата, представляющих собой семейство сходных по структуре белков [48], которые по селективности к антагонистам, механизму сигнальной трансдукции и сходству последовательностей могут быть подразделены на группы mGluR1 и mGluR5 (mGluR1/5), mGluR2 и mGluR3 (mGluR2/3) и mGluR4, mGluR6, mGluR7 (mGluR4/6/7). С помощью антител была изучена локализация различных типов метаботропных рецепторов глутамата в нервной ткани [49, 50] и показано, что антитела, инактивирующие mGluR1, блокируют развитие долговременной депрессии в культивируемых клетках Пуркинье мозжечка [51].

Метаботропные рецепторы глутамата принимают участие в регуляции освобождения ионов кальция через образование инозитолтрифосфата. С помощью МКА удалось локализовать рецепторы инозитолтрифосфата 1 типа на мембране нейронов, а рецепторы 3 типа - на поверхности астроцитов, Бергмановской и эпиндимальной глии, что позволяет конкретизировать механизмы участия астроцитов в регуляции функций нервных клеток посредством контроля ионного состава "микросреды" [52].

МКА оказались полезны и при изучении субъединичной структуры и распределения рецептора гаммааминомасляной кислоты [53], причем удалось показать, что на определенных стадиях развития клеток Бергмановской глии эти клетки экспрессируют некоторые виды субъединиц бензодиазепин-нечувствительного ГАМКА-рецептора, и период экспрессии совпадает с временем миграции нейронов вдоль глиальных волокон [54]. В это же время электрофизиологическими методами могут быть зарегистрированы хлорный и калиевый токи в сопряженных с ГАМК-рецептором каналах глиальной мембраны. Площадь каждого синапса составляет лишь малую долю от площади поверхности нейрона, и эффективная передача сигнала возможна лишь благодаря селективной концентрации рецепторов на ограниченном участке постсинаптической мембраны [55]. Механизмы, обеспечивающие специализацию мембранных доменов, изучены еще недостаточно. При скрининге МКА к мембранам электрического скака был обнаружен клон, МКА которого не взаимодействовали с очищенным холинорецептором, но идентифицировали ранее неизвестный фактор, получивший название агрин [56]. Агрин индуцировал образование кластеров рецептора ацетилхолина и присутствовал на постсинаптических мембранах в холиноспецифических синапсах ЦНС млекопитающих [57, 58]. С помощью МКА удалось также идентифицировать рецепторные молекулы агрина на постсинаптических мембранах, относящиеся к группе дистрогиканов [59, 60]. Эти работы открывают новые возможности в изучении механизмов синаптической дифференцировки и формирования медиаторной специфичности нейрона.

Существенную роль в формировании и поддержании сегрегации мембранных структур нейрона играют элементы цитоскелета, в исследовании которых широко используются возможности МКА.

Моноклональные антитела в изучении цитоскелета нервных клеток. Как известно, уже на ранних этапах дифференцировки нервные клетки приобретают четко выраженную асимметрию, идентифицируемую по образованию дендритов и аксона, которые различны по морфологическим и электрофизиологическим характеристикам. Ультраструктура цитоскелета дендритов и аксона также различна: если в первых равномерно распределены микротрубочки, но присутствует лишь незначительное количество нейрофиламентов, то в аксонах нейрофиламенты образуют плотные упорядоченные структуры, а микротрубочки собраны в небольшие кластеры между ними [61].

Моноклональные антитела к нейрофиламентам интенсивно окрашивают развивающиеся и регенерирующие аксоны [62]. Соотношения внутри триплета полипептидов, образующих нейрофиламенты, неодинаковы в дендритах и аксонах [63]. Используя МКА, мы показали, что ассоциированные с микротрубочками белки (microtubule associated proteins, MAPs) - tau и MAP2 - также имеют выраженную аксонную и дендритную компартментализацию: позитивная реакция на MAP2 выявлена в области дендритов и сомы нейрона, в то время как 85% tau-позитивного материала содержится в аксонах [64, 65]. Четкая сегрегация MAP2 и tau в дендритах и аксонах определяется после установления морфологической специализации отростков и сохраняется также в культуре ткани [66]. С помощью двух типов МКА - AT8, выявляющих tau, фосфорилированный по серину-202, и TAU-1, узнающих тот же эпитоп, но в дефосфорилированной форме - удалось обнаружить, что фосфорилированная форма tau концентрируется в участке аксона непосредственно у тела клетки, и содержание его падает в проксимально-дистальном направлении, в то время как дефосфорилированная форма преобладает в дистальных участках и конусах роста [67]. Другой ассоциированный с микротрубочками белок - MAP1b - характеризуется высоким уровнем экспрессии в нейронах, имеющих сильно вытянутые аксоны [68] и может быть обнаружен на протяжении всего отростка, но наибольшим его содержанием отличаются дистальные участки, где этот белок присутствует в фосфорилированной форме и может регулировать динамику сборки микротубул, координируя ее с событиями в конусе роста [69].

Дифференцировка нервных клеток и рост нейритов сопровождается изменениями в составе белков цитоскелета. Так с помощью МКА, различающих легкую (70 кДа) и тяжелую (280 кДа) формы MAP2, было показано, что низкомолекулярная форма появляется на ранних этапах нейрогенеза и шире представлена в развивающейся нервной ткани, а иммунохимически родственная ей тяжелая форма характерна для более дифференцированных клеток [70]. Тау-белок представлен в развивающейся нервной ткани одной низкомолекулярной изоформой, а в зрелой нервной ткани - шестью [71, 72], причем как низкомолекулярные (50-60 кДа), так и высокомолекулярные (116-120 кДа) изоформы несут идентичные эпитопы, распознаваемые одними и тем же МКА, и ответственные, вероятно, за связывание с молекулами тубулина [73]. Высокомолекулярные формы tau экспрессируются в головном мозге на более низком уровне, чем в спинном, и доминируют в нейронах, иннервирующих поперечно-полосатую мускулатуру.

Используя антитела в качестве блокаторов роста нейрональных отростков, удалось установить, что ассоциированный с ростом аксонов белок GAP-43 принимает участие в инициации роста [74], а MAP 1b и интенсивно фосфорилируемые тяжелые изоформы нейрофиламентов - в поддержании нормального состояния дифференцированных аксонов, в то время, как тубулин и tau необходимы на всех стадиях их развития [75, 76].

Таким образом, элементы цитоскелета необходимы не только для поддержания формы и морфологической специализации нейрона, но играют важную роль в его развитии.

Моноклональные антитела в изучении развития нервной системы и нейрональной пластичности зрелого мозга. В последние годы появилось огромное число публикаций, посвященных исследованию развития нервной системы, изучению механизмов, обуславливающих дивергенцию и дифференцировку нейронов и глиальных клеток, образование синаптических связей с использованием моноклональных антител.

Как известно, нервная ткань обладает большим разнообразием клеточных элементов, нежели любая другая. Нейроны различаются по биохимическим, морфологическим, функциональным характеристикам, по специфичности образуемых ими связей. Формирование конечного клеточного "фенотипа" может быть детерминировано его "происхождением", то есть унаследованными генетическими факторами или цитоплазматическими компонентами, регулирующими активность генома. Кроме того, оно может определяться микроокружением клетки, что в широком смысле включает информацию о местоположении, межклеточные сигналы, медиаторные и гормональные влияния. Эти механизмы не исключают, но дополняют друг друга, т.к. в большинстве случаев клетки в ходе созревания быстро теряют свою полипотентность, но их "предварительная история" определяет, по крайней мере, то, каким образом и когда они смогут откликнуться на внеклеточные сигналы [77, 78].

Возможности МКА в изучении роли генетического аппарата и средовых влияний в формировании клеточного разнообразия нервной ткани велики, но используются пока недостаточно, что связано, вероятно, с редким совмещением в одной лаборатории методов гибридной биотехнологии и молекулярной биологии.

С помощью МКА удалось идентифицировать ряд стадийспецифических антигенов, присутствующих в нервной ткани только на определенных стадиях развития, что позволяет сопоставлять время их существования с определенными клеточными событиями. Обширные панели таких МКА были получены как к антигенам нервной системы беспозвоночных (кузнечика [79, 80], таракана [81], дрозофилы [80, 82, 83], моли [84]), так и позвоночных животных (цыпленка [85, 86] и крысы [87-90]).

МКА выявляли значительные количества полисахаридных эпитопов, принадлежащих ганглиозидам, гликопротеинам и гликолипидам клеточной поверхности [91-93], что указывает на ведущую роль этих молекул в развитии нервной системы и позвоночных, и беспозвоночных животных [94].

Большой интерес представляют также белки гетерохроматина, которые могут принимать участие в регуляции транскрипционной активности, ведущей в конечном итоге к установлению клеточной дивергенции нейронов, например, антиген, присутствующий в ядрах примерно 10% крупных нейронов спинного мозга, коры мозжечка и больших полушарий, ганглиозных клеток сетчатки [95].

Часть из полученных МКА реагировала с субпопуляциями нейронов или нейробластов, выявляя антигены, которые можно назвать маркерами происхождения этих клеток (например, DSS-4 и DSS-5 в нервной системе таракана [81]). Подобные молекулы удалось выявить уже в первых экспериментах с использованием МКА, когда были идентифицированы антигены, присутствующие на нейронах, принадлежащих к периферической или центральной нервной системе, то есть происходящих из различных закладок - нервного гребня или нервной трубки [96, 97]. К этой же группе относится антиген, присутствующий в отдельных группах клеток Пуркинье, расположенных кластерами (по 5-20 штук) на выступающей части извилин червячка, в то время как нейроны внутренней части извилины лишены этого антигена [98]. Что касается функциональной роли этой группы антигенов, то авторы считают маловероятным вовлечение их в механизмы роста аксонов и

межклеточного узнавания, но предполагают, что они включены в процесс, в ходе которого нейроны из небольшого числа нейробластов приобретают различные биохимические фенотипы.

Дальнейший анализ показал, что некоторые из антигенов, маркирующих отдельные нейроны и их субсети, присутствуют как в эмбриональной, так и в зрелой нервной ткани, и хотя их роль в развитии возможна, но наиболее вероятно их вовлечение в функции зрелой нервной системы, а паттерн их экспрессии отражает определенные этапы дифференцировки нейрона, а именно - миграцию к окончательному месту расположения и формирование полярности, выражающейся в росте дендритов* и аксонов и образовании синапсов определенной молекулярной специфичности.

К подобным антигенам могут быть отнесены описанные в работах [99-102]. МКА В30 [99] маркировали поверхность нейронов, включая аксоны и дендриты, в клетках центрального ядра тройничного нерва и периферического тройничного узла, причем иммунореактивность определялась в течение роста аксонов и исчезала через две недели после рождения. В мозжечке эти же МКА окрашивали слой премиграторных зернистых клеток, а по окончании их миграции иммунопозитивность приобретали тела, аксоны и дендриты клеток Пуркинье.

Антиген, выявляемый МКА G6E3 [100], начиная с 19 дня эмбриогенеза и по 5-й день постнатальной жизни присутствует в наружном и внутреннем зернистых слоях и слое клеток Пуркинье мозжечка и пирамидных нейронах гиппокампа.

Используя МКА, полученные в работе [101], удалось обнаружить различия в молекулярном слое зубчатой извилины гиппокампа, связанные с определенными афферентными входами: МКА OM-1, OM-2, OM-3 и OM-4 окрашивали наружную зону, иннервируемую главным образом волокнами, идущими от нейронов ипсилатеральной энторинальной коры, в то время как вторая группа МКА (IM-1, IM-2) окрашивала преимущественно внутреннюю часть молекулярного слоя, куда приходят волокна от ипсилатерального и контралатерального гиппокампа. В развивающемся мозге крысы антиген, выявляемый МКА IM-1, появляется на 12 день эмбриогенеза, и до конца 2-й недели постнатальной жизни его локализация ограничена внутренней областью молекулярного слоя зубчатой извилины. Антигены, идентифицируемые второй группой антител, выявляются в нервной ткани в течение первой недели постнатального онтогенеза, что соответствует времени достижения аксонами энторинальной коры клеток-мишеней. Как показали электронномикроскопические исследования, все эти антигены являются молекулами клеточной поверхности.

МКА 3G7-F8 к антигенам 5-ти дневного гиппокампа крыс выявляли в гиппокампе новорожденных и пятидневных животных антиген, присутствовавший в цитоплазме пирамидных и гранулярных нейронов, к 14 дню развития этот антиген обнаруживали только в пирамидных нейронах, причем МКА выявляли и дендриты клеток. У 21-дневных и взрослых животных антиген локализован в дендритах пирамидных нейронов. Кроме гиппокампа антиген присутствовал в клетках Пуркинье мозжечка, где была отмечена сходная динамика его перемещения в дендриты [102].

К наиболее исследованным классам молекул, вовлеченных в процессы формирования архитектуры нейрональных сетей, можно отнести молекулы клеточной адгезии [103] и адгезии с внеклеточным матриксом [104], белки, ассоциированные с ростом (growth-associated proteins) [105], нейроростовые факторы и их рецепторы [106]. Антитела, в том числе и моноклональные, широко используются для изучения локализации, структуры и функции этих молекул.

Молекулы клеточной адгезии опосредуют в нервной ткани процессы миграции нейронов к их окончательному месту расположения, взаимодействие с клетками окружающей глии, фасилитацию роста нейритов, движение конуса роста аксонов, узнавание мишени и начальные этапы формирования синапса [107-109].

Первой из этого класса молекул была описана N-CAM - молекула клеточной адгезии нейронов, представляющая собой интегральный мембранный гликопротеин [110], включенный в различные морфогенетические процессы, такие как направление движения аксона [111], фасилитацию [112] и рост нейритов [113] у разнообразных видов животных (мышей [114, 115], крыс [113, 116], жаб [117], птиц [118] и человека [119, 120]).

В предыдущем обзоре [15] мы останавливались детально на идентификации и изучении функциональных и биохимических свойств N-CAM, представляющей собой несколько изоформ с различной степенью гликозилирования и различной экспрессией в пре- и постнатальном онтогенезе. Более детальные сведения можно почерпнуть в обзорах [103, 121]. Исследования последних лет были посвящены выявлению функционально значимых сайтов молекулы, в частности, было показано, что N-CAM может регулировать не только межклеточные, но и субстрат-клеточные взаимодействия [122], а антитела к N-CAM блокировали также часть процессов, в которых сама молекула непосредственно не была задействована, в частности, формирование нейроэктодермальных контактов [123], контакт-зависимую регуляцию ферментов метаболизма медиаторов [124], адгезивные свойства кадгерина [125, 126]. Анализируя эти данные, Рутishaузер [127] делает вывод о том, что полисиаловая кислота N-CAM участвует не только в специфическом взаимодействии между клетками, но может быть вовлечена как регулятор в образование широкого спектра межклеточных контактов. Этот вывод поддерживается недавно полученными данными о том, что карбогидратная часть молекулы N-CAM широко экспрессируется во время органогенеза в мезодермальных и эндодермальных дериватах [128]. Однако, как нам кажется, нельзя исключать и наличия "конвергентного" сходства молекул клеточной адгезии в разных тканях по их карбогидратным эпитопам, выявляемых антителами. Сделать подобное предположение позволяют данные о получении МКА 5B4, не взаимодействующих с одной из изоформ N-CAM (120 кДа), присутствующей в глиоцитах, а реагирующих только с нейрональными формами N-CAM развивающемся и зрелом мозге [129].

Функциональная роль N-CAM была установлена с помощью регистрации блокирующего действия антител на нормальное формирование клеточных слоев в культуре нервной ткани [110]. Используя аналогичный экспериментальный подход, удалось выявить еще несколько видов молекул, опосредующих адгезию нейрональных и глиальных клеток, такие как L1 (другие названия - NILE, nerve growth factor inducible large external glycoprotein, J1, Ng-CAM), играющая роль в адгезии нейрон-нейрон и нейрон-глии и MAG (myelin-associated glycoprotein), регулирующий взаимодействие нейронов и олигодендроцитов [103]. Так же как и N-CAM, эти молекулы принадлежат к суперсемейству иммуноглобулинов и несут на себе полисиаловую кислоту и карбогидратный эпитоп HNK-1, обнаруженный впервые на клетках-киллерах [130-132]. МКА к HNK-1 эпитопу взаимодействуют со всеми этими молекулами и могут быть использованы для изучения их экспрессии в нервной ткани в онтогенезе [133].

N-CAM, L1 и MAG участвуют в межклеточных взаимодействиях за счет гомофильного связывания, существенную роль в котором играют полисахаридные группы этих молекул [103]. Другой класс молекул клеточной адгезии опосредует кальций-зависимые реакции, и наиболее изученным представителем этого класса является N-кадгерин, интегральный

мембранный белок, паттерн экспрессии которого в онтогенезе сходен с таковым у -CAM [103].

Используя антитела к различным белкам клеточной адгезии, удалось проследить совместное действие N-кадгерина и Ng-CAM в миграции нервных клеток из эксплантата субэпидермальной области взрослого мозга птиц, где продолжается образование нейронов и их выход в ткань мозга вдоль радиальных волокон глии. Было показано, что начальные этапы движения опосредуются N-кадгерином, а последующая миграция и выживание нервных клеток зависят от экспрессии Ng-CAM, то есть от взаимодействия с клетками радиальной глии [134].

Молекулы клеточной адгезии, описанные выше, имеют широкое распространение в развивающейся нервной ткани и представлены в большинстве нервных и глиальных клеток. С помощью МКА удалось идентифицировать адгезивные молекулы с ограниченной локализацией, например, AMOG (adhesion molecule on glia), интегральный гликопротеин (45-50 кДа), синтезируемый глиоцитами мозжечка в период миграции гранулярных нейронов и принимающий участие в движении нейронов вдоль астроглиальных отростков [135] и контактин (F11), принадлежащий к суперсемейству иммуноглобулинов и имеющий сайты связывания Ng-CAM, тенасцина и рестриктина [136, 137].

Молекулы клеточной адгезии с ограниченной экспрессией в определенный период времени, в отдельных областях мозга и/или определенном типе нейронов могут играть важную роль в фасилитации некоторых популяций аксонов, элонгации аксонов вдоль специфических путей, формировании, поддержании и пластических перестройках селективных синаптических контактов [138-140]. Получение больших панелей МКА к антигенам развивающейся нервной ткани предоставило большие возможности для поиска и тестирования этой группы молекул, по своей ультраструктурной локализации условно разделенной на две группы - AxCAMs (axon-associated cell adhesion molecules) и DenCAMs (dendrite-associated cell adhesion molecules). За последние годы было идентифицировано несколько молекул этих классов, таких как принадлежащие к суперсемейству иммуноглобулинов TAG-1 [141] и DM-GRASP [142], рофасцин [143], аксонин-1 [144] и DenCAMs - теленцефалин [145] и BIG-1 [146].

Проводя скрининг МКА к стадийноспецифическим антигенам нервной системы дрозофилы по динамике экспрессии в развивающихся аксонах, удалось выявить несколько молекул клеточной адгезии, получивших название фасциклины [82, 147]. Фасциклины принадлежат к суперсемейству иммуноглобулинов [147], опосредуют гомофильную клеточную адгезию и также, как и N-CAM, имеют несколько изоформ, являющихся продуктами альтернативного сплайсинга [148, 149]. Функционально фасциклины относятся к классу Ax-CAMs, и принимают участие в движении и объединении однородных аксонов, а также в узнавании ими клеток-мишеней. Изменение паттерна и уровня экспрессии фасциклина II нарушает способность конусов роста аксонов к направленному движению и модифицирует их способность реагировать на различные стимулы [150].

Возможно, что к классу Ax-CAMs относится и "белок височного аксона сетчатки", присутствующий у птиц лишь в аксонах отдельных нейронов сетчатки [151].

Среди белков, ассоциированных с ростом, наиболее известен нейронспецифический фосфопротеин GAP-43 (другие наименования - GAP-48, p57, pp46, B-50, F1), присутствующий в конусах роста аксонов и мембранах развивающихся синапсов. Так как GAP-43 является субстратом эндогенной протеинкиназы C [152], а фактор роста нервов вызывает его усиленное фосфорилирование, было высказано предположение о том, что этот процесс является необходимым для осуществления белком его функции. Однако, используя

два вида МКА - взаимодействующие только с фосфорилированной формой GAP-43 и реагирующие как с фосфорилированной, так и дефосфорилированной формой, - удалось показать, что модификация GAP-43 всегда пространственно ограничена дистальной частью аксона и имеется временное отставание между началом роста аксона и процессом фосфорилирования [153].

С помощью МКА удалось идентифицировать еще один ассоциированный с ростом аксона белок - A60 [154, 155], тесно связанный с нейрональной мембраной и появляющийся в нейронах ЦНС на 1-й день постнатального развития. В мозжечке крыс к 7-му дню A60 обнаруживается в телах клеток, начальных сегментах аксонов и дендритов, но подобный характер распределения сохраняется только до 13-го дня, а в зрелой нервной ткани белок присутствует только в аксонах. Предполагается, что A60 взаимодействует со спектрином мембраны и функционально не связан с инициацией роста аксона, но может принимать участие в поддержании его формы.

Для изучения структуры фактора роста нервов и взаимодействия его с рецептором были получены высокоаффинные МКА, специфичные к эпитопу, распознающему рецептор [156]. Используя эти МКА, удалось показать, что ФРН является гомодимером из двух субъединиц по 13 кДа, каждая из которых несет связывающий рецептор сайт.

Оригинальный метод исследования роли ФРН в развитии зрительной системы был использован в работе [157]. Для устранения действия эндогенного ФРН на 15 день постнатального развития в боковой желудочек мозга помещали клетки гибридомы, продуцировавшей МКА к ФРН, что приводило к повреждению клеток ядер латерального колленчатого тела и падению плотности их распределения.

Молекулярные механизмы завершающего этапа образования нервных связей - узнавания клетки мишени и формирования специфических синаптических контактов - помимо клеточной субстратной адгезии включают процессы хемотаксии [158, 159] и отталкивания или отторжения [160-162]. Попытки идентификации молекул, принимающих участие в этих процессах, привели к обнаружению контактина - поверхностно расположенного богатого лейцином белка, экспрессирующегося в субпопуляциях мышечных клеток, иннервирующих их мотонейронах дрозофилы [163, 164], и ответственного за "привлечение" аксонов, а также противоположного ему по действию коллапсина, белка нервной ткани, индуцирующего коллапс и паралич активности конуса роста аксона [160, 163].

С помощью МКА были получены доказательства участия аксона в регуляции процесса его миелинизации: один из видов МКА к антигенам аксолемы развивающихся аксонов блокировал миелинизацию, что выражалось в подавлении синтеза сульфатидов и белков олигодендроцитов и подтверждалось морфологическими данными. В иммуногистохимических экспериментах МКА маркировали аксоны в белом веществе мозга и не взаимодействовали с миелином и клетками олигодендроглии [165]. В свою очередь на мембране олигодендроцитов был обнаружен эпитоп, исчезающий при изолированном культивировании этих клеток, но экспрессирующийся вновь при добавлении аналогов цАМФ, что позволило авторам предполагать участие выявляемого МКА антигена в восприятии сигналов от аксона и инициации процесса образования миелина [166].

Перспективный подход к идентификации генов, участвующих в сложных процессах развития нервной системы, - это систематический скрининг мутаций, вызывающих нарушения развития нейронов и глиальных клеток и формирования нейрональных связей, что идентифицируется при помощи МКА, маркирующих различные компоненты нервной ткани. Этот подход позволил выявить гены, необходимые для направленного движения

конуса роста аксона [167] и формирования специфических связей мотонейронов с мышцами [168]. Используя панели МКА к антигенам нервной системы дрозофилы [169, 170], удалось обнаружить более 15-ти генов, вызывающих такие нарушения развития, как гиперпродукция нейронов из зародышевых клеток, потеря нейронов и дезорганизация периферической нервной системы, нарушения миграции, аномальная морфология нервных клеток, гиперпродукция глиоцитов и нарушение формирования межнейронных связей [171]. Ранее при помощи МКА удалось выявить ген, кодирующий нейронспецифический гликопротеин в мозге дрозофилы [172]. Очевидно, что этот подход даст в ближайшее время исключительно интересные результаты.

Существующая точка зрения о сходстве механизмов нейрональной пластичности в развивающейся и зрелой нервной ткани позволяет предполагать, что в эти процессы вовлечены одни и те же молекулы, а анализ данных о молекулах клеточной адгезии, ассоциированных с ростом белках нейроростовых факторах и их рецепторах, белковых продуктах протоонкогенов подтверждает эту гипотезу [121].

Аппликация МКА к антигенам развивающегося гиппокампа крысы [100], на апикальные дендриты пирамидных нейронов поля СА1 подавляет индукцию длительной посттетанической потенциации, являющейся одной из наиболее широко используемых моделей нейрональной пластичности взрослого мозга [173].

В наших экспериментах интрацентральное введение МКА к антигену синаптических окончаний, интенсивно окрашивавших нейропил гиппокампа в области расположения мышечных волокон, подавляло развитие длительной посттетанической потенциации в нейронах зубчатой фасции [174].

МКА к нейроспецифическому гликопротеину [175, 176] при внутрижелудочковом введении нарушали выработку реакции пассивного избегания у крыс [177].

Получение МКА к аналогу N-CAM у аплизии (арCAM) [178] позволило исследовать роль этой молекулы в формировании рефлекса отдергивания сифона жабер. Было показано, что серотонин, модулирующий этот рефлекс, влияет на синтез и распределение арCAM в сенсорном нейроне взрослого животного [179], а FMRFамид, вызывающий длительную синаптическую депрессию в мотонейроне L1, уменьшает экспрессию арCAM на поверхности этого нейрона [180]. Таким образом, одним из механизмов влияния активности нейрона на межклеточные взаимодействия, регенерацию или возможность последующих стимулов возбуждать структурные изменения в зрелой нервной системе является освобождение нейротрансмиттеров и нейропептидов, оказывающих множественные влияния на рецепторные клетки, включая экспрессию и распределение молекул клеточной адгезии.

Внутричерепное введение антител к Ng-CAM (L1) за 30 минут до начала тренинга или через 5,5-8 час после его окончания нарушало выработку пассивного избегания у цыплят [181], в то время как инъекции антител в другие сроки не влияли на обучение. Так как формирование долговременной памяти вызывает усиление синтеза гликопротеинов непосредственно после обучения и через 6 часов после окончания тренинга, можно предполагать, что молекулы клеточной адгезии составляют значительную долю вновь синтезируемых молекул и непосредственно связаны с модификацией синаптических контактов в зрелой нервной ткани.

Наибольшее число работ, выполненных при помощи МКА, посвящено идентификации антигенов, маркирующих отдельные популяции нейронов в разных отделах нервной системы [182-193].

Разнообразие антигенов-маркеров, выявляющих определенные группы нейронов, ставит вопрос о том, что именно лежит в основе наличия у данных групп клеток общих

антигенов. Исходя из приведенного выше, можно предполагать, что одной из таких причин является общность происхождения [96-98], одинаковая эргичность нейронов, то есть присутствие одних и тех же систем рецепторов, ферментов синтеза и деградации нейротрансмиттеров и белков секреторных гранул [194, 195]. Значительный интерес представляет наличие общих антигенов у нейронов, интегрированных в единые функциональные сети [196], так как исследование подобных антигенов предоставит новые данные для понимания механизмов образования специфических межнейронных связей. В то же время нельзя исключить и случайное "конвергентное" сходство, обусловленное наличием одинаковых путей посттрансляционных модификаций, в частности, гликозилирования [183]. Например, МКА к эпитопу HNK-1 специфически маркируют субпопуляцию ГАМК-эргических нейронов, содержащих парвальбумин [197], и известно, что этот эпитоп присутствует в составе некоторых молекул клеточной адгезии.

Очевидно, что в каждом конкретном случае функции маркерных молекул могут быть различны. Исследования маркерных антигенов показали, что вариабельность нервных клеток по биохимическим признакам еще значительнее, чем представлялось ранее, и в то же время открыты перспективы поиска генов, их кодирующих, выяснения механизмов регуляции их активности, выявления особенностей "субпопуляции" генов конкретного нейрона, что приведет к пониманию причин дивергенции и созданию представлений о функциональной роли каждого из идентифицированных антигенов в молекулярных механизмах жизнедеятельности клетки.

Моноклональные антитела в исследовании патологии нервной системы. Число работ, посвященных использованию МКА к антигенам нервной ткани в исследовании патологии нервной системы относительно невелико. Особенно следует выделить использование МКА для разработки различных тест-систем, выявляющих нейроспецифические антигены и их фрагменты в спинномозговой жидкости и сыворотке крови больных, где они появляются при нарушении функций гематоэнцефалического барьера, сопровождающего патологические процессы различной этиологии - воспалительные заболевания (энцефалиты, энцефаломиелиты и т.д.), травматические повреждения, радиационное облучение, инсульты, опухоли, а также некоторые психические заболевания, алкоголизм и наркомания, и вызывают появление аутоантител, способных оказывать как санирующее, так и патогенное воздействие [198].

МКА к молекулам клеточной и субстратной адгезии и белкам, ассоциированным с ростом, могут оказаться полезными в исследовании механизмов регенерации, ремиелинизации и приживления трансплантатов.

Неспособность олигодендроцитов к заместительному восстановлению демиелинизированных аксонов дает определенный вклад в неврологические нарушения, характерные для множественного склероза. У грызунов же трансплантированные неонатальные предшественники, идентифицированные МКА A2B5, выявлявшими поверхностный ганглиозид, успешно ремиелинизировали аксоны. С помощью этих же МКА удалось обнаружить пролифорирующих предшественников олигодендроцитов в культуре зрелой нервной ткани человека и продемонстрировать их способность к развитию при стимуляции астроцитов [199]. Эта работа может являться первой ступенью в разработке стратегии стимуляции восстановления миелина при демиелинизирующих заболеваниях.

С помощью МКА к видоспецифическим антигенам нервных волокон и крупных нейронов цыпленка удалось проследить приживание нейронов при получении химер цыпленка и перепела [200].

Возможность получения МКА к минорным антигенам позволяет проводить направленный поиск маркеров различных опухолей нервной ткани. В частности, уже описаны МКА, выявляющие антиген, ассоциированный с промежуточными филаментами астроцитов, присутствующий только в перерожденных, но не в нормальных клетках [201]. Подобные МКА могут быть использованы не только для определения природы опухолевых клеток, но и для направленного транспорта противоопухолевых препаратов в ткань мозга.

Однако наибольший интерес представляют попытки понять молекулярные механизмы, лежащие в основе развития той или иной патологии.

Одним из широко исследуемых в настоящее время заболеваний является болезнь Альцгеймера, для которой характерна дегенерация отдельных популяций нейронов и образование так называемых сенильных бляшек [202]. Сенильные бляшки образованы бета-амилоидом - протеолитическим дериватом большого трансмембранного белка нейронов, получившего название предшественника бета-амилоида [203]. МКА к белку-предшественнику бета-амилоида могут быть использованы для диагностики болезни Альцгеймера [204]. С помощью МКА к С-концевым участкам различных амилоидных полипептидов, удалось выявить пептид, принимающий участие в инициации бета-амилоидогенеза [205]. МКА к обогащенной филаментами фракции коры головного мозга, полученной при аутопсии у пациента с болезнью Альцгеймера, выявляли антиген, присутствующий на клетках микроглии сенильных бляшек, а также микроглиальных клетках, инкапсулирующих опухоли, очаги инсульта, но отсутствующий в здоровой нервной ткани [206]. Таким образом, экспрессия этого антигена наблюдается только при патологических процессах и он может быть использован в качестве диагностического маркера.

Заключение. Анализируя экспериментальные данные, полученные при использовании МКА, мы не ставили своей задачей детально рассмотреть все подобные работы, выделив лишь некоторые наиболее перспективные с нашей точки зрения направления. Мы практически не касались исследования механизмов аксонального транспорта [207-209], синаптической передачи и нейросекреции [210-215], идентификации низкомолекулярных нейроактивных веществ [216, 217]. Очевидно, что применение гибридной технологии наряду с другими современными методами изучения структуры и функции молекул нервной ткани обеспечивает уникальные возможности для понимания конкретных молекулярных механизмов деятельности мозга и перспективы для диагностики и лечения многих заболеваний нервной системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Штарк М.Б. Иммунонейрофизиология. - Л.: Медицина, 1978. - 175 с.
2. Штарк М.Б. Мозгоспецифические белки (антигены) и функции нейрона. - М.: Медицина, 1985. - 310 с.
3. Березин В.А., Белик Я.В. Специфические белки нервной ткани. - Киев: Наук.думка, 1990. - 264 с.
4. Buskirk D., Thiery J.-P., Rutishauser U., Edelman G.M. // Nature. - 1980. - V. 285. - N 5765. - P. 488-491.
5. Keilhauer G., Faissner A., Schachner M. // Nature. - 1985. - V. 316. - P. 728-730.
6. Солнцева Е.И., Ведерникова Л.В., Позднякова А.П., Полетаев А.Б. // Докл. АН СССР. - 1981. - Т. 260. - N 1. - С. 252-256.
7. Чехонин В.П., Морозов Г.В., Каипаров И.А., Рябухин И.А. // Биотехнология. - 1988. - Т. 4. - N 5. - С. 648-651.
8. Wellhoner H.H. // Pol. J. Pharmacol. - 1992. - V. 44. - P. 78.
9. Kohler G., Milstein C. // Nature. - 1975. - V. 256. - P. 495-497.
10. Cuellar A.C., Priestley J.V., Milstein C. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1982. - V. 79. - N 2. - P. 665-667.
11. Brennan M., Davison P.F., Paulus H. // Science. - 1985. - V. 229. - N 4708. - P. 81-83.
12. Suresh M.R., Cuellar A.C., Milstein C. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1986. - V. 83. - N 20. - P. 7989-7993.
13. Matthew W.D., Sandrock A.W. // J. Immunol. Meth. - 1987. - V. 100. - P. 73-82.
14. Morris-Plummer J., McHugh Y.E., Walhall H. Production of mouse hybridomas with the IVISTM in vitro immunization system. - Bercley. - Hana Media Inc. - 1989. - P. 1-10.
15. Старостина М.В., Фукс Б.Б., Штарк М.Б. // Усп. совр. биол. - 1984. - Т. 98. - В. 3(6). - С. 355-368.
16. Wollner D.A., Messner D.J., Catterall W.A. // J. Biol. Chem. - 1987. - V. 262. - P. 14709-14715.
17. Sutkovski E.M., Catterall W.A. // J. Biol. Chem. - 1990. - V. 265. - P. 12393-12399.
18. Noda M., Ikeda T., Kayano T., Suzuki H., Takeshima H., Kurasaki M., Takahashi H., Numa S. // Nature. - 1986. - V. 320. - P. 188-192.
19. Stummer W. // Molecular basis of ion channels. - New Haven. - Yale Univ. Press. - 1986. - P. 4-11.
20. Numa S. // Harvey Lect. - 1989. - V. 83. - P. 121-165.
21. Catterall W.A. // Science. - 1991. - V. 253. - P. 1499-1500.
22. Wollmer D.A., Scheiman R., Catterall W.A. // Neuron. - 1988. - V. 1. - N 2. - P. 727-737.
23. Ellisman M.H., Levinson S.R. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1982. - V. 79. - P. 6707-6711.
24. Casadei J.M., Gordon R.D., Lampson L.A., Schotland D.L., Barchi R.L. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1984. - V. 81. - P. 6227-6231.
25. Casadei J.M., Gordon R.D., Barchi R.L. // J. Biol. Chem. - 1986. - V. 261. - P. 4318-4323.
26. Grunhagen H.H., Dahl G., Reiter P. // Biochim. Biophys. Acta. - 1981. - V. 642. - P. 267-285.
27. Meiri H., Zeitoun I., Grunhagen H.H., Lev-Ram V., Eshnar Z., Schlessinger Y. // Brain Res. - 1985. - V. 310. - N 1/2. - P. 168-173.
28. Meiri H., Goren E., Bergman H., Zeitoun I., Rosental Y., Palti Y. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1986. - V. 83. - P. 8385-8389.

29. Barhami J., Meiri H., Romey G., Poupon D., Lazdunski M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1985. - V. 82. - P. 1842-1846.
30. Meiri H., Spira G., Meiri S., Namir M., Schwartz A., Komoriya A., Kosower E.M., Palti Y. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1987. - V. 84. - N 14. - P. 5058-5062.
31. Morton M.E., Froehner S.C. // *J. Biol. Chem.* - 1987. - V. 262. - P. 11904-11907.
32. Isom L.L., De Jongh K.S., Catterall W.A. // *Neuron.* - 1994. - V. 12. - N 6. - P. 1883-1894.
33. Ahljanian M.K., Westenbwek R.E., Catterall W.A. // *Neuron.* - 1990. - V. 4. - P. 819-832.
34. Takahashi M., Fujimoto Y. // *Biophys. Biochem. Res. Commun.* - 1989. - V. 163. - P. 1182-1186.
35. Sakamoto J., Campbell K.P. // *J. Biol. Chem.* - 1991. - V. 266. - P. 18914-18919.
36. Trimmer J.S. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1991. - V. 88. - P. 10764-10768.
37. Bourne A.M., Sanders D.A., McCormick F. // *Nature.* - 1991. - V. 349. - P. 117-127.
38. Yatani A., Hamm H., Codina J., Mazzoni M.R., Birnbaumer L., Brown A.M. // *Science.* - 1988. - V. 241. - P. 828-831.
39. Terashima T., Katada T., Oinuma M., Inoue Y., Ui M. // *Brain Res.* - 1988. - V. 442. - P. 305-311.
40. Goldsmith P., Gierschik P., Milligan G., Unson C.G., Vinitsky R., Malech H.L., Spiegel A.M. // *J. Biol. Chem.* - 1987. - V. 262. - P. 14683-14688.
41. Bourne H.R., Sanders D.A., McCormick F. // *Nature.* - 1990. - V. 348. - P. 125-132.
42. Granneman J., Kapatos G. // *J. Neurochem.* - 1990. - V. 54. - P. 1995-2001.
43. Rouot B., Charpentier N., Chabbert Ch., Carrette J., Zumbihl R., Bockaert J., Homburger V. // *Mol. Pharmacol.* - 1992. - V. 41. - P. 273-280.
44. Collingridge G. // *Nature.* - 1987. - V. 30. - N 6149. - P. 604-605.
45. Дамбинова С.А., Лекомцева Т.М., Маргулис М.Н., Огурцов Р.П. // *Биохимия* - 1987. - Т. 52. - В. 9. - С. 1523-1530.
46. Siegel S.J., Brose N., Jansen W.G., Gasic G.P., Jahm R., Heinemann S.F., Morrison J.H. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1994. - V. 91. - P. 564-568.
47. Huntley G.W., Vickers J.C., Jansen W. G., Brose N., Heinemann S.F., Morrison J.H. // *J. Neurosci.* - 1994. - V. 14. - N 6. - P. 3603-3619.
48. Tanabe Y., Masu M., Ishii T., Shigemoto R., Nakanishi S. // *Neuron.* - 1992. - V. 8. - P. 169-179.
49. Shigemoto R., Nomura S., Ohishi H., Sugihara H., Nakanishi S., Mizuno N. // *Neurosci. Lett.* - 1993. - V. 163. - P. 53-57.
50. Ohishi H., Ogawa-Meguro R., Shigemoto R., Kaneko T., Nakanishi S., Mizuno N. // *Neuron.* - 1994. - V. 13. - N 1. - P. 55-56.
51. Shigemoto R., Abe T., Nomura S., Nakanishi S., Hirano T. // *Neuron.* - 1994. - V. 12. - N 6. - P. 1245-1255.
52. Yamamoto-Hino M., Miyawaki A., Kawano H., Sugiyama T., Furuichi T., Hasegawa M., Mikoshiba K. // *NeuroReport.* - 1995. - V. 6. - N 2. - P. 273-276.
53. Harring P., Stahli C., Schoch P., Takacs B., Staehelin T., Mohler H. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1985. - V. 82. - P. 4837-4841.
54. Muller T., Fritschy J.M., Grosche J., Pratt G.D., Mohler H., Kettenmann H. // *J. Neurosci.* - 1994. - V. 14. - N. 5. - P. 2503-2514.
55. Jessel N.M., Kandel E.R. // *Cell.* - 1993. - S. 10. - P. 1-30.
56. Fallon J.R., Nitkin R.M., Reist G., Wallace B.G., McMahan V.J. // *Nature.* - 1985. - V. 315. - P. 571-574.

57. Nitkin R.M., Smith M.A., Magill C., Fallon J.R., Yao Y.A., Wallace B.G., McMahan V.J. // *J. Cell Biol.* - 1987. - V. 105. - P. 2471-2478.
58. Nastuk M.F., Fallon J.R. // *Trends. Neurosci.* - 1993. - V. 16. - P. 72-76.
59. Bowe M.A., Deyst K.A., Leszyk J.D., Fallon J.R. // *Neuron.* - 1994. - V. 12. - N 5. - P. 1173-1180.
60. Sugiyama J., Bowen D., Hall Z.W. // *Neuron.* - 1994. - V. 13. - N 1. - P. 103-115.
61. Black M.M., Smith W. // *Intrinsic determinants of neuronal form and function.* - N.Y. - Alan R. Liss, Inc. - 1988. - P. 463-486.
62. Meller D., Eysel U.T., Schmidtkastrner R. // *Brain Res.* - 1994. - V. 648. - N 1. - P. 162-166.
63. Hirokawa N., Gliksman W.A., Willard M. // *J. Cell Biol.* - 1984. - V. 98. - P. 1523-1536.
64. Caceres A., Banker G.A., Binder L. // *J. Neurosci.* - 1986. - V. 6. - P. 714-722.
65. Peng I., Binder L., Black M.M. // *J. Cell Biol.* - 1986. - V. 102. - P. 252-262.
66. Kosik K.S., Finch E.A. // *J. Neurosci.* - 1987. - V. 7. - N 10. - P. 3142-3153.
67. Rebhan M., Vacun G., Rosner H. // *NeuroReport.* - 1995. - V. 6. - P. 429-432.
68. Garner C.C., Garner A., Hubert G., Kosak C., Matus A. // *J. Neurochem.* - 1990. - V. 55. - P. 146-154.
69. Black M.M., Slaughter T., Fisher I. // *J. Neurosci.* - 1994. - V. 14. - N 2. - P. 857-870.
70. Tucker R.P., Binder L.I., Matus A.I. // *Develop. Brain Res.* - 1988. - V. 38. - P. 313-318.
71. Goedet M., Spillantini M.J., Potier M.C., Ulrich J., Crowther R.A. // *EMBO J.* - 1989. - V. 8. - P. 393-399.
72. Kosik K.S., Orecchio L.D., Bakalis S., Neve R.L. // *Neuron.* - 1989. - V. 2. - P. 1389-1397.
73. Georgieff I.S., Nunez J., Liem R.K.H., Shelanski M.L. // *J. Cell. Biol.* - 1990. - V. 111. - N 5. - P. 435-439.
74. Shea T.B., Perrone-Bizzozetto N.I., Beerman M.L., Benowitz L.I. // *J. Neurosci.* - 1991. - V. 11. - P. 1685-1690.
75. Shea T.B., Beerman M.L. // *Cell. Biol. Int. Rep.* - 1990. - V. 14. - P. 1093-1098.
76. Shea T.B., Beerman M.L., Nixon R.A., Fischer I. // *J. Neurosci. Res.* - 1992. - V. 32. - P. 363-374.
77. McKay R.D.G. // *Cell.* - 1989. - V. 58. - P. 815-821.
78. McConnell S.K. // *Annu. Rev. Neurosci.* - 1991. - V. 14. - P. 269-300.
79. Kotrla K.J., Goodman C.S. // *Nature.* - 1984. - V. 227. - P. 151-153.
80. Bastiani M.J., Harrelson A.L., Snow P.M., Goodman C.S. // *Cell.* - 1987. - V. 48. - P. 745-755.
81. Denburg J.L., Norbeck B.A., Caldwell R.T., Marner J.A.M. // *Develop. Biol.* - 1989. - V. 132. - P. 1-13.
82. Patel N.H., Snow P.M., Goodman C.S. // *Cell.* - 1987. - V. 48. - P. 975-988.
83. Piovant M., Lena P. // *Development.* - 1988. - V. 103. - P. 145-156.
84. Hishinuma A., Hockfield S., McKay R., Hildebrand J.G. // *J. Neurosci.* - 1988. - V. 8. - P. 308-315.
85. Grunwald G.B., Fredman P., Magnani J.L., Trisler D., Ginsburg V., Nirenberg M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1985. - V. 82. - P. 4008-4012.
86. Rosner H., Al-Aqtum M., Henke-Fahle S. // *Dev. Brain Res.* 1985. - V. 18. - P. 85-95.
87. Yamamoto M., Boyer A.M., Schwarting G.S. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1985. - V. 82. - P. 3045-3049.
88. Yamamoto M., Boyer A.M., Crandall J.E., Edwards M., Tanaka H. // *J. Neurosci.* - 1986. - V. 6. - P. 3576-3594.

89. *Schwarting G.A., Jungalwala F.B., Chou D.K.H., Boyer A.M., Yamamoto M.* // *Dev. Biol.* - 1987. - V. 120. - P. 65-76.
90. *Dodd J., Morton S.B., Karagogeos D., Yamamoto M., Jessel T.M.* // *Neuron.* - 1988. - V. 1. - P. 105-116.
91. *Dubois C., Magnani J.L., Grunwald G.B., Spitalnik S.L., Trisler G.D., Nirenberg M., Ginsburg V.* // *J. Biol. Chem.* - 1986. - V. 261. - P. 3826-3830.
92. *Suchy S.F., Yamamoto M., Barbero L., Schwarting G.A.* // *Brain Res.* - 1988. - V. 440. - P. 25-34.
93. *Berglund E., Almqvist P., Lindroos H., Carlsson S., Stibrand T.* // *J. Neurochem.* - 1987. - V. 48. - P. 809-815.
94. *Blum A.S., Barnstable C.J.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1987. - V. 84. - P. 8716-8720.
95. *Yoshimura K., Akagawa K., Nishimura Y., Uemura K.* // *Brain Res.* - 1990. - V. 509. - P. 161-164.
96. *Cohen J., Selvendren S.* // *Nature.* - 1981. - V. 291. - N 5814. - P. 421-423.
97. *Vulliamy T., Ratray S., Mirsky R.* // *Nature.* - 1981. - V. 291. - N 5814. - P. 418-420.
98. *Ingram V.M., Ogren M.P., Chatot C.L., Gossels J.M., Owens B.B.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1985. - V. 82. - P. 7131-7135.
99. *Stainer D.Y., Gilbert W.* // *J. Neurosci.* - 1989. - V. 9. - N 7. - P. 2468-2485.
100. *Moskal J.R., Schaffner A.E.* // *J. Neurosci.* - 1986. - V. 6. - N 7. - P. 2045-2053.
101. *Woodhams P.L., Kawano H., Seely P.J., Atkinson D.J., Field P.M., Webb M.* // *Neurosci.* - 1992. - V. 46. - N 1. - P. 57-69.
102. *Ельникова С.Г., Панкова Т.М., Старостина М.В., Штарк М.Б.* // *Онтогенез.* - 1992. - Т. 23. - N 5. - С. 480-486.
103. *Linneman D., Bock E.* // *Dev. Neurosci.* - 1989. - V. 11. - N 3. - P. 149-173.
104. *Letourneau P.C., Condic M.L., Snow D.M.* // *J. Neurosci.* - 1994. - V. 14. - N 3. - P. 915-928.
105. *Skene J.H.P.* // *Ann. Rev. Neurosci.* - 1989. - V. 12. - P. 127-156.
106. *Davies A.M.* // *Trends Genet.* - 1988. - V. 4. - N 5. - P. 139-143.
107. *Rutishauser U.* // *Curr. Opin. Neurobiol.* - 1993. - V. 3. - P. 709-715.
108. *Goodman C.S., Shatz C.J.* // *Neuron.* - 1993. - V. 10. - P. 77-98.
109. *Doherty P., Walsh F.S.* // *Curr. Opin. Neurobiol.* - 1994. - V. 4. - P. 49-55.
110. *Edelman G.M.* // *Exp. Cell Res.* - 1984. - V. 161. - P. 1-16.
111. *Van den Pol A.N., DiPorzio U., Rutishauser U.* // *J. Cell Biol.* - 1986. - V. 102. - P. 2281-2294.
112. *Rutishauser U., Gall W.E., Edelman G.M.* // *J. Cell Biol.* - 1978. - V. 79. - P. 382-393.
113. *Ellis L., Wallis I., Abreau E., Pfenninger K.H.* // *J. Cell Biol.* - 1985. - V. 101. - P. 1977-1989.
114. *Fushiki S., Schachner M.* // *Dev. Brain Res.* - 1986. - V. 24. - P. 153-167.
115. *Perhson E., Pollerberg G.E., Schachner M.* // *J. Comp. Neurol.* - 1989. - V. 288. - P. 92-100.
116. *Beasley L., Stallcup W.B.* // *J. Neurosci.* - 1987. - V. 7(3). - P. 708-715.
117. *Sunshine J., Balak K., Rutishauser U., Jacobson M.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1987. - V. 84. - P. 5986-5990.
118. *Chuong C.-M., Crossin K.L., Edelman G.M.* // *J. Cell Biol.* - 1987. - V. 104. - P. 331-342.
119. *Nguyen C., Mattei M.-G., Mattei J.-F., Santori M.-J., Goridis C., Jordan B.R.* // *J. Cell Biol.* - 1986. - V. 102. - P. 711-715.
120. *Walsh F.S., Putt., Dickson J.G., Quinn C.A., Cox R.D., Webb M., Spurr N., Goodfellow P.N.* // *Mol. Brain Res.* - 1986. - V. 1. - P. 197-200.
121. *Ельникова С.Г., Старостина М.В.* // *Усп. совр. биол.* - 1994. - Т. 114. - В. 3. -

- C. 319-329.
122. Acheson A., Sunshine J.L., Rutishauser U. // J. Cell Biol. - 1991. - V. 114. - N 1. - P. 143-153.
 123. Keane R.W., Mehta P.P., Rose B., Honig L.S., Loewenstein W.R., Rutishauser U. // J. Cell Biol. - 1988. - V. 106. - P. 1307-1308.
 124. Acheson A., Rutishauser U. // J. Cell Biol. - 1988. - V. 106. - P. 479-486.
 125. Rutishauser U., Acheson A., Hall A.K., Mann D.M., Sunshine J. // Science. - 1988. - V. 240. - P. 53-57.
 126. Knudsen K.A., McElwee S.A., Myers L. // Dev. Biol. - 1990. - V. 138. - P. 159-168.
 127. Rutishauser U. // Development. - 1992. - Suppl. - P. 99-104.
 128. Cackie P.M., Zuber C., Roth J. // Differentiation. - 1994. - V. 57. - N 2. - P. 119-132.
 129. Alcantara A.A., Pfenninger K.H., Greenough W.T. // J. Comp. Neurol. - 1992. - V. 319. - P. 337-348.
 130. Cole G.L., Schachner M. // Neurosci. Lett. - 1987. - V. 78. - P. 227-232.
 131. Kruse J., Mailhammer R., Wernecke H., Faissner A., Sommer I., Goridis C., Schachner M. // Nature. - 1984. - V. 311. - P. 153-155.
 132. Poltorak M., Sadoul R., Keilhauer G., Landa C., Fahrig N., Schachner M. // J. Cell Biol. - 1987. - V. 105. - P. 1893-1899.
 133. Kushler S., Zanetta J.-P., Bon S., Zaepfel M., Massoulie J., Vincendon G. // J. Neurosci. - 1991. - V. 41. - N 2/3. - P. 551-562.
 134. Barami K., Kirschenbaum B., Lemmon V., Goodman C.A. // Neuron. - 1994. - V. 13. - N 3. - P. 567-582.
 135. Antonicek H., Persohn E., Schachner M. // J. Cell Biol. - 1987. - V. 104. - N 6. - P. 1587-1595.
 136. Zisch A.H., D'Alessandri L., Ranscht B., Falchetto R., Winterhalter K.H., Vaughan L. // J. Cell Biol. - 1992. - V. 119. - P. 203-213.
 137. Brummendorf T., Hubert M., Treubert U., Leuschner R., Tarnok A., Rathjen F.G. // Neuron. - 1993. - V. 10. - P. 711-727.
 138. Sonderegger P., Rathjen F.G. // J. Cell Biol. - 1992. - V. 119. - P. 1387-1394.
 139. Brummendorf T., Rathjen F.J. // J. Neurochem. - 1993. - V. 61. - P. 1207-1219.
 140. Rathjen F.G., Norenberg U., Volkmer H. // Biochem. Soc. Trans. - 1993. - V. 20. - P. 405-409.
 141. Furley A.J., Morton S.B., Manalo D., Karagogeos D., Dodd J., Jessel T.M. // Cell. - 1990. - V. 61. - P. 157-170.
 142. Burns F.R., von Kannen S., Guy L., Raper J.A., Kamholz J., Chang S. // Neuron. - 1991. - V. 7. - P. 209-220.
 143. Volkmer H., Hassel B., Wolff J.M., Frank R., Rathjen F.G. // J. Cell Biol. - 1992. - V. 118. - P. 149-161.
 144. Ruegg M.A., Stoeckli E.T., Kuhn T.B., Heller M., Zuellig R., Sonderegger P. // EMBO J. - 1989. - V. 8. - P. 55-63.
 145. Yoshihara Y., Oka S., Nemoto Y., Watanabe Y., Nagata S., Kagamiyama H., Mori K. // Neuron. - 1994. - V. 12. - P. 541-553.
 146. Yoshihara Y., Kawasaki M., Tani A., Tamada A., Nagata S., Kagamiyama H., Mori K. // Neuron. - 1994. - V. 13. - N 2. - P.
 147. Harrelson A.L., Goodman C.S. // Science. - 1988. - V. 242. - P. 700-708.
 148. Snow P.M., Bieber A.J., Goodman C.S. // Cell. - 1989. - V. 59. - P. 313-323.

149. Greening G., Bieber A.J., Rehm E.J., Snow P.M., Traquina Z.R., Platel N.H., Goodman C.S. // Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. - 1990. - V. 55. - P. 327-340.
150. Lin D.M., Goodman C.S. // Neuron. - 1994. - V. 13. - N 3. - P. 507-523.
151. McLoon S.S. // J. Neurosci. - 1991. - V. 11. - N 5. - P. 1470-1477.
152. Van Hoof C.O.M., de Graan P.N.E., Oestreicher A.B., Gispen W.H. // J. Neurosci. - 1988. - V. 8. - P. 1789-1795.
153. Meiri K.F., Bickerstaff L.E., Schwob J.E. // J. Cell Biol. - 1991. - V. 112. - N 5. - P. 991-1005.
154. Berglund A.M., Ryugo D.K. // Brain Res. - 1986. - V. 383. - N 2. - P. 327-332.
155. Hayes N.V., Baines A.J. // J. Neurochem. - 1994. - V. 62. - P. 300-306.
156. Vroegop S.M., Grumm E., Buxser S.E. // Mol. Immunol. - 1992. - V. 29. - N 3. - P. 411-423.
157. Berardi N., Cellerino A., Domenici L., Fagiolini M., Pizzorusso T., Cattaneo A., Maffei L. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1994. - V. 91. - N 2. - P. 684-688.
158. Baer H., Bonhoeffer F. // Science. - 1992. - V. 255. - P. 472-475.
159. Tessier-Lavigne M. // Curr. Opin. Neurobiol. - 1992. - V. 2. - P. 303-310.
160. Kapfhammer J.P., Raper J.A. // J. Neurosci. - 1987. - V. 7. - P. 201-212.
161. Luo Y., Raible D., Raper J.A. // Cell. - 1993. - V. 75. - P. 217-227.
162. Pini A. // Science. - 1993. - V. 261. - P. 95-98.
163. Nose A., Mahajan V.P., Goodman C.S. // Cell. - 1992. - V. 70. - P. 553-567.
164. Nose A., Takeichi M., Goodman C.S. // Neuron. - 1994. - V. 13. - N 3. - P. 525-539.
165. Notterpek L.M., Rome L.H. // Neuron. - 1994. - V. 13. - N 2. - P. 473-485.
166. Rostami A., Sobue G., Lisak R.P., Pleasure D.E. // Brain Res. - 1987. - V. 425. - N 2. - P. 205-211.
167. Seeger M., Tear G., Ferres-Marco D., Goodman C.S. // Neuron. - 1993. - V. 10. - P. 409-426.
168. Van Vactor D., Sink H., Fambrough D., Tsou R., Goodman C.S. // Cell. - 1993. - V. 73. - P. 1137-1153.
169. Fujita S., Zipursky S.L., Benzer S., Ferrus A., Shotwell S.L. // 1982
170. Goodman C.S., Bastiani M.J., Doe C.Q., DuLac C., Hiltfand S.L., Kuwada K.Y., Thomas J.B. // Science. - 1984. - V. 225. - P. 1271-1279.
171. Salzberg A., D'Evelyn D., Schulze K.L., Lee J.K., Strumpf D., Tsai L., Bellen H.J. // Neuron. - 1994. - V. 13. - N 2. - P. 269-287.
172. Zipursky S.L., Venkatesh T.R., Benzer S. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1985. - V. 82. - P. 1855-1859.
173. Stanton H.K., Sarvey J.M., Moskal J.R. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1987. - V. 84. - P. 1684-1688.
174. Панкова Т.М., Старостина М.В., Любославская П.Н., Хиченко В.И., Штарк М.Б. // Бюлл. эксп. биол. мед. - 1993. - Т. CXYI. - N 7. - С. 66-68.
175. Lakin K.H., Fabre J.W. // J. Neurochem. - 1981. - V. 37. - P. 1170-1178.
176. Lakin K.H., Allen A.K., Fabre J.W. // J. Neurochem. - 1983. - V. 41. - P. 385-394.
177. Nolan P.M., Bell R., Regan C.M. // Neurosci. Lett. - 1987. - V. 79. - P. 346-350.
178. Keller F., Schacher S. // J. Cell Biol. - 1990. - V. 111. - P. 2637-2650.
179. Mayford M., Barzilai A., Keller F., Schacher S., Kandel E.R. // Science. - 1992. - V. 256. - P. 638-644.
180. Peter N., Aronoff B., Wu F., Schacher S. // J. Neurosci. - 1994. - V. 14. - N 3. - P. 1413-1421.

181. Scholey A.B., Mileusnic R., Schachner M., Rose S.P.R. // Learning and memory. - 1995. - V. 2. - N 1. - P. 17-25.
182. Akagawa K., Barnstable C.J. // Brain Res. - 1986. - V. 383. - P. 110-120.
183. DeBlas A.L., Kuljis R.O., Cherwinski H.M. // Brain Res. - 1984. - V. 322. - P. 277-287.
184. Mori K., Fujita S.C., Watanabe Y., Obata K., Hayashi O. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1987. - V. 84. - P. 3921-3925.
185. Arimatsu Y., Naegel J.R., Barnstable C.J. // J. Neurosci. - 1987. - V. 7. - P. 1250-1263.
186. Stephenson D.T., Kushner P.D. // J. Neurosci. - 1988. - V. 8. - P. 3035-3056.
187. Yamamoto M., Marshall P., Hemmendinger L.M., Boyer A.B., Caviness V.S.Jr. // Neurosci. Res. - 1988. - V. 5. - P. 273-298.
188. Akeson R.A., Haines S.L. // Brain Res. - 1989. - V. 488. - P. 202-212.
189. Watanabe E., Fujita S.C., Murakami F., Hayashi M., Matsumura M. // Neurosci. - 1989. - V. 29. - P. 645-647.
190. Oka S., Mori K., Watanabe Y. // Neurosci. - 1990. - V. 35. - P. 93-103.
191. Urakami H., Chiu A. // J. Neurosci. - 1990. - V. 10. - N 2. - P. 620-630.
192. Панкова Т.М., Старостина М.В., Шмарк М.Б. // Бюлл. экп. биол. мед. - 1990. - Т. CX. - N 9. - С. 289-290.
193. Takiguchi-Hayashi K., Arimatsu Y. // NeuroReport. - 1995. - V. 6. - N 3. - P. 281-283.
194. Paden C.M., Hapner S.J. // Brain Res. - 1991. - V. 545. - P. 151-163.
195. Pitkanen A., Amaral D.G. // J. Neurosci. - 1994. - V. 14. - N 4. - P. 2200-2224.
196. Zipser B., McKay R. // Nature. - 1981. - V. 289. - N 5798. - P. 549-551.
197. Kosaka T., Isogai K., Barnstable C.J., Heizmann C.W. // Exp. Brain Res. - 1990. - V. 82. - P. 566-574.
198. Крыжановский Г.Н., Магаева С.В. // Итоги науки и техники. - Иммунология. Т.25. - М.:ВИНИТИ, 1990. - С. 120-168.
199. Scolding N.J., Rayner P.J., Sussman J., Shaw C., Compston D.A.S. // NeuroReport. - 1995. - V. 6. - N 3. - P. 441-445.
200. Takagi Sh., Tsuji T., Kimutani M., Fujisawa H. // J. Histochem. Cytochem. - 1989. - V. 37. - N 2. - P. 177-184.
201. Yang H.-Y., Lieska N., Glick R., Shao D., Pappas G.D. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1993. - V. 90. - N 18. - P. 8534-8537.
202. Selkoe G. // Neuron. - 1991. - V. 6. - N 2. - P. 483-498.
203. Kang J., Lemaire H.G., Unterbeck A., Salbaum J.M., Masters C.L., Crzeschik K.-H., Lulthaup G., Beyreuther K., Miller-Hill B. // Nature. - 1987. - V. 325. - P. 733-736.
204. Bickel U., Lee V.M.Y., Trojanowski J.Q., Pardridge W.M. // Bioconjugate Chem. - 1994. - V. 5. - N 2. - P. 119-125.
205. Iwatsubo T., Odaka A., Suzuki N., Mizusawa H., Nukina N., Ihara Y. // Neuron. - 1994. - V. 13. - N 1. - P. 45-53.
206. Cras P., Cheuens J., Lubke U., Boons J., Vandermeeren M., Van Htiverswijn H., Martin J.-J. // J. Histochem. Cytochem. - 1990. - V. 38. - N 8. - P. 1201-1207.
207. Hirokawa N., Pfister K.K., Yorifuji H., Wagner M.C., Brady S.T., Bloom G.S. // Cell. - 1989. - V. 56. - P. 867-878.
208. Brady S.T., Pfister K.K., Bloom G.S. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1990. - V. 87. - P. 1061-1065.
209. Niclas J., Navone F., Hom-Booher N., Vale R.D. // Neuron. - 1994. - V. 12. - N 5. - P. 1059-1072.

210. Моноклональные антитела к антигенам нервной ткани: Сб. ст.: Пер. с англ.; под ред. Р. Мак-Кея, М. Рэффа, Л. Рейхардта. - М.: Мир, 1984. - 272 с.
211. Buckley K., Kelly R.B. // J. Cell Biol. - 1985. - V. 100. - P. 1284-1294.
212. Floor E., Feist H. // J. Neurochem. - 1989. - V. 52. - P. 1433-1437.
213. Schmidle T., Weiler R., Desnos C., Scherman D., Fischer-Colbrie R., Floor E., Winkler H. // Biochim. Biophys. Acta. - 1991. - V. 1061. - P. 251-261.
214. Lowe A.W., Maddeddn L., Kelly R.B. // J. Cell Biol. - 1988. - V. 106. - P. 51-59.
215. Bajjalieh S.M., Peterson K., Linial M., Scheller R.H. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1993. - V. 90. - N 6. - P. 2150-2154.
216. De Blas A.L., Park D., Friedrich P. // Brain Res. - 1987. - V. 413. - N 2. - P. 275-284.
217. De Blas A.L., Sotelo C. // Brain Res. - 1987. - V. 413. - N 2. - P. 285-296.3. Volkmer H., Hassel B., Wolff J.M., Frank R., Rathjen F.G. // J. Cell Biol. - 1992. - V. 118. - P. 149-161.

MONOCLONAL ANTIBODIES IN NEUROBIOLOGY

Starostina M.V., Shtark M.B.

Institute of Medical and Biological Cybernetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences,
Novosibirsk

The paper views the use of monoclonal antibodies and neurobiological studies during investigation of structure and function of macromolecules of neuronal membrane and cytoskeleton, molecular mechanisms of the development of nervous system, and the process underlying neuropathology formation.

Key words: monoclonal antibodies, study of nervous system, structure and function of macromolecules, neuropathology