WORLD SCIENCE: PROBLEMS, PROSPECTS AND INNOVATIONS

Proceedings of XII International Scientific and Practical Conference

Toronto, Canada

11-13 August 2021

Toronto, Canada

2021

UDC 001.1

The 12th International scientific and practical conference "World science: problems, prospects and innovations" (August 11-13, 2021) Perfect Publishing, Toronto, Canada. 2021. 570 p.

ISBN 978-1-4879-3793-5

The recommended citation for this publication is:
Ivanov I. Analysis of the phaunistic composition of Ukraine // World science: problems, prospects and innovations. Proceedings of the 12th International scientific and practical conference. Perfect Publishing. Toronto, Canada. 2021. Pp. 21-27. URL: https://sci-conf.com.ua/xii-mezhdunarodnaya-nauchno-prakticheskaya-konferentsiya-world-science-problems-prospects-and-innovations-11-13-avgusta-2021-goda-toronto-kanada-arhiv/.

Editor
Komarytskyy M.L.
Ph.D. in Economics, Associate Professor

Collection of scientific articles published is the scientific and practical publication, which contains scientific articles of students, graduate students, Candidates and Doctors of Sciences, research workers and practitioners from Europe, Ukraine, Russia and from neighbouring coutries and beyond. The articles contain the study, reflecting the processes and changes in the structure of modern science. The collection of scientific articles is for students, postgraduate students, doctoral candidates, teachers, researchers, practitioners and people interested in the trends of modern science development.

e-mail: toronto@sci-conf.com.ua

homepage: *https://sci-conf.com.ua/*

©2021 Scientific Publishing Center "Sci-conf.com.ua" ®
©2021 Perfect Publishing ®
©2021 Authors of the articles

УДК: 612.111: 576.31

МОДИФИКАЦИЯ ФОРМЫ ЭРИТРОЦИТОВ В УСЛОВИЯХ БЛОКИРОВАНИЯ ИЗМЕНЕНИЙ КОНФОРМАЦИИ АНИОННОГО ПЕРЕНОСЧИКА

Рамазанов Виктор Владимирович,
к.б.н., с.н.с.
Руденко Сергей Витальевич,
к.б.н., с.н.с.
Институт проблем криобиологии и криомедицины
г. Харьков, Украина

Изменение формы эритроцитов может происходить под контролем распределения транспортных сайтов анионного переносчика (б-п-3) по обе стороны мембраны. По одной из гипотез, смещение транспортных сайтов на внешнюю сторону мембраны приводит к эхиноцитозу клеток [1], тогда как по другой гипотезе – к стоматоцитозу [2]. Поэтому остается непонятно, каким образом б-п-3 может быть причастен к механизму регуляции формы эритроцитов. Вместе с тем, существуют данные литературы, указывающие на возможность того, что формомодификация эритроцитов может происходить при фиксации конформации б-п-3 с транспортным сайтом, обращенным на внешнюю сторону мембраны. Б-п-3 – основной трансмембранный белок эритроцитов, высоко структурирован и пронизывает мембрану до 14 раз, образуя α-спиральные участки, объединенные гидрофильными внутриклеточными и внеклеточными поверхностными петлями; армирует фосфолипидный бислой и формирует канал и переносчик анионов [3]. Обработка эритроцитов ингибитором анионного канала ДИДС (4,4'-diisothiocyanato-stilbene-2,2'-disulphonic acid) приводит к необратимому связыванию ингибитора в канале и фиксированию транспортных сайтов переносчика на внешней поверхности мембраны [3,4]. Кроме того, происходит

распад тетрамеров б-п-3 на димеры с нарушением взаимодействия данного белка с цитоскелетом [5].

В представленной работе форму эритроцитов исследовали методом регистрации изменений интенсивности флуктуации оптической плотности (ОП) клеточной суспензии (гематокрит 0,02% ~$3{,}0\times10^6$ кл./мл) при перемешивании в кювете магнитной мешалки с частотой ~7,0 Гц. Тестирование проводили на спектрофотометре, сопряженном с самописцем при длине волны 720 нм. Суспензия одинаковых дискоидных клеток производит максимальную флуктуацию ОП, тогда как взвешенные в растворе сфероциты не производят флуктуации ОП. Поэтому интенсивность флуктуации ОП отражает соотношение между дискоидными и сферическими формами эритроцитов [6]. Таким образом, используя данный метод, можно оценить изменение формы эритроцитов под воздействием различных реагентов.

Установлено, что эритроциты, необратимо меченые ДИДС, изменяют свою форму при перемешивании в потоке от сфероцитов к дискоидным формам и обратно в течение ~5 мин (pH 7.4). Однако, в присутствии альбумина отмечается ингибирование данной обратимой ретрансформации, а сфероциты преобразуются в стабильные дискоидные формы в течение ~0,5 мин. Подобная формомодификация ДИДС-меченых эхиноцитарных эритроцитов (pH 5.6) отмечается при их pH-титровании в физрастворе в цикле pH 5.6↔7.4, когда на 2-м цикле титрования к pH 5.6 клетки в основном становятся дискоцитами [1]. Принято считать, что ДИДС является эхиноцитогенным агентом [7], однако ДИДС-меченые эритроциты могут быть представлены не только эхиноцитами, но и частично дискоцитами [8], а также сфероцитами и яйцеподобными клетками [9]. Обработка эритроцитов ДИДС приводит к фиксации транспортных сайтов анионного переносчика на внешней стороне мембраны [3,4] и, согласно одной из гипотез, клетки могут быть эхиноцитами [1], согласно второй гипотезе – стоматоцитами [2]. Полученные результаты и данные литературы указывают на то, что изменение формы эритроцитов может происходить при конформации б-п-3, зафиксированной транспортным сайтом,

обращенным на внешнюю сторону мембраны, а формомодифицирующее действие альбумина также осуществляется при данной модификации. Это приводит к вопросу о механизме ретрансформации ДИДС-меченых эритроцитов и о механизме форморегуляции при посредстве альбумина.

В экспериментах по протеолитическому расщеплению на поверхности эритроцитов б-п-3 и гликофорина А и по связыванию аглютининов с данными белками установлено, что регуляция формы эритроцитов при действии альбумина может опосредоваться указанными интегральными белками [10]. Белок полосы 4.1 (б-п-4.1) играет важную роль в определении и поддержании нормальной формы эритроцитов. При этом формомодифицирующее действие альбумина опосредуется цитоплазматическим доменом б-п-3, б-п-4.1 и спектрином, но не зависит от состояния анкирина [11]. Б-п-4.1 и анкирин конкурируют за связывание с цитоплазматическим доменом б-п-3, поэтому существует предположение, что данные белки контактируют с отдельными популяциями б-п-3 и оба опосредуют связь цитоскелета с мембраной [12]. Вместе с тем, анкирин связывается в основном с тетрамерами б-п-3, а взаимодействие ДИДС в мембране приводит к распаду большей части б-п-3 на димеры с нарушением взаимодействия данного белка с анкирином и цитоскелетом [5], что, вероятно, вызывает повреждение определенной части связей б-п-4.1 с б-п-3. В то же время, наблюдаемая ретрансформация эритроцитов в эксперименте могла бы происходить при посредстве связей гликофорин-С–б-п-4.1–актин/спектрин, однако данная форморегуляция осуществляется под контролем распределения транспортных сайтов б-п-3 [2], которое блокируется в ДИДС-меченых эритроцитах. Вышеизложенное указывает на то, что механизм форморегуляции модифицированных эритроцитов может исключать изменение конформации и агрегатного состояния б-п-3 и модификации его взаимодействия с цитоскелетом посредством анкирина и, возможно, б-п-4.1. При этом формомодификация может быть связана с липидным бислоем мембраны. Согласно одной из гипотез, изменение формы эритроцитов может определяться отрицательными

зарядами диссоциируемых головных групп мембранных липидов. В данном случае эхиноцитоз развивается вследствие расширения внешнего монослоя из-за усиления отталкивания между заряженными группами [13]. ДИДС, вероятно, является модификатором электростатической структуры участков мембран, прилегающих к б-п-3. Связывание ДИДС в мембране нейтрализует положительно заряженный аминокислотный остаток Lys851 у входа в анионный канал и вносит в канал две свои SO_3^--группы, одна из которых нейтрализует Arg730, а вторая ориентируется в окружении заряженных остатков, которые могут включать Lys539 и Lys558 [3]. Это позволяет предполагать, что изменение локальной электростатической структуры и, вследствие этого, геометрии участков мембраны, прилегающих к б-п-3, может являться причиной ретрансформации ДИДС-меченых эритроцитов. Взаимодействие альбумина с эритроцитами приводит к повышению ξ-потенциала более чем в 3 раза [14]. Поэтому, вероятно, формонормализующее действие альбумина на ДИДС-меченые эритроциты определяется его электростатическим эффектом.

Полученные результаты с учетом данных литературы позволяют предположить следующее. В условиях моделирования потока при перемешивании клеточной суспензии обратимая ретрансформация ДИДС-меченых эритроцитов запускается вследствие модификации электростатической структуры участков мембраны, прилегающих к б-п-3. Ингибирование альбумином ретрансформации и стабилизация при этом дискоидных форм ДИДС-меченных эритроцитов определяется установлением электростатической структуры указанных участков мембран и их геометрии, характерной для дискоидной формы клеток.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gimsa J., Ried C. 1995. Do band 3 protein conformational changes mediate shape changes of human erythrocytes? Mol Membr Biol. V. 12. № 3. P. 247. doi: 10.3109/09687689509072424.

2. Wong P. 1999. A basis of echinocytosis and stomatocytosis in the disc-sphere transformations of the erythrocyte. J Theor Biol. V. 196. № 3. P. 343. doi: 10.1006/jtbi.1998.0845.

3. Reithmeier R.A., Casey J.R., Kalli A.C., Sansom M.S., Alguel Y., Iwata S. 2016. Band 3, the human red cell chloride/bicarbonate anion exchanger (AE1, SLC4A1), in a structural context. Biochim Biophys Acta. V. 1858. 7 Pt A. P. 1507. doi: 10.1016/j.bbamem.2016.03.030.

4. Passow H. 1986. Molecular aspects of band 3 protein-mediated anion transport across the red blood cell membrane. Rev Physiol Biochem Pharmacol. V. 103. P. 61. doi: 10.1007/3540153330_2.

5. Van Dort H.M., R. Moriyama R., Low P. S. 1998. Effect of band 3 subunit equilibrium on the kinetics and affinity of ankyrin binding to erythrocyte membrane vesicles. J Biol Chem. Vol.273, № 24. P. 14819.

6. Rudenko S.V., Crowe J.H., Tablin F. 1998. Determination of time-dependent shape changes in red blood cells. Biochemistry (Mosc). V. 63. № 12. P. 1385.

7. Hoefner D.M., Blank M.E., Davis B.M., Diedrich D.F. 1994. Band 3 antagonists, p-azidobenzylphlorizin and DIDS, mediate erythrocyte shape and flexibility changes as characterized by digital image morphometry and microfiltration. J Membr Biol. V. 141. № 1. P. 91. doi: 10.1007/BF00232877.

8. Van Dort H.M., Knowless D.W., Chasis J.A., Lee G., Mohandas N., Low P.S. 2001. Analysis of integral membrane protein contributions to the deformability and stability of the human erythrocyte membrane. J. Biol. Chem. V. 276. № 50. P. 46968.

9. Рамазанов В.В., Шапкина О.А., Бондаренко В.А. 2010. Изменение формы эритроцитов под действием ингибитора анионного канала. Вісник проблем біології і медицини. № 4. С. 135.

10. Mehta NG. 1983. Role of membrane integral proteins in the modulation of red cell shape by albumin, dinitrophenol and the glass effect. Biochim Biophys Acta. V. 762. № 1. P. 9. doi: 10.1016/0167-4889(83)90110-6.