ACTUAL PROBLEMS OF MODERN SCIENCE AND PRACTICE

Abstracts of XXXII International Scientific and Practical Conference

Boston, USA
June 29 – July 02, 2021

Library of Congress Cataloging-in-Publication Data

UDC 01.1
The XXXII International Science Conference «Actual problems of modern science and practice», June 29 – July 02, 2021, Boston, USA. 317 p.

ISBN - 978-1-63848-655-8
DOI - 10.46299/ISG.2021.I.XXXII

EDITORIAL BOARD

Pluzhnik Elena	Professor of the Department of Criminal Law and Criminology Odessa State University of Internal Affairs Candidate of Law, Associate Professor
Liubchych Anna	Scientific and Research Institute of Providing Legal Framework for the Innovative Development National Academy of Law Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine, Scientific secretary of Institute
Liudmyla Polyvana	Department of Accounting and Auditing Kharkiv National Technical University of Agriculture named after Petr Vasilenko, Ukraine
Mushenyk Iryna	Candidate of Economic Sciences, Associate Professor of Mathematical Disciplines , Informatics and Modeling. Podolsk State Agrarian Technical University
Oleksandra Kovalevska	Dnipropetrovsk State University of Internal Affairs Dnipro, Ukraine
Prudka Liudmyla	Odessa State University of Internal Affairs, Associate Professor of Criminology and Psychology Department
Slabkyi Hennadii	Doctor of Medical Sciences, Head of the Department of Health Sciences, Uzhhorod National University.
Marchenko Dmytro	Ph.D. in Machine Friction and Wear (Tribology), Associate Professor of Department of Tractors and Agricultural Machines, Maintenance and Servicing, Lecturer, Deputy dean on academic affairs of Engineering and Energy Faculty of Mykolayiv National Agrarian University (MNAU), Mykolayiv, Ukraine
Harchenko Roman	Candidate of Technical Sciences, specialty 05.22.20 - operation and repair of vehicles.
Belei Svitlana	Ph.D. (Economics), specialty: 08.00.04 "Economics and management of enterprises (by type of economic activity)"

ЛОКАЛИЗОВАННЫЙ МЕХАНИЗМ РЕГУЛЯЦИИ ФОРМЫ ЭРИТРОЦИТОВ В СУЛЬФАТНОЙ СРЕДЕ.

Рамазанов Виктор Владимирович
Кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины

Руденко Сергей Витальевич
Кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины

При инкубации эритроцитов в физрастворе анионы хлорида осуществляют динамическое экранирование положительных зарядов в канале анионного переносчика (б-п-3) и у входа в канал вследствие ассоциации-диссоциации анионов на данных зарядах и самообмена хлорида между клеткой и средой [1]. Экранирование зарядов, вероятно, вносит вклад в установление электростатической структуры локальных участков, прилегающих к б-п-3, которые могут включаться в формирование электростатического баланса мембраны, характерного для нормальной дискоидной формы эритроцитов. Ингибитор анионного канала ДИДС (4,4'-diisothiocyanato-stilbene-2,2'-disulphonic acid) может являться модификатором электростатической структуры участков мембран, прилегающих к б-п-3. Связывание ДИДС в канале 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 Lys539 и Lys558 [2]. Принято считать, что ДИДС является эхиноцитогенным агентом [3], а связывание его в канале приводит к фиксации транспортных сайтов переносчика на внешней стороне мембраны [4]. Вместе с тем, ДИДС-меченые эритроциты могут быть представлены не только эхиноцитами, но и частью дискоцитами [5], а также сфероцитами, которые в условиях потока при перемешивании ретрансформируются в дискоциты и обратно в сфероциты [6]. Представленные данные указывают на то, что изменение формы эритроцитов происходит при фиксации определенной конформации б-п-3, а также при блокировании проникновения хлорида через канал и связанных с этим процессом изменений внутриклеточного pH и мембранного потенциала. Кроме того, вышеизложенное позволяет обосновать вопрос о роли изменений локальной электростатической структуры в регуляции формы эритроцитов. Гипотеза о контроле галидами локального потенциала в межфазной области б-п-3 предсказывает, что снижение концентрации хлорида в среде вызовет увеличение заряда [7], что может повысить адсорбцию сульфата в примембранном слое и измененить электростатический баланс мембраны [8].

В настоящей работе установлено, что в сульфатной среде (22ºС, pH 7,4) эритроциты, морфологически представленные сфероцитами, в условиях потока при перемешивании не изменяют свою форму. Вместе с тем, включение в среду

ДИДС (2 мкмоль/л) вызывает обратимую ретрансформацию значительной части сферических эритроцитов в дискоидные формы в течение ~2,5 мин с последующим преобразованием клеток в сферические формы в течении следующих ~2,5 мин. Данный экспериментальный результат подобен обратимой ретрансформации ДИДС-меченых эритроцитов в хлоридной среде [6], что указывает на форморегуляцию, независимую от состава среды и, соответственно, от модификации электростатической структуры клеточной поверхности. Вместе с тем, можно предположить, что при связывании ДИДС в канале нарушение локальной электростатической структуры является причиной обратимой ретрансформации эритроцитов вследствие обратимых изменений структуры участков мембраны, прилегающих к б-п-3.

Неспирализованный фрагмент б-п-3 в липидном бислое Pro815–Lys829, включающий заряженные остатки, такие как Lys817; Asp821; Lys826; Arg827; Lys829 (KEKRK), имеет определенное функциональное значение в анион-транспортной системе и заслуживает внимание в случае возможности модификации структуры локальных участков мембран [9]. В указанной работе при использовании метода цистеин-сканирующего мутагенеза при трансфекции клеток HEK293 установлено, что модифицированные таким образом сегменты Pro815–Lys829 в данных клетках с высокой степенью доступны к SH-реагентам внеклеточной среды. Кроме того, сегмент Leu812–Arg827, подобный вышеуказанному, был идентифицирован как внеклеточный антиген, экспонируемый на внешнюю поверхность при старении эритроцитов [10]. Эти данные литературы указывают на то, что степень доступа пептидных сегментов к внешней среде может определяться состоянием мембраны и условиями среды инкубации. Необходимо отметить, что в сульфатной среде обеспечивается доступ ионов H+ внешнего раствора к связыванию с Glu681, который локализуется у внутренней поверхности мембраны, но обеспечивает котранспорт H+ с сульфатом в клетку в обмен на хлорид [11].

Чувствительность ретрансформации эритроцитов в сахарозной среде к микромольным концентрациям органических анионов (150-250 мкмоль), а также к HCO_3^-, OH^- и H^+ (10-25 мкмоль) [12], указывает на существование локализованного механизма регуляции формы клеток, который, возможно, связан с образованием заряженного KEKRK-кластера. Данный кластер может являться пусковым сенсором локальных структурных модификаций и ретрансформаций эритроцитов при воздействии анионов и ионов H^+. Подобный заряженный внутриклеточный RKKEE-кластер механочувствительного канала *E.coli* может функционировать как сенсор ионов H+, удерживая канал закрытым, когда внешний показатель pH падает ниже оптимального значения, поскольку канал образует путь притока ионов H+ [13]. Предложенным локализованным механизмом можно объяснить примеры непосредственных переходов стоматоцитов в эхиноциты, которые исключают промежуточные дискоидные формы эритроцитов и поэтому не вполне понятны с позиции механизма бислойного сопряжения [12].

Список литературы

1. Falke J.J., Chan S.I. 1986. Molecular mechanisms of band 3 inhibitors. 2. Channel blockers Biochemistry. V. 25. № 24. P. 7895. doi: 10.1021/bi00372a016.

2. 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.

3. 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.

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., 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.

6. 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.

7. Wieth J.O., Bjerrum P.J. 1982. Titration of transport and modifier sites in the red cell anion transport system. J Gen Physiol. V. 79. № 2. P. 253. doi: 10.1085/jgp.79.2.253

8. Schnell K.F. 1977. Anion transport across the red blood cell membrane mediated by dielectric pores. J Membr Biol. V. 37. № 2. P. 99. doi: 10.1007/BF01940928.

9. Zhu Q., Lee D.W.K., Casey J.R. 2003. Novel topology in C-terminal region of the human plasma membrane anion exchanger, AE1. J Biol Chem. V. 278. № 5. P. 3112. doi: 10.1074/jbc.M207797200.

10. Kay M.M., Lin F.B. 1990. Molecular mapping of the active site of an aging antigen: senescent cell antigen requires lysine(s) for antigenicity and is located on an anion-binding segment of band 3 membrane transport protein. Gerontology. V. 36. № 5-6. P. 293. doi: 10.1159/000213214.

11. Jennings M.L., Smith J.S. 1992. Anion-proton cotransport through the human red blood cell band 3 protein. Role of glutamate 681. J Biol Chem. V. 267. № 20. P. 13964.

12. Rudenko S.V., 2010. Erythrocyte morphological states, phases, transitions and trajectories. Biochim Biophys Acta. V. 1798. № 9. P. 1767. doi: 10.1016/j.bbamem.2010.05.010.

13. Kloda A., Ghazi A., Martinac B. 2006. C-terminal charged cluster of MscL, RKKEE, functions as a pH sensor. Biophys J. V. 90. № 6. P. 1992. doi: 10.1529/biophysj.105.075481.