

## Модификация мембрано-цитоскелетного комплекса эритроцитов животных под действием факторов низкотемпературного воздействия

О.Н. ДЕНИСОВА<sup>1</sup>, Н.Г. ЗЕМЛЯНСКИХ<sup>2</sup>, Л.А. БАБИЙЧУК<sup>2</sup>, Г.Ф. ЖЕГУНОВ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Харьковская государственная зооветеринарная академия

<sup>2</sup>Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г.Харьков

## Modification of Membrane-Cytoskeletal Complex of Erythrocytes of Animals Under Low-Temperature Factor's Effect

O.N. DENISOVA<sup>1</sup>, N.G. ZEMLYANSKIKH<sup>2</sup>, L.A. BABIICHUK<sup>2</sup>, G.F. ZHEGUNOV<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kharkov State Zooveterinary Academy

<sup>2</sup>Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine

of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Изменение параметров среды под влиянием физико-химических факторов, сопутствующих процессу криоконсервирования, может привести к модификации плазматических мембран, структурная целостность которых поддерживается слабыми взаимодействиями между липидной и белковой компонентами мембран.

Цель работы – изучение модификации белок-белковых взаимодействий в мембрано-цитоскелетном комплексе эритроцитов в процессе криоконсервирования.

Исследование мембрано-цитоскелетного комплекса нативных эритроцитов лошади, быка и собаки методом электрофореза в полиакриламидном геле показало, что общая картина белкового спектра очень похожа у всех видов исследуемых млекопитающих. Однако имеется ряд видовых отличий, в частности, отмечен дефицит белков полос 4.2 и 6 в эритроцитах лошади. Вместе с тем в эритроцитах лошади в большем количестве присутствуют белки полос 4.9 и 7. Для изучения структурных изменений, возникающих в цитоскелетной белковой сети в результате охлаждения, использовали белок-сшивающий реагент – диамид. Инкубация эритроцитов в растворе ПЭГ-1500 и ДМСО приводит к некоторому нарушению пространственного расположения белков цитоскелета, в результате чего возникают доступные для диамида SH-группы. При этом появляются полосы белковых агрегатов молекулярной массы ~1000 кДа. Отмечено изменение содержания белков в отдельных фракциях: в частности, снижается содержание спектрина, анкирина, белков полос 4.2, 4.9 и 5; происходит полная потеря белков полос 6 и 8. В ряде случаев формирование сшивок между белками может стабилизировать клетку в неблагоприятных для жизнедеятельности условиях. Модификации мембрано-цитоскелетного комплекса выражены сильнее для эритроцитов, криоконсервированных под защитой ПЭГ-1500. По-видимому, более выраженный эффект диамида на клетки, криоконсервированные с ПЭГ-1500 по сравнению с ДМСО, определяется различными механизмами действия данных криопротекторов, поскольку ПЭГ-1500 относится к соединениям экзоцеллюлярного, а ДМСО – эндоцеллюлярного типа действия.

Alteration of medium parameters under the effect of physical and chemical factors, accompanying cryopreservation process, may lead to modification of plasma membrane, structural integrity of which is maintained with quite weak interactions between lipid and protein components of membrane. The research aim was to study the modification of protein-protein interactions in membrane-cytoskeletal complex of erythrocytes during cryopreservation.

Investigation of membrane-cytoskeletal complex of native equine, bovine and canine erythrocytes with electrophoresis method in polyacrylamide gel has shown that the general picture of protein spectrum is very similar for all the mammalian species studied. However, there are some species' differences, in particular, there was found the deficiency of band 4.2 and 6 proteins in equine erythrocytes. Along with this in equine erythrocytes in a bigger amount there are band 4.9 and 7 proteins. To study the structural changes appearing in cytoskeletal protein net as a result of cooling, the diamide, protein cross-linking reagent was used. Incubation of erythrocytes in PEG-1500 and DMSO results in an impairment of spatial location of cytoskeleton proteins, resulting in the appearance of diamide-susceptible SH-groups. Herewith the bands of protein aggregates of molecular mass ~1,000 kDa appear. There was noted the change of protein content in some fractions: in particular, the content of spectrin, ankyrin, band 4.2, 4.9 and 5 proteins is reduced, as well a complete loss of band 6 and 8 proteins takes place. In some cases the formation of cross-linking may stabilize cell under unfavorable for vital activity conditions. Modifications of membrane-cytoskeletal complex are manifested stronger for erythrocytes, cryopreserved with PEG-1500. More manifested effect of diamide on the cells cryopreserved with PEG-1500 if compared with DMSO is likely determined with different mechanisms of effect of these cryoprotectants, since PEG-1500 is referred to the compounds of exocellular effect type and DMSO is an endocellular action compound.