

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН**  
Отделение физиологических наук РАН  
Российское физиологическое общество им. И.П. Павлова

## **ИНТЕГРАТИВНАЯ ФИЗИОЛОГИЯ**

Всероссийская конференция с международным участием  
8-10 декабря 2021 года

## **ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ**

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ  
2021

УДК

ИНТЕГРАТИВНАЯ ФИЗИОЛОГИЯ: Всероссийская конференция с международным участием, Санкт-Петербург (8-10 декабря 2021 г.). – Тезисы докладов. – СПб.: Ин-т физиологии им. И.П. Павлова РАН, 2021. 203 с.

*Конференция проводится при финансовой поддержке:  
Грант на создание и развитие НЦМУ «Павловский центр  
«Интегративная физиология – медицине, высокотехнологичному  
здравоохранению и технологиям стрессоустойчивости»  
(№ 075-15-2020-921 от 13.11.2020)*

© ФБГУН ИФ РАН, 2021  
© Коллектив авторов, 2021  
© ООО «Мономакс», оформление, 2021

Таким образом, у мух с подавлением экспрессии *limk1* в холинергических нейронах активное забывание проявилось раньше, а у мух с подавлением экспрессии *limk1* в дофаминергических нейронах оно было выражено сильнее. Это открывает широкие перспективы для дальнейшего изучения роли активного врождённого забывания в становлении и сохранении памяти при дефектах гена *limk1*.

Работа выполнена при поддержке Государственной программы РФ 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019-2030) (тема 63.1) и гранта РФФИ (№ 20-015-00300 А).

Литература:

1. Медведева А.В., Молотков Д.А., Никитина Е.А., Попов А.В., Карагодин Д., Баричева Е.М., Савватеева-Попова Е.В. Регуляция генетических и цитогенетических процессов сигнальным каскадом ремоделирования актина: структура гена LIMK1, архитектура хромосом и способность к обучению спонтанных и мутантных вариантов локуса *agnostic* дрозофилы // Генетика. 2008. Т.44. №6. С.669-681.

### **New function of erythrocyte band 3/AE1 protein – implication in ammonium/ammonia transport**

**Ruzhnikova T.O.<sup>1,2</sup>, Gambaryan S.P.<sup>1,2</sup>, Mindukshev I.V.<sup>1</sup>, Sudnitsyna J.S.<sup>1,3</sup>**

1 - I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry RAS, Saint Petersburg, Russia

2 - Saint Petersburg State University, Department of Cytology and Histology, Saint Petersburg, Russia

3 - Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology RAS, Moscow, Russia

*ruzhnikova.tamara@gmail.com*

Introduction. Anion exchanger 1 (eAE1, band 3 protein, Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> exchanger) is the main structural protein of the erythrocyte (RBC) membrane. It ensures mechanical stability and maintains intracellular pH. In the RBC membrane, eAE1 and the ammonium transporter RhAG together form a structural complex [1] and, as we have recently shown, eAE1 and RhAG also build up a functional complex, thus facilitating NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> transport [2, 3]. Therefore, the goal of this study was to characterize the functional role of eAE1 in the transport of NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> in human RBCs.

Materials and methods. To assess the role of eAE1 in the transport of NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, we used laser diffraction, spectrophotometry, and flow cytometry. First, we developed an approach for quantitative analysis of NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> transport based on the reaction of RBC swelling and lysis in isotonic NH<sub>4</sub><sup>+</sup> buffer (NH<sub>4</sub>Cl, 140, KCl, 2, MgCl<sub>2</sub>, 2, EGTA, 2, Glucose, 5, and HEPES, 10), hereinafter ammonium stress test (AST). Then to analyze the role of eAE1 we inhibited eAE1 by DIDS (300uM); or (ii) changed in NH<sub>4</sub><sup>+</sup> buffer the concentrations of eAE1 ligands: HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (from 0 to 25 mM) and Cl<sup>-</sup> (from 0 to 140 mM). In experiments with changes in chloride concentration, NaCl and NH<sub>4</sub>Cl were equimolarly substituted with sodium glutamate or ammonium glutamate.

Results. eAE1 inhibition by DIDS completely blocked hemolysis in AST. The increase in  $[\text{HCO}_3^-]$  dose-dependently escalated the rates of cell swelling ( $V_{\text{Sw}}$ ;  $\text{EC}_{50}=4.7\pm 0.3$  mM;  $n=10$ ,  $p<0.05$ ) and hemolysis ( $V_{\text{hem}}$ ;  $\text{EC}_{50}=1.8\pm 0.3$  mM;  $n=10$ ,  $p<0.05$ ). The decrease in  $[\text{Cl}^-]$  led to a dose-dependent decline in  $V_{\text{Sw}}$  ( $\text{EC}_{50}=88.4\pm 2.8$  mM;  $n=10$ ,  $p<0.05$ ) and  $V_{\text{hem}}$  ( $\text{EC}_{50}=118.3\pm 2.4$  mM;  $n=10$ ,  $p<0.05$ ), up to total hemolysis inhibition in  $\text{Cl}^-$  absence, that corresponded to the conditions of eAE1 inhibition.

Conclusions. Based on our original approach of an indirect assessment of RBC capacity to transport  $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ , we showed that RBCs swell and lyse only in conditions favorable for eAE1 activity. The most important finding is that in both, the absence of  $\text{Cl}^-$  ions and AE1 inhibition, cell swelling and hemolysis were completely blocked. Therefore, here we presented the evidence of the important role of eAE1 in  $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$  transport. Our data suggest that RBCs can serve as the extra-hepatic players controlling levels of nitrogen-related metabolites such as ammonia/ammonium.

The work is supported by the RFBR (grant No. 19-315-60015 to J.S.).

References:

1. Bruce L. J., Beckmann R., Ribeiro M. L., Peters L. L., Chasis, Delaunay J., Mohandas N., Anstee D. J., Tanner M. J. (2003) A band 3-based macrocomplex of integral and peripheral proteins in the RBC membrane. *Blood*. **101**(10), 4180-4188.
2. Sudnitsyna J. S., Skvertchinskaya E. A., Dobrylko I. A., Nikitina E. R., Krivchenko A. I., Gambaryan S. P., Mindukshev I. V. (2016) Human Erythrocyte Ammonia Transport Is Mediated by Functional Interaction of Ammonium (RhAG) and Anion (AE1) Exchangers. *Biologicheskie Membrany*. **33**(5), 363–373.
3. Sudnitsyna J. S., Gambaryan S.P., Krivchenko A. I., Mindukshev I.V. (2018) Ammonia/ammonium influx in human erythrocytes. *Biologicheskie Membrany*. **35**(4), 398–402.

**Разработка ПЦР тест-системы для отбора стабильных референсных генов в мозге крыс: апробация в эксперименте с ранним постнатальным нейровоспалением**

Широков Е.А.<sup>1</sup>, Никитина В.А.<sup>1</sup>, Малыгина Д.А.<sup>1,2</sup>, Коваленко А.А.<sup>1,2</sup>,  
Шварц А.П.<sup>1,2</sup>, Трофимов А.Н.<sup>1</sup>

1 - *Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия*

2 - *Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

*egor.a.shirokov@gmail.com*

Обратная транскрипция с количественной полимеразной цепной реакцией (ОТ-ПЦР) – наиболее широко используемый метод оценки изменения уровня экспрессии генов интереса в ответ на воздействие. Точность и достоверность измерения зависят от адекватного выбора набора из как минимум двух стабильных референсных генов. Как правило, в работах на грызунах используются 1–2 таких гена, зачастую *Gapdh* и *Actb*, а проверка стабильности их экспрессии либо не