

Таким чином, наші дослідження свідчать про наявність специфічних регуляторних властивостей у 4-метил-5- β -оксиетилтіазолу і тіохрому, які необ-

хідно враховувати при інтерпретації досліджень, присвячених тіаміну.

ВИЗНАЧЕННЯ МЕХАНІЗМІВ САЙТ-СПЕЦИФІЧНОЇ ВЗАЄМОДІЇ САЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ З ПРОТЕЇНАМИ РОСЛИН

ПОКОТИЛО І.В.^{1,2}, КРАВЕЦЬ В.С.¹

¹ІНСТИТУТ БІООРГАНІЧНОЇ ХІМІЇ ТА НАФТОХІМІЇ ІМ. В.П. КУХАРЯ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;

²ІНСТИТУТ ЕКОЛОГІЇ ТА НАУК ПРО СЕРЕДОВИЩЕ ПАРИЖУ, ФРАНЦІЯ;

e-mail: pokotylo@bpci.kiev.ua

Метою даного дослідження є визначення механізмів зв'язування саліцилової кислоти (СК, фітогормон) з протеїнами-мішенями і розшифрування фізіологічного значення таких взаємодій для регулювання метаболізму рослин. Для досягнення цієї мети методи обчислювального моделювання поєднувались з методами хімії протеїну і інструментами редагування геному. Серед відібраних СК-зв'язуючих протеїнів модель їх взаємодії з СК вивчалась за допомогою дуалістичного підходу. Методами молекулярної динаміки така взаємодія моделювалась у часі. Завдяки цьому, амінокислотні залишки, що беруть участь у взаємодії протеїн/СК, були ідентифікованими. На сьогоднішній день не існує відомого консенсусного мотиву зв'язування СК з протеїнами. Саме тому комп'ютерне моделювання є необхідним етапом для визначення можливих сайтів зв'язування. Після отримання таких даних випробовувались амінокислотні заміни, які можуть переривати взаємодію СК/протеїн. Отримані дані перевірялись експериментально шляхом продукції рекомбінантних протеїнів у гетерологічних системах (*E. coli*). Аналіз зв'язування СК/протеїн виконувався *in vitro* з використанням

очищених білків у їхній нативній формі, а також з мутованими протеїнами, де конкретні амінокислотні залишки заміщені на основі даних отриманих при проведенні моделювання *in silico*. Нарешті, фізіологічне значення таких взаємодій буде оцінюватися шляхом введення мутацій у геном *Arabidopsis*, які переривають зв'язування СК з протеїнами. Мутантні рослини будуть аналізуватися на їхню здатність реагувати на екзогенну дію СК і стійкість до патогенної інфекції.

Для СК-зв'язуючого протеїну GAPDH-A1 отримані перспективні попередні результати. У GAPDH-A1 були *in silico* виявлені дві кишені, що можуть бути місцем взаємодії з СК. На основі обчислювальних даних до рекомбінантних протеїнів GAPDH-A1 введені чотири різні мутації (що впливають на дві незалежні кишені зв'язування). Аналіз *in vitro* за умов використання очищених протеїнів GAPDH-A1 підтвердив, що у зв'язуванні з СК приймають участь щонайменше два сайти на поверхні протеїну.

Робота виконана за підтримки гранту МОН України (№ М/35-2019) в рамках програми РНС Dnipro.

THE DYNAMICS OF COLLAGEN CONTENT IN GUINEA PIG SKIN UNDER BURNS WITH DIFFERENT ORIGIN

POLIKARPOVA H.V.

KHARKIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY, UKRAINE;

e-mail: h.polikarpova@yahoo.com

A burn is a very frequent type of trauma, occurring at home and in industry. Burn lesions belong to injury characterized by a high degree of severity. Scalds are divided into thermal, chemical, radial according to the etiology. So far, however, there is no work, which would have carried out a comparative study of the features of reactions to these kinds of burns. That is why the study of regulatory mechanisms of

such damage repair is very important. Any damage healing leads to destructive and then regenerative tissue changes occurring. Wound and repair processes are complex successive local changes and related numerous general reactions. One of the most important of these reactions is the formation of granulation and synthesis of connective tissue elements, including collagen.

The aim of the research was to investigate total collagen and its I, III, V and VI type content dynamics in injured skin area under experimental thermal, chemical and radial burns.

The study was carried out on 147 white four-month-old male guinea pigs weighing 470–600 g, kept in standard vivarium conditions. The thermal burn was caused by contact way, the chemical burn was caused by the application of 20 % solution of hydrochloric acid. The radial burn was caused by X-ray influence at the exposition dose 60 Gr. It should be noted that this model was developed especially for local radial injuries cause without radial disease occurrence. The study of collagen content was carried out by the histochemical method. Determination of collagen types was performed by using monoclonal antibodies with fluorescent mark (Wallas, Austria). All parameters were investigated within an hour, at 1, 3, 5, 7 and 10 days after the application of all burns, and in the case of radial burn – even at 21 and 35 days. The statistical analysis of the results was carried out by the *Statistica-13* software (StatSoft, USA).

The results of the investigation showed that the minimal value of total collagen and collagen I, III, V and VI types in the affected skin area under thermal and chemical burns was observed at one hour after exposure during the formation of blisters, ulcers, necrosis. Further, under reducing of the inflammatory response, a gradual increase of collagen was observed. At the seventh day for thermal burn and at the fifth day for the chemical, the total collagen and all its studied type level in the skin was approached to the reference level corresponding to the stage of full wound cleaning from decay products and start filling the defect

by granulation. For a long period after radial exposure, a gradual decline of total collagen and collagen I, III, V and VI types in the affected skin area was observed. A minimal value of all studied parameters was found only at the twenty-first day after irradiation corresponding period of desquamation, scab formation, scald sealing and ulcer formation and increase of lipid peroxidation products in several times compared with the control. It should be noted that the twenty-first day after chemical or thermal action, the defects were fully covered by epithelia, so far the process of their healing was completed. At the thirty-fifth day after the radial burn, the levels of total and all studied collagen types were slightly increased, but all indexes were significantly lower than at the fifth day in after chemical and at the seventh day after the thermal injury.

The dynamics of collagen content in the damaged skin area under thermal and chemical burns is consistent with the normal stages of tissue repair. So its sharp decline at the early stages during the activation of the inflammatory response and the prevalence of destructive changes contributes to its synthesis increase in response to increased levels of anti-inflammatory cytokines and activation of the pituitary-adrenal system, which means the ending of inflammatory and beginning of the proliferative phase. A completely different picture was observed under radial burn: the gradual reduction of collagen in the early stages was observed, the minimal value of this index was found only at the twenty-first day after radial exposure, indicating a growth of destructive changes, lack of proliferative phase and violations of regulatory mechanisms of tissue repair.

МЕТИЛУВАННЯ ФАКТОРА ЕЛОНГАЦІЇ ТРАНСЛЯЦІЇ ЛЮДИНИ eEF1A2 НЕ ВПЛИВАЄ НА ЙОГО ЗВ'ЯЗУВАННЯ З ФАКТОРАМИ НУКЛЕОТИДНОГО ОБМІНУ ЕЛОНГАЦІЙНОГО КОМПЛЕКСУ

ПОРУБЬЛОВА Л.В., НЕГРУЦЬКИЙ Б.С.
ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ І ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: negrutskaa@imbg.org.ua

Фактор елонгації трансляції 1A (eEF1A) зв'язує аміноацил-тРНК із А-сайтом 80S рибосоми в ГТФ-залежному процесі, що каталізується факторами нуклеотидного обміну елонгаційного комплексу eEF1B, який містить субодиниці eEF1B alpha, eEF1B beta і eEF1B gamma. Існує дві гомологічні тканинспецифічні ізоформи eEF1A: eEF1A2 присутній в м'язових та нервових тканинах, eEF1A1 – в решті тканин організму. Крім канонічної ролі в процесі трансляції, eEF1A виконує ще декілька неканонічних функцій, зокрема пов'язаних із онкогенезом. Так, в пухлинах тканин, в яких в нормі

присутня тільки ізоформа eEF1A1, спостерігається поява ізоформи eEF1A2. Також відомо, що багато амінокислотних залишків обох ізоформ eEF1A підлягають посттрансляційним модифікаціям – метилуванню, фосфорилуванню, ацетилюванню, убіквітинуванию та ін. Вважається, що посттрансляційні модифікації протеїнів необхідні для швидкої зміни їх активності/функції в клітині, або ж можуть забезпечувати регульований розподіл субфракцій одного і того ж протеїну між різними клітинними процесами. Процес злаякісної трансформації часто впливає на посттрансляційні мо-