

Роль тропонина Т в развитии кардиомиопатий, связанных с мутациями тропомиозина

Нефёдова В.В.¹, Матюшенко А.М.², Кочурова А.М.³

1 - Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия, *E-mail: viktoriya-neff@mail.ru*; 2 - Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия, *E-mail: ammatyushenko@mail.ru*; 3 - Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН, Екатеринбург, Россия, *E-mail: kochurova.a.m@mail.ru*

Мутации в гене ТРМ1, кодирующем белок тропомиозин (Трм) являются причиной развития дилатационной и гипертрофической кардиомиопатий. Трм1.1 (или α -Трм) является актин-связывающим белком, играющим важную роль в регуляции сокращения скелетной и сердечной мышц. Совместно с белками саркомера, такими как тропониновый комплекс (Тп), Трм1.1 обеспечивает сокращение мышцы в ответ на повышение концентрации кальция. В данной работе мы сосредоточились на изучении роли мутаций Трм1.1 М8R, К15N, А277V (вызывают дилатационную) и М281Т, I284V (вызывают гипертрофическую кардиомиопатию) в патогенезе заболевания. Данные мутации расположены в зоне перекрытия N- и C-концов Трм и относятся к участку 1 взаимодействия Трм с тропонином Т (ТпТ). В работе был использован укороченный белок сердечной изоформы тропонина Т - ТпТ1 (1-158 а.к.), для которого показано взаимодействие с Трм именно по участку 1. ТпТ1 увеличивал стабильность комплексов F-актин с Трм. Температуры диссоциации ($T_{\text{дисс}}$) комплексов в присутствии ТпТ1 увеличивались в диапазоне от 1,4 °С до 5 °С. Взаимодействие N- и C-концов напрямую связано с вязкостью растворов Трм. Например, для Трм М8R было показано отсутствие такого взаимодействия, и как следствие очень низкая вязкость раствора. Взаимодействие с ТпТ1 стабилизирует междимерные связи Трм в зоне перекрытия и значительно (в 8 раз) повышает вязкость раствора. Схожие эффекты были показаны для всех мутантных Трм, кроме Трм М8R, вязкость раствора которого так и осталась низкой. При этом для Трм К15N, для которого так же было показано нарушение взаимодействия между N- и C-концами, ТпТ1 полностью восстанавливал это взаимодействие. Исследование термодинамических параметров связывания Трм с ТпТ1 методом изотермической калориметрии титрования показало, что K_D Трм WT и ТпТ1 составляет 0,91 μM . Похожие значения были получены для всех мутантных форм Трм, в том числе М8R (1,9 μM). Несмотря на то, что Трм М8R не имеет полноценного участка взаимодействия с ТпТ1, связывание с ТпТ1 происходит по C-концу Трм. Используя ТрмWT₁₃₄₋₂₈₄ была измерена K_D C-конца Трм и ТпТ1, которая составила 1,06 μM . Кальциевая чувствительность является важным показателем регуляции мышечного сокращения. В искусственной подвижной системе были измерены pCa и максимальная скорость движения актиновых нитей в присутствии Трм WT и мутантов. V_{max} системы с Трм WT составила $3,7 \pm 0,1$ мкм/сек, а с Трм М8R составила $2,8 \pm 0,1$ мкм/сек, при этом pCa_{50} систем была идентична ($6,33 \pm 0,03$). Несмотря на отсутствие взаимодействия с ТпТ по участку 1, Трм М8R способен связываться с полным Тп и обеспечивать мышечное сокращение. Для остальных мутантных форм изменения в pCa_{50} соответствовали фенотипу вызываемой ими кардиомиопатии. Эксперименты, проведенные с использованием скелетной изоформы Тп, показали, что тканевая специфичность изоформ Тп может являться основной причиной развития кардиомиопатий, ассоциированных с мутациями Трм.

Работа была поддержана грантом Президента РФ МК-1772.2022.1.4.