

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ СКЕЛЕТНОЙ И СЕРДЕЧНОЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ, ВЫЗВАННЫЕ ТОЧЕЧНЫМИ МУТАЦИЯМИ В ГЕНАХ ТРОПОМИОЗИНА

© 2020 г. А. М. МАТЮШЕНКО¹, Д. И. ЛЕВИЦКИЙ^{1,2}

¹ *Институт биохимии им. А.Н.Баха, Федеральный
исследовательский центр «Фундаментальные основы
биотехнологии» Российской академии наук, Москва;*

² *Институт физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского
МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва.*

I. Введение. II. Общие сведения о структуре и свойствах тропомиозина. III. Распределение мутаций в генах тропомиозина. IV. Молекулярные модели развития кардиомиопатий. V. Молекулярные модели развития миопатий. VI. Наиболее изученные кардиомиопатические и миопатические мутации. VII. Гетеродимеры тропомиозина – одна из важных форм его существования. VIII. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

Этот обзор посвящен тропомиозину (Трп) – актин-связывающему белку, играющему ключевую роль как в регуляции сокращения скелетных и сердечной мышц, так и в регуляции и дискриминации функций актинового цитоскелета. Молекула Трп представляет собой димер двух α -спиралей, формирующих структуру, называемую coiled-coil (CC). Минимальной функциональной единицей этого белка всегда является димер, но в клетках, благодаря концевым взаимодействиям между подобными димерами, он формирует протяженный тяж, лежащий вдоль поверхности актинового филамента. Несмотря на довольно просто устроенную структуру, тропомиозину приписывают множество функций в клетке. Так, показано, что Трп участвует в стабилизации актинового филамента, везикулярном транспорте,

Адрес для корреспонденции: ammatyushenko@mail.ru; Levitsky@inbi.ras.ru
Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (грант № 17-00-00065).

созревании и взрослении клетки. Этот белок служит своеобразным триггером, который определяет, с какими белковыми партнерами будет взаимодействовать актиновый филамент. Для Тpm характерно наличие большого количества изоформ, являющихся продуктами 4-х генов, расширяющих свое многообразие благодаря альтернативному сплайсингу. Вполне вероятно, что именно наличие такого большого количества изоформ Тpm и определяет многообразие функций этого белка.

В этом обзоре мы рассмотрим одну из наиболее хорошо изученных функций Тpm – его участия в регуляции мышечного сокращения. Про способность тропомиозина регулировать взаимодействие миозиновых головок с актиновым филаментом в процессе сокращения скелетных и сердечных мышц написано уже немало обзоров и известно довольно много. Однако до сих пор непонятно, как происходит подобная регуляция при различных патологических состояниях. Поэтому в этом обзоре мы сфокусируем свое внимание на молекулярных особенностях функционирования тонкого филамента при различных точечных мутациях в генах Тpm, ассоциированных с развитием мышечных патологий – миопатий. Все миопатии можно разбить на две большие группы – миопатии скелетной мускулатуры и миопатии сердечной мышцы – кардиомиопатии. В этом обзоре мы уделим достаточное внимание обеим этим группам.

Помимо этого, в обзоре мы также обратим внимание на еще один аспект развития миопатий, которому в большинстве работ не придают пока особого значения, а именно формированию гомо- и гетеродимеров Тpm с миопатическими заменами аминокислотных остатков только в одной из двух цепей тропомиозинового димера. Дело в том, что в большинстве случаев миопатические мутации имеют гетерозиготную природу, а, значит, затрагивают только одну из двух копий гена, присутствующих в организме. Следовательно, в ходе формирования димера Тpm аминокислотные замены, вызванные мутациями в генах тропомиозина, могут присутствовать только в одной цепи димерной молекулы, формируя большое количество вариантов гомо- и гетеродимеров, содержащих подобные замены. Такие молекулы могут сильно отличаться по свойствам от димеров Тpm с мутациями в двух цепях одновременно.

II. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О СТРУКТУРЕ И СВОЙСТВАХ ТРОПОМИОЗИНА

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ТРОПОМИОЗИНА И ЕГО ФУНКЦИИ. СОВРЕМЕННАЯ НОМЕНКЛАТУРА ТРОПОМИОЗИНА

Трм – это широко-распространенный актин-связывающий белок, который присутствует практически во всех тканях Царства животных и грибов [1]. За последнее время выходит все больше работ, посвященных изучению свойств Трм. Подобный интерес не случаен, т.к. Трм принимает участие в регуляции огромного количества процессов, протекающих в клетке. Так, для него показано участие в процессах морфогенеза и дифференцировки тканей [2–6], внутриклеточном транспорте [7–10], формировании межклеточных и матриксных контактов [11–14] и, наконец, в регуляции сокращения различных типов мышц [15–18]. Каким образом довольно просто устроенный белок может принимать участие в таком многообразии клеточных процессов? На данный момент укрепляется идея о том, что Трм может служить своего рода адаптерным белком, определяющим, с какими партнерами может взаимодействовать актиновый филамент, и определяя тем самым множество функций актинового цитоскелета [19–21]. Эта идея является не беспочвенной и подкрепляется значительным количеством работ, в которых показано, что Трм может определять стабильность и динамику актинового цитоскелета [22–25], а также способен взаимодействовать с партнерами актинового филамента как напрямую [26–29], так и опосредовано [30, 31].

Немаловажную роль в многообразии функций Трм играет наличие множества изоформ этого белка. В организме человека и многих животных Трм является продуктом 4-х генов (TRPM1, TRPM2, TRPM3 и TRPM4); помимо этого, значительное разнообразие его изоформ достигается за счет альтернативного сплайсинга [32]. Огромное многообразие изоформ Трм на фоне увеличивающегося количества работ привело к путанице в обозначении его изоформ, что потребовало создания новой универсальной классификации, позволяющей упростить понимание материала последующих работ [33]. Теперь при обозначении изоформы Трм первая цифра соответствует гену, с которого она экспрессируется, а вторая – порядковому номеру этой изоформы [33]. Например, изоформа Трм 3.12 указывает на ген TRPM3 и его 12-ю изоформу, экспрессируемую с этого гена. Мы полностью поддерживаем эту идею и в своем обзоре будем пользоваться новой классификацией, сохранив некоторые традиционные названия (α -, β -, γ -Трм) только в случае обозначения гетеродимеров Трм, т.к. это значительно удобнее.

Поскольку данный обзор посвящен молекулярным механизмам развития мышечных патологий, то необходимо более подробно остановиться на изоформах Трм, экспрессируемых в этих тканях. В скелетной мускулатуре существует два принципиально разных типа мышечных волокон – быстрые и медленные; быстрые мышечные волокна в свою очередь часто делят на гликолитические и окислительные [34]. Различные мышечные волокна в организме выполняют несколько разные функции. Однако, большинство мышц в нашем организме имеют смешанную природу, что позволяет им справляться с разной нагрузкой и наилучшим образом отвечать необходимым функциям. Различные мышечные волокна отличаются друг от друга уровнем экспрессии множества белков [35], одним из которых является Трм [32, 36]. В зрелой скелетной мышечной ткани экспрессируются в основном три изоформы Трм. Трм1.1 (традиционное название α -Трм) является основной изоформой быстрых мышечных волокон, Трм3.12 (γ -Трм), напротив, экспрессируется в медленных волокнах, в то время как Трм2.2 (β -Трм) экспрессируется во всех типах мышечных волокон [37]. Особым типом мышечной ткани является сердечная мышца. Основной изоформой Трм, экспрессируемой в сердце, является Трм1.1 [2, 5]. Стоит также отметить, что помимо Трм1.1 в сердце в минорных количествах также экспрессируется изоформа Трм1.2 [37]. Важно отметить, что экспрессия разных изоформ Трм не является взаимозаменяемым процессом; так, значительная экспрессия Трм2.2 в сердце приводит к развитию патологий, что указывает на важность сохранения специфического паттерна экспрессии изоформ Трм для нормального функционирования сердечной мышцы [34, 38, 39]. Дополнительно картина распределения различных изоформ Трм в мышечных тканях усложняется тем, что во многих мышцах основной формой существования Трм являются гетеродимеры, которые отличаются по свойствам от гомодимеров [37, 40, 41].

В своем обзоре мы подробно остановимся на трех изоформах Трм (Трм1.1, Трм2.2 и Трм3.12), т.к. аминокислотные замены именно в них часто ассоциированы с развитием различных патологических состояний. Но перед тем, как непосредственно перейти к рассмотрению мутаций, необходимо немного остановиться на том, как Трм участвует в регуляции мышечного сокращения в норме.

Участие тропомиозина в регуляции мышечного сокращения

Принцип регуляции мышечного сокращения в скелетных и сердечных мышцах известен довольно давно и был облечен в модель, впервые предложенную McKillop и Geeves в далеком 1993 году [15]. На дан-

ный момент это теория является общепризнанной, экспериментально подтвержденной [42–44] и часто используется при объяснении молекулярного механизма регуляции мышечного сокращения. Суть ее сводится к схеме стерического блокирования тропомиозином участков в актиновом филаменте, необходимых для взаимодействия с миозиновой головкой. Подобное взаимодействие лежит в основе генерации силы и развития сокращения всех типов мышц. Согласно предложенной модели, Трп может находиться на поверхности актинового филамента в трех различных положениях – blocked, closed и open. Переходы между этими положениями осуществляются с помощью других регуляторных белков. Рассмотрение этой модели лучше начать с положения blocked, в котором Трп полностью блокирует взаимодействие миозиновых головок с актиновым филаментом. Подобное положение осуществляется благодаря взаимодействию Трп с тропониновым комплексом и, в частности, с ингибиторным доменом тропонина I [45]. При связывании тропониновым комплексом ионов Ca^{2+} происходит ряд структурных перестроек, что в конечном итоге приводит к перемещению Трп в положение closed. В этом положении для миозиновых головок открываются участки для слабого взаимодействия на поверхности актинового филамента. Миозиновые головки занимают эти участки и выталкивают Трп в состояние open, переходя при этом в состояние сильного связывания: именно на этой стадии происходит активация миозиновой АТФазы актином и генерация силы в мышечных волокнах. Данная схема регуляции мышечного сокращения к настоящему времени является общепризнанной и не подлежит сомнению; она, однако, описывает молекулярный механизм мышечного сокращения в норме. При этом до сих пор непонятно, какие изменения происходят в этом механизме при различных патологических состояниях. Остается неизвестным, меняются ли константы переходов между этими состояниями Трп на поверхности актинового филамента, меняется ли сама схема регуляции, пропадают или появляются новые состояния при различных патологиях. Современным теориям и концепциям, которые на данный момент представлены в литературе, и посвящен этот обзор.

МНОГООБРАЗИЕ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ,
АССОЦИИРОВАННЫХ С ТОЧЕЧНЫМИ МУТАЦИЯМИ
В ГЕНАХ ТРОПОМИОЗИНА

В основе патогенеза большинства патологических состояний мышечной ткани лежат наследственные изменения в генах мышечных белков, в том числе тропомиозина. Трп обладает весьма строгой организацией четвертичной структуры и имеет высокую

консервативность аминокислотных остатков, поэтому совершенно неудивительно, что даже точечные изменения аминокислотной последовательности, вызванные заменой единичных аминокислотных остатков, могут приводить к драматичным структурным и функциональным последствиям. Практически все мышечные патологии можно разделить на две независимые большие группы по месту их локализации – это заболевания сердца, представленные множеством кардиомиопатий, и заболевания скелетной мускулатуры – различные миопатии и дистальные артрогрипозы.

К кардиомиопатиям относят заболевания сердечной мышцы, которые сопровождаются характерными морфологическими и гистологическими изменениями в желудочках сердца [46]. Большинство мутаций, ассоциированных с развитием кардиомиопатий, были выявлены в генах, кодирующих саркомерные белки [46]. Абсолютное большинство мутаций в этих генах приводит к двум типам кардиомиопатий – гипертрофической и дилатационной кардиомиопатиям [47]. В литературе, однако, описаны и значительно более редкие наследственные заболевания сердца, такие как некомпактность левого желудочка сердца [47] и аритмогенная желудочковая кардиомиопатия правого желудочка [48]. В нашем обзоре мы остановимся на основных типах кардиомиопатий.

Гипертрофическая кардиомиопатия (Hypertrophic Cardiomyopathy, HCM) – это аутосомно-доминантное заболевание сердечной ткани, сопровождающееся увеличением стенок левого желудочка в основном за счет разрастания межжелудочковой перегородки [48], что в результате приводит к сокращению его объема. В гистологическом плане патогенез сопровождается нарушением в расположении миоцитов и прогрессирующим фиброзом. Подобные изменения сказываются на функции левого желудочка, изменяя фракцию систолического выброса крови, приводят к гиперсократимости левого желудочка и неполной его релаксации [47]. Все эти изменения в сумме способствуют развитию тяжелых сердечных заболеваний, таких как инфаркт миокарда. Опасность наследственной гипертрофии подтверждается еще и тем, что гипертрофия левого желудочка сердца является самой распространенной причиной внезапной смерти в подростковом возрасте [46].

Значительный интерес вызывают изменения, наблюдаемые при развитии гипертрофии на молекулярном уровне. Часто развитие гипертрофической патологии сопровождается увеличенной чувствительностью сократительного аппарата к ионам Ca^{2+} и повышенной АТФазной активностью миозина [47, 49–52]. Первая обнаруженная

мутация, приводящая к гипертрофической кардиомиопатии, была детектирована в гене, кодирующем тяжелую β -цепь миозина [53]. Впоследствии исследования были значительно расширены и было обнаружено 9 генов саркомерных белков, мутации в которых коррелировали с гипертрофиями [54]. Среди них был ген, кодирующий Trpm1.1 – основную сердечную изоформу Trpm. На настоящий момент удалось идентифицировать порядка 18 мутаций в гене TRPM1, ассоциированных с развитием гипертрофической кардиомиопатии [47]. На первый взгляд, количество гипертрофических мутаций в гене Trpm невелико по сравнению с другими саркомерными белками [54], но частота встречаемости этих мутаций в популяции людей, страдающих от гипертрофической болезни, составляет от 5 до 11% [55, 56], что делает их изучение весьма актуальным.

Дилатационная кардиомиопатия (Dilated Cardiomyopathy, DCM) – это заболевание, характеризующееся утоньшением стенки левого желудочка, что приводит к увеличению объема сердечной камеры [47]. В гистологическом плане оно сопровождается фиброзом тканей миокарда, а в функциональном плане – систолической дисфункцией [48]. По своей природе этиология этих заболеваний значительно более сложная, чем у гипертрофии. Так, в отличие от гипертрофической кардиомиопатии, дилатационная кардиомиопатия развивается не только благодаря наследственным причинам, доля которых от общего пула подобных заболеваний составляет от 35 до 50% случаев [57], но вызывается и внешними факторами. Серьезные отличия дилатационных кардиомиопатий от гипертрофических наблюдается также в генетическом плане. Мутации, ассоциированные с дилатационными патологиями сердца, были обнаружены в 40 различных генах, при этом кодирующих не только саркомерные белки [57, 58]. Это указывает на более сложные механизмы развития подобного типа патологий. На молекулярном уровне проявления мутаций, ассоциированных с дилатационными кардиомиопатиями, зачастую противоположны тем, которые характерны для мутаций, вызывающих гипертрофические кардиомиопатии. Так, они зачастую приводят к снижению Ca^{2+} -чувствительности сократительного аппарата [59, 60], но это правило не является универсальным. Были обнаружены некоторые мутации, ассоциированные с развитием дилатационной кардиомиопатии, которые приводили не к снижению, а, напротив, к увеличению Ca^{2+} -чувствительности сокращения мышц сердца [61]. На данный момент можно заключить, что природа развития дилатационной болезни сердца значительно менее изучена, чем гипертрофической, и может вызываться множеством разных факто-

ров. В гене TPM1 к настоящему времени обнаружено около десятка мутаций, ассоциированных с данным типом кардиомиопатии.

Еще более сложная картина в этиологии заболеваний характерна для скелетно-мышечных патологий. Миопатии представляют собой широкую группу наследственных заболеваний, включающую в себя болезни, очень похожие по симптоматике. Миопатические заболевания часто характеризуются мышечной слабостью, нарушениями в работе сократительного аппарата, а также гистологическими изменениями структуры мышечной ткани [62]. В отдельную группу мышечных патологий выделяют дистальный артрогрипоз. Он имеет очень сходную симптоматику с миопатиями, но на гистологическом уровне отсутствуют какие-либо изменения структуры миоцитов [63]. На настоящий момент в генах тропомиозина TPM2 и TPM3 обнаружено значительное количество мутаций, ассоциированных с различными видами миопатий и дистальных артрогрипозов [64, 65]. Примечательно, что в отличие от кардиомиопатий, механизмы развития различных патологий скелетной мускулатуры слабо изучены. На данный момент в литературе трудно найти хоть сколько-нибудь обобщающую модель развития подобных заболеваний, способную связать наблюдаемые проявления с молекулярными изменениями, происходящими в скелетной мускулатуре. По современным данным известно, что в развитии наследственных миопатий участвуют как минимум 17 генов, в которых были обнаружены соответствующие мутации [66]. При этом генетическая детерминированность развития миопатий до сих пор остается вопросом для серьезного обсуждения и по разным оценкам варьирует от 50 до 90% [66, 67]. Развитие дистальных артрогрипозов, в свою очередь, ассоциировано в основном с генами, кодирующими белки саркомеров [63].

III. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ МУТАЦИЙ В ГЕНАХ ТРОПОМИОЗИНА

Как это было отмечено выше, в организме человека Trpm экспрессируется с четырех генов – TPM1, TPM2, TPM3 и TPM4 [5]. Мутации в гене TPM1 приводят к аминокислотным заменам в изоформе Trpm1.1 и ассоциированы с развитием множества кардиомиопатий. Любопытен тот факт, что Trpm1.1, помимо сердечной ткани, экспрессируется также в быстрых скелетных мышцах, однако, мутации в гене TPM1 ассоциированы с развитием только сердечных патологий [1, 47]. Вероятно, это связано с тем, что Trpm1.1 является там абсолютно доминирующей изоформой Trpm. Развитие скелетно-мышечных

патологий, в свою очередь, ассоциировано с мутациями в генах ТРМ2 и ТРМ3, продуктами которых являются Трм2.2 и Трм3.12 – основные изоформы скелетных мышц. Распределение мутаций в генах Трм, на наш взгляд, заслуживает самого пристального внимания.

Аминокислотные замены в изоформе Трм1.1, вызванные мутациями в гене ТРМ1, расположены весьма равномерно вдоль всей молекулы тропомиозина [47] (рис. 1А). Однако в области участка, содержащего аминокислотные остатки 110–160, мутаций практически не обнаруживается [47]. Подобная особенность распределения может объясняться двумя различными путями. Можно предположить, что эта область в силу каких-то причин менее подвержена мутациям в ДНК или мутации в этой области обладают более критичными последствиями и приводят к смерти пациентов до того, как они могут быть выявлены. Необходимо также отметить, что мутации расположены в различных областях – как ответственных за взаимодействие с актином и тропонином, так и вне их [47].

В случае с расположением мутаций в генах, кодирующих изоформы Трм2.2 и Трм3.12, можно также выделить ряд интересных особенностей. Нельзя не отметить, что в гене ТРМ2, кодирующем изоформу Трм2.2, обнаружено несколько больше мутаций, чем в гене ТРМ3 (рис. 1А) [65]. Так же, как и в случае с изоформой Трм1.1, аминокислотные замены в Трм2.2, связанные с различными патологиями скелетных мышц, расположены равномерно по всей длине молекулы Трм с тем лишь исключением, что обнаруживается довольно много мутаций в центральной части молекулы (рис. 1А). В случае гена ТРМ3, ответственного за синтез изоформы Трм3.12, характерной для медленных скелетных мышц, в распределении мутаций наблюдается своеобразная и не совсем пока объяснимая кластеризация. Множество мутаций расположено ближе к концам молекулы – в зоне образования концевых взаимодействий соседних молекул Трм друг с другом, а также обнаруживается множество мутаций в области аминокислотных остатков 150–180 – в зоне, ответственной за взаимодействие с тропонином Т (рис. 1Б). Еще один кластер приходится на зону с 80 по 100 аминокислотный остаток. Разница в распределении мутаций между изоформами Трм3.12 и Трм2.2 может объясняться как тем, что мутации в гене ТРМ3 пока менее изучены (что вообще-то весьма маловероятно, т.к. существует уже множество генетических работ), так и тем, что изоформа Трм2.2 является более распространенной и присутствует во всех типах мышц, поэтому большее число мутаций может затрагивать значительно большее число механизмов, через которые они реализуются.

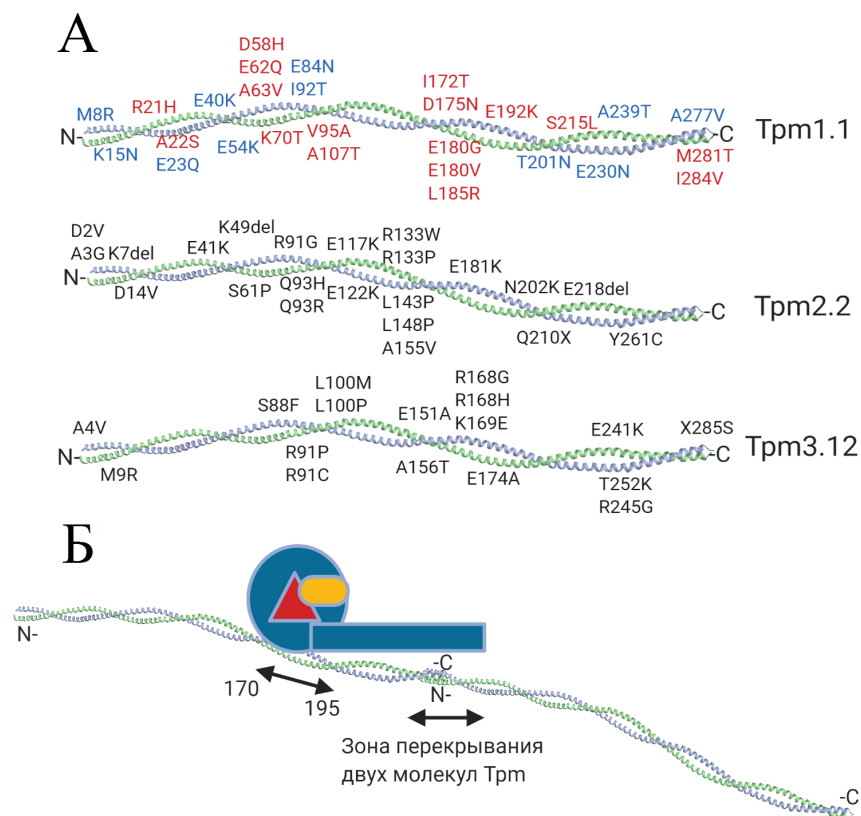


Рис. 1. А. Схематическое изображение аминокислотных замен в молекуле тропомиозина (в трех его изоформах – Трм1.1 (α -Трм), Трм2.2 (β -Трм) и Трм3.12 (γ -Трм)), ассоциированных с различными мышечными патологиями. Синим цветом отмечены замены, связанные с дилатационными кардиомиопатиями, красным – с гипертрофическими кардиомиопатиями, черным – с заболеваниями скелетных мышц.

Б. Схематическое изображение тропомиозин-тропонинового комплекса. Синим цветом изображен тропонин Т, красным – тропонин I, желтым – тропонин С. Стрелками отмечены участки взаимодействия тропонина Т с тропомиозином.

В целом, огромное количество мутаций, равномерность их распределения в структуре Трп и отсутствие видимой кластеризации (за исключением изоформы Трп 3.12) может свидетельствовать о многообразии механизмов, лежащих в основе патогенеза наследственных заболеваний мышц.

Из всего вышеописанного становится понятно, что на данный момент уже накопилось множество данных о распределении мутаций в генах, которые так или иначе вовлечены в развитие различных мышечных патологий. Все эти данные требуют систематизации и создания моделей молекулярного механизма развития подобных заболеваний. Но, к большому сожалению, по сравнению со множеством генетических исследований, работ, посвященных молекулярным механизмам развития патологий, пока значительно меньше, что еще не позволяет создать единые модели, независимо от генов, в которых были найдены мутации. Однако в случае молекулы Трп можно попытаться выделить ряд интересных моделей, объясняющих развитие тяжелых наследственных мышечных заболеваний. На наш взгляд, наибольших успехов достигли модели, объясняющие развитие сердечной гипертрофии, что, наверное, неудивительно, так как они являются наиболее изученными и простыми.

IV. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МОДЕЛИ РАЗВИТИЯ КАРДИОМИОПАТИЙ

Первая модель, объясняющая развитие наследственных кардиомиопатий, ставит во главу угла взаимодействие Трп с актином [68]. Как известно, актиновый филамент является основным партнером молекул Трп внутри клетки, поэтому изменение параметров взаимодействия Трп с актином могут приводить к самым серьезным последствиям. Изучением подобного вопроса применительно к различным миопатическим мутациям занимались и продолжают заниматься множество групп в мире. В нашем обзоре мы остановимся на избранных работах в этой области. Во многом базируясь на значительном количестве накопленных знаний, была предложена модель, основанная на изменении энергии взаимодействия Трп с поверхностью актинового филамента при различных аминокислотных заменах, ассоциированных с развитием тяжелых кардиомиопатий [68]. Согласно этой модели, все эффекты гипертрофических кардиомиопатических мутаций могут быть сведены к ослаблению взаимодействия Трп с поверхностью актинового филамента. Авторам удалось выявить ослабление такого взаимодействия, выражаемое

в увеличении его свободной энергии, в случае аминокислотных замен в Trp, ассоциированных с гипертрофическими патологиями. Основным итогом этой работы является то, что при различных кардиомиопатиях, обусловленных мутациями в генах Trp, может нарушаться прочность комплекса Trp с актином в состоянии blocked, что приводит к сравнительно более легкому переходу Trp в два других состояния – closed и open. Подобные изменения могут выражаться в преждевременном запуске мышечного сокращения при еще довольно низких концентрациях ионов Ca^{2+} и приводить к гиперсократительному фенотипу у пациентов [68]. Данная модель представляет собой отличный пример инструмента для прогнозирования эффектов новых и существующих кардиомиопатических мутаций в генах Trp, для которых до сих пор еще не установлены изменения на молекулярном уровне. В пользу этой модели говорит то, что для большинства рассматриваемых мутаций было экспериментально показано снижение сродства Trp к актиновому филаменту и увеличение чувствительности актин-миозинового взаимодействия к ионам Ca^{2+} [59, 69, 70].

Стоит отметить и некоторые недостатки этой модели, которые не позволяют ей стать универсальной. Сама модель является статической и не предполагает тепловых флуктуаций в положении Trp на поверхности актинового филамента. Кроме того, изменения свободной энергии взаимодействия Trp с актином удалось обнаружить только для аминокислотных замен в структуре Trp, приводящих к гипертрофии сердечной ткани, в то время как для дилатационных кардиомиопатий подобных особенностей выявлено не было [68]. Помимо этого, обнаружен ряд мутаций, рассматриваемых в этой работе, для которых не было экспериментально выявлено снижение сродства Trp к актину [71–73], а в некоторых случаях наблюдался даже противоположный эффект [71]. Несмотря на все недостатки, данная модель обладает прогностической силой и довольно неплохо объясняет эффекты мутаций в гене TRPM1, приводящих к аминокислотным заменам в участках Trp, ответственных за взаимодействие с актином.

Другой популярной моделью, объясняющей эффекты различных кардиомиопатических мутаций, является теория о том, что некоторые аминокислотные замены могут влиять на взаимодействие Trp с тропониновым комплексом, тем самым оказывая эффект на кальциевую чувствительность мышечного сокращения и изменяя нормальное функционирование рассмотренной выше модели трех состояний Trp на поверхности актинового филамента. Особое внимание в подобных работах уделяется тропонину Т. К большому сожалению, в основе этой модели нельзя выделить какую-то одну работу, в которой был

бы детально проанализирован весь пул механизмов и возможных эффектов. На данный момент в литературе наблюдается ряд работ, в которых эффекты кардиомиопатических мутаций рассматриваются через структурные изменения в комплексе Тpm с тропонином [71, 74–79]. Как хорошо известно, тропонин Т взаимодействует с Тpm в двух участках: в области перекрывания концов двух соседних молекул Тpm и в районе аминокислотных остатков 170–190 [80–82] (рис. 1Б). Мутации как в тропонине Т, так и в Тpm, находящиеся в этих участках взаимодействия или рядом с ними, обычно приводят к серьезным последствиям и сказываются на взаимодействии между двумя этими белками [71, 76, 77]. В этих областях найдено немало мутаций и в гене TPM1. К примеру, очень интересной с точки зрения клинической практики является мутация E180V, поскольку на раннем этапе развития заболевания она проявляет себя как гипертрофическая кардиомиопатия, а затем (после достижения пациентом возраста 40 лет) ее проявления приобретают признаки дилатационной кардиомиопатии [83]. Аминокислотные замены M281T, L185R, I172T, L185R и I284V в Tpm1.1 также находятся в области взаимодействия Тpm с тропониновым комплексом и составляют пока еще не полный список подобного рода мутаций. Для замен M281T, L185R и I172T была обнаружена незначительная стабилизация структуры Тpm, выражающаяся в некотором повышении температуры его тепловой денатурации, а также (для всех, кроме мутации I172T) – небольшое увеличение сродства Тpm к F-актину [71]. Замены M281T и L185R увеличивали АТРазную активность миозина в присутствии регулируемых тонких филаментов [71], а замены I172T и L185R приводили к изменению чувствительности миозин-актинового взаимодействия к ионам Ca^{2+} [59, 71]. Похожие данные для аминокислотных замен I172T и L185R были получены с использованием системы *in vitro* motility assay [72]. Кардиомиоциты, полученные при биопсии сердца человека с мутацией, приводящей к замене I284V, обладали повышенной кальциевой чувствительностью при активации их сокращения [84]. Учитывая незначительный эффект этих мутаций на связывание Тpm с актином, можно предположить, что они могут быть вовлечены в тесное взаимодействие Тpm с тропониновым комплексом.

Важность структурных перестроек в комплексе Тpm с тропонином неоспорима и ряд работ, посвященных изучению кардиомиопатических мутаций, наглядно это демонстрирует. Так, было показано, что мутации в N-концевой части тропонина Т оказывают влияние на стабильность его C-концевого участка, вовлеченного во взаимодействие с Тpm.

На примере мутации F110I в тропонине Т авторам удалось показать, что увеличение жесткости структуры тропонина Т, выражающееся в повышении термостабильности его молекулы, приводит к ослаблению его взаимодействия с Тpm и сказывается на способности Тpm регулировать взаимодействие миозина с актином [74]. В этой работе также было отмечено, что большинство кардиомиопатических мутаций в С-концевой части тропонина Т оказывает влияние на актин-миозиновое взаимодействие не напрямую, а через взаимодействие с молекулой Тpm. Не менее примечательная работа была опубликована в 2004 г., когда авторам удалось показать, что замена участков в изоформе Тpm1.1, ответственных за связывание с тропонином Т, на аналогичные участки, взятые из изоформы Тpm2.2, приводит к ярко выраженным физиологическим последствиям, снижая интенсивность работы мышечных сердец, экспрессирующих мутантные белки, замедляя скорость их сокращения и расслабления [75]. Отдельно стоит упомянуть работу, опубликованную в 2015 году, в которой было показано, что аминокислотные замены в Тpm, ассоциированные с кардиомиопатическими мутациями в гене TPM1, могут приводить к изменениям в работе тропонина С – единственного компонента тропонинового комплекса, с которым Тpm не вступает в непосредственное взаимодействие [71]. Эти изменения приводят к увеличению сродства тропонина С к ионам Ca^{2+} и к повышению калциевой чувствительности миозин-актинового взаимодействия.

Стоит отметить, что и эту модель также сложно назвать идеальной. Так, остается непонятным, как мутации, находящиеся на отдалении от зон контакта Тpm с тропониновым комплексом, могут влиять на взаимодействие этих белков. Кроме того, эта модель не объясняет эффекты мутаций в генах Тpm, которые не приводят к изменению Ca^{2+} -чувствительности миозин-актинового взаимодействия.

Интересная модель молекулярного развития гипертрофической болезни сердца была предложена S.S. Lehrer и M.A. Geeves [85]. Ее существенным отличием от всех предыдущих моделей является то, что в ее основе появилась концепция, предполагающая появление нового, четвертого состояния в общепризнанной модели трех состояний, описывающей механизм регуляции мышечного сокращения в норме [15]. Авторы предполагают, что в случае гипертрофической патологии сердечной мышцы может возникать состояние, в котором миозин связывается с актиновым филаментом и генерирует силу даже в отсутствие ионов Ca^{2+} . Подобное «запрещенное» взаимодействие приводит к гиперсократимости сердечной мышцы и ее неполной релаксации. Эта модель основана на данных о том, что при

многих мутациях в генах белков сократительного аппарата мышц, ассоциированных с гипертрофической кардиомиопатией, была обнаружена базальная АТФазная активность миозина при низких концентрациях Ca^{2+} , т.е. в тех условиях, когда в норме взаимодействие миозина с актином является невозможным [86–89]. Огромным преимуществом этой модели можно назвать то, что она объединяет эффекты всех кардиомиопатических мутаций в белках сократительного аппарата в единую концепцию. При этом, однако, не всегда удается обнаружить базальную активность актомиозина для всего множества подобных мутаций, что сказывается на универсальности данной модели.

Особняком стоит современная интегративная модель молекулярного механизма развития кардиомиопатий, предложенная группой американских исследователей [90]. Подробное рассмотрение этой модели выходит за рамки данного обзора ввиду сложности и незаконченности самой предложенной модели, а также того, что наш обзор сосредоточен на первичных причинах развития мышечных патологий и не рассматривает последующие за этим ассоциированные изменения, приводящие в конечном итоге к патологическому фенотипу. Тем не менее, огромным преимуществом этой модели является попытка связать между собой структурные изменения, наблюдаемые в тонком филаменте, с последующими ассоциированными физиологическими изменениями тканей и структур, выражающимися в конечном клиническом проявлении кардиомиопатий. Нельзя не отметить ряд интересных наблюдений, сделанных в этой модели. Особое внимание в ней уделено динамическим структурам тонкого филамента, а именно линкерной области тропонина Т и области соединения двух молекул Тpm друг с другом и с тропонином Т [90]. Анализируя значительный пул исследованных мутаций в этой области или примыкающих к ней, а также наблюдаемых эффектов этих мутаций, авторы приходят к выводу, что значительную роль в патогенезе заболевания играет изменение структуры Тpm-тропонин-актинового комплекса. Особую роль в этом играет динамика структурных изменений Тpm, в частности — его концевых взаимодействий, так как он является своеобразным триггером для настройки мышечного сокращения. Предложенная теория является фундаментальной, но ей не хватает большего количества структурных исследований тонкого филамента, чтобы более детально моделировать эффекты мутаций, как авторы сами и отмечают в своей работе. Кроме того, в этой работе не рассматриваются мутации в белках толстого (миозинового) филамента и в белках, не относящихся к сократительному аппарату мышц, что также не позволяет этой модели претендовать на универсальность.

Как видно из описания моделей, до сих пор нет единого мнения о механизме развития наследственной гипертрофической болезни. Представляется вероятным, что каждая из моделей может быть справедливой для отдельно взятых мутаций. Но нельзя при этом исключить возможность того, что существуют мутации, которые не подходят ни под одну из предложенных моделей. Поэтому особое внимание хочется уделить работам, посвященным мутациям в генах *Trpm*, приводящим к изменениям его взаимодействия с белками, не принимающими непосредственного участия в мышечном сокращении. Особое внимание здесь стоит уделить леймодину и тропомодулину, регулирующим динамику концов актинового филамента. В ряде работ было показано, что мутации в N-концевой части *Trpm* приводят к изменениям его взаимодействия с леймодином и тропомодулином [91–94]. Не исключено, что изменения во взаимодействии с белками, отвечающими за динамику актинового филамента, могут лежать в основе структурных перестроек в кардиомиоцитах и проявлении сердечных патологий. Более подробно этот вопрос рассмотрен в недавно опубликованном обзоре [95]. На наш взгляд, подобная модель особенно актуальна при рассмотрении скелетно-мышечных патологий ввиду сложности в этиологии этих заболеваний.

V. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МОДЕЛИ РАЗВИТИЯ МИОПАТИЙ

Важной особенностью миопатических мутаций, ассоциированных с развитием скелетно-мышечных патологий, является сложность их фенотипических проявлений. Поэтому моделей, которые бы описывали молекулярный механизм развития миопатий, значительно меньше, чем для кардиомиопатий. В большинстве случаев при изучении миопатий существуют разрозненные работы, посвященные отдельным эффектам миопатических мутаций. Данные об этих мутациях хорошо суммированы в предыдущих обзорах [63, 70, 96–99].

В нашем обзоре хотелось бы остановиться на работе, которая предлагает рассматривать эффекты миопатических мутаций в генах тропомиозина через взаимодействие *Trpm* с актиновым филаментом [65]. Это очень похоже на описанную выше модель, предложенную для кардиомиопатий [68]. Через взаимодействие *Trpm* с актиновым филаментом объясняются эффекты мутаций в генах *Trpm*, связанные с развитием наследственных заболеваний скелетной мускулатуры [65]. В основе этой модели лежат изменения электростатических взаимодействий *Trpm* с актином, а также нарушения взаимодействий между N- и C-концами молекул *Trpm*, которые могут

приводить к нарушению формирования протяженного тропомиозинового тяжа вдоль поверхности актинового филамента. В работе была обнаружена взаимосвязь между Ca^{2+} -чувствительностью миозин-актинового взаимодействия и проявлениями фенотипа. Так, мутации, приводящие к увеличению кальциевой чувствительности, приводили к гиперконтрактуре суставов конечностей и челюстей; напротив, мутации, снижающие или не оказывающие влияния на Ca^{2+} -чувствительность взаимодействия миозина с актином, приводили к сколиозу и болезням позвоночника. Эта работа также не лишена многих недостатков. Главным из них является то, что остается непонятным, как можно объяснить все многообразие проявлений, связанных с наследственными заболеваниями скелетной мускулатуры, используя лишь нарушения во взаимодействии Trpm с актиновым филаментом, имеющие в целом сходный характер.

Отдельно стоит упомянуть серию работ, посвященных влиянию миопатических мутаций на положение Trpm на поверхности актинового филамента [100–103], которое, согласно этим работам, может напрямую влиять на Ca^{2+} -чувствительность миозин-актинового взаимодействия. Такие мутации могут влиять на переход Trpm из состояния blocked в состояния closed и open, а также на количество прочно связанных с актином миозиновых головок при низкой и высокой концентрациях Ca^{2+} [102]. Авторами было отмечено, что увеличенное количество связанных с актином головок миозина при низкой концентрации Ca^{2+} обычно сопровождается CFTD-заболевания (congenital fiber-type disproportion), а сниженное их количество характерно для т.н. Сар-миопатий [102]. Данная модель также не лишена всех недостатков, характерных для работ, рассматривающих только взаимодействие Trpm с актином как первопричину заболеваний наследственного типа.

Поэтому особенно актуальными, на наш взгляд, могут стать исследования нарушений во взаимодействиях Trpm с другими актин-связывающими белками при изучении механизмов развития наследственных заболеваний скелетных мышц. В силу плюрализма разнородных фенотипических изменений и нарушений в структуре саркомера, наблюдаемых при развитии подобных болезней, кажется весьма вероятным, что в этот процесс может быть вовлечено множество саркомерных белков. Отдельно хочется упомянуть небулин, тропомодулин и леймодин. О взаимодействии копирующих белков леймодина и тропомодулина с Trpm можно подробно прочитать во множестве работ [95, 104, 105]. Здесь нам хотелось бы обратить внимание на то, что нарушения таких взаимодействий могут сказываться на

нормальном формировании актинового филамента, что, безусловно, может вносить вклад в нарушение нормального развития саркомера [106, 107]. Также отдельного внимания заслуживает небулин. Было показано, что мутации в гене небулина приводят к изменению кинетики работы поперечных мостиков и мышечной слабости, т.е. напрямую влияют на процесс мышечного сокращения [108]. Помимо этого, небулин увеличивает жесткость тонкого (актинового) филамента, что позволяет предположить, что он принимает участие в регуляции его работы и вносит вклад в перемещение тропонин-тропомиозинового комплекса по его поверхности [109]. Среди всех работ по небулину выделяется одна, в которой было показано, что миопатические мутации в генах *Trm* и небулина влияют на их взаимодействие друг с другом [110].

Все эти работы указывают на то, что в регуляции мышечного сокращения могут принимать участие не только основные компоненты толстых и тонких нитей (миозин, актин, *Trm*, тропонин), но и другие саркомерные белки. Расширение этой области исследований в будущем может способствовать более детальному представлению о регуляции мышечного сокращения как в норме, так и при различных патологических состояниях мышц.

Как видно из приведенного анализа литературы, посвященной наследственным заболеваниям мышц, ассоциированным с мутациями в генах *Trm*, молекулярные механизмы развития таких заболеваний остаются пока зачастую неясными.

VI. НАИБОЛЕЕ ИЗУЧЕННЫЕ КАРДИОМИОПАТИЧЕСКИЕ И МИОПАТИЧЕСКИЕ МУТАЦИИ

В заключение обсуждения различных моделей молекулярного развития сердечно- и скелетно-мышечных патологий хочется остановиться подробнее на некоторых конкретных аминокислотных заменах, ассоциированных с этими заболеваниями, влияние которых на свойства *Trm* и его способность к регуляции мышечного сокращения наиболее изучено на данный момент.

В гене *TRPM1* – это мутации E180G и D175N, ассоциированные с гипертрофической кардиомиопатией. Исследование эффектов этих мутаций является прекрасным примером основательного подхода к изучению молекулярных механизмов развития ассоциированных с ними заболеваний. На данный момент показано, что эти мутации оказывают заметное влияние на свойства *Trpm1.1* и на доменную структуру его молекулы [69]; также было продемонстрировано влия-

ние этих мутаций на взаимодействие миозина с актином [52, 111]. Важно отметить, что мутация E180G существенно снижала температуру диссоциации Trp с поверхности актинового филамента и, соответственно, температуру его тепловой денатурации в присутствии F-актина [69]. Эти результаты указывают на то, что при повышении температуры тела выше физиологической нормы может нарушаться взаимодействие между Trp и актином, что может приводить в конечном итоге к внезапной смерти. Помимо этого, были получены линии трансгенных мышей, несущих данные аминокислотные замены в структуре Trp; в результате мыши с мутацией E180G умирали гораздо раньше, чем остальные [112]. Все эти результаты впервые позволили приблизиться к пониманию молекулярных механизмов, лежащих в основе физиологических эффектов данных мутаций, приводящих к тяжелым кардиомиопатиям, в том числе с летальным исходом. Однако стоит отметить, что все эффекты этих мутаций могут быть объяснены с точки зрения рассмотренных выше моделей. Так, мутации E180G и D175N расположены в зоне взаимодействия с тропонином Т и способны влиять на это взаимодействие [113]; они также приводят к снижению сродства Trp к актиновым филаментам [68, 69, 72] и для них обнаружена остаточная АТРазная активность миозина при низких концентрациях Ca^{2+} [89]. Все это говорит о сложности создания универсальных моделей и ставит под сомнение саму возможность создания универсальной модели подобных заболеваний.

В случае мутаций, приводящих к развитию наследственных заболеваний в скелетной мускулатуре, наиболее хорошо известными и изученными являются мутации R91G и M9R в изоформах Trp2.2 и Trp3.12, соответственно. Мутация R91G оказывала сильное влияние на структуру молекулы Trp, резко снижая термостабильность ее N-концевой части [114], и на ее функциональные свойства. Так, она увеличивала Ca^{2+} -чувствительность взаимодействия миозина с актином [70] и изменяла способность Trp перемещаться по поверхности актинового филамента, что способствовало более быстрому переходу миозиновых головок в состояние сильного связывания с актином [115]. Мутация M9R существенно снижала сродство Trp к актиновому филаменту, а также нарушала его взаимодействие с тропомодулином [91, 116]. Экспрессия мутантного белка в миоблестах приводила к нарушению нормального развития сети актиновых филаментов [106]. Как и в случае гипертрофических мутаций, эффекты аминокислотных замен R91G и M9R могут быть объяснены, хотя бы отчасти, с помощью описанных выше моделей.

VII. ГЕТЕРОДИМЕРЫ ТРОПОМИОЗИНА – ОДНА ИЗ ВАЖНЫХ ФОРМ ЕГО СУЩЕСТВОВАНИЯ

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕТЕРОДИМЕРОВ ТРМ В СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ

Про то, что Трм способен формировать гетеродимеры, известно довольно давно. Существует множество работ, в которых рассматривается содержание гомо- и гетеродимеров Трм в различных мышечных тканях, а также потенциальная возможность формирования того или иного типа димерных молекул [37]. Однако работ, которые напрямую бы исследовали свойства гетеродимерных молекул Трм, характерных для скелетной мускулатуры, не так много. Это связано с большой сложностью получения такого типа молекул *in vitro*. Способ получения гетеродимеров Трм был впервые описан только в 2012 году [117], после чего стали появляться работы по сравнению свойств гетеродимерных и гомодимерных молекул Трм.

Как уже было отмечено ранее, в скелетных мышцах экспрессируются три изоформы Трм – Трм1.1 (α -Трм), Трм2.2 (β -Трм) и Трм3.12 (γ -Трм). Они образуют не только гомодимеры, но и гетеродимеры, состоящие из цепей разных изоформ. В мышечной ткани α - и γ -изоформы Трм формируют гетеродимеры с β -изоформой Трм, но не друг с другом [118]. В быстрых скелетных мышцах молекулы Трм представлены либо $\alpha\alpha$ -гомодимерами, либо $\alpha\beta$ -гетеродимерами [118]. Гомодимеры β -Трм нестабильны [119] и встречаются очень редко, только в весьма специфических мышцах [120]. Обычно в процентном соотношении α -Трм (60%) доминирует над β -Трм в быстрых скелетных мышцах (40%) [121]. Тем не менее, соотношение этих изоформ существенно варьирует в зависимости от вида и типа мышечной ткани [36, 122]. В медленных скелетных мышцах, в свою очередь, встречаются α - и γ -изоформы Трм. Данный тип мышечных волокон значительно менее изучен, чем быстрые мышечные волокна. Однако показано, что $\alpha\gamma$ -гетеродимер способен образовываться в медленных мышцах [37]. Интересно отметить, что в скелетных мышцах Трм имеет термодинамическую предрасположенность к формированию гомодимеров, что показано в ряде экспериментов *in vitro* [117], однако и там часто наблюдается появление гетеродимеров, которые могут составлять доминирующую форму существования Трм в некоторых типах мышечных волокон [123]. Все это указывает на функциональную важность существования гетеродимерных молекул Трм. Данное утверждение подкрепляется рядом функциональных исследований. Так, было показано, что $\alpha\beta$ -гетеродимеры Трм отличаются по термостабильности, сродству к актину и ряду функциональных параметров как от $\alpha\alpha$ -, так и от $\beta\beta$ -гомодимеров [117, 119,

124]. Поэтому вполне логично предположить, что гетеродимеры Трм с аминокислотными заменами, вызванными миопатическими мутациями лишь в одной из двух цепей, могут отличаться по своим свойствам от гомодимерных молекул с такими же заменами аминокислотных остатков в двух цепях одновременно.

ПОЧЕМУ ВАЖНО ИЗУЧАТЬ ГОМОДИМЕРЫ И ГЕТЕРОДИМЕРЫ ТРМ
С ЗАМЕНАМИ В ОДНОЙ ЦЕПИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ НАСЛЕДСТВЕННЫХ
ПАТОЛОГИЯХ

Как было отмечено выше, актуальность данной проблематики лежит на поверхности. Учитывая тот факт, что в скелетных мышцах практически отсутствуют $\beta\beta$ -гомодимеры Трм, все эффекты, вызываемые мутациями в β -цепи Трм, определяются свойствами ее гетеродимеров. Несмотря на это, абсолютное большинство работ с использованием рекомбинантных цепей β -Трм проводилось ранее исключительно на препаратах $\beta\beta$ -гомодимеров. Однако ряд современных работ указывает на то, что использование $\beta\beta$ -гомодимеров Трм при изучении молекулярных механизмов развития миопатий не всегда является адекватной моделью [124, 125]. Так, было показано, что в случае миопатических мутаций, приводящих к аминокислотным заменам N202K, R133W, Q147P и K49del (делеция остатка Lys49) в β -цепи, $\alpha\beta$ -гетеродимерные молекулы Трм существенно отличались по своим свойствам от $\beta\beta$ -гомодимеров Трм. Для аминокислотных замен R133W и N202K было показано, что их влияние на структуру $\alpha\beta$ -гетеродимеров Трм и их сродство к актиновому филаменту существенно отличается от их влияния на свойства $\beta\beta$ -гомодимеров с такими же заменами в обеих цепях. К примеру, влияние замены N202K в β -цепи на актин-миозиновое взаимодействие было значительно более выражено для $\alpha\beta$ -гетеродимеров, чем для $\beta\beta$ -гомодимеров с такой заменой в обеих цепях [124]. Любопытно отметить, что эти мутации приводили к снижению сродства Трм к актину в случае $\beta\beta$ -гомодимеров Трм, но образование $\alpha\beta$ -гетеродимеров нивелировало этот эффект. Это указывает на то, что использование гомодимерной модели миопатических мутаций в гене TPM2 (β -цепь Трм) может в некоторых случаях приводить к ложным результатам [124]. В целом аналогичные результаты были получены для замен Q147P и K49del в β -цепи, которые по-разному влияли на структуру $\beta\beta$ -гомодимеров и $\alpha\beta$ -гетеродимеров Трм, а влияние замены K49del на сродство Трм к актину значительно отличалось для гомо- и гетеродимеров Трм [125]. Эти результаты доказывают, что свойства гомо- и гетеродимеров Трм, несущих аминокислотные замены в β -цепи, существенно отличаются друг от друга, и гетеродимеры являются более релевантной моделью

для изучения молекулярных механизмов развития патологий, вызванных миопатическими мутациями. К большому сожалению, в литературе отсутствуют пока работы с аналогичными исследованиями для $\gamma\beta$ -гетеродимеров Trp, представляя собой почву для дальнейших исследований.

Стоит отметить, что исследование влияния аминокислотных замен лишь в одной из двух цепей димерной молекулы Trp важно не только в случае гетеродимеров, но и в случае гомодимеров Trp, особенно в случае его $\alpha\alpha$ -гомодимеров. В связи с тем, что α -Trp является главной изоформой, экспрессируемой в сердечной мышце, $\alpha\alpha$ -гомодимеры Trp являются там доминирующей формой его существования. Очень часто мутации, ассоциированные с наследственными кардиомиопатиями, являются гетерозиготными и доминантными, следовательно, затрагивают в гене Trp лишь один аллель из двух. Таким образом, в сердечной ткани могут возникать цепи Trp как с аминокислотными заменами, так и без них. Все это может приводить к формированию $\alpha\alpha$ -гомодимеров Trp, несущих соответствующие аминокислотные замены лишь в одной из двух цепей димерной молекулы. Свойства подобных гомодимеров (с мутацией лишь в одной из цепей) могут заметно отличаться от гомодимеров, где такая мутация представлена в двух цепях одновременно. В литературе также есть работа, подтверждающая эту гипотезу [126]. Так, $\alpha\alpha$ -гомодимеры, несущие аминокислотную замену E180G в одной из двух цепей молекулы Trp, отличались по своей термостабильности и актин-связывающим свойствам как от $\alpha\alpha$ -гомодимеров Trp дикого типа, так и от $\alpha\alpha$ -гомодимеров Trp с такими заменами в обеих цепях молекулы [126].

Приведенные в этом разделе работы значительно усложняют и без того комплексную проблему изучения молекулярных механизмов развития мышечных патологий. Тем не менее, они указывают на то, что в случае Trp важно обращать внимание на состав его димерных молекул, т.к. это может значительно сказываться на свойствах тропомиозина.

VIII. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Благодаря развитию медицинских и геномных технологий накапливается все больше данных о миопатических мутациях в генах человека. Все это служит отличной базой для проведения биохимических, биофизических и физиологических исследований, ставящих целью установление молекулярных механизмов различных патологий скелетных и сердечных мышц. Накопление подобного рода данных

привело к созданию ряда моделей, объясняющих развитие этих патологий на молекулярном уровне. Некоторые из них могут быть использованы для прогнозирования эффектов мутаций и попыток нахождения ключевых точек для коррекции последствий наследственных патологий. Однако, до сих пор не удается создать универсальной теории, которая могла бы обладать достаточной прогностической силой и объяснять эффекты всех найденных в генах *Tpm* мутаций, ассоциированных с развитием патологий мышечных тканей. Тем не менее, в этой области сделан значительный шаг вперед, особенно в случае наследственных гипертрофических патологий сердечной мышцы. Значительно больше исследований требуется в области скелетно-мышечных патологий и дилатационной болезни сердца, в связи с тем, что этиология этих заболеваний значительно более сложна, чем в случае гипертрофии. Подобного рода исследования могут быть актуальными еще на протяжении многих лет. Особое внимание, по мнению авторов, стоит уделить белкам-партнерам актинового филамента, не принимающим прямого участия в регуляции или осуществлении мышечного сокращения. Количество таких исследований все еще мало, однако уже очевидно, что такие белки могут играть важную роль в развитии миопатических болезней.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gunning, P., O'Neill, G., Hardeman, E. (2008) Tropomyosin-based regulation of the actin cytoskeleton in time and space, *Physiological Reviews*, **88**, 1–35.
2. Gunning, P., Gordon, M., Wade, R., Gahlmann, R., Lin, C.S., Hardeman, E. (1990) Differential control of tropomyosin mRNA levels during myogenesis suggests the existence of an isoform competition-autoregulatory compensation control mechanism, *Developmental Biology*, **138**(2), 443–453.
3. Weinberger, R.P., Henke, R.C., Tolhurst, O., Jeffrey, P.L., Gunning, P. (1993) Induction of neuron-specific tropomyosin mRNAs by nerve growth factor is dependent on morphological differentiation, *Journal of Cell Biology*, **120**, 205–215.
4. Grieshaber, N.A., Ko, C., Grieshaber, S.S., Ji, I., Ji, T.H. (2003) Follicle-stimulating hormone-responsive cytoskeletal genes in rat granulosa cells: class I beta-tubulin, tropomyosin-4, and kinesin heavy chain, *Endocrinology*, **144**, 29–39.
5. Schevzov, G., Vrhovski, B., Bryce, N.S., Elmir, S., Qiu, M.R., O'Neill, G., N. Yang, N., Verrills, N.M., Kavallaris, M., Gunning, P.W. (2005) Tissue-specific tropomyosin isoform composition, *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, **53**, 557–570.
6. Schevzov, G., Kee, A.J., Wang, B., Sequeira, V.B., Hook, J., Coombes, J.D., Lucas, C.A., Stehn, J.R., Musgrove, E.A., Cretu, A., Assoian, R., Fath, T., Hanoach, T., Seger, R., Pleines, I., Kile, B.T., Hardeman, E.C., Gunning, P.W. (2015) Regulation of cell

- proliferation by ERK and signal-dependent nuclear translocation of ERK is dependent on Tm5NM1-containing actin filaments, *Molecular Biology of the Cell*, **26**, 2475–2490.
7. Pelham, R.J. Jr., Lin, J.J., Wang, Y.L. (1996) A high molecular mass non-muscle tropomyosin isoform stimulates retrograde organelle transport, *Journal of Cell Science*, **109**, 981–989.
 8. Pruyn, D.W., Schott, D.H., Bretscher, A. (1998) Tropomyosin-containing actin cables direct the Myo2p-dependent polarized delivery of secretory vesicles in budding yeast, *Journal of Cell Biology*, **143**(7), 1931–1945.
 9. Dalby-Payne, J.R., O'Loughlin, E.V., Gunning, P. (2003) Polarization of specific tropomyosin isoforms in gastrointestinal epithelial cells and their impact on CFTR at the apical surface, *Molecular Biology of the Cell*, **14**(11), 4365–4375.
 10. Thoms, J.A., Loch, H.M., Bamberg, J.R., Gunning, P.W., Weinberger, R.P. (2008) A tropomyosin 1 induced defect in cytokinesis can be rescued by elevated expression of cofilin, *Cell Motility and the Cytoskeleton*, **65**(12), 979–990.
 11. McMichael, B.K., Lee, B.S. (2008) Tropomyosin 4 regulates adhesion structures and resorptive capacity in osteoclasts, *Experimental Cell Research*, **314**(3), 564–573.
 12. Bach, C.T., Creed, S., Zhong, J., Mahmassani, M., Schevzov, G., Stehn, J., Cowell, L.N., Naumanen, P., Lappalainen, P., Gunning, P.W., O'Neill, G.M. (2009) Tropomyosin isoform expression regulates the transition of adhesions to determine cell speed and direction, *Molecular and Cellular Biology*, **29**(6), 1506–1514.
 13. O'Neill, G.M. (2009) The coordination between actin filaments and adhesion in mesenchymal migration, *Cell Adh. Migr.*, **3**, 355–357.
 14. Caldwell, B.J., Lucas, C., Kee, A.J., Gaus, K., Gunning, P.W., Hardeman, E.C., Yap, A.S., Gomez, G.A. (2014) Tropomyosin isoforms support actomyosin biogenesis to generate contractile tension at the epithelial zonula adherens, *Cytoskeleton*, **71**(12), 663–676.
 15. McKillop, D.F., Geeves, M.A. (1993) Regulation of the interaction between actin and myosin subfragment 1: evidence for three states of the thin filament, *Biophysical Journal*, **65**(2), 693–701.
 16. al-Khayat, H.A., Yagi, N., Squire, J.M. (1995) Structural changes in actin-tropomyosin during muscle regulation: computer modelling of low-angle X-ray diffraction data, *Journal of Molecular Biology*, **252**(5), 611–632.
 17. Craig, R., Lehman, W. (2001) Cross-bridge and tropomyosin positions observed in native, interacting thick and thin filaments, *Journal of Molecular Biology*, **311**(5), 1027–1036.
 18. Bacchiocchi, C., Lehrer, S.S. (2002) Ca²⁺-induced movement of tropomyosin in skeletal muscle thin filaments observed by multi-site FRET, *Biophysical Journal*, **82**, 1524–1536.
 19. Gunning, P.W., Hardeman, E.C., Lappalainen, P., Mulvihill, D.P. (2015) Tropomyosin - master regulator of actin filament function in the cytoskeleton, *Journal of Cell Science*, **128**, 2965–2974.
 20. Khaitlina, S.Y. (2015) Tropomyosin as a regulator of actin dynamics, *International Review of Cell and Molecular Biology*, **318**, 255–291.
 21. Manstein, D.J., Mulvihill, D.P. (2016) Tropomyosin-mediated regulation of cytoplasmic myosins, *Traffic*, **17**, 872–877.
 22. Broschat, K.O. (1990) Tropomyosin prevents depolymerization of actin filaments from the pointed end, *Journal of Biological Chemistry*, **265**(34), 21323–21329.

23. Weigt, C., Schoepper, B., Wegner, A. (1990) Tropomyosin-troponin complex stabilizes the pointed ends of actin filaments against polymerization and depolymerization, *FEBS Letters*, **260**(2), 266–268.
24. Kojima, H., Ishijima, A., Yanagida, T. (1994) Direct measurement of stiffness of single actin filaments with and without tropomyosin by in vitro nanomanipulation, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **91**(26), 12962–12966.
25. Goldmann, W.H. (2000) Binding of tropomyosin-troponin to actin increases filament bending stiffness, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **276**(3), 1225–1228.
26. Watson, M.H., Kuhn, A.E., Novy, R.E., Lin, J.J., Mak, A.S. (1990) Caldesmon-binding sites on tropomyosin, *Journal of Biological Chemistry*, **265**(31), 18860–18866.
27. Maciver, S.K., Ternent, D., McLaughlin, P.J. (2000) Domain 2 of gelsolin binds directly to tropomyosin, *FEBS Letters*, **473**(1), 71–75.
28. Kostyukova, A.S., Choy, A., Rapp, B.A. (2006) Tropomodulin binds two tropomyosins: a novel model for actin filament capping, *Biochemistry*, **45**(39), 12068–12075.
29. Wawro, B., Greenfield, N.J., Wear, M.A., Cooper, J.A., Higgs, H.N., Hitchcock-DeGregori, S.E. (2007) Tropomyosin regulates elongation by formin at the fast-growing end of the actin filament, *Biochemistry*, **46**(27), 8146–8155.
30. Blanchoin, L., Pollard, T.D., Hitchcock-DeGregori, S.E. (2001) Inhibition of the Arp2/3 complex-nucleated actin polymerization and branch formation by tropomyosin, *Current Biology*, **11**(16), 1300–1304.
31. Ono, S., Ono, K. (2002) Tropomyosin inhibits ADF/cofilin-dependent actin filament dynamics, *Journal of Cell Biology*, **156**(6), 1065–1076.
32. Lees-Miller, J.P., Helfman, D.M. (1991) The molecular basis for tropomyosin isoform diversity, *Bioessays*, **13**(9), 429–437.
33. Geeves, M.A., Hitchcock-DeGregori, S.E., Gunning, P.W. (2015) A systematic nomenclature for mammalian tropomyosin isoforms, *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, **36**(2), 147–153.
34. Nevzorov, I.A., Levitsky, D.I. (2011) Tropomyosin: double helix from the protein world, *Biochemistry (Mosc.)*, **76**(13), 1507–1527.
35. Okumura, N., Hashida-Okumura, A., Kita, K., Matsubae, M., Matsubara, T., Takao, T., Nagai, K. (2005) Proteomic analysis of slow- and fast-twitch skeletal muscles, *Proteomics*, **5**(11), 2896–2906.
36. Oe, M., Ohnishi-Kameyama, M., Nakajima, I., Muroya, S., Chikuni, K. (2007) Muscle type specific expression of tropomyosin isoforms in bovine skeletal muscles, *Meat Science*, **75**(4), 558–563.
37. Janco, M., Suphamungmee, W., Li, X., Lehman, W., Lehrer, S.S., Geeves, M.A. (2013) Polymorphism in tropomyosin structure and function, *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, **34**(3-4), 177–187.
38. Muthuchamy, M., Pajak, L., Howles, P., Doetschman, T., Wieczorek, D.F. (1993) Developmental analysis of tropomyosin gene expression in embryonic stem cells and mouse embryos, *Molecular and Cellular Biology*, **13**(6), 3311–3323.
39. Muthuchamy, M., Grupp, I.L., Grupp, G., O'Toole, B.A., Kier, A.B., Boivin, G.P., Neumann, J., Wieczorek, D.F. (1995) Molecular and physiological effects of overexpressing striated muscle beta-tropomyosin in the adult murine heart, *Journal of Biological Chemistry*, **270**(51), 30593–30603.
40. Lehrer, S.S., W. F. Stafford, W.F. 3rd (1991) Preferential assembly

- of the tropomyosin heterodimer: equilibrium studies, *Biochemistry*, **30**(23), 5682–5688.
41. Hvidt, S., Lehrer, S.S. (1992) Thermally induced chain exchange of frog alpha beta-tropomyosin, *Biophysical Chemistry*, **45**(1), 51–59.
 42. Lehman, W., Vibert, P., Uman, P., Craig, R. (1995) Steric-blocking by tropomyosin visualized in relaxed vertebrate muscle thin filaments, *Journal of Molecular Biology*, **251**(2), 191–196.
 43. Xu, C., Craig, R., Tobacman, L., Horowitz, R., Lehman, W. (1999) Tropomyosin positions in regulated thin filaments revealed by cryoelectron microscopy, *Biophysical Journal*, **77**(2), 985–992.
 44. Behrmann, E., Muller, M., Penczek, P.A., Mannherz, H.G., Manstein, D.J., Raunser, S. (2012) Structure of the rigor actin-tropomyosin-myosin complex, *Cell*, **150**(2), 327–338.
 45. Robinson, J.M., Dong, W.J., Xing, J., Cheung, H.C. (2004) Switching of troponin I: Ca^{2+} and myosin-induced activation of heart muscle, *Journal of Molecular Biology*, **340**(2), 295–305.
 46. Maron, B.J., Gardin, J.M., Flack, J.M., Gidding, S.S., Kurosaki, T.T., Bild, D.E. (1995) Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in a general population of young adults. Echocardiographic analysis of 4111 subjects in the CARDIA study. Coronary artery risk development in (young) adults, *Circulation*, **92**(4), 785–789.
 47. Redwood, C., Robinson, P. (2013) Alpha-tropomyosin mutations in inherited cardiomyopathies, *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, **34**(3-4), 285–294.
 48. Watkins, H., Ashrafian, H., Redwood, C. (2011) Inherited cardiomyopathies, *The New England Journal of Medicine*, **364**(17), 1643–1656.
 49. Bing, W., Knott, A., Redwood, C., Esposito, G., Purcell, I., Watkins, H., Marston, S. (2000) Effect of hypertrophic cardiomyopathy mutations in human cardiac muscle alpha-tropomyosin (Asp175Asn and Glu180Gly) on the regulatory properties of human cardiac troponin determined by in vitro motility assay, *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, **32**(8), 1489–1498.
 50. Michele, D.E., Gomez, C.A., Hong, K.E., Westfall, M.V., Metzger, J.M. (2002) Cardiac dysfunction in hypertrophic cardiomyopathy mutant tropomyosin mice is transgene-dependent, hypertrophy-independent, and improved by beta-blockade, *Circulation Research*, **91**(3), 255–262.
 51. Heller, M.J., Nili, M., Homsher, E., Tobacman, L.S. (2003) Cardiomyopathic tropomyosin mutations that increase thin filament Ca^{2+} sensitivity and tropomyosin N-domain flexibility, *Journal of Biological Chemistry*, **278**(43), 41742–41748.
 52. Wang, F., Brunet, N.M., Grubich, J.R., Bienkiewicz, E.A., Asbury, T.M., Compton, L.A., Mihajlovic, G., Miller, V.F., Chase, P.B. (2011) Facilitated cross-bridge interactions with thin filaments by familial hypertrophic cardiomyopathy mutations in alpha-tropomyosin, *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, **2011**, 435271.
 53. Geisterfer-Lowrance, A.A., Kass, S., Tanigawa, G., Vosberg, H.P., McKenna, W., Seidman, C.E., Seidman, J.G. (1990) A molecular basis for familial hypertrophic cardiomyopathy: a beta cardiac myosin heavy chain gene missense mutation, *Cell*, **62**(5), 999–1006.
 54. Richard, P., Charron, P., Carrier, L., Ledeuil, C., Cheav, T., Pichereau, C., Benaiche, A., Isnard, R., Dubourg, O., Burban, M., Gueffet, J.P., Mil-laire, A., Desnos, M., Schwartz, K., Hainque, B., Komajda, M., Project, E.H.F. (2003) Hypertrophic cardiomyopathy: distribution of disease genes, spectrum of mutations, and

- implications for a molecular diagnosis strategy, *Circulation*, **107**(17), 2227–2232.
55. Jaaskelainen, P., Soranta, M., Miettinen, R., Saarinen, L., Pihlajamäki, J., Silvennoinen, K., Tikanoja, T., Laakso, M., Kuusisto, J. (1998) The cardiac beta-myosin heavy chain gene is not the predominant gene for hypertrophic cardiomyopathy in the Finnish population, *Journal of the American College of Cardiology*, **32**(6), 1709–1716.
 56. Tardiff, J.C. (2005) Sarcomeric proteins and familial hypertrophic cardiomyopathy: linking mutations in structural proteins to complex cardiovascular phenotypes, *Heart Failure Reviews*, **10**(3), 237–248.
 57. Jefferies, J.L., Towbin, J.A. (2010) Dilated cardiomyopathy, *Lancet*, **375**, 752–762.
 58. Dellefave, L., McNally, E.M. (2010) The genetics of dilated cardiomyopathy, *Current Opinion in Cardiology*, **25**(3), 198–204.
 59. Chang, A.N., Harada, K., Ackerman, M.J., Potter, J.D. (2005) Functional consequences of hypertrophic and dilated cardiomyopathy-causing mutations in alpha-tropomyosin, *Journal of Biological Chemistry*, **280**(40), 34343–34349.
 60. Lakdawala, N.K., Dellefave, L., Redwood, C.S., Sparks, E., Cirino, A.L., Depalma, S., Colan, S.D., Funke, B., Zimmerman, R.S., Robinson, P., Watkins, H., Seidman, C.E., Seidman, J.G., McNally, E.M., Ho, C.Y. (2010) Familial dilated cardiomyopathy caused by an alpha-tropomyosin mutation: the distinctive natural history of sarcomeric dilated cardiomyopathy, *Journal of the American College of Cardiology*, **55**(4), 320–329.
 61. Marston, S.B. (2011) How do mutations in contractile proteins cause the primary familial cardiomyopathies?, *Journal of Cardiovascular Translational Research*, **4**(3), 245–255.
 62. Rodriguez Cruz, P.M., Sewry, C., Beeson, D., Jayawant, S., Squier, W., McWilliam, R., Palace, J. (2014) Congenital myopathies with secondary neuromuscular transmission defects; a case report and review of the literature, *Neuromuscular Disorders*, **24**(12), 1103–1110.
 63. Tajsharghi, H., Ohlsson, M., Palm, L., Oldfors, A. (2012) Myopathies associated with beta-tropomyosin mutations, *Neuromuscular Disorders*, **22**(11), 923–933.
 64. Ochala, J. (2008) Thin filament proteins mutations associated with skeletal myopathies: defective regulation of muscle contraction, *Journal of Molecular Medicine*, **86**(11), 1197–1204.
 65. Marttila, M., Lehtokari, V.L., Marston, S., Nyman, T.A., Barnerias, C., Beggs, A.H., Bertini, E., Ceyhan-Birsoy, O., Cintas, P., Gerard, M., Gilbert-Dussardier, B., Hogue, J.S., Longman, C., Eymard, B., Frydman, M., Kang, P.B., Klinge, L., Kolski, H., Lochmuller, H., Magy, L., Manel, V., Mayer, M., Mercuri, E., North, K.N., Peudenier-Robert, S., Pihko, H., Probst, F.J., Reisin, R., Stewart, W., Taratuto, A.L., de Visser, M., Wilichowski, E., Winer, J., Nowak, K., Laing, N.G., Winder, T.L., Monnier, N., Clarke, N.F., Pelin, K., Gronholm, M., Wallgren-Pettersson, C. (2014) Mutation update and genotype-phenotype correlations of novel and previously described mutations in TPM2 and TPM3 causing congenital myopathies, *Human Mutation*, **35**(7), 779–790.
 66. Abicht, A., Dusl, M., Gallenmuller, C., Guergueltcheva, V., Schara, U., Della Marina, A., Wibbeler, E., Almaras, S., Mihaylova, V., von der Hagen, M., Huebner, A., Chaouch, A., Muller, J.S., Lochmuller, H. (2012) Congenital myasthenic syndromes: achievements and limitations of phenotype-guided gene-after-gene sequencing in diagnostic practice: a

- study of 680 patients, *Human Mutation*, **33**(10), 1474–1484.
67. Finlayson, S., Beeson, D., Palace, J. (2013) Congenital myasthenic syndromes: an update, *Practical Neurology*, **13**(2), 80–91.
 68. Orzechowski, M., Fischer, S., Moore, J.R., Lehman, W., Farman, G.P. (2014) Energy landscapes reveal the myopathic effects of tropomyosin mutations, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **564**: 89–99.
 69. Kremneva, E., Boussouf, S., Nikolaeva, O., Maytum, R., Geeves, M.A., Levitsky, D.I. (2004) Effects of two familial hypertrophic cardiomyopathy mutations in alpha-tropomyosin, Asp175Asn and Glu180Gly, on the thermal unfolding of actin-bound tropomyosin, *Biophysical Journal*, **87**(6), 3922–3933.
 70. Marston, S., Memo, M., Messer, A., Papadaki, M., Nowak, K., McNamara, E., Ong, R., El-Mezgueldi, M., Li, X., Lehman, W. (2013) Mutations in repeating structural motifs of tropomyosin cause gain of function in skeletal muscle myopathy patients, *Human Molecular Genetics*, **22**(24), 4978–4987.
 71. Gupte, T.M., Haque, F., Gangadharan, B., Sunitha, M.S., Mukherjee, S., Anandhan, S., Rani, D.S., Mukundan, N., Jambekar, A., Thangaraj, K., Sowdhamini, R., Sommese, R.F., Nag, S., Spudich, J.A., Mercer, J.A. (2015) Mechanistic heterogeneity in contractile properties of alpha-tropomyosin (TPM1) mutants associated with inherited cardiomyopathies, *Journal of Biological Chemistry*, **290**(11), 7003–7015.
 72. Matyushenko, A.M., Shchepkin, D.V., Kopylova, G.V., Popruga, K.E., Artemova, N.V., Pivovarova, A.V., Bershitsky, S.Y., Levitsky, D.I. (2017) Structural and functional effects of cardiomyopathy-causing mutations in the troponin T-binding region of cardiac tropomyosin, *Biochemistry*, **56**(1), 250–259.
 73. Farman, G.P., Rynkiewicz, M.J., Orzechowski, M., Lehman, W., Moore, J.R. (2018) HCM and DCM cardiomyopathy-linked alpha-tropomyosin mutations influence off-state stability and crossbridge interaction on thin filaments, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **647**, 84–92.
 74. Hinkle, A., Tobacman, L.S. (2003) Folding and function of the troponin tail domain. Effects of cardiomyopathic troponin T mutations, *Journal of Biological Chemistry*, **278**(1), 506–513.
 75. Jagatheesan, G., Rajan, S., Petrashevskaya, N., Schwartz, A., Boivin, G., Arteaga, G., de Tombe, P.P., Solaro, R.J., Wieczorek, D.F. (2004) Physiological significance of troponin T binding domains in striated muscle tropomyosin, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **287**(4), H1484–1494.
 76. Moore, R.K., Abdullah, S., Tardiff, J.C. (2014) Allosteric effects of cardiac troponin TNT1 mutations on actomyosin binding: a novel pathogenic mechanism for hypertrophic cardiomyopathy, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **552–553**, 21–28.
 77. Gangadharan, B., Sunitha, M.S., Mukherjee, S., Chowdhury, R.R., Haque, F., Sekar, N., Sowdhamini, R., Spudich, J.A., Mercer, J.A. (2017) Molecular mechanisms and structural features of cardiomyopathy-causing troponin T mutants in the tropomyosin overlap region, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **114**(42), 11115–11120.
 78. McConnell, M., Tal Grinspan, L., Williams, M.R., Lynn, M.L., Schwartz, B.A., Fass, O.Z., Schwartz, S.D., Tardiff, J.C. (2017) Clinically divergent mutation effects on the structure and function of the human cardiac tropomyosin overlap, *Biochemistry*, **56**(26), 3403–3413.
 79. Abdullah, S., Lynn, M.L., McConnell, M.T., Klass, M.M., Baldo, A.P.,

- Schwartz, S.D., Tardiff, J.C. (2019) FRET-based analysis of the cardiac troponin T linker region reveals the structural basis of the hypertrophic cardiomyopathy-causing $\Delta 160E$ mutation, *Journal of Biological Chemistry*, doi: 10.1074/jbc.RA118.005098
80. Heeley, D.H., Golosinska, K., Smillie, L.B. (1987) The effects of troponin T fragments T1 and T2 on the binding of nonpolymerizable tropomyosin to F-actin in the presence and absence of troponin I and troponin C, *Journal of Biological Chemistry*, **262**(21), 9971–9978.
 81. Palm, T., Graboski, S., Hitchcock-DeGregori, S.E., Greenfield, N.J. (2001), Disease-causing mutations in cardiac troponin T: identification of a critical tropomyosin-binding region, *Biophysical Journal*, **81**(5), 2827–2837.
 82. Jin, J.P., Chong, S.M. (2010) Localization of the two tropomyosin-binding sites of troponin T, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **500**(2), 144–150.
 83. Regitz-Zagrosek, V., Erdmann, J., Wellnhofer, E., Raible, J., Fleck, E. (2000) Novel mutation in the alpha-tropomyosin gene and transition from hypertrophic to hypocontractile dilated cardiomyopathy, *Circulation*, **102**(17), E112–116.
 84. Sequeira, V., Wijnker, P.J., Nienkamp, L.L., Kuster, D.W., Najafi, A., Witjas-Paalberends, E.R., Regan, J.A., Boontje, N., Ten Cate, F.J., Germans, T., Carrier, L., Sadayappan, S., van Slegtenhorst, M.A., Zaremba, R., Foster, D.B., Murphy, A.M., Poggesi, C., Dos Remedios, C., Stienen, G.J., Ho, C.Y., Michels, M., van der Velden, J. (2013) Perturbed length-dependent activation in human hypertrophic cardiomyopathy with missense sarcomeric gene mutations, *Circulation Research*, **112**(11), 1491–1505.
 85. Lehrer, S.S., Geeves, M.A. (2014) The myosin-activated thin filament regulatory state, M(-)-open: a link to hypertrophic cardiomyopathy (HCM), *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, **35**(2), 153–160.
 86. Lang, R., Gomes, A.V., Zhao, J., Housmans, P.R., Miller, T., Potter, J.D. (2002) Functional analysis of a troponin I (R145G) mutation associated with familial hypertrophic cardiomyopathy, *Journal of Biological Chemistry*, **277**(14), 11670–11678.
 87. Kobayashi, T., Solaro, R.J. (2006) Increased Ca^{2+} affinity of cardiac thin filaments reconstituted with cardiomyopathy-related mutant cardiac troponin I, *Journal of Biological Chemistry*, **281**(19), 13471–13477.
 88. Boussouf, S.E., Maytum, R., Jaquet, K., Geeves, M.A. (2007) Role of tropomyosin isoforms in the calcium sensitivity of striated muscle thin filaments, *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, **28**(1), 49–58.
 89. Ly, S., Lehrer, S.S. (2012) Long-range effects of familial hypertrophic cardiomyopathy mutations E180G and D175N on the properties of tropomyosin, *Biochemistry*, **51**(32), 6413–6420.
 90. Deranek, A.E., Klass, M.M., Tardiff, J.C. (2019) Moving beyond simple answers to complex disorders in sarcomeric cardiomyopathies: the role of integrated systems, *Pflügers Archiv*, **471**(5), 661–671.
 91. Greenfield, N.J., Fowler, V.M. (2002) Tropomyosin requires an intact N-terminal coiled coil to interact with tropomodulin, *Biophysical Journal*, **82**(5), 2580–2591.
 92. Colpan, M., Moroz, N.A., Gray, K.T., Cooper, D.A., Diaz, C.A., Kostyukova, A.S. (2016) Tropomyosin-binding properties modulate competition between tropomodulin isoforms, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **600**, 23–32.
 93. Colpan, M., Ly, T., Grover, S., Tolkatheev, D., Kostyukova, A.S. (2017)

- The cardiomyopathy-associated K15N mutation in tropomyosin alters actin filament pointed end dynamics, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **630**, 18–26.
94. Ly, T., Pappas, C.T., D. Johnson, D., Schlecht, W., Colpan, M., Galkin, V.E., Gregorio, C.C., Dong, W.J., Kostyukova, A.S. (2019) Effects of cardiomyopathy-linked mutations K15N and R21H in tropomyosin on thin-filament regulation and pointed-end dynamics, *Molecular Biology of the Cell*, **30**(2), 268–281.
 95. Moraczewska, J. (2019) Thin filament dysfunctions caused by mutations in tropomyosin Tpm3.12 and Tpm1.1, *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, <https://doi.org/10.1007/s10974-019-09532-y>
 96. Clarke, N.F., Waddell, L.B., Sie, L.T., van Bon, B.W., McLean, C., Clark, D., Kornberg, A., Lammens, M., North, K.N. (2012) Mutations in TPM2 and congenital fibre type disproportion, *Neuromuscular Disorders*, **22**(11), 955–958.
 97. Marttila, M., Lemola, E., Wallefeld, W., Memo, M., Donner, K., Laing, N.G., Marston, S., Gronholm, M., Wallgren-Pettersson, C. (2012) Abnormal actin binding of aberrant beta-tropomyosins is a molecular cause of muscle weakness in TPM2-related nemaline and cap myopathy, *Biochemical Journal*, **442**(1), 231–239.
 98. Robaszkiewicz, K., Dudek, E., Kasprzak, A.A., Moraczewska, J. (2012) Functional effects of congenital myopathy-related mutations in gamma-tropomyosin gene, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1822**(10), 1562–1569.
 99. Memo, M., Marston, S. (2013) Skeletal muscle myopathy mutations at the actin tropomyosin interface that cause gain- or loss-of-function, *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, **34**(3–4), 165–169.
 100. Karpicheva, O.E., Simonyan, A.O., Kuleva, N.V., Redwood, C.S., Borovikov, Y.S. (2016) Myopathy-causing Q147P TPM2 mutation shifts tropomyosin strands further towards the open position and increases the proportion of strong-binding cross-bridges during the ATPase cycle, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1864**(3), 260–267.
 101. Borovikov, Y.S., Rysev, N.A., Karpicheva, O.E., Sirenko, V.V., Avrova, S.V., Piers, A., Redwood, C.S. (2017) Molecular mechanisms of dysfunction of muscle fibres associated with Glu139 deletion in TPM2 gene, *Scientific Reports*, **7**(1), 16797.
 102. Borovikov, Y.S., Karpicheva, O.E., Simonyan, A.O., Avrova, S.V., Rogozovets, E.A., Sirenko, V.V., Redwood, C.S. (2018) The primary causes of muscle dysfunction associated with the point mutations in Tpm3.12; conformational analysis of mutant proteins as a tool for classification of myopathies, *International Journal of Molecular Sciences*, **19**(12), 3975; doi:10.3390/ijms19123975
 103. Avrova, S. V., Karpicheva, O.E., Simonyan, A.O., Sirenko, V.V., Redwood, C.S., Borovikov, Y.S. (2019), The molecular mechanisms of a high Ca²⁺-sensitivity and muscle weakness associated with the Ala155Thr substitution in Tpm3.12, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **515**(2), 372–377.
 104. Kostyukova, A.S. (2007) Leiomodion/tropomyosin interactions are isoform specific, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **465**(1), 227–230.
 105. Kostyukova, A.S., Hitchcock-Degregori, S.E., Greenfield, N.J. (2007) Molecular basis of tropomyosin binding to tropomodulin, an actin-capping protein, *Journal of Molecular Biology*, **372**(3), 608–618.

106. Ilkovski, B., Mokbel, N., Lewis, R.A., Walker, K., Nowak, K.J., Domazetovska, A., Laing, N.G., Fowler, V.M., North, K.N., Cooper, S.T. (2008) Disease severity and thin filament regulation in M9R TPM3 nemaline myopathy, *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, **67**(9), 867–877.
107. Moraczewska, J., Robaszkiewicz, K., Sliwinska, M., Czajkowska, M., Ly, T., Kostyukova, A., Wen, H., Zheng, W. (2019) Congenital myopathy-related mutations in tropomyosin disrupt regulatory function through altered actin affinity and tropomodulin binding, *FEBS Journal*, **286**(10), 1877–1893.
108. Ochala, J., Lehtokari, V.L., Iwamoto, H., Li, M., Feng, H.Z., Jin, J.P., Yagi, N., Wallgren-Pettersson, C., Penisson-Besnier, I., Larsson, L. (2011) Disrupted myosin cross-bridge cycling kinetics triggers muscle weakness in nebulin-related myopathy, *FASEB J.*, **25**(6), 1903–1913.
109. Kiss, B., Lee, E.J., Ma, W., Li, F.W., Tonino, P., Mijailovich, S.M., Irving, T.C., Granzier, H.L. (2018) Nebulin stiffens the thin filament and augments cross-bridge interaction in skeletal muscle, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **115**(41), 10369–10374.
110. Marttila, M., Hanif, M., Lemola, E., Nowak, K.J., Laitila, J., Gronholm, M., Wallgren-Pettersson, C., Pelin, K. (2014) Nebulin interactions with actin and tropomyosin are altered by disease-causing mutations, *Skeletal Muscle*, **4**, 15. doi: 10.1186/2044-5040-4-15
111. Loong, C.K., Badr, M.A., Chase, P.B. (2012) Tropomyosin flexural rigidity and single Ca^{2+} regulatory unit dynamics: implications for cooperative regulation of cardiac muscle contraction and cardiomyocyte hypertrophy, *Frontiers in Physiology*, **3**, 80. doi: 10.3389/fphys.2012.00080
112. Prabhakar, R., Boivin, G.P., Grupp, I.L., Hoit, B., Arteaga, G., Solaro, R.J., Wieczorek, D.F. (2001) A familial hypertrophic cardiomyopathy alpha-tropomyosin mutation causes severe cardiac hypertrophy and death in mice, *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, **33**(10), 1815–1828.
113. Burkart, E.M., Arteaga, G.M., Sumandea, M.P., Prabhakar, R., Wieczorek, D.F., Solaro, R.J. (2003) Altered signaling surrounding the C-lobe of cardiac troponin C in myofilaments containing an alpha-tropomyosin mutation linked to familial hypertrophic cardiomyopathy, *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, **35**(10), 1285–1293.
114. Nevzorov, I., Redwood, C., Levitsky, D. (2008) Stability of two beta-tropomyosin isoforms: effects of mutation Arg91Gly, *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, **29**(6-8), 173–176.
115. Borovikov, Y.S., Avrova, S.V., Rysev, N.A., Sirenko, V.V., Simonyan, A.O., Chernev, A.A., Karpicheva, O.E., Piers, A., Redwood, C.S. (2015) Aberrant movement of beta-tropomyosin associated with congenital myopathy causes defective response of myosin heads and actin during the ATPase cycle, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **577-578**, 11–23.
116. Akkari, P.A., Song, Y., Hitchcock-DeGregori, S., Blechynden, L., Laing, N. (2002) Expression and biological activity of Baculovirus generated wild-type human slow alpha tropomyosin and the Met9Arg mutant responsible for a dominant form of nemaline myopathy, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **296**(2), 300–304.

117. Kalyva, A., Schmidtman, A., Geeves, M.A. (2012) In vitro formation and characterization of the skeletal muscle alpha.beta tropomyosin heterodimers, *Biochemistry*, **51**(32), 6388–6399.
118. Perry, S.V. (2001) Vertebrate tropomyosin: distribution, properties and function, *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, **22**(1), 5–49.
119. Matyushenko, A.M., Kleymenov, S.Y., Susorov, D.S., Levitsky, D.I. (2018) Thermal unfolding of homodimers and heterodimers of different skeletal-muscle isoforms of tropomyosin, *Biophysical Chemistry*, **243**, 1–7.
120. Lehrer, S.S., Joseph, D. (1987) Differences in local conformation around cysteine residues in alpha alpha, alpha beta, and beta beta rabbit skeletal tropomyosin, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **256**(1), 1–9.
121. Bronson, D.D., Schachat, F.H. (1982) Heterogeneity of contractile proteins. Differences in tropomyosin in fast, mixed, and slow skeletal muscles of the rabbit, *Journal of Biological Chemistry*, **257**(7), 3937–3944.
122. Bicer, S., Reiser, P.J. (2013) Complex tropomyosin and troponin T isoform expression patterns in orbital and global fibers of adult dog and rat extraocular muscles, *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, **34**(3-4), 211–231.
123. Lehrer, S.S. (1975) Intramolecular crosslinking of tropomyosin via disulfide bond formation: evidence for chain register, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **72**(9), 3377–3381.
124. Bershitsky, S.Y., Logvinova, D.S., Shchepkin, D.V., Kopylova, G.V., Matyushenko, A.M. (2019) Myopathic mutations in the beta-chain of tropomyosin differently affect the structural and functional properties of $\beta\beta$ - and $\alpha\beta$ -dimers. *FASEB Journal*, **33**(2), 1963–1971.
125. Matyushenko, A.M., Shchepkin, D.V., Susorov, D.S., Nefedova, V.V., Kopylova, G.V., Berg, V.Y., Kleymenov, S.Y., Levitsky, D.I. (2019) Structural and functional properties of $\alpha\beta$ -heterodimers of tropomyosin with myopathic mutations Q147P and K49del in the β -chain, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **508**(3), 934–939.
126. Janco, M., Kalyva, A., Scellini, B., Piroddi, N., Tesi, C., Poggesi, C., Geeves, M.A. (2012) α -Tropomyosin with a D175N or E180G mutation in only one chain differs from tropomyosin with mutations in both chains, *Biochemistry*, **51**(49), 9880–9890.