

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-337

**БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ НАРУШЕНИЙ В РЕГУЛЯЦИИ РАБОТЫ ТОНКОЙ НИТИ,
ВЫЗВАННЫХ МУТАЦИЯМИ В ГЕНЕ *TPM1******BIOCHEMICAL ASPECTS OF THIN FILAMENT DYSFUNCTIONS CAUSED
BY MUTATIONS IN THE *TPM1* GENE**К. К. Лапшина^{1,2}, В. В. Нефёдова²¹Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова²ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, МоскваК. К. Lapshina^{1,2}, V. V. Nefedova²¹Lomonosov Moscow State University²Federal Research Centre "Fundamentals of Biotechnology" RAS, Moscow

✉ lapshina.2003@gmail.com

Аннотация

В работе исследовано влияние замен L57P, I92M и E97Q на свойства сердечного тропомиозина Tpm1.1. L57P приводила к изменениям в структуре Трм, снижала его сродство к F-актину и увеличивала чувствительность тонких нитей к Ca^{2+} . I92M и E97Q изменяли регуляторную функцию тонкого филамента, без выраженных изменений структуры. Полученные эффекты могут коррелировать с развитием патогенного фенотипа.

Abstract

The effect of mutations L57P, I92M and E97Q on the functions of cardiac tropomyosin Tpm1.1 was investigated. L57P led to changes in the structure of Tpm, reduced its affinity for F-actin, and increased the sensitivity of thin filaments to Ca^{2+} . I92M and E97Q changed the regulatory function of the thin filament, without significant structural changes. The effects obtained may correlate with the development of a pathogenic phenotype.

Кардиомиопатии — это заболевания миокарда, ведущие к нарушению его сократительной функции. Самыми распространенными типами такой патологии являются дилатационная и гипертрофическая кардиомиопатии. Одним из возможных молекулярных механизмов развития заболевания считаются точечные мутации в гене *TPM1*, кодирующем сердечную изоформу тропомиозина Tpm1.1. Этот *coiled-coil* белок связывается с фибриллярным актином (F-актином) и играет ключевую роль в Ca^{2+} -зависимой регуляции мышечного сокращения. Структурные дефекты Tpm1.1 способны дестабилизировать тонкую нить, нарушая работу сократительного аппарата.

В работе были проанализированы новые мутации в гене *TPM1*, приводящие к заменам L57P, I92M и E97Q, упомянутые в базе *ClinVar* как варианты с неопределенной патогенностью. I92M и L57P затрагивают положение суперспирали, критически важное для стабилизации гидрофобного кора. Согласно данным *ClinVar*, I92M может быть связана с дилатационной, а L57P — с гипертрофической кардиомиопатией.

Функциональные последствия мутаций оценивали в искусственной подвижной системе (ИПС), включающей F-актин, сердечный миозин и Трм, а также тропониновый комплекс (Тн), который связывает ионы Ca^{2+} . Было установлено, что замена L57P увеличивает чувствительность к Ca^{2+} и повышает максимальную скорость движения тонких нитей, что может свидетельствовать о гипертрофическом фенотипе и нарушении расслабления сердечной мышцы. В случае мутации E97Q чувствительность к Ca^{2+} также возрастала, но скорость нитей оставалась на уровне контрольного препарата; при этом движение не прекращалось даже при низкой концентрации Ca^{2+} . Напротив, для I92M скорость скольжения существенно снижалась, несмотря на нормальную чувствительность, а реакция на изменение концентрации Ca^{2+} была замедлена.

Для выяснения молекулярных основ выявленных эффектов были проведены биохимические исследования. Аффинность мутантов к F-актину оценивали методом соосаждения. Константы полунасыщения актиновых филаментов ($K_{50\%}$) вариантами Tpm1.1 I92M и E97Q не отличались от дикого типа (WT) ($1,71 \pm 0,13$ мкМ), тогда как Tpm1.1 L57P обеспечивал лишь 25 % насыщения при тех же условиях. Это указывает на существенное снижение сродства к F-актину и может приводить к нарушению регуляторной функции.

Анализ стабильности комплекса Трм — F-актин показал, что L57P диссоциирует при 36 °C — температуре, совпадающей с физиологической. Остальные варианты сохраняли стабильность, сравнимую с WT. По дан-

* Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 22-14-00059-П).

© К. К. Лапшина, В. В. Нефёдова, 2025

ным дифференциальной сканирующей калориметрии, у варианта L57P исчезает высокотемпературный калориметрический домен (участок молекулы, денатурирующий независимо от других), что указывает на серьезные изменения в структуре молекулы.

Вариант L57P, проявивший наибольшие структурно-функциональные изменения относительно Trm WT, был подвергнут ограниченному протеолизу трипсином. Помимо сайта расщепления в районе центрального Arg133 (длина Trm1.1 составляет 284 а. о.), характерного для WT, у L57P были идентифицированы и другие участки, находящиеся в N-концевой части молекулы. Это указывает на локальное нарушение упаковки *coiled-coil* и повышенную подвижность ранее плотно упакованных участков, что может также ослаблять взаимодействие Trm с F-актином.

С учетом влияния Tn на поведение Trm в ИПС дополнительно протестировали фрагмент тропонина T TnT₁₋₁₅₈ на способность стабилизировать комплекс Trm1.1 L57P — F-актин. Температура диссоциации трехкомпонентных комплексов повышалась, но оставалась ниже таковой в комплексе с WT, что указывает на ограниченные компенсаторные возможности TnT.

Полученные данные указывают на то, что точечные замены в Trm1.1 по-разному влияют на его структуру, стабильность и регуляторные свойства. Варианты I92M и E97Q влияли на подвижность тонких нитей, но для них не было выявлено прочих структурно-функциональных изменений. Напротив, структурно-функциональные эффекты замены L57P были обнаружены во всех проведенных экспериментах. Данная мутация потенциально способна нарушать расслабление сердечной мышцы и способствовать развитию гипертрофической кардиомиопатии. Используемые *in vitro* подходы позволяют на молекулярном уровне оценивать функциональные последствия клинически значимых замен и могут служить основой для разработки целевых терапевтических стратегий.