

Структурно-функциональные свойства изоформ тропомиозина, участвующих в онкотрансформации

Логвинов А.С.¹, Нефёдова В.В.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биоорганической химии, Москва, Россия, *E-mail: globulin992@gmail.com*; 2 - Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия, *E-mail: viktoriya-neff@mail.ru*

Тропомиозин (Трм) — это актин-связывающий белок, регулирующий функции актинового филамента. Трм во многом определяет функционирование актинового цитоскелета и участвует в регуляции клеточного транспорта, цитокинезе и клеточной миграции. В различных тканях человека экспрессируется около 30 изоформ Трм.

Принимая во внимание важность Трм в функциях клетки, неудивительно, что он участвует в патогенезе множества заболеваний. При раке мочевого пузыря, почек, груди и тканях нейронов показано изменение изоформного состава Трм. Эти перестройки напрямую влияют на устройство актинового филамента, на его взаимодействие с белками партнерами и ведут к злокачественным трансформациям. В нашей работе были получены структурно-функциональные данные взаимодействия между актиновым филаментом и изоформами тропомиозина, характерными для раковых перерождений.

Структурные исследования мы проводили методами ограниченного протеолиза с трипсином, кругового дихроизма (КД), дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК). Для функциональных исследований использовали метод соосаждения тропомиозина с F-актином, а также метод регистрации светорассеяния для определения температуры диссоциации Трм с поверхности F-актина. Способность Трм к формированию протяженного филамента оценивали, измеряя вязкость растворов Трм. Мы также определили влияние изоформ Трм на функции кофилина-1.

В своей работе мы охарактеризовали структурные и функциональные свойства изоформ Трм1.6, Трм2.1, Трм 2.2, Трм3.1, Трм4.1 и Трм4.2. На основе данных КД и ДСК изоформы разделились на две группы. В первую группу мы отнесли изоформы с низкой термостабильностью. Температурный переход на кривых плавления для них был в районе 41,9 °С для Трм2.1, 42 °С для Трм4.1, и 40,7 °С для Трм2.2. В эту же группу была отнесена изоформа Трм 1.6 с максимумом плавления C-концевой части тропомиозина в районе 41 °С. Остальные изоформы (Трм3.1 и Трм4.2) имели большую стабильность. Изоформы Трм, обладающие меньшей стабильностью, показывали более высокую аффинность Трм к актину. Наибольшей аффинностью обладали Трм2.2 и Трм1.6 с константой полунасыщения 0,33 и 0,45 мкМ, соответственно. Наименьшей аффинностью обладал Трм3.1 с константой полунасыщения 2,61 мкМ. Стабильность комплексов, наоборот, была в прямой зависимости от стабильности молекул. Наибольшей стабильностью комплексов обладала изоформа Трм4.2, с температурой диссоциации 50 °С. В экспериментах по разборке актинового филамента под действием кофилина-1, часть изоформ ускоряла этот процесс, а часть ингибировала. Так, Трм1.6 практически предотвращал разборку, а Трм4.2 наоборот ускорял.

Полученные данные свидетельствуют о существенных различиях в структурно-функциональных свойствах изученных изоформ Трм. Они во многом определяют характеристики актинового филамента и могут лежать в основе регуляции взаимодействия актина со своими белками партнерами, что играет важную роль в раковой трансформации клеток и метастазировании.

Работа поддержана грантом Президента МК-5708.2021.1.4.