

ГИПЕРТИРЕОЗИС ПОДАВЛЯЕТ СПОСОБНОСТЬ АКТИНА ФОРМИРОВАТЬ С МИОЗИНОМ СИЛЬНУЮ ФОРМУ СВЯЗЫВАНИЯ

© В. П. Кириллина,^{1,*} А. Якубец-Пука,² Ю. С. Боровиков¹

¹ Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия
 и ² Институт экспериментальной биологии Ненцкого, Варшава, Польша;
 * электронный адрес: kirill@mail.cytspb.rssi.ru

Используя метод поляризационной флуориметрии, изучали влияние развития (в течение 2—4 нед) гипертреозиса, вызванного повышением уровня тироидных гормонов в организме крыс, на ориентацию и подвижность флуоресцентной метки 1.5-IAEDANS (N -(iodoacetyl)-(1-naphtyl-5-sulpho-ethylenediamine)), специфически связанной с Cys-374 актина, в теневых мышечных волокнах, полученных из быстрых и медленных мышц крыс, в отсутствие и в присутствии субфрагмента 1 миозина (C1). Обнаружено, что присоединение C1 к F-актину теневого мышечного волокна вызывает типичные для формирования сильной формы связывания актомиозина изменения в ориентации и подвижности диполей флуоресцентного зонда, прикрепленного к субдомену-1 актина. Развитие гипертреозиса существенно ингибирует этот эффект. Наибольшее влияние гипертреозиса обнаружено на 21-е сут развития болезни. Предполагается, что одной из причин ослабления сократительной функции мышц при гипертреозисе является ингибирование формирования между актином и миозином существенной для генерации силы сильной формы связывания.

Ключевые слова: F-актин, конформационные изменения актина, мышечное сокращение, гипертреозис, поляризация флуоресценции.

Известно, что генерация силы актомиозином осуществляется при переходе от слабой к сильной форме связывания миозина с актином (Geeves, Holmes, 2005). При сильной форме связывания обнаруживаются высокое сродство миозина к актину, медленная кинетика присоединения и отсоединения головок миозина от тонких нитей (Lynn, Taylor, 1971) и способность головок миозина к кооперативной активации актиновой нити (Bremel, Weber, 1972; Marston, 1982; Geeves, 1991). В противоположность этому слабая форма связывания характеризуется низким сродством миозина к актину, быстрой кинетикой присоединения и отсоединения головки миозина от актина (Lynn, Taylor, 1971) и отсутствием кооперативной активации регулируемых нитей актина (Chalovich et al., 1983). Сильная и слабая формы связывания сопровождаются конформационными перестройками миозина и актина (см., например, обзор: Cooke, 1997).

Ранее было показано, что формирование сильной формы связывания миозина с F-актином вызывает изменение гибкости актиновых нитей (Yanagida, Oosawa, 1978; Prochniewicz-Nakajama et al., 1983; Kirillina, Borovikov, 1992) и инициирует внутримолекулярные движения некоторых областей (субдоменов) актина (Borovikov et al., 1991b; Borovikov, 1992, 1999; Egelman, Orlova, 1995). Выявлены также зависимые от нуклеотида движения субдомена-1 F-актина при моделировании разных стадий цикла гидролиза АТФ (Borovikov et al., 2004, 2009).

Было установлено, что нарушение сократительной функции мышц при развитии таких патологических процессов, как денервационная атрофия, гипертрофия и обез-

движивание мышц (перерезка сухожилий) (Боровиков и др., 1977, 1981, 1982; Szczepanowska et al., 1987; Ciechom-ska et al., 1998; Jakubiec-Puka et al., 1998; Кириллина и др., 2006), а также при моделировании состояний мышц, близких к патологическому, например при высокочастотной электростимуляции мышц (Borovikov, Kirillina, 1992) или при гипотреозисе (Кириллина и др., 2009), сопровождается изменением характера конформационных перестроек актина, происходящих при моделировании формирования в мышечном волокне существенной для генерации силы сильной формы связывания миозина с актином.

Кроме того, было показано, что повышение уровня тироидных гормонов в организме крыс (гипертреозис) оказывает существенное влияние на ряд функциональных свойств мышц (Jakubiec-Puka et al., 1990, 1992, 1998; Caiozzo, Herrick, 1991). Так, оказалось, что развитие гипертреозиса влияет на скорость мышечного сокращения, приводит к увеличению количества медленных мышечных волокон, изменяет синтез изоформ миозина и АТФазную активность миофibrилл (Wiles et al., 1979; Nwoye, Mommaerts, 1981; Elzinga et al., 1987; Leijendekker, van Harde-veld, 1987; Caiozzo, Herric, 1991; Weigel, 1996; Jakubiec-Puka et al., 1998; Toft, Boon, 2000). Однако молекулярные механизмы, лежащие в основе изменения сократительных свойств мышц при гипертреозисе, до сих пор остаются неясными.

В настоящей работе с помощью метода поляризационной флуориметрии обнаружено влияние повышения уровня тироидных гормонов в организме крыс (гипертре-

реозис) на способность F-актина формировать с миозином существенную для генерации силы сильную форму связывания. Полученные данные позволяют предположить, что развитие гипертреозиса вызывает такие изменения конформационного состояния F-актина, которые приводят к ослаблению способности этого белка формировать с миозином существенную для генерации силы сильную форму связывания.

Материал и методика

Получение моделей мышечных волокон. В работе использовали самцов крыс линии Wistar в возрасте 2—3 мес массой 150—170 г. Гипертреозис вызывали подкожными инъекциями животным в брюшную полость тиронина по 100 мг ежедневно в течение 1, 2 и 3 нед (Jakubiec-Puka et al., 1998). Затем животных декапитировали, изолировали медленные скелетные мышцы *m. soleus* (SOL) и быстрые *m. extensor digitorum longus* (EDL) (Jakubiec-Puka et al., 1998) и затем мышцы глицинеринизировали, как было описано ранее (Szent-Gyorgy, 1949). Белки толстых нитей, тропомиозин и тропонин удаляли инкубацией одиночных глицинеринизированных мышечных волокон в течение 1.5 ч в растворе, содержащем 0.8 М KCl, 1 мМ MgCl₂, 10 мМ ATP и 67 мМ фосфатный буфер, pH 7.0 (Кириллина и др., 1979; Borovikov, Gusev, 1983). Полученные теневые мышечные волокна состояли более чем на 80 % из фибрillлярного актина (Кириллина и др., 1979). Модификацию F-актина флуоресцентным зондом 1.5-IAEDANS (*N*-(iodoacethyl)-(1-naphtyl-5-sulpho-ethylenediamine)) осуществляли инкубацией одиночного волокна в течение 1 ч в растворе, содержащем 100 мкМ 1.5-IAEDANS, 60 мМ KCl, 1 мМ MgCl₂ и 25 мМ Трис-НС1, pH 8.0 (Боровиков и др., 1988). Несвязавшийся краситель удаляли тем же раствором, не содержащим флуоресцентного красителя. Белковый состав мышечного волокна и специфичность модификации актина флуоресцентным зондом определяли с помощью электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия (Laemmli, 1970) при сканировании гелей. Для всех волокон обнаружена флуоресценция только F-актина. Молярное отношение красителя к актину составляло 0.8 : 1.0.

Получение субфрагмента-1 миозина. Субфрагмент 1 (C1) миозина получали перевариванием скелетного миозина кролика α -химотрипсином в течение 10 мин при 25 °C (Okamoto, Sekine, 1985). Связывание C1 с F-актином осуществляли инкубацией теневого волокна в стандартном растворе (A), содержащем 10 мМ KCl, 3 мМ MgCl₂, 1 мМ DTT, 6.7 мМ фосфатного буфера, pH 7.0, и 1.0—2.5 мг/мл C1. Несвязавшийся белок отмывали раствором A в течение 30 мин при комнатной температуре. Молярное отношение C1 к актину составляло 1 : 5.

Измерение поляризованной флуоресценции F-актина. Поляризованную флуоресценцию 1.5-IAEDANS возбуждали светом длиной волны 365 ± 5 нм и регистрировали в области 480—550 нм. Измерения осуществляли до и после декорирования тонких нитей C1. В присутствии C1 моделировали сильную форму связывания миозина с актином.

Четыре значения интенсивности (I) поляризованной флуоресценции мышечного волокна регистрировали при ориентации волокна параллельно (I_{\parallel} , I_{\perp}) и перпендику-

лярно ($I_{\perp\perp}$, $I_{\parallel\perp}$) плоскости поляризации возбуждающего света. Отношения поляризации флуоресценции определяли как

$$P_{\parallel} = (I_{\parallel} - I_{\perp}) / (I_{\parallel} + I_{\perp});$$

$$P_{\perp} = (I_{\perp\perp} - I_{\parallel\perp}) / (I_{\perp\perp} + I_{\parallel\perp}).$$

Экспериментальные данные анализировали с помощью модельзависимого метода (Tregear, Mendelson, 1975; Kakkol et al., 1987; Borovikov et al., 2004). Принимали, что в F-актине теневого мышечного волокна имеется фракция хаотически расположенных флуорофоров (N) и фракция флуорофоров (1 – N), расположенных по спирали, где углы ориентации осцилляторов поглощения и излучения относительно оси волокна образуют углы Φ_A и Φ_E соответственно. Поскольку во всех экспериментах характер изменения величин Φ_A и Φ_E аналогичен, в таблице и на рисунках представлены только значения Φ_A . Статистическую достоверность изменений оценивали с помощью t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Ранее было показано, что присоединение 1.5-IAEDANS к Cys-374 актина не оказывает существенного влияния на функциональные свойства F-актина, в том числе на способность этого белка активировать АТФазную активность C1 миозина (Miki et al., 1987). В соответствии с ранее опубликованными данными (Боровиков и др., 1988) степень поляризации флуоресценции при ориентации волокна параллельно плоскости поляризации света возбуждения (P_{\parallel}) была существенно больше для медленных (SOL 0.274 ± 0.002) и быстрых (EDL 0.248 ± 0.002) мышц, чем при ориентации волокна перпендикулярно (P_{\perp}) плоскости поляризации света (для SOL 0.230 ± 0.002 и для EDL 0.211 ± 0.002 соответственно); см. таблицу. Это свидетельствует о том, что диполи поглощения и излучения зонда располагаются преимущественно вдоль оси мышечного волокна (Боровиков и др., 1988).

Влияние развития гипертреозиса (ГТ) на изменения параметров поляризованной флуоресценции (P_{\parallel} и P_{\perp}) зонда 1.5-IAEDANS в F-актине медленных (SOL) и быстрых (EDL) теневых мышечных волокон крыс в отсутствие и в присутствии головок (C1) миозина

Тип волокна, условие	C1	P_{\parallel}	P_{\perp}
SOL, контроль	—	0.274 ± 0.002	0.230 ± 0.003
	+	0.259 ± 0.005	0.203 ± 0.003
SOL, ГТ 14 сут	—	0.279 ± 0.001	0.249 ± 0.002
	+	0.282 ± 0.002	0.221 ± 0.001
SOL, ГТ 21 сут	—	0.280 ± 0.004	0.259 ± 0.002
	+	0.288 ± 0.002	0.245 ± 0.007
EDL, контроль	—	0.248 ± 0.002	0.211 ± 0.002
	+	0.261 ± 0.005	0.223 ± 0.004
EDL, ГТ 14 сут	—	0.285 ± 0.004	0.270 ± 0.001
	+	0.271 ± 0.009	0.243 ± 0.003
EDL, ГТ 21 сут	—	0.279 ± 0.003	0.266 ± 0.002
	+	0.221 ± 0.004	0.173 ± 0.003

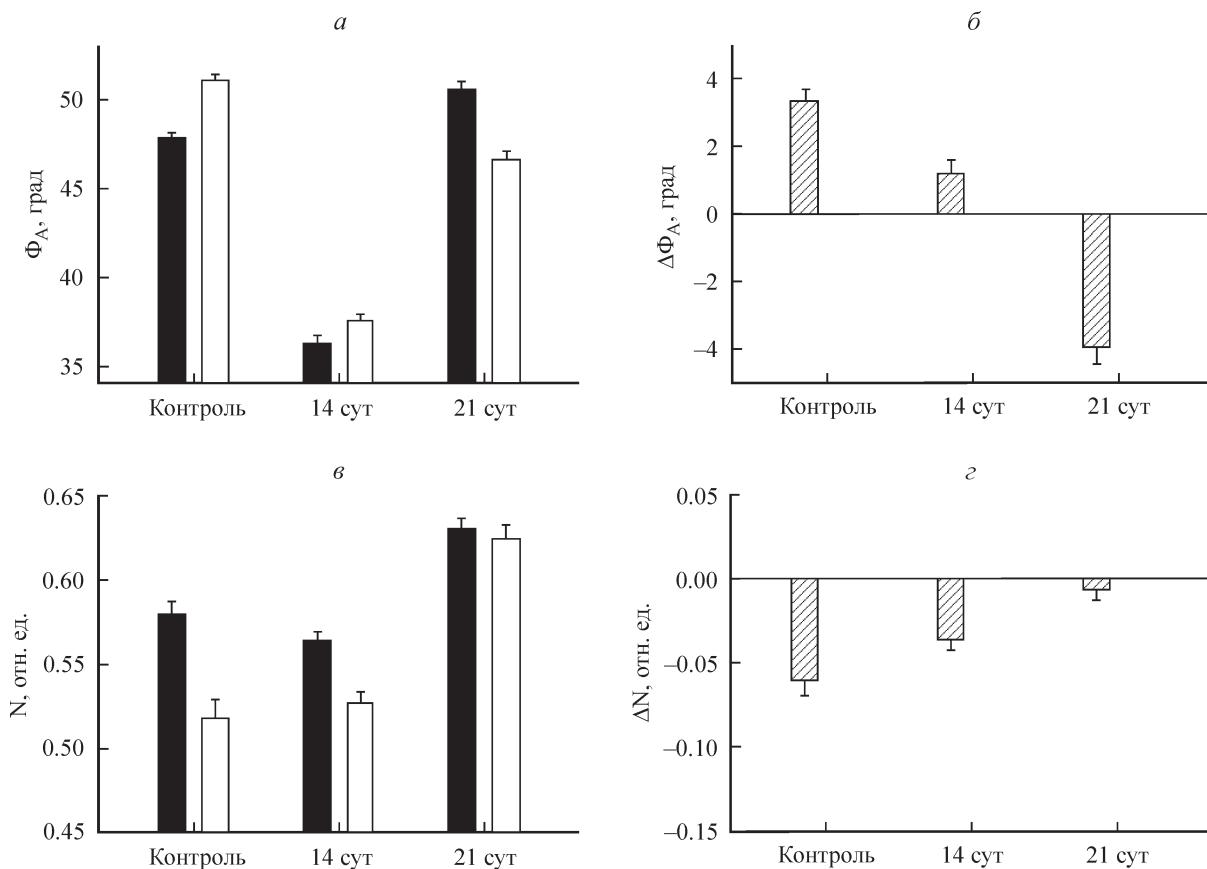


Рис. 1. Влияние субфрагмента 1 (C1) миозина на ориентацию (*a, б*) и подвижность (*в, г*) субдомена-1 F-актина в тонких нитях теневых мышечных волокон медленных мышц *soleus* (SOL) крыс в норме (контроль) и при развитии гипертиреоза в течение 14 и 21 сут.

Черные и белые столбики (*а, в*) — теневые волокна в отсутствие и в присутствии C1 соответственно; *б, г* — разница между величинами Φ_A (*б*) и величинами N (*г*) до и после связывания C1. Здесь и на рис. 2 доверительный интервал вычисляли с помощью *t*-критерия Стьюдента ($P < 0.05$).

Анализ поляризованной флуоресценции (Tregear, Mendelson, 1975; Kakol et al., 1987; Borovikov et al., 2004) указывает на то, что диполи поглощения и излучения зонда 1.5-IAEDANS, локализованного в тонких нитях медленных и быстрых мышц, в отсутствие C1 миозина образуют с осью тонкой нити углы Φ_A , близкие к 48 и 50° соответственно (рис. 1, 2). При этом количество хаотически ориентированных молекул красителя (N) было близко к 50 и 60 % (для SOL 0.579 ± 0.008 и для EDL 0.513 ± 0.021 отн. ед. соответственно) (рис. 1, 2). Следовательно, флуоресцентная метка жестко связана с F-актином в тонких нитях (Боровиков и др., 1988). Разницу между значениями величин Φ_A и N для быстрых и медленных волокон можно объяснить различиями в структурном состоянии F-актина в этих типах мышц крыс (Кириллина и др., 2006, 2009).

Как следует из данных рис. 1 и 2, связывание C1 с F-актином вызывает увеличение угла Φ_A для медленных и быстрых мышц более чем на 3.7 и 3.4° соответственно. Это указывает на то, что C-концевой участок мономера F-актина или весь субдомен-1 актина смещается от оси тонкой нити (Borovikov et al., 2004). При этом фракция неориентированных флуорофоров (N) уменьшается для медленных и возрастает для быстрых мышц на 0.060 и 0.044 отн. ед. соответственно (рис. 1, *в*; 2, *в*). Такие изменения значений угла Φ_A свидетельствуют о том, что при связывании C1 с F-актином моделируется сильная форма связывания. В соответствии с ранее опубликованными

данными (Geeves, Holmes, 2005) мы предположили, что при формировании сильной формы связывания происходит смещение субдомена-1 F-актина от оси тонкой нити как для быстрых, так и для медленных мышц (рис. 1, *а*; 2, *а*). При этом подвижность (N) субдомена-1 F-актина уменьшается для медленных и увеличивается для быстрых мышц (рис. 1, *в*; 2, *в*). Это свидетельствует о том, что изменение уровня тироидных гормонов в организме крыс сопровождается такими изменениями структурного состояния F-актина (Jakubiec-Puka et al., 1998; Кириллина и др., 2009), которые сопровождаются изменением пространственной организации и подвижности субдомена-1 актина. При этом гипертиреоз оказывает разное по характеру влияние на подвижность субдомена-1 в тонких нитях быстрых и медленных мышц.

Как следует из данных рис. 1, *а*, развитие гипертиреоза в медленных мышцах вызывает увеличение угла Φ_A на 1.2° на ранних стадиях развития процесса и его уменьшение на 4.0° на поздних стадиях (рис. 1, *а*). Для быстрых мышц развитие этого процесса ведет к увеличению угла Φ_A на ранних и поздних стадиях на 3.5 и 2.1° соответственно (рис. 2, *а*). Следовательно, гипертиреоз оказывает более существенное влияние на пространственную организацию субдомена-1 актина медленных мышц, чем в быстрых (рис. 1, *в*, *г*; 2, *в*, *г*).

Ранее при изучении конформационных изменений актина на разных стадиях цикла гидролиза АТФ актомиозиновым комплексом было установлено, что при формиро-

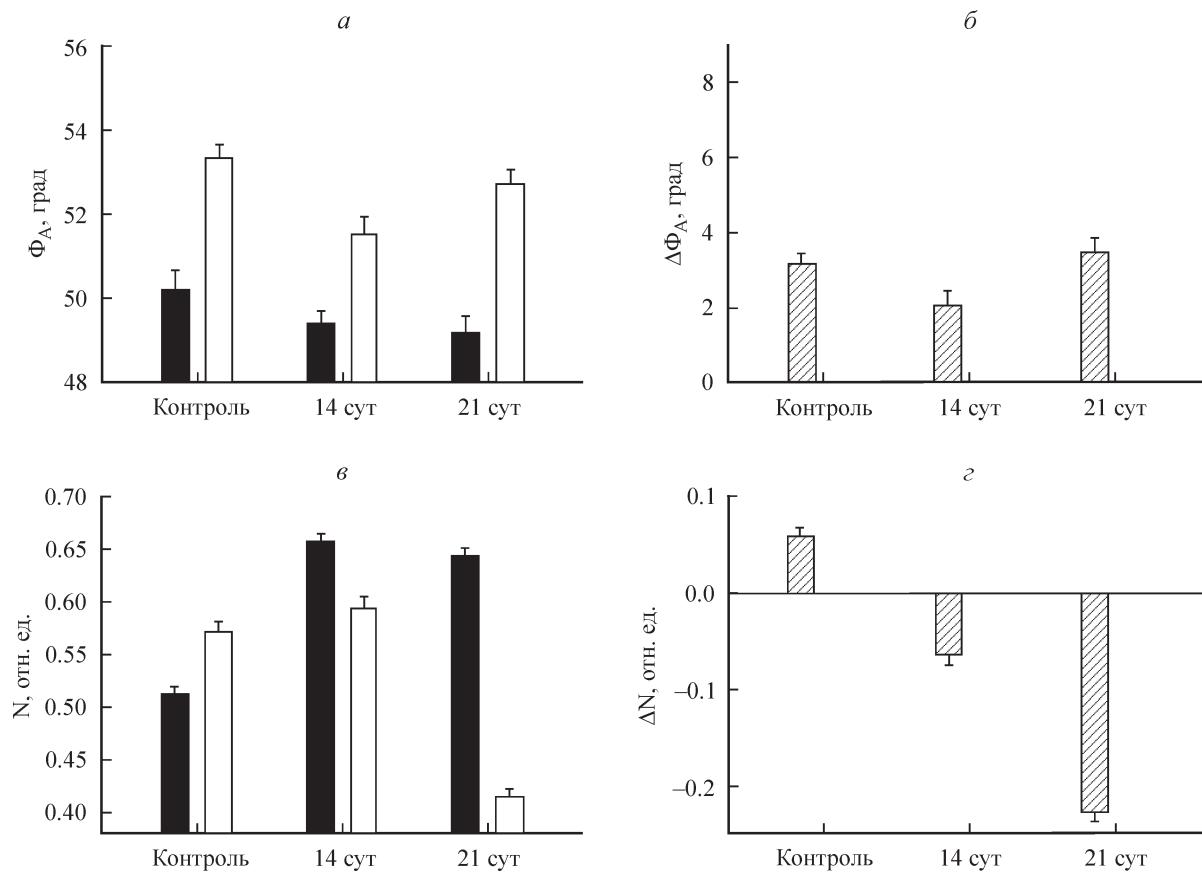


Рис. 2. Влияние субфрагмента 1 (С1) миозина на ориентацию (*a*, *b*) и подвижность (*c*, *d*) субдомена-1 F-актина в тонких нитях теневых мышечных волокон быстрых мышц *extensor digitorum longus* (EDL) крыс в норме (контроль) и при развитии гипертреозиса в течение 14 и 21 сут.

Черные и белые столбики (*a*, *b*) — теневые волокна в отсутствие и в присутствии С1 соответственно; *b*, *d* — то же, что и на рис. 1.

вании сильной формы связывания субдомен-1 актина поворачивается, смещаясь от оси тонкой нити, тогда как образование слабой формы связывания, наоборот, вызывает смещение субдомена-1 к оси тонкой нити (Borovikov et al., 2004, 2006). Из данных рис. 1 (*b*, *g*) и 2 (*b*, *g*) следует, что в патологически измененных гипертреозисом мышцах субдомен-1 F-актина поворачивается, смещаясь к оси тонкой нити, в связи с чем можно предположить, что гипертреозис вызывает такие конформационные изменения актина, которые характерны для слабой формы связывания. Таким образом, вместо образования существенной для генерации силы сильной формы связывания при гипертреозисе, по-видимому, возникает типичная для расслабления волокна слабая форма связывания миозина с актином.

Согласно современным представлениям, генерация силы поперечным мостиком осуществляется при переходе от слабой к сильной форме связывания и сопровождается высвобождением неорганического фосфата в цикле гидролиза АТФ (Geeves, Holmes, 2005). Считается, что именно на этой стадии АТФазного цикла поперечный мостик или «миозиновый рычаг», поворачиваясь относительно оси волокна, и генерирует силу (Geeves, Holmes, 2005). Поскольку при гипертреозисе происходит ингибирование сильной формы связывания (рис. 1, 2), можно предположить, что уменьшение АТФазной активности, обнаруженное ранее при развитии этого патологического процесса в мышцах (Wiles et al., 1979), является следствием

таких конформационных изменений F-актина, которые приводят к подавлению формирования сильной формы связывания между миозином и актином.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 08-04-00960) и фонда научных исследований Польши и Института экспериментальной биологии ПАН.

Список литературы

- Боровиков Ю. С., Добровольский З., Дабровска Р. 1988. Тропомиозин и субфрагмент-1 миозина индуцируют в тонких нитях мышечного волокна разные по характеру конформационные перестройки С-концевого участка полипептидной цепи актина. Цитология. 30 (8) : 1014—1017.
 Боровиков Ю. С., Кириллина В. П., Москаленко И. Е., Штранкфельд И. Г. 1981. Об изменении структуры Ф-актина при денервации мышцы. Биофизика. 26 (4) : 754—755.
 Боровиков Ю. С., Кириллина В. П., Черногрядская Н. А. 1982. Изучение состояния сократительного аппарата при развитии патологического процесса в мышцах. V. Влияние ценкеворского некроза и денервационной атрофии на структуру Ф-актина. Цитология. 24 (8) : 918—923.
 Боровиков Ю. С., Кириллина В. П., Черногрядская Н. А., Браун А. Д. 1977. Изучение структурных изменений сократительных белков мышечного волокна с помощью поляризационной ультрафиолетовой флуоресцентной микроскопии. III. Структурные изменения сократительного аппарата мышечного

волокна в процессе распространяющегося некроза. Цитология. 19 (4) : 382—387.

Кириллина В. П., Боровиков Ю. С., Черногрядская Н. А., Браун А. Д. 1979. Электрофоретическое исследование белкового состава мышц при ценкеровском некрозе. Цитология. 21 (7) : 864—866.

Кириллина В. П., Якубец-Пука А., Боровиков Ю. С. 2006. Влияние кальдесмона на образование сильной формы связывания миозина с актином в денервированных скелетных мышцах крыс. Цитология. 48 (7) : 554—558.

Кириллина В. П., Якубец-Пука А., Боровиков Ю. С. 2009. Влияние гипотриеозиса на движение субдомена-1 актина, индуцированное связыванием субфрагмента 1 миозина в быстрых и медленных скелетных мышцах крыс. Цитология. 51 (8) : 706—711.

Borovikov Yu. S. 1992. The changes in disposition of various regions of actin monomer and myosin head during ATP hydrolysis cycle. In : Muscle as a machine. Energy transduction in the contractile system. M. Morales (Ed.). 30—32.

Borovikov Yu. S. 1999. Conformational changes of contractile proteins and their role in muscle contraction. International Review of Cytology. Ac. Press, 189 : 267—300.

Borovikov Yu. S., Dedova I. V., dos Remedios C. G., Vikhoreva N. N., Vikhorev P. G., Avrova S. V., Hazlett T. L., van der Meer B. W. 2004. Fluorescence depolarization of actin filaments in reconstructed myofibers: the effect of S1 or pPDM-S1 on movements of distinct areas of actin. Biophys. J. 86 : 3020—3029.

Borovikov Yu. S., Gusev E. B. 1983. Effect of troponin-tropomyosin complex and Ca^{2+} on conformational changes in F-actin induced by myosin subfragment 1. Eur. J. Biochem. 136 : 363—369.

Borovikov Yu. S., Kakol I. 1991. Conformational changes of contractile proteins accompanying modulation of skeletal muscle contraction. Polarized microfluorimetry investigations. Gen. Physiol. Biophys. 10 : 245—264.

Borovikov Yu. S., Karpicheva O. E., Avrova S. V., Redwood C. S. 2009. Modulation of the effects of tropomyosin on actin and myosin conformational changes by troponin and Ca^{2+} . Biochim. Biophys. acta. 1794 : 985—994.

Borovikov Yu. S., Kirillina V. P. 1991. Polarized microfluorimetry investigation of the conformational changes of F-actin in ghost fibres of fast (EDL) and slow (SOL) rat muscles induced by functional electrostimulation. Basic and Appl. Myol. 1 : 139—143.

Borovikov Yu. S., Kirillina V. P., Szczepanowska J., Carraro U. 1991a. Polarized microfluorimetry investigation of the conformational changes of F-actin in ghost fibers of fast (EDL) and slow (SOL) rat muscles induced by functional electrostimulation. Basic and Appl. Myol. 1 : 139—144.

Borovikov Yu. S., Kulikova N., Pronina O. E., Khaimina S. S., Wrzosek A., Dabrowska R. 2006. Caldesmon freezes the structure of actin filaments during the actomyosin ATPase cycle. Biochim. Biophys. acta. 1764 : 1054—1062.

Borovikov Yu. S., Vdovina I. B., Khoroshev M. I., Kirillina V. P. 1991b. The orientation of the fluorescent probes attached to actin and myosin subfragment 1 at the strong and the weak binding of these protein in ghost fibers. J. Muscle Res. Cell Motility. 12 : 104—104.

Bremel R. D., Weber A. 1972. Cooperation within actin filaments in vertebrate skeletal muscle. Nature. 238 : 97—101.

Caiozzo V. J., Herrick R. E. 1991. Influence of hyperthyroidism on maximal shortening velocity and myosin distribution in skeletal muscles. Amer. J. Physiol. 291 : C285—C296.

Chalovich J. M., Green L. E., Eisenberg E. 1983. Crosslinked myosin-subfragment-1: a stable analog of the subfragment-1-ATP complex. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 80 : 4909—4913.

Ciechomska I., Wojda J., Jakubiec-Puka A., Kirillina V. 1998. Effects of some hormones on the skeletal muscle denervation atrophy and on the muscle recovery following self-reinnervation. I. Thymus factor X (TFX) and ubiquitin. Int. J. Thymol. 6 : 493—501.

Cooke R. 1997. Actomyosin interaction in striated muscle. Physiol. Rev. 77 : 671—697.

Egelman E. H., Orlova A. 1995. New insights into actin filament dynamics. Curr. Opin. Struct. Biol. 5 : 172—180.

Elzinga G., van Hardweld H., Leijendekker W. S. 1987. Tension dependent and independent heart production during contraction of fast- and slow-twitch muscle of euthyroid and hypothyroid mice. J. Physiol. 382 : 169.

Geeves M. A. 1991. The dynamics of actin and myosin association and the cross-bridge model of muscle contraction. Biochem. J. 274 : 1—14.

Geeves M. A., Holmes K. S. 2005. The molecular mechanism of muscle contraction. Adv. Protein Chem. 71 : 161—193.

Jakubiec-Puka A., Catani C., Carraro U. 1992. Myosin heavy chain composition in striated muscle after tenotomy. Biochem. J. 282 : 237—242.

Jakubiec-Puka A., Kordowska J., Carraro U. 1990. Myosin heavy chain isoform composition in striated muscle after denervation and self-reinnervation. Eur. J. Biochem. 193 : 623—628.

Jakubiec-Puka A., Wojda J., Ciechomska I., Kirillina V. 1998. The effects of hormones on the skeletal muscle denervation atrophy and on the muscle recovery following self-reinnervation. II. Glucocorticoids. Int. J. Thymol. 6 : 611—617.

Kakol I., Borovikov Yu. S., Szczesna D., Kirillina V. S., Levitskii D. I. 1987. Conformational changes of F-actin in myosin-free ghost single fibre induced by either phosphorylated and dephosphorylated heavy meromyosin. Biochim. biophys. acta. 913 : 1—9.

Kirillina V. P., Borovikov Yu. S. 1992. Effect of ϵ -ADP on the structure of F-actin-myosin subfragment-1 complex. Basic. and Appl. Myol. 2 : 169—174.

Laemmli U. K. 1970. Cleavage of structural protein during the assembly of head of bacteriophage T4. Nature. 277 : 680—685.

Leijendekker W. S., van Hardweld C. 1987. Structural and functional aspects of actomyosin complex from fast-twitch muscle of euthyroid and hypothyroid rats. Pfluger Arch. 410 : 48—54.

Lynn R. W., Taylor E. W. 1971. Mechanism of adenosine triphosphate hydrolysis by actomyosin. Biochemistry. 10 : 4617—4624.

Marston S. B. 1982. The rates of formation and dissociation of actin-myosin complex. Effects of solvent, temperature, nucleotide binding and head-head interactions. Biochem. J. 203 : 453—460.

Nwoye L., Mommaerts W. F. M. H. 1981. The effect of thyroid status on some properties of rat fast-twitch muscle. J. Muscle Res. Cell Motil. 2 : 307—320.

Okamoto Y., Sekine T. 1985. Streamlined method of subfragment one preparation from myosin. J. Biochem. 98 : 1143—1145.

Prochniewicz-Nakajama I., Yanagida T., Oosawa F. 1983. Studies of conformation of F-actin in muscle fibers in the relaxed state, rigor, and during contraction using fluorescent phalloidin. J. Cell Biol. 97 : 1663—1667.

Szczepanowska J., Borovikov Yu. S., Jakubiec-Puka A. 1987. Effect of denervation, reinnervation and hypertrophy on the state of actin filament in skeletal muscle fibers. Eur. J. Cell Biol. 43 : 394—402.

Szczepanowska J., Borovikov Yu. S., Jakubiec-Puka A. 1998. Effect of denervation and muscle inactivity on the organization of actin. Muscle and Nerve. 21 : 309—317.

Szent-Gyorgyi. 1949. Free-energy relation and contraction of acto-myosin. Biol. Bull. 96 : 140—161.

Toft A. D., Boon N. A. 2000. Thyroid disease and the heart. Heart. 84 : 455—460.

Treager R., Mendelson R. A. 1975. Polarization from a helix of fluorophores and its relation to that obtained from muscle. Biophys J. 15 : 455—467.

Weigel N. L. 1996. Steroid hormone receptors and their regulation by phosphorylation. Biochem. J. 319 : 657—667.

Wiles C. N., Young A., Jones D. A., Edwards R. H. T. 1979. Muscle relaxation rate, fibre type composition and energy turnover in hyper- and hypothyroid patients. Clin. Sci. 57 : 375—384.

Yanagida T., Oosawa F. 1978. Polarized fluorescence from ϵ -ADP incorporates into F-actin and changes in a myosin-free single fibre: conformation of F-actin and changes induced in it by heavy meromyosin. J. Mol. Biol. 126 : 507—524.

HYPERTHYREOSIS INHIBITS THE ABILITY OF ACTIN TO FORM STRONG-BINDING
WITH MYOSIN

V. P. Kirillina,^{1,} A. Jakubiec-Puka,² Yu. S. Borovikov*

¹ Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, Russia,
and ² Nencki Institute of Experimental Biology, Polish Academy of Sciences, Warsaw, Poland;
* e-mail: kirill@mail.cytspb.rssi.ru

The effect of hyperthyreosis development induced by the increase in thyroid hormones in rats (during 2—4 weeks) on the orientation and mobility of fluorescent probe N-(iodoacetyl)-(1-naphthyl-5-sulpho-ethylene-diamine) specifically bound to Cys 374 of actin in ghost muscle fibers isolated from fast (EDL) and slow (SOL) rat muscles was studied. It was found that the binding of myosin subfragment-1 (S1) to F-actin induced the typical for the formation of strong binding actomyosin decrease in mobility of actin subdomain 1 and its rotation towards thin filament periphery. Development of hyperthyreosis markedly inhibited these phenomena. The maximal effect was observed after 21 days of disease development. It is suggested that one of the reasons of the contractile deficit of muscle in hyperthyreosis is inhibition of the strong binding between actin and myosin during ATPase cycle.

Key words: muscle contraction, F-actin, actin conformational changes, hyperthyreosis, polarized fluorescence.