

УДК 577.3

Влияние «существенной» легкой цепи A1 миозина на агрегационные свойства миозиновой головки

Д. И. Марков¹, О. П. Николаева², Д. И. Левицкий^{1,2*}¹ Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН² НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова

*E-mail: levitsky@inbi.ras.ru

Поступила в редакцию 24.05.2010 г.

РЕФЕРАТ Мы провели сравнительный анализ тепловой агрегации двух изоформ изолированной головки миозина (субфрагмент 1 миозина, S1), содержащих разные «существенные» (или «щелочные») легкие цепи A1 и A2. Температурные зависимости агрегации этих изоформ S1, измеряемые по приросту кажущейся оптической плотности, сопоставляли с температурными зависимостями их тепловой денатурации, полученными методом дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК). При относительно высоких значениях ионной силы (в присутствии 100 мМ KCl), близких к ее физиологическим значениям в мышечном волокне, мы не наблюдали никаких заметных различий между изоформами S1 в характере их тепловой агрегации. Показано, что в этих условиях тепловая агрегация обеих изоформ S1 не зависит от концентрации белка и является следствием его необратимой денатурации, приводящей к слипанию денатурированных молекул S1. Существенные различия между этими изоформами S1 были обнаружены лишь при относительно низких значениях ионной силы раствора. В этих условиях тепловая агрегация изоформы S1, содержащей легкую цепь A1 (но не A2), очень сильно зависела от концентрации белка, при повышении которой от 0.125 до 2 мг/мл кривая агрегации смещалась на ~ 10 градусов в сторону низкой температуры. Сделан вывод, что в условиях низкой ионной силы наиболее важным фактором, определяющим в значительной степени агрегационные свойства этой изоформы S1, являются межмолекулярные взаимодействия, осуществляемые дополнительным (отсутствующим у A2) N-концевым сегментом легкой цепи A1, причем такие взаимодействия не связаны с тепловой денатурацией белка и могут иметь место даже при низкой температуре.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА субфрагмент 1 миозина, «существенные» легкие цепи, агрегация, тепловая денатурация, дифференциальная сканирующая калориметрия.

ВВЕДЕНИЕ

Циклическое взаимодействие головок молекул миозина с актиновыми филаментами, сопровождаемое гидролизом АТФ в головках, лежит в основе молекулярного механизма множества самых разных проявлений биологической подвижности – от процессов внутриклеточного транспорта до мышечного сокращения. К настоящему времени установлено, что именно миозиновая головка является тем молекулярным мотором, который даже в изолированном состоянии способен самостоятельно осуществлять двигательные функции в актомиозиновых системах биологической подвижности [1]. Изолированная головка миозина, называемая субфрагментом 1 миозина (S1), состоит из двух главных структурных доменов – моторного (или каталитического) и регуляторного. Моторный домен представляет собой глобулярную часть головки, содержащую активный центр АТФ-азы и участки связывания актина, а регуляторный домен – это длинная α -спираль, стабилизируемая двумя нековалентно ассоциированными с ней легкими цепями – «существенной» и регуляторной [2]. Согласно современным представлениям функционирование головки

миозина в качестве молекулярного мотора обеспечивается поворотом регуляторного домена относительно моторного домена. При этом регуляторный домен действует как рычаг, усиливающий конформационные изменения, происходящие в моторном домене в процессе АТФ-азной реакции, и его длина определяет величину перемещения миозиновой головки вдоль актинового филамента [3, 4].

Ассоциированные с регуляторным доменом миозиновой головки «существенные» легкие цепи существуют в виде двух изоформ – «длинной» и «короткой». В сердечных мышцах присутствует лишь длинная легкая цепь, в гладких мышцах – только короткая, а в быстрых скелетных мышцах одновременно присутствуют обе изоформы «существенной» легкой цепи, получившие в свое время название «щелочных» легких цепей A1 и A2 для длинной и короткой изоформ соответственно. Эти легкие цепи почти идентичны – за исключением имеющейся у A1 дополнительной N-концевой последовательности из 41 остатка, содержащей многочисленные повторы Ala-Pro и несколько остатков лизина поблизости от N-конца [5]. Функциональная значимость этой N-концевой последовательности остается

пока неясной и интенсивно изучается. К примеру, недавно было показано, что мутации в этой области ассоциированы с развитием тяжелого наследственного заболевания – гипертрофической кардиомиопатии [6].

Препарат S1, получаемый путем расщепления скелетно-мышечного миозина химотрипсином, утрачивает регуляторную легкую цепь, но полностью сохраняет «существенную» легкую цепь [7]. Поскольку миозин скелетных мышц содержит щелочные легкие цепи обоих типов – как A1, так и A2, то такой препарат S1 представляет собой смесь двух изоформ, содержащих либо только A1, либо только A2 (S1(A1) и S1(A2) соответственно). Эти две изоформы S1 можно разделить с помощью ионообменной хроматографии [7], и они широко используются как для сравнительного анализа функций легких цепей A1 и A2, так и для выяснения роли дополнительного N-концевого сегмента последовательности в A1. Так, например, было показано, что при низкой ионной силе сродство S1(A1) к актину значительно выше, чем у S1(A2) [8, 9], причем было установлено, что это происходит благодаря непосредственному взаимодействию дополнительного N-концевого сегмента легкой цепи A1 с актином [10–13]. Следует, однако, отметить, что такое взаимодействие наблюдалось при очень низких значениях ионной силы, далеких от ее физиологических значений, но оно резко снижалось при повышении ионной силы до 120 мМ [9].

Еще одно интересное свойство N-концевого сегмента легкой цепи A1 – это его способность взаимодействовать с глобулярным моторным доменом миозиновой головки. Возможность такого взаимодействия была предсказана одним из нас более 15 лет назад [14]; впоследствии это предположение полностью подтвердилось в работах других авторов [15–17]. Так, в одной из последних работ было продемонстрировано связывание N-концевого сегмента легкой цепи A1 с областью SH3-домена, локализованной поблизости от N-конца тяжелой цепи (остатки 35–80) в моторной части головки [17]. Авторы высказали интересное предположение, что такое связывание может играть достаточно важную роль в процессе взаимодействия миозина с актином, способствуя распрямлению N-концевого сегмента A1 и его превращению в вытянутую антенноподобную структуру, способную достигать поверхности актинового филламента.

В ранних работах было выявлено еще одно интересное различие между двумя изоформами S1 с разными легкими цепями. Было показано, что при нагревании в условиях низкой ионной силы S1(A1) агрегировал при значительно более низкой температуре, чем S1(A2) [18, 19]. Это позволяет предположить, что дополнительный N-концевой сегмент A1, благодаря своей полужесткой вытянутой структуре [20], может вовлекаться не только во внутримолекулярные взаимодействия, но и в межмолекулярные взаимодействия с моторными доменами других молекул S1. Важно отметить, однако, что все ранние исследования агрегации изоформ S1 проводились лишь в условиях очень низкой ионной силы и при высокой концентрации белка [18, 19]. К сожалению, более подробно процесс тепловой агрегации изоформ S1 и роль N-концевого сегмента легкой цепи A1 в этом процессе с тех пор никем не исследовались. Возникает резонный вопрос: могут ли межмолекулярные (или внутримолекулярные) взаимодействия N-концевого сегмента

A1 с моторным доменом S1 оказывать влияние на характер тепловой агрегации S1 в условиях ионной силы, более близких к ее физиологическим значениям? Вопрос этот далеко не праздный, если учесть, что смешанный (не разделенный на изоформы) препарат S1 подвергается интенсивной агрегации при температуре теплового шока (43 °C) в условиях ионной силы, близких к ее физиологическим значениям в мышечном волокне (100 мМ KCl) [21]. Для ответа на этот вопрос в настоящей работе мы провели сравнительный анализ температурных зависимостей агрегации изоформ S1(A1) и S1(A2) при разных значениях ионной силы и разных концентрациях белка, сопоставляя их с температурными зависимостями тепловой денатурации этих изоформ S1, полученными методом дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

S1 получали, переваривая миозин из скелетных мышц кролика α -химотрипсином [7], и разделяли на изоформы S1(A1) и S1(A2) методом ионообменной хроматографии на колонке с SP-трисакрилом [22]. Концентрацию изоформ S1 измеряли спектрофотометрически, используя коэффициент экстинкции $A^{1\%}$ при 280 нм, равный 7.5 см⁻¹. Спектры поглощения изоформ S1 записывали на спектрофотометре Cary-100 (Varian Inc.).

Температурные зависимости агрегации изоформ S1 регистрировали по приросту кажущейся оптической плотности при 350 нм. Измерения проводили на спектрофотометре Cary-100 (Varian Inc.), снабженном температурной приставкой Biomelt. Образцы S1 прогревали с постоянной скоростью 1 °C/мин от 25 до 65 °C. Измерения проводили в буфере 20 мМ Hepes-KOH (pH 7.3), содержащем 1 мМ MgCl₂, в отсутствие или в присутствии 100 мМ KCl.

Эксперименты по изучению тепловой денатурации изоформ S1(A1) и S1(A2) проводили методом ДСК на дифференциальном сканирующем микрокалориметре ДАСМ-4М (Институт биологического приборостроения РАН, Пушкино) как описано ранее [21, 23, 24]. Образцы, содержащие изоформы S1 (1.5 мг/мл), прогревали с постоянной скоростью 1 °C/мин от 15 до 75 °C. Все измерения проводили в буфере 20 мМ Hepes-KOH (pH 7.3), содержащем 1 мМ MgCl₂, в отсутствие или в присутствии 100 мМ KCl. Для проверки обратимости тепловой денатурации сразу после первого сканирования и охлаждения проводили повторный прогрев образцов. Тепловая денатурация обеих изоформ S1 была полностью необратима.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Прежде всего мы воспроизвели результаты многолетней давности [19], сравнив температурные зависимости агрегации двух изоформ S1 при высокой концентрации белка (1 мг/мл) и низкой ионной силе (в отсутствие KCl). Как видно на рис. 1, в этих условиях наблюдается значительная разница между изоформами S1 в характере их тепловой агрегации: S1(A1) агрегирует при значительно более низкой температуре, чем S1(A2). Эта разница между изоформами S1 заметно уменьшается при снижении концентрации белка: в этих условиях S1(A1) и S1(A2) мало отличаются друг от друга по температуре их тепловой агрегации (рис. 1). При этом температура полумаксимального прироста опти-

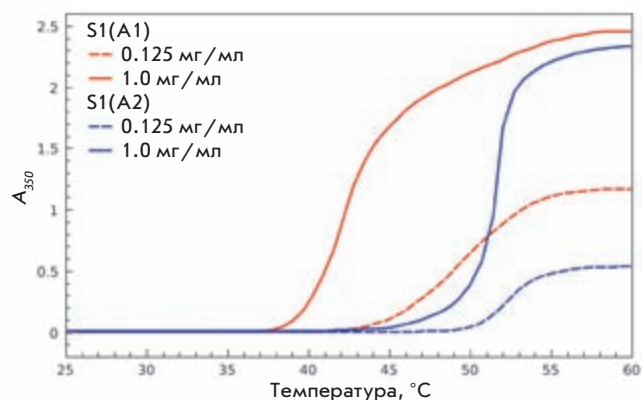


Рис. 1. Температурные зависимости тепловой агрегации S1(A1) и S1(A2), регистрируемой по приросту кажущейся оптической плотности при 350 нм при высокой (1 мг/мл) и низкой (0.125 мг/мл) концентрации белка. Условия: 20 мМ Hepes, pH 7.3, 1 мМ MgCl₂.

ческой плотности у S1(A2) почти не изменяется и составляет 52–53 °С, тогда как в случае S1(A1) этот параметр повышается от 42.5 до 50 °С при снижении концентрации белка от 1 до 0.125 мг/мл (рис. 1). Таким образом, при низкой ионной силе снижение концентрации белка оказывает сильное влияние на характер тепловой агрегации S1(A1), смещая кривую агрегации в сторону более высокой температуры, но не оказывает заметного влияния на тепловую агрегацию S1(A2).

В последующих экспериментах мы сопоставляли нормализованные кривые температурных зависимостей агрегации S1(A1) и S1(A2), полученные при разных концентрациях белка в отсутствие или в присутствии 100 мМ KCl, с кривыми ДСК, отражающими тепловую денатурацию изоформ S1 в тех же условиях. Важно отметить, что все эти эксперименты проводили при одной и той же скорости нагрева (1 °С/мин) и в одних и тех же условиях среды. Исключение составляла лишь концентрация белка, которая не варьировала в калориметрических экспериментах и составляла во всех случаях 1.5 мг/мл. Ранее было показано, однако, что изменения концентрации белка от 0.5 до 2.0 мг/мл не оказывают заметного влияния на температуру максимума кривой теплопоглощения S1 [19]. Таким образом, сопоставление температурных зависимостей тепловой денатурации и агрегации изоформ S1 представляется вполне оправданным.

Для обеих изоформ S1 добавление KCl до концентрации 100 мМ не оказывало заметного влияния на характер их тепловой денатурации: в обоих случаях оно лишь смещало максимум кривой теплопоглощения (T_m) на 1.1 °С в сторону более низкой температуры: с 48 до 46.9 °С в случае S1(A1) и с 48.1 до 47 °С в случае S1(A2) (рис. 2А и 2А'). Напротив, повышение ионной силы раствора резко изменяло характер тепловой агрегации S1(A1), но не S1(A2). При низкой ионной силе мы наблюдали четкую зависимость тепловой агрегации S1(A1) от концентрации белка, при повышении которой от 0.125 до 2 мг/мл кривая агрегации смещалась на ~ 10 °С в сторону низкой температуры: от ~ 50 °С до ~ 40 °С (рис. 2Б). Ничего подобного не наблюдалось в присутствии 100 мМ KCl. В этом случае тепловая агрегация

S1(A1) практически не зависела от концентрации белка: при повышении концентрации S1(A1) от 0.125 до 1.0 мг/мл температура полумаксимального прироста оптической плотности оставалась постоянной и составляла 52 ± 0.5 °С (рис. 2Б). Что касается S1(A2), то тепловая агрегация этой изоформы S1 не зависела ни от концентрации белка, ни от ионной силы (рис. 2Б', Б'), почти не отличаясь от агрегации S1(A1) при высокой ионной силе (рис. 2Б).

Сопоставляя кривые температурных зависимостей агрегации изоформ S1 с кривыми ДСК, отражающими их тепловую денатурацию, можно сделать следующие выводы. Агрегация S1(A2) является следствием тепловой денатурации этой изоформы S1, скорее всего – ее более термостабильного моторного домена [14, 19], денатурация которого лимитирует весь процесс агрегации. Это в полной мере относится и к тепловой агрегации S1(A1) при высокой ионной силе (рис. 2Б). Ничего подобного нельзя, однако, сказать о тепловой агрегации S1(A1) при низкой ионной силе (рис. 2Б). В этом случае отсутствуют какие-либо корреляции между тепловой денатурацией и агрегацией S1(A1). Мы полагаем, что при низкой ионной силе агрегация S1(A1) не является прямым следствием тепловой денатурации белка, будучи по крайней мере отчасти обусловленной взаимодействиями дополнительного N-концевого сегмента легкой цепи A1 с другими молекулами S1. Представляется совершенно очевидным, что вероятность таких межмолекулярных взаимодействий должна существенно возрастать как при повышении концентрации белка, так и при повышении температуры. Этим и объясняется столь необычный характер агрегации S1(A1) в условиях низкой ионной силы (рис. 2Б). Межмолекулярные взаимодействия N-концевого сегмента A1 в значительной степени подавляются, по-видимому, при повышении ионной силы. Этим можно объяснить тот факт, что в присутствии 100 мМ KCl тепловая агрегация S1(A1) (рис. 2Б) мало отличается от агрегации S1(A2) (рис. 2Б').

При внимательном анализе кривых агрегации S1(A1), полученных в условиях низкой ионной силы (рис. 2Б), легко заметить, что при относительно высоких концентрациях белка агрегация начинается при довольно низких температурах (ниже 38 °С). Это позволяет предположить, что при низкой ионной силе агрегация S1(A1), обусловленная межмолекулярными взаимодействиями N-концевого сегмента легкой цепи A1, может медленно происходить и при низкой температуре. Действительно, мы неоднократно наблюдали появление заметной опалесценции в препаратах S1(A1) при их хранении в условиях низкой ионной силы, которая исчезала при добавлении 100 мМ KCl. Отметим, что в экспериментах по тепловой агрегации такие опалесцирующие препараты S1(A1) предварительно подвергались ультрацентрифугированию. Эти наблюдения документально подтверждаются результатами специально проведенного эксперимента, представленными на рис. 3. Видно, что после хранения в условиях низкой ионной силы в течение ночи при 4 °С препарат S1(A1) демонстрирует высокий уровень светорассеяния в области 320–360 нм, где отсутствует поглощение белка (кривая 1 на рис. 3), причем такое светорассеяние полностью исчезает после добавления 100 мМ KCl (кривая 2 на рис. 3). Путем экстраполяции длинноволнового отрезка спектра поглощения S1(A1) в ко-

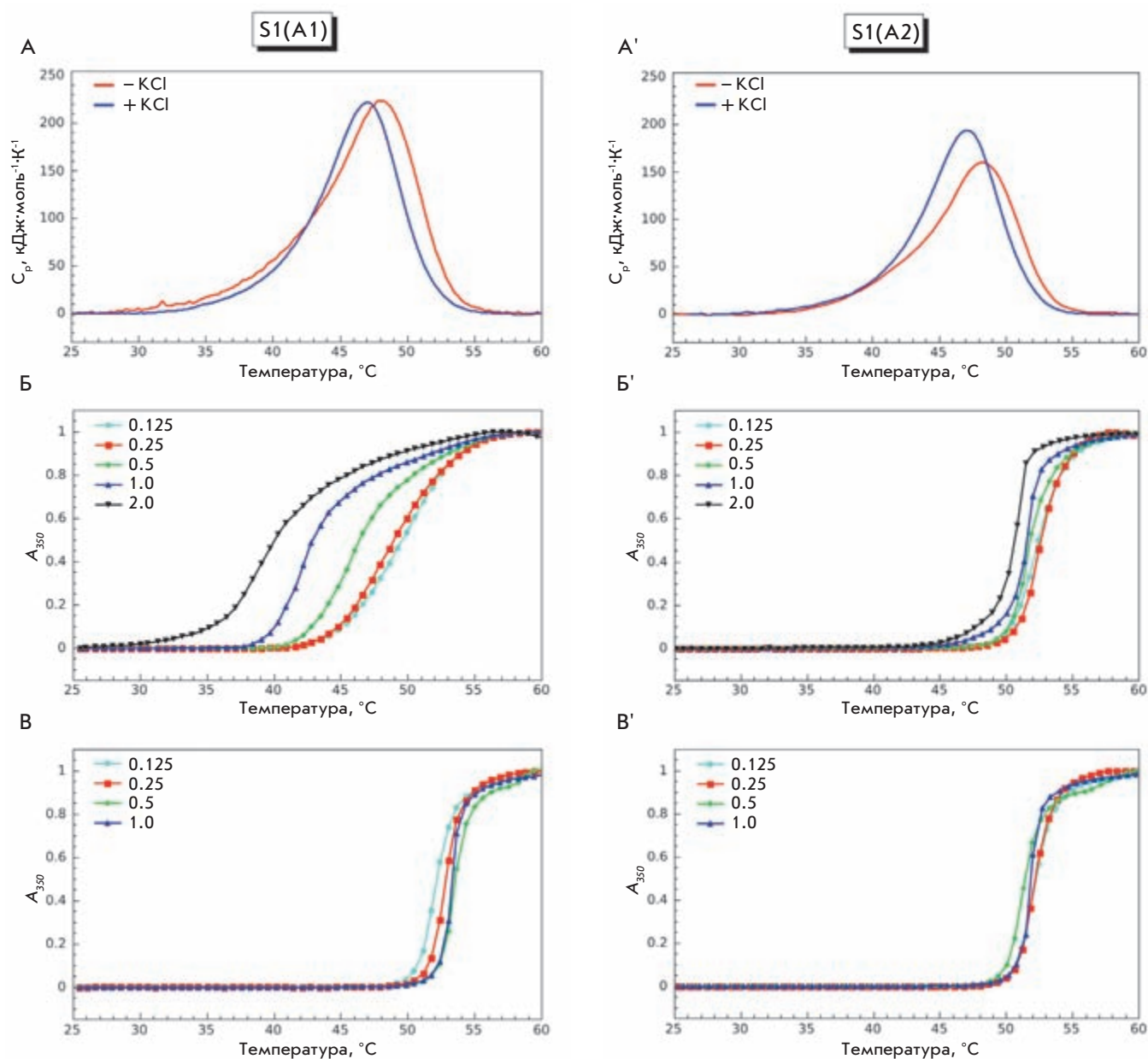


Рис. 2. Тепловая денатурация и агрегация изоформ S1(A1) (A – B) и S1(A2) (A' – B'). A, A' – кривые ДСК, полученные в отсутствие и в присутствии 100 мМ KCl. B, B', B, B' – нормализованные кривые температурных зависимостей тепловой агрегации изоформ S1, полученные при разных концентрациях белка (мг/мл), указанных в обозначениях для каждой кривой, в отсутствие KCl (B, B') или в присутствии 100 мМ KCl (B, B'). Все эксперименты проводили со скоростью нагрева 1 °С/мин. Прочие условия: 20 мМ Neres, pH 7.3, 1 мМ MgCl₂.

ротковолновую область мы рассчитали величину светорассеяния образца по всему волновому диапазону (255–360 нм) и вычли полученную кривую (кривая 3 на рис. 3) из спектра поглощения S1(A1) при низкой ионной силе (кривая 1). Полученная кривая 4, представляющая собой чистый спектр поглощения S1(A1) без вклада светорассеяния, ничем не отличалась от спектра поглощения S1(A1), полученного в присутствии 100 мМ KCl.

Результаты этого эксперимента наглядно свидетельствуют о том, что агрегация S1(A1), обусловленная межмолекулярными взаимодействиями N-концевого сегмента

легкой цепи A1 в условиях низкой ионной силы, происходит даже при хранении препарата S1(A1) в холодильнике. Такая агрегация является обратимой, поскольку образующиеся агрегаты легко разрушаются при повышении ионной силы раствора; в этом отношении она коренным образом отличается от необратимой агрегации, вызываемой тепловой денатурацией белка, которая сопровождается слипанием денатурированных молекул.

Итак, на основании результатов проведенных экспериментов мы полагаем, что различия в характере тепловой агрегации между двумя изоформами S1 обусловлены взаи-

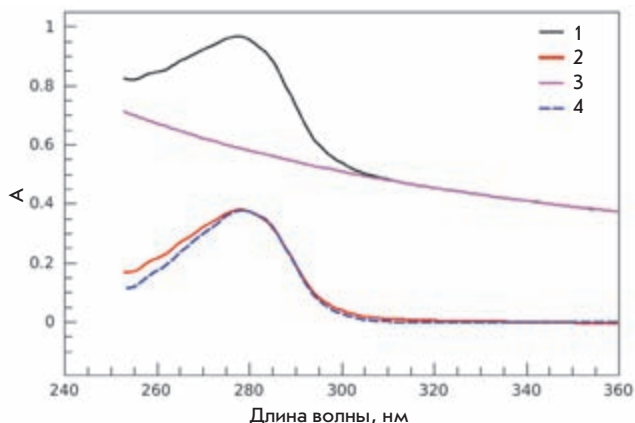


Рис. 3. Спектры поглощения препарата S1(A1) (1 мг/мл), хранившегося при 4 °С в условиях низкой ионной силы (20 мМ Перес, рН 7.3, 1 мМ MgCl₂), полученные до (1) и после (2) добавления KCl до конечной концентрации 100 мМ. Кривая 3, полученная путем экстраполяции длинноволнового отрезка спектра в коротковолновую область, отражает светорассеяние образца S1(A1) при низкой ионной силе во всем волновом диапазоне, а кривая 4 представляет собой результат вычитания кривой 3 из кривой 1.

модействиями дополнительного N-концевого сегмента легкой цепи A1, отсутствующего у A2, с другими молекулами S1. Такие взаимодействия имеют место только при низкой ионной силе, но подавляются при повышении ионной силы; они проявляются даже при низкой температуре, но их вероятность увеличивается с повышением температуры. Судя по всему, такие межмолекулярные взаимодействия отражают способность N-концевого сегмента легкой цепи A1 к внутримолекулярному взаимодействию с моторным доменом собственной молекулы S1. Такому взаимодействию отводится довольно важная роль в молекулярном механизме мышечного сокращения [16, 17]. Следует отметить, однако, что эксперименты по внутримолекулярному взаимодействию легкой цепи A1 также проводились при довольно низких значениях ионной силы (~ 25 мМ) [17], весьма далеких от ее физиологических значений в мышечном волокне. Тем не менее можно предположить, что вероятность такого внутримолекулярного взаимодействия должна заметно повышаться в процессе АТФ-азной реакции S1 благодаря сближению N-концевого сегмента A1

с моторным доменом S1 вследствие поворота регуляторного домена относительно моторного домена. Это в свою очередь должно снижать вероятность межмолекулярных взаимодействий N-концевого сегмента A1, что должно заметным образом отражаться на агрегационных свойствах S1(A1) при моделировании различных стадий АТФ-азной реакции. Экспериментальная проверка таких предположений составляет одну из целей дальнейших исследований в этом направлении.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований нам удалось установить, что при относительно высоких значениях ионной силы, близких к ее физиологическим значениям в мышечном волокне, наличие дополнительного N-концевого сегмента в существенной легкой цепи A1 не оказывает заметного влияния на агрегационные свойства изолированной головки миозина (S1). В этих условиях тепловая агрегация S1 является следствием необратимой денатурации белка и обусловлена слипанием денатурированных молекул S1. Существенное влияние N-концевого сегмента легкой цепи A1 на агрегацию S1 наблюдается лишь при относительно низких значениях ионной силы раствора. В этих условиях важным фактором, определяющим в значительной степени агрегационные свойства S1, являются межмолекулярные взаимодействия, осуществляемые N-концевым сегментом легкой цепи A1 даже при низкой температуре. Такие межмолекулярные взаимодействия этого сегмента A1 отражают его способность и к внутримолекулярным взаимодействиям, которым приписывается немалая роль в молекулярном механизме мышечного сокращения. Не исключено, что в определенных условиях (например, в процессе АТФ-азной реакции, когда в миозиновой головке происходят значительные конформационные изменения) такие внутримолекулярные взаимодействия N-концевого сегмента легкой цепи A1 могут иметь место в мышечных волокнах даже при относительно высоких значениях ионной силы. ●

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (грант 09-04-00266), Программой «Молекулярная и клеточная биология» Президиума РАН и грантом Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук (грант МК-2965.2009.4).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Levitsky D.I. // Biochemistry (Moscow). 2004. V. 69. № 11. P. 1177–1189.
- Rayment I., Rypniewski W.P., Schmidt-Base K., et al. // Science. 1993. V. 261. P. 50–58.
- Rayment I. // J. Biol. Chem. 1996. V. 271. P. 15850–15853.
- Uyeda T.Q., Abramson P.D., Spudich J.A. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. V. 93. P. 4459–4464.
- Frank G., Weeds A.G. // Eur. J. Biochem. 1974. V. 44. P. 317–334.
- Hernandez O.M., Jones M., Guzman G., Szczesna-Cordary D. // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2007. V. 292. P. H1643–H1654.
- Weeds A.G., Taylor R.S. // Nature. 1975. V. 257. P. 54–56.
- Wagner P.D., Slayter C.S., Pope B., Weeds A.G. // Eur. J. Biochem. 1979. V. 99. P. 385–394.
- Chalovich J.M., Stein L.A., Greene L.E., Eisenberg E. // Biochemistry. 1984. V. 23. P. 4885–4889.
- Sutoh K. // Biochemistry. 1982. V. 21. P. 3654–3661.
- Trayer I.P., Trayer H.R., Levine B.A. // Eur. J. Biochem. 1987. V. 164. P. 259–266.
- Hayashibara T., Miyanishi T. // Biochemistry. 1994. V. 33. P. 12821–12827.
- Andreev O.A., Saraswat L.D., Lowey S., et al. // Biochemistry. 1999. V. 38. P. 2480–2485.
- Levitsky D.I. Domain Structure of the Myosin Head // Soviet Scientific Reviews. Section D – Physico-chemical Biology. Harwood Acad. Publishers GmbH. 1994. V. 12. № 1. 53 p.
- Pliszka B., Redowicz M.J., Stepkowski D. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2001. V. 281. P. 924–928.
- Borejdo J., Ushakov D.S., Moreland R., et al. // Biochemistry. 2001. V. 40. P. 3796–3803.
- Lowey S., Saraswat L.D., Liu H., et al. // J. Mol. Biol. 2007. V. 371. P. 902–913.
- Mrakovic-Zenic A., Oriol-Audit C., Reisler E. // Eur. J. Biochem. 1981. V. 115. P. 565–570.
- Levitsky D.I., Nikolaeva O.P., Vedenkina N.S., et al. // Biomed. Sci. 1991. V. 2. № 2. P. 140–146.
- Abillon E., Bremier L., Cardinaud R. // Biochim. Biophys. Acta. 1990. V. 1037. P. 394–400.
- Markov D.I., Pivovarova A.V., Chernik I.S., et al. // FEBS Lett. 2008. V. 582. № 10. P. 1407–1412.
- Trayer H.R., Trayer I.P. // Biochemistry. 1988. V. 27. P. 5718–5727.
- Nikolaeva O.P., Orlov V.N., Bobkov A.A., Levitsky D.I. // Eur. J. Biochem. 2002. V. 269. № 22. P. 5678–5688.
- Shakirova L.I., Mikhailova V.V., Siletskaya E.I., et al. // J. Muscle Res. Cell Motil. 2007. V. 28. P. 67–78.