

## Кальдесмон і кальпонін — білки тонкого філаменту гладеньких м'язів: структура та механізми функціонування

В. М. Данилова\*, Н. В. Куликова

НДІ фізіології Київського університету ім. Тараса Шевченка,  
252017 Київ, вул. Володимирська, 64

---

*У представленому огляді описано структуру, деякі властивості та механізми функціонування двох нещодавно відкритих білків — кальдесмону та кальпоніну. Обидва білки розташовані на актиновому філаменті, взаємодіють з тропоміозином та  $Ca^{2+}$ -зв'язуючими білками і здатні  $Ca^{2+}$ -залежним способом регулювати взаємодію міозину з актином. Регуляторна активність кальдесмону і кальпоніну може модулюватися шляхом фосфорилування.*

---

Кальдесмон було виявлено в м'язовому шлунку птахів і вперше виділено в лабораторії Какіучі у 1981 р. [1]. Цей білок здатний взаємодіяти з кальмодуліном, що відображено в його назві — «КАЛЬ» від кальмодуліну та «ДЕСМОС» (грецьке — зв'язувати). Пізніше кальдесмон було знайдено у найрізноманітніших гладеньких м'язах та нем'язових тканинах [2—6], але в смугастих м'язах його не виявлено.

Деяко пізніше іншою групою японських дослідників було виділено та описано ще один регуляторний білок тонких філаментів, який автори назвали кальпоніном [7]. Цей білок також здатний взаємодіяти з кальмодуліном (звідси перша частина його назви — «КАЛЬ») і має загальну антигенну детермінанту з тропоніном-Т (що відбиває друга частина його назви — «ПОНІН»). Згадані дослідження стимулювали інтерес до ролі зв'язаних з тонкими філаментами білків у процесах скорочення гладеньких м'язів.

В цьому огляді ми спробуємо в стислій формі узагальнити існуючі на сьогоднішній день відомості про кальдесмон і кальпонін та механізми їх функціонування.

**Кальдесмон.** Кальдесмон — термостабільний білок, досить гнучка молекула якого має паличковидну конфігурацію довжиною приблизно 76 нм та 2 нм в діаметрі [3, 8, 9]. Молекули кальдесмону спостерігали безпосередньо в електронному мікроскопі, використовуючи негативне забарвлення [10] або ротаційне відтінення [11]. Центральна частина молекули є  $\alpha$ -спіраллю, має довжину 30—40 нм і виконує роль спейсера між двома термінальними ділянками, кожна з яких ( $\approx 20$  нм довжиною) відрізняється більш гнучкою структурою [11]. Молекулярна маса (м. м.) м'язового кальдесмону, визначена методом SDS-електрофорезу, відповідає білку з м. м. 140—150 кДа, хоча за даними амінокислотного аналізу вона дорівнює 87—89 кДа [3, 12]. Причиною такої розбіжності може бути високий вміст

---

\*Correspondence address.

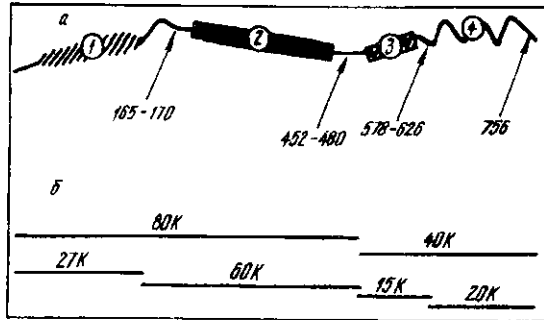
(майже 26 %) в ньому глутамінової та аспарагінової кислот [3]. Цю високомолекулярну форму білка було названо *h*-кальдесмоном (КД*h*) [3, 12]. В нем'язових клітинах присутня легка форма кальдесмону з м. м. 65 кДа; її було названо *l*-кальдесмоном (КД*l*) [13, 14]. Важку форму виявлено в різних тонічних та фазних гладеньких м'язах (аорта бика, сонна артерія свині, кишечник кроля, трахея собаки, матка криси, *taenia coli* морської свинки) [15], в той час як легка форма експресується в багатьох нем'язових клітинах птахів та ссавців [13, 16]. Було встановлено, що обидві форми кальдесмону мають походження від одного й того гена і утворюються шляхом альтернативного розщеплення. Важка та легка форми кальдесмону в тканинах курчат існують як дві ізоформи,  $\alpha$  та  $\beta$ , що мають 771 та 756 або 524 та 517 амінокислотних залишків відповідно [17]. Більш того, є докази існування тканино- та видоспецифічних ізоформ кальдесмону [18].

В останні роки ведеться інтенсивна робота по картуванню доменів кальдесмону. При вирішенні цього питання було застосовано дві стратегії: по-перше, прогнозування на основі схожості послідовностей з уже відомими місцями зв'язування кальмодуліну і, по-друге, розщеплення з подальшим відбором фрагментів на кальмодуліновій афінній колонці або при взаємодії з актином.

Стратегія прогнозування виявилася не дуже продуктивною, оскільки найкраще вивчені місця зв'язування з кальмодуліном мають високу спорідненість, тоді як взаємодія кальмодуліну з кальдесмоном є слабкою. Наприклад, на основі здатності до формування основної, амфіпатичної спіралі ділянку Arg<sub>593</sub>—His<sub>610</sub> було запропоновано вважати потенційним місцем зв'язування кальмодуліну [19]. З іншого боку, порівняння амінокислотної послідовності кальдесмону з послідовностями інших білків, що слабо зв'язують кальмодулін, дозволило висунути гіпотезу про існування двох ділянок зв'язування кальмодуліну: Met<sub>446</sub>—Gln<sub>459</sub> та Lys<sub>718</sub>—Ala<sub>731</sub> [20]. Проте інші результати [17] не підтверджують цих гіпотез; автори відмічають, що на фрагменті 27 кДа існує багато ділянок, здатних утворювати амфіпатичну спіраль, і невідомо, чи саме ця властивість важлива для низькопорядненого зв'язування кальдесмону з кальмодуліном, чи в нативному білку цей сегмент існує у вигляді  $\alpha$ -спіралі.

Набагато продуктивнішою виявилася стратегія розщеплення з подальшим виділенням окремих фрагментів. Кальдесмон розщеплювали хімо-трипсином, трипсином, тромбіном, ціаноген-бромідом та ін. Дослідження протеолітичних фрагментів та мутантних форм кальдесмону гладеньких м'язів, проведені методами генної інженерії, показали, що функціональні домени розташовані на обох кінцевих ділянках молекули. Так, встановлено, що С-кінцевий фрагмент є відповідальним за зв'язування з актином (амінокислотні залишки 483—508, 597—629 та 711—756) [21—25], тропоміозином (амінокислотні залишки 508—565) [26, 27] та кальмодуліном (залишки 629—666) [21—25, 28]. N-кінцевий фрагмент містить специфічний центр зв'язування з міозином (амінокислотні залишки 1—153) [26, 28—31] і, можливо, другий центр зв'язування з тропоміозином [23] і кальмодуліном [11].

На основі фізичних вимірювань, протеолітичної деградації та передбачуваної вторинної структури запропоновано модель більшої *h*-ізоформи кальдесмонової молекули (рисунок) [17]. Згідно з цією моделлю, молекула кальдесмону містить чотири домени, з'єднані між собою рухливими ділянками поліпептидного ланцюга. N-кінцева частина молекули (амінокислотні залишки 1—170) витягнута і може включати  $\alpha$ -спіральні ділянки. Другий домен (залишки 171—480) — це центральна спіралізована ділянка, яка на електронних мікрофотографіях виглядає як паличкоподібна структура довжиною 30—40 нм. Третій домен — також  $\alpha$ -спіраль, стабілізована внутрі-



Структурні домени *h*-кальдесмону [58]: *a* — стрілками вказано на місця травлення  $\alpha$ -хімотрипсином *h*-кальдесмону із м'язового шлунка курчат; *b* — хімотриптичні пептиди, назва яких походить від їх уявних молекулярних мас, визначених при SDS-гель-електрофорезі. В літературі зустрічається розбіжність у визначенні уявних молекулярних мас, наприклад, пептид «40 К» відомий ще як «35 Кр» [36]

шньо спіральними сольовими містками; цей домен містить послідовність, подібну до тропоніну-Т (залишки 509—565). Довжина цього домена близько 20 нм. Четвертий домен, що включає С-кінцеві залишки 590—756, — це складчаста ділянка, бідна на регулярну вторинну структуру. Для меншої ізоформи кальдесмону характерна відсутність другого домена. У кальдесмона ссавців довжина проміжного пептиду, що зв'язує перший та третій домени, значно більша: 97 амінокислотних залишків у пацюка, 96 — у людини, тоді як в молекулі кальдесмону з м'язового шлунка курчат — лише 69 [17].

Альтернативну модель кальдесмонової молекули, яка містить не чотири, а шість доменів, недавно було розглянуто в роботах [29, 30].

Взаємодія кальдесмону з білками тонких і товстих філаментів. Найхарактернішою властивістю кальдесмону є його здатність до зв'язування з F-актином, яку було продемонстровано методами вискозиметрії, седиментаційного аналізу [1, 9, 32], електронної мікроскопії [10, 11], а також шляхом вимірювання флюоресценції актину, міченого піренілом [33]. Згодом було встановлено, що кальдесмон взаємодіє також з мономерним актином; при цьому він впливає на стадію нуклеації мономерів актину та ініціює полімеризацію за умов, коли спонтанної полімеризації актину не відбувається. Концентрація кальдесмону, необхідна для ініціації полімеризації, набагато вища від тієї, що потрібна для нуклеації: максимальна полімеризація спостерігалася при молярному співвідношенні G-актину до кальдесмону 3:1 [34].

Індуковані у присутності кальдесмону полімери актину не відрізняються від таких, що утворилися у сольовому розчині, хоча вони здаються більш жорсткими, а при підвищенні співвідношення кальдесмону до актину виявляють тенденцію до утворення сітки [35]. Полімеризацію G-актину кальдесмоном можна пояснити неспецифічною електростатичною взаємодією між позитивно зарядженими молекулами кальдесмону та від'ємно зарядженими молекулами актину, що зменшує взаємне відштовхування молекул актину [35].

Кальдесмон є одним з білків, що зв'язується з кальмодуліном [22, 24, 25]. Зв'язування його з [ $^3\text{H}$ ]-кальмодуліном було продемонстровано різними методами [36—38], в тому числі шляхом вимірювання триптофанової флюоресценції [24]. Зв'язування кальдесмону з кальмодуліном змінює структуру першого і відбувається лише у присутності  $\text{Ca}^{2+}$ .

Відомо, що Са-залежне зв'язування кальдесмону з кальмодуліном перешкоджає зв'язуванню кальдесмону з актином [1]. Найпростішим поясненням цього факту може бути те, що кальдесмон зв'язується або з F-актином, або з кальмодуліном, тобто асоціація кальдесмону з F-актином залежить від Са-залежного зв'язування кальмодуліну з кальдесмоном. Ця модель підтверджується і дослідженням в'язкості [1]: збільшення в'язкості суміші F-актину з кальдесмоном у порівнянні з в'язкістю чистого F-актину

вказує на взаємодію цих білків. Взаємодії не спостерігалось, коли до суміші додавали кальмодулін та  $\text{Ca}^{2+}$ . Більше того, додавання кальмодуліну порушувало вже існуючу взаємодію кальдесмону з F-актином, про що судили за зниженням в'язкості до рівня такої чистої актину, а також за результатами ультрацентрифугування [6, 35]. Індуковані кальдесмоном пучки F-актину розпадалися у присутності кальмодуліну та  $\text{Ca}^{2+}$ , але залишалися інтактними за відсутності  $\text{Ca}^{2+}$ .

Зв'язування кальдесмону з тропоміозином гладеньких м'язів досліджували з використанням ліганд-чутливої флюоресцентної мітки, яка зв'язується із залишками цистеїну у цих білках [39]. Взаємодію було продемонстровано також шляхом аналізу впливу кальдесмону на в'язкість тропоміозину [40] та зв'язування кальдесмону на афінній колонії сефарози [41]. Стехіометрія взаємодії дорівнює 1:1.

Зв'язування кальдесмону з актином та тропоміозином збалансоване таким чином, що тропоміозин підвищує спорідненість кальдесмону до актину [41], актин підвищує цю властивість тропоміозину до кальдесмону у 5 разів [19], а кальдесмон, у свою чергу, підвищує спорідненість тропоміозину до актину [20].

Унікальність кальдесмону полягає у тому, що він одночасно може зв'язуватися як з актином, так і з міозином гладеньких м'язів. Константа зв'язування дорівнює  $10^6 \text{ M}^{-1}$  у  $10 \text{ mM KCl}$  [17]; спорідненість залежить від концентрації солі, але обидві ізоформи КДh та КДl зв'язуються з міозином з однаковою спорідненістю [17].

Основний сайт зв'язування міозину на молекулі кальдесмону — це домен 1, оскільки N-кінцеві фрагменти 1—150 та 1—165/170 зв'язуються на афінній міозиновій колонії, а C-кінцеві фрагменти — ні [42]. Ділянка зв'язування кальдесмону на молекулі міозину — це субфрагмент С-2. Міозин також зв'язується з кальдесмоном, коли той зв'язаний з актином [43] або входить до складу тонких філаментів [44]. Фактично вперше взаємодію кальдесмону з міозином було виявлено як міцне зв'язування важкого мероміозину (ВММ) гладеньких м'язів з комплексом актин — кальдесмон у присутності Mg-АТФ [43].

Кальпонін — це другий термостабільний білок, що зв'язується з кальмодуліном і актином. Вперше його було виділено із м'язового шлунка курчати [7]. Білки з високою імунореактивністю до антитіл кальпоніну і молекулярною масою, близькою до такої останнього, були пізніше виявлені в інших типах гладеньких м'язів (аорта, трахея, стравохід, шлунок) [45] і нем'язових клітинах (тромбоцити, фібробласти, наднирники) [7, 46]. Імунологічна перехресна реактивність кальпоніну з тропоніном-Т (це тропоміозин-зв'язуючий компонент тропоніну) свідчить про його здатність взаємодіяти з тропоміозином [47].

Кальпонін має дві форми ( $\alpha$  і  $\beta$ ) з ізоелектричними точками 9,91 та 9,95 відповідно [48]. Вони утворюються з одного гена внаслідок альтернативного розщеплення. сДНК-клонування та секвінування продемонстрували, що ці дві форми складаються з 292 (м. м. 32,3 кДа) та 252 (м. м. 29,1 кДа) амінокислотних залишків відповідно [48]. З використанням протеолітичної деградації кальпоніну показано, що тропоміозин- та кальмодулінзв'язуючі центри розташовані на N-кінці молекули (між амінокислотними залишками 7—144 та 52—144 відповідно) [49, 50], у той час як актин-зв'язуючий домен знаходиться близько від кальмодулінового центра, починаючи з середини молекули в напрямку С-кінця (145—182 залишки) [49].

Кальпонінова молекула має форму витягнутого еліпсоїда довжиною 16,2 нм і діаметром 2,6 нм [51], достатніми для перекриття трьох актинових субодиниць уздовж актинового філаменту.

Механізми функціонування кальдесмону та кальпоніну. Скорочення гладеньких м'язів регулюється фосфорилуванням регуляторних легких ланцюгів міозину [52, 53]. Не викликає сумнівів, що цей  $\text{Ca}^{2+}$ -кальмодулін-залежний процес відіграє найважливішу роль в активації  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФази міозину актином, циклованні поперечних містків та розвитку сили гладенькими м'язами. Однак є дані, які свідчать на користь існування в гладеньких м'язах механізму регуляції АТФазної активності актоміозину, пов'язаного з тонкими філаментами [54]. Білками-претендентами, які можуть виконувати подібні функції, є кальдесмон і кальпонін. Обидва при взаємодії з актином інгібують актин-активовану АТФазу фосфорильованого міозину як гладеньких, так і скелетних м'язів [41, 55—60], а також ковзання актинових філаментів уздовж міозинових філаментів *in vitro* [61, 62]. Вищезазначеного інгібіторного впливу обох білків (кальдесмону і кальпоніну) можна уникнути за допомогою надлишку  $\text{Ca}^{2+}$ -кальмодуліну [55—57, 59], який робить їх зв'язок з актином: слабкішим, або ж (*in vitro*) здійснюючи фосфорилування цих білків  $\text{Ca}^{2+}$ -кальмодулін-залежною протеїнкіназою II та протеїнкіназою С [58, 60, 63—66]. Однак слід відмітити, що, якщо кальдесмон-індуковане інгібування АТФази і ковзання тонких філаментів потенційно є тропоміозином, то інгібування кальпоніном не залежить від тропоміозину.

При використанні С-кінцевих фрагментів кальдесмону, які не мають міозин-зв'язуючого центра, показано, що інгібування актоміозинової АТФази корелює із послабленням зв'язування комплексу міозин — АТФ з актином незалежно від джерела міозину [31]. Більш того, було зроблено припущення, що кальдесмон інгібує АТФазу, конкуруючи з міозином за загальний зв'язуючий центр на актиновій молекулі. Дійсно, дослідження з використанням  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектроскопії, перехресного зшивання та імунологічні спроби виявили, що кальдесмон займає центри на субдоменах 1 та 2 актину, які включають N-кінцеві амінокислотні залишки 1—7, 18—24, 28—40 та С-кінцеву ділянку (358—373) і мають відношення до зв'язування міозинових головок [67—69].

З другого боку, результати електронно-мікроскопічних досліджень продемонстрували існування в умовах ригору третичного комплексу кальдесмон — актин — субфрагмент 1 (або ВММ) [70]. Подальші дослідження показали, що утворення цього комплексу супроводжується змінами у взаємодії актину з міозином [71]. При цьому ковалентне зв'язування 50 кДа домена субфрагмента 1 міозину з N-кінцевою частиною актину розривається, і тільки зв'язок з 20 кДа доменом субфрагмента 1 зберігає цей комплекс. Ці спостереження узгоджуються з результатами аналізу поляризації флуоресценції, які свідчать, що кальдесмон впливає на структуру актину, що й призводить до послаблення його зв'язку з субфрагментом 1 міозину [72]. Паралельне інгібування активної сили і жорсткості релаксованої фібрили в скелетних м'язах під впливом кальдесмону, яке спостерігали Чалович з співавт. [73], привело авторів до висновку, що кальдесмон блокує центри, придатні для слабкого прикріплення поперечних містків (субфрагмент 1), які, як відомо, необхідні для розвитку сили [74].

Альтернативний механізм інгібування актоміозинової АТФази кальдесмоном було запропоновано Марстоном і Редвудом [75, 76], які постулюють, що кальдесмон, як і тропонін I, уповільнює етап, лімітуючий швидкість гідролізу АТФ, тобто вивільнення неорганічного фосфату ( $\text{P}_i$ ). Такий механізм може мати місце лише в присутності тропоміозину, який розповсюджує інгібіторний сигнал (зменшення  $V_{\text{max}}$ ) від 1 до 14 контактів кальдесмону з актином на тонкому філаменті [76, 77].

Аналіз послідовності амінокислот у кальпоніні виявив гомологію його актин-зв'язуючої ділянки (залишки 146—171) з інгібіторним пептидом

тропоніну I та фрагментом кальдесмону, який містить центри слабого зв'язування з актином (залишки 498—520). Але, незважаючи на цю гомологію, кальпонін, на відміну від тропоніну I та кальдесмону, не взаємодіє з N-кінцевими кислотними амінокислотними залишками актину [49, 78]. Сегмент кальпоніну (залишки 142—147), який розпізнає зв'язуючий центр на актині [49], має амінокислотну послідовність, гомологічну такій більшості актин-зв'язуючих білків [79]. Досліди з перехресної зшивки показали, що кальпонін взаємодіє з C-кінцевою частиною актину (залишки 326—355) [49], яка є можливою областю для зв'язування міозину і тропоміозину [80].

Інгібування кальпоніном АТФазної активності перехресно зшитих акто—субфрагмент I свідчить про те, що кальпонінова регуляція не включає механізм простого стеричного блокування [78]. Найімовірніше це пояснюється тим, що зв'язування кальпоніну з актином викликає конформаційні зміни в актиновій молекулі, які призводять до зменшення його здатності активувати АТФазу при взаємодії з міозином. З цим положенням узгоджуються результати дослідження кінетичних механізмів інгібування АТФази кальпоніном: він значно зменшує  $V_{\max}$  і майже зовсім не впливає на  $K_{\text{ATPase}}$  [81]. Це свідчить про те, що кальпонін, в основному, контролює каталітичний етап (можливо, вивільнення  $P_i$ ) при гідролізі АТФ актоміозином. У присутності тропоміозину ефект кальпоніну на  $V_{\max}$  зменшувався [81] завдяки прямій взаємодії цих двох білків або ж непрямому ефекту одного з них на конформацію актинового філаменту.

Механізм, завдяки якому знімається викликане кальдесмоном і кальпоніном інгібування актоміозинової АТФази, до цього часу залишається темою для дискусій. Оскільки спорідненість кальмодуліну до цих двох білків у присутності  $\text{Ca}^{2+}$  низька ( $K_a \approx 10^5 \text{ M}^{-1}$ ) [82], а концентрація кальмодуліну, необхідна для повної дисоціації кальдесмону з актинових філаментів і повного зняття інгібування АТФази, висока ( $>10 \text{ мкМ}$ ) [78], то виникає питання, чи мають місце ці ефекти за фізіологічних умов. Більш того, існує припущення про те, що знімати інгібування *in vivo* може інший  $\text{Ca}^{2+}$ -зв'язуючий білок, який взаємодіє з кальдесмоном або кальпоніном. Так, зовсім недавно дві лабораторії повідомили про ізолювання  $\text{Ca}^{2+}$ -чутливого фактора із аорти вівці [83], який відрізняється від кальмодуліну, а також кальциклін-подібного білка з м'язового шлунка курчат [84]. На думку авторів цих робіт, обидва згадані білки здаються придатнішими, в порівнянні з кальмодуліном, для зняття інгібіторного ефекту кальдесмону або кальпоніну на  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФазу активність актоміозину. Але цей висновок потребує подальшого експериментального обґрунтування.

Інший можливий механізм усунення інгібування АТФази — це  $\text{Ca}^{2+}$ -залежне фосфорилування кальдесмону і кальпоніну. Було виявлено, що кальдесмон може фосфорилуватися *in vitro* п'ятьма різними кіназами ( $\text{Ca}^{2+}$ -кальмодулін-залежна протеїнкіназа II, протеїнкіназа C, калсінкіназа, протеїнкіназа A та cdc2-протеїнкіназа) і що  $\text{Ca}^{2+}$ -кальмодулін-залежна протеїнкіназа II та протеїнкіназа C роблять кальдесмон неактивним щодо його інгібіторного впливу на актоміозинову АТФазу [60, 63, 66, 85]. Проте в інших повідомленнях стверджується, що фосфорилування кальдесмону ендогенними кіназами не змінює функціональні властивості кальдесмону [43, 86]. Таким чином, роль, яку відіграє фосфорилування в інгібіторній активності кальдесмону гладеньких м'язів, на сьогодні досить суперечлива. Але останнім часом значна увага приділяється cdc2-протеїнкіназі, яка фосфорилує нем'язовий кальдесмон *in vivo* в процесі мітозу, викликаючи його дисоціацію з мікрофіламентів [87]. Виявилось, що центри, які фосфорилуються cdc2-кіназою, розташовані близько до актин-зв'язуючих центрів. Це узгоджується із зменшенням спорідненості кальдесмону до актину

при його фосфорилуванні [88].

Фізіологічне значення фосфорилування кальпоніну також не визначене. Зниження здатності фосфорильованого кальпоніну інгібувати актоміозинову АТФазу [60], ізолювання фосфатази кальпоніну із м'язового шлунка птахів [89] та фосфорилування кальпоніну в інтактних гладеньких м'язах трахеї собаки у відповідь на карбохолін [90] — все це є підтвердженням регуляції кальпонінової активності через зворотне фосфорилування. Але, з другого боку, є докази того, що кальпонін не фосфорилується в інтактних гладеньких м'язах багатьох тканин, таких як сонна артерія свині, м'язовий шлунок птахів, *taenia coli* морської свинки [91, 92].

Незважаючи на те, що функціональні властивості кальдесмону та кальпоніну *in vitro* підтверджують їх важливу роль в механізмах регуляції скорочення гладеньких м'язів, є багато біохімічних проблем стосовно цієї регуляції, які потребують подальшого вирішення. Фізіологічні ж експерименти, у яких показано, що кальдесмон викликає розслаблення хімічно скінованих фібрил [93, 94], узгоджуються з даними щодо інгібіторного ефекту останніх на актоміозинову АТФазу. В усякому випадку, на сьогодні можна стверджувати, що кальдесмон регулює скорочення гладеньких м'язів внаслідок базального інгібування їх активності, яке має місце в процесах підтримання тривкого тонуру цих м'язів.

Другою функціонально важливою властивістю кальдесмону є здатність цього білка перехресно зшивати тонкі та товсті філаменти [95] шляхом одночасного зв'язування його С-кінця з N-кінцевою ділянкою актину [68] та N-кінця — з субфрагментом 2 міозину [96]. Кальдесмон підсилює актин-міозинову взаємодію *in vitro* за рахунок утворення комплексу F-актин — кальдесмон — міозин [43]. Припускається, що утворення такого комплексу контролюється фосфорилуванням N-кінцевого домена кальдесмону  $Ca^{2+}$ -кальмодулін-залежною кіназою II, що призводить до повної втрати його спроможності зв'язуватися з міозином [42].

Постулюється, що перехресна зшивка актину і міозину кальдесмоном є відповідальною за «latch state» при тонічному скороченні м'язів [95—97], яке характеризується тривким підтриманням сили з низькими витратами енергії; цей процес пов'язаний із зменшенням концентрації  $Ca^{2+}$  і дефосфорилуванням міозину [98]. Але прийнятнішою є гіпотеза про участь кальдесмону в організації ансамблю скорочувального апарату в гладеньком'язових та нем'язових клітинах [17, 41, 53, 61]. Зарядки прив'язуванню актинових філаментів до міозину шляхом утворення комплексів актин — кальдесмон — міозин, кальдесмон може утримувати тонкі та товсті філаменти у реєстрі, забезпечуючи їх власну орієнтацію та просторове розташування в клітині, необхідне для ефективного розвитку сили.

Можливі шляхи регуляції скорочення гладеньких м'язів білками, розташованими на тонкому актиновому філаменті. Зіставлення властивостей кальдесмону і кальпоніну виявляє значну схожість між ними. Обидва білки є компонентами гладеньких м'язів, стійкими до термоденатурації та чутливими до протеолізу [52, 99]. І кальпонін, і кальдесмон містять у своїй структурі одну або декілька ділянок, гомологічних тропоміозин-зв'язуючим центрам тропоніну Т [61, 100], і взаємодіють з тропоміозином [19, 26, 101]. Як кальпонін, так і кальдесмон взаємодіють з  $Ca^{2+}$ -зв'язуючими білками [52, 54, 102, 103], які за певних умов можуть забезпечити часткову дисоціацію кальдесмону і кальпоніну з ниток актину або з комплексу з тропоміозином [54, 59]. Нарешті, і кальпонін, і кальдесмон інгібують АТФазу актоміозину, і їх інгібуючий ефект може бути знятий або під впливом  $Ca^{2+}$ -зв'язуючих білків [59, 104], або ж після фосфорилування різними  $Ca^{2+}$ -залежними протеїнкіназами [60, 85, 105]. Із вищевказаного випливає, що кальдесмон і кальпонін мають багато загальних властивостей.

Внаслідок цього виникають запитання: навіщо тонкі філаменти гладеньких м'язів містять у своєму складі два дуже схожих між собою білки і яким чином ці білки разом і поодиноці можуть регулювати взаємодію міозину з актином?

Сумарна концентрація актину в гладенькому м'язі більш як в 40 разів перевищує концентрацію кальдесмону [106]. В той же час при визначенні стехіометрії білків у виділених тонких філаментах співвідношення актин:кальдесмон варіює від 10:1 до 30:1 [107]. Таке варіювання може бути пов'язане з гетерогенністю тонких філаментів в гладеньких м'язах [108]. Очевидно, в останніх зустрічаються популяції тонких філаментів, які зовсім не містять кальдесмону, і в той же час існують такі філаменти, що містять його у досить великій кількості. В ході виділення може мати місце перерозподіл кальдесмону між різними тонкими філаментами [106]. Беручи до уваги те, що довжина молекули кальдесмону складає 75 або 150 нм [9, 109], можна припустити, що кальдесмон взаємодіє з двома або чотирма молекулами тропоміозину і перекриває 14 або 28 мономерів актину. Антитіла до нативного кальдесмону не мають чіткої періодичності на тонкому актиновому філаменті [106], що може свідчити про мозаїчне розташування кальдесмону на різних актинових філаментах. Наведені розрахунки [106, 110] вказують на те, що практично всі актинові філаменти містять кальпонін і тільки частина з них містить кальдесмон. Таким чином, існує популяція актинових філаментів, які містять обидва регуляторних білки. Поки що важко сказати, як ці білки взаємодіють між собою при регуляції взаємодії міозину з актином.

Отже, кальдесмон і кальпонін є регуляторними білками тонкого актинового філаменту гладеньких м'язів і деяких нем'язових клітин. Властивості цих білків багато в чому схожі з такими тропонінового комплексу, який бере участь у регуляції взаємодії міозину і актину в скелетних і серцевому м'язах. В той же час регуляція скорочувальної активності гладеньких м'язів складніша в порівнянні з регуляцією скорочення смугастих м'язів, а вивчення структури і функції кальдесмону і кальпоніну ще далеко від свого завершення.

*В. М. Данилова, Н. В. Куликова*

Кальдесмон и кальпонин—белки тонкого филамента гладких мышц: структура и механизмы функционирования

Резюме

*Обзор посвящен описанию структуры и свойств двух новых, недавно открытых белков гладких мышц, которые ассоциированы с тонкими филаментами. Проанализирована структура «тяжелой» изоформы кальдесмона, приведены данные о размещении участков взаимодействия кальдесмона с актином, кальмодулином, тропомиозином и миозином. Изложены современные представления о механизмах функционирования кальдесмона и кальпонина при регуляции взаимодействия миозина с актином.*

*V. M. Danilova, N. V. Kulikova*

Caldesmon and calponin — the thin filament associated proteins of smooth muscle: structure and mechanisms of functioning

Summary

*The structure and properties of two novel smooth muscle regulatory proteins associated with thin filament are reviewed. A detailed description of the «heavy» caldesmon isoform and of the localization of caldesmon interaction sites with actin, calmodulin, tropomyosin and myosin are given. Current conceptions concerning the mechanism of caldesmon and calponin function during regulation of myosin interaction with actin are considered.*



## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Sobue K., Muramoto Y., Fujita M., Kakiuchi S. Purification of a calmodulin-binding protein from chicken gizzard that interacts with F-actin // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1981.—78.—P. 5652—5655.
2. Bretscher A., Lynch W. Identification and localization of immunoreactive forms of caldesmon in smooth- and non-muscle cells: a comparison with the distributions of tropomyosin and  $\alpha$ -actinin // J. Cell. Biol.—1985.—100.—P. 1656—1663.
3. Graceffa P., Wang C.-L. A., Stafford W. F. Caldesmon. Molecular weight and subunit composition of *h*-caldesmon complementary DNA // J. Biol. Chem.—1988.—263.—P. 14196—14202.
4. Kakiuchi R., Inui M., Morimoto K. et al. Caldesmon, a calmodulin-binding, F-actin interacting protein, is present in aorta, uterus and platelets // FEBS Lett.—1983.—154.—P. 351—356.
5. Lash J. A., Haeblerle J. R., Hathaway D. R. Vascular smooth muscle caldesmon: actin-binding properties and effects on skeletal muscle acto-HMM ATPase activity // Biophys. J.—1985.—47.—P. 187a.
6. Sobue K., Tanaka T., Kanda K. et al. Purification and characterization of caldesmon<sub>77</sub>: a calmodulin-binding protein that interacts with actin filaments from bovine adrenal medulla // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1985.—82.—P. 5025—5029.
7. Takahashi K., Hiwada K., Kokubu T. Isolation and characterization of a 34000-dalton calmodulin- and F-actin binding protein from chicken gizzard smooth muscle // Biochem. and Biophys. Res. Commun.—1986.—141.—P. 20—26.
8. Furst D., Cross R. A., de Mey J. D., Small J. V. Caldesmon is an elongated, flexible molecule localized in the actomyosin domains of smooth muscle // EMBO J.—1986.—5.—P. 251—257.
9. Lynch W. P., Riseman V. M., Bretscher A. Smooth muscle caldesmon is an extended flexible monomeric protein in solution that can readily undergo reversible intra- and intermolecular sulfhydryl cross-linking // J. Biol. Chem.—1987.—262.—P. 7429—7437.
10. Moody C., Lehman W., Craig R. Caldesmon and the structure of smooth muscle thin filaments: electron microscopy of isolated thin filaments // J. Muscle Res. Cell Motil.—1990.—11.—P. 176—185.
11. Mabuchi K., Wang C.-L. A. Electron microscopic studies of chicken gizzard caldesmon and its complex with calmodulin // Ibid.—1991.—12.—P. 145—151.
12. Hayashi K., Kanda K., Kimizuka F. et al. Primary structure and functional expression of *h*-caldesmon complementary DNA // Biochem. and Biophys. Res. Commun.—1989.—164.—P. 503—511.
13. Bryan J., Lee R. Sequence of an avian non-muscle caldesmon // J. Muscle Res. Cell Motil.—1991.—12.—P. 372—374.
14. Dingus J., Hwo Sh., Bryan J. Identification by monoclonal antibodies and characterization of human platelet caldesmon // J. Cell. Biol.—1986.—102.—P. 1748—1757.
15. Hayashi K., Fujio Y., Kato I., Sobue K. Structural and functional relationships between *h*- and *l*-caldesmon // J. Biol. Chem.—1991.—266.—P. 355—361.
16. Novy R. E., Lin J. L.-C., Lin J. J.-C. Characterization of cDNA clones encoding a human fibroblast caldesmon isoforms and analysis of caldesmon expression in normal and transformed cells // Ibid.—P. 16917—16924.
17. Marston S. B., Redwood Ch. S. The molecular anatomy of caldesmon // Biochem. J.—1991.—279.—P. 1—16.
18. Haeblerle J. R., Hathaway D. R., Smith C. L. Caldesmon content of mammalian smooth muscles // J. Muscle Res. Cell Motil.—1992.—13.—P. 81—89.
19. Horiuchi K. Y., Chacko S. Interaction between caldesmon and tropomyosin in the presence and absence of smooth muscle myosin // Biochemistry.—1988.—27.—P. 8388—8393.
20. Yamashiro-Matsumura S., Matsumura F. Characterization of 83-kilodalton nonmuscle caldesmon from cultured rat cells: Stimulation of actin binding of nonmuscle tropomyosin and periodic localization along microfilaments like tropomyosin // J. Cell. Biol.—1988.—106.—P. 1973—1983.
21. Bartegi A., Fattoum A., Derancourt J., Kassab R. Characterization of carboxyl-terminal 10 kDa cyanogen bromide fragment of caldesmon as actin-calmodulin-binding region // J. Biol. Chem.—1990.—265.—P. 15231—15238.
22. Fujii T., Imai M., Rosenfeld G. C., Bryan J. Domain mapping of chicken gizzard caldesmon // Ibid.—1987.—262.—P. 2757—2763.
23. Redwood Ch. S., Marston S. B. Binding and regulatory properties of expressed functional domains of chicken gizzard smooth muscle caldesmon // Ibid.—1993.—268.—P. 10969—10976.
24. Szpacenko A., Dabrowska R. Functional domain of caldesmon // FEBS Lett.—1986.—202.—P. 182—186.
25. Yazawa M., Yagi K., Sobue K. Isolation and characterization of a calmodulin-binding fragment of chicken gizzard caldesmon // J. Biochem.—1987.—102.—P. 1065—1073.

26. *Katayama E., Horiuchi K. Y., Chacko S.* Characteristics of myosin and tropomyosin binding regions of smooth muscle caldesmon // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—1989.—**160**.—P. 1316—1322.
27. *Leszyk J., Mornet D., Audemard E., Collins J. H.* Amino acid sequence of a 15 kilodalton actin-binding fragment of turkey gizzard caldesmon: similarity with dystrophin, tropomyosin and tropomyosin-binding region of troponin T // *Ibid.*—P. 210—216.
28. *Zahn U., Wong S. S., Wang C.-L. A.* A calmodulin-binding peptide of caldesmon // *J. Biol. Chem.*—1991.—**266**.—P. 21810—21814.
29. *Czurylo E., Venyaminov S., Dabrowska R.* Studies on secondary structure of caldesmon and its C-terminal fragments // *Biochem. J.*—1993.—**293**.—P. 363—368.
30. *Dabrowska R.* Actin and thin-filament-associated proteins in smooth muscle // *Airways smooth muscle: Biochemical control of contraction and relaxation* / Eds D. Raeburn, M. A. Giermycz.—Switzerland: Birkhauser Verlag, 1994.—p. 37—57.
31. *Velaz I., Ingraham R. H., Chalovich J. M.* Dissociation of the effect of caldesmon on the ATPase activity and on binding of smooth heavy meromyosin to actin by partial digestion of caldesmon // *J. Biol. Chem.*—1990.—**265**.—P. 2929—2934.
32. *Bretscher A.* Smooth muscle caldesmon: rapid purification and F-actin cross-linking properties // *Ibid.*—1984.—**259**.—P. 12873—12880.
33. *Makuch R., Walsh M. P., Dabrowska R.* Localization of the calmodulin- and actin-binding domains at the C-terminus of caldesmon // *FEBS Lett.*—1989.—**247**.—P. 411—414.
34. *Makuch R., Kulikova N., Graziewicz M. et al.* Polymerization of actin induced by actin-binding fragments of caldesmon // *Biochim. et biophys. acta.*—1994.—**1206**.—P. 49—54.
35. *Galazkiewicz B., Mossakowska M., Osinska H., Dabrowska R.* Polymerization of G-actin by caldesmon // *FEBS Lett.*—1985.—**184**.—P. 144—149.
36. *Leszyk J., Mornet D., Audemard E., Collins J. H.* Caldesmon structure and function: sequence analysis of a 35 kDa actin- and calmodulin-binding fragment from the C-terminus of the turkey gizzard protein // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—1989.—**160**.—P. 1371—1378.
37. *Riseman V. M., Lynch W. P., Nefsky B., Bretscher A.* The calmodulin and F-actin binding sites of smooth muscle caldesmon lie in the carboxyl-terminal domain whereas the molecular weight heterogeneity lies in the middle of the molecule // *J. Biol. Chem.*—1989.—**264**.—P. 2869—2875.
38. *Wang C.-L. A., Wang Li-Wen C., Xu Shuang et al.* Localization of the calmodulin- and actin-binding sites of caldesmon // *Ibid.*—1991.—**266**.—P. 9166—9172.
39. *Fujii T., Ozawa J., Ogoma Y., Kondo Y.* Interaction between chicken gizzard caldesmon and tropomyosin // *J. Biochem.*—1988.—**104**.—P. 734—737.
40. *Graceffa P.* Evidence for interaction between smooth muscle tropomyosin and caldesmon // *FEBS Lett.*—1987.—**218**.—P. 139—142.
41. *Smith C. W., Pritchard K., Marston S. B.* The mechanism of  $Ca^{2+}$ -regulation of vascular smooth muscle thin filaments by caldesmon and calmodulin // *J. Biol. Chem.*—1987.—**262**.—P. 116—122.
42. *Sutherland C., Walsh M. P.* Phosphorylation of caldesmon prevents its interaction with smooth muscle myosin // *Ibid.*—1989.—**264**.—P. 578—583.
43. *Lash J. A., Sellers J. R., Hathaway D. R.* The effects of caldesmon on smooth muscle heavy actomeromyosin ATPase activity and binding of heavy meromyosin to actin // *Ibid.*—1986.—**261**.—P. 16155—16160.
44. *Marston S. B.* A tight binding interaction between smooth muscle native thin filaments and heavy meromyosin in the presence of MgATP // *Biochem. J.*—1989.—**259**.—P. 303—306.
45. *Takahashi K., Hiwada K., Kokubu T.* Occurrence of anti-gizzard P34K antibody cross-reactive components in bovine smooth muscles and non-smooth muscle tissues // *Life Sci.*—1987.—**41**.—P. 291—296.
46. *Takeuchi K., Takahashi K., Abe M. et al.* Co-localization of immunoreactive forms of calponin with actin cytoskeleton in platelets, fibroblasts and vascular smooth muscle // *J. Biochem.*—1991.—**109**.—P. 311—316.
47. *Takahashi K., Abe M., Hiwada K., Kokubu T.* A novel troponin T-like protein (calponin) in vascular smooth muscle: interaction with tropomyosin paracrystals // *Hypertension.*—1988.—**6**. Suppl. 4.—P. S40—S43.
48. *Takahashi K., Nadal-Ginard B.* Molecular cloning and sequence analysis of smooth muscle calponin // *J. Biol. Chem.*—1991.—**266**.—P. 13284—13288.
49. *Mezgueldi M., Fattoum A., Derancourt J., Kassab R.* Mapping of the functional domains in the amino-terminal region of calponin // *Ibid.*—1992.—**267**.—P. 15943—15951.
50. *Vancompernelle K., Gimona M., Herzog M. et al.* Isolation and sequence of a tropomyosin-binding fragment of turkey gizzard calponin // *FEBS Lett.*—1990.—**274**.—P. 146—150.
51. *Stafford W. F., Mabuchi K., Takahashi K., Tao T.* Physical properties of calponin // *Biophys. J.*—1993.—**64**.—P. A31.
52. *Marston S. B.* The regulation of smooth muscle contractile proteins // *Progr. Biophys. and Mol. Biol.*—1982.—**41**.—P. 1—41.

53. Walsh M. P. Calcium-dependent mechanism of regulation of smooth muscle contraction // *Biochem. Cell. Biol.*—1990.—69.—P.771—800.
54. Marston S. B., Smith C. W. J. The thin filaments of smooth muscles // *J. Muscle Res. Cell Motil.*—1985.—6.—P. 669—708.
55. Давидова В. М., Куликова Н. В., Трегубов В. С. и др. Кальдесмон — Ca<sup>2+</sup>-регуляторная белковая компонента нативных тонких филаментов гладких мышц аорты // *Биополимеры и клетка.*—1995.—11, № 5.—С. 28—36.
56. Abe M., Takahashi K., Hiwada K. Effect of calponin on actin-activated myosin ATPase activity // *J. Biochem.*—1990.—108.—P. 835—838.
57. Dabrowska R., Goch A., Galazkiewicz B., Osinska H. The influence of caldesmon on ATPase activity of the skeletal muscle actomyosin and bundling of actin filaments // *Biochim. et biophys. acta.*—1985.—842.—P. 70—75.
58. Ngai P. K., Walsh M. P. Inhibition of smooth muscle actin-activated myosin Mg<sup>2+</sup>-ATPase activity by caldesmon // *J. Biol. Chem.*—1984.—259.—P. 13656—13659.
59. Sobue K., Morimoto M., Inui M. et al. Control of actin-myosin interaction of gizzard smooth muscle by calmodulin- and caldesmon-linked flip-flop mechanism // *Biomed. Res.*—1982.—3.—P. 188—196.
60. Winter S. J., Walsh M. P. Smooth muscle calponin: inhibition of actomyosin MgATPase and regulation by phosphorylation // *J. Biol. Chem.*—1990.—265.—P. 10148—10155.
61. Haerberle J. R., Trybus K. M., Hemric M. E., Warshaw D. M. The effects of smooth muscle caldesmon on actin filament motility // *Ibid.*—1992.—267.—P. 23001—23006.
62. Shirinsky V. P., Biryukov K. G., Hettasch J. M., Sellers J. R. Inhibition of the relative movement of actin and myosin by caldesmon and calponin // *Ibid.*—P. 15886—15892.
63. Ikebe M., Hornik T. Determination of the phosphorylation sites of smooth muscle caldesmon by protein kinase C // *Arch. Biochem. and Biophys.*—1991.—288.—P. 538—542.
64. Scott-Woo G. C., Sutherland C., Walsh M. P. Kinase activity associated with caldesmon is Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent kinase II // *Biochem. J.*—1990.—268.—P. 367—370.
65. Umekawa H., Hidaka H. Phosphorylation of caldesmon by protein kinase C // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—1985.—132.—P. 56—62.
66. Winder S. J., Walsh M. P. Structural and functional characterization of calponin fragments // *Biochem. Int.*—1990.—22.—P. 335—341.
67. Adams S., Das Gupta G., Chalovich J. M., Reister E. Immunochemical evidence for the binding of caldesmon to the NH<sub>2</sub>-terminal segment of actin // *J. Biol. Chem.*—1990.—265.—P. 19652—19657.
68. Bartegi A., Fattoum A., Kassab R. Cross-linking of smooth muscle caldesmon to NH<sub>2</sub>-terminal region of skeletal F-actin // *Ibid.*—1990.—265.—P. 2231—2237.
69. Levine B. A., Moir A. J. G., Audemard E. et al. Structural study of gizzard caldesmon and its interaction with actin-binding involves residues of actin also recognized by myosin subfragment 1 // *Eur. J. Biochem.*—1990.—193.—P. 687—696.
70. Galazkiewicz B., Belagyi J., Dabrowska R. The effect of caldesmon on assembly and dynamic properties of actin // *Ibid.*—1989.—181.—P. 607—614.
71. Harricane M.-C., Fabbriozio E., Arpin E., Mornet D. Involvement of caldesmon at the actin-myosin interface // *Biochem. J.*—1992.—287.—P. 633—637.
72. Nowak E., Borovikov Yu. S., Dabrowska R. Caldesmon weakens the binding between myosin heads and actin in ghost fibers // *Biochim. et biophys. acta.*—1989.—999.—P. 289—292.
73. Brenner E., Yu L. C., Chalovich J. M. Parallel inhibition of active force and relaxed fiber stiffness in skeletal muscle by caldesmon: Implications for the pathway to force generation // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1991.—88.—P. 5739—5743.
74. Chalovich J. M., Yu L. C., Brenner B. Involvement of weak binding crossbridges in force production in muscle // *J. Muscle Res. Cell Motil.*—1991.—12.—P. 503—506.
75. Marston S. B. Aorta caldesmon inhibits actin activation of thiophosphorylated heavy meromyosin Mg<sup>2+</sup>-ATPase activity by slowing the rate of product released // *FEBS Lett.*—1988.—238.—P. 147—150.
76. Marston S. B., Redwood Ch. S. Inhibition of actin-tropomyosin activation of myosin MgATPase activity by the smooth muscle regulatory protein caldesmon // *J. Biol. Chem.*—1992.—267.—P. 16796—16800.
77. Horiuchi K. Y., Samuel M., Chacko S. Mechanism for inhibition of acto-heavy meromyosin ATPase by the actin/calmodulin binding of caldesmon // *Biochemistry.*—1991.—30.—P. 712—717.
78. Miki M., Walsh M. P., Hartshorne D. J. The mechanism of inhibition of the actin-activated myosin MgATPase by calponin // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—1992.—187.—P. 867—871.
79. Vancompernelle K., Vanderkerkhove J., Bubb M. R., Korn D. The interfaces of actin and *Acanthamoeba* actobindin. Identification of a new actin-binding motif // *J. Biol. Chem.*—1991.—266.—P. 15427—15431.
80. Kabsch W., Mannherz H. G., Suck D. et al. Atomic structure of the actin: DNase I complex

- // Nature.—1990.—347, N 6288.—P. 37—44.
81. Horiuchi K. Y., Chacko S. The mechanism for the inhibition of the actin-activated ATPase of smooth muscle heavy meromyosin by calponin // Biochem. and Biophys. Res. Commun.—1991.—176.—P. 1487—1493.
  82. Pritchard K., Marston S. B. Ca<sup>2+</sup>-calmodulin binding to caldesmon and the caldesmon-actin-tropomyosin complex. Its role in Ca<sup>2+</sup>-regulation of the activity of synthetic smooth-muscle thin filaments // Biochem. J.—1989.—257.—P. 839—843.
  83. Pritchard K., Marston S. B. The Ca<sup>2+</sup>-sensitizing component of smooth muscle thin filaments: Properties of regulatory factors that interact with caldesmon // Biochem. and Biophys. Res. Commun.—1993.—190.—P. 668—673.
  84. Mani R. S., McCubbin W. D., Kay C. M. Calcium-dependent regulation of caldesmon by an 11 kDa smooth muscle calcium-binding protein, caltropin // Biochemistry.—1992.—31.—P. 11896—11901.
  85. Tanaka T., Ohita H., Hidaka T., Sobue K. Phosphorylation of high-M<sub>r</sub> caldesmon by protein kinase C modulates the regulatory function of this protein on the interaction between actin and myosin // Eur. J. Biochem.—1990.—188.—P. 495—500.
  86. Pinter K., Marston S. B. Phosphorylation of vascular smooth muscle caldesmon by endogenous kinase // FEBS Lett.—1992.—305.—P. 192—196.
  87. Yamashiro S., Yamakita Y., Hosoya H., Matsumura F. Phosphorylation of nonmuscle caldesmon p34<sup>cdc2</sup> kinase during mitosis // Nature.—1991.—349.—P. 169—172.
  88. Mak A. S., Watson M. H., Litwin C. M. E., Wang J. H. Phosphorylation of caldesmon by cdc2 kinase // J. Biol. Chem.—1991.—266.—P. 6678—6681.
  89. Winder S. J., Pato M. D., Walsh M. P. Purification and characterization of calponin phosphatase from smooth muscle. Effect of dephosphorylation on calponin function // Biochem. J.—1992.—286.—P. 197—203.
  90. Pohl J., Walsh M. P., Gerthoffer W. T. Calponin and caldesmon phosphorylation in canine tracheal smooth muscle // Biophys. J.—1991.—59.—P. 58a.
  91. Barany M., Rokolya A., Barany K. Absence of calponin phosphorylation in contracting or resting arterial smooth muscle // FEBS Lett.—1991.—279.—P. 65—68.
  92. Gimona M., Sparrow M. P., Strasser P. et al. Calponin and SM 22 isoforms in avian and mammalian smooth muscle. Absence of phosphorylation *in vivo* // Eur. J. Biochem.—1992.—205.—P. 1067—1075.
  93. Szpacenko A., Wagner J., Dabrowska R., Ruegg J. C. Caldesmon-induced inhibition of ATPase activity of actomyosin and contraction of skinned fibers of chicken gizzard smooth muscle // FEBS Lett.—1985.—192.—P. 9—12.
  94. Taggart J. M., Marston S. The effects of vascular smooth muscle caldesmon on force production by sensitized skeletal muscle fibers // Ibid.—1988.—242.—P. 171—174.
  95. Marston S. B. What is latch? New ideas about tonic contraction in smooth muscle // J. Muscle Res. Cell Motil.—1989.—10.—P. 97—100.
  96. Ikebe M., Reardon S. Binding of caldesmon to smooth muscle myosin // J. Biol. Chem.—1988.—263.—P. 3055—3058.
  97. Walsh M. P., Sutherland C. A model for caldesmon in latch-bridge formation in smooth muscle // Adv. Exp. Med. Biol.—1989.—255.—P. 337—346.
  98. McDaniel N. L., Rembold C. M., Murphy R. Covalent cross-bridge regulation in smooth muscle // Ann. N.Y. Acad. Sci.—1990.—599.—P. 66—74.
  99. Sobue K., Kanda K., Tanaka T., Ueki N. Caldesmon: a common actin-linked regulatory protein in the smooth muscle and non-muscle contractile system // J. Cell. Biol.—1988.—37.—P. 317—325.
  100. Shirinsky V. P., Biryukov K. G., Vorotnikov A. V., Gusev N. B. Caldesmon<sub>150</sub>, caldesmon<sub>77</sub> and skeletal muscle troponin T share a common antigenic determinant // FEBS Lett.—1989.—251.—P. 65—68.
  101. Chalovich J. M. Caldesmon and thin-filament regulation of muscle contraction // Cell Biophys.—1988.—12.—P. 469—472.
  102. Sobue K., Sellers J. R. Caldesmon, a novel regulatory protein in smooth muscle and non-muscle actomyosin systems // J. Biol. Chem.—1991.—266.—P. 12115—12118.
  103. Takahashi K., Hiwada K., Kokubu T. Vascular smooth muscle calponin. A novel troponin T-like protein // Hypertension.—1988.—11.—P. 620—626.
  104. Marston S. B., Pritchard K., Redwood C., Taggart M. Ca<sup>2+</sup>-regulation of the thin filaments: biochemical mechanism and physiological role // Biochem. Soc. Trans.—1988.—16.—P. 494—497.
  105. Ngai P. K., Walsh M. P. The effects of phosphorylation of smooth muscle caldesmon // Biochem. J.—1987.—244.—P. 417—425.
  106. Lehman W., Craig R., Lui J., Moody C. Caldesmon and the structure of smooth muscle thin filaments: immunolocalization of caldesmon on thin filaments // J. Muscle Res. Cell Motil.—1989.—10.—P. 101—112.
  107. Nishida W., Abe V., Takahashi K., Hiwada K. Do thin filaments of smooth muscle contain

- calponin? A new method for preparation // FEBS Lett.—1990.—268.—P. 165—168.
108. *Gimona M., Herzog M., Wandekerckhove J., Small J. V.* Smooth muscle specific expression of calponin // *Ibid.*—274.—P. 159—162.
109. *Birukov K. G., Shirinsky V. P., Vorotnikov A. V., Gusev N. B.* Competitive binding of the troponin T-specific pool of caldesmon antibodies and tropomyosin to skeletal troponin T and smooth muscle caldesmon // *Ibid.*—262.—P. 263—265.
110. *Marston S. B., Smith C. W. J.* Purification and properties of Ca<sup>2+</sup>-regulated thin filaments and F-actin from sheep aorta smooth muscle // *J. Muscle Res. Cell Motil.*—1984.—5.—P. 559—575.