Original Articles Korean Circulation J 1998;28(10):1760-1766

사람에서 정상발달과정과 부전심근, 비후심근에서의 Troponin T, I isoform 발현의 변화

서울대학교 의과대학 내과학교실,[1] 동아대학교 의과대학 내과학교실,[2]
서울대학교 의학연구원 심장연구소[3]
김용진[1,3] · 김상현[1,3] · 김석연[1] · 김효수[1,3] · 김영대[2] · 이명묵[1,3]

Troponin T and I Expression in Failing and Hypertrophic Heart, and during Normal Development in Human

Yong-Jin Kim, MD[1,3], Sang-Hyun Kim, MD[1,3], Seok-Yeon Kim, MD[1], Hyo-Soo Kim, MD[1,3], Young-Dae Kim, MD[2] and Myoung-Mook Lee, MD[1,3]

[1]Department of Internal Medicine, Seoul National University College of Medicine, Seoul,
[2]Department of Internal Medicine, Dong-A University College of Medicine, Pusan,
[3]Heart Research Institute of Seoul National University, Seoul, Korea

ABSTRACT

Background and Objectives : Human Troponin T & I (TnT, TnI) has several isoforms which have different functional property. This study was designed to describe the isoform expression of TnT & TnI in failing and hypertrophic human heart and during normal development. **Materials and Method** : Myocardium was attained from hypertrophic hearts (N=10) of TOF patients who underwent myomectomy, from failing hearts (N=10) of transplant recipients, from normal hearts (N=5) of patients in brain death and from aborted fetal hearts (N=5). After the extraction of RNA, RT-PCR was performed for TnT & TnI isoforms and GAPDH to evaluate the isoform expression qualitatively and quantitatively. **Results** : In terms of TnI, slow skeletal TnI was expressed more than cardiac TnI in fetal hearts[ratio of Troponin over GAPDH (R)=1.3 : 0.5] but cardiac TnI was dominant in adult hearts (R=0.3 : 1.1) ($p<0.05$). Failing hearts showed similar pattern with adult hearts (R=0.3 : 1.2) and hypertrophic hearts showed the intermediate pattern (R=0.9 : 1.3). In terms of TnT, T1 and T3 were expressed in fetal hearts (R=0.04, 0.8) but only T3 was expressed in adult hearts (R=1.1). Failing hearts and hypertrophic hearts showed similar pattern with adult hearts and no differences in the amount of expression (R=1.4, 1.3). **Conclusion** : There is isoform switch from fetal to adult form during development and it might be responsible for the differences of myocardial functional property between fetal and adult heart. Failing and hypertrophic hearts showed no differences with normal hearts, which means the isoform switch of TnT & I might have no significant role in functional disturbances in these conditions. **(Korean Circulation J 1998;28(10): 1760-1766)**

KEY WORDS : Troponin isoform · Development · Failing heart · Hypertrophic heart.

논문접수일 : 1998년 8월 25일
심사완료일 : 1998년 10월 20일
교신저자 : 이명묵, 110 - 744 서울 종로구 연건동 28 서울대학교 의과대학 내과학교실
전화 : (02) 760 - 3285 · 전송 : (02) 3673 - 2913
E - mail : mmlee@medicine.snu.ac.kr

서 론

Troponin T, I, C 세 개의 단백질로 이루어진 troponin complex는 횡문근의 thin filament에 존재하면서 tropomyosin과 함께 actin-myosin 상호작용과 근수축에 중요한 역할을 한다.[1)2)] 이들 단백질의 역할이 모두 밝혀져 있지는 않지만 세포내 칼슘농도의 변화에 대한 근수축의 조절에 중요한 역할을 한다는 보고가 있으며[3)] 그 외에도 myofibrillogenesis 등 여러 분야에 관여한다는 연구보고가 발표되고 있다.[4)5)]

Troponin은 사람과 동물 모두에서 여러 isoform으로 존재하는 것이 밝혀져 있다. Troponin T(TnT)의 경우 한 개의 유전자에서 alternative splicing에 의해 여러 개의 isoform으로 나타난다.[6)] 쥐와 닭에서 5′ 부위의 alternative splicing에 의해 2개의 isoform이 나타나며[7)] 토끼의 경우 5′과 3′ 부위의 alternative splicing에 의해 여러 개의 isoform이 나타난다는 것이 알려져 있다.[8)] 사람의 심장에서는 현재까지 T1, T2, T3, T4 등 4개의 isoform이 발견되었다.[9)] 한편 troponin I의 경우 fast skeletal, slow skeletal, cardiac troponin I 등 3개의 isoform이 있으며 사람의 심장에서는 slow skeletal troponin I(ssTnI)와 cardiac troponin I(cTnI)의 두 가지가 발견되었다.[10)]

정상 발달과정에서 troponin isoform 발현의 변화가 나타난다는 것은 여러 연구를 통해서 잘 알려져 있고 이러한 troponin isoform의 변화는 근수축력 등 근육의 기능에 변화를 일으킬 수 있다. Nassar, McAuliffe 등은 토끼에서 정상발달과정에 따라 태아형에서 성인형으로 변화가 일어나며 이는 근수축기구의 칼슘감수성 변화와 연관된다고 보고하였고.[1)2)] Anderson 등은 사람에서 태아형에서 성인형으로의 TnT isoform의 변화가 나타나며 이는 ATPase 활성과 관련된다고 보고하였다.[9)] TnI의 경우도 ssTnI에서 cTnI로의 변화가 여러 차례 보고되었다.[10)11)] 이러한 isoform의 변화는 태아심장과 성인심장의 기능적 차이 즉 교감신경의 자극에 대한 심장의 반응, 저산소증에 대한 저항성 등에 영향을 미치는 중요한 요소로 생각되고 있다.[12)]

일부 연구에서 말기 심부전 환자에서 troponin isoform 발현의 변화가 나타나는 것으로 보고하였다. 이는 태아형의 isoform이 다시 발현되는 경우로 Anderson 등은 이러한 태아형 isoform의 재발현은 부전심근의 calcium activated myofibrillar ATPase activity의 감소와 관련된다고 보고하였다.[9)] Wolff 등도 부전심근에서 태아형의 재발현을 보고하였다.[13)] 하지만 이런 연구결과에 반대되는 결과도 보고되었다. Solaro 등[14)]은 10개의 부전심근 중 1개에서만 태아형의 재발현을 보았고 Mesnard 등[15)]도 부전심근의 절반에서만 태아형의 재발현을 관찰하였다. 또 Townsend 등[16)]은 Anderson이나 Wolff 등과는 다른 종류의 태아형이 재발현되는 것을 관찰하였다. 이런 상반된 연구결과는 실험방법이나 부전심근의 기저질환 등 여러 요소에 의한 것으로 생각되며 따라서 아직 이에 대한 결론은 분명하지 않은 상황이다. 부전심근 외에 비후심근에서의 발현양상에 관한 연구도 있는데 Theirfelder 등[17)]은 가족성 비후성 심근증 환자에서 여러 종류의 cardiac TnT 유전자의 변이를 관찰하였고, Cumming 등은 쥐에서 심근비후 모델을 만들어 관찰하였으나 isoform의 변화는 없었다고 보고하였다.[18)] 하지만 아직까지 사람의 압력과부하성 비후심근에서의 troponin isoform 발현에 관한 연구는 없다.

이에 저자들은 정상 한국인에서의 troponin isoform 발현양상을 알아보고 정상발달과정에서 troponin isoform 발현의 변화와, 상반된 결과가 발표되고 있는 부전심근에서 태아형의 재발현양상, 그리고 아직까지 보고된 바 없는 사람의 압력과부하성 비후심근에서 isoform의 발현양상을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

대상환자와 심근조직의 확보

정상성인의 심근, 태아 심근, 압력과부하성 비후심근, 부전심근의 네 군으로 나누어 심근 조직을 확보하였다. 정상성인의 심근(N=5)은 장기기증을 원하는 뇌사상태의 환자로 심장이외의 이유로 심장이식이 불가능했던 환자의 심장에서 얻었다. 태아의 심근(N=5)은 산모의 건강상 이유로 임신의 유지가 불가능하여 치료적 목적의 임신중절을 시행한 경우 부검을 시행하여 심근을 얻었다. 압력과부하성 비후심근(N=10)은 활로씨 4징으로 우심실 유출로의 근절제술을 시행한 환자의 절제된 심근을 얻었다. 부전심근(N=10)은 심장이식 수혜자의 말기 부전심장에서 얻었다. 이상의 과정은 모두 환자나 보호자의 동의하에 시행되었다. 각 군의 환자들의 임상적 특징을 살

펴보면 Table 1 3과 같다.

조직으로부터 RNA 추출

1) -70℃ 냉동 보관된 조직으로부터 RNAzol-B(CINNA/BioTECX LAB, Inc, 성분 : Guanidine thiocyanate, 2-Mercaptoethanol, Phenol)을 이용하여 다음과 같은 방법으로 RNA를 추출하였다. -70℃에 보관된 조직 100 mg에 RNAzol 2 ml을 넣은 후 분쇄기(homogenizer)를 이용하여 30초씩 3회 조직을 분쇄하였다. 분쇄된 조직 샘플에 1/10 부피의 chloroform을 넣고 15초간 세게 흔들고 얼음 속에서 15분간 반응시킨 후 15000 rpm으로 15분간 4℃로 원심분리하여 그 상층액을 얻었다. 이렇게 얻은 상층액에 같은 양의 isopropanol을 추가하여 잘 섞고 -20℃에서 45분간 반응시킨 후 15000 rpm으로 15분간 원심분리하여 RNA의 침전을 확인하고 75% ethanol로 세척한 후 12000 rpm으로 8분간 원심분리하여 RNA를 얻었다. 이와같은 RNA 침전에 0.5% SDS(sodium dodecylsulfate, pH 7.2)를 넣어 suspension을 얻었다. 이후 샘플은 -70℃ 또는 -20℃에서 보관하였다.

2) 각 샘플에서의 RNA 양은 파장 260 nm에서 spectrophotometer를 이용하여 측정하고 각 샘플에서 같은 양을 취하여 0.8% agarose gel(ethidium bromide stained)에 전기 영동한 후 UV transillluminator(UVP)로 관찰하여 RNA의 분해(degradation) 여부 및 각 샘플의 18S와 28S band를 통해 같은 양임을 확인하였다.

Table 1. Clinical characteristics of patients with heart failure

Age	Sex	Diagnosis	LVEF (%)
30	M	d-CMP	20
36	M	d-CMP	15
38	M	d-CMP	14
38	F	d-CMP	21
43	M	d-CMP	16
48	M	d-CMP	31
53	M	d-CMP	21
54	F	d-CMP	20
55	M	d-CMP	25
57	F	d-CMP	12
45.2±9.5	M : F=7 : 3		19.5±5.6

LVEF : left ventricular ejection fraction
d-CMP : dilated cardiomyopathy

Table 2. Clinical characteristics of normal heart donor

Age	Sex	Diagnosis	LVEF (%)	ECG
10	M	Anaphylaxis	NA	Normal
15	M	ICH	60	Normal
27	M	ICH	61	Normal
33	F	ICH	NA	Normal
59	F	ICH	NA	LVH
28.8±19.2	M : F=3 : 2			

LVEF : left ventricular ejection fraction
ICH : intracranial hemorrhage
LVH : left ventricular hypertrophy

RT-PCR(reverse transcription and polymerase chain reaction)

Reverse transcription

Promega사의 reverse transcription system을 사용하여 수행하였다. 각 환자에서 얻은 심근 조직으로부터 추출한 RNA를 각각 2 ug을 취하고, 여기에 25 mM $MgCl_2$ 4 ul, 10X buffer 2 ul, 10 mM dNTP mixture 2 ul, rRNasin ribonuclease inhibitor 0.5 ul, AMV reverse transcriptase 15 units를 혼합하고 최종 용량이 20 ul가 되게끔 RNase-free water를 넣었다. 42℃에서 30분간 반응시킨 후 99℃ 5분, 0℃ 5분씩 연속으로 처리하여 잔존한 reverse transcriptase를 불활성화시켰다.

PCR

TnI mRNA 발현양을 측정하기 위해 다음과 같은 pri-

Table 3. Clinical characteristics of patients with TOF

Age (mo)	Sex	Weight (kg)	Height (cm)	Diagnosis	RVSP (mmHg)
4	M	7.5	68	TOF, PDA	100
5	M	8.4	68	TOF, PDA	82
6	F	7.2	69	TOF	75
7	M	8	69	TOF	90
8	F	7.7	68	TOF, ASD	86
12	F	9.6	77	TOF	80
16	M	11.5	78	TOF	110
19	F	13.6	83	TOF	95
24	M	7.7	70	TOF	75
41	F	14.5	100	TOF	100
14.2± 11.5	M : F= 5 : 5	9.6± 2.7	75.0± 10.3		89.3± 11.8

TOF : tetralogy of Fallot PDA : patent ductus arteriosus
ASD : atrial septal defect
RVSP : right ventricular systolic pressure

mer를 제작하였다.

Cardiac troponin I
Upstream primer
5′ - ACCAGCCCCAATCGAACG - 3′
(134 nt – 151 nt)
Downstream primer
5′ - TCCGTGATGTTCTTGGTG - 3′
(443 nt – 460 nt)

Slow skeletal troponin I
Upstream primer
5′ - CTGAACAAGGTGCTGTCT - 3′
(49 nt – 67 nt)
Downstream primer
5′ - GAGTGAGCTGGGTTGGAG - 3′
(688 nt – 705 nt)

위의 primer로 cTnI는 327 염기의 길이를 가진 절편이, ssTnI는 657 염기의 길이를 가진 절편이 각각 증폭되도록 하였다.

TnT isoform의 primer는 Figs. 1 and 2에서 보듯이 TnT isoform의 product가 각각 15 염기 길이씩 차이가 나도록 고안하였다.

Reverse transcription product 20 ul 중 5 ul을 취하여 PCR 반응을 수행하였다. PCR 조건은 다음과 같으며, 사이클 수는 30, 35, 40회로 다양하게 시행하였다.

Denaturation	at 94,	for 60 sec
Annealing	at 60,	for 60 sec
Extension	at 72,	for 120 sec

Internal control로써 사용할 GAPDH(glyceralde - hyde - 3 - phosphate dehydrogenase)의 발현양을 측정하기 위한 primer는 GAPDH cDNA 염기배열 순서를 바탕으로 190 염기 길이의 절편이 증폭되도록 하였다.

Semiquantitation of RT - PCR products

RT - PCR products로 전기영동을 시행한 후 그 band의 면적과 densitometry를 이용하여 구한 density를 곱하여 발현양을 측정하고 internal control로 사용한 GAPDH의 발현양과 비교하여 semiquantitation을 시행하였다.

데이터의 통계

비모수검정법 중 Mann - Whitney법을 이용하여 통계처리하였으며 통계 프로그램은 SPSS를 이용하였다.

결 과

정상성인의 발현양상

정상성인에서는 TnI의 경우 cTnI가 주로 발현되면서 (cTnI/GAPDH(R) : 1.1±0.6), ssTnI도 소량 발현되었다(R : 0.3±0.2). 반면 TnT의 경우 T3만 발현되었다 (R : 1.1±0.7).

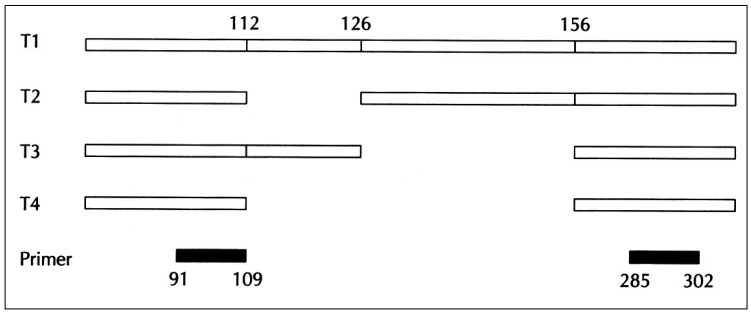

Fig. 1. Schematic illustration of cardiac troponin T cDNA and primer sequence (1 : transcription initiation site).

91 109
TACGAGGAGGAGGAGCAGGAA*GAAGCAGCTGTTGAAGAAGAGGAGGACTGG*
*AGAGAGGACGAAGAC*GAGCAGGAGGAGGCAGGAGGAGGCAGCGGAAGAGGA
TGCTGAAGCAGAGGCTGAGACCGAGGAGACCAGGGCAGAAGAAGATGAAGAA
GAAGAGGAAGGCAAGGAGGCTGAAGATGGCCCAATGGAGGAGTCCAAACCAA
AGCCCA 285
302

Fig. 2. Sequence and loci of primers (underline) for PCR and PCR product on cDNA of cardiac troponin T (1 : transcription initiation site, Italics : site of alternative splicing).

발달과정에 따른 isoform 발현의 변화

TnI의 경우 ssTnI 발현이 태아(R : 1.3±0.7)에 비해 정상성인(R : 0.3±0.2)에서 감소되었고($p<0.05$), cTnI는 태아(R : 0.5±0.2)에 비해 성인(R : 1.1±0.6)에서 증가하는 양상을 보였다($p=0.1$)(Figs. 3 - 6). TnT의 경우 태아에서는 성인에서 발현되지 않았던 T1(R : 0.04)이 T3(R : 0.8±0.2)와 함께 발현되었다(Fig. 6).

부전심근과 비후심근에서의 발현양상

부전심근의 경우 cTnI(R : 1.2±1.2)와 ssTnI(R : 0.3±0.4)의 발현양상이 정상성인과 같았으며, TnT도 T3만 발현(R : 1.4±1.7)되었고 그 발현양도 정상성인과 차이가 없었다. 비후심근의 경우도 T3(R : 1.3±1.5)만 발현되었다. 다만 TnI의 경우 cTnI(R : 1.3±0.8)와 ssTnI(R : 0.9±0.8)의 발현양상이 태아와 성인의 중간양상을 보였다(Figs. 4 - 6).

고 찰

본 실험에서, 정상성인의 심근에서는 TnT의 경우 T3만 발현되었고 TnI의 경우 cTnI가 주로 발현되었으며 ssTnI도 소량 발현되었다. 태아심근에서는 T3외에 T1이 함께 관찰되었고 성인심근과는 반대로 ssTnI가 주로 발현되었다. 부전심근이나 비후심근에서는 정상성인의 경우와 발현양상이 같았으며 다만 비후심근의 TnI 발현양상은 태아심근과 성인의 중간양상을 보였다.

사람에서 알려진 4개의 TnT isoform중 본 실험에서 T1과 T3만 발현된 것은 인종적인 차이나 실험방법의 민감도의 차이에서 비롯된 것으로 생각된다. Western blotting이나 RT - PCR을 통하여 troponin isoform을 증명한 과거 연구에서, T2와 T4는 그 발현양이 매우 적은 것으로 나타난 점은[6] 이를 뒷받침한다고 하겠다. 향후 인종이나 민족에 따른 isoform 발현양상의 차이는 계속 연구되어야 할 것으로 생각된다.

TnI isoform의 경우 정상발달과정에서의 발현양상은 이전의 다른 연구와 유사하였다. 다만 이전의 여러 연구에서는 ssTnI가 출생후 수주내에 소실되었으나 본 연구에서는 대부분의 성인에서 소량이 계속 발현되었다. 이는 사용한 실험방법의 민감도의 차이나 또는 대상 심근의 부위에 차이가 있었을 가능성이 있다. Gorza 등이 쥐에서 연구한 결과에 의하면 심방과 심실부위의 ssTnI 소실시기가 서로 달랐으며 전도계(conduction system)의

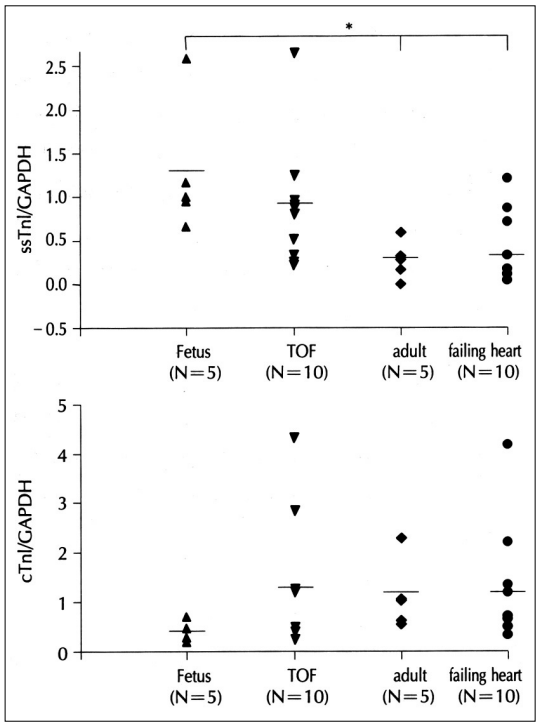

Fig. 3. Density of ssTnI & cTnI expression in 4 groups. (* : $p<0.05$, horizontal bar : average value)

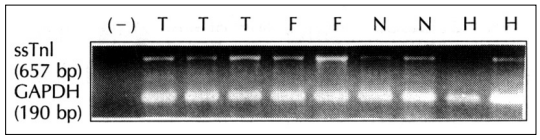

Fig. 4. Expression of slow skeletal troponin I in 4 groups. (F : fetus, N : normal adult, T : hypertrophic heart, H : failing heart)

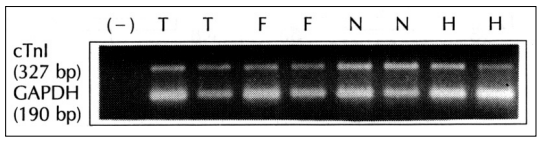

Fig. 5. Expression of cardiac troponin I in 4 groups (F : fetus, N : normal adult, T : hypertrophic heart, H : failing heart)

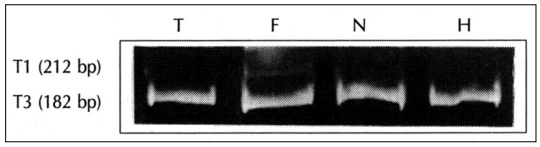

Fig. 6. Expression of cardiac troponin T in 4 groups. (F : fetus, N : normal adult, T : hypertrophic heart, H : failing heart)

심근세포에서는 ssTnI가 성장한 쥐에서도 계속 발현되었다.[19] 이는 심장의 부위별로 유전자 발현이 다르게 조절되고 있음을 의미하는 것으로 본 실험에서도 이런 심근조직의 부위에 따라 과거 연구와 다른 결과가 나타난 것으로 생각된다.

비후심근에서는 정상성인과 같은 발현양상을 보였다. 이는 Cumming 등의[18] 쥐실험과 부합되는 결과로, 압력과부하성 심근비후는 심근의 벽장력을 줄이기 위한 보상작용으로 troponin 유전자의 이상발현과는 관련없다는 것을 의미한다. 반면 Thierfelder의 연구[17]에서 보듯이 비후성 심근증과 같이 압력과부하 없이 생긴 심근비후의 경우 troponin의 유전자 이상이 관찰되어 결국 압력과부하성 심근비후와 비후성 심근증은 그 발병기전이 다른 것을 의미한다고 하겠다.

부전심근에서도 정상성인과 같은 발현양상을 보였다. 이는 앞서 언급한 몇몇 연구의 결과[20]와 반대되는 것으로 이런 결과는 확장성심근증, 허혈성 심근증 등 기저질환의 차이나 실험방법의 민감도의 차이로 생각된다.

결론적으로 정상발달에 따라 TnT, I의 유전자 발현이 다르게 조절되고 있으며, 심부전의 경우 과거의 연구와 종합하여 볼 때 기저 질환이나 환자의 임상적 특징에 따라 그 조절기전의 변화가 다르게 나타나는 것으로 추정된다. 또 압력과부하성 비후심근에선 그 조절기전의 변화가 나타나지 않았다. 향후 심부전에서 troponin isoform 유전자 발현을 변화시키는 기저질환이나 임상적 특징을 밝혀내어, 이 군에서 유전자 발현의 조절을 이용한 치료적 목적의 접근이 있어야 할 것으로 생각된다.

요 약

연구목적 :

Troponin T, I(TnT, TnI)는 여러 isoform으로 존재하며 이런 isoform의 변환은 근섬유의 기능적 변화를 유도한다. 본 연구에서는 인체심근에서 TnT, TnI의 isoform이 정상발달과정과 비후심근, 부전심근에서 어떻게 변환되는지 알아보고자 하였다.

방 법 :

TOF환자에서 근절제 수술로 얻은 심근(N=10), 심장이식 수혜자의 부전심근(N=10), 사산태아의 심근(N=5), 뇌사자의 정상심근(N=5)으로부터 RNA를 추출하여 TnT, TnI의 각 isoform과 GAPDH에 대한 RT-PCR을 시행한 후 TnT,I/GAPDH 비(R)를 구하여 정량적으로 평가하였다.

결 과 :

TnI의 경우, 태아심근에서는 주로 slow skeletal TnI가 cardiac TnI보다 많이 발현되었으나(R=1.3 : 0.5), 정상 성인에서는 반대로 cardiac TnI의 발현양이 많아서(R=0.3 : 1.1) 두 시기 사이에 의미있는 차이를 보였다($p<0.05$). 부전심근에서는 정상성인과 같은 양상(R=0.3 : 1.2)이었고, 비후심근은 태아와 성인의 중간양상(R=0.9 : 1.3)이었다. Cardiac TnT의 경우 태아심근에서는 T1과 T3 isoform(R=0.04, 0.75)이 발현된 반면에 정상 성인에서는 T3만(R=1.1)이 발현되었다. 부전심근과 비후심근은 정상 성인과 같은 양상이었으며 T3의 발현양(R=1.4, 1.3)에서도 유의한 차이가 없었다.

결 론 :

심근의 수축기구인 TnT, I는 정상발달과정에 따라서 태아형에서 성체형으로 전환되며 이는 태아와 성인사이의 심기능의 차이를 설명할 수 있으리라 생각된다. 반면 비후심근이나 부전심근과 같은 병적인 심근에서 isoform의 변환이 뚜렷하지 않다는 사실은, 근수축기구인 TnT, I 유전자의 조절에 미치는 영향에서 병적상황과 발생과정 사이에 차이가 있음을 시사한다.

중심 단어 : Troponin T and I · Isoform · 부전심근 · 비후심근 · 정상발달과정.

본 연구는 95 96 과학기술처 특정 연구개발사업 연구비의 지원으로 이루어졌음.

REFERENCES

1) McAuliffe JJ, Gao L, SolaroRJ. *Changes in myofibrillar activation and troponin C Ca^{2+} binding associated with troponin T isoform switching in developing rabbit heart. Circ Res 1990;66:1204-16.*
2) Nassar R, Malouf NN, Kelly MB, Oakeley AE, Anderson PAW. *Force-pCa relation and troponin T isoforms of rabbit myocardium. Circ Res 1991;69:1470-5.*
3) Solaro RJ, Van Eyk J. *Altered interactions among thin filament proteins modulate cardiac function. J Mol Cell Cardiol 1996;28:217-30.*
4) Ebstein HF, Fischman DA. *Molecular analysis of protein assembly in muscle development. Science 1991;251:1039-44.*
5) White SP, Cohen C, Phillips GN Jr. *Structure of cocrystals of tropomyosin and troponin. Nature 1987;325:826-8.*
6) Anderson PAW, Greig A, Marrk TM, Malouf NN, Oakeley AE, Ungerleidr RM, *et al. Molecular basis of human cardiac troponin T isoforms expressed in the developing,*

adult, and failing heart. Circ Res 1995;76:681-6.
7) Jin JP, Lin JJC. *Isolation and charactrization of cDNA clones encoding embryonic and adult isoforms of rat cardiac troponin T. J Biol Chem 1989;264:14471-7.*
8) Greig A, Hirschberg Y, Anderson Paw, Hainsworth C, Malouf NN, Oakeley AE, *et al. Molecular basis of cardiac troponin T isoform heterogeneity in rabbit heart. Circ Res 1994;74:41-7.*
9) Anderson PAW, Malouf NN, Oakeley AE, Pagani ED, Allen PD. *Troponin T isoform expression in humans. A comparison among normal and failing adult heart, fetal heart and adult and fetal skeletal muscle. Circ Res 1991; 69:1226-33.*
10) Hunkeler NM, Kullman J, Murphy AM. *Troponin I isoform expression in human heart. Circ Res 1991;69:1409-14.*
11) Sasse S, Brand NJ, Kyprianou P, Dhoot GK, Wade R, Arai M, *et al. Troponin I gene expression during human cardiac development and in end-stage heart failure. Circ Res 1993; 72:932-8.*
12) Solaro RJ, Kumar P, Blanchard EM, Martin AF. *Differential effects of pH on calcium activation of myofilaments of adult and perinatal dog hearts: Evidence for developmental differences in thin filaments regulation. Circ Res 1986;58:721-9.*
13) Wolff MR, Buck SH, Stoker SW, Greaser ML, Mentzer RM. *Myofibrillar calcium sensitivity of isometric tension is increased in human dilated cardiomyopathies. J Clin Invest 1996;98:167-76.*
14) Solaro RJ, Powers FM, Gao L, Gwathmey JK. *Control of myofilament actvation in heart failure. Circulation 1993;87 (suppl. VII):38-43.*
15) Mesnard L, Logeart D, Traviaux S, Diriong S, Mercadier JJ, Samson F. *Human cardiac troponin T cloning and expression of new isoforms in the normal and failing heart. Circ Res 1995;76:687-92.*
16) Townsend PJ, Barton PJR, Yacoub MH, Farza H. *Molecular cloning of human cardiac troponin T isoforms: Expression in developing and failing heart. J Mol Cell Cardiol 1995;27:2223-36.*
17) Thierfelder L, Watkins H, MacRae C, Lamas R, McKenna W, Vosbberg HP, *et al. α-tropomyosin and cardiac troponin T mutations cause familial hypertrophic cardiomyopathy: A disease of the sarcomere. Cell 1994;77:701-12.*
18) Cumming DVE, Seymour AM, Rix LK, Kellett R, Dhoot GK, Yacoub MH, *et al. Troponin I and T protein expression in experimental cardiac hypertrophy. Cardioscience 1995; 6:65-70.*
19) Gorza L, Ausoni S, Mercial N, Hastings KEM, Schiaffino S. *Regional differences in troponin I isoform switching during rat heart development. Dev Biol 1993;156:253-64.*
20) Rouiller LM, Mercadier JJ, Browne GB, Logeart D, Heimburger M, Allen PD, *et al. Troponin T mRNA and protein isoforms in the human left ventricle: Pattern of expression in failing and control hearts. J Mol Cell Cardiol 1997;29:3043-55.*