

## 骨格筋におけるミオシンアイソフォームの分布

—その種類, 収縮特性との関連およびトレーニングによる変化—

和田 正信\* 勝 田 茂\*\*

DISTRIBUTION OF MYOSIN ISOFORMS IN SKELETAL MUSCLE:  
VARIOUS KINDS, FUNCTIONAL SIGNIFICANCE, AND  
TRAINING-INDUCED CHANGE

MASANOBU WADA and SHIGERU KATSUTA

## I. は じ め に

これまで発育<sup>62,77)</sup>, 老化<sup>63)</sup>, 種々のトレーニング<sup>32,46,101)</sup>, あるいは後肢懸垂<sup>81)</sup>などに伴うミオシンの変化について数多くの研究がなされてきた。これはこのタンパクのアイソフォーム(isoform)の分布と収縮特性との間に密接な関連があり<sup>10,15,16,37,64,92,98)</sup>, ミオシンについての生化学的・組織化学的データから, 生理学的にも意義のある示唆が得られることに深く起因するものと思われる。

近年, 筋線維に発現しているミオシンアイソフォームの種類, トレーニングによるその変化, あるいはそれらと収縮特性との関係などについて, 幾つかの新たな知見が報告されるようになった。そこで, 本稿ではミオシンが収縮特性に及ぼす影響について再考する意味で, それらについてのレビューを試みた。

II. 筋原線維アクトミオシンアデノシントリ  
フォスファターゼに基づく筋線維の分類

筋原線維アクトミオシンアデノシントリフォスファターゼ(myofibrillar actomyosin adenosine triphosphatase; mATPase)活性は種々の要因により変化するが, pH に対する感受性に基づいて筋線維を分類する方法が最もよく用いられてきた。

Drewe & Enge<sup>28)</sup> および Guth & Samaha<sup>49)</sup> によって, 筋線維は組織化学的に酸に対しては mATP 活性を失わないがアルカリに対して失活するものと, その逆の反応を示すものがあることが明らかとなり(図1), 前者は type I 線維と後者は type II 線維と命名された。1971年に Barnard et al.<sup>11)</sup> は, 齧歯類骨格筋におけるこのような mATPase の組織化学的・生化学的特性と生理学的な収縮特性との関連を明らかにし, type I 線維を遅筋(slow-twitch; ST) 線維と, type II 線維を速筋(fast-twitch; FT) 線維と呼んだ(表1)。

Brooke & Kaiser<sup>19)</sup> は pH に対する感受性についての詳細な検討から, type II 線維を3種類のサブタイプに分け, pH 4.6 のプレインキュベーションで活性を完全に失うものを type IIA 線維と, 同じ pH に対して弱い活性を示すものを type IIB 線維と, pH 10.3~4.3 の全ての領域において活性を失わないものを type IIC 線維と呼んだ(図1および表1)。この pH に対する失活の割合によるタイプ分けおよび type I, IIA, IIB, IIC という呼称が, mATPase に基づく分類の中では最も頻繁に用いられてきた。

プレインキュベーションにおける type II 線維の mATPase の変化の割合は, pH に極めて大きく依存することは事実であるが, それだけではなく溶液中のイオン組成やバッファの種類などに

\*広島大学総合科学部  
〒739 東広島市鏡山1-7-1\*\*筑波大学体育科学系  
〒305 つくば市天王台1-1-1Faculty of Integrated Arts and Sciences, Hiroshima University, 1-7-1  
Kagamiyama, Higashihiroshima-shi  
Institute of Health and Sport Sciences, University of Tsukuba, 1-1-1  
Tennoudai, Tsukuba-shi

も影響を受ける。Gollnick & Hodgson<sup>39)</sup> は、ハロゲン族元素では pH 4.6 における type II 線維の mATPase 失活速度は  $I^- > Br^- > Cl^- > F^-$  の順で大きく<sup>79)</sup>、この順序がミオシンの等電点の変化の度合と同じであることから、酸性溶液中でこれらのイオンがミオシンの構造的変化を引き起こす部位と等電点をシフトさせる部位が同一であろうと推察している。この他にも type II 線維の mATPase は、ホルムアルデヒド<sup>42,49,50)</sup>、マグネシウムおよびカルシウム<sup>73)</sup>、あるいは銅イオン<sup>40,78)</sup> など多くの要因により変化することが示されている。

Gollnick et al.<sup>39,41)</sup> は、ラット骨格筋において pH 4.35 に対する mATPase 活性失活速度の異なる 3 種類の type II 線維が存在することを観察し、速度の速い順に type IIA 1, IIA 2, IIA 3 線維と呼んだが、これは Brooke & Kaiser<sup>19)</sup> が示す type IIA, IIB, IIC 線維と対応するものではない。また、彼らはヒラメ筋の type I (type  $I_{SM}$ ) 線維と足底筋の type I (type  $I_{MM}$ ) 線維とで組織化学的な mATPase 活性が異なることも示しており<sup>39,41)</sup> (表 1)、これらはいずれも従来考えられているより多くの種類のミオシンが存在する可能性を示唆するものである。

近年、齧歯類骨格筋において、Brooke & Kaiser<sup>19)</sup> の方法によって分類される type IIB 線維を、ホルマリンを含む溶液とアルカリ溶液 (pH 10.4) の 2 種類のプレインキュベーションを施すことによって、さらに 2 種類に細分できることが報告されている (図 1 および表 1)。細分された一方の線維には type IIB 線維の名称がそのまま用いられているが、もう一方の線維には Pette の研究グループ<sup>1,50,115)</sup> によっては、それが横隔膜 (Diaphragm) に多く存在することから頭文字をとって type IID 線維と、これに対して Gorza<sup>42)</sup> によっては type IIX 線維と命名された (表 1)。このように type IIB 線維と type IID 線維とを細分できるようになったのは比較的最近のことであり、従来の大部分の組織化学的研究において type IIB 線維といった場合、Brooke & Kaiser<sup>19)</sup> の分類方法に準じているため、Pette<sup>50)</sup> や

	Nomenclature of Brooke & Kaiser <sup>19)</sup>				
	I	IIC	IIA	IIB	
10.3	○	●	●	●	
4.6	●	●	○	●	
4.3	●	●	○	○	
F 10.4	○	?	●	●	
	I	IIC	IIA	IIB	IID
	Nomenclature of Pette & collaborators <sup>50,115)</sup>				

Fig. 1. Illustration of staining intensities for rat skeletal muscle fibers that are delineated by mATPase activities after preincubation at pH values 10.4, 10.3, 4.6 and 4.3. Abbreviation: F, formaldehyde. (Modified from Hamäläinen & Pette<sup>50)</sup>)

Gorza<sup>42)</sup> が示す type IIB 線維と type IID 線維とをひとまとめにしたものを指すことになる (図 1)。本稿では type IIB 線維と type IID 線維とを区別するために、齧歯類骨格筋において Brooke & Kaiser<sup>19)</sup> の示す type IIB 線維を指す場合、以後 type IIB/D 線維と記すことにする。なお、ヒト骨格筋では type IIB 線維を細分できたという報告はこれまでなされていない。表 1 にこれまで報告されてきた mATPase に基づく筋線維の分類法についてまとめた。

### Ⅲ. ミオシンの構造と種類

直径約 15 nm のミオシンフィラメントは、多数のミオシン分子が極性をもって重合したものであり、ミオシン 1 分子は分子量約 200 K ダルトンの重鎖 (heavy chain; HC) 2 分子と分子量 20 K ダルトン前後の軽鎖 (light chain; LC) 4 分子から構成されている (図 2)。

細胞内での働きは同じだが構造が若干異なるタンパクの一群を、それが触媒作用を持てばアイソザイム (isozyme) と、持たない場合はアイソフォーム (isoform) という。HC にも LC にも幾つかのアイソフォームが存在することが認められて

Table 1. Distinct classifications of skeletal muscle fiber based on myofibrillar actomyosin ATPase activity (mATPase). Slow-twitch, B, and I fibers are thought to be identical. Type I<sub>MM</sub> and I<sub>SM</sub> fibers are slow-twitch fibers that exist in the mixed muscle and in the soleus muscle, respectively. The staining pattern of type I<sub>MM</sub> fibers for mATPase after acid preincubation is different from that of type I<sub>SM</sub> fibers. A complete correspondence appears not to exist among any fast-twitch fiber subgroups identified on the basis of the different criteria for classifications with the exception of the subgroups of Brooke & Kaiser<sup>19)</sup> and of Mabuchi & Sreter<sup>73)</sup>. Although the staining methods used in their studies were not the same, type IIA and IIB fibers on the one hand are identical with type IIA and type IIB fibers on the other hand. Type IIX fibers are synonymous with type IID fibers.

Nomenclature	Animal	Criterion for classification	Reference
I & II	Human	a, c	Drews & Engel <sup>28)</sup>
Slow-twitch & Fast-twitch	Guinea pig	a	Barnard et al. <sup>11)</sup>
Slow-twitch & Fast-twitch	Human	a	Gollnick et al. <sup>38)</sup>
A, B & C	Rat	b	Samaha et al. <sup>93)</sup>
I, IIA, IIB & IIC	Rat, Rabbit & Human	c	Brooke & Kaiser <sup>19)</sup>
I, IIA & IIB	Rat, Rabbit & Human	d	Mabuchi & Sreter <sup>73)</sup>
I <sub>MM</sub> , I <sub>SM</sub> , IIA1, IIA2 & IIA3	Rat	e, f	Gollnick et al. <sup>40)</sup>
I, IIA, IIB & IIX	Rat, Mouse & Guinea pig	b, c	Gorza <sup>42)</sup>
I, IIA, IIB & IID	Rat, Rabbit, Mouse & Guinea pig	b, c	Hämäläinen & Pette <sup>50)</sup>

a, mATPase activity at pH 9.4 without preincubation.

b, Sensitivity to formalin and alkali preincubation.

c, Sensitivity to acid and alkali preincubation.

d, Mg<sup>2+</sup>-Ca<sup>2+</sup> stimulated mATPase activity at pH 9.4.

e, Time course of activation and inactivation during acid preincubation.

f, Sensitivity to copper.

おり、以下にそれらについて述べる。HC が mATPase 活性を有することからすると、厳密にはこのタンパクに対しては「アイソザイム」という用語を用いるべきであるが、おそらく LC に符合させてなのであろう、近年では「アイソフォーム」を用いることが多く、本稿においても統一して後者を使用することにする。

#### A. ミオシン重鎖

HC に slow type と fast type の 2 種類のアイソフォームがあることは早くから確認されていたが、fast type におけるサブタイプを明確に分析できるようになったのは比較的最近である。1986年に Daniel-Bette et al.<sup>26)</sup> が、翌1987年に Staron & Pette<sup>102,103)</sup> が、ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動法 (sodium dodecylsulfate polyacrylamide gel electrophoresis ;

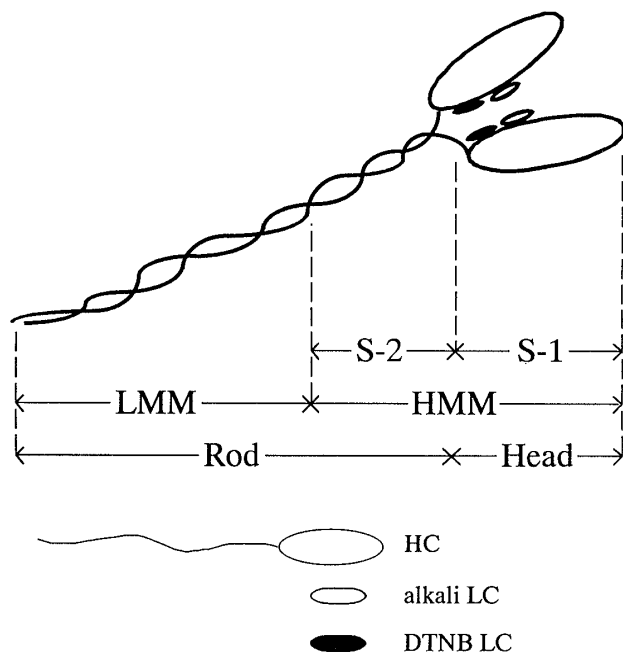


Fig. 2. Schematic illustration of myosin of molecule in the vertebrate skeletal muscle. All muscle myosins share the same basic substructure. Abbreviations: *LC*, myosin light chain; *HC*, myofin heavy chain; *DTNB*, 5, 5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid); *LMM*, light meromyosin; *HMM*, heavy meromyosin; *S*, subfragment.

SDS-PAGE) によって, 初めて fast type HC を 2 種類のサブタイプ (HClIA, HClIB) に分離することに成功し, Staron & Pette<sup>102,103)</sup> は, これらが組織化学的に同定される type IIA 線維と type IIB/D 線維に特異的に発現していることも合わせて証明した.

さらに, Schiaffino et al.<sup>99)</sup> は免疫組織化学的手法から, fast type HC に第 3 のアイソフォームが存在することを, また Bär & Pette<sup>8)</sup> はこのアイソフォームを SDS-PAGE によっても検出することが可能なことを報告した. Schiaffino et al.<sup>99)</sup> はこのアイソフォームを HClIX と, 一方 Bär & Pette<sup>8)</sup> は筋線維タイプのネーミングの時と同様にそれが横隔膜 (Diaphragm) に多く発現していたことから HClID と命名した(表 2).

ヒト骨格筋において, 齧歯類の HClID に相当する第 3 の fast type アイソフォームが存在するとする報告はこれまでなされていないが, ヒトとラットの HC の特性を免疫組織化学的に比較検

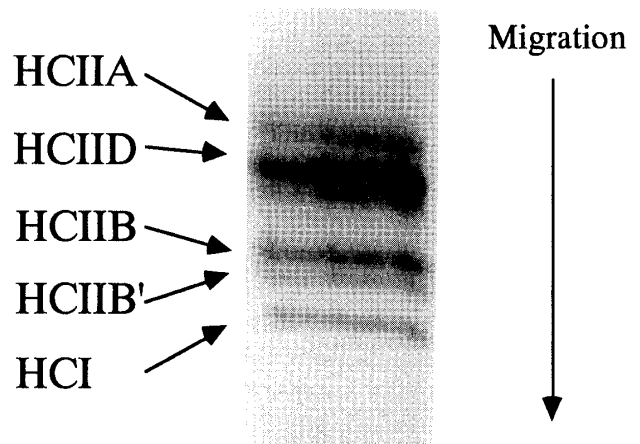


Fig. 3. Separation of myosin heavy chain isoforms in rat plantaris muscle by polyacrylamide gel electrophoresis. Abbreviations: HClIA, HClID, HClIB, HClIB', fast heavy chain isoforms; HClI, slow heavy chain. (Wada et al. unpublished)

討した Sant'Ana Pereira & Moorman<sup>94)</sup> および Ennion et al.<sup>30)</sup> の報告によれば, ヒトの HClIB はラットにおける HClIB よりむしろ HClID に類似した特性を有しているという.

Sawchak et al.<sup>96)</sup> は, HClIB において抗体に対する反応性の異なる 2 種類のあることを免疫電気泳動的に報告しており, これは fast type HC においてさらに未知のアイソフォームが存在することを示唆するものである. 筆者らは<sup>122)</sup>, SDS-PAGE において HClIB よりわずかではあるが移動速度の速いバンド (HClIB') を検出しており(図 3), これは Sawchak et al.<sup>96)</sup> の示す未知のアイソフォームと同一のものであるのかもしれない.

近年, ヒト<sup>95)</sup> およびラット<sup>31)</sup> の骨格筋において従来 1 種類だけの存在が示されてきた slow type HC (HClI) を, さらに 2 種類のアイソフォームに細分できることが報告され, Fauteck & Kandarian<sup>31)</sup> は新たに検出されたアイソフォームを HClIa と命名した(表 2). この HClIa がヒトやラット以外の種にも存在するのか, あるいは内因性・外因性の環境変化などに対応してその発現がどのように変わるのかなどについては, 今後さらに明確にされるべき課題である.

これまで述べてきたもの以外にも眼輪筋

Table 2. Various myosin heavy chain (HC) isoforms in mammalian muscles. HC  $\beta$  expressed in cardiac muscle is thought to be identical with HCl present in skeletal muscle. HClIB<sup>2</sup>, which was found by Sawchak et al.<sup>96)</sup> but not designated in their study, is an antigenically distinct isoform from HClIB. HCton is expressed in special slow tonic muscle such as extraocular muscle.

Source	Nomenclature	Reference	
Skeletal muscle	Fast-twitch	HClIA	Danieli-Betto et al. <sup>26)</sup>
		HClIB	Danieli-Betto et al. <sup>26)</sup>
		HClID/X	Bär & Pette <sup>8)</sup> Schiaffino et al. <sup>99)</sup>
	Extraocular	HClIB <sup>2</sup>	Sawchak et al. <sup>96)</sup>
		HCEom	Asmussen et al. <sup>6)</sup>
	Slow-twitch	HCl	Carraro & Catani <sup>21)</sup>
		HCl $\alpha$	Fauteck & Kandarian <sup>31)</sup>
		HClton	Pierobon-Bormioli et al. <sup>88)</sup>
	Embryonic	HCemb	Bär & Pette <sup>8)</sup>
		HCneo	Bär & Pette <sup>8)</sup>
Cardiac muscle	HC $\alpha$ card	Lompre et al. <sup>68)</sup>	
	HC $\beta$ card	Lompre et al. <sup>68)</sup>	

(extraocular muscle) の緊張性 (tonic) 線維においてのみ特異的にみられるアイソフォーム (HCton)<sup>88)</sup>, 同じく眼輪筋の速筋線維においてのみ存在するもの (HCEom)<sup>6)</sup>, あるいは胎生期や幼若期において一時的に発現するもの (HCemb, HCneo)<sup>8)</sup> など多くの種類のアイソフォームがある (表 2). 心筋には HC  $\alpha$ card と HC  $\beta$ card の 2 種類のアイソフォームがみられるが<sup>68)</sup>, HC  $\beta$ card と HCl とは構造的に同一のものであると考えられている<sup>55)</sup>.

HC は多重遺伝子族 (Multigene family) からコードされ<sup>76)</sup>, HC  $\alpha$ card および HCl/ $\beta$ card の遺伝子は第14染色体上に<sup>48)</sup>, 他のアイソフォームの遺伝子はヒトにおいては第17染色体上に, マウスでは第11染色体上に分布していることが明らかになっている<sup>65)</sup>. fast type HC に関して, HClIA および HClIB はそれぞれ特異的な遺伝子からコードされることが既に認められている<sup>75)</sup>. HClID については, HClIA や HClIB とは別個の遺伝子からコードされるのか, あるいはスプライシングなど転写後の調節作用によってつくられるのか近年まで明確でなかったが, DeNardi et al.<sup>27)</sup>

によって特異的な遺伝子の存在が示唆されている.

## B. ミオシン軽鎖

成熟した齧歯類の骨格筋においては, 速筋に多く存在する fast type LC (LCf) と遅筋に多くみられる slow type LC (LCs) とがある. LCf にはさらに 3 種類のアイソフォームがあり, それらは分子量の大きい順に LC 1f, LC 2f, LC 3f と呼ばれている. LCs にも 3 種類のアイソフォームがあり, LC 1sa, LC 1sb, LC 2s という (表 3).

LC 2 (LC 2f, LC 2s) は DTNB (5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)) 溶液中において HC から解離することから, それらを総称して DTNB LC と, それに対して LC 1 (LC 1f, LC 1sa, LC 1sb) と LC 3f はアルカリ溶液中で解離が起こることから, alkali LC と呼ばれている. ミオシン 1 分子は必ず 2 分子の alkali LC と 2 分子の DTNB LC を含んでいる (図 2).

LC 1f と LC 3f の構造を比較すると, C 末端側の 141 個のアミノ酸配列は同様であるが, それ以降の N 末端側の配列に幾つかの違いがみられ

Table 3. Various myosin light chain (LC) isoforms in mammalian muscles. The LC 1 sb of the masseter muscle is antigenetically different from the LC 1 sb of the slow-twitch muscle in rabbit. The "g" of myosin light chain in the smooth/non-muscle is an abbreviation of gizzard muscle. In the rodent muscle, LC 1 sb, LC 2 s, and LC 1 emb seem to be identical with LC 1 v, LC 2 v, and LC 1 a, respectively.

Source	Nomenclature	Reference
<b>Skeletal muscle</b>		
Fast-twitch	LC1f, LC2f & LC3f	Pette et al. <sup>87)</sup>
Slow-twitch	LC1sa, LC1sb & LC2s	Pinter et al. <sup>87)</sup>
Masseter	LC1sb	Biral et al. <sup>14)</sup>
Embryonic	LC1emb	Whalen et al. <sup>124)</sup>
<b>Cardiac muscle</b>		
Ventricular	LC1v & LC2v	Dalla-Libera <sup>25)</sup>
Atrial	LC1a & LC2a	Arnold et al. <sup>5)</sup>
Smooth / non-muscle	LC1g & LC2g	Burridge <sup>20)</sup>

る<sup>36)</sup>. また、鳥類と哺乳類とでは LC のアミノ酸配列が部分的に異なるのは当然であるが、鳥類と哺乳類の LC 1 f においてみられるアミノ酸配列の違いが、LC 3 f でも同様に観察されることが報告されている<sup>80)</sup>. これは、この2つのタンパクが同一の遺伝子からコードされ、スプライシングの過程において異なる mRNA が作られているためである<sup>83,85)</sup>.

LC 1 sa と LC 1 sb の相対的な発現量は種によって、また同一の個体であっても筋によって大きく異なり<sup>14,72)</sup>, 例えばラビットのヒラメ筋ではラットと比べ LC 1 sa を多く含み、LC 1 sa/LC 1 sb の比は約10倍高い<sup>113)</sup>. 成熟した個体の骨格筋に発現しているもの以外にも、胎生期にのみ特発的に発現するもの、心房、心室、咬筋、平滑筋などの特定の筋あるいは非筋細胞に特異的にみられるものなど多くのアイソフォームが存在する<sup>14, 20, 59, 107, 125)</sup> (表3). なお、齧歯類の LC 1 sb と LC 1 v, LC 2 s と LC 2 v および LC 1 emb と LC 1 a は電気泳動による挙動、免疫学的特性などに違いがみられないことから、同一の遺伝子から発現しているものである可能性が高い<sup>12)</sup>.

### C. アイソミオシン

ATP のアナログの1つであるピロリン酸ナト

リウムを用いたピロリン酸ポリアクリルアミドゲル電気泳動法 (pyrophosphate polyacrylamide gel electrophoresis: PPI-PAGE) は、ミオシンを非変性条件下、すなわち HC と LC が結合したままの状態、数種類のアイソフォームに分離する方法の中で最も頻繁に使われてきた方法であり、Hoh et al. <sup>52,53)</sup> や d'Albis et al. <sup>22~24)</sup> によって開発・改良されてきた。非変性条件下で分離されたミオシンのアイソフォームは通常「アイソミオシン」と呼ばれる。

非変性条件下での電気泳動が開発されてまず得られた知見は、slow type (slow myosin; SM) と fast type (fast myosin; FM) の2種類のアイソミオシンが存在し<sup>51)</sup>, FM はさらに3種類に分画されることである<sup>52)</sup>. この3種類の FM はゲル上における移動速度の速い順に FM 1, FM 2, FM 3 と呼ばれる<sup>22,53)</sup>. FM に含まれる LC のアイソフォームについては明確になっており、FM 1 は (LC 3 f)<sub>2</sub> (LC 2 f)<sub>2</sub> から、FM 2 は (LC 1 f) (LC 3 f) (LC 2 f)<sub>2</sub> から、また FM 3 は (LC 1 f)<sub>2</sub> (LC 2 f)<sub>2</sub> から構成されている<sup>33,34,53,118)</sup>. また、ゲル上において FM と SM との間に分画されるバンドが観察されることも報告されており<sup>23,34,118)</sup>, このアイソミオシンはインターメディアイトミオシン (intermediate myosin: IM) と命名された。IM を

構成する LC のアイソフォームについては必ずしも明確ではないが、遅筋から検出される IM は (LC 1 f) (LC 1 s) (LC 2 f)<sub>2</sub> を、それに対して速筋から検出される IM は (LC 1 f)<sub>2</sub> (LC 2 f)<sub>2</sub> を含んでいると考えられている<sup>23,34)</sup>。

SM に移動速度の異なる 2 種類のアイソミオシンがあることは、Pinter et al.<sup>89)</sup> によってはラットの筋において、Fitzsimons & Hoh<sup>33)</sup> によってはヒトの筋において最初に報告され、これらは FM と同様に移動速度の速い順に SM 1 および SM 2 と呼ばれた。SM のアイソミオシンを構成する alkali LC は種によって異なり、ヒトおよびラットでは SM 1 は LC 1 sa, SM 2 は LC 1 sb を<sup>33,113)</sup>、これとは逆にラビットでは SM 1 は LC 1 sb, SM 2 は LC 1 sa を含んでいると考えられている<sup>89)</sup>。また SM 1, SM 2 以外には、SM 1 よりさらに移動速度の速いアイソミオシン (SM'1) が認められることが報告されている<sup>47)</sup>。

既に述べたように、成熟した齧歯類では多くの骨格筋において HC については少なくとも 4 種類のアイソフォーム (HCI, HCHIA, HCHID, HCIIB)

が、LC についても 4 種類の alkali LC のアイソフォーム (LC1 sa, LC 1 sb, LC 1 f, LC 3 f) が発現している (表 2 および 3)。ミオシン 1 分子に含まれる 2 つの HC が異なる可能性、あるいは slow type LC と fast type LC がミオシン 1 分子中に混在している可能性を否定したとしても、これら HC および LC のアイソフォームの組み合わせからは、理論的には 12 種類のアイソミオシンが存在することになる。これまで最大で 7 種類のアイソミオシン (SM 1, SM'1, SM 2, IM, FM 1, FM 2, FM 3) しか観察されてこなかったのは、用いられた PPI-PAGE の解析能が十分でなかったか、あるいは HC と LC の各アイソフォーム間に特異的な親和性があり、理論的に考えられるような多量のアイソミオシンが実際には存在していないかのどちらかのためであると考えられる。

Termin & Pette<sup>112,113)</sup> は PPI-PAGE に改良を加えこの問題について検討し、PPI-PAGE におけるアイソミオシンの移動速度は含まれる LC のみならず HC によっても影響を受け、理論的に推測された 12 種類のアイソミオシンが検出されたこと

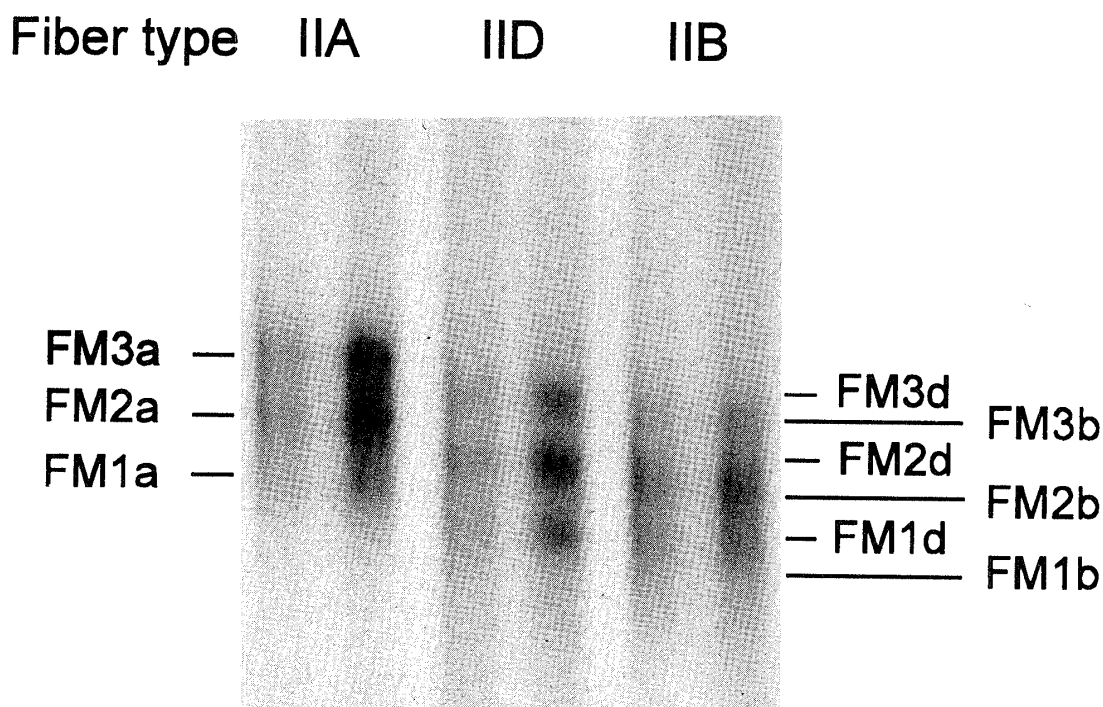


Fig. 4. Electrophoretic separation of isomyosin in single type IIA, IIB and IID fibers. Abbreviation: FM 1-3, fast myosin. (From Wada et al.<sup>119)</sup>)

Table 4. Rat skeletal muscle isomyosins and their subunit composition. Data are derived from studies of Termin & Pette<sup>112,113</sup> and Hoh & Yeoh<sup>53</sup>. The light chain complement of the embryonic isomyosins remains obscure although it is suggested to represent various combinations of fast light chain 1 and embryonic light chain 1.

Source	Isomyosin	Heavy chain	Light chain
Slow-twitch muscle	SM3	HCI	(LC1sb) <sub>2</sub> (LC2s) <sub>2</sub>
	SM2	HCI	(LC1sa) (LC1sb) (LC2s) <sub>2</sub>
	SM1	HCI	(LC1sa) <sub>2</sub> (LC2s) <sub>2</sub>
Fast-twitch muscle	FM3a	HCIIA	(LC1f) <sub>2</sub> (LC2f) <sub>2</sub>
	FM2a	HCIIA	(LC1f) (LC3f) (LC2f) <sub>2</sub>
	FM1a	HCIIA	(LC3f) <sub>2</sub> (LC2f) <sub>2</sub>
	FM3b	HCIIB	(LC1f) <sub>2</sub> (LC2f) <sub>2</sub>
	FM2b	HCIIB	(LC1f) (LC3f) (LC2f) <sub>2</sub>
	FM1b	HCIIB	(LC3f) <sub>2</sub> (LC2f) <sub>2</sub>
	FM3d	HCIID	(LC1f) <sub>2</sub> (LC2f) <sub>2</sub>
	FM2d	HCIID	(LC1f) (LC3f) (LC2f) <sub>2</sub>
	FM1d	HCIID	(LC3f) <sub>2</sub> (LC2f) <sub>2</sub>
Neonatal muscle	nM3	HCneo	(LC1f) <sub>2</sub> (LC2f) <sub>2</sub>
	nM2	HCneo	(LC1f) (LC3f) (LC2f) <sub>2</sub>
	nM1	HCneo	(LC3f) <sub>2</sub> (LC2f) <sub>2</sub>
Embryonic muscle	eM4	HCemb	?
	eM3	HCemb	?
	eM2	HCemb	?
	eM1	HCemb	?

を報告している。しかしながら, Termin & Pette<sup>112,113</sup> がゲル上で同定したバンドは, 全筋における HC の分布との比較から結論したものであり, 推測の域を出ない部分がある。筆者ら<sup>119</sup> は単一筋線維のアイソミオシンの PPI-PAGE 上での挙動について検討し, 9 種類の FM の移動度について Termin & Pette<sup>112,113</sup> の結論を裏付ける結果を得た(図 4)。これまで用いられてきた FM1-3 という名称は, その数字から各々のアイソミオシンを構成する alkali LC の違いは示すことはできるが HC については表記することができない。構成する HC のアイソフォームの差異によりアイソミオシンを分画できるようになった現在では, Termin & Pette<sup>112,113</sup> が提唱するように, LC のみならず含まれる HC の種類も表記できるよう FM1-3 a, FM 1-3 b, FM 1-3 d という呼称

を用いることが妥当かと思われる(表 4)。

成熟した個体の骨格筋にみられるもの以外には, 胎生期や幼若期に一過性に発現するアイソミオシンも存在し, 胎生期にみられるものに 4 種類 (eM 1-4), 幼若期のものに 3 種類 (nM 1-3) があるとされている<sup>113</sup>。さらに, HCton や HCeom などを含むものの存在も予想されるが, それらが PPI-PAGE によって分画されたという報告はなされていない。

#### IV. 筋線維におけるミオシンアイソフォームの分布

mATPase の活性部位は LC 上にはないこと, あるいは同タイプの単一筋線維に存在する HC はすべて同一であること<sup>102,103</sup> などから, mATPase 活性に基づき分類される筋線維タイプ



は、ミオシンフィラメントを構成している HC のアイソフォームの種類によって決定されることが広く認められている。このことは type I 線維には HCl が、type IIA 線維には HCIIA が、type IIB 線維には HCIB が、また type IID 線維には HC IID が特異的に発現していることを意味する (表 5)。正常な筋ではわずかに観察される (< 1%) type IIC 線維は<sup>58,102,103,106)</sup>、特有の HC を発現している筋線維ではなく、HCl と HCIIA の 2 種類のアイソフォームを含むものである<sup>1)</sup>。このことから、これらは type IIA 線維と type I 線維間において移行過程にある筋線維であると考えられている。同様に type IIAD 線維や type IIB 線維からも 2 種類の HC のアイソフォームが検出され<sup>1,115)</sup> (表 5)、前者は type IIA 線維と type IID 線維間で、後者は type IID 線維と type IIB 線維間で移行が進行している筋線維であるとみなされている。

多くの type I 線維は slow type LC (LCs) のみを、また type II 線維は fast type LC (LCf) のみを発現しているが (表 5)、type I 線維と type II 線維の移行過程にある type IIC 線維以外にも、数のうえではあまり多くはないが LCs と LCf の両方を発現している「混在型筋線維」がみられる。Staron & Pette<sup>102,103)</sup> による単一筋線維についての組織化学的・電気泳動学的分析は、ラビット前脛骨筋では混在型 type IIA 線維はなかったが、

ヒラメ筋では存在していたことを示している。また、ヒラメ筋における混在型 type IIA 線維は、ラットにおいてもみられること<sup>108)</sup>、あるいは type IIA 線維から移行してきたと思われる type I 線維は、LCs に加え LC1f を発現していることなども報告されている<sup>104)</sup>。一方、ヒト骨格筋に関する報告では、Billeter et al.<sup>13)</sup> によっては type IIA 線維には混在型はないが、type I 線維には存在することが、それに対して Larsson & Moss<sup>64)</sup> によっては、type I, IIA, IIB 線維のいずれについても約 50% が混在型であることが認められている。このような知見の相違が、種による差異なのか、筋による差異なのか、あるいは他に原因があるのかについては明らかではない。

筋線維にみられる HC あるいは LC の slow type と fast type の混在は、分子レベルではどのように構築されているのであろうか。可能性としては、(1) 1 サルコメア内において両アイソフォームが混在している、(2) 1 サルコメア内は同一のアイソフォームで構成されているが、サルコメア毎にそれを構成するアイソフォームが異なる、(3) 筋原線維毎に異なる、の 3 つが考えられる。Franchi et al.<sup>35)</sup> は fast から slow へとタイプ移行の過程にあるラビットの前脛骨筋において、筋線維全体にわたって 1 サルコメア内に SM と FM が混在してフィラメントを形成していることを観察しており、両者はランダムに分布しているもの

Table 5. Myosin light chain (LC) and heavy chain (HC) isoforms in histochemically typed fiber from rodent skeletal muscle. Data are derived from studies of Staron & Pette<sup>102,103)</sup>, Staron et al.<sup>104)</sup>, Termin et al.<sup>115)</sup>, and Aigner et al.<sup>1)</sup>. The parentheses mean that a few fibers express light chain isoform shown in the parenthesis.

	Fiber type						
	I	IIC	IIA	IIAD	IID	IIDB	IIB
Heavy chain	HCl	HCl HCIIA	HCIIA	HCIIA HC IID	HC IID	HC IID HC IIB	HC IIB
Light chain	LC1s LC2s (LCf)	LCs LCf	LC1f LC2f LC3f (LCs)	LC1f LC2f LC3f	LC1f LC2f LC3f	LC1f LC2f LC3f	LC1f LC2f LC3f

と思われる。

type I 線維における alkali LC (LC 1 sa, LC 1 sb) の定量的な分布についてはよく分かっていない。type II 線維については、全筋レベルでの分析から type IIA 線維を多く含む筋では type II B/D 線維を多く含む筋と比べ、LC 1 f を多く含むことが認められており<sup>74,112)</sup>、type IIA 線維は他の type II 線維と比べ LC 1 f を多く発現していることが推察されてきた。筆者ら<sup>123)</sup>はこの問題について明らかにするために、ラットの単一速筋線維に発現している fast alkali LC (LC 1 f, LC 3 f) の分布比率を定量的に検討し、図 5 に示されるように、各々の筋線維タイプ内での偏差は大きいものの、平均値では fast alkali LC に対する

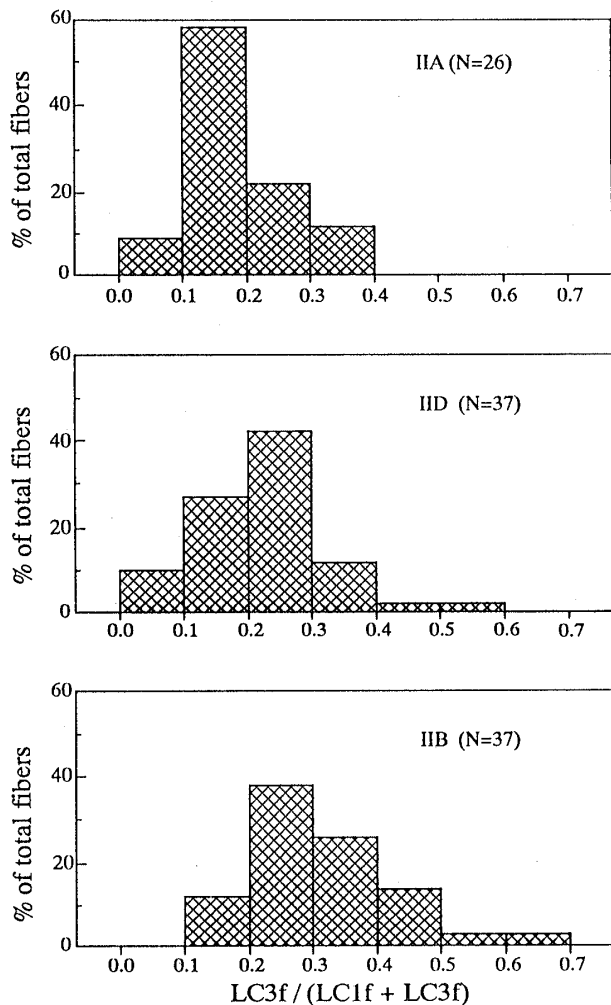


Fig. 5. Histograms of the relative concentration of LC 3f in rat single fibers. Fibers were classified according to their myosin heavy chain complement. (From Wada & Pette<sup>123)</sup>)

LC 3f の比は type IIB > type IID > type IIA の順で高いことを観察している。

### V. 収縮特性に対するミオシン重鎖および軽鎖の役割

Bárány<sup>10)</sup> は骨格筋における actin-activated ATPase を測定し、筋の最大収縮速度 ( $V_{max}$ ) を大きく規定するのはミオシンによる ATP の加水分解の速度であることを示した(図 6)。この報告は mATPase の活性部位が HC 上にあることとあわせ<sup>70)</sup>、発現している HC のアイソフォームの種類によって筋線維の  $V_{max}$  が決定されるとする知見の拠り所となった。このことは、単一筋線維を対象とした研究によってさらに明確にされてきた<sup>91)</sup>。例えば、Reiser et al.<sup>91)</sup> による齧歯類のヒラメ筋における単一筋線維の  $V_{max}$  についての検討は、type II 線維の  $V_{max}$  は type I 線維と比べ約 2~3 倍速いこと、ならびに fast HC と slow HC が混在している筋線維では含まれる fast HC の割合が高いほど  $V_{max}$  が速いことを示している。この type I 線維と type II 線維間の  $V_{max}$  の差異は、遅筋と速筋間の mATPase 活性の差異

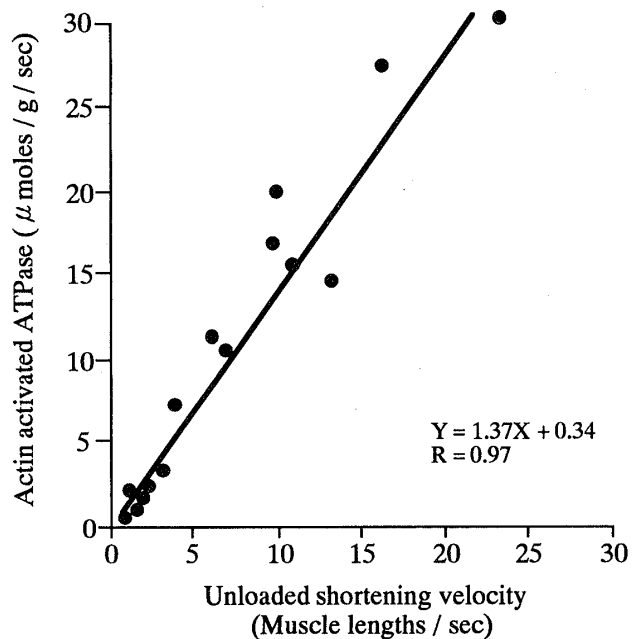


Fig. 6. Relationship between unloaded shortening velocity and actin-activated ATPase from a variety of animal species. (Plotted from data reported by Bárány<sup>10)</sup>)

にほぼ匹敵する<sup>7)</sup>。

前述のように Bányi<sup>10)</sup> の報告は,  $V_{max}$  と HC の組成との間に密接な関係があることの根拠の1つとされてきたが, 彼の研究では  $V_{max}$  および mATPase 活性に極めて大きな差異がある数種類の動物からの筋が用いられた。また, 単一筋線維における初期の研究は<sup>91)</sup>, これも両パラメーター ( $V_{max}$  および mATPase 活性) に大きな違いがある type I 線維と type II 線維とを比較したものであり, 真に  $V_{max}$  が含まれる HC のアイソフォームのみに依存しているのか否かについては疑問が残る。

近年, type IID 線維を含めた type II 線維のサブタイプの  $V_{max}$  について, 単一筋線維レベルでの幾つかの報告がなされている<sup>16~18,37)</sup>。それらによると  $V_{max}$  は, 平均値では type IIB > type IID > type IIA の順で高いが, 各々のタイプ内におけるレンジは実験の誤差範囲を大きく超え, 結果的に  $V_{max}$  は線維間でかなりの部分オーバーラップしているという(図7)。 $V_{max}$  が HC のみによって規定されているとすると, このような現象は起こりえないはずであり, HC 以外の何かが  $V_{max}$  に影響していると思われる。

この問題について統一した見解が得られているわけではないが, alkali LC の存在がクローズアッ

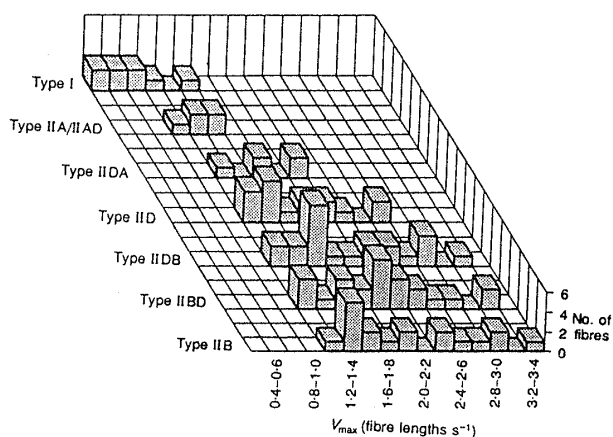


Fig. 7. Distribution of  $V_{max}$  values among different pure and hybrid fiber types in rat skeletal muscles. The height of each vertical bar represents the number of fibers of each type. X-axis,  $V_{max}$ ; Y-axis, number of fibers; Z-axis, fiber type. (From Galler et al.<sup>37)</sup>)

プされている。Lowey et al.<sup>69,70)</sup> の研究は興味深く, alkali LC を含まないミオシン上でのアクチンの移動速度は, alkali LC を含むミオシン上でのものの約1/3であることを示している。また, Bottinelli et al.<sup>17)</sup> はラット骨格筋の全ての type II 線維において,  $V_{max}$  と LC 3f の含有量との間に正の相関関係があり, その回帰直線の傾きは type IIA 線維や type IIX (D) 線維と比べ type IIB 線維において著しく高いことを示している(図8)。このことは, LC 1f より LC 3f を多く発現している筋線維ほど  $V_{max}$  が高いことを示すとともに, type IIA 線維や type IID 線維より type IIB 線維において,  $V_{max}$  に及ぼす LC 3f の影響力が大きいことを示唆する。

では, alkali LC はクロスブリッジサイクルの中で, 具体的にはどのような役割を担っているのだろうか。残念ながら, この問いに対する明確な答えは現在のところ得られていない。しかしながら, ミオシンの結晶を X線解析し三次元構造に

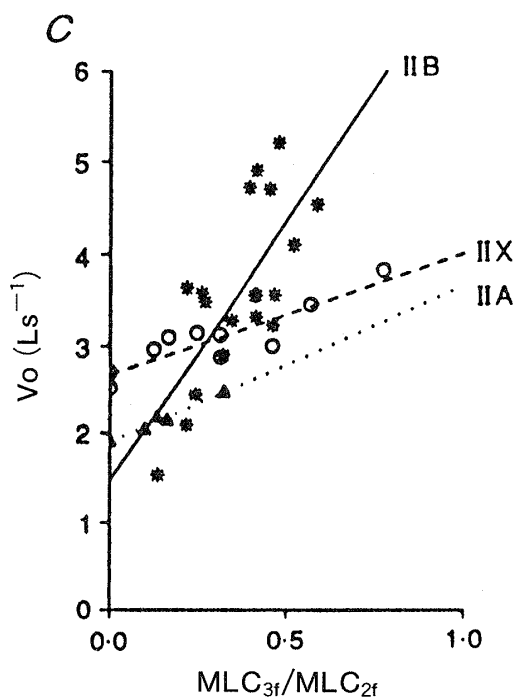


Fig. 8. Relationship between shortening velocity ( $V_o$ ) and the proportion of LC 3f isoform in rat fast fibers. The proportion of the LC 3f isoform is expressed with reference to the DTNB light chain LC 2f, as the LC 3f/LC 2f ratio. (From Bottinelli et al.<sup>17)</sup>)

ついて検討した Rayment et al. の報告<sup>90)</sup>は, LC はサブフラグメント (subfragment; S) 1 の中でも S-2 に近い  $\alpha$ -ヘリックスの部位に結合していることを示しており, これらのことから, LC は HC に結合することにより  $\alpha$ -ヘリックスを構造的に強固にし, S-1 で発生する力を効率よくアクチンへ伝達するよう作用していることが推察される. このように幾つかの先行研究が示すように, HC と LC の 2 つが  $V_{max}$  に関与しているのであれば, このことは筋線維が  $V_{max}$  を変化させなければならない必然性におかれた場合, より詳細なステップでそれを成就することにつながり, 生理的に多様な需要に対する対応を可能にすることになる.

DTNB LC は mATPase 活性の最大値はもとより<sup>84)</sup>,  $V_{max}$  にも影響を及ぼすことはないが<sup>110)</sup>, 他の特性の変化に寄与するとされている. これらが燐酸化されると mATPase 活性の  $K_m$  の減少や<sup>86)</sup>, 等尺性収縮における増強作用 (isometric potentiation) の程度が強まるなどの変化が起こる<sup>82)</sup>. このような現象は燐酸化によって筋原線維のフィラメントのカルシウムに対する感受性が増すことに成因があるとされている<sup>111)</sup>.

単位面積当たりの最大等尺性張力に関しては, 単一筋線維レベルの研究から type I 線維の方が type II 線維と比べ小さいことは認められているが<sup>18, 29)</sup>, type II 線維間では type IIB/D 線維が type IIA 線維より大きいとする報告もあれば<sup>29, 44)</sup>, 差異はないとする報告もあり明らかではない<sup>18)</sup>. type I 線維と type II 線維の違いが, アイソミオシンの化学的・機械的特性の差異に原因があるのか, あるいは単に筋線維に占める筋原線維の相対量の差異によるだけのものなのかについても, 明確に結論づけられてはいない.

## VI. トレーニングによるミオシンアイソフォームの変化

### A. 持久トレーニング

筋の収縮活動量増加の実験手法の 1 つに, 齧歯類の座骨神経に電極を取り付け, 外部から電気刺激により人為的に後肢骨格筋を収縮させる方法が

あり, このモデルを用いてミオシンアイソフォームの分布変化を検討した報告が数多くなされてきた<sup>2, 9, 74, 100, 104, 114)</sup>. 遅筋を支配する運動ニューロンが発するインパルスに類似した頻度 (10~20 Hz) で, 速筋に対し慢性的 (12~24 時間 / 1 日) に電気刺激を与えると, 初期には HClIB の減少や HClIA の増加が生ずることが認められている<sup>114)</sup> (図 9). この現象は極めて迅速に起き, mRNA レベルでは刺激開始約 2 日後に, タンパクレベル

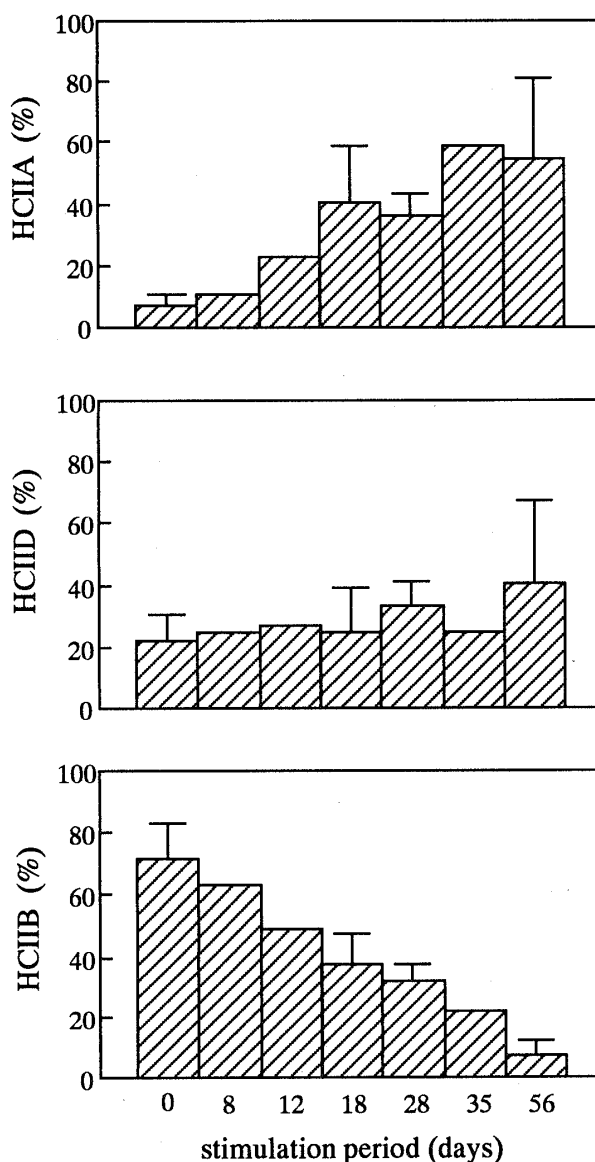


Fig. 9. Changes in myosin heavy chain isoforms of chronically stimulated tibialis anterior muscles of the rat. Abbreviations: HClIA, HClIB, HClID, fast myosin heavy chain isoforms. (From Termin et al.<sup>114)</sup>)

では約1週間後には変化が観察される<sup>61,114)</sup>。このような変化は個々の筋線維内においてHCの発現状態が、HClIB→HClID→HClIAの順で変化するために起こるものである<sup>114)</sup>。また、この時期にfast type LC間ではLC3fの減少およびそれに伴うLC1fの増加がみられ<sup>60)</sup>、これらはHCの変化とあわせ速筋線維において収縮速度が低減することを示すものである。さらに刺激を継続するとHClIやslow type LC(LC1s, LC2s)が増加し<sup>2,100)</sup>、これらの変化は筋線維タイプとしてはtype I線維の占有率の増加として観察される<sup>103)</sup>。

持久トレーニングは、電気刺激と比べるとその程度は小さいものの収縮活動量が増加するという点では同様であり、電気刺激の場合と類似した変化が起こることは想像に難くない。Sugiura et al.<sup>109)</sup>はトレーニングによるHCの変化を電気泳動的に検討し、10週間のランニングトレーニングを負荷したラットの足底筋において、HClIBの減少およびHClIAの増加がみられたことを示している。LCについてはGreen et al.<sup>45)</sup>および筆者ら<sup>120)</sup>がLC3fが減少することを報告しており、これらの変化はいずれも電気刺激におけるものと一致している。アイソミオシンについての検討においても同様の結果が得られており、LC3fから成るFM1の減少およびHClIAから構成されていると思われるIMの増加などがその変化として認められている<sup>32,117)</sup>。Fitzsimons et al.<sup>32)</sup>は、10週間の持久トレーニングを行わせたラットの間広筋において、SM1が増加したことを報告している。これはLC1saの増加を示唆する知見であるが(表4)、LCそれ自身に的を絞ってslow type LCの変化を検討した報告はなく、今後さらに詳細に検討する必要があると思われる。

持久トレーニングによるヒト骨格筋におけるミオシンアイソフォームの変化について検討した報告は現在までなされていないが、先に述べたようにmATPaseによる筋線維のタイプ分けは細胞内に発現しているHCの種類に依存しているため(表5)、組織化学的手法から検討した結果などからその変化を推察することは可能である。多くの

先行研究で示されるように、トレーニングによりtype IIB線維からtype IIA線維への移行が誘因され<sup>4,54,57,101)</sup>、これはHClIBを発現していた筋線維(type IIB線維)において、その合成が止まり新たにHClIAの合成が開始されたことを意味する。また、齧歯類と同様にヒト骨格筋でもLC3fはHClIAよりHClIBと高い親和性があることが示されており<sup>121)</sup>、したがってHClIAの合成が促進されるとともにLC3fが減少し、LC1fが増加するものと推察される。

電気刺激のモデルでは、収縮活動量の増加はfast type アイソフォームの変化のみならずslow type ミオシンの増加も招来することが明確になっている。それでは、持久トレーニングを長期に渡って行えば同様の変化が起こるのであろうか。ラットに最大酸素摂取量の約80%の強度で1日4時間におよぶ走行トレーニングを15週間行わせ、外側広筋深層部においてtype I線維およびLC1sが増加したことを明示したGreen et al.<sup>45)</sup>の報告は、電気刺激のような非生理学的手法によらなくともslow type ミオシンの合成を促すことが可能であることを示す結果である。このトレーニングによる変化について、長期におよぶトレーニングを行いさえすれば、slow type ミオシンの増加が起こるかということではなく、type IIA線維が十分に動員される強度のトレーニングを行う必要があることは<sup>71)</sup>、念頭に置くべきことである。

ヒト骨格筋についても、齧歯類に示されてきたのと同様にslow type ミオシンの増加が起こるのであろうか。ヒトを対象とした研究では、長期にわたって厳しいトレーニングを負荷することに対して被検者の同意を得ることや、数%の誤差を伴うバイオプシーのサンプルから<sup>66)</sup>、わずかな変化を検出することなどに困難が伴うなどの問題点がある。Trappe et al.<sup>116)</sup>は、20年間に渡り厳しい持久的トレーニングを継続してきた競技者の筋線維組成について縦断的に検討し、type I線維の割合は20年間で変化がみられなかったことを示している。これに対して、1日約30kmのクロスカントリースキーを8週間行ったヒトの上腕三頭筋

の筋線維組成において, type I 線維の増加には至らなかったものの, 運動前にはほとんど存在しなかった type IIC 線維が 8 週間後には 4 % 観察されたことを認める Schantz et al.<sup>97)</sup> の知見は, 持久トレーニングが slow type ミオシンの合成を促進するよう作用する可能性があることを示唆する. また, 実際 type I が増加したことを示す報告もあるが<sup>58, 101)</sup>, このような変化が本当に起こるのか, また起こるとすれば適切なトレーニングさえ行えば被検者の身体的特性とは関わりなく誰にでもみられるのかなどについて, 明確な結論をくだすためにはさらに多くのデータを収集する必要がある.

#### B. 筋力トレーニングおよびスプリントトレーニング

ほとんどが type I 線維から構成されている齧歯類のヒラメ筋に, 脱神経を施すことで type I 線維を支配する運動ニューロンのインパルスをカットし, そのうえで電極を筋に直接取り付け, type II 線維を支配するの運動ニューロンが発するものと類似した高頻度刺激を与えると, fast ミオシンの合成が促進され<sup>98)</sup>, 機能的には収縮速度が正常な速筋と同程度になること, また組織化学的には type II 線維の割合が顕著に増大することが知られている<sup>43, 67)</sup>. ウエイトリフティングや短距離走のような爆発的な筋力発揮を要求される運動では, 主働筋に type II 線維が多く含まれていた方が有利に作用する. 上述の知見からは, 仮にトレーニングによってニューロンの発火刺激頻度の変化を起こすことができれば, fast ミオシンの合成を亢進する (type I 線維から type II 線維への移行を起こす) ことが可能となると考えられるが, 実際はどうであろうか.

唯一 type I 線維から type II 線維への移行が起こることを主張してきた Jansson の研究グループは<sup>57)</sup>, 近年においても自転車エルゴメーターでのスプリントトレーニングによって, ヒト骨格筋において type I 線維の占有率が 57% から 48% に減少し, それとともに type IIA 線維が 32% から 38% に増加したこと, すなわち type I 線維から type

IIA 線維への移行が起こったことを示し<sup>56)</sup>, 自説の正しさを再確認している. 一方, Jansson et al.<sup>56)</sup> の結果を電気泳動的に追試した Allemeier et al.<sup>3)</sup> の研究によると, 含まれる HCI の割合は変化せず, 観察された変化は HCIIB の減少と HCIIA の増加であったという. これは筋線維タイプとしては, 持久トレーニングの場合と同様に type IIB 線維から type IIA 線維への移行が起こることを意味する. また, スプリントトレーニングだけではなく, 筋力トレーニングにおいても同様の方向 (type IIB → type IIA) への移行が起こることが多くの研究により認められている<sup>105, 106)</sup>. Jansson et al.<sup>56, 57)</sup> の報告と他の報告とで, 異なる結果が得られた素因については明らかではない. しかしながら, 報告されている知見の数の上からは, スプリントおよび筋力トレーニングにより fast type ミオシンの合成が促進されることはなく, 様式が何であれトレーニングは筋の収縮活動量を増加させ, type IIB 線維から type IIA 線維への移行を招来すると結論するのが, 現在の段階では妥当かと思われる.

#### 参 考 文 献

- 1) Aigner, S., Gohlsch, B., Hämaläinen, N., Staron, R. S., Uber, A., Wehrle, U. & Pette, D. Fast myosin heavy chain diversity in skeletal muscles of the rabbit: heavy chain IId, not IIB predominates. *Eur. J. Biochem.*, (1993), **211**, 367-372.
- 2) Aigner, S. & Pette, D. In situ hybridization of slow myosin heavy chain mRNA in normal and transforming rabbit muscles with the use of a nonradioactively labeled cRNA. *Histochemistry*, (1990), **95**, 11-18.
- 3) Allemeier, C. A., Fry, A. C., Johnson, P., Hikida, R. S., Hagerman, F. C. & Staron, R. S. Effects of sprint training on human skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.*, (1994), **77**, 2385-2390.
- 4) Andersen, P. & Henriksson, J. Capillary supply of the quadriceps femoris muscle of man: adaptive response to exercise. *J. Physiol.*, (1977), **270**, 677-690.
- 5) Arnold, H. H., Lohse, P., Seidel, U. & Bober, E. A novel human alkali light chain is developmentally regulated: expression in fetal cardiac and skeletal muscle and adult atria. *Eur. J. Biochem.*, (1988), **178**, 53-60.
- 6) Asmussen, G., Traub, I. & Pette, D. Electrophoretic

- analysis of myosin heavy chain isoform patterns in extraocular muscles of the rat. *FEBS Lett.*, (1993), **335**, 243-245.
- 7) Baldwin, K. M., Valdez, V., Herrick, R. E., MacIntoch, A. M. & Roy, R. R. Biochemical properties of overloaded fast-twitch muscle. *J. Appl. Physiol.*, (1982), **52**, 467-472.
  - 8) Bär, A. & Pette, D. Three fast myosin heavy chains in adult rat skeletal muscle. *FEBS Lett.*, (1988), **235**, 153-155.
  - 9) Bär, A., Simoneau, J.-A. & Pette, D. Altered expression of myosin light-chain isoforms in chronically stimulated fast-twitch muscle of the rat. *Eur. J. Biochem.*, (1989), **178**, 591-594.
  - 10) Bárány, M. ATPase activity of myosin correlated with speed of muscle shortening. *J. Gen. Physiol.*, (1967), **50**, 197-218.
  - 11) Barnard, R. J., Edgerton, V. R., Furukawa, T. & Peter, J. B. Histochemical, biochemical, and contractile properties of red, white, and intermediate fibers. *Am. J. Physiol.*, (1971), **220**, 410-414.
  - 12) Barton, P. J. R. & Buckingham, M. E. The myosin alkali light chain proteins and their genes. *Biochem. J.*, (1985), **231**, 249-261.
  - 13) Billeter, R., Heizmann, C. W., Howald, H. & Jenny, E. Analysis of myosin light chain and heavy chain types in single human skeletal muscle fibres. *Eur. J. Biochem.*, (1981), **116**, 389-395.
  - 14) Biral, D., Damiani, E., Volpe, P., Salvati, G. & Margreth, A. Polymorphism of myosin light chains: an electrophoretic and immunological study of rabbit skeletal-muscle myosins. *Biochem. J.*, (1982), **203**, 529-540.
  - 15) Bottinelli, R., Betto, R. & Reggiani, C. Maximum shortening velocity and myosin heavy chain and alkali light chain isoform composition of skinned fast fibres from rat skeletal muscles. *J. Physiol.*, (1993), **473**, 86.
  - 16) Bottinelli, R., Betto, R., Schiaffino, S. & Reggiani, C. Maximum shortening velocity and coexistence of myosin heavy chain isoforms in single skinned fast fibres of rat skeletal muscle. *J. Muscle Res. Cell Motil.*, (1994), **15**, 413-419.
  - 17) Bottinelli, R., Betto, R., Schiaffino, S. & Reggiani, C. Unloaded shortening velocity and heavy chain and alkali light chain composition in rat skeletal muscle fibres. *J. Physiol.*, (1994), **478**, 341-349.
  - 18) Bottinelli, R., Schiaffino, S. & Reggiani, C. Force-velocity relations and myosin heavy chain isoform compositions of skinned fibres from rat skeletal muscle. *J. Physiol.*, (1991), **437**, 655-672.
  - 19) Brooke, M. H. & Kaiser, K. K. Muscle fiber types: how many and what kind? *Arch. Neurol.*, (1970), **23**, 369-379.
  - 20) Burridge, K. A comparison of fibroblast and smooth muscle myosin. *FEBS Lett.*, (1974), **45**, 14-17.
  - 21) Carraro, U. & Catani, C. A sensitive SDS-PAGE methods separating myosin heavy chain isoforms of rat skeletal muscles reveals the heterogeneous nature of the embryonic myosin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, (1983), **116**, 793-802.
  - 22) d'Albis, A. & Gratzer, W. B. Electrophoretic examination of native myosin. *FEBS Lett.*, (1973), **29**, 292-296.
  - 23) d'Albis, A., Janmot, C. & Bechet, J. J. Comparison of myosins from the masseter muscle of adult rat, mouse and guinea-pig: persistence of neonatal-type isoforms in the murine muscle. *Eur. J. Biochem.*, (1986), **156**, 291-296.
  - 24) d'Albis, A., Pantaloni, C. & Bechet, J. J. An electrophoretic study of native myosin isozymes and of their subunit content. *Eur. J. Biochem.*, (1979), **99**, 261-272.
  - 25) Dalla-Libera, L. A comparative study of chicken ventricular and slow skeletal myosin light chain. *Cell Biol. Int. Rep.*, (1988), **12**, 1089-1098.
  - 26) Danielli-Betto, D., Zerbato, E. & Betto, R. Type 1, 2 A, and 2B myosin heavy chain electrophoretic analysis of rat muscle fibers. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, (1986), **138**, 981-987.
  - 27) DeNardi, C., Ausoni, S., Moretti, P., Gorza, L., Velleca, M., Buckingham, M. & Schiaffino, S. Type 2 X-myosin heavy chain is coded by a muscle fiber type-specific and developmentally regulated gene. *J. Cell Biol.*, (1993), **123**, 823-835.
  - 28) Drews, G. A. & Engel, W. K. Reversal of the ATPase reaction in fibers by EDTA. *Nature*, (1966), **212**, 1551-1553.
  - 29) Eddinger, T. J. & Moss, R. L. Mechanical properties of skinned single fibers of identified types from diaphragm. *Am. J. Physiol.*, (1987), **253**, C 210-C 218.
  - 30) Ennion, S., Pereira, J. S., Sargeant, A. J., Young, A. & Goldspink, G. Characterization of human skeletal muscle fibres according to the myosin heavy chains they express. *J. Muscle Res. Cell Motil.*, (1995), **16**, 35-43.
  - 31) Fauteck, S. P. & Kandarian, S. C. Sensitive detection of myosin heavy chain composition in skeletal muscle under different loading conditions. *Am. J. Physiol.*, (1995), **268**, C 419-C 424.
  - 32) Fitzsimons, D. P., Diffie, G. M., Herrick, R. E. & Baldwin, K. M. Effects of endurance exercise on isomyosin patterns in fast- and slow-twitch muscles. *J. Appl. Physiol.*, (1990), **68**, 1950-1955.
  - 33) Fitzsimons, R. B. & Hoh, J. F. Y. Isomyosin in

- human type 1 and type 2 skeletal muscle fibres. *Biochem. J.*, (1981), **193**, 229-233.
- 34) Fitzsimons, R. B. & Hoh, J. F. Y. Myosin isoenzymes in fast-twitch and slow-twitch muscles of normal and dystrophic mice. *J. Physiol.*, (1983), **343**, 539-550.
  - 35) Franchi, L. L., Murdoch, A., Brown, W. E., Mayne, C. N., Elliott, L. & Salmons, S. Subcellular localization of newly incorporated myosin in rabbit fast skeletal muscle undergoing stimulation-induced type transformation. *J. Muscle Res. Cell Motil.*, (1990), **11**, 227-239.
  - 36) Frank, G. & Weeds, A. G. The amino acid sequence of the alkali light chains of rabbit skeletal muscle myosin. *Eur. J. Biochem.*, (1974), **44**, 317-334.
  - 37) Galler, S., Schmitt, T. L. & Pette, D. Stretch activation, unloaded shortening velocity, and myosin heavy chain isoforms of rat skeletal muscle fibres. *J. Physiol.*, (1994), **478**, 513-521.
  - 38) Gollnick, P. D., Armstrong, R. B., Saubert IV, C. W., Piehl, K. & Saltin, B. Enzyme activity and fiber composition in skeletal muscle of untrained and trained men. *J. Appl. Physiol.*, (1972), **33**, 312-319.
  - 39) Gollnick, P. D. & Hodgson, D. R. The identification of fiber types in skeletal muscle: a continual dilemma. In., Pandorf, K. B., *Exercise and sport sciences reviews*, Macmillan Publishing Company, New York, (1986), 81-104.
  - 40) Gollnick, P. D. & Matoba, H. Identification of fiber types in rat skeletal muscle based on the sensitivity of myofibrillar actomyosin ATPase to copper. *Histochemistry*, (1984), **81**, 379-383.
  - 41) Gollnick, P. D., Parsons, D. & Oakley, C. R. Differentiation of fiber types in skeletal muscle from the sequential inactivation of myofibrillar actomyosin ATPase during acid preincubation. *Histochemistry*, (1983), **77**, 543-555.
  - 42) Gorza, L. Identification of a novel type 2 fiber population in mammalian skeletal muscle by combined use of histochemical myosin ATPase and anti-myosin monoclonal antibodies. *J. Histochem. Cytochem.*, (1990), **38**, 257-265.
  - 43) Gorza, L., Gundersen, K., Lømo, T., Schiaffino, S. & Westgaard, R. H. Slow-to-fast transformation of denervated soleus muscles by chronic high-frequency stimulation in the rat. *J. Physiol.*, (1988), **402**, 627-649.
  - 44) Greaser, M. L., Moss, R. L. & Reiser, P. J. Variations in contractile properties of rabbit single muscle fibres in relation to troponin T isoforms and myosin light chain. *J. Physiol.*, (1988), **406**, 85-98.
  - 45) Green, H. J., Klug, G. A., Reichmann, H., Seedorf, U., Wiehrer, W. & Pette, D. Exercise-induced fibre type transformation with regard to myosin, parvalbumin, and sarcoplasmic reticulum in muscles of the rat. *Pflügers Arch.*, (1984), **400**, 432-438.
  - 46) Green, H. J., Reichmann, H. & Pette, D. Fibre type specific transformations in the enzyme activity pattern of rat vastus lateralis muscle by prolonged endurance training. *Pflügers Arch.*, (1983), **399**, 216-222.
  - 47) Gregory, P., Low, R. B. & Stirewalt, W. S. Changes in skeletal-muscle myosin isoenzymes with hypertrophy and exercise. *Biochem. J.*, (1986), **238**, 55-63.
  - 48) Gulick, J., Subramaniam, A., Neumann, J. & Robbins, J. Isolation and characterization of the mouse cardiac myosin heavy chain gene. *J. Biol. Chem.*, (1991), **266**, 9180-9185.
  - 49) Guth, L. & Samaha, F. J. Qualitative differences between actomyosin ATPase of slow and fast mammalian muscle. *Exp. Neurol.*, (1969), **25**, 138-152.
  - 50) Hämaläinen, N. & Pette, D. The histochemical profiles of fast fiber types IIB, IID, and IIA in skeletal muscles of mouse, rat, and rabbit. *J. Histochem. Cytochem.*, (1993), **41**, 733-743.
  - 51) Hoh, J. F. Y. Neural regulation of mammalian fast and slow muscle myosins: an electrophoretic analysis. *Biochemistry*, (1975), **14**, 742-747.
  - 52) Hoh, J. F. Y., McGrath, P. A. & White, R. I. Electrophoretic analysis of multiple forms of myosin in fast-twitch and slow-twitch of the chick. *Biochem. J.*, (1976), **157**, 87-95.
  - 53) Hoh, J. F. Y. & Yeoh, G. P. S. Rabbit skeletal myosin isoenzymes from fetal, fast-twitch and slow-twitch muscles. *Nature*, (1979), **280**, 321-322.
  - 54) Howald, H., Hoppeler, H., Claassen, H., Mathieu, O. & Straub, R. Influences of endurance training on the ultrastructural composition of the different muscle fiber types in humans. *Pflügers Arch.*, (1985), **403**, 369-376.
  - 55) Jandreski, M. A., Sole, M. J. & Liew, C.-C. Two different forms of beta myosin heavy chain are expressed in human striated muscle. *Hum. Genet.*, (1987), **77**, 127-131.
  - 56) Jansson, E., Esbjornsson, M., Holm, I. & Jacobs, I. Increase in the proportion of fast-twitch fibres by sprint training in males. *Acta Physiol. Scand.*, (1990), **140**, 359-363.
  - 57) Jansson, E. & Kaijser, L. Muscle adaptation to extreme endurance training. *Acta Physiol. Scand.*, (1977), **100**, 315-324.
  - 58) Jansson, E., Sjödin, B. & Tesch, P. Changes in muscle fibre type distribution in man after physical training. *Acta Physiol. Scand.*, (1978), **104**, 235-237.



- 59) Kelly, A. M. Emergence of specialization in skeletal muscle. In., Peachey, L. D., Handbook of physiology. Skeletal muscle., sect 10, chapt 19, Waverly Press, Inc., Baltimore, (1980), 507-537.
- 60) Kirschbaum, B. J., Simoneau, J.-A., Bär, A., Barton, P. J. R., Buckingham, M. E. & Pette, D. Chronic stimulation-induced changes of myosin light chains at the mRNA and protein levels in rat fast-twitch muscle. *Eur. J. Biochem.*, (1989), **179**, 23-29.
- 61) Kirschbaum, B. J., Simoneau, J.-A. & Pette, D. Dynamics of myosin expression during the induced transformation of adult rat fast-twitch muscle. In., Kedes, L. H. and Stockdale, F. E., Cellular and molecular biology of muscle development, Alan. R. Liss, Inc., New York, (1989), 461-469.
- 62) LaFramboise, W. A., Daood, M. J., Guthrie, R. D., Schiaffino, S., Moretti, P., Brozanski, B., Ontell, M. P., Butler-Browne, G. S., Whalen, R. G. & Ontell, M. Emergence of the mature myosin phenotype in the rat diaphragm muscle. *Dev. Biol.*, (1991), **144**, 1-15.
- 63) Larsson, L., Biral, D., Campione, M. & Schiaffino, S. An age-related type IIB to IIX myosin heavy chain switching skeletal muscle. *Acta Physiol. Scand.*, (1993), **147**, 227-234.
- 64) Larsson, L. & Moss, R. L. Maximum velocity of shortening in relation to isoform composition in single fibres from human skeletal muscles. *J. Physiol.*, (1993), **472**, 595-614.
- 65) Leinwand, L. A., Saez, L., McNally, E. & Nadal-Ginard, B. Isolation and characterization of human myosin heavy-chain genes. *Proc. Acad. Sci. U.S.A.*, (1983), **80**, 766-769.
- 66) Lexell, J., Taylor, C. & Sjöström, M. Analysis of sampling errors in biopsy techniques using data from whole muscle cross sections. *J. Appl. Physiol.*, (1985), **59**, 1228-1235.
- 67) Lømo, T. Neural regulation of membrane and contractile properties of rat skeletal muscles. In., Saltin B., Biochemistry of exercise VI, Human Kinetics Publishers, Champaign, IL, (1986), 27-47.
- 68) Lompre, A., Nadal-Ginard, B. & Mahdavi, V. Expression of the cardiac ventricular  $\alpha$ - and  $\beta$ -myosin heavy chain gene is developmentally and hormonally regulated. *J. Biol. Chem.*, (1984), **259**, 6437-6446.
- 69) Lowey, S., Waller, G. S. & Trybus, K. M. Function of skeletal muscle myosin heavy chain and light chain isoforms by an in vitro motility assay. *J. Biol. Chem.*, (1993), **268**, 20414-20418.
- 70) Lowey, S., Waller, G. S. & Trybus, K. M. Skeletal muscle myosin light chains are essential for physiological speed of shortening. *Nature*, (1993), **365**, 454-456.
- 71) Luginbuhl, A. J., Dudley, G. A. & Staron, R. S. Fiber type changes in rat skeletal muscle after intense interval training. *Histochemistry*, (1984), **81**, 55-58.
- 72) Mabuchi, K., Penter, K., Mabuchi, M. S., Sreter, F. & Gergely, J. Characterization of rabbit masseter muscle fiber. *Muscle Nerve*, (1984), **7**, 431-438.
- 73) Mabuchi, K. & Sreter, F. A. Actomyosin ATPase II fiber typing by histochemical ATPase reaction. *Muscle Nerve*, (1980), **3**, 233-239.
- 74) Mabuchi, K., Szvetko, D., Pinter, K. & Sreter, F. A. Type IIB to IIA fiber transformation in intermittently stimulated rabbit muscles. *Am. J. Physiol.*, (1982), **242**, C 373-C 381.
- 75) Mahdavi, V., Izumo, S. & Nadal-Ginard, B. Developmental and hormonal regulation of sarcomeric myosin heavy chain gene family. *Cir. Res.*, (1987), **60**, 804-814.
- 76) Mahdavi, V., Strehler, E. E., Periasamy, M., Wiecezorek, D. F., Izumo, S. & Nadal-Ginard, B. Sarcomeric myosin heavy chain gene family: organization and pattern of expression. *Med. Sci. Sports Exerc.*, (1986), **18**, 299-308.
- 77) Marechal, G., Schwartz, K., Beckers-Bleux, G. & Ghins, E. Isozymes of myosin in growing and regenerating rat muscle. *Eur. J. Biochem.*, (1984), **138**, 421-428.
- 78) Matoba, H., Allen, J. A., Bayly, W. M., Oakley, C. R. & Gollnick, P. D. Composition of fiber types in skeletal muscles from ten animal species based on sensitivity of the myofibrillar actomyosin ATPase to acid or copper. *Histochemistry*, (1985), **82**, 175-183.
- 79) Matoba, H. & Gollnick, P. D. Influence of ionic composition, buffering agent, and pH on the histochemical demonstration of myofibrillar actomyosin ATPase. *Histochemistry*, (1984), **80**, 609-614.
- 80) Matsuda, G., Maita, T. & Umegane, T. The primary structure of L-1 light chain chicken fast skeletal muscle myosin and its genetic implication. *FEBS Lett.*, (1981), **126**, 111-113.
- 81) McDonald, K. S. & Fitts, R. H. Effect of hindlimb unweighting on single soleus fiber maximal shortening velocity and ATPase activity. *J. Appl. Physiol.*, (1993), **74**, 2949-2957.
- 82) Moore, R. L. & Stull, J. T. Myosin light chain phosphorylation in fast and slow skeletal muscles in situ. *Am. J. Physiol.*, (1984), **247**, C 462-C 471.
- 83) Nabeshima, Y.-I., Fuji-Kuriyama, Y., Muramatsu, M. & Ogata, K. Alternative transcription and two modes of splicing results in two myosin light chain from one gene. *Nature*, (1984), **308**, 333-338.
- 84) Pemrick, S. M. The phosphorylated L2 light chain of skeletal muscle myosin in modifier of the

- actomyosin ATPase activity. *J. Biol. Chem.*, (1980), **255**, 8836-8841.
- 85) Periasamy, M., Strehler, E. E., Garfinkel, L. I., Gubits, R. M., Ruiz-Opazo, N. & Nadal-Ginard, B. Fast skeletal muscle myosin light chains 1 and 3 are produced from a single gene by a combined process of differential RNA transcription and splicing. *J. Biol. Chem.*, (1983), **259**, 13595-13604.
- 86) Persechini, A. & Stull, J. T. Phosphorylation kinetics of skeletal muscle myosin and effect of actomyosin ATPase activity. *Biochemistry*, (1984), **23**, 4144-4150.
- 87) Pette, D., Muller, W., Leisner, E. & Vrbová, G. Time dependent effects on contractile properties, fibre population, myosin light chains and enzymes of energy metabolism in intermittently and continuously stimulated fast twitch muscles of rabbit. *Pflügers Arch.*, (1976), **364**, 103-112.
- 88) Pierobon-Bormioli, S. P., Torresan, P., Sartore, S., Moschini, G. B. & Schiaffino, S. Immunohistochemical identification of slow-tonic fibers in human extrinsic eye muscles. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, (1979), **18**, 303-306.
- 89) Pinter, K., Mabuchi, K. & Sreter, F. A. Isoenzymes of rabbit slow myosin. *FEBS Lett.*, (1981), **128**, 336-338.
- 90) Rayment, I., Rypniewski, W. R., Schmidt-Base, K., Smith, R., Tomchick, D. R., Benning, M. M., Winkelmann, D. A., Wesenberg, G. & Holden, H. M. Three-dimensional structure of myosin subfragment-1: a molecular motor. *Science*, (1993), **261**, 50-58.
- 91) Reiser, P. J., Kasper, C. E., Greaser, M. L. & Moss, R. L. Functional significance of myosin transitions in single fibers of developing soleus muscle. *Am. J. Physiol.*, (1988), **254**, C 605-C 613.
- 92) Reiser, P. J., Moss, R. L., Giulian, G. G. & Greaser, M. L. Shortening velocity in single fibers from adult rabbit soleus muscles is correlated with myosin heavy chain composition. *J. Biol. Chem.*, (1985), **260**, 9077-9080.
- 93) Samaha, F. J., Guth, L. & Albers, R. W. Phenotypic differences between the actomyosin ATPase of the three fiber types of mammalian skeletal muscle. *Exp. Neurol.*, (1970), **26**, 120-125.
- 94) Sant'Ana-Pereira, J. A. A. & Moorman, A. F. M. Do type IIB fibres from human muscle correspond to the the IIX/D fibres of rat? *J. Physiol.*, (1994), **479**, 161.
- 95) Sant'Ana-Pereira, J. A. A., Wessels, A., Nijtmans, L., Moorman, A. F. M. & Sargeant, A. J. New methods for the accurate characterization of single human skeletal muscle fibres demonstrates a relation between mATPase and MyHC expression in pure and hybrid fibre types. *J. Muscle Res. Cell Motil.*, (1995), **16**, 21-34.
- 96) Sawchak, J. A., Leung, B. & Shafiq, S. A. Evidence for new isoform of fast myosin heavy chain in rat skeletal muscle. *Muscle Nerve*, (1992), **15**, 1349-1353.
- 97) Schantz, P., Billeter, R., Henriksson, J. & Jansson, E. Training-induced increase in myofibrillar ATPase intermediate fibers in human skeletal muscle. *Muscle Nerve*, (1982), **5**, 628-636.
- 98) Schiaffino, S., Ausoni, S., Gorza, L., Saggin, L., Gundersen, K. & Lømo, T. Myosin heavy chain isoforms and velocity of shortening of type 2 skeletal muscle fibres. *Acta Physiol. Scand.*, (1988), **134**, 575-576.
- 99) Schiaffino, S., Saggin, L., Viel, A., Ausoni, S., Sartore, S. & Gorza, L. Muscle fiber types identified by monoclonal antibodies to myosin heavy chain. In: Benzi, G., Packer, L. & Siliprandi, N., *Biochemical aspects of physical exercise*, Elsevier Science Publisher, Amsterdam, (1986), 27-34.
- 100) Seedorf, K., Seedorf, U. & Pette, D. Coordinate expression of alkali and DTNB myosin light chains during transformation of rabbit fast muscle by chronic stimulation. *FEBS Lett.*, (1983), **158**, 321-324.
- 101) Simoneau, J.-A., Lortie, G., Boulay, M. R., Marcotte, M., Thibaut, M.-C. & Bouchard, C. Human skeletal muscle fiber type alteration with high-intensity intermittent training. *Eur. J. Appl. Physiol.*, (1985), **54**, 250-253.
- 102) Staron, R. S. & Pette, D. The multiplicity of combinations of myosin light chains and heavy chains in histochemically typed single fibres: rabbit soleus muscle. *Biochem. J.*, (1987), **243**, 687-693.
- 103) Staron, R. & Pette, D. The multiplicity of combinations of myosin light chains and heavy chains in histochemically typed single fibres: rabbit tibialis anterior muscle. *Biochem. J.*, (1987), **243**, 695-699.
- 104) Staron, R. S., Gohlsch, B. & Pette, D. Myosin polymorphism in single fibers of chronically stimulated rabbit fast-twitch muscle. *Pflügers Arch.*, (1987), **408**, 444-450.
- 105) Staron, R. S., Karapondo, D. L., Kraemer, W. J., Fry, A. C., Gordon, S. E., Falkel, J. E., Hagerman, F. C. & Hikida, R. S. Skeletal adaptations during early phase of heavy-resistance training in men and women. *J. Appl. Physiol.*, (1994), **76**, 1247-1255.
- 106) Staron, R. S., Leonaddi, M. J., Karapondo, D. L., Malicky, E. S., Falkel, J. E., Hagerman, F. C. & Hikida, R. S. Strength and skeletal muscle adapta-

- tions in heavy-resistance-trained women after detraining and retraining. *J. Appl. Physiol.*, (1991), **70**, 631-640.
- 107) Strohman, R. C., Micou-Eastwood, J., Glass, C. A. & Matsuda, R. Human fetal muscle and cultured myotubes derived from it contain a fetal-specific myosin light chain. *Science*, (1983), **221**, 955-957.
- 108) Sugiura, T., Matoba, H. & Murakami, N. Myosin light chain patterns in histochemically typed single fibers of the rat skeletal muscle. *Comp. Biochem. Physiol.*, (1992), **102**, 617-620.
- 109) Sugiura, T., Morimoto, A. & Murakami, N. Effects of endurance training on myosin heavy-chain isoforms and enzyme activity in the rat diaphragm. *Pflügers Arch.*, (1992), **421**, 77-81.
- 110) Sweeney, H. L., Bowman, B. F. & Stull, J. T. Myosin light chain phosphorylation in vertebrate striated muscle: regulation and function. *Am. J. Physiol.*, (1993), **264**, C 1085-C 1095.
- 111) Sweeney, H. L. & Stull, J. T. Phosphorylation of myosin in permeabilized mammalian cardiac and skeletal muscle cells. *Am. J. Physiol.*, (1986), **250**, C 657-C 660.
- 112) Termin, A. & Pette, D. Electrophoretic separation by an improved method of fast myosin HClIb-, HClId-, and HCIIa-based isomyosins with specific alkali light chain combinations. *FEBS Lett.*, (1990), **275**, 165-167.
- 113) Termin, A. & Pette, D. Myosin heavy-chain-based isomyosins in developing, adult fast-twitch and slow-twitch muscles. *Eur. J. Biochem.*, (1991), **195**, 577-584.
- 114) Termin, A., Staron, R. S. & Pette, D. Changes in myosin heavy chain isoforms during chronic low-frequency stimulation of rat fast hindlimb muscles: a single-fiber study. *Eur. J. Biochem.*, (1989), **186**, 749-754.
- 115) Termin, A., Staron, R. S. & Pette, D. Myosin heavy chain isoforms in histochemically defined fiber types of rat muscle. *Histochemistry*, (1989), **92**, 453-457.
- 116) Trappe, S. W., Costill, D. L., Fink, W. J. & Pearson, D. R. Skeletal muscle characteristics among distance runners: a 20-yr follow-up study. *J. Appl. Physiol.*, (1995), **78**, 823-829.
- 117) Tsika, R. W., Herrick, R. E. & Baldwin, K. M. Interaction of compensatory overload and hindlimb suspension on myosin isoform expression. *J. Appl. Physiol.*, (1987), **62**, 2180-2186.
- 118) Tsika, R. W., Herrick, R. E. & Baldwin, K. M. Subunit composition of rodent isomyosins and their distribution in hindlimb skeletal muscles. *J. Appl. Physiol.*, (1987), **63**, 2101-2110.
- 119) Wada, M., Hämaläinen, N. & Pette, D. Isomyosin patterns of single type IIB, IID, and IIA fibres from rabbit skeletal muscle. *J. Muscle Res. Cell Motil.*, (1995), (in press).
- 120) 和田正信, 勝田 茂, 高強度・持久トレーニングによるラット骨格筋タンパクの変化, *体育学研究*, (1988), **32**, 221-229.
- 121) Wada, M., Katsuta, S., Doi, T. & Kuno, S. Favourable associations between the myosin heavy chain and light chain isoforms in human skeletal muscle. *Pflügers Arch.*, (1990), **416**, 689-693.
- 122) Wada, M., Kikuchi, K. & Katsuta, S. Changes in myosin heavy-chain and light-chain isoforms following sustained exercise. In: Sato, Y., Poortmans, J., Hashimoto, I., and Oshida, Y., *Integration of medicine and sports sciences*, Karger, Basel, (1992), 309-317.
- 123) Wada, M. & Pette, D. Relationships between alkali light-chain complement and myosin heavy-chain isoforms in single fast-twitch fibers of rat and rabbit. *Eur. J. Biochem.*, (1993), **214**, 157-161.
- 124) Whalen, R. G., Butler-Browne, G. S. & Gros, F. Identification of a novel form of myosin light chain present in embryonic muscle tissue and cultured muscle cells. *J. Mol. Biol.*, (1978), **126**, 415-431.
- 125) Whalen, R. G., Sell, S. M., Erriksson, A. & Thornell, L.-E. Myosin subunit types in skeletal muscle and cardiac tissues and their development distribution. *Dev. Biol.*, (1982), **91**, 478-484.