

ラット下肢骨格筋における筋線維タイプと ミオシン軽鎖および重鎖の関連

大石 康 晴

熊本大学教養部保健体育科
860 熊本市黒髪2丁目40-1
(平成3年9月19日 受理)

The relationships between muscle fiber types and myosin light and heavy chains in rat hindlimb skeletal muscles

Yasuharu OH-ISHI

Department of physical education, Faculty of general education,
Kumamoto University
860 Kurokami 2-40-1, Kumamoto-city, Kumamoto, Japan
(Received September 19, 1991)

Summary

The purpose of this study was to investigate the relationships between muscle fiber types and myosin light and heavy chains. Rat skeletal muscles were analyzed with histochemical and immunobiochemical techniques. In fiber type composition, soleus and deep portion of gastrocnemius were occupied with type I fibers about 88.0% and 50.3%, respectively. On the other hand, type II fibers were predominant in other fast muscles range from 87.0% to 100%. Myosin light chain subtype patterns were similar to the fiber type composition in each muscle, and there were significant correlations in the ratio between type II b and LC3f, type I and LC1s and LC2s, respectively. Fast type myosin heavy chain was 2.5~5.4 times in fast muscles compared with the soleus, and was significantly correlated with the ratio of type II fibers in each muscle. These results suggested that each type of fibers contain the specific type of myosin light and heavy chains and the ratio of isomyosins were differ from several muscles or the different portion of same muscle.

緒 言

骨格筋線維は、アクチンやミオシンなどの収縮タンパク、トロポニン、トロポミオシン、Mタンパク、Cタンパクなどの調節タンパク、コネクチン、デスミン、ビメンチンなどの骨格タンパク、といった種々のタンパク質よりなる筋原線維を収縮の基本単位とし、Ca²⁺イオンの貯蔵庫である筋小胞体がこの筋原線維を取り囲み、またその周りにエネルギー代謝に関与するミトコンドリアが位置

し、筋鞘と呼ばれる膜系がこのような構造物をまとめることによりファイバーを形成している。骨格筋は、このような筋線維が多数集合したものであり、アデノシン-3-リン酸 (Adenosin triphosphate; ATP) をエネルギー源として収縮を繰り返すことができる。筋線維は、ATP を分解する酵素である myosin ATPase の pH に対する感受性の違いにより組織化学的にいくつかのタイプに分類される。大別すると、収縮速度は速いがすぐに疲労する速筋線維 (FT, Type II) と、収縮速度は遅いが疲労耐性に優れた遅筋線維 (ST, Type I) に分けられる。これまで、これらの筋線維タイプの組織レベルでの研究が多数行われてきたが、近年、組織化学的分析に加え、分子レベルからのアプローチが盛んになされており、特に収縮タンパクであるミオシンと筋線維タイプとの関連がクローズアップされている。

ミオシン分子は、分子量約20万の重鎖 (myosin heavy chain: 以下 HC と略) と2万前後の軽鎖 (myosin light chain: 以下 LC と略) とから構成され、各鎖ごとに slow タイプと fast タイプといったサブタイプの存在が確認されている。このようなミオシン HC と LC のサブタイプは筋線維タイプ別に特異的に配置しており、換言すれば、ある特定のミオシン HC と LC サブタイプの組合せにより、筋線維タイプが決定され、特定の機能を発揮するといえる。本研究では、ラットの下肢骨格筋を用いて、様々な筋における筋線維タイプとミオシン HC・LC サブタイプの関連性についてモノクローナル抗体による分析を加え検討することを目的とした。

方 法

1. 実験動物

実験には、20週齢の Wistar 系雄性ラットを用い、筋サンプルとして、ヒラメ筋 (m. soleus)、足底筋 (m. plantaris)、長指伸筋 (m. extensor digitrum longus)、腓腹筋 (m. gastrocnemius)、前脛骨筋 (m. tibialis anterior) を用いた。腓腹筋と前脛骨筋については深層部 (deep portion) と表層部 (peripheral portion) 別に分析を加えた。ネンブータル麻酔下のラットより筋を摘出し、左脚の筋群を組織化学的分析に、右脚の筋群を生化学的分析に供した。

2. 組織化学的分析

摘出した筋の筋腹付近を約5mmの厚さに横断し、これをコンパウンド内に埋め液体窒素で冷却したイソペンタンで固めた。零下20°Cの環境下でマイクロームにより厚さ約10 μ mの連続切片を作成し、myosin ATPase 染色 (Doriguzzi et al 1983) を施した (プレインキュベーション pH4.3, 4.6, 10.3)。得られた染色標本から筋線維を Type I (pH4.3, 4.6に濃染)、Type II a (pH10.3に濃染)、Type II b (pH4.6に淡染, pH10.3に濃染)、Type II c (全てに濃染) に分類し (Brook and Kaiser 1970)、各々の筋におけるこれらの筋線維の割合 (筋線維組成) を求めた。

3. 生化学的分析

右脚より摘出した筋の重量を測定し、その10倍量の Tris buffer 溶液 (10mM Tris-cl, 250 mM sucrose, 1mM EGTA, 1mM EDTA, 1mM PMSF, pH7.5) で均質化し、Bradford (1976) の方法に従いタンパク定量を行い (0.5 μ g protein/ μ l)、これを電気泳動用サンプルとした。

1) ドデシル硫酸ナトリウム電気泳動 (SDS-PAGE)

ミオシン LC の分析には、18%ランニングゲル、5%濃縮ゲルを、ミオシン HC の分析には7%ランニングゲル、5%濃縮ゲルを用いた。泳動は、Laemmli (1970) の方法に従い、30mA で約3時

間通電した(タンパク量は, LCで15 μ g, HCで1 μ gに一定量とした)。ミオシン HC 分析用のゲルは, 通電後ただちにイムノブロッティングに移った。ミオシン LC については, 同一筋サンプルにおいて2度この電気泳動を行い, 一方のゲルは通電後ただちにイムノブロッティングに, もう一方のゲルは通電後, 染色(クーマジープリリアントブルー-R), 脱色(10%イソプロピルアルコール, 10%酢酸)を行い, デンシトメータースキャン(島津 CS-910)によりサブタイプの比率を算出した。また, 一部の筋に関しては精製した後 SDS-PAGE にかけて銀染色を施した。

2) イムノブロッティング

SDS-PAGE が終了したゲル内のタンパク質を, Towbin (1979) らの方法に従いミリポアーメンブレンに転写した(50V, 16~20h)。転写後, このメンブレンをウシ血清アルブミン溶液(2.5% Bovine serum albumin, 100mM Tris-cl, 150mM NaCl, pH7.5)で1時間インキュベートし, つぎに一次抗体で1時間インキュベートした。一次抗体として, ミオシン LC にはアルカリ LC (LC1, LC3) のみを認識するモノクローナル抗体(KB-1, Fujimoto et al)を, HC には fast タイプのみを認識するモノクローナル抗体(anti-myosin, fast skeletal, IgG: SIGMA, M-4276)をそれぞれ用いた。その後, 二次抗体として抗マウス抗体により30分間インキュベートを行った。各インキュベーションは室温で行い, インキュベーション間にメンブレンを TTBS 溶液(100mM Tris-cl, 0.9% NaCl, 0.1% Tween twenty, pH7.5)で洗浄した。目的とするタンパクは, ジアミノベンチジン(DAB, SIGMA)を用いて, アビジン-ビオチン-ペルオキシダーゼ複合法(Vectastain ABC Kit, Vector labo. CA)により可視化し, デンシトメータースキャン(島津 CS-910)により定量した。

結 果

1. 筋線維組成

図1には, 前脛骨筋における筋線維の pH に対する染色感度の違いを示した。このような染色感度の違いにより筋線維はいくつかのタイプに分類され, 本研究では遅筋線維を Type I, 速筋線維を Type II, そのサブタイプを IIa, IIb, IIc に分類した。表1には, それぞれの筋の筋線維組成を示した。ヒラメ筋(sol)は, Type I が88.0%で典型的な遅筋であり, 一方, 前脛骨筋(TA)はほとんどの筋線維が Type II で占められた速筋の特性を有し, ヒラメ筋とは顕著な違いが認められる。また, 腓腹筋(gas)では, その表層部(gas-p)はすべて Type II 線維で占められているのに対し, 深

Table 1 Fiber type composition in rat skeletal muscles (%)

muscle	Type I	Type II c	Type II a	Type II b
sol	88.0	4.4	7.6	0
pla	13.0	0	22.6	64.4
EDL	3.4	1.5	21.9	73.2
gas-d	50.3	2.6	34.5	12.6
gas-p	0	0	12.1	87.9
TA-d	5.8	0	35.3	58.9
TA-p	0	0	2.0	98.0

sol: soleus, pla: plantaris, EDL: extensor digitrum longus, gas-d: deep portion of gastrocnemius, gas-p: peripheral portion of gastrocnemius, TA-d: deep portion of tibialis anterior, TA-p: peripheral portion of tibialis anterior

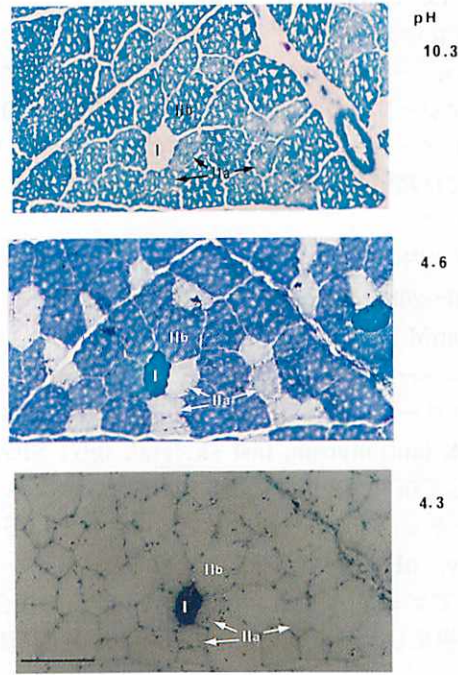


Fig. 1 Myosin ATPase staining in rat tibialis anterior. Each serial sections was pre-incubated at pH 10.3 (upper), 4.6 (middle), 4.3 (lower) for 5-8 minutes. I: Type I fiber, II a: Type II a fiber, II b: Type II b fiber. Bar indicate 100 μ m.

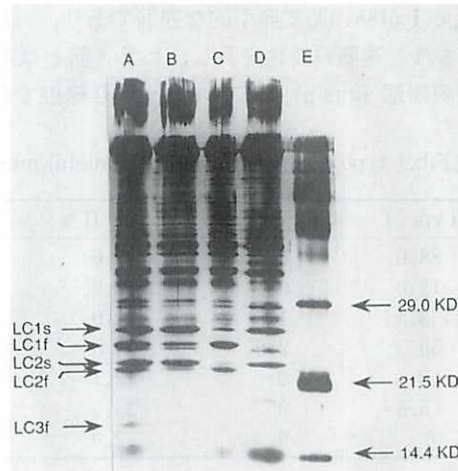


Fig. 2 Polyacrylamide gel electrophoresis of purified rat skeletal muscles and heart. A: soleus+plantaris, B: soleus, C: plantaris, D: heart ventricle, E: low molecular weight marker. Gel was stained with silver staining.

層部 (gas-d) は Type I 線維と Type II 線維がほぼ同様な占有率を示し、同一筋においても部位により筋線維組成が異なることを示している。

2. ミオシン軽鎖

1) ミオシン LC サブタイプ

図2には、ラットヒラメ筋、足底筋および心室筋のミオシン LC サブタイプの電気泳動パターンを示した。これは各々の筋サンプルを精製した後、SDS-PAGE にかき、ゲルを銀染色したものである。ヒラメ筋では、slow タイプの LC (LC1s, LC2s) の比率が高く fast タイプの LC はわずかに認められる程度である。心室筋では、ヒラメ筋の LC1s, LC2s と同一の LC が認められた。一方、足底筋では、fast タイプの LC (LC1f, LC2f, LC3f) の割合が高く、ヒラメ筋とは相反する LC パターン

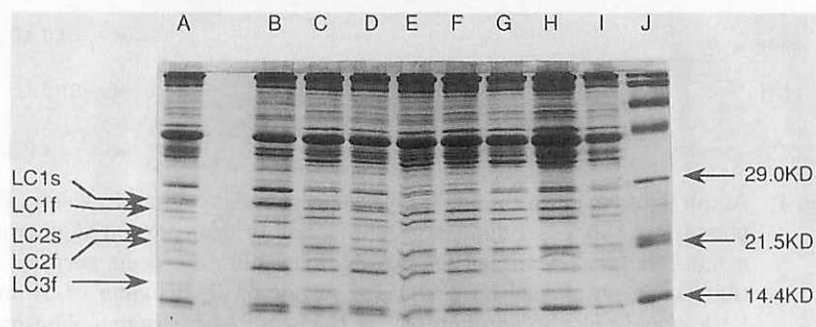


Fig. 3 Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis of rat hind-limb skeletal muscles. A : soleus+peripheral portion of tibialis anterior, B : soleus, C : plantaris, D : deep portion of gastrocnemius, E : deep portion of tibialis anterior, F : extensor digitorum longus, G : peripheral portion of gastrocnemius, H : peripheral portion of tibialis anterior, I : gastrocnemius+tibialis anterior, J : low molecular weight marker. Gel was stained with coomassie brilliant blue -R.

Table 2 myosin LC subtype distribution in rat skeletal muscles (%)

muscle	LC1s	LC1f	LC2s	LC2f	LC3f
sol	69.1	3.2	23.2	4.5	0
pla	5.6	32.8	3.7	46.3	11.6
EDL	0	38.4	0	48.5	13.1
gas-d	29.6	20.1	12.2	32.7	5.4
gas-p	0	33.8	0	47.1	19.1
TA-d	6.9	34.5	3.9	46.2	8.5
TA-p	0	44.1	0	42.8	13.1

sol : soleus, pla : plantaris, EDL : extensor digitorum longus, gas-d : deep portion of gastrocnemius, gas-p : peripheral portion of gastrocnemius, TA-d : deep portion of tibialis anterior, TA-p : peripheral portion of tibialis anterior

が得られた。図3にそれぞれの筋のLCパターンを、表2にはそのサブタイプの比率を示した。ヒラメ筋では90%以上がslowタイプのLC(LC1s, LC2s)から構成され、逆に長指伸筋、前脛骨筋、腓腹筋表層部では、slowタイプのLCは認められなかった。図4には、アルカリLC(LC1s, LC1f, LC3f)を特異的に認識するモノクローナル抗体を用いた筋のLCパターンを示した。ヒラメ筋と腓腹筋深層部でLC1sが、ヒラメ筋を除く全ての筋でLC1f, LC3fが顕著に認められた。この抗体は、数 μ gといった微量の筋タンパクを電気泳動に供することにより、筋または筋の異なる部位におけるLCサブタイプの分布の相違を明確に示すことが可能である。

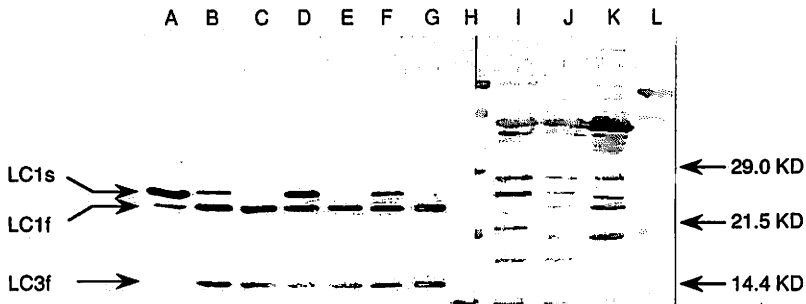


Fig. 4 Alkali light chains in rat hindlimb skeletal muscles. A and I: soleus, B: plantaris, C: extensor digitorum longus, D and J: deep portion of gastrocnemius, E: peripheral portion of gastrocnemius, F: deep portion of tibialis anterior, G and K: peripheral portion of tibialis anterior, H and L: low molecular weight marker. A-H: SDS-PAGE+Immunoblotting, I-L: SDS-PAGE+Amido black staining.

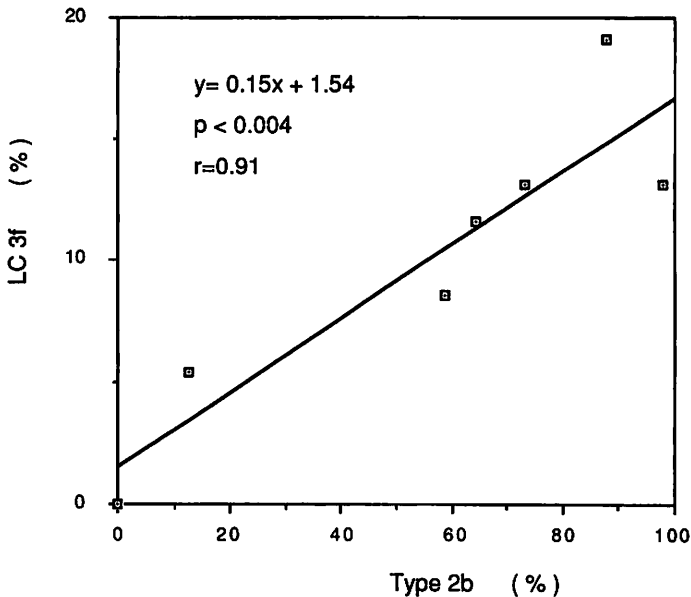


Fig. 5 Correlation of the ratio of type II b fibers and myosin light chain 3f in each muscle.

2) 筋線維組成とミオシン LC サブタイプ

筋線維組成とミオシン LC サブタイプの割合の関連を検討したところ、それぞれの筋の Type II b 線維と LC3f の間に高い相関 ($p < 0.004$) が認められた (図 5). 同様に、Type I 線維と LC1s, LC2s 間にも相関がみられた (それぞれ $p < 0.0001$, $p < 0.0001$).

3. ミオシン重鎖

図 6 には、それぞれの筋の fast タイプ HC を示した。これは fast タイプの HC を認識するモノク

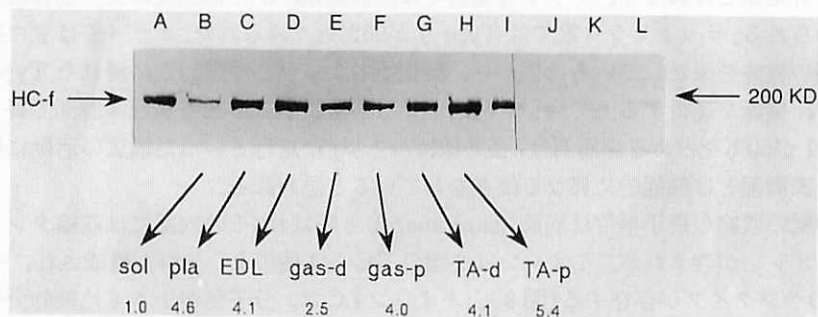


Fig. 6 Fast type of myosin heavy chain in rat hindlimb skeletal muscles. A, I and L: high molecular weight marker, B and J: soleus, C: plantaris, D: extensor digitorum longus, E: deep portion of gastrocnemius, F: peripheral portion of gastrocnemius, G: deep portion of tibialis anterior, H and K: peripheral portion of tibialis anterior, A-I: SDS-PAGE+Immunoblotting, J-L: SDS-PAGE+Amido black staining.

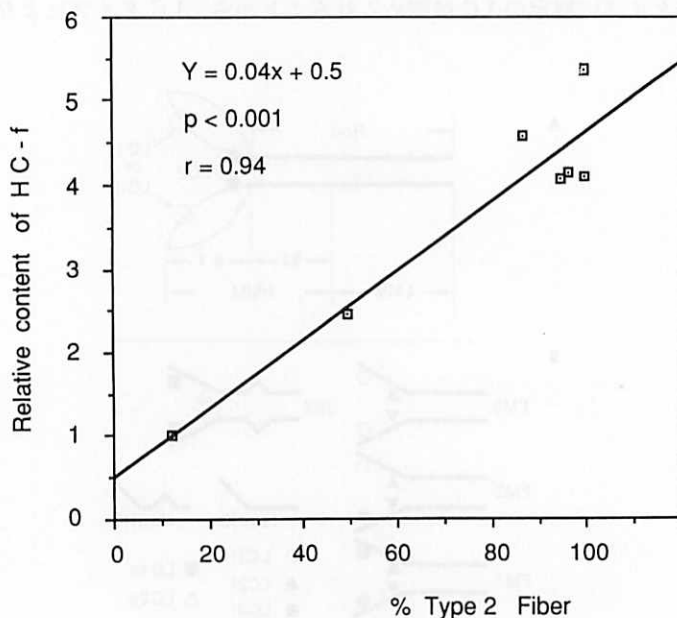


Fig. 7 Correlation of the ratio of type II fibers and fast type of myosin heavy chain in each muscle.

ローナル抗体を用い可視化したものである。図の下の数値は、このスポットをデンシトメータースキャンにより定量化し、ヒラメ筋の値を基準に比較したものである。ヒラメ筋に対し、他の筋では2.5~5.4倍の fast タイプの HC が認められ、これらの値と各筋に占める Type II の割合 (% Type IIa + % Type IIb + % Type IIc) の間に有意な正の相関が認められた (図7)。

考 察

ヒト骨格筋とは異なり、ラット骨格筋では筋の種類、または部位により筋線維組成に顕著な違いが認められる。ラットヒラメ筋では Type I が90%近くみられた。ヒラメ筋は主に抗重力筋として姿勢保持の機能を果たしていることから、酸化能力ならびに疲労耐性に優れた Type I の比率が高いことは、機能を遂行する上で合目的的といえる。腓腹筋では表層部と深層部で著しい違いがみられ、Type I が50%を占める深層部は、姿勢保持から歩行、走行といった幅広い活動に動員されると考えられ、表層部とは機能的に異なる働きをしていると思われる。

筋線維の収縮の最小単位は筋節 (sarcomere) と呼ばれ、その内部には収縮タンパクであるアクチンとミオシンが含まれる。ミオシンは2個の HC と4個の LC とから構成され、それぞれに fast と slow のサブタイプが存在する (図8)。ミオシン LC は、分子量が小さく比較的分析が容易であることから、組織化学的に分類された線維タイプとの関連が盛んに研究されている。Thomason et al (1986) は、ラットのさまざまな筋を電気泳動法により分析したところ、筋線維タイプ別に特定の LC の組合せを認めている。Tsika et al (1987) も、ラット骨格筋で分析したところ、同一タイプの HC と LC の組合せを報告している。また、ヒトの単一筋線維を用いた研究でも同様な報告がみられる (Salviati et al. 1983)。Salviati et al (1982) は、ラビット骨格筋線維を用いて LC を分析し、その LC パターンから筋線維を ST-LC, FT-LC, mixed-LC の3つのタイプに分類している。このように各々の筋線維タイプに特定の LC が認められることから、LC タイプにより筋線維タイプを決

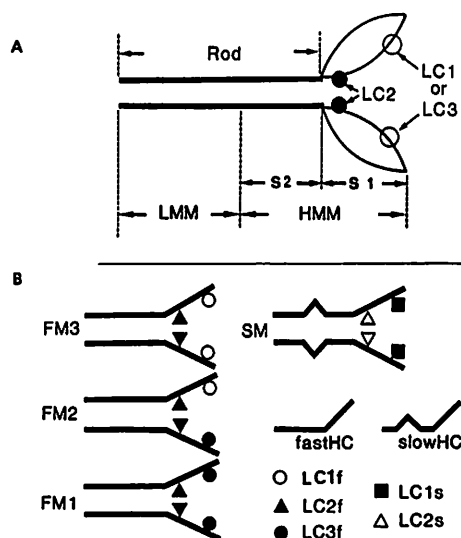


Fig. 8 Schematic representation of myosin molecule structure (A) and isomyosin types (B).

定できるのではないかとする報告に対し, Staron and Pette (1986) は, ラビット単一筋線維について分析したところ, LC には一定のパターンはみられず, slow と fast LC が単一筋線維内に様々な割合で存在していたと報告している. Billeter et al (1981) もヒト単一筋線維内で LC の混在を報告している. LC の機能的役割は, Moss et al (1982) や Wagner and Weeds (1977) が報告しているように, 収縮時のアクチンとミオシンの相互作用を調節していることから, 筋線維タイプを決定するファクターとは考えにくい. 一方, ミオシン HC は, 分子量が大きく分析が困難であったが, その機能的役割は線維タイプを決定する上で重要な役割を果たしていることが明らかにされている. 筋線維は, myosin ATPase 活性の pH 感受性の差異により酵素組織化学的に速筋線維 (Type II) と遅筋線維 (Type I) とに大別される. 生化学的には, myosin ATPase 活性は Type I に比べ Type II が高く (Thomason et al 1986), したがって, 線維の集合体である筋全体においても Type II の占有率の増加に比例して活性は高くなる. この myosin ATPase 活性の高低は筋の収縮速度を決定しているため (Bárány 1967), 活性の高い Type II は Type I に比して収縮速度が速いという特性を有している. このような筋線維タイプおよびその収縮速度を決定する myosin ATPase の活性部位に関して, Sivaramakrishnan and Burke (1982) は, myosin ATPase 活性部位を生化学的に分析した結果, HC 自体に活性部位が存在することを報告しており, さらに Perrie and Bumford (1986) および Billeter et al (1980) は電気泳動法を用いた分析により, 組織化学的に分類された Type I, Type IIa, Type IIb のそれぞれに特異的なミオシン HC が存在すると報告している. また, 生理学的に測定された単一筋線維の最大短縮速度と fast タイプの HC の間に有意な正の相関が認められている (Reiser et al 1985). このように, 筋線維は myosin ATPase 活性の高低により組織化学的にいくつかのタイプに分類され, それぞれのタイプで機能が異なり, それは線維内に含まれる収縮タンパクであるミオシン HC のサブタイプの違いにより決定されていることが明らかとなった. ミオシン LC は筋線維タイプを決定するものではないが, 同一タイプの HC (fast と fast, slow と slow) との親和性が比較的高く, 基本的には図 8-B に示すように 4 つの組合せパターンが考えられる. 本研究では, % Type IIb と % LC3f との間に有意な正の相関が認められたが, これは Type IIb が主に FM 1 と呼ばれるアイソミオシンから構成され, この FM 1 は fast HC と LC3f, LC2f とから構成されているためであろう. このことは同様に有意な正の相関がみられた Type I と LC1s, LC2s についても Type I を構成するアイソミオシンである SM の HC と LC の組合せに起因すると考えられる.

本研究では, アルカリ LC のみを認識するモノクローナル抗体を用いて各筋のサブタイプを図示した. ここで得られた LC サブタイプの比率は, SDS-PAGE の後クーマジーブリリアントブルー染色により得られた LC サブタイプの比率とは多少異なるため, 数値化するには危険であるが, 各骨格筋間の LC サブタイプの量的比較には有効である. すなわちヒラメ筋は他の筋に比して LC1s の割合が高く, LC1f の比率が低い. さらにヒラメ筋を除く全ての筋で LC3f が認められた. また, 本抗体は標的アミノ酸との反応性が高いため, 少量の泳動サンプルにより鮮明な応答が得られた.

ミオシン HC はこれまで fast と slow のサブタイプが確認されていたが, 近年, 分析法の改良により新たに Type II d または Type II x といった筋線維タイプとそれを構成する新しいタイプの HC が報告されている (Bar and Pette 1988; Schiaffino et al 1988; Termin et al 1989). 本研究で用いた抗ミオシンモノクローナル抗体は, これらの HC のうち fast タイプのみを認識するものであり, デンシトメータースキャンにより得られた数値をヒラメ筋を基準にした場合, 他の筋では 2.5~5.4 倍の値が得られ, この値はそれぞれの筋の Type II 占有率との間に有意な相関が認められた. このことは, Type II が fast タイプの HC から構成され, その値は筋の Type II 占有率を量的に

反映することを示唆している。従来に比べ HC 分析が容易であることや、泳動に供するサンプルが微量で鮮明な HC パターンが得られることから、HC 分析に際し本抗体を使用することは有効であることが示唆された。

このようにラット骨格筋は、筋または筋の部位により筋線維組成が異なり、タイプの異なる筋線維は、それを構成するミオシンタイプに違いが認められ、ミオシン HC のサブタイプにより筋線維タイプが決定されている。それぞれの筋線維タイプのミオシン発現は特異的プログラムによりコントロールされており、筋が果たす機能的役割と密接に関連している (d'Albis et al 1989)。したがって、本来の機能的役割を変化させることにより、筋の質的構造変化を生じさせることも可能であり、可塑性をもった組織体といえる。

総 括

本研究は、ラットのさまざまな下肢骨格筋を用いて、筋線維タイプとそれを構成するミオシン軽鎖ならびに重鎖の関連性について組織化学的分析に加え、モノクローナル抗体による免疫生化学的手法を用いて検討した。筋線維タイプは、遅筋線維を Type I、速筋線維を Type II、そのサブタイプを Type IIa, Type IIb, Type IIc に分類し、各筋の筋線維組成を検討した結果、ヒラメ筋および腓腹筋深層部では Type I がそれぞれ88.0%, 50.3%認められたのに対し、他の筋では Type II が87.0%~100%と対称的な構成パターンが得られた。LC のサブタイプパターンについても筋線維タイプとの類似性が認められ、各筋の Type IIb と LC3f, Type I と LC1s, LC2s との間にそれぞれ有意な正の相関が得られた。ミオシン HC について、fast タイプの HC 量を検討した結果、ヒラメ筋を基準に他の筋では2.5~5.4倍の値が得られ、筋の Type II 占有率との間に有意な正の相関が得られた。これらの結果は、HC がそれぞれの筋線維タイプを規定するとのこれまでの報告を支持するとともに、fast タイプの HC が筋の Type II の割合を反映し、HC と LC のサブタイプで同一タイプ間の親和性が高いことが示唆された。また、アルカリ LC および fast タイプ HC をそれぞれ認識するモノクローナル抗体の有用性が示唆された。

References

- Bar A, Pette D (1988) Three fast myosin heavy chains in adult rat skeletal muscle. *FEBS Lett* 235 : 153-155
- Bárány M (1967) ATPase activity of myosin correlated with speed of muscle shortening. *J Gen Physiol* 50 : 197-218
- Billeter R, Weber H, Lutz H, Howald H, Eppenberger HM, Jenny E (1980) Myosin types in human skeletal muscle fibers. *Histochemistry* 65 : 249-259
- Billeter R, Heinzmann CW, Howald H, Jenny E (1981) Analysis of myosin light and heavy chain types in single human skeletal muscle fibers. *Eur J Biochem* 116 : 389-395
- Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72 : 248-254
- Brook MH, Kaiser KK (1970) Muscle fiber types: how many and what kind?. *Arch Neurol* 23 : 369-379
- d'Albis A, Couteaux R, Janmot C, Roulet A (1989) Specific programs of myosin expression in the postnatal development of rat muscles. *Eur J Biochem* 183 : 583-590
- Doriguzzi C, Mongini T, Palmucci L, Schiffer D (1983) A new method for myofibrillar Ca^{++} -

- ATPase reaction based on the use of metachromatic dyes: Its advantages in muscle fibre typing. *Histochemistry* 79 : 289-294
- Fujimoto K, Nakao K, Okumura K, Jougasaki M, Hitoshi Y, Takatsu K, Yamamoto H, Miyamoto E (1991) 64th Scientific Sessions Abstract, American Heart association.
- Laemmli UK (1970) Cleavage of structural proteins during in the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature (Lond.)* 227 : 680-685
- Moss RL, Giulian GG, Greaser ML (1982) Physiological effects accompanying the removal of myosin LC2 from skinned skeletal muscle fibers. *J Biol Chem* 257 : 8588-8591
- Perrie WT, Bumford SJ (1986) Electrophoretic separation of myosin isoenzymes. Implications for the histochemical demonstration of fibre types in biopsy specimens of human skeletal muscle. *J Neurol Sci* 73 : 89-96
- Reiser PJ, Moss RL, Giulian GG, Greaser ML (1985) Shortening velocity in single fibers from adult rabbit soleus muscles is correlated with myosin heavy chain composition. *J Biol Chem* 260 : 9077-9080
- Salviati G, Betto R, Betto DD (1982) Polymorphism of myofibrillar proteins of rabbit skeletal muscle fibers. An electrophoretic study of single fibres. *Biochem J* 207 : 261-272
- Salviati G, Betto R, Betto DD, Zeviani M (1983) Myofibrillar-protein isoforms and sarcoplasmic-reticulum Ca_2^+ -transport activity of single human muscle fibres. *Biochem J* 224 : 215-225
- Schiaffino S, Ausoni S, Gorza L, Saggin L, Gundersen K, Lomo T (1988) Myosin heavy chain isoforms and velocity of shortening of type 2 skeletal muscle fibres. *Acta Physiol Scand* 134 : 575-576
- Sivaramakrishnan M, Burke M (1982) The free heavy chain of vertebrate skeletal myosin subfragment 1 shows full enzymatic activity. *J Biol Chem* 257 : 1102-1105
- Staron RS, Pette D (1986) Correlation between myofibrillar ATPase activity and myosin heavy chain composition in rabbit muscle fibers. *Histochemistry* 86 : 19-23
- Termin A, Staron RS, Pette D (1989) Myosin heavy chain isoforms in histochemically defined fiber types of rat muscle. *Histochemistry* 92 : 453-457
- Thomason DB, Baldwin KM, Herrick RE (1986) Myosin isozyme distribution in rodent hindlimb skeletal muscle. *J Appl Physiol* 60 : 1923-1931
- Towbin H, Staehelin T, Gordon J (1979) Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: Procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 76 : 4350-4354
- Tsika RW, Herrick RE, Baldwin KM (1987) Subunit composition of rodent isomyosins and their distribution in hindlimb skeletal muscles. *J Appl Physiol* 63 : 2101-2110
- Wagner PD, Weeds AG (1977) Studies on the role of myosin alkali light chains. recombination and hybridization of light chains and heavy chains in subfragment-1 preparations. *J Mol Biol* 109 : 455-473