

Title	グリセリン処理した兎腰筋の収縮性について
Sub Title	On the contractility of the glycerinated rabbit psoas muscle fiber
Author	中山, 雪麿(Nakayama, Yukimaro) 渡辺, 葉子(Watanabe, Yoko) 山口, 正弘(Yamaguchi, Masahiro)
Publisher	共立薬科大学
Publication year	1982
Jtitle	共立薬科大学研究年報 (The annual report of the Kyoritsu College of Pharmacy). No.27 (1982.) ,p.33- 42
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	原報
Genre	Technical Report
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000027-0033

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

グリセリン処理した兎腰筋の収縮性について*

中山雪麿, 渡辺葉子, 山口正弘**

On the Contractility of the glycerinated rabbit psoas muscle fiber

Yukimaro NAKAYAMA, Yoko WATANABE and
Masahiro YAMAGUCHI

The vertebrate striated muscle contraction is regulated by Ca ion, and its information is transported to actin-myosin interaction through the response of troponin(TN)-tropomyosin(TM) regulatory protein system.

TN complex performs the multiple actions which binds with Ca as well as TM, and blocks the actomyosin interaction. In addition, it is also well known that TN complex releases TM from the steric block mechanism and actin-myosin interaction accomplishes (Steric blocking theory).

However, glycerinated muscle fiber, Ca information is transported by a different process, as the plasma and SR membrane systems have been broken, intracellular Ca depends on the extracellular Ca concentration. So the almost free Ca ions in muscle fiber can be chelated easily by EGTA.

Ordinary, glycerinated muscle contraction has been known as the ATP contraction, but when EGTA was added to the standard solution, ATP contraction does not occur. It suggests that the Ca contamination in the solution is the origin of ATP contraction.

The results obtained in the present experiment showed the facts that the glycerinated muscle fiber bundles can be classified into the three types of contraction as follows, 1) Ca sensitive fiber which contracts with Ca in the presence of ATP (CaS-fiber), 2) Ca non-sensitive fiber which contracts only by ATP (CaNS-fiber), and 3) mixed fiber bundles which mixed of 1), 2) each fiber (M-fiber).

CaS-fiber possesses the Ca sensitivity for the period of standing at the glycerol buffer solution, but it loses Ca sensitivity as follows, 1) trypsin treatment at room temperature, 2) Ca activated neutral protease (CaANP).

An attempt was carried out whether CaNS-fiber will recover to CaS-fiber by preincubation in native-TM which prepared from the rabbit skeletal muscle, and we had conclusion that the many preparations recovered to CaS-fiber from CaNS-fiber.

1. 緒 言

脊椎動物骨格筋の収縮は, 筋原線維レベルにおける, Troponin (TN または Tn),-Tropomyosin (TM) 系を介した, Actin (A) と Myosin (M) の相互作用である (Ebashi and Ebashi

* この一部は第 59 回日本生理学会 (1982 年 3 月) で発表

** 順天堂大学, 体育学部・栄養生化学教室

1964¹⁾), Ebashi and Endo 1978²⁾)。

この一連の化学的機械的反応に関しては、次のように理解されている。すなわち、最大収縮発現には $10^{-6} M$ 以上の Ca 濃度が必要で、その Ca が TN と結合することによって、A と M の相互作用を立体的に阻害している TM に情報が伝達され、TM の位置がずれて抑制が解除され、A と M の反応が進行するというものである。それ故、骨格筋収縮発現のための唯一の因子は Ca であると考えられている (Vibert et al. 1972,³⁾ Huxley 1971,⁴⁾ Ebashi 1972,⁵⁾ Parry and Squire 1973⁶⁾)。

しかし、上記のような骨格筋の収縮機構は、あくまでも、生筋における ATP 存在下での経緯であり、グリセリン処理筋のような、筋線維内に ATP が存在しない環境下では、A と M の相互作用は、Ca の他に ATP を投与しないかぎり、進行しないのである。

ところが、本実験において、兎腰筋から調整したグリセリン筋の中に、正常の Ca 感受性線維に混ざって、ATP のみに収縮する筋線維、つまり Ca 非感受性線維の存在することが確かめられた。

そこで、このような筋線維が何故できるのか、また、その条件は何かということを決め、さらにこの Ca 非感受性筋線維が、再び Ca 感受性を取り戻すことが、可能であろうかということに関して検討した結果、多くの筋線維において、native TM で処理すると、機能的回復が見られたので報告する。

2. 材料と方法

体重 2~3 kg の兎を用いてその腰筋 (M. psoas) を摘出し、これを太さ 2~3 mm の筋線維の束に裂き、直径 3 mm のガラス棒に両端を細い糸で縛り固定した後、50 mM KCl, 5 mM EGTA, 10 mM KH_2PO_4 (pH 6.8), 20 unit trasylol, 1 mM DTT を含む 50% グリセロール溶液 (0°C) に一晚浸けた後、脱水処理して再び同組成の新らしいグリセロール溶液に入れ、-20°C で 30 日間以上保存した。このような処理によって得られた筋線維は、全ての膜系が機能を失なった筋線維標本である。そしてこれを室温中に取り出し、次のような組成の Bathing solution に入れてグリセロールを除去した後、種々の実験を試みた。

Bathing solution (A 液) : 50 mM KCl, 2 mM MgCl_2 , 20 mM MOPS (pH 6.8), 0.2 mM DTT, 0.5 mM Na_3N 。

グリセリン処理筋は、まず A 液に 20 分以上浸けた後、筋線維の束をさらに直径 0.3~0.5 mm (筋線維の数で、10~30 本) の、より細い筋線維の束に裂き、10~20 mm の長さに切って、張力測定または電気泳動のための試料とした。

張力測定：細く裂いた筋線維束を、A 液に EGTA (4 mM) を加えた液 (EGTA 液) に約 20 分間浸け、筋線維内 Ca 濃度を $10^{-6} M$ 以下に chelate した後、容量 0.1 ml の小容器に EGTA 液と共に横たえ、一端は容器の底に、他端はトランスデューサーの入力部に結んだ細い糸に、Aron α

- 1) S. Ebashi, & F. Ebashi, (1964), J. Biochem., 55, 604.
- 2) S. Ebashi, & M. Endo, (1968), Progr. Biophys. Mol. Biol., 18, 123.
- 3) P.J. Vibert, J.C. Haselgrove, J. Lowy, & F.R. Poulsen, (1972), Nature, 236, 182.
- 4) H.E. Huxley, (1971), Biochem. J., 125, 85P.
- 5) S. Ebashi, (1972), J. Biochem., 72, 787.
- 6) D.A.D. Parry, & J. M. Squire, (1973), J. Mol. Biol., 75, 33.

A (三共製薬) で接着固定した。そしてまず筋線維を徐々に伸長し、0.1~0.2 g の静止張力が発生した時点で、伸長を止め ATP 2 mM を含む A 液 (ATP 液) を作用させ、張力が発生しなければ 30~40 sec 後に Ca 2 mM を含む A 液 (Ca 液) を作用させ、その際発生した張力をトランスデューサーを介して、リニアコーダー (日本光電製) で記録した。

SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE): 張力測定で得られた結果を分子レベルで解明するために、厚さ 1 mm の slab 型 SDS-PAGE (ゲル濃度 12%) にかけて比較検討した。まず直径 0.3~0.5 mm に裂いた筋線維束を 5% の TCA 液に 30 分以上浸けた後取り出し、濾紙で十分水分を除いて乾燥させた後、乾燥重量 1~2 mg を計測し、試験管内にてガラス棒で微粉末に砕き、これをさらに 10% SDS を含む試料処理液で処理した後、40°C 30 分間加温処理したものを、濃縮ゲルの一端に 3~6 μ l チャージし、pH 8.3 の泳動用緩衝液をゲルの両側に置いて、定電流 (10~13 mA) で約 3 時間泳動した時点で電流を切り、Fairbanks 等⁷⁾ の方法に従って、染色、脱色した後、各バンドの濃淡、バンド間の間隔などを計測し、張力の結果と比較検討した。

3. 結 果

a) グリセリン筋の三つの型の収縮

グリセリン処理筋の中には、Ca 感受性のある筋線維と、Ca 感受性を失なった筋線維がある。Ca 非感受性筋線維は、medium 中の Ca 濃度が 10^{-6} M 以下であるにも拘らず、ATP を投与しただけで最大張力が発生することからその存在が確かめられた。それ故、本実験で使用した筋線維束の中には、当然両線維が混在している筋標本が存在する。以上の点から、本実験に用いたグリセリン筋の張力発生形態には次の三つの型が区別された。すなわち、1) Ca 感受性を有する筋線維で Ca sensitive fiber (CaS-fiber, または単に S-fiber), 2) Ca 感受性を失なった筋線維で Ca non-sensitive fiber (CaNS-fiber または単に NS-fiber) そして 3) 両筋線維が混在している筋線維束で Mixed fiber (M-fiber) と呼んだ (Fig. 1)。

Ca 感受性の有無は、筋原線維レベルでの Ca 情報伝達能力の有無を意味しており、CaS-fiber と CaNS-fiber との現象面での大きな差異は、その最大張力発生速度にある。前者は後者のほぼ 10 倍速い立ち上り速度を有する。これは、ATP のみによる収縮が Ca 投与によって発現する収縮より張力発生速度が遅いということの意味する。

b) CaS-fiber と CaNS-fiber の最大張力発生速度

グリセリン筋は筋線維をグリセロールで処理後約 1 ヶ月で作られるが、筋肉を構成する全ての筋線維が CaS-fiber であるとは限らない。一般の生筋では、Ca を投与することによって筋は張力を発生するが、グリセリン筋の場合は筋線維内部に ATP が潤渇しているため、予め ATP を 1~2 mM 外液に加えておかないと、実際の Ca による張力は発生しない。Fig. 2 の S-fiber a, b を見ると、以上の点が明らかになる。

すなわち、同図 a) では、ATP 2 mM 投与約 30 sec 後に Ca 2 mM を加えている。その最大張力発生速度は、0.3 g/sec でグリセリン筋の中では最も速い経過で張力を発生する。また b) は同一筋線維束であるが、予め Ca を投与して、張力を発生しないことを確かめた上で ATP を加

7) G. Fairbanks, T.L. Steck, & D.F.H. Wallach, (1971), *Biochemistry*, 10, 2606.

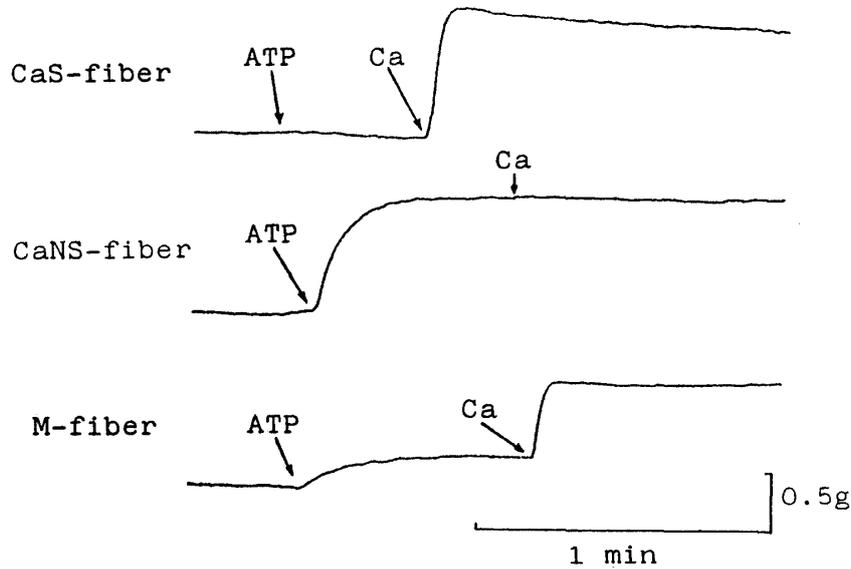


Fig. 1. Typical tension records of the three types of glycerinated muscle fibers of rabbit psoas. They are Ca sensitive-, Ca non-sensitive- and mixed-fibers, respectively. The rate of rise of tension development for ATP or Ca was distinguished as the difference of the Ca sensitivity.

えている。この場合、張力は Ca の後の ATP 投与によって生じたかの如き様相を呈しているが、そうではなくて、Ca を投与しても筋線維内部に ATP がなければ、張力が発生しないことを示唆している。また最大張力発生速度も 0.2 g/sec と比較的速く、発生張力高は、ほぼ 1 g の値を維持している。

次に CaNS-fiber では、明らかに Ca 感受性が消失していることが分る。もちろん、ATP 投与の前には EGTA 4 mM によって筋線維内の Ca は $10^{-6} M$ 以下に抑えてある。そして張力は、ATP 投与で最大値に達しているが、その最大張力発生速度は、比較的速い標本 (0.08 g/sec) と遅い標本 (0.02 g/sec) の二種類 (a, b) が区別された。

一方、この SDS-PAGE のパターンを見ると、CaS-fiber (S-F) では、Myosin heavy chain (HC), Actin, 等 直接張力発生に関与しているタンパクをはじめ、現在までに同定されている TnT, TM α & β , TnI, TnC という Ca 制御タンパクの各バンドが、濃淡の別はあっても、はっきりと区別されている。しかし CaNS-fiber (NSF) では、Myosin と Actin を除く TnT, TM β , LC₁, そして LC₂ の各バンドが消失したり、TM α , TnI, そして TnC の各バンドの退色化が際立っている (NSF, a, b)。その上、各バンドの泳動されるべき位置がずれていたりして、そのパターンが完全に乱れており、構成タンパクの存在様式の異常さを物語っている。

c) Trypsin 処理による CaNS-fiber の作成

CaS-fiber を室温 (20~22°C) で trypsin (0.001%) 処理すると、人為的に CaNS-fiber を作る事ができる。

Fig. 3 は、CaS-fiber を trypsin 処理した際の発生張力の経時変化 (左側の欄) と、各時点における各筋線維の SDS-PAGE (右側の欄) を示したものである。この記録から明らかなよう

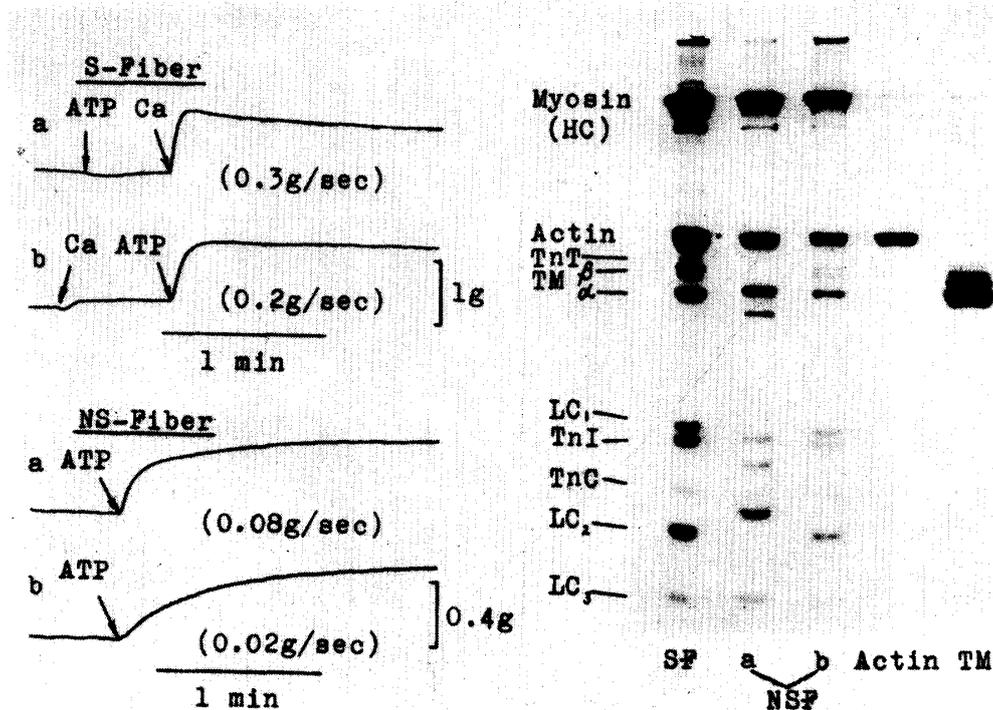


Fig. 2. Tension records (left), and SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (right) of CaS- and CaNS-fibers. They were obtained from the same preparations. The rate of rise of each tension was 0.02–0.08 g/sec for ATP and 0.2–0.3 g/sec for Ca. Actin and TM (Tropomyosin) of the electrophorogram show the molecular groups which were purified by the biochemical separation technique.

に、trypsin 処理後約 20 sec で Ca 感受性が減少しはじめ (M-fiber になっている)、30~40 sec で完全な CaNS-fiber になっている。そして 50 sec を過ぎると、CaNS-fiber の張力も減少し、50 sec 以降はほとんど張力は消失してしまう。これらの記録から、最大張力発生速度を比較しても両者を区別することができる。すなわち、CaS-fiber の立ち上がり勾配は著しく急峻であるが、CaNS-fiber のそれは緩徐である。このように CaS-fiber を trypsin 処理することによって M-fiber から NS-fiber へと張力発生の経過が変化する線維を trypsin type の fiber と呼んだ。

一方、SDS-PAGE のパターンについては、天然に作られた CaNS-fiber の PAGE ほど顕著な変化は見られなかったが、Ca 調節タンパクの一つである、TnC の退色化がとりわけ目立っている。そしてその他のタンパクについても、その濃さが時間と共に徐々に退色していることが示されている。しかし、Myosin (HC) と Actin については、その濃さがほとんど変わらないことから、直接張力発生に関与するタンパクは trypsin の影響をうけにくいことを示唆している。同時に、筋線維を trypsin 処理することによって、筋線維の収縮過程に介在している、Ca 調節タンパクが、trypsin によって消化され、その Ca 制御機能を失なったことを物語っている (Fig. 3)。

d) 内在性タンパク分解酵素の効果

筋線維内には多量のタンパク分解酵素があって、温度、pH、イオン組成等筋線維の置かれている環境の変化に伴って活性化される。そこで、1~2 mM の Ca で活性化されると言われている

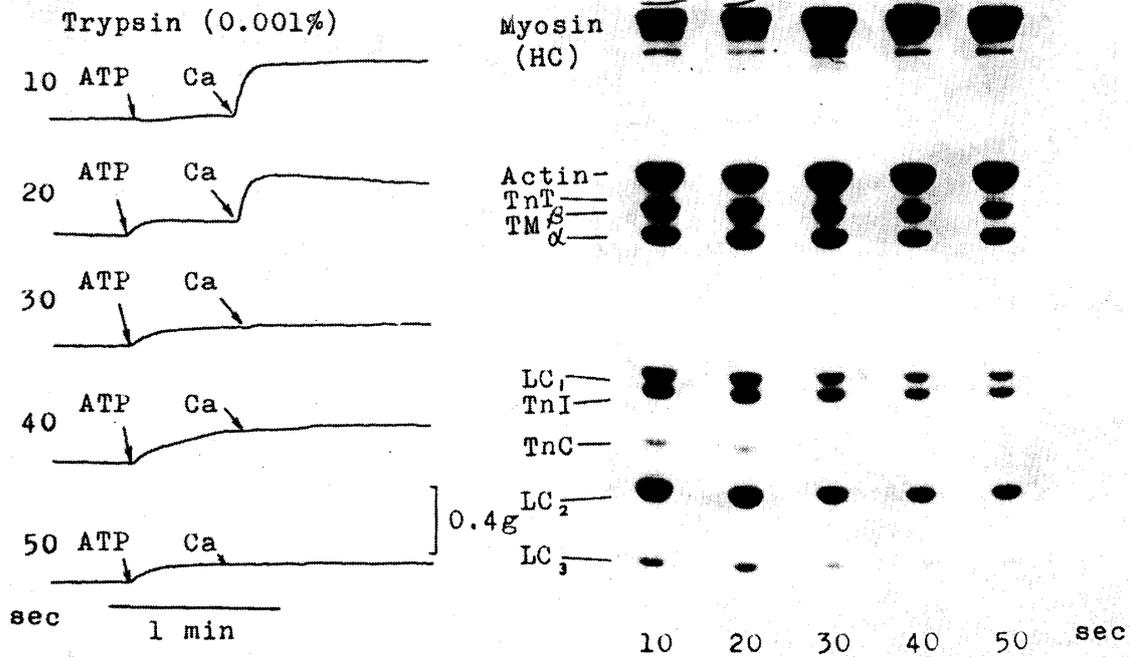


Fig. 3. Tension records (left), and SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (right) of trypsin treated fibers. Ca contraction just abolished at 30 sec and ATP sensitive (Ca non-sensitive) contraction appeared at 20 sec after trypsin treatment. However, electrophorogram did not show the remarkable change like the tension, but some bands, TnT, TnI, and TnC faded with the time dependent.

Ca 依存性タンパク分解酵素 (CaANP: Ca activated neutral protease) についてその作用機序を調べた。まず、A 液中に Ca 1 mM を加えて 25°C の環境下に筋線維を静置し、10 時間毎に取り出し、その発生張力と、SDS-PAGE のパターンの変化を比較検討した。その結果、張力発生については Trypsin type の fiber と酷似しており、処理後約 20 時間で、CaS-fiber が M-fiber となり、約 40 時間後にはほぼ完全な CaNS-fiber になった (Fig. 4)。しかし、この経過については、Ca 1 mM で処理する前の筋線維の状態によっても多少異なり、別の筋線維では CaNS-fiber になるのに 40 時間以上要することもあった。しかし、いづれにしても、Ca 1 mM の環境下に筋線維を静置しておく、CaS-fiber が全て CaNS-fiber に変化した。そして Ca 1 mM の代わりに、EGTA 2 mM を加えた場合には、40 時間後でも CaS-fiber のままであることから、明らかに CaNS-fiber へ変わった原因は、筋線維内の CaANP の効果であることが示唆された。

次にその SDS-PAGE のパターンについて調べたところ、Ca 調節タンパクである TnT, TM α & β , TnI, そして TnC の各バンドの濃さが、時間と共に退色していることが明らかとなった (Fig. 4: 右側)。そしてこれも前記 trypsin の場合と同様、Myosin と Actin の各バンドの濃さについてはほとんど変化していないことが分る。すなわち、CaANP も trypsin type と同様の作用機序を持ち、筋線維内部の Ca 制御タンパクを長時間かけて、徐々に消化することが推測された。

e) CaNS-fiber から CaS-fiber への回復

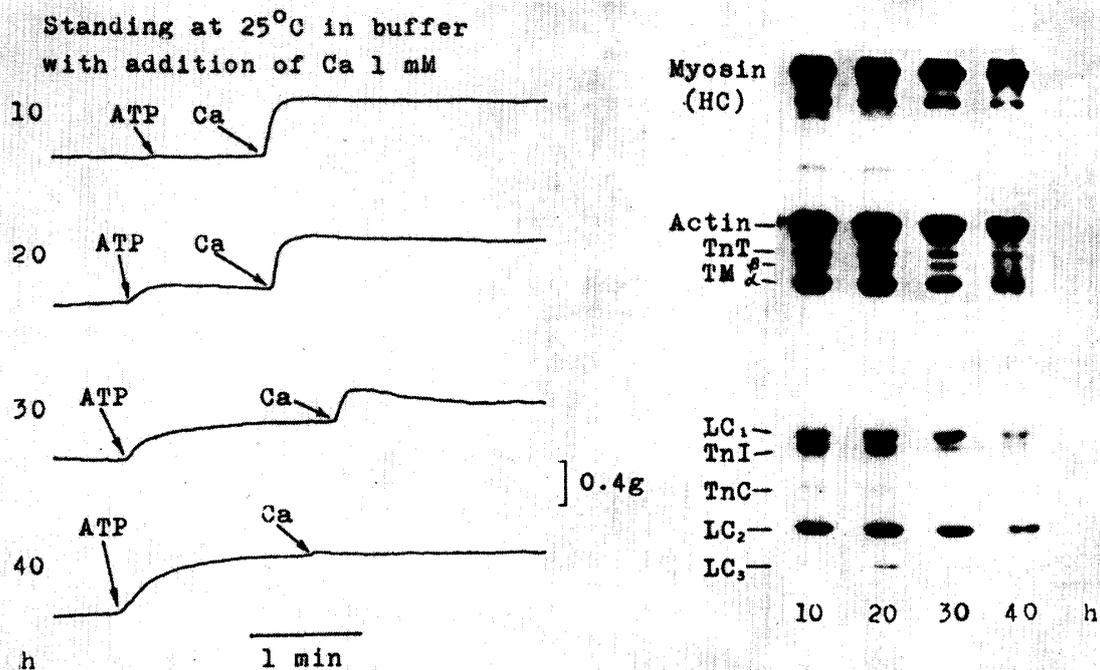


Fig. 4. Tension records (left) and SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (right) on the effect of intrinsic protease (CaANP; Ca activated neutral protease) at 25°C. Tension changed with the same pattern as trypsin treated fiber. While, SDS-polyacrylamide gel electrophoresis for these fibers showed the remarkable changes, namely, each band of TN-TM system faded more than that of trypsin-type, and new band appeared at the position of 30 K daltons after 40 h addition of Ca 1mM.

Fig. 3 に示したように CaS-fiber を trypsin 処理することによって, CaNS-fiber になるが, 一度 CaNS-fiber になった筋線維を, 生化学的手法によって抽出した NTM (native tropomyosin) または TN complex (troponin complex) で処理することによって, 再び CaS-fiber へ回復させることができるかどうかという実験を試みた。その結果, この処理によって大部分の筋線維が, CaS-fiber へ回復することがわかった。これは, 筋原線維レベルにおいて機能回復が行なわれたことを示唆している (Fig. 5)。

この機能的回復は, グリセリン処理後 1~2 ヶ月の比較的新らしい筋線維ではあまり見られず, やはり, 外液から筋線維内部への NTM あるいは TnC の易動度がこの実験の成否を左右しているように思われる。

Fig. 5 は, その典型的な例を示したものであり, 上図が CaS-fiber を trypsin (0.001%) で 40 sec 処理して CaNS-fiber にしたもので, 下図がその CaNS-fiber を NTM (1 mg/ml) で処理して, 0°C で 48 時間静置した筋線維の回復を見たものである。しかし, Fig. 5 から明らかなように, 回復によって得られた張力高は, 正常の筋線維で得られる値の, 約 1/10 であり, 最大張力発生速度も CaNS-fiber の 0.08 g/sec に対して, 回復筋線維の値は 0.007 g/sec と低い値であった。このことから, 回復の不完全さは否めないが, 明らかに Ca 非感受性が消失し, Ca 投与による張力が現われている点から, 筋原線維の一部に Ca 感受性が回復していることを物語っている。

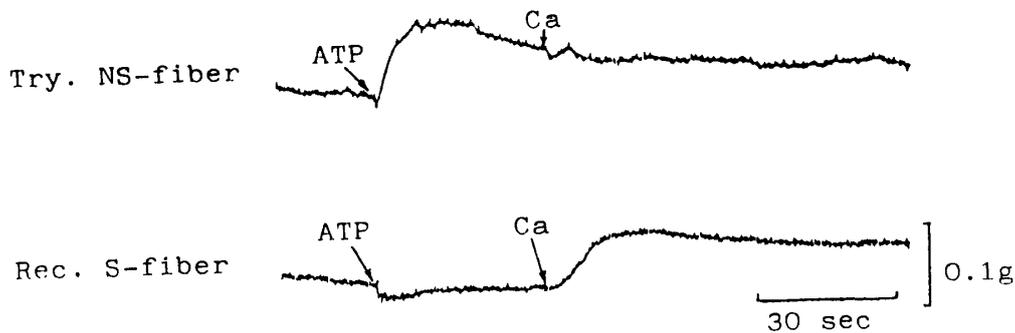


Fig. 5. Tension records of tryptic CaNS-fiber (top), and restored fiber after native tropomyosin treatment (bottom). They were obtained by high gained system. Muscle contractility decreased with these treatment, but almost fibers restored to CaS-fibers.

討 論

A. Szent Gyorgyi (1949)⁸⁾ は、グリセリン筋の収縮が、ATP によって惹き起こされることから、ATP が収縮発現の因子であることを暗示した。しかし、本実験の中でも示したように、筋線維内の Ca を EGTA で chelate して Ca 濃度を $10^{-6} M$ 以下にすると、ATP による収縮は発現せず、Ca を添加してはじめて収縮が得られる。Ebashi (1964)¹⁾ は溶液中の Ca 濃度が $10^{-7} M$ 以上にならないと筋は収縮しないことをつきとめ、A. St. Györgyi の ATP 収縮は、微量な溶存 Ca が収縮発現の原因であると推測している。つまり、グリセリン処理筋ばかりではなく、一般の筋収縮は、Ca により制御されており、ATP だけでは筋は収縮しないことを明らかにした。

Yabu et al (1971)⁹⁾ は、犬の腸平滑筋を用いて、これをグリセリン処理すると、グリセリンに浸けておく時間 (1 day~2 years) と共に、Ca を完全に除いた溶液中でも、ATP 収縮をする筋線維が増えていくことを報告している。これは明らかに本実験で示した、天然の CaNS-fiber であり (Fig. 1, 2), Ca 制御系タンパクが、時間と共に破壊されていくことを暗示している。本実験では 1~4 ヶ月グリセリン保存 ($-20^{\circ}C$) した筋を用いたが、確かに長期間グリセリン処理した筋線維ほど、CaNS-fiber が占める割合が増えている。

そこで、収縮の際に Ca 情報を伝達する、TN-TM 系制御タンパクの存在様式について考察した場合、仮りにこの介在タンパクのない系を考えると、ATP は直接 Actin と Myosin に作用して直ちに収縮を発現する筈である。これを実験的に証明するためには、TN-TM 系を特異的に消化するトリプシンで筋を処理するのが最も妥当と考えた。

Ebashi and Kodama (1966)¹⁰⁾ は筋原線維を Trypsin で処理すると、TN-TM の活性が失われることを報告している。これは本実験で示されている人工的な CaNS-fiber のことであり、その発生張力の経時的变化は、本実験の Fig. 3 が示す通り、Trypsin の作用時間が長いほど、CaNS-fiber の占める割合が増している。そして SDS-PAGE のパターンについても、分子量 20,000 の TnC をはじめ TnI (24,000), TnT (38,000) の TN complex はほぼ一様に退色化がみられた。その他、TM α (34,000), β (36,000), も退色化が目立っている。

また '今堀(1980)¹¹⁾ が示摘しているところの筋線維内に存在するタンパク分解酵素のうち、pH 7 付近でしかも Ca 存在下で活性化するという、Ca 依存性 protease (CaANP) の作用につい

でも, Trypsin の場合と同様, TN-TM 系の分解が顕著に現われており, 張力においても, また SDS-PAGE のパターンにおいても trypsin の場合あるいはそれ以上の差が見られた (Fig. 4), とりわけ, 同図 SDS-PAGE の泳動パターンに見られるように, 分子量 30,000 の辺りに新らしいバンドが出現しており, これが今堀も指摘しているような, TnT の一部が限定分解され, 小分子化したものであるとするならば, 他の TnC, や TnI が仮りに分解されなくても, Ca 情報の伝達は不可能となり, CaNS-fiber が作られることが理解される。

さらにまた, CaS-fiber と CaNS-fiber の混合している M-fiber においても, TnT, TnI, TnC の各 SDS-PAGE におけるバンドの退色化が目立ち, CaANP によって Ca 制御系タンパクが消化されていることが明らかとなった。対照実験として, EGTA で Ca を chelate した筋線維では, 25°C, 40 時間後も CaNS 化が起らないことを確認している。

しかし, この CaANP の実験から明らかのように, CaS-fiber が CaNS-fiber へ変化する過程に両者が混在する段階, つまり M-fiber になる時期がある。この M-fiber というのは多くの fiber が bundle として存在するという解釈であれば理解されるかもしれないが, もしも単一筋線維であった場合には, どのような収縮が得られるのかということ, これを位相差顕微鏡 ($\times 200$) 下で調べた結果が Plate 1. に示されている。この顕微鏡写真は全て M-fiber の同一筋線維であり, 上から弛緩状態 (EGTA), ATP による収縮状態 (ATP), そして Ca による収縮状態 (Ca) をそれぞれ表わしている。同図 A と B は, 左右同じ標本で, その拡大率が異なる。これらの顕微鏡写真から明らかのように, 最初の ATP 収縮では, 筋節の集まりである横紋構造が, 筋線維の直径の増加とともにはっきりと観察されているが, 次の Ca による収縮では, 横紋構造がほぼ完全に消失し, その上, 内部構造まで壊れかかっていると思われる部分が観察された。しかし, この二つの収縮のうち, 最初の ATP による収縮は, Ca 調節系を失なった筋線維の収縮として理解できるが, 後半の Ca による収縮が何故起こるのかが不明である。

Kendrick-Jones et al (1971)¹²⁾ は, ホタテガイ横紋筋の収縮機構を研究中, Myosin 分子の中に直接 Ca が作用して収縮を惹き起こす場のあることをつきとめた。この筋肉は, Troponin が存在しないことが, この研究の端緒となったわけであるが, その後の研究結果から, Ca 制御系を持った収縮タンパクと制御系のないタンパクが, 必ずしも相補的ではなく, 一種類の筋線維の中に共存することもありうるということがわかってきた (Lehman & Szent-Gyorgyi 1974,¹³⁾ Tsuchiya et al 1971¹⁴⁾)。したがって M-fiber で見られた後半の Ca による収縮も Myosin レベルに依存した収縮であるという可能性も考えられ, 今後の研究課題の一つとなるだろう。

一方, CaNS-fiber から CaS-fiber への回復実験については, Yabu et al (1971⁹⁾) が腸平滑筋で native tropomyosin 処理により, Ca 感受性が回復することを報告している。本実験では, 平滑筋と骨格筋の違いはあるが, 同様な回復のあることが分り, 分子レベルにおける成果と一致していることはひじょうに興味深い点である。

8) A. Szent-Györgyi, (1949), Biol. Bull., 96, 140.

9) H. Yabu, I. Uchida, & E. Miyazaki, (1971), Jap. J. Physiol., 21, 465.

10) S. Ebashi, & A. Kodama, (1966), J. Biochem., 60, 733.

11) 今堀和友, (1980), 蛋白質・核酸・酵素, 25, 483.

12) J. Kendrick-Jones, W. Lehman, & A.G. Szent-Györgyi, (1971), J. Mol. Biol., 54, 313.

13) W. Lehman, & A.G. Szent-Györgyi, (1974), J. Gen. Physiol., 63, 553.

14) T. Tsuchiya, T. Kaneko, & J. Matsumoto, (1971), J. Biochem., 83, 1191.

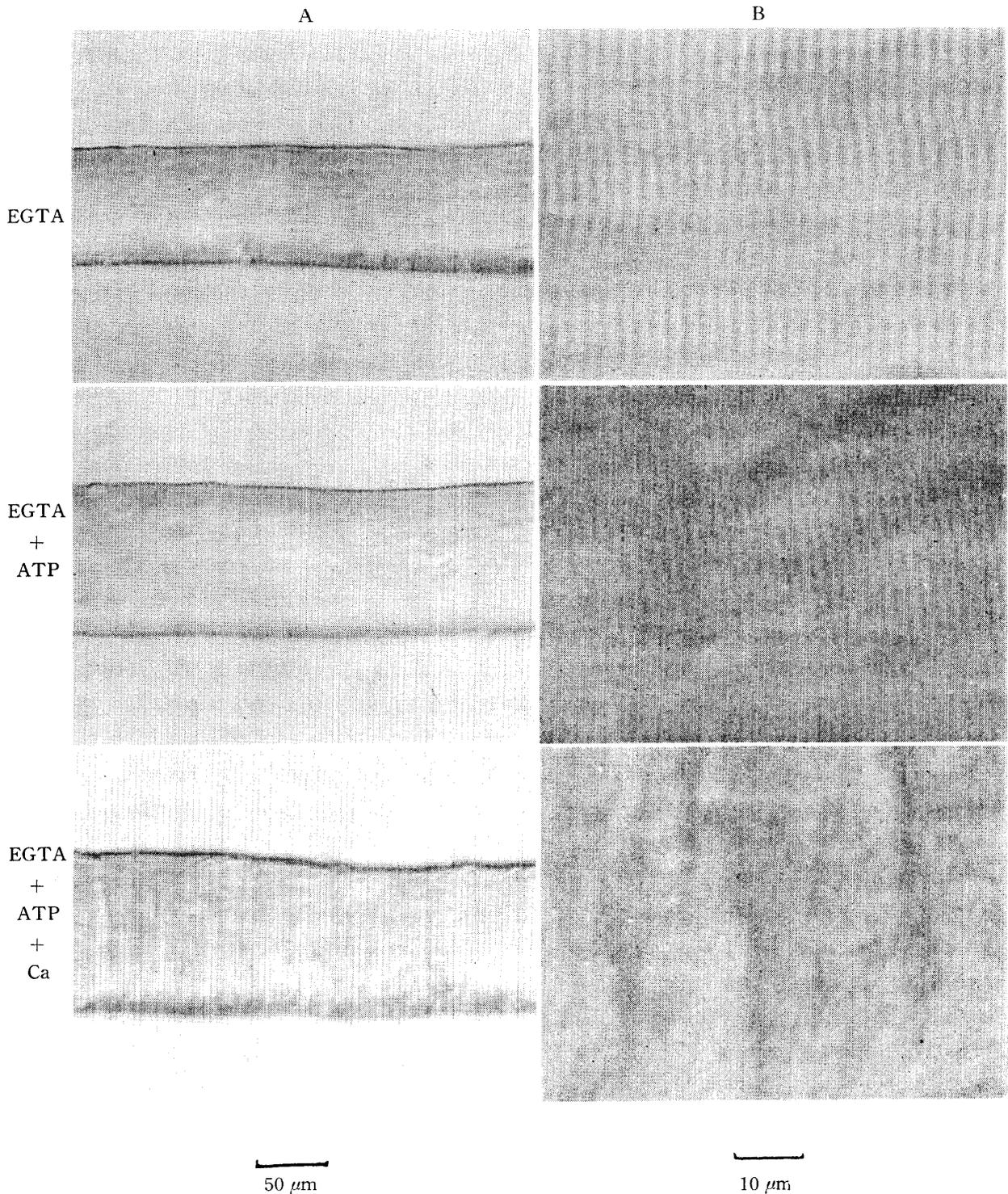


Plate. 1 Photographs of the phase difference microscope of single glycerinated M-fiber. A column is low magnified photos ($\times 200$). EGTA: relaxed fiber in the standard solution contained EGTA (2mM). EGTA+ATP: ATP contraction (Ca non-sensitive) in addition of ATP (1mM). EGTA+ATP+Ca: Ca sensitive contraction after ATP contraction. They are same muscle fibers. B column is higher magnified ($\times 1,000$), the striation patterns can be seen in the top and middle photos, but not seen in the bottom one.