



综述与进展 Mini Reviews

运动与肌球蛋白重链研究综述

苏艳红¹, 周越², 王瑞元³

摘要: 肌球蛋白作为骨骼肌纤维内主要的收缩蛋白和调节蛋白, 对于骨骼肌纤维的收缩特性起重要作用, 肌球蛋白重链是肌球蛋白重要组成, 它有多种亚型表达, 不同亚型收缩特性存在显著差异, 研究发现, 当外界刺激条件变化时, 骨骼肌纤维肌球蛋白重链亚型组成可以改变, 骨骼肌纤维收缩特性在肌球蛋白重链组成改变时发生显著变化, 因此, 研究不同运动条件下骨骼肌纤维肌球蛋白重链组成的变化对于深刻理解运动影响骨骼肌收缩性能具有重要意义。

关键词: 肌球蛋白; 肌球蛋白重链; 训练

中图分类号: G 804.7 文献标识码: A 文章编号: 1005-0000(2008)04-0328-05

The Review of Training and Myosin Heavy Chain

SU Yan-hong¹, ZHOU Yue², WANG Rui-yuan³

(1.Dept. of PE, Liaoning Normal University, Dalian 116029, China; 2.School of Human Sports Science, Beijing Sports University, Beijing 100084, China; 3.School of Graduated Student, Beijing Sports University, Beijing 100084, China)

Abstract: Myosin is a primary protein, which has the contraction character of the skeletal fibres. As a dominating part of myosin, myosin heavy chain has many kinds expression of isoforms, there is remarkable difference among them. Some evidence has shown that myosin heavy chain isoforms can be transformed from one kind to another, meanwhile, the contraction character of the skeletal fibre altered simultaneously. Therefore, the study of transformation among myosin heavy chain isoforms under the condition of training is crucial for understanding the change of the contraction quality of skeletal fibre under the same condition.

Key words: myosin; myosin heavy chain; training

肌球蛋白(Myosin), 是构成骨骼肌纤维内粗肌丝的主要成分, 是骨骼肌纤维中表达最多的蛋白。其具有ATP酶的活性, 可以分解ATP, 牵引细肌丝向粗肌丝滑动, 完成肌纤维的收缩。肌球蛋白由两条重链和两对不同的轻链组成, 肌球蛋白重链(Myosin heavy chain, MHC)和肌球蛋白轻链(Myosin light chain, MLC)又分别有多种异型体表达。Close^[1]等早期研究显示快肌和慢肌的最大缩短速度与肌球蛋白高、低的ATPase活性相关, 并且这主要缘于快慢肌所表达的MHC类型不同。快型肌纤维含有快型MHC异型体, 表现为高的肌球蛋白Ca²⁺-ATP酶活性, 同样, 慢型肌纤维含有慢型MHC异型体, 表现为低的肌球蛋白Ca²⁺-ATP酶活性。

研究发现, 许多因素如神经交叉支配、激素、运动、非活动性因素等, 均可调控MHC的表达。由于MHC表达具有可塑性, 并且与骨骼肌纤维的收缩特性密切相关, 因此, 研究运动如何影响肌球蛋白表达具有重要意义。

1 肌球蛋白的组成与分类

天然的肌球蛋白由6条多肽链组成, 以一复合分子的形式存在, 这6条多肽链包括两条重链和两对不同的轻链。肌球蛋白重链分子量约为200KD, 由N-末端的双头球状区(头)和C-

末端的棒状区(尾)组成, 头和尾之间是一个柔性的铰链区(颈)。尾部由两条螺旋链缠绕而成, 头部有肌动蛋白结合位点和ATP结合位点, 分别位于头中央域两侧。两个不同的轻链(碱性轻链和调节轻链)结合于铰链区。

哺乳动物横纹肌中至少有9种MHC异型体, 它们是: 1) 胚胎型(Emb-MHC); 2) 新生型(Neo-MHC); 3) 心肌 β -MHC; 4) 心肌 α -MHC; 骨骼肌表达为慢 β -MHC; 5) 快 α -MHC; 6) 快 γ -MHC; 7) 快 δ -MHC; 8) 眼外型(Eom-MHC); 9) 下颌或咀嚼型(m-MHC)^[2]。

人类基因组中 β -MHC和 α -MHC存在于第14号染色体上, Emb-MHC、Neo-MHC、 α -MHC、 γ -MHC、 δ -MHC、Eom-MHC存在于17号染色体上。这些不同的MHCs基因的蛋白表达即为相应的MHCs异型体。

肌球蛋白重链在成年骨骼肌有 α -MHC、 β -MHC、 δ / γ -MHC和 β -MHC 4种类型, 依不同肌肉、肌肉不同区域及不同动物表达的类型和数量会有所差异, 慢肌主要表达 β 型MHC及部分 α 型(它是快MHC型中最慢的一种), 比如比目鱼肌和股中间肌; 快肌如腓肠肌、足底肌、股四头肌、趾长伸肌、胫骨前肌等主要以两种快型MHC异型体 α 、 β 组成^[3]。

一般来说, 骨骼肌的单个肌纤维多数都是杂合态的, 即肌纤

收稿日期: 2008-04-07; 修回日期: 2008-06-30; 录用日期: 2008-07-07

基金项目: 国家自然科学基金项目 项目编号: 30170448

作者简介: 苏艳红(1969-), 女, 辽宁辽阳人, 博士, 辽宁师范大学副教授。

作者单位: 1. 辽宁师范大学 体育学院, 大连 116029; 2. 北京体育大学 运动人体科学院, 北京 100084; 3. 北京体育大学 研究生院, 北京 100084。

维以不同混合态表达多种 MHC。MHC 多形态表达的意义还不很清楚,可能在功能需要改变的情况下有利于 MHC 高效转型。

肌球蛋白轻链,分子量为 17-23 KD。哺乳动物的骨骼肌中存在有 6 种肌球蛋白轻链异型体,分布于快肌中有 MLC1f、MLC3f(碱性 MLCs)和 MLC2f(调节 MLC);慢肌中有 MLC1sa、MLC1sf(碱性 MLCs)和 MLC2s(调节 MLC)。快型 MLC 偶尔与慢型 MHC 共存。

2 肌球蛋白重链异型体的功能特性

Close^[6]等的早期研究认为,快肌和慢肌的最大缩短速度存在差异,这主要由于快慢肌所表达的 MHC 类型不同,引起肌球蛋白 ATPase 活性差异的缘故。快型肌纤维含有快型 MHC 异型体,表现为高的肌球蛋白 Ca^{2+} -ATP 酶活性,如鼠趾长伸肌包含 bMHC,比比目鱼肌有更高的最大收缩速度^[9]。慢肌纤维显示,慢 MHCs 和 MLCs 比快型有更低的收缩速度和更低的功率输出^[6-7]。后来的研究显示不同的快型肌球蛋白组成的肌肉收缩速度也不相同。这多半是由于肌球蛋白重链组成的差异。Talmadge^[8]总结多名学者对人、马、猴、兔、鼠去皮肌纤维(skinned muscle fiber)不同 MHC 收缩速度的研究发现,尽管动物种类、测试温度存在差异,但以 MHC 确定的肌纤维最大收缩速度顺序为 $a < x < b$ 。Talmadge 等对于 MHC x 和 MHC b 占总 MHC 比例与肌肉最大收缩速度的研究显示, x、b MHC 与最大收缩速度存在着显著的正相关,回归系数是 0.879。说明肌肉 x、b MHC 含量对于肌肉收缩速度影响最大。

Battinelli 等^[9]也测试过不同 MHC 异型体等长力量(isometric tension)、速度、最大输出功率,发现 b-MHC 最大缩短速度显著低于 a-MHC 各异型体,型之间除 a 和 x 间不存在显著差异外,其他均有显著性差异,但依然遵循 $a < x < b$ 的顺序。等长力量表现为 b 型显著低于 a 型。最大功率也表现为 $a < x < b$,并且除 x 与 b 外,均表现为显著性。

当肌球蛋白组成改变时,肌肉的收缩速度的变化有报道。如 Caiozzo 等^[10]观察到置于宇宙飞船 14 天的鼠比目鱼肌 MHC x 表型比饲养在地面的鼠比目鱼肌 MHC a 表型增加 3 倍,同时伴有 V_{max} 增加 20%、获得最大收缩张力的时间减少 20%、MHC 以及速度的改变伴有易疲劳的增加。这些都表明 MHC 小的改变可能会对整个肌肉收缩的速度特性有重大的影响。

3 运动对肌球蛋白重链的影响

3.1 增加运动产生的 MHC 可塑性

(1) 耐力训练。如跑,力量输出相对低,但收缩频率高。对于 MHC 的影响似乎既取决于特异的肌肉又依赖于训练的量。如 SD 大鼠由中等强度到高强度渐增负荷进行跑台训练 10 周,跑速由 25 m/s 渐增至 30 m/s,前 3 周,跑台坡度为 0°;第 4 周开始,逐渐增加跑台坡度至 18°,训练时间分别为 30, 60, 90 min/d^[11],结果发现,所有组的耐力训练均引起足底肌(Plantaris, PLA)的 MHC b 比例下降, MHC a 增加。对于趾长伸肌(Extensor digitorum longus, EDL),只有 90 min/天的训练引起 MHC b 比例下降, MHC a、MHC d/x 增加(SDS-PAGE)。训练时间 60 min 的组比目鱼肌 MHC a 增加, MHC b 下降。这些结果表明耐力训练使鼠后肢肌肉快型 MHC 向慢型 MHC 转换,同时也说明不同的肌肉对于耐力训练的敏感性不同。Rivero^[12]等的研究认为,比较运

动持续时间, MHC 的转变更依赖于运动强度,而中等强度的长时间运动会产生与较大强度运动相似的效果。

Bigard^[13]等观察雄性 Wistar 鼠每天 1 小时的游泳训练 14 周时比目鱼肌、足底肌和趾长伸肌肌纤维和代谢酶的变化情况,发现比目鱼肌氧化酶 3-羟 CoA 脱氢酶、柠檬酸合酶及己糖激酶均没有改变,同时肌纤维类型也未观察到变化(肌原纤维 ATP 酶测定);足底肌和趾长伸肌表现出相似的适应性。

为什么游泳训练不易引起肌纤维类型的转变?原因可能在于游泳不如跑剧烈,因此,它产生的代谢适应不够完全和显著。据测定,当游泳达到稳态时氧吸收达到基础代谢率的 3 倍^[14]。这一能量消耗相当于鼠最大有氧能力的 55%~65%^[15]。可以看出耐力练习的方式可能也是决定是否产生肌纤维类型转变的重要因素。

耐力练习影响人 MHC 组成也有报道,如 O'Neill 等^[16]观察短时间耐力练习影响 MHC 情况,练习方式是每天 1 小时的 75%最大吸氧量功率自行车练习,持续 7 天,在第一轮训练前、第一轮训练后 3 小时、最后一轮练习前、最后一轮练习后 3 小时测定 MHC 组成,看到第一次练习后 MHC mRNA(α 、 β 、 γ)没有改变,最后一轮练习后 MHC mRNA 明显下降。说明短时间的耐力训练引起人 MHC mRNA 下调,但仅仅在重复多次练习后发生。并且发现训练前 MHC mRNA 的量会影响这种改变量, MHC mRNA 较高的个体最后一轮训练后下降得更明显。

综合人和动物肌纤维对耐力训练的反应,可以看出尽管不同种系、肌肉对于耐力训练产生反应的强度和形式不同,但一般均遵循 $b > x > a$ 的方向,即快肌纤维向慢肌纤维转化。

(2) 抗阻力训练。抗阻力训练是给予肌肉以间歇的周期性的负荷(高负荷但相对低的收缩频率)。啮齿类动物模型,不论向心收缩、离心收缩,还是等长收缩,电刺激肌肉引起收缩,均显示 b 表达显著下降(蛋白和 mRNA),同时伴有快 xMHC 表达增加。对于人的测试研究有,一轮抗阻力训练 75-80%的最大重复次数,3 组 8-10 次重复下蹲、压腿、踢腿^[17],取股外肌,RT-PCR 测定 MHC 显示运动后 6 小时 b 型、a 型、x 型 MHCmRNA 均显著增加。说明 MHC 的基因表达在训练的早期即可发生改变,蛋白水平的变化可能需要更长的时间。Adams 等^[18]在对于 13 名普通男性,19 周的抗阻力练习(包括向心和离心发展大腿力量的练习,每周 2 天)的实验观察到,股外肌 b 肌纤维减少,同时 a 肌纤维增加(肌原纤维 ATP 组化方法)。SDS-PAGE 亦显示出 b-MHC 下降, a-MHC 增加。这一研究显示 MHC 蛋白表达在长期训练后可以改变,但是否所有的阻力训练均可改变 MHC 蛋白表达,有不同的研究结果。如 Willoughby^[19]关于 12 周力量训练(每周 3 次,每次 3 组,以 85%~90% 1-RM 重复 6-8 次)对 22 名未受过训练的男性受试者股外肌肌纤维影响的报道显示:力量练习组 b 型、a 型、x 型 MHCmRNA 明显高于对照组,但没有蛋白水平的改变。这多半是由于 mRNA 表达和蛋白表达时间的不一致性, mRNA 增加几乎在刺激发生的即刻即可表现为增加,相应的蛋白表达较晚。而 Andersen^[20]采用肌原纤维组织化学和单肌纤维 SDS-PAGE 法观察了 3 个月的短距离间歇训练和大强度力量训练对男性短跑运动员股外肌纤维的影响,发现 SDS-PAGE 方法显示 b 型纤维 b-MHC 减少, a 型

肌纤维 α -MHC 增加。这可能是由于短跑运动员其特殊的优势肌纤维组成以及训练方式复杂性的缘故。

综观抗阻力训练的影响,发现抗阻力训练影响人 MHC 和肌纤维组成结论不尽相同,但快型纤维 (MHC) 向慢型纤维 (MHC) 转化的结论居多。研究方法、测试手段可能影响研究的结果,另外,可能有很多其他因素影响 MHC 组成的改变。

3.2 减少活动 MHC 的可塑性

减少肌肉活动的模型有:宇宙飞船飞行、后肢悬垂、横切脊柱、脊髓受损等。有报道短时间的飞船飞行 (4~16 天) 会引起成年骨骼肌的萎缩,以及肌纤维由慢型向快型转化^[21-23]。Adams 等^[24]报道的新生鼠暴露于微重力环境中引起比目鱼肌型 MHC 抑制,而 MHC α 与 MHC β 蛋白表达显著升高。相反,快缩肌如足底肌变化较小,MHC β 增加,MHC α 与 MHC β 蛋白减少。似乎慢肌更依赖于负重活动。在肌肉重量下降和 MHC 表型改变的同时,整块肌肉和单个肌纤维收缩特性也发生改变,表现为收缩速度加快,但力量和功率输出减少。后肢悬垂作为改变肌肉收缩和生化特性的模型被越来越多地使用。同置于飞船的效果相似,实验证明后肢失重对于维持身体姿势的肌肉有最为显著的影响,这些肌肉往往由慢肌纤维组成。肌肉萎缩,特别是慢肌比目鱼肌的萎缩已被许多研究证实。如,Diffie^[25]提到 28 天后肢悬垂后比目鱼肌重量下降 45%,足底肌下降仅为 12%,同时比目鱼肌肌球蛋白重链慢型向快型转化 (SDS-PAGE 方法),足底肌没有肌球蛋白明显的改变。伴随肌肉萎缩和肌球蛋白组成的变化,肌肉最大收缩速度增加,输出张力下降。Mozdziak^[26]也观察到 28 天后肢悬垂后比目鱼肌 MHC α 明显下降,MHC β 显著增加 (SDS-PAGE 方法)。似乎这种后肢失重对于维持身体姿势的慢肌肌纤维影响最明显。

对于人减小负荷的方式主要是卧床休息,有报道^[27],7 名健康男性在 37 天卧床休息后,股外肌活检,肌原纤维 ATPase 组化和免疫细胞化学测定显示没有肌纤维分布的亚改变;但原位杂交结果表明:MHC β 和 MHC α mRNA 下降,含 α 和 β mRNA 的纤维以及单独含 β mRNA 的纤维比例增加,并且 MHC mRNA 和蛋白水平的错配现象在卧床后增加,说明处于转变状态的肌纤维数目增多。更多的研究表明,非负重对骨骼肌有明显的影 响,表现为蛋白合成减少、肌肉重量减轻、肌肉力量下降。

综合来看,减少的活动方式多数会引起慢型 MHC 向快型 MHC 方向转化。运动对肌纤维类型影响的研究一直是运动医学领域中的热门话题,但由于肌纤维分类方法的多样性,对研究结果造成了一定的影响。比较公认的观点认为,运动训练无法引起型肌纤维向型肌纤维转化,运动训练能否引起型肌纤维向型肌纤维转化还有待于更多的实验证实。证明型肌纤维向型肌纤维转化的研究主要集中在 MHC,采用低频电刺激动物快肌,可以使型 MHC 向型 MHC 转化。因而认为,存在着型肌纤维向型肌纤维转化的可能。运动引起肌纤维的更多改变集中于型 MHC 内部的相互转化。多数的研究认为,不管是耐力训练,还是抗阻力训练,这些增加负荷的训练方式,均会引起型 MHC 中快型向慢型转化,即 MHC β MHC α 。

4 肌球蛋白重链转换的可能机制

关于参与肌球蛋白重链转换的可能机制目前有如下几方面

的研究:肌源性调节因子 (Myogenic regulatory factors, MRFs)、Calcineurin:NF-AT 通道和 AMP 激活的蛋白激酶 (AMPK)。肌源性调节因子由 MyoD、myogenin、myf5、MRF4 4 个蛋白组成,在肌肉发育形成过程中起重要作用,成年骨骼肌中除 MRF4 外,其他 3 个因子表达很低,但表现在快慢肌纤维中选择性积累,其中慢肌表达为较高的 myogenin 水平,快肌中 MyoD 表达较高^[28]。但多数研究认为,MyoD、myogenin 与 α 、 β 、 γ -MHC 不存在一一对应关系^[29-30],认为 MyoD/myogenin 比率增加,利于慢型 MHC 向快型 MHC 转化。运动引起 MHC 改变时 MyoD、myogenin 随之变化有 Willoughby^[17]的报道,研究发现,抗阻力练习 6 h 后 α 、 β -MHC mRNA 及 MyoD、myogenin mRNA 显著升高,相关分析表明,30 min 和 6 h 时 MyoD mRNA 与 β -MHC mRNA 显著相关;30 min 时 myogenin mRNA 与 6 h 时 α -MHC mRNA 表达显著相关。

肌源性转录因子如何特异地表达达到不同肌纤维上? Rosenthal 等^[31]和 Fujisawa 等^[32]进行的转染试验显示,MyoD 激活快肌纤维肌球蛋白轻链 1/3 增强子的作用比 Myogenin、Myf-5、MRF4 更有效,这个增强子在转基因鼠中控制快肌纤维的表达。另有研究^[33],在 C2C12 肌管和 HepG2 细胞共同转染实验中,MyoD 以 E 盒依赖的方式优先激活 MHC β 启动子,而 myogenin 激活 MHC α 启动子程度较少。

Calcineurin:NF-AT 调节通道的出发点在于骨骼肌的电信号能反映在胞浆 Ca^{2+} 浓度的变化上,肌肉收缩时 Ca^{2+} 从肌质网中释放到肌浆中。慢的运动神经样的活动 (持续 ~10Hz 的刺激) 引起 Ca^{2+} 由 100 至 300 nM 持续升高^[34],而快的运动神经样的活动 (爆发性的 ~100 Hz) 使 Ca^{2+} 快速爆发至 1 μ M^[35]。Kubis 等^[36]研究表明在培养基中加入 Ca^{2+} 载体使肌浆中 Ca^{2+} 缓慢升高后,兔培养的肌细胞表达较高比例的慢型肌球蛋白重链和轻链。

钙神经素 (Calcineurin, CN) 蛋白在骨骼肌内可能与钙调蛋白一样充当钙离子传感器^[37-38]。磷酸化的激活 T 细胞的核因子 (NF-AT) 是钙神经素的一个底物。calcineurin 在肌细胞分化和决定慢型氧化型肌纤维类型中起重要作用。研究发现 Calcineurin 在上调 MyHC2a 表达、下调 MyHC2x and MyHC2b 的过程中起信号传递作用^[39]。后肢悬垂引起细胞内 Ca^{2+} 增加导致慢型 MHC 向快型转化,此过程是通过激活 calcineurin-NFATc1 信号系统^[40]。

最近又有研究认为 AMPK 在 IIb 肌纤维向 IIa/x 转换中起重要作用^[41]。6 周的自发跑引起鼠肱三头肌 IIb 肌纤维明显向 IIa/x 转变。而在 AMPK 2 非活动型转基因鼠中这一转换减少 40%;在携带有 AMPK 活动型突变的安静鼠 IIa/x fibers 增加 2.6 倍。作者认为 AMPK 参与了 MHC 的转换。

5 展望

肌球蛋白重链作为肌球蛋白重要的组成部分,在决定骨骼肌收缩特性上起重要作用,在运动等因素的干预下,肌球蛋白重链的组成是可以发生改变的,增加负荷的运动形式如耐力运动、抗阻力训练会引起慢型 MHC 表达增加,快型 MHC 减少;而减少负荷的模式如后肢悬垂、制动等会引起快型 MHC 增加,慢型 MHC 减少。MHC 组成的改变会引起骨骼肌收缩性能的相应变化。但是也应该认识到 MHC 组成不是影响肌纤维收缩速度唯一的决定性因素,有观察,只含有 MLC2f 的人 α 纤维,比含

MLC2f 和 MLC2s 杂合的 a 纤维有更高的收缩速度。由此可知 MLC 可能也很重要。

肌纤维的分类方法很多,如肌原纤维 ATP 酶组化方法,有氧化酶染色的组化方法,SDS-PAGE 凝胶电泳的方法,免疫组化的方法等等,这些方法确定的肌纤维类型之间不存在着一一对应关系,因而造成研究结果的差异。并且一些方法测定肌纤维类型还存在着局限性。

肌原纤维 ATP 酶(肌球蛋白 ATP 酶)组化的方法一般只能检测到肌纤维中含量高的 MHC 的种类,对于少量表达的 MHC 检测不到。并且,组化分析上 x 纤维与 b 相似而经常被划分到一起^[43]。免疫组化方法利用抗肌球蛋白抗体来区分各种 MHC 异型体,单克隆抗体能很精确地辨认出肌纤维中占优势的 MHC 异型体,然而,少部分 MHC 共存的现象却检测不到^[43-44]。并且各种 MHC 抗体对要识别的 MHC 具不同的免疫亲和力,使免疫组化方法定量分析 MHC 成为一件很难的事。单肌纤维的电泳方法可以清晰地看到四种纯合的肌纤维,同时,利用这个方法可以显示出表达不同 MHC 的杂合肌纤维的存在。单肌纤维电泳分析的方法敏感性好、特异性强、可重复操作,是近年来比较认可的测定 MHC 异型体,对肌纤维进行分类的方法^[45-47],最近 Mizunoya 又进一步修改、完善了 MHC 电泳分析的方法^[48],使之更灵敏,更易于操作。

以肌球蛋白重链异型体表达作为肌纤维的分类方法是众多学者认可并应用于科学研究的。肌纤维分类方法和测试手段的确立,可以对不同研究进行比较分析,必将有力地推动肌纤维类型转变的研究,为在运动领域研究肌纤维及运动员训练和选材提供有力的理论依据。

参考文献:

- [1] Diffie Gary M, Vince J, et al. Contractile and biochemical properties of rat soleus and plantaris after hindlimb suspension[J]. *Am J Physiol*, 1991, 260: C528- C534.
- [2] Schiaffino S, Reggiani C. Molecular diversity of myofibrillar proteins: gene regulation and functional significance[J]. *Physiol Rev*, 1996, 76: 371- 423.
- [3] Kenneth M, Baldwin, Fadia Haddad. Plasticity in Skeletal, Cardiac, and Smooth Muscle invited Review: Effects of different activity and inactivity paradigms on myosin heavy chain gene expression in striated muscle[J]. *J Appl Physiol*, 2001, 90: 345- 357.
- [4] Close R. The relation between intrinsic speed of shortening and duration of the active state of muscle[J]. *J Physiol Lond*, 1965, 180: 542- 559.
- [5] Schiaffino S S, Ausoni L, Gorza L, et al. Myosin heavy chain isoforms and velocity of shortening of type 2 skeletal muscle fibres [J]. *Acta Physiol Scand*, 1988, 134: 565- 566.
- [6] Bottinelli R S, Schiaffino, Reggiani C. Force- velocity relation and myosin heavy chain isoform composition in skinned fibres of rat skeletal muscle[J]. *J Physiol Lond*, 1991, 437: 655- 672.
- [7] Sweeney H L, Kushmerick M J, Mabuchi K, et al. Myosin alkali light chain and heavy chain variations correlate with altered shortening velocity of isolated skeletal muscle fibres[J]. *J Biol Chem*, 1988, 263: 9 034- 9 039.
- [8] Robert J Talmadge. Myosin heavy chain isoform expression following reduced neuromuscular activity: potential regulatory mechanisms [J]. *Muscle Nerve*, 2000, 23: 661- 679.
- [9] Bottinelli R, Schiaffino S, Reggiani C. Force- velocity relations and myosin heavy chain isoform compositions of skinned fibres from rat skeletal muscle [J]. *J Physiol*, 1991, 437: 655- 672.
- [10] Caiizzo V J, Haddad F, Baker M J, et al. Microgravity- induced transformations of myosin isoforms and contractile properties of skeletal muscle[J]. *J Appl Physiol*, 1996, 81: 123- 132.
- [11] Haydar A Demirel, Scott K Powers, Hisashi Naito, et al. Exercise- induced alterations in skeletal muscle myosin heavy chain phenotypes: dose- response relationship[J]. *J Appl Physiol*, 1999, 86(3): 1 002- 1 008.
- [12] Rivero J L, Ruz A, Marti- Korff S, et al. Contribution of exercise intensity and duration to training- linked myosin transitions in thoroughbreds[J]. *Equine Vet J Suppl*, 2006, (36): 311- 5.
- [13] Bigard A X, Brunet A, Guezennec C Y, et al. Skeletal muscle changes after endurance training at high altitude [J]. *J Appl Physiol*, 1991, 71(6): 2 114- 2 121.
- [14] Baker M A, Horvath S M. Influence of water temperature on oxygen uptake by swimming rats[J]. *J Appl Physiol*, 1964, 19: 1 215- 1 218.
- [15] Shepherd R E, Golnick P D. Oxygen uptake of rats at different work intensities[J]. *Pflügers Arch*, 1976, 362: 219- 222.
- [16] O'Neill D, Sean, Donghai Zheng, et al. Houmar. Effect of endurance exercise on myosin heavy chain gene regulation in human skeletal muscle[J]. *Am J Physiol*, 1999, 276: R414- R419.
- [17] Darryn S Willoughby, Matthew J Nelson. Myosin heavy- chain mRNA expression after a single session of heavy- resistance exercise [J]. *Med Sci Sports Exerc*, 2002, 34(8): 1 262- 1 269.
- [18] Adams Gregory R, Bruce M, Hather, et al. Skeletal muscle myosin heavy chain composition and resistance training[J]. *J Appl Physiol*, 1993, 74(2): 911- 915.
- [19] Willoughby D S, Rosene J. Effects of oral creatine and resistance training on myosin heavy chain expression[J]. *Med Sci Sports Exerc*, 2001, 33(10): 1 674- 1 681.
- [20] Andersen J L, Klitgaard H, Saltin B. Myosin heavy chain isoforms in single fibres from m.vastus lateralis of sprinters: influence of training[J]. *Acta Physiol Scand*, 1994, 151: 135- 142.
- [21] Allen D L, Yasui W, Tanaka T, et al. Myonuclear number and myosin heavy chain expression in rat soleus single muscle fibers after spaceflight [J]. *J Appl Physiol*, 1996, 81: 145- 151.
- [22] Caiizzo V J, Baker M J, Herrick R E, et al. Effect of spaceflight on skeletal muscle: mechanical properties and myosin isoform content of a slow muscle[J]. *J Appl Physiol*, 1994, 76: 1 764- 1 773.
- [23] Caiizzo V J, Haddad F, Baker M J, et al. Microgravity- induced transformations of myosin isoforms and contractile properties of skeletal muscle[J]. *J Appl Physiol*, 1996, 81: 123- 132.
- [24] Adams G R, Haddad F, McCue S A, et al. Effects of spaceflight and thyroid deficiency on rat hindlimb development. Expression of MHC isoforms [J]. *J Appl Physiol*, 2000, 88: 904- 916.
- [25] Diffie Gary M, Vince J, Caiizzo, et al. Contractile and biochemical properties of rat soleus and plantaris after hindlimb suspension [J]. *Am J Physiol*, 1991, 260: C528- C534.
- [26] Mazdziak P E, Greaser M L, Schultz E. Myogenin, MyoD, and myosin heavy chain isoform expression following hindlimb suspension [J]. *Aviat Space Environ Med*, 1999, 70: 511- 516.
- [27] Andersin J L T, Gruschy Knudsen C, Sandri L, et al. Bed rest increases the amount of mismatched fibers in human skeletal muscle [J]. *J Appl Physiol*, 1999, 86(2): 455- 460.
- [28] Simon M Hughes, Jane M, Taylor Stephen J, et al. Carter and Charlotte A. Peterson. Selective accumulation of MyoD and Myogenin mRNAs in fast and slow adult skeletal muscle is controlled by innervation and hormones

- [J]. Development, 1993,118: 1 137- 1 147.
- [29] Carnac G, Albagli- Curiel Q, Vandromme M, et al. 3,5,3' - Triiodothyronine positively regulates both MyoD1 gene transcription and terminal differentiation in C2 myoblasts[J]. Mol Endocrinol, 1992,6: 1 185- 1 194.
- [30] Izumo S, Nadal- Ginard B, Mahdavi V. All members of the MHC multigene family respond to thyroid hormone in a highly tissue- specific manner[J]. Science, 1986, 231:597- 600.
- [31] Rosenthal N, Berglund E B, Wentworth B M, et al. A highly conserved enhancer downstream of the human MLC 1/3 locus is a target for multiple myogenic determination factors[J]. Nucl Acids Res, 1990,18:6 239- 6 246.
- [32] Fujisawa-Sehara A, Nabeshima Y, Komiyama T, et al. Differential trans- activation of muscle- specific regulatory elements including the myosin light chain box by chicken MyoD, Myogenin, and MRF4[J]. J Biol Chem, 1992, 267:10 031- 10 038.
- [33] Wheeler Matthew T, Emily C, Snyder Melissa N, et al. An E- box within the MHC B gene is bound by MyoD and is required for gene expression in fast muscle[J]. Am J Physiol, 1999,276 Cell Physiol.45) : C1 069- C1 078.
- [34] Chin E R, Allen D G. The role of elevation in intracellular $[Ca^{2+}]_i$ in the development of low frequency fatigue in mouse single muscle fibres [J]. J Physiol (Lond), 1996,491:813- 824.
- [35] Westerblad H, Allen D G. Changes of myoplasmic calcium concentration during fatigue in single mouse muscle fibers [J]. J Gen Physiol, 1991,98: 615- 635.
- [36] Kubis H P, Haller E A, Wetzel P, et al. Adult fast myosin pattern and Ca^{2+} - induced slow myosin pattern in primary skeletal muscle culture[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1997,94: 4 205- 4 210.
- [37] Crabtree G R. Generic signals and specific outcomes: signaling through Ca^{2+} , calcineurin, and NF- AT[J]. Cell, 1999,96:611- 614.
- [38] Rao A, Luo C, Hogan P G. Transcription factors of the NFAT family: regulation and function [J]. Annu Rev Immunol, 1997,15:707- 747.
- [39] da Costa N, Edgar J, Ooi PT, et al. Calcineurin differentially regulates fast myosin heavy chain genes in oxidative muscle fibre type conversion[J]. Cell Tissue Res, 2007, 329(3):515- 27.
- [40] Mukhina A M, Altaeva E G, Nemirovskaia T L, et al. Role of L- type Ca channels in Ca^{2+} accumulation and changes in distribution of myosin heavy chain and SERCA isoforms in rat [J]. M soleus under gravitational unloading Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova, 2006 Nov;92(11):1 285- 95.
- [41] R?ckl K S, Hirshman M F, Brandauer J, et al. Skeletal muscle adaptation to exercise training: AMP- activated protein kinase mediates muscle fiber type shift[J]. Diabetes, 2007, 56(8):2 062- 9.
- [42] Pette D, Peuker H, Staron R S. The impact of biochemical methods for single muscle fibre analysis[J]. Acta Physiol Scand, 1999,166:261- 277.
- [43] Daniell- Betto D, Zerbato E, Betto R. Type , a and b myosin heavy chain electrophoretic analysis of rat muscle fibres [J]. Biochem Biophys Res Com, 1986,138:981- 987.
- [44] Staron. S R, Pette D. The multiplicity of combinations of myosin light chains and heavy chains in histochemically typed single fibres. Rabbit tibialis anterior muscle[J]. Biochem J, 1987,243:695- 699.
- [45] Matsuoka Y, Inoue A. Controlled differentiation of myoblast cells into fast and slow muscle fibers[J]. Cell Tissue Res, 2008,332(1):123- 32.
- [46] Kohn T A, Essen- Gustavsson B, Myburgh K H. Exercise pattern influences skeletal muscle hybrid fibers of runners and nonrunners[J]. Med Sci Sports Exerc, 2007,39(11):1 977- 84.
- [47] Kesidis N, Metaxas T I, Vrabas I S, et al. Myosin heavy chain isoform distribution in single fibres of bodybuilders [J]. Eur J Appl Physiol, 2008,103(5):579- 83.
- [48] Mizunoya W, Wakamatsu J, Tatsumi R, et al. Protocol for high- resolution separation of rodent myosin heavy chain isoforms in a mini- gel electrophoresis system[J]. Anal Biochem, 2008, 377(1):111- 3.

