

【筋生理の集い】

## A. F. Huxley 先生の筋肉研究

遠 藤 實

埼玉医科大学

### PROFESSOR A. F. HUXLEY AND HIS STUDIES OF MUSCLE

Makoto ENDO

*Saitama Medical University*

Professor Andrew F. Huxley's life and his studies of muscle are reviewed. After performing his famous studies of nervous excitation with A.L. Hodgkin, A.F. Huxley turned to muscle research. He had noticed a report from the 19th century about "reversal of striation," which some insect muscles show as a result of contraction, and thought that an investigation of this phenomenon might help elucidate the mechanism of contraction. For this purpose, he designed and constructed an interference microscope with parts supplied by microscope makers R. & J. Beck. Using isolated single muscle fibers, he and R. Niedergerke used his microscope to observe changes in striations and found that, in contrast to descriptions in textbooks, the length of the A band remained constant when fibers were stretched passively or shortened during active contraction. This finding suggested the presence of a rodlike structure in the A band. On the basis of this and other observations, in 1954 he proposed the sliding filament hypothesis, which H.E. Huxley and J. Hanson had independently developed at about the same time. In 1957 A.F. Huxley proposed a theory of the sliding mechanism of contraction, which could explain the important physiological characteristics of muscle. He then constructed a length clamp device to determine the relation between sarcomere length and isometric tension, accurately avoiding nonhomogeneity of striation spacing toward the ends of a muscle fiber, and demonstrated that the properties of muscle contraction were entirely consistent with the sliding filament theory. Then he studied phenomena after quick release and proposed the Huxley-Simmons model to explain these transient properties. Both the kinetic behavior of myosin-actin binding, described in the 1957 Huxley model, and the transient-force-generating behavior of cross-bridges while bound to actin, described in the Huxley-Simmons model, appear to be essentially correct. We appreciate the great contribution of Prof. A. F. Huxley to our understanding of the mechanism of muscle contraction.

(Tokyo Jikeikai Medical Journal 2013;128:261-76)

Key words: muscle contraction, interference microscope, sliding filament theory, length clamp, transient responses (to step changes of length or tension),

#### I. はじめに

Andrew F. Huxley 先生が2012年5月30日に94年半の生涯を閉じられた。先生は、Hodgkinらと共に神経興奮のイオン機構を発見、確立するという大業績を挙げられノーベル賞を受賞されたが、1952年頃からは筋肉の研究に転じ、筋肉の分野でもノーベル賞に値する画期的な業績を成し遂げられた不世出の大学者である。名取先生、江橋先

生らのお仕事を高く評価され、日本での国際学会やシンポジウムなどにもしばしば出席されたこともあって、我が国の筋研究者にも馴染が深い。

筆者は江橋先生のご推薦で1962年9月から1年8ヵ月 University College London の Huxley 教授のもとに留学する機会を得たが、その留学中の1963年に先生がノーベル賞を受賞されるのを現場で目撃するという幸運にも恵まれたことを懐かしく思い出す。

昨年暮れの「筋生理の集い」で、竹森教授から Huxley 先生を偲んで話をするように、とのお誘いを受けて、先生の研究を改めて振り返り、話した内容を本稿にまとめた。なお、以下の文においては「先生」の語を省略し、“Huxley”とのみ記すこととした。

## II. 生理学研究者になるまで

Huxley は、子供の頃は将来機械工学者になるのが夢で、12歳の時両親に旋盤を買って貰って、いろんな物を作るのを楽しんでいた（その旋盤を彼は生涯愛用し、筆者も Huxley 研で初めて旋盤の使い方を教わった）。また同じ12歳の頃、顕微鏡を買って貰って、光学と顕微鏡の理論や実践の本にも深く親しんだという。これらのことが Huxley の後の筋肉研究に大きく反映されている。

パブリック・スクールの Westminster School を経て1935年 Cambridge 大学の Trinity College に進んだ。当時 Westminster School では優れた生徒は Oxford の Christ Church または Cambridge の Trinity という名門 College のフェローシップが得られたということで、Huxley の兄達（異母兄の作家 Aldous、生物学者 Julian や2歳年上の兄 David）はすべて Oxford に進んだが、Huxley は科学の研究をやりたいから、と Cambridge を選び、母からも兄弟別々の道を歩むのがよいとその方針を推奨されたという。

Cambridge 大学での Part I（最初の2年）では工学者を目指して主課目には物理学、ついで数学を履修したが、第3の実験科学の選択は、友人からの生理学が最先端の研究成果や議論も聴けるから面白いよとの助言もあって生理学とした。2年間の物理学の授業は、確立した理論の講義が中心で Westminster School で勉強したことの域をあまり出ないので興味が湧かず、一方、生理学では、個人的なセミナーの教師として神経伝導研究の W. Rushton や色覚研究の F. J. W. Roughton などといった当代一流の学者に親しく教わることができ、また年齢の近い先輩には Hodgkin や D. K. Hill といった優秀な研究者達が揃っていたことにも魅かれて、Part II（3年目）では専攻に生理学を選び、以来生涯、生理学の道を歩むことになった。しか

し、Huxley の生理学はまさに生体の工学的理解と言ってもよい色合いが強く、その意味で Huxley は初志を貫徹したものだとも言えよう。

## III. 神経興奮・伝導の研究

学部を卒業した Huxley の最初の研究は、1939年夏 Plymouth の海洋研究所で先輩の Hodgkin に誘われて行ったヤリイカの巨大神経の研究であった。最初は神経の細胞質の粘度を測定する目的で、カニューレを挿入して垂直に吊るした巨大神経に水銀の小さい粒を落として、それが細胞質中を沈降する速度を測定しようとしたが、細胞質は実はゲル状になっていて水銀の粒は神経に達したところからまったく動かず、研究はそれ以上進めることができなかった。代わりに、吊るした神経の細胞内に電極を挿入して膜電位を直接測ってみることにになり、塩溶液を満たし非分極性の銀塩化銀電極を差し込んだガラス電極を挿入して、Hodgkin の作ったカソード・フォロワー 入力 of DC アンプで静止電位と活動電位を測定した。これは、細胞内電極を用いて膜電位を正確に測定した最初の実験である。その結果、活動電位は静止電位を遙かに超える大きさで、いわゆるオーバーシュートがあることがただちに分かった。この事実は、当時の一般的な理解（静止電位は細胞内外のカリウム・イオンの濃度差と細胞膜のカリウム選択的透過性により生じるもので、活動電位は膜のカリウム選択性が破れるために静止電位が消失する）に反する驚くべき事実であり、そのメカニズムは解明できないまま、とりあえず結果は Nature 誌に速報された<sup>1)</sup>。

しかし、それを追究する暇もなく、英国は第二次世界大戦に巻き込まれて行く。Huxley も戦時研究に従事し、高射砲の対空射撃を不確かな情報にもとづきながらも目標に対して自動的にコントロールする目的でレーダーの研究などを行った。その時期の研究で、統計学、自動制御装置の理論、方程式の数値解法などを学ぶことができたことは、後年の研究に大いに役立ったと Huxley は述懐している。

Hodgkin と Huxley の活動電位オーバーシュートの本論文は、戦後1945年になって発表され<sup>2)</sup>、オー

パーシュートの成因については苦心して四つの可能性を論じているが、いずれも正解ではなく、ナトリウム透過性の選択的増加という真実には思い至っていない。活動電位におけるナトリウムの関与を初めて見事に示した論文はHodgkinとKatzの連名で1949年に発表されているが<sup>3)</sup>、ナトリウム説を最初に思い至ったのはHuxleyである。彼は1946年にA. Krogh（デンマークの生理学者で1920年のノーベル医学生理学賞受賞者）が講演で、ナトリウムは細胞膜を全く透過しないのではなく、少しは透過するというのを聞いてそのアイデアを得たということである。しかし、ナトリウム説をただちに信じるには難点が二つあった。一つは、当時米国のCurtisとColeがHodgkinとHuxleyの実験の追試をして、遥かに大きいオーバーシュートを得たということであり、それが事実であればナトリウム説では説明できないこと、もう一つは、水和した状態でカリウム・イオンよりも大きいナトリウム・イオンを細胞膜が選択的に透過させるとは考え難いことである。したがってこのナトリウム説の正否を実験で確かめようということになったが、巨大神経の実験ができるPlymouthの研究所は、1946年夏には戦争中の爆撃の破壊によって使用不能で、ようやく1947年夏になってHodgkinとKatzによって行われ、上記の論文となった。Huxleyがアイデアを提供しながら論文に名を連ねなかったのは、その時期新婚旅行に出かけていて、実験に参加できなかったためだとHuxley自身が述べている。

このように、自らが主体的に実験に参加しなかった場合には、たとえアイデアが彼のものであっても論文には決して名を連ねないという態度をHuxleyは後年まで貫いていた。筆者の場合も、Huxley研で行った仕事は、アイデアを初めとして、実験全体を通してHuxleyの有益な助言があつて初めて完遂できたものであるが、発表はすべて筆者の単独名になっている。

HodgkinとHuxleyは活動電位発生機構のさらなる解明に向かい、膜電位と膜電流の関係を正のフィードバックを断ち切って調べるvoltage clampの実験装置をKatzと共に作り上げ<sup>4)</sup>、それを駆使して、膜電流をナトリウム・イオンによって運ばれる内向き電流とカリウム・イオンによる外向き

電流とに分けて解析し、両電流の膜電位及び時間依存性を調べ上げた<sup>5)-7)</sup>。そしてそれらの実験結果を整理して、イオン電流を膜電位と時間の関数として一連の微分方程式で表し、膜に十分な脱分極刺激を与える初期条件でその微分方程式を解くと、伝導する活動電位が得られることを示し、神経の興奮機構を完全に解明した<sup>8)</sup>。これが1963年のノーベル賞受賞の理由となった業績であり、仕事全体の主役は何と言ってもHodgkinであると思われるが、最後の論文<sup>9)</sup>の数学的処理についてはHuxleyの貢献が大きく、実際に微分方程式を解く数値計算を実行したのはHuxleyである。当時は電子計算機がまだない時代で、手回しの計算機で計算を行った、という話は有名であり、論文中の何本かの活動電位は、電位下降相の計算が余りに労力が多過ぎるので、もう形が分かったから、と計算を途中で中止したと述べられていて、その苦勞が偲ばれる。

#### IV. 筋研究への関心

##### —“横紋の逆転”と干渉顕微鏡の製作—

神経興奮機構の研究が一段落した後、Huxleyはしばらく前から関心のあつた筋収縮機構の研究へと向かった。Cambridgeで筋肉の講義を担当していたD. K. Hillが1948年に移動して以来、講義を引き継いだHuxleyは、D. K. Hillから受け継いだ講義ノートに記されていた“横紋の逆転”という19世紀の顕微鏡観察による知見に注目していた。平滑筋は別として、筋肉は光学顕微鏡で観察すると、筋線維の方向に対して横方向に屈折率の高い帯（A帯）と低い帯（I帯）とが交互に繰り返す横紋が形成されている。ところが収縮した昆虫の脚の筋肉では、静止時とは違ってA帯ではなくI帯の中央のZ線の部分の屈折率が最も高くなるという“横紋の逆転”が起きる、というのである。その“横紋の逆転”は筋肉が刺激を受けて活性化されるためなのか、活性化の結果張力が発生するためなのか、それとも短縮の結果なのか。それを明らかにすれば、筋収縮のメカニズム解明の手掛かりが得られるのではないかとHuxleyは考えた。それは、顕微鏡観察が子供の頃からの趣味であった彼には魅力的な命題でもあつた。

“横紋の逆転”が示された昆虫の筋肉は活動電位を発生しないので、上記の問題解明の実験には不適當であるが、カエルの骨格筋なら Ramsey と Street が単一筋線維を単離して繰返し興奮させて張力を測定した結果を報告している<sup>9)</sup>、実験可能であることが分かっている。しかし、カエルの骨格筋は、昆虫筋よりも直径が大きく、また横紋の幅が狭いので、通常の顕微鏡では、横紋の正確な観察はできない。偏光顕微鏡なら静止時の横紋は正確に観察できるが、“逆転”した横紋は光学的異方性によるものではなく、屈折率の変化によるものなので見ることはできない。薄い標本であれば屈折率の差は位相差顕微鏡で見ることができ、カエルの筋線維のように厚い標本ではうまく見えない。必要なのは干渉顕微鏡である。世の中に干渉顕微鏡というものはまだ現れていなかった当時、Huxley は自ら干渉顕微鏡のアイデアを考案した<sup>10)</sup>。すなわち、Fig. 1 のように偏光顕微鏡を用いて Wollaston プリズム C で二分した偏光の一方を標本 F、他方を近くの空間を通過させ、その後もう一つの Wollaston プリズム H で合わせて干渉させ、両者の光路差すなわち標本の屈折率を光の強度の差として検出するという装置である。その作成を顕微鏡会社 Beck に相談したところ、そのアイデアはすでに特許がとられているので会社として製品化することはできないが、Huxley のために、と言って、1 台分の必要な部品を提供してくれた。その部品を使って Huxley は干渉顕微鏡を自ら組み上げ、さらにそれを高倍率で観察するために必要なプリズムの位置を  $1\ \mu\text{m}$  の精度で調整できる装置までを自ら旋盤を駆使して作り上げ<sup>11)</sup>、収縮するカエルの筋線維の横紋の観察に成功したのである。この自作の干渉顕微鏡

を用いた実験結果から筋肉の滑り説が誕生するわけであるが、それを述べる前に Huxley の筋研究におけるもう一つの大きな業績を述べておこう。

## V. 興奮の細胞内への伝播

当時、筋細胞の興奮がどのようにして収縮を引き起こすかは、大きな謎であった。興奮は筋細胞表面の細胞膜で生じるが、収縮は筋細胞の実質全体に亘ってぎっしり詰め込まれている収縮蛋白質の反応である。A. V. Hill は 1949 年に熱発生<sup>12)</sup>の測定によって、活動電位発生から僅か数ミリ秒で筋細胞全体が収縮を始めることを示した。そして、その実験に使われたカエルの筋細胞は直径が  $100\ \mu\text{m}$  にもおよぶ大きな細胞なので、活動電位発生の結果として細胞表面から何らかの収縮惹起物質が細胞内に拡散すると考えると、その拡散には小さなイオンであっても 1 秒程度を要する計算になるので、数ミリ秒で収縮が完成する事実からは何か別のメカニズムを考えなければならないことを指摘していた<sup>12)</sup>。

Huxley は、細胞膜と表層の筋原線維の Z 線とを連結する膜様の構造 (Krause の膜) があると記述した 19 世紀末の論文から、その構造が細胞膜の興奮のシグナルを細胞内に伝えるのではないかと考えた。そこで R. E. Taylor とともに、Z 線部だけを刺激するために、偏光顕微鏡下で先端の径が  $1\ \mu\text{m}$  程度のマイクロピペット電極を筋細胞表面の小さな領域に押し付けて電流を流し、その領域だけを脱分極させる実験を行った。Z 線は偏光顕微鏡では見えないが、I 帯の中央にあることが分かっている。Fig. 2 の 3 (刺激前) と 4 (刺激中) に示すように、ピペットを I 帯の上に置いた時には脱

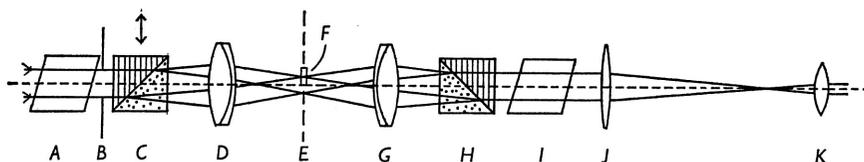


Fig. 1. Diagram of optical arrangement of low-power interference microscope. A, polarizer; B, iris; C and H, Wallaston prism; D, condenser; E, object plane; F, specimen; G, objective; I, analyzer; J, collimating lens; K, eye piece<sup>10)</sup>.

分極によってピペット直下のI帯が収縮するのがしばしば観察できたが、A帯の上に置いた時 (Fig. 2の1 (刺激前) と2 (刺激中)) には収縮はまったく見られなかった。これによってKrauseの膜が興奮のシグナルを伝える可能性が支持されたと考え、Huxleyらはその結果を「Krauseの膜の機能」としてNature誌に報告した<sup>13)</sup>。

しかし、間もなく電子顕微鏡による微細構造観察が可能になって、筋には細胞膜表面から陥入する小管系が存在し、カエル筋ではそれがZ線部にあることが分かってきた<sup>14)</sup>。したがって、興奮のシグナルはKrauseの膜ではなくこれらの小管を電氣的に伝わると理解された。それなら、興奮から収縮まで数ミリ秒しかかからないのもよく説明できる。実際、マウス、トカゲやカニの筋では同様な小管がZ線から少し離れて両側にあることが分かっている<sup>15)</sup>ので、HuxleyとTaylorはカニの筋線維を使って、局所刺激の実験をZ線の見える干渉顕微鏡下に行い、たとえピペットをZ線の片側にずらせて置いてもZ線の両側が等しく縮むカエル筋と違って、カニではピペットを置いた側に

Z線が引っ張られ、I帯の片側だけが収縮することを示し<sup>16)</sup>、小管系が電気信号を内部に伝える考えが支持された。実験は極めて正確であったが、その解釈を「Krauseの膜の機能」としたのはもちろん不適切であり、「仮説を過度に信頼して議論することの危険性」というよくある過ちを犯してしまった、とHuxley自身は反省を述べている。

しかし、細胞膜の活動電位が小管系を伝導するには、小管は細胞外に開口していなければならないが、カエルの筋細胞では小管が表面近傍で蛇行しているらしく、その開口はいまだに明確に示されていない。1962年にHuxley 研に留学した私は、小管内腔が細胞外液と交通していることを、細胞膜不透過の蛍光色素がZ線部分に出入りできることを蛍光顕微鏡下に示すことで証明した<sup>17) 18)</sup>。それとまったく同時期にH. E. Huxleyは、そのことをフェリチン分子が小管内腔に入り込めることを電子顕微鏡で示して証明した<sup>19)</sup>。

こうして興奮収縮連関の第一段階が明らかになった。後年になって、カエル筋の小管の膜は興奮性を持っていて活動電位が確かに伝播すること<sup>20)</sup>、

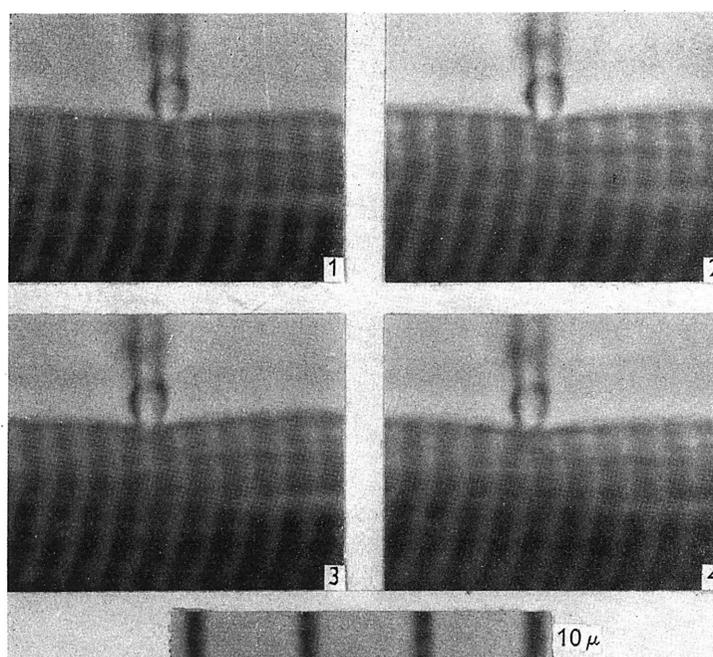


Fig. 2. Edge of isolated muscle fiber from the frog, with pipette in contact. A contraction is produced only if the pipette is opposite an I band. For further explanation, see text<sup>16)</sup>.

また、十分な収縮を起こすにはその活動電位の伝播が必要であることなどが明らかにされている<sup>21)</sup>。

なお、HuxleyとTaylorの実験ではピペットが小管の開口部に置かれた時でなければ収縮は起こらないはずであるが、その開口部はZ線のレベルにおける筋線維表面の円周上にとびとびにしか存在しない。その構造について彼らは全く未知だったにもかかわらず、局所刺激に応じるスポットはZ線のレベルでとびとびに存在するという正確な結果が論文には見事に図示されていて<sup>16)</sup>、実験がいかに正確に行われたかを示している。

## VI. 収縮時の横紋の変化 —筋収縮の滑り説—

### 1. 干渉顕微鏡による観察

さて、“横紋の逆転”を調べるために作成した干渉顕微鏡を使って、HuxleyはR. Niedergerkeとともに実験を行った<sup>22)23)</sup>。まず収縮をさせる前に、筋線維を受動的に伸長した時の変化を見たところ、A帯の長さは常に一定で、長さの変化はすべてI帯で起きていた。次第に強くなる電流によって筋線維をゆっくりと収縮させ、短縮する時の横紋の変化を顕微鏡映画に撮ると、Fig. 3に示すように受動的に筋を伸長した時と同様、やはりA帯の長さは筋節長が $2\mu\text{m}$ 以上の領域では常に一定で、長さの変化はすべてI帯で起きていた。筋が収縮する時にはA帯が縮むとした当時の教科書と正反対の事実であった。等尺性収縮をさせた時には、横紋はほとんど変化しなかった。これらの事実は、A帯には、筋線維を伸長しても等尺性に収縮させても長さを変化しない細い棒（フィラメント）状の光学的異方性を示す物質が存在する（したがって高い屈折率を示す）ことを物語っている。そうだとすると、“横紋の逆転”は筋が短縮した時にそのフィラメントの端が隣の筋節のフィラメントとぶつかって重なることによると考えられる。実際に、筋に直流電流を流して強く短縮させて顕微鏡映画を撮ってみると、短縮が強く進行した時にZ線の場所に濃い帯が出現する“横紋の逆転”が起こった。そこに至るまでに、最初にI帯が消失し、ついでA帯のあった場所の中央に細い濃い帯が出現した。このA帯中央の濃い帯は、Z線に発しI帯から隣のA帯の外側まで伸びる第二

のフィラメントがA帯の中に滑り込んでその中央でぶつかり重なることによるものと解釈するのが素直な考えである。こうして筋の収縮は2種のフィラメントが互いに滑り合うことによって起きるという革命的な筋収縮の滑り説が考えられるに至った。革命的というのは、それ以前には、筋の

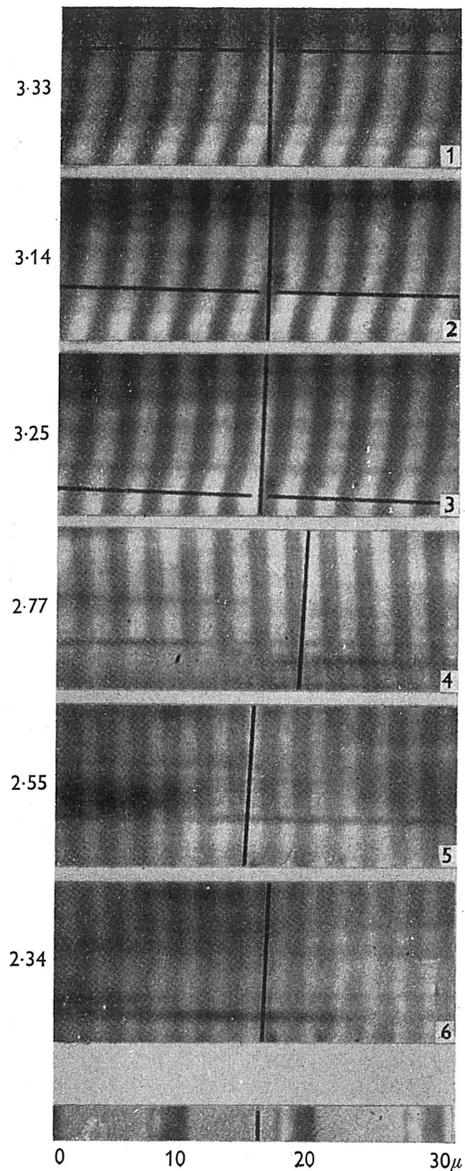


Fig. 3. Slow contraction of an isolated muscle fiber opposite cathode of a slowly rising current. Sarcomere length in microns indicated on the left of each figure<sup>23)</sup>.

実質は単一のフィラメントから成っていて、その収縮は、バネが縮むようにフィラメントが短縮するもの、とばかり考えられていたからである。

なお、上記の横紋の逆転現象が観察されたのは実は一度だけで、それ以外は、筋の短縮時にはA帯もI帯も両方とも次第に縮むのが観察されただけであったので、Huxleyはこの観察の発表をしばらく保留した。後になって、この実験で能動的に収縮するのは表面の筋原線維だけで内部の筋原線維は受動的に短縮させられるので、多くの場合その内部を見ていたということが分かった<sup>24)</sup>。

## 2. 筋収縮の滑り説の提唱

上記の実験の後、1953年の夏をHuxleyはWoods Holeの海洋生物学研究所で過ごした。そこで筋化学者のH. H. Weberと逢って、筋のフラグメントからミオシンを溶解して取り除いた残りを電子顕微鏡で観ると、アクチン分子がフィラメントを形成してZ線に束ねられているという、彼の研究室のW. Hasselbachの研究結果<sup>25)</sup>を聞かされて、先に考えたZ線から延びる第二のフィラメントはアクチンであり、A帯のフィラメントはミオシンに違いないと確信した。それから間もなく、HuxleyはH. E. HuxleyとJ. Hansonに逢った。H. E. HuxleyとHansonは位相差顕微鏡下に筋原線維を用いた実験でまったく独立に同じ筋収縮の滑り説に到達して<sup>26)</sup>、さらに筋原線維は2種類のフィラメントで構成されていることを明らかに示す電子顕微鏡写真<sup>27)</sup>を見せてくれた。また、彼らはHasselbachの観察と一致して、筋原線維を位相差顕微鏡下にミオシンを溶解する液を加えるとA帯の物質が消失する実験結果を得ていた<sup>26)</sup>。

こうして両グループの見解が一致したので、筋収縮の滑り説の各々の実験的根拠は1954年のNature誌に並べて掲載された<sup>22)26)</sup>。この論文でHuxleyは、筋を引き伸ばせば伸ばすほど発生張力が小さくなるというRamseyとStreetの実験結果<sup>9)</sup>は、2種類のフィラメントが重なる部分で個々の独立した張力発生装置が働いていると考えたと説明できることや、短縮の速度の速い筋肉では筋節が短いこと<sup>28)</sup>、など、筋収縮の生理学的性質のいくつかを滑り説によって良く説明できることをすでに明瞭に述べている。

滑り説については、実際にフィラメントを電子

顕微鏡で明らかにしたH. E. HuxleyとHansonの直接的な証拠はもちろん極めて強い説得力を持っているが、自ら考案し作成した干渉顕微鏡を用いた光学顕微鏡レベルの観察からフィラメントの滑りを洞察し、収縮の生理学的性質とも合わせて滑り説を導いたHuxleyは偉大であると言わざるを得ない。

## Ⅶ. 滑り説の理論 — 1957年モデル —

筋収縮がバネの縮みのようなものなら容易にその機構を想像できるが、実際には2種類のフィラメントの滑りによって収縮するのだとすると、その滑りはどのようなメカニズムで起きるのであるか？その謎に挑んだHuxleyは、1954年夏に多くの時間をかけて滑りによる筋収縮の理論モデルの構築に努め、筋の重要な生理学的諸性質を定量的に説明できるモデルを作り上げた。その論文は1957年になってようやくProgress in Biophysics and Biophysical Chemistry誌に発表された<sup>29)</sup>が、その間の経緯は、Huxley自身この理論は多くの推測に基づいたものなのでその出版を考えていなかったが、編者から投稿を勧められたので、1955年初めに原稿を投稿したにもかかわらず、実際の出版は2年後の1957年になってしまったのがっかりした、ということらしい。

### 1. モデルの構成

このHuxleyの1957年モデルとして有名な理論は、Fig. 4Aに示されるような機構を考えたものである。2種類のフィラメントはいずれも剛体の棒であるとする。ミオシンフィラメントからは、ある間隔ごとにアクチンと結合すべき手(M)が出ている。アクチンフィラメント上の結合部位(A)も一定の間隔ごとに存在する。Mはその平衡の位置Oを中心に熱運動によって振動している。Mの近くにAが来ると、ある確率でA-M間に結合とその解離が起こる。結合が形成されると、Mのバネによって両フィラメントの相対的滑りが起きる。結合および解離の速度定数(f, g)は場所xの関数であり、 $x > 0$ の側でfは大きく、 $x < 0$ の側ではgが大きいと考える。その結果Mは $x > 0$ の側でAを結合し、それをバネの力によって $x < 0$ の側まで運んで離すということを繰り返す、

一方向の滑りが起きる。A-M結合の解離はATP(式ではXPと記されている)によって起こり、ATPはついで分解されるが、そのエネルギーは熱としてMの振動を盛んにし、仕事によって消費されたエネルギーを補うように働く。結局、反応は、  
 $A + M \rightarrow AM$  (速度定数f) (1)  
 $AM + XP \rightarrow AXP + M$  (速度定数g) (2)  
 $AXP \rightarrow A + X + PO_4$  (3)  
 の3段階を繰り返して、収縮が起きる。静止時には、(3)または(1)が抑制されて、反応が止まっている。

なお、この反応式ではアクチンがATPaseになっているが、ATPaseはもちろんミオシンと考えるべきであり、そう考えても計算結果はまったく変わらない。

## 2. 収縮時の力学的性質

Huxleyは、fとgの分布についてFig. 4Bのように仮定すると、このモデルは、筋の加重・短縮速度関係や短縮時のエネルギー発生を定量的に説明できることを示した。Fig. 5にFig. 4Bのfとgから計算した一定速度Vで短縮しているときのA-M結合の割合(n)のMの平衡の位置からの種々の

距離における分布が4段階のVについて例示されている。

$V = 0$ すなわち等尺性収縮の時には、f, gの分布から分かるようにA-M結合は $x > 0$ の領域にのみ存在する。フィラメントは剛体と考えるので、筋の発生張力は、筋節の半分の中にあるすべてのMの発生する力の和になる。そうだとすると、筋を引き伸ばして両フィラメント間の重なりを減らせば、作用し得るMの数が減少するので、張力はそれに比例して減少するはずである。このことは、すでにHuxleyが1954年の論文で指摘していたとおり、大まかにはRamseyとStreetの実験結果<sup>9)</sup>と合致しており、実際に正確に実現することは後にHuxley自身が証明することになる。

筋が短縮する時に張力が等尺性張力より小さいのは、Vが大きくなるほど $x > 0$ の領域ではAがMの近傍にいる時間が短くなるのでA-M結合が少なくなり、また $x < 0$ の領域ではA-M結合が多く残って張力を打ち消す方向に働くためである。Huxleyは、このモデルでパラメータを適当に取れば、Vが増大するにつれての張力変化の計算値、すなわち張力・短縮速度関係は、実際の実

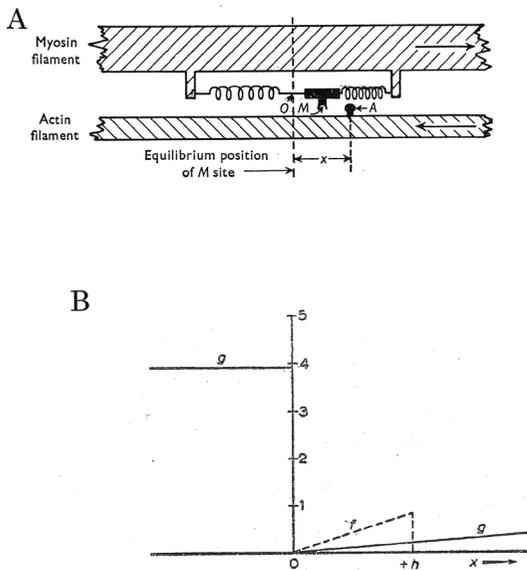


Fig. 4. A, Mechanism of contraction proposed by A.F.Huxley. For explanation, see text. B, Dependence of rate constants of attachment (f) and detachment (g) of myosin-actin links on position  $x$ <sup>29)</sup>.

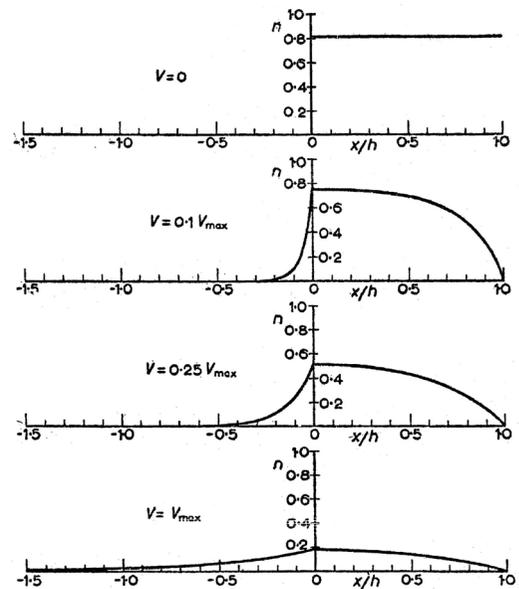


Fig. 5. Variation of n with x, for the steady state in isometric contraction (top) and in shortening at three different speeds<sup>29)</sup>.

験結果にほぼ一致する結果が得られることを見事に示した (Fig. 6A).

荷重ゼロの時の筋の短縮速度 (最大短縮速度  $V_{max}$ ) は、このモデルによれば、 $x < 0$  の領域で残っているAM結合による抵抗によって規定される。従って  $V_{max}$  は等尺性張力とは違って筋節の半分全体のMの数の多少に関係なく同じになる。というのは、両フィラメントの重なりが多くてMが多数あっても、 $x < 0$  の領域で残るAM結合もそれだけ多くなるからである。実際に筋を引き伸ばした時にも  $V_{max}$  は等尺性張力と違って全然減少しないことをHuxley自身が後に示している。節足動物の筋で筋節の短い筋ほど  $V_{max}$  が大きいことが分かっている<sup>28)</sup> が、 $V_{max}$  が筋節長に依らないとすれば、筋節の短い筋ほど単位長さ当たりの筋節数が多いので、 $V_{max}$  が大きくなると説明できる。Huxleyはこの点も1954年の論文ですでに指摘していることは前に述べた。

### 3. エネルギー発生

筋収縮の重要な性質の一つは、Hillの示した短縮熱の存在である<sup>30)</sup>。すなわち、筋は等尺性に収縮する時よりもより小さな力のもとに短縮する時の方が短縮速度にほぼ比例して多くの熱を発生する。この短縮熱の存在は、筋が刺激された時一回限りの反応で一定量のエネルギーが発生し、そ

のエネルギーが収縮に用いられるというのではなく、(もしそうであれば、筋が荷重を持ち上げて仕事をしつつ短縮すると、熱発生は実際とは逆に仕事量の分だけ減少するはずである)、状況に応じて繰り返しの化学反応が起きることを意味している。そのことはすでにNeedhamが指摘していた<sup>31)</sup>。そのような繰り返しの反応は、筋収縮が単一のフィラメントの縮みであるという考えにはうまく合わないが、滑り説では、収縮時に1  $\mu$ mほどの滑り(短縮)が起きる事実は1回限りの反応ではとても説明できないので、繰り返しの反応を考えるのが自然であり、実際に1957年モデルで短縮熱を説明することができる。

1個のAがあるMの近傍を通過する時に結合が起きる確率は、Vが大きいほど小さくなるが、単位時間内により多くのAがそのMの近傍を通過するので、その二つの効果は丁度相殺する。しかし、出来上がったA-M結合は、Vが大きいほど速やかにgの大きい  $x < 0$  の領域に運ばれ、分解されるので、その分だけ新しいA-M結合が出来やすい。張力・短縮速度関係を計算した時と同じパラメータを用いて計算すると、このモデルで、Fig. 6Bのようにエネルギー発生でもHillの短縮熱の実験値とほぼ一致する結果を得られることが示された。

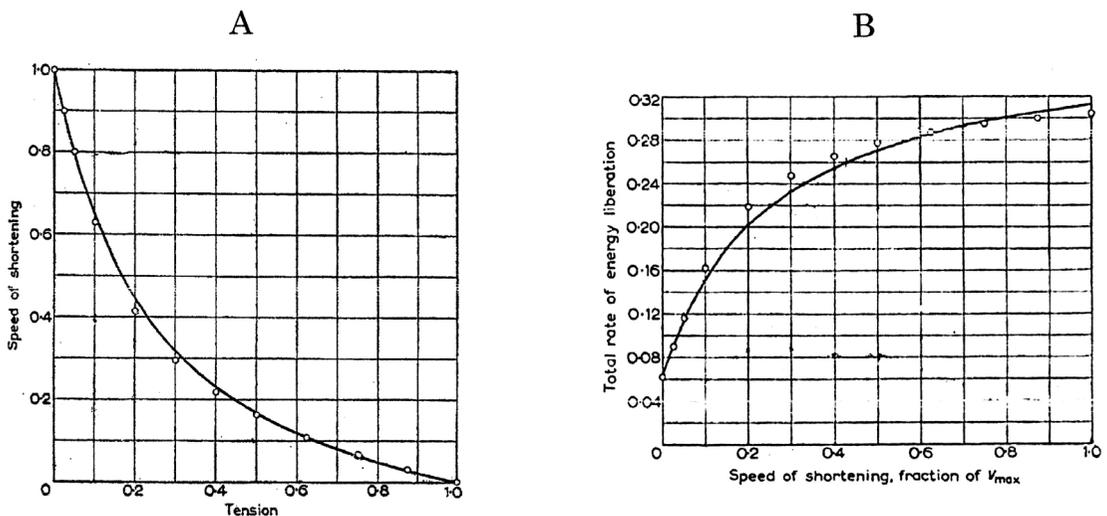


Fig. 6. A, Relationship between speed of shortening and tension. Continuous line: Hill's characteristic equation based on his experiments. Circles: result of calculation. B, Relationship between total rate of energy liberation and speed of shortening. Continuous line: curve derived from Hill's relationships. Circles: result of calculation<sup>29)</sup>.

このように、1957年モデルは、筋の重要な生理学的諸性質を定量的に説明できるもので、力の発生がMの熱運動という考えは別として、A-M結合、解離のキネティックスの考え方は基本的に正しいと現在でも考えられている。

### VIII. 滑り説の検証

#### 1. 収縮が消失する筋節長

滑り説によれば筋をミオシンフィラメントとア

クチンフィラメントの重なりが無くなる筋節長  $3.65 \mu\text{m}$  まで伸ばせば、A-M結合はできなくなるので、張力は発生しなくなるはずである。しかし、実際には、弛緩時（筋節長約  $2.1 \mu\text{m}$ ）の2倍以上に筋を伸ばしてもなお筋はゆっくりとではあるが、張力を発生する。HuxleyはL. Peacheyとの実験で<sup>32)</sup>、Fig. 7Aに示すように筋節長は筋線維末端の腱の近くでは線維中央部よりも短く、充分引き伸ばしてもなお両フィラメントの重なりが無くならないことを見出した。そして実際、Fig.

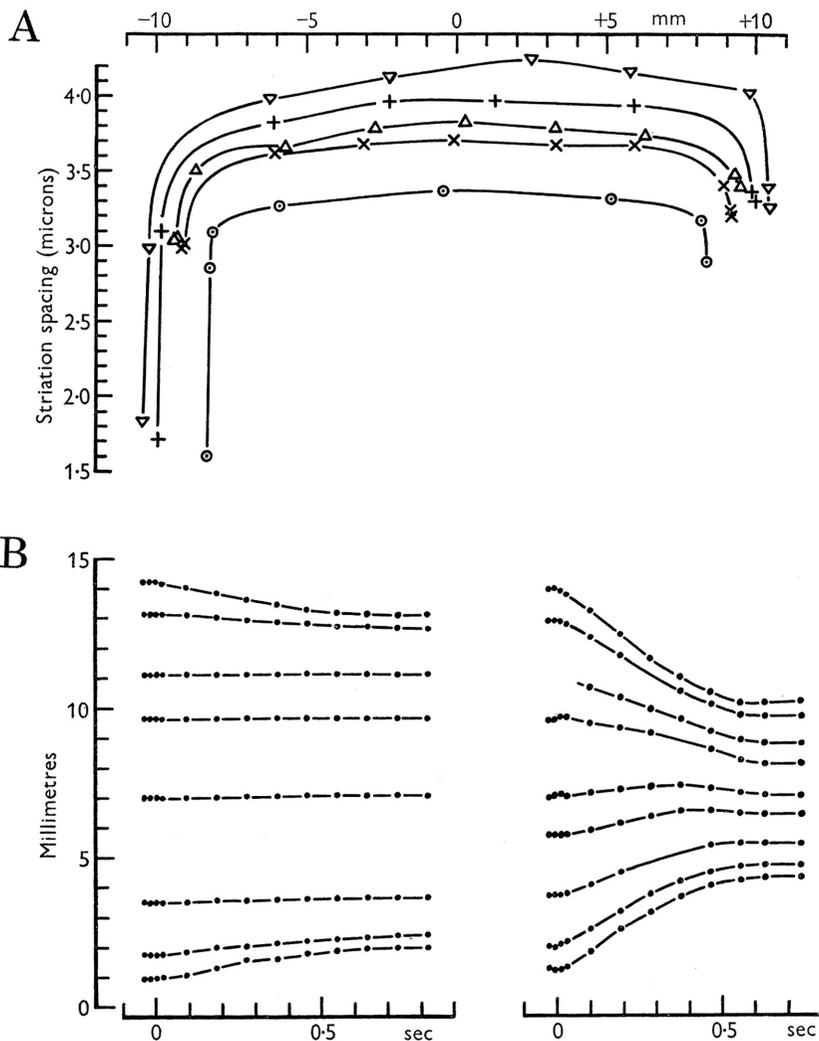


Fig. 7. A, Variation of striation spacing along isolated muscle fibers at rest. Abscissa: distance from center of fiber. B, Shortening of different segments of a fiber during isotonic tetani. Initial striation spacing near middle of fiber was  $3.6 \mu\text{m}$  (left) or  $3.4 \mu\text{m}$  (right)<sup>32)</sup>.

7Bに示すように、繊維中央部の筋節長を約 $3.6 \mu\text{m}$ にした状態で線維を刺激すると、繊維中央部はまったく短縮しないが、繊維末端はゆっくりと短縮する。一方、線維中央部の筋節長を約 $3.4 \mu\text{m}$ にした場合には、線維全体が短縮する。こうして、両フィラメントの重なりがなくなるまで筋を伸長すると筋は収縮できない、という滑り説の予言が実証された。

2. 筋節長と等尺性張力

滑り説では、筋を興奮させた時に発生する等尺性張力は、両フィラメントの重なりに比例するはずである。しかし前項で述べたように、筋線維1本をそのまま使ったのでは、筋節長が一樣ではないので、正確な筋節長・張力関係は得ることができない。この点を解決するために、HuxleyはUniversity College Londonに移った1960年頃からA. M. Gordon、ついでF. Julianとともに、筋線維の中央付近の筋節長が一樣な部分に小さな金箔のマーカ―を付けて、マーカ―間の距離を一定に保つように、線維の両端に加える力を調節して

フィードバックをかける装置を開発した。筋線維を刺激して収縮させ、フィードバックを作動させれば、マーカ―間の長さを一定に保つのに必要な線維端に加える力がマーカ―間の部分の(一樣な)筋節長の発生する張力である。こうして筋節長・張力関係を測定してみるとFig. 8のように張力は滑り説の予言通り、両フィラメントの重なりに正確に比例することが示された<sup>33)</sup>。

さらにHuxleyらは、筋節長のもっと短い側についても筋節長・張力関係を測定した<sup>34)</sup>。得られた実験結果をまとめた模式的なFig. 9Aの示すとおり、筋節長を $2.25$ から減少させて行くと、張力は $2.0 \mu\text{m}$ までは最大値を保つが、それ以下 $1.67 \mu\text{m}$ までの間では緩やかに、それより短い領域では急激に減少する。この張力の変化を両フィラメントの重なり具合と比べてみると (Fig. 9B),  $2.25$ から $2.05 \mu\text{m}$ の間では、ミオシンフィラメントの中央部にはクロスブリッジの存在しない部分があるので、アクチンフィラメントと重なるクロスブリッジの数は変わらない。 $2.05 \mu\text{m}$ から $1.65 \mu\text{m}$

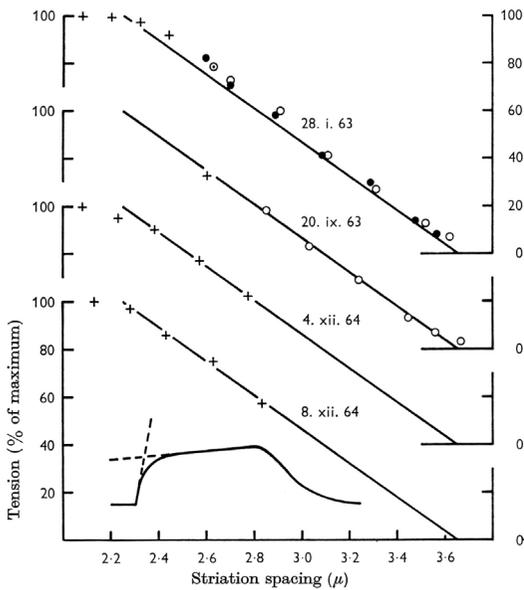


Fig. 8. Tension developed at lengths above the optimum. Extrapolated back to start of tetanus by the procedure shown in the inset. Lines drawn from zero at  $s = 3.65 \mu$  to 100% at  $s = 2.25 \mu$ <sup>33)</sup>.

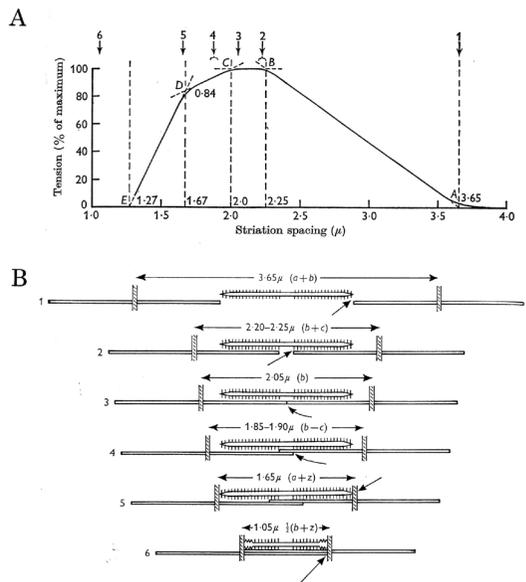


Fig. 9. A, Schematic diagram of relation between isometric tension and striation spacing. The number of each arrow corresponds to that in B. B, Critical stages in the increase of filament overlap as a fiber shortens. a: thick filament length,  $1.60 \mu\text{m}$ . b: length of thin filament and Z line,  $2.05 \mu\text{m}$ . c: region of thick filament free from projections,  $0.15-0.20 \mu\text{m}$ . z: thickness of Z line,  $0.05 \mu\text{m}$ <sup>34)</sup>.

の間では両側から来たアクチンフィラメントが重なり合い、それが次第に増える。1.65  $\mu\text{m}$ 以下では、今度は隣り合った筋節のミオシンフィラメント同士の重なり合いが増える。すなわち、アクチンフィラメントと重なるクロスブリッジの数が張力を決めること、フィラメントの重なりが抵抗力などを生むと考えると見事に説明できる結果である。ただし、1.65  $\mu\text{m}$ 以下の領域における急激な張力低下の最大の原因は、実は後になって、T管が圧迫されて興奮が細胞内部に伝わり難くなるためであることが分かっている<sup>35)</sup>。

### 3. 最大短縮速度

先に述べたとおり、Huxleyの1957年モデルは、筋の興奮時の無負荷下の最大短縮速度は、等尺性張力とは違って両フィラメントの重なりに関係であると予言している。これも、実際にFig. 10のように無負荷に近い状態で、重なりが大きく異なる筋節長からそれぞれ出発して短縮させてみると、ほとんど変わらない短縮速度が得られることで、それが正しいことが証明された<sup>34)</sup>。

## IX. 1957年モデルの問題点 —過渡現象とHuxley - Simmonsモデル—

先に述べたとおり、1957年モデルにおいて、骨格筋収縮反応におけるA-M結合、解離のキネティックスの骨格は基本的には正しいと思われるが、力の発生のメカニズムについて、ミオシン頭部の熱運動を利用したものであると仮定した点には修正が必要であることは、早くから明らかであった。そのメカニズムを追究する一つの方法は、収縮中の筋線維の張力を瞬間的に変化させて直後過渡的に筋線維の長さ変化がどうなるかを詳細に解析することである（定常状態に達した後は、Fig. 6Aのような張力・短縮速度関係に従うことは分かっている）。このような実験は、Podolskyらが先行して実施していたが<sup>36) -38)</sup>、Huxleyは1967年頃からR. M. Simmonsと、後にはL. E. Fordも加わって、この過渡的な力学的性質の研究を進めた。Huxleyらは、張力を十分短時間で変化させることが難しかったので、逆に筋線維の長さの方を1ミリ秒以下で変化させて、張力の過渡的な変化を調べることにした。等尺性強縮の途中でFig. 11Aに示すように急激に長さを縮めた時の過渡的な変化を詳しく見ると、Fig. 11B下段に示すよ

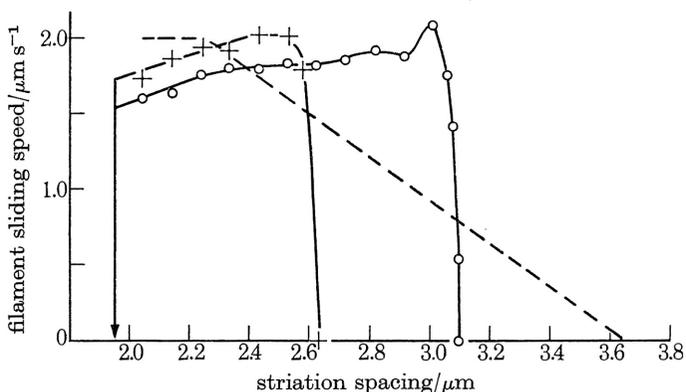


Fig. 10. Speed of shortening under very light load. Shortening from 3.10  $\mu$  (circles) and from 2.63  $\mu$  (plus signs). Interrupted lines: isometric tetanus tension<sup>34)</sup>.

うに、長さ変化と同時の張力減少（第1相）、つぎの2-5ミリ秒の間に起きる速やかな張力回復（第2相）、次の5-20ミリ秒の非常に遅い、時には逆転することもある張力回復相（第3相）、最後の新しい長さの規定する等尺性張力に向かってゆっくりと回復する相（第4相）の4相からなることが分かった<sup>39)</sup>。Fig. 11B上段にあるように、張力を急激に変化させた時の長さ変化においても同様に対応する4相を示すことが見られるが、張力変化に時間がかかっているため、第1相と第2相の区別が明らかでなく、Huxleyらが長さの急激な変化の方を選んだ理由が納得できる。

第1相と第2相の反応から、2つの構成要素の存在が考えられる。一つは、筋線維全体の長さ変化と同時に変化する弾性要素で、それが第1相の張力変化を示す。もう一つは、弾性と粘性を持つ

た要素で、第1相の張力変化に対応して構造が再調整される結果、第2相の速やかな張力回復を起こす。この二つの要素が直列に結合しているか、並列かについて、Huxleyらは第2相が非線形性を示す実験結果から、直列結合の可能性が極めて高いと結論した<sup>39)</sup>。

第1の弾性要素はフィラメントに在るとまずは考えられる。しかし、Huxleyらは両フィラメントの重なりを変化させて実験した結果、Fig. 12に示すように、重なりが少なく張力が少ないときには、弾性率も同じだけ小さくなるので、第1相を示す弾性要素の少なくとも大部分は、フィラメントではなくクロスブリッジ自体にあると結論した<sup>40)</sup>。しかし、後の精度の良い実験からは、フィラメントにもある程度のコンプライアンスがあることも分かっている<sup>41)</sup>。

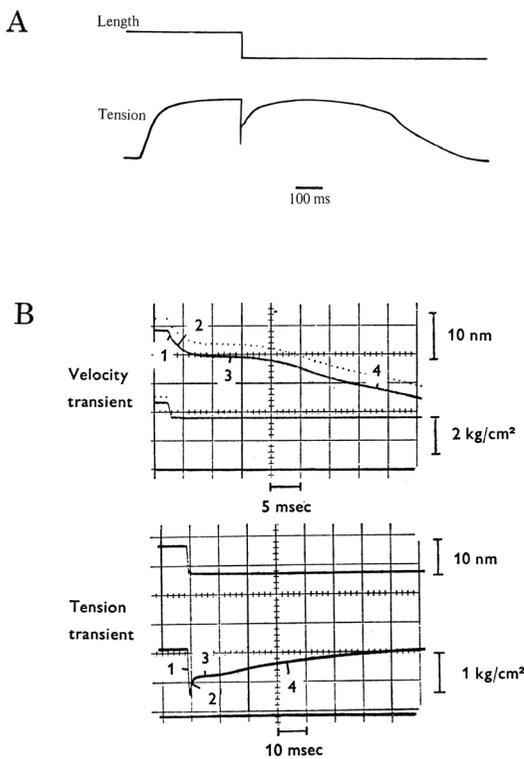


Fig. 11. A, Isometric tetanus of an isolated muscle fiber, with an imposed shortening step. From reference 43. B, Mechanical transient responses in isolated muscle fibers, during tetanic stimulation. Above: time course of length change when load is suddenly altered. Below: time course of tension change when length is suddenly altered<sup>44)</sup>.

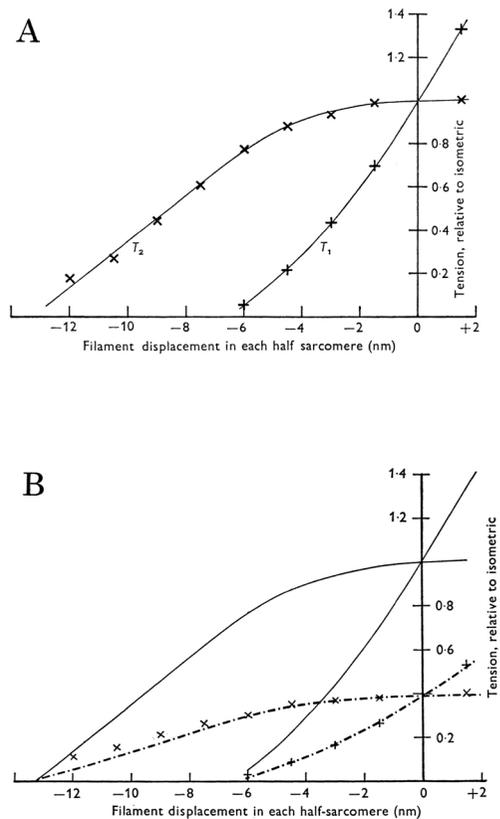


Fig. 12. T1 and T2 curves obtained from tension transients recorded from the same muscle fiber at two different lengths. Sarcomere length 2.2  $\mu$ m (above, and lines in below copied from above) and 3.1  $\mu$ m (below)<sup>44)</sup>.

第2相は先に述べたとおり、その大きさも回復速度も長さの変化に対して非常に非線形で、Fig. 12のように長さ変化の小さいところではほぼ元の張力まで戻るが、変化が大きくなると戻りは小さくなる。張力の回復速度も長さ変化の大きさによって大きく異なり、筋を伸長した時に遅く、短縮の幅が大きくなるにつれてより速くなる。

これらの結果を説明するためにHuxleyとSimmonsは、H. E. Huxleyがその電子顕微鏡やX線回折の実験から得られた結果に基づいて提案した機構<sup>42)</sup>を参考にして、Fig. 13のような機構を考えた<sup>43)</sup>。すなわち、ミオシンの頭部Hは尾部ABによって太いフィラメントに結合している、このABが第1相を示す弾性要素を担っている。Hは、アクチンとの間に数個(図では4個)の結合部位を有しており、結合の親和性は、 $M_1A_1$ が最も小さく、 $M_2A_2$ 、 $M_3A_3$ と次第に大きくなるとする。隣り合う二つの結合部位で同時に結合した時にミオシン・アクチン結合は安定し、したがって図の場合には1-2、2-3、3-4結合というポテンシャルエネルギーが次第に低くなる3つの安定状態が存在する。3-4結合に至ると、ミオシン・アクチン結合はATP分解を伴って解離することができる。これらの結合状態間の移動は可逆的で、等尺性に収縮しているときには、ポテンシャルエネルギーの低い結合状態に移行して前進しようとする傾向と、ABの張力によって引き戻そうとする力が均衡している。急激な長さ変化を加えた時には、ミオシン頭部Hがポテンシャルエネルギーのより低い状態に移って、ABを引き延ばすことで第2相の速やかな張力回復が起きる。その

際、長さ変化が小さくて図における角度 $\theta$ の変化の範囲内でABを引き伸ばすことで吸収できるときには、張力はほぼ短縮前まで戻るが、短縮が大きくなると戻りきれないことになるので、Fig. 12のT2曲線の形が理解できる。また、ポテンシャルエネルギーのより低い状態に遷移する際には張力に逆らって仕事をしなければならず、その仕事量が遷移の活性化エネルギーに当然含まれるので、短縮の幅が大きく張力が小さくなった場合には、活性化エネルギーが小さく、したがって張力の回復反応は速くなる。こうしてこのモデルで第2相の非線形性が基本的に説明できた。

このモデルでは、弾性要素はミオシン尾部ABにあり、第2相の変化はミオシン・アクチンの結合状態の変化によると仮定しているが、Huxleyは、弾性要素はアクチン側にあると考えることすら不可能ではないし、第2相はミオシン頭部の内部構造の変化であるとも考えることもできるので、力学的性質を担う構造を分子レベルに対応させることには慎重であるべきだ、と述べている<sup>44)</sup>。

過渡的変化終了後の第3相と第4相は、1957年モデルの適用範囲であり、A-M結合の解離と結合の過程が進行していると考えられる。第3相では一方で解離、他方で結合が進行するが、速度定数は解離の方が大きいので解離は早く終了し、第4相では主に結合が進行する。実際第4相の張力回復過程は、静止筋を刺激した時の張力発生の過程と比べると前半はより速いが、後半はほぼ一致している。しかし、張力回復が極めて遅く、時に逆転することもある第3相を説明するためには、急激な張力低下の際には何らかの不活性化効果が生

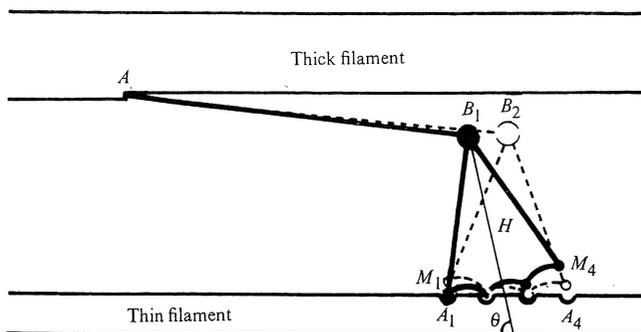


Fig. 13. Diagram showing assumed cross-bridge properties. For explanation, see text<sup>43)</sup>.

じることなどを想定する必要がある、それは1957年モデルでは考えられていなかった点である。

以上の等尺性収縮時の過渡現象の解析に加えて、Huxleyらはさらに、等張力性収縮に近い形での短縮中に急激な長さの減少を加え、同様な4相からなる過渡的張力変化を得て、それらを解析した<sup>45)</sup>。その第1相の解析から、クロスブリッジの結合量を示すstiffnessは、短縮中の張力が減少するにしたがって減少し、張力ゼロ ( $V_{max}$ での短縮時)では等尺性収縮時の35%になることを示した。このことは、張力ゼロでの短縮時にもかなりのクロスブリッジ結合が正負の領域に広く存在しているという1957年モデルに一致する結果である。また、第2相では、短縮中の張力が減少するほど速やかな張力回復は小さくなり、前ページに述べたHuxley-Simmonsモデルの議論と一致して、速くなる。

もう一つ、Huxleyらは、テタヌス刺激によって張力が立上る時期の過渡現象を調べ、stiffnessが張力に11-16ミリ秒先行することを見出した<sup>46)</sup>。stiffnessが張力に先行することは、A. V. Hill<sup>2)</sup>以来、すでに多くの報告があるが、以前の筋全体を使った実験では、収縮装置と直列に繋がる腱のような弾性体を引き伸ばすのに時間がかかるので、張力が測定されるまでに時間がかかるのだ、という議論があった。しかしHuxleyらの実験では、筋線維の一部のマーカ-間だけを用いているので、収縮装置自体の性質であることが結論できる。Huxleyらは、この事実、クロスブリッジの結合反応は2段階で起きていて、中間の第一段階では、結合はしてもほとんど張力は発生しないと考えて説明している。先に述べた過渡現象の第4相よりも張力の立ち上がりは遅いという事実と関連しているものと思われる。

## X. 晩年

1974年ナイト爵に叙せられSir Andrewと呼ばれるようになっていたHuxleyは1980年にRoyal SocietyのPresidentに就任し、5年間の任期を務めた。また、母校Cambridge大学Trinity CollegeのMasterを1984年から1990年まで務めた。彼はそれらをととても名誉なことと思ひ、その職に全力を

尽くしたので、研究には十分な力を注げなかった。また、1983年にはOrder of Merit勲章を受けている。1990年にTrinityを退職した後は新しい文献を追いながら、収縮の分子機構に関して種々考察を重ねていたようである。Huxley自身は、1952年にHodgkinと共に発表した神経興奮のメカニズム解明のような包括的な理論を筋収縮についても構築したいと思っていたが、そのレベルには至らなかった、と心残りの気分を述懐している。

しかし我々から見れば、独創的な機器、装置を開発し、それらを駆使して収縮の滑り説の提唱とその徹底的検証を行い、さらに滑りの機構として1957年モデルとHuxley-Simmonsモデルを創造し、筋収縮機構の理解を深めたHuxleyは、仰ぎ見るような高みのレベルにある。

### 著者の利益相反 (conflict of interest:COI) 開示:

本論文の研究内容に関連して特に申告なし

## 文 献

- 1) Hodgkin AL, Huxley AF. Action potentials recorded from inside a nerve fibre. *Nature*. 1939; 144:710.
- 2) Hodgkin AL, Huxley AF. Resting and action potentials in single nerve fibres. *J Physiol*. 1945; 104: 176-95.
- 3) Hodgkin AL, Katz B. The effect of sodium ions on the electrical activity of giant axon of the squid. *J Physiol*. 1949; 108: 37-77.
- 4) Hodgkin AL, Huxley AF, Katz B. Measurement of current-voltage relations in the membrane of the giant axon of *Loligo*. *J Physiol*. 1952; 116: 424-48.
- 5) Hodgkin AL, Huxley AF. Currents carried by sodium and potassium ions through the membrane of the giant axon of *Loligo*. *J Physiol*. 1952; 116: 449-72.
- 6) Hodgkin AL, Huxley AF. The components of membrane conductance in the giant axon of *Loligo*. *J Physiol*. 1952; 116: 473-96.
- 7) Hodgkin AL, Huxley AF. The dual effect of membrane potential on sodium conductance in the giant axon of *Loligo*. *J Physiol*. 1952; 116: 497-506.
- 8) Hodgkin AL, Huxley AF. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J Physiol*. 1952; 117: 500-44.
- 9) Ramsey RW, Street SF. The isometric length-tension

- diagram of isolated skeletal muscle fibers of the frog. *J Cell Comp Physiol.* 1940; 15: 11-34.
- 10) Huxley AF. Applications of an interference microscope. *J Physiol.* 1952; 117: 52-3P.
  - 11) Huxley AF. A high-power interference microscope. *J Physiol.* 1954; 125: 11-3P.
  - 12) Hill AV. The abrupt transition from rest to activity in muscle. *Proc R Soc Lond B.* 1949; 136: 399-420.
  - 13) Huxley AF, Taylor RE. Function of Krause's membrane. *Nature.* 1955; 176: 1068.
  - 14) Porter KR, Palade GE. Studies on the endoplasmic reticulum. III. Its form and distribution in striated muscle cells. *J Biophys Biochem Cytol.* 1957; 3: 269-300.
  - 15) Robertson JD. Some features of the ultrastructure of reptilian skeletal muscle. *J Biophys Biochem Cytol.* 1956; 2: 369-80.
  - 16) Huxley AF, Taylor RE. Local activation of striated muscle. *J Physiol.* 1958; 144: 426-41.
  - 17) Endo M. Entry of a dye into the sarcotubular system of muscle. *Nature.* 1964; 202: 1115-6.
  - 18) Endo M. Entry of fluorescent dyes into the sarcotubular system of the frog muscle. *J Physiol.* 1966; 185: 224-38.
  - 19) Huxley HE. Evidence for continuity between the central elements of the triads and extracellular space in frog sartorius muscle. *Nature.* 1964; 202: 1067-71.
  - 20) Costantin LL. The role of sodium current in the radial spread of contraction in frog muscle fibers. *J Gen Physiol.* 1970; 55: 703-15.
  - 21) Bastian J, Nakajima S. Action potential in the transverse tubules and its role in the activation of skeletal muscle. *J Gen Physiol.* 1974; 63: 257-78.
  - 22) Huxley AF, Niedergerke R. Interference microscopy of living muscle fibres. *Nature.* 1954; 173: 971-3.
  - 23) Huxley AF, Niedergerke R. Measurement of the striations of isolated muscle fibres with the interference microscope. *J Physiol.* 1958; 144: 403-25.
  - 24) Huxley AF, Gordon AM. Striation patterns in active and passive shortening of muscle. *Nature.* 1962; 193: 280-1.
  - 25) Hasselbach W. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Muskelfibrillen bei totaler und partieller Extraktion des L-Myosins. *Zeitschrift für Naturforschung.* 1953; 8b: 449-54.
  - 26) Huxley HE, Hanson J. Changes in the cross-striations of muscle during contraction and stretch and their structural interpretation. *Nature.* 1954; 173: 973-6.
  - 27) Huxley HE. Electron microscope studies of the organization of the filaments in striated muscle. *Biochim Biophys Acta.* 1953; 12: 387-94.
  - 28) Jasper, HH, Pezard, A. Relation entre la rapidité d'un muscle strié et sa structure histologique. *C R Hebd Séanc Acad Sci Paris.* 1934; 198: 499-501.
  - 29) Huxley AF. Muscle structure and theories of contraction. *Prog Biophys Biophys Chem.* 1957; 7: 255-318.
  - 30) Hill AV. The heat of shortening and the dynamic constants of muscle. *Proc Roy Soc Lond B.* 1938; 126: 136-95.
  - 31) Needham DM. Myosin and adenosinetriphosphate in relation to muscle contraction. *Biochim Biophys Acta.* 1950; 4: 42-9.
  - 32) Huxley AF, Peachey LD. The maximum length for contraction in vertebrate striated muscle. *J Physiol.* 1956; 156: 150-65.
  - 33) Gordon AM, Huxley AF, Julian FJ. Tension development in highly stretched vertebrate muscle fibres. *J Physiol.* 1966; 184: 143-69.
  - 34) Gordon AM, Huxley AF, Julian FJ. The variation of tension with sarcomere length in vertebrate muscle fibres. *J Physiol.* 1966; 184: 170-92.
  - 35) Taylor S, Rudel R. Striated muscle fibers: inactivation of contraction induced by shortening. *Science.* 1970; 167: 882-4.
  - 36) Podolsky RJ. Kinetics of muscular contraction: the approach to the steady state. *Nature.* 1960; 188: 666-8.
  - 37) Civan MM, Podolsky RJ. Contraction kinetics of striated muscle fibres following quick changes in load. *J Physiol.* 1966; 184: 511-34.
  - 38) Podolsky RJ, Nolan AC, Zaveler SA. Cross-bridge properties derived from muscle isotonic velocity transients. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1969; 64: 504-11.
  - 39) Ford LE, Huxley AF, Simmons RM. Tension responses to sudden length change in stimulated frog muscle fibres near slack length. *J Physiol.* 1977; 269: 441-515.
  - 40) Ford LE, Huxley AF, Simmons RM. The relation between stiffness and filament overlap in stimulated frog muscle fibres. *J Physiol.* 1981; 311: 219-49.
  - 41) Huxley AF, Tideswell S. Filament compliance and tension transients in muscle. *J Muscle Res Cell Motil* 1996; 17: 507-11.
  - 42) Huxley HE. The mechanism of muscular contraction. *Science.* 1969; 164: 1356-66.
  - 43) Huxley AF, Simmons RM. Proposed mechanism of force generation in striated muscle. *Nature.* 1971; 233: 533-8.
  - 44) Huxley AF. Muscular contraction. *J Physiol.* 1974; 243: 1-43.
  - 45) Ford LE, Huxley AF, Simmons RM. Tension transients during steady shortening of frog muscle fibres. *J Physiol.* 1985; 361: 131-50.
  - 46) Ford LE, Huxley AF, Simmons RM. Tension transients during the rise of tetanic tension in frog muscle fibres. *J Physiol.* 1986; 372: 595-609.