

Ouabain이 Ca^{++} -Troponin 상호작용에 미치는 영향

The Effect of Ouabain on Ca^{++} -Troponin Interaction

서울대학교 의과대학 약리학교실

정명희·박찬응·홍사악

서론

강심배당체의 강심작용기전규명을 위한 연구는 excitation-contraction coupling의 여러단계에 걸쳐 다양한 보고들을 볼수 있으나 아직까지 그 의견의 일치를 보지 못하고 있으며 또한 이들 대부분의 보고들은 주로 근수축과정에 미치는 효과에 관한 보고들로서, 현금까지의 대부분의 보고들이 강심배당체가 근수축 그 자체에 영향을 미칠 것인지 아닌지에 대하여도 일치된 결론에 이르지 못하고 있다.

Teiger와 Farah²⁾의 심근내 Ca^{++} 분획중 rapidly exchangeable Ca^{++} 이 심근수축력에 결정적인 역할을 할 것이라고 보고한 이래 sarcoplasmic reticulum,⁵⁾ mitochondria⁶⁾ 그리고 cell membrane⁹⁾ 등 세포내 Ca^{++} 의 이동에 대한 ouabain의 작용에 관한 연구가 활발히 진행되었고 또한 수축단백질(contractile protein)에 대한 강심배당체의 영향이 검토되었으나 아직까지 actomyosin 자체의 물리화학적 변화에나 효소의 성질에 직접적 영향을 미치리라는 일관된 결론에 이르지 못한 것 같다¹⁾.

Stowring과 Bowen¹²⁾ 등은 골격근 myosin B의 ATPase 활성 및 superprecipitation이 ouabain에 의하여 촉진됨을 보고하였고 Jacobson²⁴⁾도 EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid)로 처리한 myosin B의 ATPase 활성이 Mg^{++} 존재하에서 ouabain으로 촉진됨을 보고하였다. 그러나 홍²⁾ 등은 심근 natural actomyosin의 superprecipitation은 ouabain에 의하여 영향을 받지 않았다고 하였으며, Katz¹³⁾도 reconstituted actomyosin의 ATPase 활성과 superprecipitation은 ouabain에 의하여 전혀 영향을 받지 아니하였음을 보고 하였다.

한편 근육의 excitation-contraction coupling에 있어 세포내 Ca^{++} 의 역할은¹⁰⁾ Ca^{++} 이 수축성 단백질인 actomyosin의 ATPase 활성을 촉진시키므로써 근수축을 일으키는 것으로²⁵⁾ 이는 actomyosin의 superprecipita-

tion과 ATPase활성은 Ca^{++} -binding protein이 존재할 때 Ca^{++} 에 의하여 예민하게 영향을 받는다는 여러 보고들^{14) 15) 18)}이 뒷받침 해 준다. 더욱이 Ebashi¹⁷⁾, Fuch 및 Briggs¹⁶⁾ 등은 근수축 단백질로 부터 troponin을 분리하고 Ca^{++} -binding protein이 troponin임을 증명하였으며 근수축은 troponin에 Ca^{++} 이 binding되므로써 actomyosin 또는 myofibril의 ATPase활성이 촉진되고 이로 하여금 superprecipitation 내지 근수축이 일어날 것이라고 주장하였다.

이와같이 근수축 단백질의 효소 및 물리 화학적 변화가 Ca^{++} 에 의하여 예민한 영향을 받고 있음은 강심배당체가 세포내 Ca^{++} 의 이동과정 또는 수축단백질에의 직접적인 작용 이외에 Ca^{++} 과 수축단백질 상호작용에 영향을 미치므로써 그 강심작용을 나타낼것으로 생각할 수 있겠다. 이에 저자들은 이미 저자들에 의하여 설정된 바 있는 시험관내 근수축 이완 model¹⁹⁾을 이용하여 근수축단백질과 Ca^{++} 상호작용에 대한 ouabain의 영향을 관찰하여 ouabain이 Ca^{++} -troponin 상호작용에 미치는 영향을 검토한 바 있어 이에 보고하는 바이다.

실험방법 및 재료

1) Natural actomyosin

수정된 Ebashi²⁰⁾ 방법으로 토끼 등 근육에서 추출한 actomyosin을 사용하였다. 최종 KCl농도는 0.6M로 하고 동량의 glycerol과 혼합하여 $-20^{\circ}C$ 에서 보관한 후 매 실험 때 마다 50mM KCl, 5mM Na_2EDTA , Tris buffer pH 6.8로 한 용액 9 volume에 저장 actomyosin 1 volume의 비율로 넣고 14,000×g로 20분 동안 원심분리하여 세척한 후 실험에 사용하였다.

2) Perry myosin B

상기 과정으로 얻어진 natural actomyosin을 Perry의 방법²¹⁾을 이용하여 물로 1,200×g에서 30분 간 원심분리하여 3번 세척하고 5mM Tris-HCl buffer pH 8.6 용액

3배 volume에 섞어 0°C에서 48시간 방치하였다. 이후 33,000×g에서 15분간 원심분리하여 얻은 precipitate를 3배 volume의 물로 역시 33,000×g에서 15분간 원심분리하여 2번 세척하고 pH 7.0으로 하여 최종 KCl농도를 0.6M로 고정하고 동량의 glycerol과 혼합하여 -20°C에서 보관하였다. 사용 시 세척방법은 natural actomyosin의 경우와 같았다.

3) Troponin 및 Tropomyosin

토끼 등 근육을 사용하여 모두 Ebashi¹⁷⁾방법에 의하여 추출하여 사용하였다.

4) Superprecipitation의 측정

반응조건은 100mM KCl, 5mM MgCl₂, 20mM Tris-maleate buffer pH6.8로 했으며 Ca⁺⁺은 따로 첨가하지 아니하였으며 반응액 중에 contamination되어 있는 것으로 대신 하였다.

actomyosin은 natural과 Perry 모두 반응액 매 ml당 0.5mg protein이 되도록 하였고 tropomyosin과 troponin은 반응액 매 ml당 25μg이 되도록 하였으며 0.5mM ATP를 첨가하여 반응을 시작하였고 ouabain, digitonin은 실험에서 지시하는 농도로 고정하여 반응액의 총량은 3ml로 하였다. superprecipitation 정도는 Hitachi Perkin-Elmer spectrophotometer를 사용하여 545mμ 에서 optical density의 변화를 측정하므로써 정하였으며 spectrophotometer에 Sargent linear log gear recorder를 연결하여 계속적으로 optical density의 변화를 기록하였다. 상기 모든 조작은 실온에서 행하였고 protein농도 측정은 Biuret method를 사용하였다.

5) Ca⁺⁺ 농도 조절

전 실험 과정을 통하여 Ca⁺⁺은 따로 첨가하지 아니하였으며 반응액 중의 Ca⁺⁺ 농도는 시약, 단백질 및 물 속에 포함된 Ca⁺⁺에 의하여 약 10μM 정도라고 주장한 Katz²²⁾의 보고에 준 하였다.

최종 기대하는 유리 Ca⁺⁺ 농도(0.1μM~1.0μM)를 얻기 위하여, 용액 중의 ATP⁻⁴와 Ca⁺⁺과 salt를 형성하고 남은 유리 Ca⁺⁺에 EGTA(glycoetherdiaminetetraacetic acid)를 추가로 첨가하여 조절하였다.

첨가되는 EGTA 농도는 Katz²³⁾의 방법에 의하여 유도한 다음 공식을 이용하였다.

$$z = \frac{10^{-5} + 9.96 \times [Ca^{++}] - 45.7 \times 10^4 \times [Ca^{++}]^{*23}}{4.4 \times 10^6 \times [Ca^{++}]}$$

z : the amount of EGTA to be added to achieve the desired free Ca⁺⁺ concentration.

[Ca⁺⁺]: the desired free Ca⁺⁺ concentration.

본 실험에서 25μM의 EGTA를 첨가하였을 경우 위

공식에 의하면 free Ca⁺⁺농도가 약 2×10⁻⁶M이 될 것으로 추정하였다.

*²³⁾ 위 공식을 유도하는데 다음과 같은 상수를 이용하였다.

pH 6.8에서

a) dissociation constant of 4th H⁺ of ATP = 10^{-6.97}

b) [ATP⁻⁴]/[ATP⁻³] = 0.63

c) binding constant for Mg⁺⁺ and ATP⁻⁴ = 8.8×10⁴

d) binding constant for Ca⁺⁺ and ATP⁻⁴

= 3.15×10⁴

e) binding constant for Ca⁺⁺ and EGTA = 4.4×10⁶

6) 본 실험에 사용된 단백질은 3 마리의 토끼에서 얻어진 것이고 매 단백질 preparation에서 8회 이상 실험하여 그 평균치를 표시한 것이다.

실험에 사용된 시약은 EGTA만 Eastman 제품이고 나머지는 모두 Merck 제품을 사용하였다.

실험 성적

1. Ouabain이 actomyosin superprecipitation에 미치는 영향

1) Ouabain이 superprecipitation에 대한 EGTA의 작용에 미치는 영향.

natural actomyosin의 superprecipitation에 처음부터 EGTA를 첨가하였을 때 superprecipitation은 대조 superprecipitation보다 1시간 정도 늦게 반응이 일어났다. 이 같이 EGTA 첨가로 지연된 superprecipitation에 ouabain은 별 영향을 미치지 아니하였다. (Fig 1)

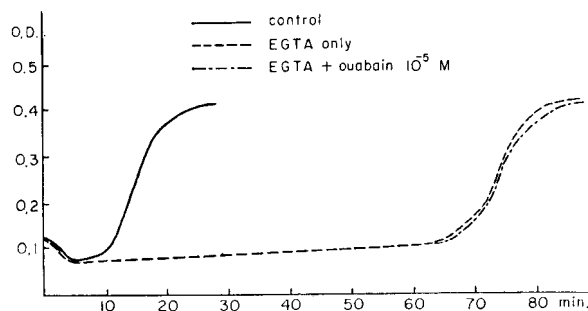


Fig. 1. Effect of ouabain on the superprecipitation of natural actomyosin in the presence of 25μM EGTA(glycoetherdiaminetetraacetic acid) from the beginning. Medium conditions: 100mM KCl, MgCl₂ 5mM, 0.5mg protein/ml of reaction mixture and 0.5mM ATP.

ii) Ouabain이 반응 도중 EGTA를 첨가한 효과에 미치는 영향

superprecipitation이 maximum의 1/3쯤 도달하였을 때 EGTA를 첨가하면 superprecipitation의 진행은 정지되었고 또한 다시 하강하여 거의 superprecipitation이 일어나기전 level까지 내려간 후 약 20분 경과 후 반응이 다시 시작되어 maximum에 도달하였다. 그러나 ouabain $10^{-5}M$ 으로 처리된 actomyosin의 superprecipitation은 EGTA의 첨가로 야기되는 curve의 하강이 ouabain이 존재하지 않을 때의 하강보다 1/2 정도 이었고 또한 하강 후 곧 다시 반응이 시작되어 maximum에 도달하였다. 또한 EGTA를 첨가하기 전까지는 ouabain이 존재한 경우와 존재하지 않은 경우의 superprecipitation 정도에 있어서 별 차이를 발견할 수 없었다. (Fig. 2)

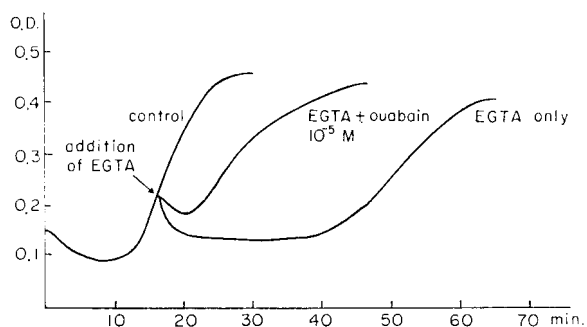


Fig. 2. Effect of ouabain on the clearing of natural actomyosin induced by EGTA ($25 \mu M$) added during the superprecipitation. Medium conditions: same as in the Fig. 1.

iii) Ouabain의 dose가 반응 도중 첨가된 EGTA 효과에 미치는 영향.

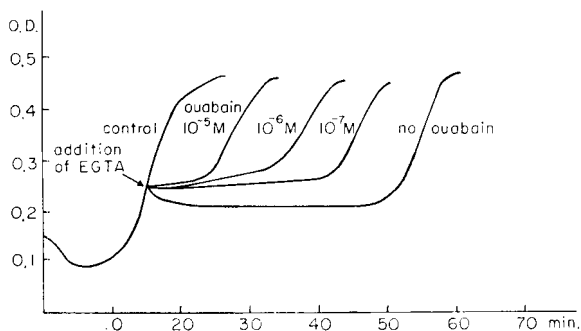


Fig. 3. Effect of various concentration of ouabain on the superprecipitation of natural actomyosin affected by EGTA added during the reaction. Medium conditions: same as in the Fig. 1.

반응 도중 EGTA를 첨가하여 superprecipitation curve는 하강하였으며 이 하강 정도는 ouabain에 의해 억제되었다. 그리고 ouabain은 EGTA첨가 후 지연된 superprecipitation의 시작을 촉진 하였다. 또한 이같은 ouabain의 작용에 있어서 dose에 따라 그 작용이 증가함을 볼 수 있었다. 즉 $10^{-6}M$ 에서 EGTA 첨가 후 10분 후에 다시 반응이 시작하였고 $10^{-6}M$, $10^{-7}M$ 에서는 각각 20분, 30분 후에 다시 반응이 시작하였으며, ouabain이 첨가되지 아니 하였을 때는 40분 후에 반응이 시작되었다. (Fig. 3)

2. Digitonin이 natural actomyosin superprecipitation에 미치는 영향

반응도중 첨가된 EGTA의 superprecipitation에 미치는 영향에 digitonin은 별 작용을 나타내지 못하였다. digitonin이 존재한 경우와 존재하지 않은 경우에 있어서 EGTA 첨가 후 약 25분후에 반응이 시작되었고 EGTA 첨가 전 superprecipitation에 있어서도 양자 사이에는 차이를 볼 수 없었다. (Fig. 4)

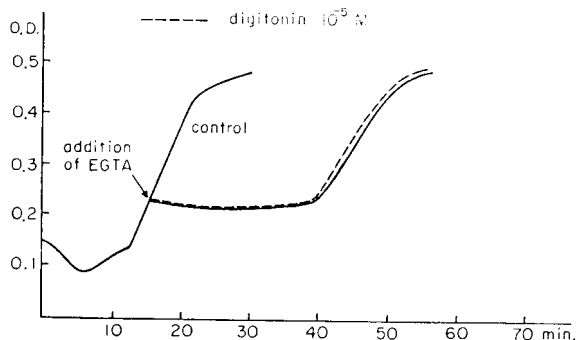


Fig. 4. Effect of digitonin on the superprecipitation of natural actomyosin affected by EGTA added during the reaction. Medium conditions: same as in the Fig. 1.

3. Ouabain이 troponin, tropomyosin 존재 하에서 Perry myosin B의 superprecipitation에 미치는 영향

Perry myosin B에 troponin과 tropomyosin을 첨가하였을 때 Perry myosin B는 Ca^{++} -sensitivity에 있어서 natural actomyosin과 같은 양상을 보여 주었다.

즉 superprecipitation 전에 EGTA를 첨가하였을 경우 superprecipitation은 1시간 후에 일어나기 시작하였다.

또한 반응도중 EGTA를 첨가 하였을 때 역시

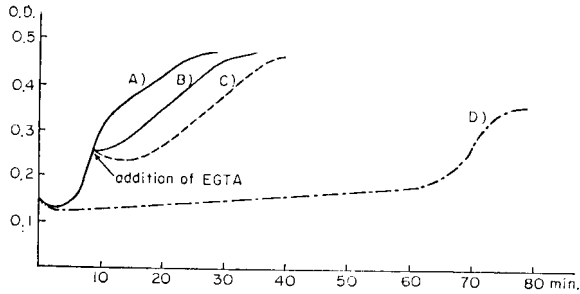


Fig. 5. Effect of ouabain on the action of EGTA added during the superprecipitation of Perry myosin B in the presence of troponin and tropomyosin. Medium conditions: same as in the Fig. 1. except for 25 μ g troponin and tropomyosin. Added EGTA was 25 μ M. A) control, B) ouabain (10^{-6} M), C) no ouabain and D) addition of EGTA before the reaction without ouabain.

superprecipitation curve는 하강하였으며 이같은 curve의 하강은 ouabain에 의하여 억제 되었다. (Fig 5)

고 찰

Katz¹³⁾는 reconstituted actomyosin의 Mg^{++} -activated ATPase와 Ca^{++} -sensitivity를 가진 reconstituted actomyosin의 ATPase activity 및 superprecipitation에 대하여 ouabain은 전혀 영향을 미치지 아니 함을 보고 하면서 ouabain은 Ca^{++} 의 ATPase activity에 대한 stimulatory action을 증가시키지도 못할 뿐만 아니라 또한 Ca^{++} 이 가지는 작용을 대신 하지도 못 한다고 주장 하였다.

본 실험에서도 natural actomyosin의 superprecipitation은 EGTA 첨가로 상당한 반응의 지연을 보였으며 이 같은 superprecipitation의 지연은 ouabain에 의하여 영향을 받지 아니 하였다. (Fig 1) 또한 Fig. 2에서 보여주는 바와같이 EGTA를 첨가하기 전까지의 superprecipitation에 있어서도 ouabain은 영향을 미치지 아니 하였다. 이 와 같은 결과는 심근의 natural actomyosin의 superprecipitation에 ouabain은 영향을 미치지 아니한다는 흥등⁷⁾의 보고와도 일치하였다.

그러나 Stowring과 Bowen¹²⁾ 등은 골격근 myosin B의 ATPase activity 및 superprecipitation은 ouabain에 의하여 촉진되나 myosin A의 ATPase activity에는 영향을 미치지 아니함을 보고 하였고, Robb와 Mallov¹¹⁾

등도 심근 및 골격근 actomyosin thread의 수축이 digitoxin에 의하여 촉진됨을 보고 하였다.

또한 Jacobson²⁴⁾도 EDTA-treated myosin B의 ATPase activity는 ouabain에 의하여 영향을 받지 않으나 Mg^{++} 첨가로 ouabain의 촉진작용이 나타남을 보고 하면서 Mg^{++} 이 ouabain작용에 중요한 역할을 한다고 주장하였다.

이와 같이 contractile protein에 cardiac glycosides (CG)가 영향을 미친다는 보고도 있지만 Katz¹³⁾ 및 흥⁷⁾ 등의 보고와 본 실험결과에 비추어 볼 때 CG는 contractile protein에 직접적인 영향은 미치지 아니 할 것으로 사료되었으며 대부분의 학자들도 이에 의견을 같이 하고 있다. 설사 또한 영향을 미친다 하더라도 이 단백질이 가지는 enzymatic(ATPase) 및 physicochemical(superprecipitation) process의 여러과정에 있어서 enzyme 자체에 미치는 것인지 혹은 enzyme과 cation (Ca^{++} 혹은 Mg^{++})의 상호작용에 영향을 주는 것인지 그 구체적인 작용 부위를 밝히지 못하고 있다.

본 실험 Fig. 2에서는 superprecipitation 도중 첨가된 EGTA에 의하여 superprecipitation curve는 하강하였으며 이 같은 curve의 하강현상은 ouabain에 의하여 억제 됨을 보여 주었으며 대조 superprecipitation curve에 비하여 더 빨리 상승하여 maximum에 도달 하였다. 또한 이와 같은 ouabain의 작용은 dose에 비례하여 증가함을 보여 주었다.

actin과 myosin의 interaction 및 이 복합단백질이 가지는 ATPase activity는 troponin 및 tropomyosin 존재 하에서 미량 Ca^{++} 의 농도 변화에 예민한 영향을 받고 있음은 잘 알려진 사실이며^{14, 15, 16, 17, 18)} Fig 1에서도 이와같은 사실을 재현할 수 있었다. 특히 박¹⁹⁾ 등은 troponin과 tropomyosin의 존재하에서 actin과 myosin의 association과 dissociation을 Ca^{++} 농도 변화에 의하여 조절할 수 있으며 특히 "associated actin-myosin complex"의 dissociation은 ATPase activity와 ATP사이의 unbalance로 인한 과잉의 ATP 때문일 것으로 추측하였다.

따라서 Fig. 2에서와 같은 ouabain의 작용은 본 실험의 natural actomyosin의 superprecipitation에 ouabain이 영향을 미치지 아니 하였다는 점과(Fig. 1), ouabain은 Ca^{++} 의 ATPase activity에 대한 stimulatory action을 강화 하지도 못 할 뿐만 아니라 Ca^{++} 의 작용을 대신 하지도 못 한다는 Katz¹³⁾ 및 흥⁷⁾ 등의 보고에 비추어 association 과정에서 Ca^{++} 과 troponin의 상호작용에는 영향을 미치지 아니하고 dissociation 과정에 있어서

ouabain은 확실히 troponin과 Ca^{++} 과의 상호작용에 영향을 미쳐 그 binding property에 변화를 주어 Ca^{++} 이 troponin으로부터 분리되기 힘든 상태를 만든 때문이라고 사료되었다.

특히 EGTA 첨가에 의한 superprecipitation curve의 하강은 반드시 troponin이 존재할 때 일어나고 이 같은 EGTA의 작용에만 ouabain이 영향을 미친다는 점은 더욱 Ca^{++} 과 troponin의 상호작용에 ouabain이 작용할 가능성을 시사하고 있는 것이다. 더욱이 Fig. 5 에서와 같이 Perry myosin B에 troponin과 tropomyosin을 첨가하였을 때 natural actomyosin 때와 같이 ouabain의 작용이 재현될 수 있었음은 이 같은 사실을 더욱 뒷받침 하는 실험적 근거라고 사료 되었다.

한편 박¹⁹⁾ 등은 EGTA 첨가에 의한 superprecipitation curve의 하강은 억제된 ATPase activity에 비하여 과량의 ATP에 의한 것으로 보고한 점으로 미루어 ouabain의 superprecipitation curve의 하강억제 작용은 ATP의 actomyosin dissociation에 미치는, 소위 "clearing action"에 ouabain이 작용할 가능성을 생각할 수 있지만, ATP의 actomyosin의 viscosity 하강에 ouabain이 영향을 미치지 않는다는 보고²⁰⁾로 미루어 상기 가능성을 배제할 수 있었다.

또한 ouabain의 troponin과 Ca^{++} 과의 상호작용에 미친 작용이 digitonin에서는 볼 수 없었음은(Fig. 4) 주목할 만한 사실이다.

Klaus, Lee,²⁶⁾ 및 Lee, Hong²⁷⁾ 등은 각각 sarcoplasmic reticulum과 mitochondria에서 ouabain은 이들의 Ca^{++} -transport에는 영향을 미치지 아니 하고 Ca^{++} -releasing effect를 나타냄을 보고 하면서 ouabain은 Ca^{++} -binding property에 영향을 준다고 보고 하였다.

물론 membrane과 Ca^{++} 과의 관계와 troponin과 Ca^{++} 과의 관계는 같다고 볼 수는 없지만 상기 고찰과 실험적 사실로 미루어 ouabain은 troponin과 Ca^{++} 과의 상호작용에 있어서 association 과정보다 dissociation과정에 있어서 일층 영향을 미침을 알 수 있으며 이는 ouabain이 troponin에 대한 Ca^{++} 의 binding property에 영향을 미치는 때문이라고 사료되었다.

결 론

1) actomyosin superprecipitation에 있어서 ouabain이 Ca^{++} 과 troponin의 상호 작용에 미치는 영향을 관찰하였다.

2) 처음 부터 EGTA 첨가에 의하여 지연된 superprecipitation에 ouabain은 아무런 영향을 미치지 못 하

였다.

3) superprecipitation 도중 EGTA 첨가로 인한 superprecipitation curve의 하강은 ouabain에 의하여 반복되었으며, 하강 후 다시 maximum에 도달되는 시간이 ouabain에 의하여 단축 되었다. 그러나 EGTA를 첨가하기 전까지의 superprecipitation은 ouabain에 의하여 영향을 받지 아니하였다.

4) 이와 같은 ouabain의 작용은 dose-response를 보여 주었다.

5) ouabain의 이 같은 작용이 digitonin으로 처리 하였을 때는 나타나지 아니하였다.

6) Perry myosin B에 troponin과 tropomyosin을 첨가한 superprecipitation에 있어서도 ouabain은 반응도중 첨가된 EGTA의 작용을 억제하였다.

7) 이상과 같은 사실로 미루어 ouabain은 Ca^{++} 과 troponin의 상호작용에 있어서 association보다 dissociation과정에 영향을 미침을 알 수 있으며 이는 ouabain이 troponin에 대한 Ca^{++} 의 binding property에 영향을 미치는 때문이라고 사료되었다.

ABSTRACT

The effect of ouabain on Ca^{++} -troponin interaction

M. H. Chung, C. W. Park, S. A. Hong

Dept. of Pharmacology, College of Medicine, S. N. U.

The possible mechanism of inotropic action of cardiac glycosides(CG) have been sought with respects to the cellular and intracellular mobilization of calcium.

But calcium, which plays a triggering role in excitation-contraction coupling, acts upon the contractile protein, esp. troponin, eventually stimulates ATPase activity of actomyosin and induces the muscular contraction.

Although many investigations were devoted to search for the possible effects of CG on the contractile protein, no conclusive evidence for a direct interference of CG with the physicochemical or enzymatic properties of the actomyosin is available.

Present study was made to observe the effect of ouabain on the Ca^{++} -troponin interaction in the superprecipitation of actomyosin.

The results are summarized as follows.

1. The initiation of the superprecipitation of natural actomyosin was delayed by adding EGTA before the superprecipitation reaction.

This delayed initiation by EGTA was not affected by ouabain.

2. The addition of EGTA during the superprecipitation caused the superprecipitation curve to be declined nearly to the level before the reaction.

This clearing effect of EGTA on superprecipitation was reversed by ouabain, which also accelerated curve to reach the maximum more rapidly.

3. Above effect of ouabain showed the dose-response manner.

4. Digitonin did not show such effect as ouabain did.

5. Above effect of ouabain on the action of EGTA during the reaction also obtained from the Perry myosin B superprecipitation in the presence of troponin and tropomyosin.

6. It is suggested that ouabain affects the troponin-calcium interaction and alters the binding property of calcium to the troponin.

REFERENCES

1. Lee, K. S. and Klaus, W. : *The subcellular basis for the mechanism of inotropic action of cardiac glycosides*. *Pharmacol. Rev.*, 23: 193-261, 1971.
2. Teiger, D. G. and Farah, A. : *Calcium movements in resting and stimulated isolated rabbit atria*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 157: 8-18, 1967.
3. Lüllman, H. and Holland, W. : *Influence of ouabain on an exchangeable calcium fraction, contractile force and resting tension of guinea pig atria*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 137: 186-192, 1962.
4. Grossman, A. and Furchgott, R. F. : *The effects of various drugs on calcium exchange in the isolated guinea-pig left auricle*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 145: 162-172, 1964.
5. Lee, K. S., Yu, D. H. and Struthers, J. J. : *A study on the effect of cardiac glycosides on the syneresis of myofibrils in the presence of relaxing factor*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 148: 277-283, 1965.
6. Lee, K. S. and Choi, S. C. : *Effect of cardiac glycosides on the Ca^{++} uptake of cardiac sarcoplasmic reticulum*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 153: 114-120, 1966.
7. 홍사악, 박찬웅, 김명석, 정명희 : *mitochondria의 calcium uptake에 미치는 ouabain의 영향*. 대한약리학 잡지, 8: 67-75, 1972.
8. Lee, K. S., Hong, S. A. and Kang, D. H. : *Effect of cardiac glycosides on the interaction of Ca^{++} with mitochondria*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 172: 180-186, 1969.
9. Lee, K. S. and Shin, B. C. : *Studies on the active transport of Ca^{++} in human red cells*. *J. Gen. Physiol.*, 54: 712-729, 1969.
10. Sandow, A. : *Excitation-contraction coupling in skeletal muscle*. *Pharmacol. Rev.*, 17: 265-320, 1965.
11. Robb, J. S. and Mallov, S. : *Effect of ouabain on actomyosin threads*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 108: 251-259, 1953.
12. Stowring, L., Bowen, W., Mattingly, P. and Morales, M. : *On the mechanism of cardiac glycosides action; stimulation of myosin B superprecipitation by ouabain and digoxin*. *Circulation Res.*, 19: 496-506, 1966.
13. Katz, A. M. : *Absence of effect of cardiac glycosides on cardiac myosin and Ca^{++} sensitive reconstituted cardiac actomyosin*. *J. Biol. Chem.*, 154: 558-565, 1966.
14. Katz, A. M. and Repke, D. I. : *Control of myocardial contraction; the sensitivity of cardiac actomyosin to Ca^{++}* . *Science*, 152: 1242-1243, 1966.
15. Ebashi, S. : *Third component participating in the superprecipitation of natural actomyosin*. *Nature*, 200: 1010, 1963.
16. Katz, A. M. : *Purification and properties of a tropomyosin containing protein fraction that sensitizes reconstituted actomyosin to calcium binding agent*. *J. Biol. Chem.*, 211: 1522-1529, 1966.
17. Ebashi, S., Kodama, A. and Ebashi, F. : *Tropomyosin*. *J. Biochem.*, 64: 465-477, 1968.
18. Briggs, N. and Fuch, F. : *The site of calcium binding in relation to the activation of myofibrillar contraction*. *J. Gen. Physiol.*, 51: 655-676, 1968.
19. Unpublished data.
20. Ebashi, S. : *Personal communication*.
21. Perry, S. V., Davies, V. and Hayter, D. : *Natural tropomyosin and the factor sensitizing actomyosin ATPase to EGTA*. *Biochem. J.*, 99: 1C-2C, 1966.
22. Katz, A. M. : *Influences of tropomyosin upon the*

- reaction of actomyosin at low ionic strength. J. Biol. Chem., 239: 3304-3311, 1964.*
23. Katz, A. M., Repke, D., Upshaw, J. E. and Polascik, M. A. : *Characterization of dog cardiac microsomes. Biochem. Biophys. Acta, 205: 473-490, 1970.*
24. Jacobson, A. L. : *Effect of ouabain on the ATPase of cardiac myosin B at high ionic strength. Circulation Res., 22: 625-632, 1968.*
25. Katz, A. M. : *Contractile proteins of heart. Physiol. Rev., 50: 63-158, 1970.*
26. Klaus, W. and Lee, K. S. : *Influence of cardiac glycosides on calcium binding in muscle subcellular components. J. Pharmacol. Exp. Ther., 166: 68-76, 1969.*
-