

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

57巻

4号

1995

第73回日本生理学会大会ご案内（第1報）

〔巻頭言〕 菅野義信：私の一番大切な日本生理学会 163

INFORMATION 164

CALENDAR 174

RECORDS 176

PROFILE 191

生理学実験技術法講座

シリーズ「パッチクランプ実験技術法講座」

老木成稔：イオンチャネル研究のための脂質平面膜法 193

原 著

竹倉宏明：発育に伴う筋細胞内膜系の分化と収縮特性の変化の特徴 225

シングルチャネル・データ
解析用ソフト MAC-TAC、
遂に登場!




ドイツ・ヘカ社 / パッチクランプ・システム EPC-9 Version Macintosh

あの新世代パッチクランプ・システムEPC-9が、
新しいパートナー、マックIIとめぐり逢いました…

- ◆ドイツが世界に誇る2大オーソリティ、ヘカ社の技術と、マックス=プランク研究所のオリジナリティ。これらを見事に融合させた数々のパッチクランプ専用デザインで武装しています。
- ◆アンプ、スティミュレータ、オシロスコープを統合し、マックス=プランクのノウハウに基づいたソフトウェアと、アップル社のマッキントッシュIIで駆動します。多彩なユーティリティと使いやすさを高次元で両立させて、すべてのパッチクランパーを強力にサポートします。

※EPC-7でも使えるソフトウェア(Pulse・PulseFit・MAC-TAC)のサンプルをご提供しています。
詳しくは下記へお問合せ下さい

ヘカ社日本総代理店
EPC-9 西日本総発売元

 ショーシンEM株式会社

〒444-02 愛知県岡崎市赤浜町蔵西1-14
ショーシンビル2F
TEL. 0564-54-1231
FAX. 0564-54-3207

EPC-9 東日本総発売元

(Physio-Tech)
株式会社 **フィジオテック**

〒101 東京都千代田区内神田3-10-3
コイダビル4F
TEL. 03-3258-1641
FAX. 03-3258-1657

第73回日本生理学会大会ご案内(第1報)

第73回日本生理学会大会を次のとおり開催いたしますので多数ご参加下さい。

1. 会 期 平成8年4月3日(水), 4日(木), 5日(金)
2. 会 場 福井大学 福井市文京3丁目9番1号
(JR福井駅より約2km, バス約10分, タクシー約8分, 京福
電鉄西福井駅より徒歩2分, 小松空港よりJR福井駅まで約1
時間)
3. 発表形式
ポスター展示および口演発表
4. 演題申込
 - 1) 従来通りとし, 演題申し込み(邦文予稿集抄録を含む)等の締切は平成7年11月2日(木)必着とします。
 - 2) 発表演題数は制限しません。ただし同一研究者の演者としての発表は1題に限らせて頂きます。
 - 3) 科学の進歩は新しい技術の開発と応用に負うところが大きいことを考慮し, 今回は「テクニカルワークショップ」を設けることにいたします。話題とする技術は, 生理学会領域に限らず, 他学会や企業の技術開発領域を含めて広く求めたいと思います。自薦他薦を問わず, 将来性のあると思われる新技术を平成7年5月31日(水)までに大会事務局にファックスでご連絡下さい。
5. 宿泊および交通
旅行業務の斡旋は, JTB福井支店(TEL:0776-21-4656 高倉, 中島)が行います。札幌, 仙台, 東京, 福岡からの航空便は団体が組めるようであれば, 割引運賃を設定する予定です。
6. 詳細は, 第2報として日本生理誌第57巻7号において連絡いたします。

第73回日本生理学会大会当番幹事
岡 宏, 根来英雄

連絡先 〒910-11
福井県吉田郡松岡町下合月23-3
福井医科大学生理学講座内
第73回日本生理学会大会事務局
TEL 0776-61-8101
FAX 0776-61-8101

目 次

第73回日本生理学会大会ご案内 (第1報)

〔巻頭言〕私の一番大切な日本生理学会 (菅野義信) 163

INFORMATION

1995年地球化学研究協会学術賞「三宅賞」の受賞候補者および研究助成候補者の 推薦依頼について.....	164
視覚と空間認知への総合的アプローチシンポジウム'95—動きを見る, 見せる—	164
第6回電顕サマースクール1995.....	165
日本膜学会第17年会のお知らせ.....	167
JAMP '95 日本医学物理学会第12回研究発表会のお知らせ	168
インターネット講習会のお知らせ.....	170
第7回臨床神経生理学東京談話会.....	170
第15回日本眼薬理学会.....	170
バイオメディカル・ファジィ・システム学会(I)第8回年次大会開催のご案内.....	171
第3回日米欧医薬品規制ハーモナイゼーション国際会議(ICH-3)開催のご案内.....	173

CALENDAR

主な学会開催日程..... 174

RECORDS

会員消息.....	176
第137回 J J P 編集委員会議事録	185
第138回 J J P 編集委員会議事録	185
Minutes of the 1st FAOPS General Assembly, November 8, 1994 Shanghai International Trade Center, Shanghai	186

PROFILE

「生理学者群像」(北村憲司)..... 191

生理学実験技術法講座

シリーズ「パッチクランプ実験技術法講座」 老木成稔：イオンチャネル研究のための脂質平面膜法.....	193
---	-----

原 著

竹倉宏明：発育に伴う筋細胞内膜系の分化と収縮特性の変化の特徴..... 225

〔巻頭言〕

私の一番大切な日本生理学会

上越教育大学 障害児教育研究系 菅野 義信

ノーベル賞の一分野に医学生理学賞がある。受賞した研究は広く臨床医学から基礎医学・生物学全般に及んでいる。生理学は広く医学全体を支える学問であるとの認識が強く、私は生理学のこの使い方と理解が大変好きで、大切なことと思っている。一方、医学教育では基礎講座名は解剖学、生理学、生化学、薬理学、病理学等文部省の制定名に統一され、歯学部に至っては口腔解剖、口腔生理、歯科薬理、歯科理工等すべて口腔か歯科を冠せられた。講座名で、法制上の学部所属等は判り易いが、講座内で遂行する学問研究内容は甚だ誤解を招き易く、混乱や人材の登用に悪用された場合すら見受けられる。又理学部内の動物学や植物学でも生理学は重要な柱を荷っているし、文学部や教育学部内の心理学科や、体育系でも重要な柱である。我が障害児教育の中でも、障害児生理学（病理学）は4本柱の中の一つである。農学関係での獣医生理学の重要性も言をまたない。

大きいことばかりが良いとは云えないが、日本生化学会が医学部、理学部、農学部他に属する研究者の発表の場に比して、生理学会ではどうも医学部生理学講座所属の研究発表に片寄ってきたきらいがあり、神経生理学は外国の影響もあり、別の形を整えている。確に学会は研究者の自由意志で入会し、生理学分野の研究発表であれば自由に発表できる。しかしノーベル賞の医学生理学として理解される生理学研究分野の価値ある研究が、文部省科学研究費の配分にも審査委員選出に関与があり、研究発表を呼び込む環境を十分に備えた日本生理学会の場で（口頭発表に加え、雑誌上での論文として）如何程公表されているであろうか。

日本生理学会の常任幹事は地方会別の選挙で選出される。これ自体は立派な民主的手続きである。それから先は選ばれた常任幹事の良識と見識に負うところがまことに大となる。日本生理学会の各種委員会の委員は常任幹事会で選出（投票）された各種委員会委員長1人の指名・任命である。現在、各種委員会委員の中に生理研を除いて医学部生理学教室の教授以外の方が何人おられるであろうか。多分今お1人もおられないのではなかろうか（若しおられても極く少数である）。

私自身広島大学の歯学部に移り、30年近くの間には、生理研の創立に力を尽し、8年間日本生理学会の欧文誌の編集に助力し、中国四国地方の会員から又その他からも、どういう訳か気軽に私の所には日本生理学会に関して沢山の要望があった。常任幹事に選出されたのは何と広島大学は停年の1年前で、唯一の歯学部籍の初の常任幹事も、上越教育大に移籍した今、歯学部籍は零となり、医学部生理学教授以外では、学会世話役の方を除いて、唯一の常任幹事である。日本生理学会の将来像は、実は、会員1人1人の展望そのものである。それには単なる名誉職でない常任幹事の選出に全てがかかっていると私は申しあげておきたい。

次は生理学教育である。前述の如く、生理学教育は医学教育の中にだけあるのではない。身近な例をあげれば養護学校で、肢体不自由児、てんかん発作を頻発するものを含めての知的障害児等の養護訓練と教育は医師でない教員が行っている。学校教育学部を含む教育学関係の医師の教員には教医研という教育学部関連医学研究会があるが、参会者は内科か精神科の出身者が多く、外科系や生理学者は皆無である。

MRSAは、過剰の抗生物質使用による常在菌の突然変異であるとか、AIDSはウイルスによる感染症であるとかも生理学が基礎になる。又、養護学校での嚥下、呼吸、大小の排泄の生理学はまことに重要である。これ等のことが生理学の教科書にはほとんど書いていない。むしろ歯学部で使用する口腔生理の教科書に記載がある。生理学の教育は医学教育の中ですが中心になるのはやむを得ないし、当然であるが、あらゆる分野での生理学教育をおろそかにすることは、自ら、生理学者と日本生理学会の首をしめることにならなければ幸である。

INFORMATION

1995年地球化学研究協会学術賞「三宅賞」の受賞候補者 および研究助成候補者の推薦依頼について

三宅泰雄教授退官記念事業として1972年に設立された地球化学研究協会は、その翌年から、地球化学に顕著な業績をおさめた科学者に、毎年、地球化学研究協会学術賞「三宅賞」を贈呈しています。

さらに1983年からは、海外シンポジウムに出席・論文を発表し、または海外の学術研究調査等に参加する地球化学の若手研究者に対し、助成を行なっています。

なお、賞金および助成金は本協会を母体とし、1983年に創設された公益信託「地球化学研究基金」(受託者 東洋信託銀行株式会社)から贈られます。

記

三宅賞

1. 本賞は地球化学に顕著な研究業績をおさめた科学者に贈呈します。
2. 本賞は賞状とし、副賞として賞牌および賞金(30万円)をそえます。
3. 本賞の贈呈は、1年1件(1名)とします。
4. 規定の用紙に受賞候補者の推薦対象となる研究題目、推薦理由(400字程度)主な論文10編程度に略歴をそえて、協会事務所までお送り下さい。

研究助成

1. 研究助成は地球化学の研究者で、海外のシンポジウム等に出席し論文を発表する者、ならびに海外における学術調査研究などに参加する者に対して行なわれます。
2. 助成金は1件10万円とし、年に3件とします。
3. 規定の用紙に推薦候補者(各締切日において満40歳迄とする)のシンポジウム出席については略歴、研究業績、国際会議名(主催団体、開催場所、開催年月日)論文題目、推薦理由等を、海外学術調査に関しては、略歴、研究業績、調査地(国名、地域名)、調査目的・計画、推薦理由、同行者などを記入して、協会事務所までお送りください。

三宅賞の贈呈および研究助成者の発表は、1995年12月2日(土)、東京で行ないます。

申込締切日は、三宅賞は、1995年8月31日

研究助成は、第1回締切 1995年8月31日

第2回締切 1996年1月15日

地球化学研究協会

〒166 東京都杉並区高円寺北4-29-2-217

電話 03-3330-2455(FAX 兼用)

視覚と空間認知への総合的アプローチシンポジウム '95

—動きを見る、見せる—

…開催要領案…

1. 開催趣旨

「視覚と空間認知への総合的アプローチ委員会(委員長:京都大学工学部 長尾 真教授)」では、人間の視覚情報処理の全体像の理解を通じ、次世代コンピュータ技術開発の道を探る一環として、平成3年12月から生理学、認知心理学、人工知能などバイオ・情報関連研究領域に関わる研究者が交流し、現在まで18回の委員会を開催し、多角的な検討を進めてきました。

こうした委員会活動を公表し、所属機関等の枠を超えた横断的な立場で議論を深め、視覚と空間認知に関わる基礎的研究の発展に寄与する一環として、「動き

を見る、見せる」をテーマとして、コンピュータグラフィック、認知心理学、神経科学、コンピュータビジョンの各分野からの話題提供、ディスカッションからなる第3回のシンポジウムを開催します。

1. 主催

株式会社けいはんな

視覚と空間認知への総合的アプローチ委員会

3. 後援(依頼中)

科学技術庁

4. 協賛(依頼中)

社団法人計測自動制御学会

システム制御情報学会

- 社団法人情報処理学会
 社団法人人工知能学会
 社団法人テレビジョン学会
 社団法人電気学会
 社団法人電子情報通信学会
 日本生理学会
 日本認知科学会
5. 期 日
 平成7年5月26日(金)午前10時～午後5時
6. 会 場
 関西文化学術研究都市・けいはんプラザ 会議室「ナイル」
 〒619-02 京都府相楽郡精華町光台1-7
 TEL 0774-95-5111
7. プログラム
 開会あいさつ 京都大学工学部教授 長尾 真
 「人間の動きを見せる」(仮題)
 株式会社日立製作所日立研究システム第2部
 主任研究員 安生健一
 「動きと知覚の心理学的側面」
 金沢工業大学人間情報システム研究所教授 近江政雄
 「動態視の神経科学的側面」(仮題)
 工業技術院電子技術総合研究所主任研究官
 岡崎国立共同研究機構生理学研究所教授 小松英彦
 「コンピュータによって動きを見る」(仮題)
 奈良先端科学技術大学院大学教授 横矢直和
 パネル形式の全体討論
 司会 京都大学文学部助教授 乾 敏郎
 株式会社日立製作所日立研究システム第2部
 主任研究員 安生健一

- 金沢工業大学人間情報システム研究所教授 近江政雄
 工業技術院電子技術総合研究所主任研究官
 岡崎国立共同研究機構生理学研究所教授 小松英彦
 奈良先端科学技術大学院大学教授 横矢直和
- 開会あいさつ
 株式会社けいはん常務取締役 鈴木孝雄

8. 参集範囲
 大学, 試験研究機関, 民間企業の研究者, 学生
 (定員120名)
9. 参加費
- | | |
|--------------|--------|
| 一 般 | 8,000円 |
| 大学・公的研究機関研究者 | 5,000円 |
| 学 生 | 2,000円 |
- ※資料代及び昼食の弁当代を含みます。
10. 参加方法及び申込み・問合せ先
 平成7年5月15日までに下記申込先まで, 電話, FAX 又は E-mail で, 氏名, 所属, 住所, 電話番号を連絡の上, 下記口座に参加費を振り込んでください。参加証を振込確認後郵送しますので, 当日受付で提示してください。
- <申込み・問合せ先>
 株式会社けいはんなリエゾンオフィサー室
 (担当: 岡本・藤原)
 〒619-02 京都府相楽郡精華町光台1-7
 TEL 0774-95-5111
 FAX 0774-95-5116
 E-mail okamoto@car.keihanna-plaza.co.jp
- <参加費振込先>
 住友銀行本店公務部 普通 5892
 株式会社けいはんな

日本電子顕微鏡学会

第6回 電 顕 サ マ ー ス ク ー ル 1995

「試料作製の先端技術」 — 凍結技法の実際(生物)
 — 材料系の最新技術(非生物)

日本電子顕微鏡学会では究極の形態研究の発展のため, 初心者から中堅までの若手研究者・技術者を対象にサマースクールを開いております。今年も第一線の講師が「試料作製の先端技術」—凍結技法の実際(生物)—とを基本から最先端技術まで, 実際の体験に基づき解りやすく, 明日からでもその技術を応用できるよう解説します。また, 今回は最新技術の実技講習を予定して居りますので, 第一線の講師の先生の手技の解説に加えて, 実際の機器に手を触れて体験学習が受けら

れます。2日半講師と実技の場で, 或は懇親会場で自由に意見交換を行なうことは, 単に知識の習得に止まらず, 明日への研究活力を高めるのに役立つものと期待しています。また, 「やさしい電顕ノウハウ講座」では, 日本電子顕微鏡学会の電子顕微鏡技術認定試験の問題とその解説をテキストに収録して, 受講者の便宜を図っておりますので, お誘い合わせの上ご参加を期待しております。

実行委員長 齋藤多久馬

会 期：1995年 8月 4日(金)・5日(土)・6日(日)

場 所：仙台市福祉プラザ

(仙台駅から地下鉄で1駅目、五橋、下車徒歩3分)

参加費：日本電子顕微鏡学会会員30,000円(申込みと同時入会も会員扱いとなります)、協賛学会員35,000円、非会員40,000円(大学生会員(上記からいずれも5,000円割引)。参加費にはテキスト代(定価9,000円)が含まれます。テキストには平成6年度日本電子顕微鏡学会技術認定試験問題とその解説も収録されています。

申込締切：1995年7月2日(木)(定員300名 先着順)。会期は仙台七夕と重なりますので、ホテルの手配を事務局に希望される方は5月30日迄にお申込み下さい。それ以降はご案内のJTBがお世話することになります。また、切符の手配にもご注意下さい。

申込方法：サマースクール事務局宛にお申し込み下さい。FAX 送信も受け付けます。御申込み受付後振替用紙を御送りしますので会費を郵便局からお払い込み下さい。ご入金があり次第、受講票をお送り申し上げます。サマースクールの当日、この受講票を受付でご提示頂くとサマースクールのテキストをお渡し致します。ご都合により申込みの取消しを希望される場合は送金料を差引いて御返金いたします。但し、7月15日(土)以降は返金に応じかねますが、後日テキストをお届け致します。

申込先：自治医科大学解剖学教室内

「電顕サマースクール」事務局

〒329-04 栃木県河内郡南河内町薬師寺3311

TEL 0285-44-2111, 内線3112

FAX 0285-44-5243

8月4日

午前【易しい電顕ノウハウ講座】(生物・非生物)

オリエンテーション 近藤尚武(東北大)

生物試料(動物・植物)の固定と包埋

村上 悟(東大名誉教授)

高分解能写真の撮り方—軸合せと像—

永田文男(日立計測エンジニアリング)

SEMの使い方 鈴木昭男(慈恵医大名誉教授)

午後【凍結技法の基礎とトピックス】(生物・非生物)

基調講演

山田英智(東大名誉教授)

基礎講演

凍結の物理学

石田洋一(東大)

レプリカの実際

安達公一(日本医大)

トピックス講演

凍結割断ディープエッチングによる細胞骨格の細胞生物学

広川信隆(東大)

8月5日

午前【凍結技法の実際】(生物)

凍結置換と免疫組織化学

市川 厚(横浜大名誉教授)

凍結レプリカ

外山 昭(山形大)

フラクチャー・フリップと組織化学

藤本 和(京大)

午後【凍結技法実技指導】(生物)

凍結乾燥と抗原活性

白倉治郎(名大)

低温重合と抗原維持

宮澤七郎(北里大)

実技指導

①凍結乾燥

②凍結置換

③低温重合

④Cryoトランスファー

⑤凍結割断

⑥プラズマ重合

⑦凍結超薄切片

⑧Cryo SEM

8月5日

午前【材料系の最新技術】(非生物)

透過型電顕低倍観察のすすめ

坂 公恭(名大)

電子回折利用のすすめ

友清芳二(九大)

分析電顕利用のすすめ

根本 実(九大)

午後【講義と実習】(非生物)

電子線に弱い物質(ゼオライト)の観察法

寺崎 治(東北大)

セラミックス中の亀裂伝播観察のための試料作製法

黒田光太郎(東北大)

無機材料薄膜試料作製とマイクロトーム(実技を含む)

進藤大輔(東北大)

パソコンソフト利用と画像解析(実演を含む)

大西直之(東北大)

8月6日

午前【ナノテクノロジーの世界】(生物・非生物)

トピックス講演

準備結晶の不思議

平賀賢二(東北大)

凍結超薄切片と免疫組織化学の歴史

徳安清輝(カリフォルニア大)

電顕分解能発展の歴史

菰田 孜(日誠国際特許事務所)

日本膜学会第17年会のお知らせ

下記の要領で日本膜学会第17年会を開催します。膜の科学・技術に関心を持たれる多数の皆様のご参加をお待ちしています。一般研究発表では、生体膜、人工膜、基礎、応用を問わず、膜に関する幅広い分野の研究を歓迎いたします。

日 時：平成7年5月16日(火)・17日(水)

場 所：日本薬学会会長井記念館

〒150 東京都渋谷区渋谷2-12-15

電話 03(3406)3326

1) 特別講演：

逆浸透法の輸送現象

木村尚史

(東京大学工学部化学システム工学科)

(司会)仲川 勤

(明治大学理工学部工業化学科)

細胞内情報伝達ネットワークと細胞機能

日高弘義

(名古屋大学医学部薬理学教室)

(司会)野澤義則(岐阜大学医学部生化学教室)

2) シンポジウム：人工膜と生体膜の接点をさぐる

—イオン輸送を中心として—

膜学会は合成膜、リボソーム、生体膜の研究者から構成されている。本シンポジウムではこの3種類の膜の構造や機能について互いの認識を深める目的で企画されている。そこでイオンを中心として人工膜と生体膜における輸送機構を比較して根本的な違いを論じ、人工膜で発達した輸送理論、生体膜におけるゲート等の未解決問題を中心に共通の立場を確立することを試みたい。それぞれの領域の人が壇上に上がり討論を行うと同時に、一般の参加者からも活発な発言を得て会場全体で進めて行きたい。

上坂伸宏

(日本医科大学第一生理学教室)

大島広行

(東京理科大学薬学部界面科学研究所)

高桑雄一

(東京女子医科大学大学生化学教室)

谷岡明彦

(東京工業大学工学部有機材料工学科)

3) 膜の新しい応用展開(Industry Speaks)

A. 新しい膜モジュールの特性とその応用

このセッションでは1. まず排水処理・水道浄水を

中心に各社で開発が進められている新しい膜モジュール技術の特徴、応用分野を紹介した後、2. では、新規に開発されたポリアクリロニトリル系中空糸モジュールの応用、3. では頻繁な空気逆洗による膜透過流束維持を特徴とするシステムの特徴、廃水処理水道浄水での応用、4. を直接処理水槽に浸漬し、原液をポンプ送液しない省エネタイプの処理システム、5. ではセラミック管状膜を用いる浸漬型膜処理システム、6. では円盤状の膜を回転させることでファウリングを防止し高い透過流束を維持する新しいタイプの膜装置、廃水処理への応用を講演した後、総括討論を行う。

1. 新しい膜モジュールの開発とその応用

山本和男(東京大学工学部都市工学科)

2. ポリアクリロニトリル系中空糸膜モジュール

山村弘之(東レ株式会社高分子研究所)

3. 中空糸空気逆洗型「メムコアシステム」について

三浦邦夫(日本メムテック株式会社)

4. 水道浄水における中空糸浸漬型モジュールについて

上原 勝

(三菱レイヨン株式会社機能膜・メディカル製品部)

5. 浸漬型セラミック膜処理システムの開発と応用

鳴上善久

(株式会社コボタ新淀川環境プラントセンター)

塩山昌彦

(株式会社コボタ上下水プラント技術第2部)

6. 回転平膜装置の廃水処理への適用

堀田正見

(日立プラント建設株式会社水処理事業部)

7. 総括討論

(司会)中尾真一

(東京大学工学部化学システム工学科)

吉川正和

(京都工芸繊維大学繊維学部高分子学科)

B. 膜の医療への応用

このセッションでは人工膜やリボソームの医療への応用を、医薬品の製造メーカーの方々に講演して頂きます。1. はキチン膜の火傷への被覆膜への応用の講演、2. は水選択透過性高分子マイクロカプセル内に水が入り、破裂後、薬物が放出されるという講演、3. はポリ乳酸/グリコール酸のエマルジョンを皮下注射すると、先ず孔から、ついで高分子が分解し、

一定速度で薬物が放出されるという講演, 4. はプロスタグランジンの薬効を長く保つためのリポソームへの封入の講演, 5. はリポソームにヘモグロビンを入れ, 凍結乾燥した人工赤血球の講演である.

1. キチン膜の物性と生体への応用

鶴谷良一

(ユニチカ株式会社中央研究所メディカル開発事業部)

2. 放出開始時間制御型経口システム (TES) の設計

木村在久

(藤沢薬品工業株式会社開発第二研究所)

3. ポリ乳酸/グリコール酸を用いる甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン (TRH) の除放射性マイクロスフェア

部谷敏郎

(武田薬品工業株式会社 D D S 研究所)

4. 各種 PGE₁ 封入リポソームの性質と効力

上田泰生

(株式会社ミドリ十字中央研究所開発研究所)

5. 期限切れ濃厚赤血球由来ヘモグロビンを内包したリポソームタイプ人工赤血球の開発

後藤 博

(テルモ株式会社研究開発センター)

6. 総括討論

(司会) 宮嶋孝一郎 (京都大学薬学部製薬化学科)

4) 一般研究発表 (口頭・ポスター)

5) 展示 (膜関連製造・測定器メーカー等による)

6) 参加費 (含講演要旨集代)

会員 8,000円, 学生 2,000円, 非会員 11,000円, 法人登録費 30,000円 (5名迄入場可), 懇親会参加費 5,000円

参加費は所定の振込用紙にてお払込下さい.

7) お問い合わせ

日本膜学会事務局 第17年会係

〒113 東京都文京区本郷4-14-9

☎03(3815)2818 Fax 03(3815)2818(自動切替)

日本膜学会

会長 清水剛夫

日本膜学会 第17年会

組織委員長 仲川 勤

JAMP '95

日本医学物理学会 第12回研究発表会のお知らせ

日本医学物理学会 会長 伊藤 彬

同 第12回研究発表会会長 尾川 浩一

日本医学物理学会 (JAMP) では, 1994年7月に第11回研究発表会を85題の演題と190名の参加者のもとで開催しました. 引き続き本年は, さらに充実した内容をめざし, 第12回研究発表会を下記のように開催いたします.

今年は, 最近マスコミでも話題になっているインターネットに関する講習会を研究発表会の前日に企画しております. また特別講演では脳の情報処理に関しての先端的研究を医学, 工学の両サイドから講演していただくという企画を予定しています. 皆様の演題発表とご参加を心よりお待ちしております.

1. 期日 1995/7/26(木) インターネット講習会

7/27(木) 研究発表会, 懇親会

7/28(金) 研究発表会

2. 会場 法政大学工学部 [小金井キャンパス]

(東京都小金井市梶野町3-7-2)

J R 中央線東小金井下車 [北口]

(新宿から22分) 徒歩13分またはバス8分

(武蔵小金井駅行き "法政工学部" 下車)

3. 内容

(a) 特別講演 脳研究のフロンティア

座長 尾川 浩一 (法政大)

(1) 「脳は脳を理解できるか?」

—脳機能研究の現状と展望—

山根 茂 (電総研)

(2) 「脳は脳を越えられるか?」

—人口ニューラルシステムの現状と展望—

八名和夫 (法政大)

(b) シンポジウム

放射線機器のQA

司会 稲田 哲雄 (筑波大)

伊藤 彬 (癌研)

(c)教育講演

インターネットの最新動向

加藤 朗(東大/WIDE Project)

(d)一般演題

4. 一般演題募集

(1)次のようなテーマに関して広い意味で医学物理に関係のある演題を募集いたします。

- a. X線診断
- b. 放射線治療
- c. 核医学
- d. 超音波
- e. 磁気共鳴(含 ESR)
- f. SQUID
- g. ハイパーサーミア
- h. 放射光
- i. 粒子線
- j. 診断支援(含ニューラルネット)
- k. 画像処理
- l. 医療情報システム(HIS, RIS)
- m. 画像管理システム(PACS, IS&C, 電子保存)
- n. 放射線防護
- o. 放射線測定
- p. 品質管理
- q. 教育
- r. その他

(2)申し込み方法

- a. 締め切り 1995/4/28(金)(消印有効)
- b. 方法 下記の住所宛に次の書類を送付してください。

送付書類 申込書 1部

抄録原稿(オリジナル1, コピー2)計3部

演題抄録受領はがき

(宛先, 演題名等を記入し切手を貼る)1通
演題採否通知はがき

(宛先, 演題名等を記入し切手を貼る)1通

送り先 〒184 東京都小金井市梶野町3-7-2

法政大学工学部電子情報学科

尾川 浩一

Tel & Fax 0423-87-6189

e-mail ogawa@ogw.ei.hosei.ac.jp

c. 抄録作成上の注意

抄録は同封の見本を参照の上, A4版白紙2枚以内にワープロで作成してください。日本語を原則としますが英語でも可とします。写真, 図表などを貼りつける場合は, そのままB5サイズに縮小され印刷されますので, 図表中の文字がつぶれないように文字の大きさに注意して下さい。

d. 演題の採否

筆頭演者は会員に限ります。演題の採否, および発表形式は企画実行委員会に一任させていただきます。また, 印刷された抄録の著作権は日本医学物理学会に帰属いたします。

e. AV設備

ビデオ設備が必要な場合にはその旨を申込書に明記してください。ただし, 会場の関係で使用できない場合がありますことをご承知おきください。

5. 懇親会

日時 1995/7/27(木) 講演終了後

於 法政大学工学部 生協食堂

6. 参加費等

事前登録の場合は同封の振り込み用紙によりご送金下さい。

大会参加費(抄録集を含む)

事前登録 会員 4,000円 非会員 5,000円

当日 会員 5,000円 非会員 6,000円

学生(抄録集を含まない) 無料(学生証を提示してください)

抄録集のみ 2,000円

懇親会費 会員, 非会員とも 3,000円

7. 日本医学物理学会への入会申し込み

日本医学物理学会への入会申し込みは以下の宛先に, 郵便あるいはFAXにて申し込み書類をご請求下さい。なお, 正会員は入会金1,000円, 年会費3,000円となっています。

〒263 千葉市稲毛区穴川4-9-1

放射線医学総合研究所

医用重粒子物理工学研究部

日本医学物理学会事務局

FAX 043-251-1840

インターネット講習会のお知らせ

コーディネータ 尾川 浩一(法政大)

コンピュータ通信をベースとしたインターネットは新しいコミュニティとなろうとしています。本講習会では、インターネットに触ったことのない全くの初心者から、電子メールぐらいいは使っているけどその他にどんなことができるのかという疑問を持っている人まで、インターネットで何ができるのかを、ビデオやコンピュータを用いた実演からわかりやすく説明するものです。参加者には実際にコンピュータで体験していただく予定(台数は未定)ですので、ふるって、ご参加下さい。

講習会の内容

1. インターネットの概要(OHP)
2. インターネットによる世界探訪
WWW(World Wide Web)とは(OHP)
世界のWWWサーバの紹介(ビデオ, 実演)
日本の各大学での取組み(ビデオ)

3. インターネットの利用
アプリケーション(電子メール, ニュース, FTP, TELNET, Gopher)(OHP, 実演)
米国の大学での取組み [Caltech, ハーバード, MIT, 他](ビデオ)
ネットワーク会議(CU-SeeMeによるテレビ会議, 動画像表示)(実演)

希望者は下の申し込み用紙をきりとしてFAXするか電子メールで尾川(ogawa@ogw.ei.hosei.ac.jp)まで申し込んで下さい。講習会ではビデオを中心にした説明と実演を行います。

講習会日程 1995/7/26(木)

場 所 法政大学工学部 新棟 AV教室

時 間 午後2時から6時まで

参加費 2,000円(当日支払ってください)

人 数 申し込み先着 50名

第7回 臨床神経生理学東京談話会

日 時:平成7年5月27日(土) 14:00~17:25

場 所:東京商工会議所ビル「国際会議場」

〒100 東京都千代田区丸の内3-2-2

TEL 03-3283-7680

プログラム:

… 事象関連電位 …

- 1 P300の歴史 大阪大 投石保広

- 2 生理学的指標としてのP300 東京大 平松謙一

- 3 器質性脳疾患とP300 京都大 柴崎浩

連絡先 臨床神経生理学東京談話会事務局

東京都精神医学総合研究所

精神生理 橋本勲

TEL 03-3304-5701

FAX 03-3329-8035

第15回 日本眼薬理学会

(生涯教育認定事業 No. 59025)

日 時:平成7年9月1日(金), 2日(土)

会 場:大阪薬業年金会館

〒542 大阪市中央区谷町6-5-4

TEL 06-768-4451

特別講演:

- 1) 田中利夫教授(三重大学医学部薬理学)
「血管平滑筋と分子構造」
- 2) 佐々木一之教授(金澤医大眼科学)
「演題未定」

シンポジウム:

- 1) 「眼内循環と薬理」
(司会)新家 眞(東大分院・眼科)
- 2) 「眼科ドラッグ・デリバリー・システム」
(司会)東條角治(九州工業大学・情報工学部)
望月 学(久留米大学医学部・眼科)
- 3) 「角膜疾患と薬理」
(司会)西田輝夫(山口大学医学部・眼科)

一般演題:

演題募集：方法 事務局に郵送（消印有効）
締切日 1995年6月15日
会 費：事前登録 5,000円，当日登録 7,000円
締切日 1995年7月15日
事務局：大阪医科大学眼科学教室

〒569 大阪府高槻市大学町2-7
TEL 0726-83-1221(内線2354)
FAX 0726-81-8195
責任者 東 郁郎（中島正之，徳岡 覚）

バイオメディカル・ファジィ・システム学会（I） 第8回年次大会開催のご案内

本学会第8回年次大会（学会移行第2回）を下記のとおり開催いたします。
学会の発祥の地から遠く離れて、はじめてのみちのくの地、盛岡での学術集会です。会員各位の奮ってのご発表とご参加をお願い申し上げます。

記

会 期：平成7年11月16日(木)，17日(金)
会 場：コミュニケーションギャラリー LIRIO
（イベントホール他）
〒020 盛岡市大通一丁目11番8号
☎0196-23-7131

基調テーマ：医療とヒューマンフレンドリーコンピュータ科学の接点を求めて
—21世紀マルチメディア医療をむかえて—

内 容：

教育講演（東北地域で正しいファジィ理論，ニューロサイエンスおよびカオスの理解と，如何に医療，ひいては保健への応用を考えたらいかを学んでみよう。）

（いま新ためて，本学会の先達の方々からの講演をいただくことにしたい。）

一般講演（口演またはポスタープレゼンテーション）

（じっくり平素の研究成果を伺うことと共に，参加者の質疑応答など討論の時間をしっかり設けたい。）

○ご応募の一般講演をテーマ別にまとめて「シンポジウム」を枠組みすることもあります。

○演題の採否，発表形式はプログラム委員会にご一任いただきます。

一般講演の申込み：別掲の要領に従って期限までに大会事務局までお送りいただきます。

申込み期限 平成7年8月20日(月)必着

年次大会等の参加申込み：会員，会員外を問わず自由に大会にご参加をいただけます。

（但し，一般講演は，口演者のみならず連名者全員のご入会をいただきます。）

事前登録期限：平成7年10月15日(日)消印有効

（事前登録された方には，年次大会プログラム・抄録集を会期前にお届けいたします。）

それ以降は当日会場で受付をいたします。

参加登録(前納)

会員及び後援学会会員 10,000円

（当日申込み 12,000円）

非会員 15,000円 学生 5,000円

懇親会(前納) 7,000円(当日申込み 8,000円)

会場の都合で昼食は各自，会場の近接でとっていただきます。（各自ご負担下さい。）

（当日，受付にてレストラン等の案内図を差し上げます）

ご送金は，郵便振替をご利用いただけます。

口座番号：02350-1-18468

加入者名：バイオメディカル・ファジィ・システム学会第8回年次大会

宿舎，並びにポストツアーについては，大会事務局では，直接取扱いしません。各自でお願いいたしますが，地元でご斡旋をいたしますので早目にご相談を下さい。

JTB 旅行サービス盛岡支店(日本交通公社代理店)

（第8回バイオメディカル・ファジィ・システム学会年次大会担当：吉田正己）

〒020 盛岡市内丸2-5

（電話）0196-54-6831 （FAX）0196-54-6827

ポストツアーには，小岩井農場，田沢湖，角館方面，八幡平，十和田湖方面，平泉，中尊寺，毛越寺方面，三陸海岸周辺の方面など計画されます。（一泊をされれば十分観光ができれば。）

一般講演申込み要領

口 演：一題当り発表15分間(予定)OHPまたはスライド映写(単写)

ディスカッション 10分～15分を予定

ポスタープレゼンテーション：(170cm×114cmのパネルに文字、表、写真を貼付ける)会期中展示。(ディスカッションの時間を別に設けます。)

演題の申込みは次の要領に従っていただきます。

用紙：A4サイズ用紙2枚以内(所定枠内であれば字数やレイアウトは自由です。)

発表形式を□内に√印でご指示下さい。

(一題一題、オフセット印刷で見開き2頁で作成したいと思います。)

演題名：(和文)(英文)

発表者、所属名：(和字)(ローマ字)等で

(口演者、またはディスカッサーには○印を氏名のはじめにつけて下さい。)

発表要旨(抄録)：和文、英文でも可。(英文抄録をお付け下さい。)

本文の文字の大きさは、13級、9ポイント以上を。

演題名は、それよりも大きい活字でも結構です。

サンプルの枠内に文章をおさめて下さい。(この中で表、図、写真を加えても可)ワープロで作成して下さい。

「はじめに」「資料(実施、方法)」、「成果(結果)や考察」、「まとめ」など順序だてて要領よくお書き下さい。

連絡先(住所、氏名、電話、FAX番号など)も添えて下さい。

ご発表後は、本学会機関誌「バイオメディカル・ファジィ・システム学会雑誌」に論文投稿をお願いいたします。従って第8回大会は、プログラムと抄録集の発行となります。

従前の年次大会論文集に類するものは「学会誌」に

委ねます。(論文投稿には投稿規定を参照して下さい。)
大会事務局(第8回演題申込み、参加登録等をお取り扱いします。)

〒020 盛岡市中央通1-3-27

岩手医科大学歯学部歯科矯正学講座

電話 0196-51-5111(内線4533, 4511)

FAX 0196-53-2547

第8回バイオメディカル・ファジィ・システム学会年次大会事務局

大会長 石川富士郎

主催(学会事務局)(入会手続き等は、こちらの学会事務局へお願いします。)

バイオメディカル・ファジィ・システム学会

〒807 北九州市八幡西区医生ヶ丘1-1

産業医科大学第一解剖学教室内

電話 093-691-7418 FAX 093-691-8544

後援(予定)

日本ファジィ学会

日本医科器械学会

日本医用画像工学会

日本エム・イー学会

日本画像医学会

日本人工臓器学会

日本整形外科学会

日本生物物理学会

日本生理学会

日本人間工学会

日本麻酔学会

日本リハビリテーション医学会

日本医療情報学会

日本機械学会

メディカル・マイクロコンピュータ・クラブ

(財)ファジィシステム研究所



INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL
REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE

第3回日米欧医薬品規制ハーモナイゼーション
国際会議(ICH-3)開催のご案内

1995年11月29日(水)～12月1日(金) パシフィコ横浜

世界で開発される優れた医薬品を患者さんの手元により早く届けるためには、医薬品の品質、安全性及び有効性に関する試験の不必要な繰返しを防ぎ、データの国際的相互受入れを実現して、承認審査の迅速化及び研究開発の促進を図る必要があります。このため、日・米・欧(EU)の医薬品規制当局と製薬産業団体は、医薬品規制のハーモナイゼーション活動を1990年より推進してきました。

ICHの成果を報告、討議するための本会議は、すでに欧州(ブリュッセル、1991年)及び米国(フロリダ、1993年)で開催され、それぞれ千数百人の参加者を得て成功裡の内に会議を終了しています。さて、いよいよ本年、第3回ICH国際会議(ICH-3)が、横浜にて開催されます。

1. ICH-3の主なテーマ

- 日米欧における医薬品規制ハーモナイゼーションの進展
- 医薬品規制当局及び製薬産業界の政策決定者による今後のハーモナイゼーションの展望
- 今まで検討されてきた品質、安全性及び有効性に関する技術的討論
- 医薬品に関する情報の迅速かつ確実な情報交換のためのコンピュータ技術の導入や市販後の安全性

主なトピックス

品 質	安 全 性	有 効 性	規制情報の伝達
<ul style="list-style-type: none"> 不純物試験法 分析法バリデーション 薬局方 バイオ医薬品の品質など 	<ul style="list-style-type: none"> がん原性試験法 遺伝毒性試験法 臨床試験と非臨床試験の実施時期など 	<ul style="list-style-type: none"> GCP 臨性安全性評価 薬効評価と人種差 臨床試験一般指針など 	<ul style="list-style-type: none"> 電子媒体による安全性情報等の伝達 医薬品関連用語の統一など

会 場：パシフィコ横浜(国立大ホール、会議センター、展示ホール)

〒220 神奈川県横浜市西区みなとみらい1-1

お問い合わせ先：日本製薬工業協会広報部

〒103 東京都中央区日本橋本町3-4-1 (トリエ日本橋ビル)

電話 03-3241-0326(代) FAX 03-3242-1767

を含めた医薬品の体系的評価といった新しいハーモナイゼーションの流れ

- 行政及び産業界が考える ICH の患者さんにとってのメリット

2. ICH 主催メンバー

日 本 厚 生 省(MHW)

日本製薬工業協会(JPMA)

欧州(EU) 欧州委員会(EC)

欧州製薬団体連合会(EFPLA)

米 国 食品医薬品庁(FDA)

米国製薬工業協会(PhRMA)

事 務 局：国際製薬団体連合会(IFPMA)

オブザーバー：世界保健機関(WHO)、欧州自由貿易連合(EFTA)、カナダ

3. 今後の予定

プログラム及び参加登録用紙は、1995年4月に配布される予定です。

4. プログラムの概要

◇開会式及びオープニング・セッション 11月29日

◇分科会(テクニカル・シンポジウム)

11月30日～12月1日

◇分科会(テクニカル・シンポジウム)報告 12月1日

◇クロージング・セッション及び閉会式 12月1日

CALENDAR

主な学会開催日程

開催日 (演題締切)	名 称	会 場	連 絡 先
95. 5.10-12	「心血管系細胞機能調節の分子及び細胞内機序」に関する国際シンポジウム	仙台：仙台市戦災復興記念館	山形大 薬理・遠藤政夫 ☎0236-33-1116 FAX: 0236-25-2039
95. 5.15-17	NEURODEGENERATIVE DISEASES '95 MOLECULAR & CELLULAR MECHANISMS, & THERAPEUTIC ADVANCES	WASHINGTON, D. C. : George Washington Univ	
95. 5.16-17	日本膜学会 第17年会	東京：日本薬学会会長井記念館	日本膜学会事務局 第17年会係 ☎ & FAX: 03-3815-2818
95. 5.24 (95. 5.10)	千里ライフサイエンス技術講習 第6回 「Life Science における 光学的顕微鏡利用	豊中：千里ライフ サイエンスセンタービル	千里ライフサイエンス振興団 技術講習 ☎06-873-2001 FAX: 06-873-2002
95. 5.25 (95. 5.12)	1995ヤクルト国際シンポジウム(第9回) 「学習と記憶のメカニズム	東京：ヤクルトホール	ヤクルト本社 広報室「シンポジウム係」 ☎03-3574-8920
95. 5.26	視覚と空間認知への総合的アプローチシンポジウム '95	京都：関西文化学術研究都市 けいはんなプラザ	㈱けいはんなリゾンオフィサー室岡本 ☎0774-95-5111 FAX: 0774-95-5116
95. 5.27	第7回臨床神経生理学東京談話会	東京：東京商工会議所ビル	都精神研 精神生理・橋本 勲 ☎03-3304-5701 FAX: 03-3329-8053
95. 6. 9	千里ライフサイエンスセミナー 「癌 浸 潤 ・ 転 移」	豊中：千里ライフ サイエンスセンタービル	千里ライフサイエンス振興団 セミナー係 ☎06-873-2001 FAX: 06-873-2002
95. 6.25-30	第11回国際事象関連電位会議	沖縄： LAGUNA GARDEN HOTEL	PMSI JAPAN(株) ☎03-5275-6991 FAX: 03-5275-6994
95. 6.26-30	1st International Conference on Functional Mapping of the Human Brain	パリ：	東北大 加齢医学研・福田 寛 ☎
95. 7. 2- 7	15 TH BIENNIAL MEETING OF THE INTERNATIONAL SOCIETY FOR NEUROCHEMISTRY	京都：国立京都国際会館	JTB ☎075-341-1618 FAX: 075-341-1917
95. 7. 9-14	4 th IBRO World Congress of Neuroscience	京都：国立京都国際会館	理研 フロンティア・伊藤正男 ☎0484-62-1111(6421)
95. 7.26-28	JAMP '95日本医学物理学会	東京：法政大学工学部 小金井キャンパス	法政大 工 電子情報・尾川 ☎ & FAX: 0423-87-6189
95. 8. 4- 6	第6回電顕サマースクール 1995	仙台：仙台市福祉プラザ	自治医大 解剖 ☎0285-44-2111 内線3112 FAX: 0285-44-5243
95. 9. 3- 6	11 th ECTRIMS Congress-European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis	ISRAEL: Laromme Hotel, Jerusalem	SECRETARIAT: P. O. BOX 50006, TEL AVIV 61500, ISRAEL ☎972-3-5140014 FAX: 972-3-5175674
95. 9. 3- 8	AMFC 国際医薬化学シンポジウム (AIMECS '95)	東京：京王プラザホテル	帝京大 医・池上四郎 ☎0426-85-0161 FAX: 0426-85-1870
95.10.10-12	第6回国際脳電磁図トポグラフィ学会	徳島：	徳島大 医 脳神経外科・松本圭蔵 ☎0886-31-3111
95.10.12-13 (95. 7.15)	第10回精神研国際シンポジウム	東京：アルカディア市ヶ谷	都精神研 精神生理・橋本 勲 ☎03-3304-5701 FAX: 03-3304-9396

開催日 (演題締切)	名 称	会 場	連 絡 先
95.10.15-19	第10回国際臨床神経生理会議	京都：国立京都国際会館	京大 医 神経内科・木村 淳 ☎075-751-3111
95.10.20-21	第46回西日本生理学会	熊本：熊本市産業文化会館	熊本大 医 生理・志賀潔, 小川尚 ☎096-373-5050 FAX：096-372-6140
95.11.16-17 (95. 8.20)	バイオメカカル・ファジィ・システム学会第8回年次大会	盛岡：コミュニケーション ギャラリー LIRI0	岩手医大 歯科矯正・石川 ☎0196-51-5111(4533) FAX：0196-53-2547
95.11.18	第2回日本神経内視鏡研究会	東京：	慶應大 医 脳神経外科・戸谷重雄 ☎03-3353-2329
95.11.29-12. 1	第3回日米E U新医薬品承認 審査ハーモナイゼーション国 際会議	横浜：パシフィコ横浜	日本製薬工業協会 広報部 ☎03-3241-0326 FAX：03-3242-1767

**INFORMATION* とこの欄への記載をご希望の方は開催日の3ヶ月前までに事務局宛お送り下さい。

RECORDS

会 員 消 息

<新 入 会 員>

氏 名	勤 務 先 (電話・FAX)	〒	自 宅 住 所	専 門 分 野
浅 田 英 穂	生理学研究所 神経化学 0564-55-7826・0564-55-7825	444	愛知県岡崎市江口1-2-1 マンションソニア406	神経化学
浅野目 充	生理学研究所 生体システム 0564-55-7774	444	愛知県岡崎市竜美旭町7-15 ハイツ茜B102	
安 宅 洋 美	千葉大学 医学部 整形外科 043-222-7171・043-226-2034	284	千葉県四街道市美しが丘1-14-11	
渥 美 和 彦	ソニー株式会社 03-5448-7340・03-5448-7343	113	東京都文京区向丘1-6-2	
安 西 尚 彦	千葉大学 医学部 第一内科 043-226-2083・043-226-2088	262	千葉県花見川区畑町3103-74	腎・体液
伊 熊 睦 博	浜松医科大学 第一内科 053-435-2261・053-434-9447	430	静岡県浜松市本郷町1346-19	
伊 澤 佳 子	東京医科歯科大学 医学部 第一生理 03-3813-6111(3126)	180	東京都武蔵野市吉祥寺北町5-1-3	
石 川 昌 三	神戸大学 医学部 第一生理 078-341-7451(3224)	652	兵庫県神戸市兵庫区荒田町1-2-20 南米ハイツ602	
石 塚 雄 太	宮崎医科大学 第一生理 0985-85-1510・0985-5475	889-21	宮崎県宮崎市学園木花台南3-27-3	高次中枢
石 原 照 夫	関東通信病院 03-3448-6111・03-3448-6617	108	東京都港区白金台3-16-26-201	
板 澤 俊 一	群馬大学 医学部 第二生理 0272-20-7934・0272-20-7936	371	群馬県前橋市昭和町3-29-2 ヴェントリリルズB号	
伊 藤 公 一	東京大学 大学院 医学系研究科 03-3812-2111	232	横浜市南区中村町5-308-1	
伊 藤 道 郎	豊田工業高等専門学校 0565-32-8811	458	名古屋市緑区鳴海町尾崎山43-418	
牛 込 彰 彦	鳴門教育大学 人間形成基礎講座 0886-87-1311・0886-87-1053	772	徳島県鳴門市鳴門町高島字中島135-2 マリンハイムW-103	
大川原 潤	京都府立医科大学 第二外科 075-251-5532・075-223-6189	603	京都市北区絹笠開キ町6-15	心臓・循環
太 田 光 明	大阪府立大学 農学部 獣医生理 0722-52-1161・0722-52-0341	593	大阪府堺市大野芝町23 府大宅舎4-109	
大 谷 伸 代	大阪府立大学 農学部 獣医生理 0722-52-1161・0722-52-0341	588	大阪府堺市草尾112-5 プレオール草尾206	
大 森 幸 子	名古屋大学環境医学研究所 052-789-3867・052-789-3887	480-01	愛知県丹羽郡大口町堀尾跡2-15	内分泌
大 吉 達 樹	鹿児島大学 医学部 脳神経外科 0992-75-5375	930	富山県富山市金屋5128 メゾングランデージ金屋301	

氏名	勤務先(電話・FAX)	〒	自宅住所	専門分野
岡田二郎	生命工学工業技術研究所 生態情報部 神経情報研究室 0298-54-6756・0298-54-6757	305	茨城県つくば市東2-26-7 赤塚パークハイツ203	高次中枢
岡田久	国立名古屋病院 内科 052-951-1111・052-951-0664	464	名古屋市千種区星ヶ丘2-18	
奥野浩行	東京大学 医学部 第一生理 03-3812-2111(3457)・03-3811-5520	182	東京都調布市深大寺元町2-11-19	
小椋俊彦	豊橋技術科学大学 0532-47-0111(496)・0532-46-7806	441	愛知県豊橋市天伯町字美吉11-1 萩原荘C-5	感覚
鬼塚圭一郎	名古屋市立大学 医学部 第二生理 052-851-5511・052-842-3069	467	名古屋市瑞穂区片坂町3-34 石川様方	
鬼塚明子	久留米大学 医学部 第一生理 0942-35-3311・0942-31-7695	830	福岡県久留米市荘島町16-15 明治通パークホームズ1302	
笠原多嘉子	昭和大学 医学部 第一生理 03-3784-8110	177	東京都練馬区関町北3-16-14	
梶山梧朗	広島大学 医学部 第一内科 082-257-5190・082-255-6220	734	広島県広島市南区西本浦町15-19	
片田彰博	旭川医科大学 第二生理 0166-65-2111	078	北海道旭川市東光6条6丁目 ポアンディ NO.1-201	
加知一友	みどりヶ丘病院 消化器内科 0726-81-5717・0726-81-5740	569	大阪府高槻市真上町3-7-20 コート・ダ・ジュール303	
加藤隆史	大阪大学 歯学部 口腔生理 06-876-5711・06-876-5311	560	大阪府豊中市緑丘5-2-5	
加藤正巳	(株)日本バイオリサーチセンター 0583-92-3170・0583-92-1284	501-63	岐阜県羽島市下中町加賀野井705-1	
門倉幸宏	群馬大学 医学部 第一生理 0272-20-7923・0272-20-7926	371	群馬県前橋市上小出町2-34-9 シティパレス上小出B-108	
金田英子	長崎大学 教養部 0958-47-1111(3300)・0958-43-1379	852	長崎県長崎市滑石3-7-5 コーポアップル203	環境
椛島成利	産業医科大学 第一生理 093-603-1611(2297)・093-692-1711	806	北九州市八幡西区皇后崎1-10-607	
神村典孝	弘前大学 医学部 第一生理 0172-33-5111・0172-37-6270	036	青森県弘前市桔梗野4-7-1 グラウンドメイユールB-202	細胞・分子
賀屋光晴	兵庫医科大学 第一生理 0798-45-6398・0798-45-6398	663	兵庫県西宮市樋ノ口町2-20-21	
川西千恵美	富山医科薬科大学 0764-34-2281・0764-34-5205	939-03	富山県射水郡小杉町南太閤山2-2-2-403	
川村勇樹	生理学研究所 神経化学部門 0564-55-7826・0564-55-7825	444	愛知県岡崎市久後崎町字堤下5-6 コーポ久後崎202	神経化学
河南有希子	大阪府立大学 農学部 獣医生理 0722-52-1161・0722-52-0341	661	兵庫県尼崎市久々知西町2-11-11-315	
北川裕利	市立長浜病院 麻酔科 0749-62-2270・0749-65-1259			

氏名	勤務先(電話・FAX)	〒	自宅住所	専門分野
木村文隆	大阪大学 医学部バイオ メディカルセンター 神経生理 06-879-3661・06-879-3669	565	大阪府吹田市津雲台5-11-D40-208	
木村真規	早稲田大学 大学院 人間科学研究科 0429-49-8113(3469)・0429-47-3571	183	東京都府中市白糸台4-44-1 車返団地3-1-107	
楠戸正子	藤田保健衛生大学病院 リハビリテーション科 0562-93-2167	470-11	愛知県豊明市二村台7-44-6 スカイハウス213号	
熊崎智司	関東通信病院 03-3448-6111・03-3448-6617	106	東京都港区南麻布2-3-6-1-1001	呼吸
来馬明規	関東通信病院 03-3448-6111・03-3448-6617	106	東京都港区南麻布2-3-6-1-1001	呼吸
黒川衛	大分医科大学 第一内科 0975-49-4411・0975-49-4480	810	福岡県福岡市中央区荒戸2-5-5-904	
児山香	東北大学 医学部 第一外科 022-274-1111・022-274-3944	980	宮城県仙台市青葉区木町通り2-1-33-202	
榑洋子	大阪大学 医学部 第二生理 06-879-3611・06-879-3619	565	大阪府吹田市千里山高塚24-36-5	
坂下可奈子	関東通信病院附属医用情報研究所 第三研究部 03-3448-6059・03-3448-6139	174	東京都板橋区蓮根2-29-8-511	
佐々木寛	山形大学 医学部 0236-33-1122・0236-25-3646	990-23	山形県山形市飯田西2-2-9-402	
定本朋子	奈良女子大学 文学部 人間行動科学科 0742-20-3350・0742-20-3309	630	奈良県奈良市西木辻町122-1-307	
佐藤伸介	大阪バイオサイエンス研究所 06-872-4851・06-872-4818	567	大阪府茨木市東奈良1-5-5	
佐藤嘉彦	浜松医科大学 第一内科 053-435-2261・053-434-4447	435	静岡県浜松市市野町1425-4	
篠田純	慶應義塾大学 医学部 脳神経外科 03-3353-1211(2329)	133	東京都江戸川区北篠崎1-2-19-301	神経化学
柴田政章	山梨医科大学 第一生理 0552-73-1111・0552-73-6730	400	山梨県甲府市住吉3-15-11 レジオンス甲府807	
清水貴美子	大阪大学 蛋白質研究所 代謝部門 06-879-8632・06-876-2533	562	大阪府箕面市小野原東4-10-20 ブライトンヒルズ箕面108	行動・リズム
清水重臣	大阪大学 医学部 第一生理	553	大阪府大阪市福島区福島3-7-39-307	
下川哲昭	群馬大学 医学部 第一生理 0272-20-7923・0272-20-7926	371	群馬県前橋市上小出町3-18-12 ドミール藍沢101	
霜田幸雄	東京女子医科大学 総合研究所 研究部 03-3353-8111(30010)・03-5269-7364	141	東京都品川区北品川6-1-12	
神宮久香	群馬大学 医学部 第一生理 0272-20-7923・0272-20-7926	371	群馬県前橋市上小出町1-5-11 メゾン・マンサード401	

氏名	勤務先(電話・FAX)	〒	自宅住所	専門分野
杉本 庸	香川医科大学 第二生理 0878-98-5111	761-07	香川県木田郡三木町池戸1543-2 アーベイン三木パート2	
杉本 俊彦	旭川医科大学 第二生理 0166-65-2111	078	北海道旭川市東光6条4-2-9-102	
須甲 陽二郎	千葉大学 医学部 第三内科 043-222-7171・043-226-2034	260	千葉県千葉市中央区都町1-30-5 ヴィラージュ・アモ201	心臓・循環
鈴木 昭	大阪大学 医学部 第二生理 06-879-3611・06-879-3619	550	大阪府大阪市西区北堀江3-6-21-1204	
鈴木 清子	日本医科大学 第一生理 03-3822-2131・03-5685-3055	187	東京都小平市学園東町1-18-2	行動・リズム
鈴木 直哉	名古屋大学 理学部 物理学科 K研 052-789-2883・052-789-2931	468	名古屋市天白区平針3-706 エクセル平針307	
鈴木 紀光	東京大学 医学部 脳研 生理 03-5802-3314・03-5802-3315	175	東京都板橋区赤塚3-32-14-105	シナプス他
須藤 亮	群馬大学 医学部 第二生理 0272-20-7934・0272-20-7936	371-01	群馬県前橋市鳥取町854-10	
砂川 賢二	国立循環器病センター研究所 06-833-5012・06-872-7485	567	大阪府茨木市北春日丘3-9-16	
角谷 英治	明治鍼灸大学 0771-72-1181・0771-72-0326	629-03	京都府船井郡日吉町字田原小字西畑2-1 日吉アハート	感 覚
副島 敏彦	東京歯科大学 043-279-2222・043-279-2052	165	東京都中野区野方4-19-2 高見沢ビル2F そえじま歯科診療所	
田井村 明博	長崎大学 教養部 0958-47-1111・0958-43-1379	852	長崎県長崎市三原町259-1-403	環 境
田岡 三希	東邦大学 医学部 第一生理 03-3762-4151(2335)・03-3762-8148	215	神奈川県川崎市麻生区白山4-5-1-21-16	神経生理
高尾 恭一	日本大学 医学部 第二生理 03-3972-8111	330	埼玉県大宮市大字南中丸523-1-C202	
高島 充	ソニー株式会社 03-5448-7340・03-5448-7343	145	東京都大田区南雪谷1-15-2-506	
高津 浩彰	豊田工業高等専門学校 0565-32-8811	471	愛知県豊田市栄生町2-1 高専職員宿舎11-4	
高橋 章夫	群馬大学 医学部 脳神経外科 0272-20-7923・0272-20-7926	371	群馬県前橋市荒吸町612-1 サンコートガーデン ア406	
高橋 聖一	高知医科大学 第一生理 0888-66-5811(2572)・0888-66-7381	783	高知県南国市岡豊町蒲原587-75-B-305	
高橋 宏史	浜松医科大学 第二生理 053-435-2248	432	静岡県浜松市佐鳴台5-22-22 パークハイツ佐鳴台202	
高村 雄策	富山医科薬科大学 医学部 第二生理 0764-34-2281・0764-34-5013	930	富山県富山市呉羽町3549 安倍荘1号	
高山 真一郎	東京女子医科大学 糖尿病センター 03-3353-8111	164	東京都中野区弥生町1-14-10-403	内分泌

氏名	勤務先(電話・FAX)	〒	自宅住所	専門分野
田口学	岩手医科大学 第二生理 0196-51-5111・0196-54-8341	020	岩手県盛岡市本町通1-10-5-503	内分泌
武井司	東京大学 医学部 第四内科 03-3943-1151・03-3943-3102	202	東京都保谷市新町3-1-3	
竹内茂雄	国立名古屋病院 内科 052-951-1111・052-951-0664	464	名古屋市千種区城木町 キャッスル城木203	
竹下泰	九州大学 医学部 第二生理 092-641-1151・092-632-2373	820	福岡県飯塚市片島1-5-57 勝森マンション101	心臓・循環
田崎裕紀	東京歯科大学 生理 043-279-2222・043-279-2052	262	千葉県千葉市花見川区検見川町5-2304-10-201	
田代茂	日本医科大学 生理 03-3822-2131・03-5685-3055	164	東京都中野区中央5-38-10 上野ビル401	生殖
立川真理	大分医科大学 第一内科 0975-49-4411	870	大分県大分市三ヶ田町3-4-501	
立田秀生	東邦大学 医学部附属大橋病院 第四内科 03-3468-1251・03-3468-3756	216	神奈川県川崎市宮前区野川63 エクセレンス野川504	呼吸
田中潤也	愛媛大学 医学部 第二生理 0899-64-5111(2077)・0899-64-5236	791-02	愛媛県温泉郡重信町横河原1375 愛媛大宿舎115	
田中宏喜	大阪大学 人間科学部 行動生理 06-879-8049・06-879-8010	567	大阪府茨木市中穂積3-3-27	行動・生体リズム
谷崎みゆき	慶應義塾大学 医学部 生理 03-3353-1211・03-3359-0437	213	神奈川県川崎市高津区溝口798-5	
田淵圭章	第一製薬 探索第三研究所 03-3680-0151・03-5696-8334	272	千葉県市川市原木1-14-8	消化・吸収
都香仁喜	札幌医科大学 整形外科 011-611-2111・011-641-6026	064	北海道札幌市中央区南15条西16-1-11 ソシアルコート伏見303	
槌本佳子	杏林大学 医学部 第二生理	270-11	千葉県我孫子市中峠1768-3	
都筑昌哉	福井医科大学 大学院 0776-61-3111・0776-61-8101	910-02	福井県坂井郡丸岡町巽1-17	
坪川達也	慶應義塾大学 医学部 生理 03-3353-1211・03-3357-5445	160	東京都新宿区大京町13 メゾン・ド・モナーク101	
中尾純治	慶應義塾大学 医学部 生理 03-3353-1211(2613)・03-3357-5445	165	東京都中野区江原町3-13-5 北中野マンション105	
中里毅	千葉大学 医学部 第一生理 043-222-7171・043-226-2028	260	千葉県千葉市中央区葛城1-3-7-205	
中澤健	千葉大学 医学部 第一生理 043-222-7171・043-226-2028	263	千葉県千葉市稲毛区小仲台3-1-24-306	
中嶋康文	京都府立医科大学 075-251-5633	601	京都市南区西九条大國町25-1 ジョイアネックス東寺403	
長畠駿一郎	香川医科大学 歯科口腔外科 0878-98-5111・0878-91-0639	706	岡山県玉野市築港2-13-1	細胞・分子

氏名	勤務先(電話・FAX)	〒	自宅住所	専門分野
永見雄太	聖マリアンナ医科大学 第一生理 044-977-8111・044-977-0172	223	横浜市港北区中川2-9 サントウール中川10-907	内分泌
中保隆雄	神戸大学 医学部 第一生理	651-22	兵庫県神戸市西区井吹台東1-2-1-8-1101	
納家勇治	東京大学 医学部 第一生理 03-3812-2111(3457)・03-3811-5520	114	東京都北区田畑3-16-15	
西川光一	群馬大学 医学部 0272-20-7111・0272-20-8046	371	群馬県前橋市文京1-32-7 ホーユウパレス904	
西村直記	大阪市立大学 保健体育科 06-605-2955・06-605-2955	546	大阪府大阪市東住吉区田辺2-11-19	
二宮靖典	東京大学 医学部 第一生理	171	東京都豊島区长崎3-13-13	
挾間章博	生理学研究所 機能協関 0564-55-7733・0564-55-7735	444	愛知県岡崎市六供町1-89-2	細胞・分子
長谷川 榮一	香川医科大学 眼科学 0878-98-5111	760-03	香川県高松市前田東町505-2-A-106	感覚
長谷川 潤	新潟大学 医学部 第一外科 025-223-6161	950	新潟県新潟市天神尾1-13-3-209	
八田有洋	筑波大学 体育研究科 生理 0298-53-2607	305	茨城県つくば市二ノ宮2-10-4 ニューハイツキムラ210	体力
花岡一雄	東京大学 医学部 麻酔学 03-3815-5411・03-5689-7203	165	東京都中野区上鷲宮5-22-6	
濱田泰一	和歌山県立医科大学 第一生理 0734-26-8318・0734-23-7794	640	和歌山県和歌山市小松原6-1-55-401	
林 康紀	東京大学 医学部 脳研 脳生理 03-5802-3314・03-5802-3315	113	東京都文京区弥生2-8-6 サンシティ弥生3D	シナプス他
東山智子	埼玉医科大学 第一生理 0492-76-1425・0492-95-5573	350-04	埼玉県入間郡毛呂山町長瀬1791-17 YMコーポ201	
平澤みちる	東京大学 獣医生理 03-3812-2111・03-3815-4266	113	東京都文京区白山1-23-12 清水ハイツ402	
平出美和	滋賀医科大学 第二生理 0775-48-2152・0775-43-1960	520-21	滋賀県大津市一里山3丁目月輪1488 メゾンドムラジ301	
平松幸治	北海道大学 歯学部 口腔生理	065	北海道札幌市東区北25条東5-2-10-201	
福田 寛	東北大学 加齢医学研究所 022-274-1111・022-273-6594	981	宮城県仙台市青葉区堤通雨宮町3-18-206	
藤崎俊之	新潟大学 脳研究所 神経生理 025-223-6161	951	新潟県新潟市旭町通2番町5237-35	
藤本一朗	名古屋市立大学 医学部 第二生理 052-853-8136・052-842-3069	456	名古屋市熱田区金山町1-3-2 イトーピア金山1203	
藤本美加	九州大学 医学部 第二生理 092-641-1151	814	福岡県福岡市早良区西新5-15-55-602	

氏名	勤務先(電話・FAX)	〒	自宅住所	専門分野
船 曳 和 雄	京都大学 医学部 第一生理 075-733-4356・075-753-4349	606	京都市左京区修学院坪江町37-7 NTハイツA号室	
古 江 俊 昭	広島大学 医学部 第一生理 082-257-5123・082-257-5124	732	広島県広島市東区戸坂中町3-12	
古 川 覚	順天堂大学 医学部 生理 0476-98-1001	276	千葉県八千代市八千代台北7-9-11-204	
古 川 正 幸	東北大学 医学部 耳鼻咽喉科 022-274-1111(2684)・022-273-4837	981	宮城県仙台市青葉区青葉町1-7-701	
増 田 裕 次	大阪大学 歯学部 口腔生理 06-816-5711・06-876-5311	565	大阪府吹田市千里山東2-17-C-402	
松 井 一 哲	大分医科大学 第二生理 0975-49-4411・0975-49-6046	870	大分県大分市賀来3437-1 第2 ボルカ403号	
松 林 太 朗	佐賀医科大学 医学部 第一生理 0952-31-6511・0952-33-2516	840	佐賀県佐賀市愛敬町12-15 愛敬マンション1101	心臓・循環
丸 山 美 智子	静岡県立大学 054-264-5535	208	東京都武蔵村山市三ツ藤1-75-8	膜輸送
三 浦 正 巳	山形大学 医学部 第二生理 0236-33-1113・0236-25-3646	990	山形県山形市南栄町1-3-22 カトレアハイツ201	シナプス他
水 野 潤 造	大阪大学 歯学部 口腔生理 06-876-5711・06-876-5311	577	大阪府東大阪市御厨栄町3-4-15	
溝 端 乃里夫	香川医科大学 第二生理 0878-98-5111・0878-98-8346	761-07	香川県木田郡三木町池戸2698-24	
美津島 大	横浜市立大学 医学部 第二生理 045-787-2579・045-787-2509	221	横浜市神奈川区台町15-12 クレバール横浜104	
宮 尾 治 樹	大阪歯科大学 生理 06-943-6521・06-943-8051	534	大阪府大阪市都島区片町1-1-21 グラントピア片町305	細胞・分子
宮 崎 真	福島県立医科大学 第二生理 0245-48-2111・0245-48-2571	963	福島県郡山市長者1-5-14	
宮 下 由 美	埼玉医科大学 第二生理 0492-76-1152・0492-94-9961	370-13	群馬県多野郡新町501-9	
村 上 浩 孝	大阪歯科大学 生理 06-943-6521(276)・06-943-8051	648	和歌山県橋本市東家4-14-8	細胞・分子
村 瀬 豊	愛知医科大学 第一生理 052-264-4811・0561-62-4866	454	名古屋市中区中野新町7-73	血液
村 松 幹 司	名古屋市立大学 医学部 大学院 052-853-8136・052-842-3069	466	名古屋市昭和区菊園町4-13 菊園ハイツ4 A	
村 山 雄 二	ソニー株式会社 生命情報研究所 03-5448-6842・03-5448-2454	167	東京都杉並区井草3-14-10 メゾン井萩303	
最 上 紀美子	山口大学 医学部 第一生理 0836-22-2209・0836-22-2696	755	山口県宇部市東小羽山町3-3-6	筋
森 下 浩 靖	愛知医科大学 第一生理 0561-62-3311・0561-62-4866	468	名古屋市天白区天白町植田三郎廻間H7 植田ヒルズ E506	血液

氏名	勤務先 (電話・FAX)	〒	自宅住所	専門分野
安松 幹展	東京都立大学 理学部 体育学教室 0426-77-2960・0426-77-2961	193	東京都八王子市元八王子町3-2153-73	体力
矢作 直樹	国立循環器病センター 外科系集中治療科 06-833-5012・06-872-7486			
山内 有信	徳島大学 医学部 栄養生理 0886-31-3111(2507)・0886-33-7086	770	徳島県徳島市南庄町1-30-4 平和マンション301	栄・代・温
山内 羊二	大阪大学 歯学部 口腔生理 06-876-5711・06-876-5311	565	大阪府吹田市千里山西2-11-20	
山形 要人	大阪大学 医学部 第一薬理 06-879-3521・06-879-3529	547	大阪府大阪市平野区喜連西1-15-11-1-131	
山上 竜也	久留米大学 医学部 第一生理 0942-31-7542・0942-31-7695	830	福岡県久留米市合川町1919 ハイツセントラルパーク201	
山下 陽一郎	神戸YMC A学院専門学校 078-793-7402・078-793-7470	663	兵庫県西宮市枝川町7-32-205	
山田 高嗣	岡山大学 医学部 脳神経外科 086-223-7151	700	岡山県岡山市西古松2-16-1	
山田 卓也	東京歯科大学 043-279-2222・043-279-2052	176	東京都練馬区貫井4-33-2	シナプス他
大和 孝子	中村学園大学 家政学部 食物栄養学科 092-851-2531・092-841-7762	814-01	福岡県福岡市城南区金山団地47-305	栄・代・温
山野 真利子	大阪大学 医学部 第二解剖 06-879-3221・06-879-3229	565	大阪府吹田市山田西3-33-B-711	
山本 孝	徳島大学 医学部 栄養生理 0886-31-3111(2507)・0886-33-7086	770	徳島県徳島市南佐古8-2-9 ツインハイツ303	栄・代・温
山本 竜隆	昭和大学 医学部 第一生理 03-3784-8110	225	横浜市緑区美しヶ丘1丁目 たまプラザ団地2-1-302	
吉井 慶二	吉井歯科医院 044-811-2332	151	東京都渋谷区代々木5-21-16-604	
吉野 正俊	金沢大学 医学部 第二生理 0762-62-8151	920	石川県金沢市笠舞本町2-6-3 エクセルコート笠舞109	シナプス他
吉橋 一隆	北海道大学 獣医学部 獣医生理 011-706-5202・011-717-7569	001	北海道札幌市北区北35条西5-1-8 小川様方	細胞・分子
若月 秀光	新潟大学 脳研究所 神経生理 025-223-6161	950	新潟県新潟市米山3-8-17	
和田 潤郎	弘前大学 医学部 第一生理 0172-33-5111・0172-37-6270	036	青森県弘前市取上5-3-7 メイユールメゾンB-5	生殖
和田 義之	日本大学 医学部 第二生理 03-3972-8111	168	東京都杉並区方南2-8-13-303	
SULTANA SHARMEN	群馬大学 医学部 第一生理 0272-20-7923・0272-20-7926	371	群馬県前橋市上小出町1-16-8 グランドハイツ403	
HOSSAIN MD SHAHDAT	島根医科大学 生理 0853-23-2111	693	島根県出雲市塩冶町南町2-1-20-107	

氏名	勤務先(電話・FAX)	〒	自宅住所	専門分野
ISHWAR S. PARHAR	日本医科大学 第一生理 03-3822-2131・03-5685-3055	120	東京都足立区青井3-5-26 綾瀬マンション918	細胞・分子
王 鑄 人	京都大学 医学部 生理 075-753-4357・075-753-4349	606	京都市左京区山端川岸町10番地 ニューハイム洛北山端205	
過 集 慶	京都大学 医学部 第二生理 075-753-4357・075-753-4349	606	京都市左京区岡崎東福ノ川町10 志保川荘 8室	
賀 菊 方	理化学研究所 国際フロンティア研究システム 048-462-1111・048-462-4698	351	埼玉県和光市下新倉2281 イーブン1ヤスタダ205	感 覚
高 明	北海道大学 電子科学研究所 細胞機能 011-716-2111(2888)・011-757-1692	060	北海道札幌市北区北 8 条西 6 丁目 シャンポール506	心臓・循環
熊 焜	群馬大学 医学部 第一生理 0272-20-7923・0272-20-7926	371	群馬県前橋市南橋町10-R A 304	
周 起 煥	東京大学 医学部 第二生理 03-3812-2111	121	東京都足立区花畑3-16-1-403	
曹 春 渝	大阪バイオサイエンス研究所 第三研究部 06-872-4852・06-872-4818	532	大阪府大阪市淀川区木川東1-11-26 三貴マンション406	
段 俊 麗	埼玉医科大学 第二生理 0492-76-1152・0492-94-9961	350-02	埼玉県坂戸市緑町22-8 みどりハイツ202	心臓・循環
張 京 浩	東京大学 医学部 脈管病態生理 03-5800-6845・03-5800-6845	113	東京都文京区本郷6-24-5-902	
張 炳 烈	東京女子医科大学 第一生理 03-3353-8111	162	東京都新宿区市谷台町1-14 東京女子医大台町寮	
陳 亜 妮	名古屋大学 環境医学研究所 052-789-3879・052-789-3894	464-01	名古屋市千種区不老町 名大レジデンス C-508	
郝 汎 英	鹿児島大学 医学部 第二生理 0992-75-5234・0992-65-7145			心臓・循環
李 丁 範	長崎大学 大学院 医学研究科 環境生理 0958-47-2111・0958-47-6607			環 境
劉 世 玉	アップジョン ファーマシューティカルズ リミテッド つくば総合研究所 0298-64-3839・0298-64-3833	305	茨城県つくば市高野台3-16-5	

〈転勤・異動〉

氏名	勤務先名	勤務先 TEL・FAX
秋 場 仁	京都工芸繊維大学	
猪 岡 元	猪岡内科クリニック	0286-64-3800
池 上 晴 夫	大妻女子大学 人間生活科学研究所	03-5275-7042
上 田 実	名古屋大学医学部口腔科	052-741-2111(2293)
刀 迫 弘	岡元内科	0993-36-2626
栗 山 熙	西南女学院大学	093-561-2631
小 林 茂 夫	京都大学総合人間学部	075-753-6885

氏名	勤務先名	勤務先TEL・FAX
佐々木 仁	大阪大学医学部第二生理	
清水 透子	久留米大学医学部小児科	0442-35-3311
立元 一彦	群馬大学生体調節研究所分子調節分野	0272-31-7221・0272-34-1788
長谷川 節雄	日本医科大学第三内科	03-3822-2131
三浦 巧	大久保耳鼻咽喉科医院	0474-78-4133
弓矢 治秀	日本臓器製薬(株)開発二部	06-203-0441
菊池 計	旭川医科大学第二生理	0166-65-2111, 2333
杉田 俊介	久留米大学医学部脳神経外科	0942-35-3311
野瀬 巖	久留米大学医学部精神神経科	0942-35-3311
矢野 秀樹	久留米大学医学部第一内科	0942-35-3311

<物故者>

氏名	職名	
斉藤 忠義	日本歯科大学名誉教授	平成7年2月27日逝去

第137回 J J P 編集委員会議事録

日時：平成6年9月3日(土) 午後2:00～午後4:00

場所：学会誌刊行センター(弥生)5F会議室

出席者：金子委員長, 岡田, 熊田, 佐藤, 高橋, 酒田, 福田, 山下各委員

- | | |
|---------------------------|----------------------------|
| 1) 前回議事録を原案通り承認した。 | された論文はフロッピーディスクを提出してもら |
| 2) 論文審査状況の確認と、編集状況の報告が行われ | うこととした。 |
| た。 | 5) カラー印刷の費用の著者負担について検討をし |
| 3) 審査用紙に関する改良案が出され、修正を加える | た。 |
| こととした。 | 次回期日：平成6年11月26日(土) 午後2:00～ |
| 4) ワープロファイルでの投稿を推進するため、採択 | 学会誌刊行センター(弥生)会議室 |

第138回 J J P 編集委員会議事録

日時：平成6年11月26日(土) 午後2:00～午後4:00

場所：学会誌刊行センター(弥生)5F会議室

出席者：金子委員長, 佐藤, 高橋, 福田, 杉, 福田, 森本各委員

- | | |
|---------------------------|---------------------------|
| 1) 前回議事録を原案通り承認した。 | 5) 日英合同生理学会のアブストラクトの発行形態に |
| 2) 論文審査状況の確認と、編集状況の報告が行われ | ついて検討した。 |
| た。 | 6) カラー印刷の費用について検討し、継続審議とす |
| 3) 委員長による投稿規定改正案について検討し、若 | ることとした。 |
| 干の修正を加えて改正することとした。 | 7) 常任幹事会の報告があった。 |
| 4) 文部省の科研費の申請について刊行センターより | 次回期日：平成7年2月18日(土) 午後2:00～ |
| 説明があった。 | 学会誌刊行センター(弥生)会議室 |

EDERATION OF THE ASIAN AND OCEANIAN PHYSIOLOGICAL SOCIETIES

UNCIL:

ident : M. Ito
 Vice President : S.K. Manchanda
 Vice President : X.L. Yang
 asurer : C.Y. Chai
 retary : C. Pholpramool
 nbers : J.I. Hubbard, W.G. Kim,
 F. Motamedi, R. Rahamimoff,
 H.J. Singh, J.A. Young



SECRETARY OFFICE:

Chumpol Pholpramool
 Department of Physiology
 Faculty of Science
 Mahidol University
 Rama VI Road
 Bangkok 10400, THAILAND
 Tel. 66-2-2461375
 Fax. 66-2-2461375
 66-2-2477050

Minutes of the 1st FAOPS General Assembly, November 8, 1994 Shanghai International Trade Center, Shanghai

The meeting was called open at 7:40 p.m. Twenty nine delegates and Council members, and five observers were in attendance.

APOLOGIES:

D. P. G. Bolton, C. Goonaratana, T. O. Morgan, R. Rahamimoff

AGENDA 1: Greeting by the President

President Ito thanked and welcomed all delegates and made an apology for those who were unable to attend the meeting. Since this was the first meeting of delegates from all adhering bodies, he then briefed Article V of the FAOPS Constitution regarding the General Assembly (GA).

AGENDA 2: Approval of the late registered delegates

Late registration of the delegate from Malaysia, Dr. Swee Hung Cheah, was approved.

The President asked for rearrangement of the sequence of some agenda and proceeded the meeting.

AGENDA 3: The 4th FAOPS Congress in Brisbane, 1998

a) Official invitation

Prof. J. A. Young made an invitation for the 4th Congress of FAOPS in 1998. He proposed that the Congress would be held during 4 days in September in Brisbane conjointly with the annual meeting of the Australian Physiological and Pharmacological Society. The venue of the Congress was not yet finalized.

b) Confirmation of acceptance

The invitation proposed by Australia was confirmed by a majority vote.

AGENDA 4: Invitations for the 5th FAOPS Congress, 2002

The Council recommended that among the invitations proposed those of Malaysia and Korea should be considered by the GA. Representatives from these two countries were asked to give a brief invitation.

Prof. H. J. Singh representing the Malaysian society proposed to hold the Congress in Kuala Lumpur whereas Prof. Kee Soon Kim representing the Korean society proposed to hold the Congress in Seoul. Both representatives showed their preliminary preparations for and strong intentions to host the Congress in the year 2002. Prof. J. A. Young suggested that in the future the countries that make invitations should also present a letter of support from their governments.

A ballot was made in favor of the Malaysian's invitation (16 votes for Malaysia, 12 votes for Korea, 1 abstained). The 5th FAOPS Congress in 2002 would, therefore, be held in Kuala Lumpur.

AGENDA 5: Officer's reports

a) Report of the President

President Ito told the GA that the Congress was first held in Bangkok in 1986 then in New Delhi in 1990 when FAOPS was formally established and the first Council was elected. Three Commissions had been formed to carry out different tasks during 1990-1994.

(i) **Commission on Physiology Education** chaired by Prof. R. Rahamimoff (Israel) was responsible for organizing Computer Assisted Teaching in Physiology workshop in Shanghai during November 2-5, 1994.

(ii) **Commission on Fund Raising** chaired by Prof. C. Y. Chai (China, Taipei) had raised US\$10,489.16 for supporting the 3rd FAOPS Congress in Shanghai. Korean Physiological Society also donated US\$5,000.

(iii) **Commission on Research** chaired by Prof. J. A. Young (Australia) was responsible for promoting research activities in member countries. The Commission had prepared a Directory of researchers and research techniques available in the FAOPS member countries.

b) Report of the Secretary

The Secretary reported that at present FAOPS had 12 regular members from 10 countries and 3 associate members from 3 countries in Asia and Oceania. Attempts to attract more members in the region had been made. Recently, an application from United Arab Emirates (U.A.E.) for an associate member was received. This should be dealt with in the following agenda.

The Secretariat had published 3 volumes of FAOPS Newsletter (1 volume per annum), which were circulated to each individual members through their national societies, and a FAOPS Constitution & By-Laws for distribution among the officers and delegates of all adhering bodies.

c) Report of the Treasurer

The Treasurer presented his financial statement (Attachment 1) on the FAOPS account which was a summary of those opened in Taipei (Treasurer Office), Tokyo (President Office) and Bangkok (Secretary Office). The Tokyo account was now closed. The net balance of all accounts was in surplus in the amount of US\$9,665.16.

AGENDA 6: Report of the Commission Chairman

a) Commission on Physiology Education- CAT workshop in Shanghai

Prof. Pholpramool reported the activities of the Commission on behalf of the chairman, Prof. R. Rahamimoff. The Commission had organized a CAT workshop as a pre-congress activity during November 2-5 at the Shanghai Institute of Physiology. Twenty one participants, 10 from China and 11 from 9 other countries, were in attendance. Four teachers from 3 different countries were invited to give instructions and supervise the workshop. All trainees and instructors were fully supported by FAOPS. The workshop was considered highly successful.

b) Commission on Fund Raising

Prof. Chai reported that the Commission was successful in asking for donations from many member societies, such as Korean Physiological Society, and especially from a private company in Taiwan, Millipore Asia, which donated US\$10,489.16 to support the 3rd FAOPS Congress.

c) Commission on Research

Prof. H. J. Singh reported on behalf of Prof. J. A. Young, the chairman, that the Commission had circulated questionnaires requesting information from all adhering bodies regarding research areas of interest, research techniques available, number of postgraduate students and publications, and room available for visiting scholars. The questionnaires were returned from 7 of 10 countries that were sent to. Analysis of the returned questions revealed many interesting information from which a Directory of research techniques and researchers in the FAOPS member countries had been prepared.

AGENDA 7: Association between CEPP and FAOPS

The Secretary informed the GA that Blackwell Science Asia (BSA) had expressed its interest to associate with FAOPS. The publisher would advertise FAOPS Congress and publish congress abstracts as supplementary pages in an issue or two of the journal *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* (CEPP) after the congress, at no charge. BSA could produce abstract booklets for distribution to participants at additional cost to the organizer of each congress. BSA would also allow individual members of all adhering bodies to FAOPS to subscribe to CEPP at 60% off the normal institutional subscription rate. In return, BSA requested that it would be provided with a free stand in the trade exhibition area at which CEPP and other related BSA publications could be displayed. In case BSA could not send personnel to look after the display, the congress organizers would take delivery of leaflets and sample copies of CEPP for displaying at the exhibition or for distribution to delegates.

The Council had discussed and, in general, accepted this proposal, and recommended that the Secretary should negotiate with BSA in more details to obtain maximum benefit for FAOPS. A recommendation by the Council was endorsed by the GA.

AGENDA 8: Admission of new members

The Secretary told the GA that a group of physiologists in U.A.E. had made an application for an associate member. According to FAOPS Constitution & By-Laws admission of new members must be approved by the GA. Prof. S. K. Manchanda added that these physiologists were very enthusiastic in joining the Federation although their members were small in number at present. Furthermore, they would have no financial problem for the payment of membership dues. The Council had recommended that they should pay a nominal fee of US\$50- per annum. After some discussion, a unanimous vote in favor of admission of this application was obtained.

AGENDA 9: Proposed changes to the Constitution- ARTICLE IV: membership

In order to encourage and accommodate private organizations and institutions to join the Federation, and to honor the outstanding physiologists who had made significant contribution to FAOPS or the development of physiological sciences in the region, the Council recommended that the Constitution should be modified such that two new categories of membership, i.e. Supporting members and Honorary members, were added to the ARTICLE IV. The detail of the proposed changes had been

precirculated to the delegates. All types of membership were accepted as proposed except some revision was made for the Honorary members. Several suggestions regarding the approval had been proposed. However, the majority votes went for the following changes;

“IV(4) Honorary members are individuals who have made outstanding contribution to physiological sciences and to the objectives and work of the Federation. Upon recommendation of the Council an individual may be elected Honorary member by a two-third majority votes of the delegates to the General Assembly

AGENDA 10: Election of Officers and Councilors for the term 1994-1998

President Ito reported that the previous Council meeting in Glasgow in 1993 agreed to appoint Prof. B. K. Anand (India) to chair the Nominating Committee for new Council, which was formed by 4 other representatives from Australia, China, Japan and Korea. Prof. Anand was then asked to tell the GA how did the final slate was prepared. All adhering bodies and the present Council had been requested to propose the name of candidate for each office. The first slate was made after drying out some names from the same country so that members of the Council were evenly represented. The second slate was prepared after minor changes and was recirculated to the Committee for final approval. The final list of candidates (Attachment 2) received almost unanimous agreement by the Committee.

The President referred to the By-Laws: ARTICLE 3 and asked for proposals of additional names of candidates. There was no other nomination. A majority votes of acceptance of the slate prepared by the Nominating Committee was obtained. The new Council for the term 1994-1998 consisted of the following persons:

President	Prof. Masao Ito	(Japan)
1st Vice President	Prof. Xiong-Li Yang	(China)
2nd Vice President	Prof. John A. Young	(Australia)
Treasurer	Prof. Chok-Yung Chai	(China, Taipei)
Secretary	Dr. Chumpol Pholpramool	(Thailand)
Members	Prof. Usha Nayar*	(India)
	Prof. Sang Ho Lee*	(Korea)
	Dr. Harbindar Jeet Singh	(Malaysia)
	Prof. Fereshteh Motamedi	(Iran)
	Prof. Rami Rahamimoff	(Israel)
	Dr. Rodger Pack*	(New Zealand)

* These are new members of the Council for 1994-1998.

AGENDA 11: Plans for 1994-1998

Prof. Ito thanked the delegates for supporting him for the second term and presented his plans for the years 1994-1998.

- 1995- FAOPS Executive Board meeting should be held in Kyoto at the same time as the 4th IBRO World Congress of Neuroscience.
- 1996- FAOPS Council meeting should be held in conjunction with a FAOPS workshop to be held in Asia.
- 1997- FAOPS Executive Board meeting should be held in St. Petersburg during the 33rd IUPS Congress.
- 1998- FAOPS Council meeting in Brisbane during the 4th FAOPS Congress.

The plans were well accepted by the delegates.

AGENDA 12: Any other business

The President told the GA that the Council had recommended Prof. B. K. Anand and Prof. T. P. Feng for Honorary members. Achievements and contributions by these two physiologists were briefly introduced by Profs. Manchanda and Yang, respectively. There was no other name proposed. A unanimous votes of approval for Honorary members of Profs. Anand and Feng was received.

There was no other business arising. President Ito made a final remark expressing his regret and appreciation for the three out-going Council members (Profs. S. K. Manchanda, J. I. Hubbard, W. G. Kim) who had made very valuable contributions to the Council and FAOPS since the early stage of establishment, and then moved a vote of thanks to these out-going Councilors and to Prof. X. L. Yang and his colleagues for their efficiency in organizing the 3rd Congress. This was carried by long lasting acclamation.

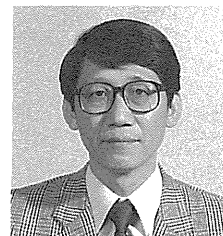
The meeting was closed at 10:50 p.m.

PROFILE

「生理学者群像」

北村 憲 司 君

福岡歯科大学薬理学教室
平成6年10月1日就任



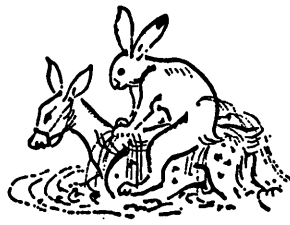
九大歯学部卒業後当時口腔生理学の教授だった栗山熙先生のもとで消化管や血管の電気生理学をやっておりました。栗山先生が歯学部から医学部薬理に移られた後暫くして、私も助手としてお世話になることとなり爾来18年余り血管平滑筋の E-C coupling やイオンチャンネルについて研究しております。現在の実験の中心はパッチクランプ法による血管平滑筋 Ca チャンネルやKチャンネルの細胞内調節機序についてですが、以前から歯学部に戻って研究を続けたいという希望を持っておりましたので、歯科に関係する研究にも手を付けたいと考えています。具体的なアイデアはいくつか持っていますので近い将来スタートしたいと考えています。歯学部は医学部に比べ対象とする領域を狭く考えすぎますが、細胞機能学やチャンネル機構学という立場から観れば目的とするところは同じですからこうした領域には余りこだわらないで研究を行っていきたいと考えています。

私の大学は単科大学ですので他講座とのコミュニケーションは比較的とりやすいのですが、反面、少人数ですので同じ興味を持つ人を見つけにくいという問題があります。もはや現在は個人や一つの教室の中だけで研究を行える時代ではなくなっていますので、私の持っている研究手法が皆様の研究に役立つことがあれば、私を是非利用していただきたいと思ひますし、是非私にも皆様の力を利用させていただきたいと思ひます。

ます。どうか宜しくお願ひします。

薬理学が生理的または病的状態にある生体機能が薬物という外部因子やホルモン等の内部因子により調節される過程を理解する学問だとすれば、薬理学を理解するには生理学や生化学など生体や分子の正常な機能の理解が必要ですが、薬物が投与される対象である異常または病的状態の理解なしに正常機能の理解はないということも真です。生体機能を理解するのに生理学や生化学、薬理学と分けて理解するのではなく総合的に理解することが重要だと思ひています。学生教育についても薬理とか生理といったことにこだわらない現在の理解に見合った生体機能の教育を行いたいと考えています。

歯学部は臨床医を養成するという意味では幅広い教養を身につけていることが要求されますが、同時に問題解決能力を持っているかどうか緊急事態などに対応した場合、その結果を大きく左右します。6年間という限られた年限で全てを満足させることが出来ないとすれば、優先度としては知識の伝授ではなく、より効率的な考え方を身につけさせる教育が必要だと思ひます。生体機能の教育は予測し判断するという問題解決能力の開発にうってつけですので、生体機能(薬理)の講義や実習供覧を通じて現象を論理的に解釈する意味を教え、自己解決能力のある学生を育てたいと思ひます。



イオンチャネル研究のための脂質平面膜法

老 木 成 稔

(生理学研究所 機能協関部門)

目 次

I. はじめに	193
II. 脂質平面膜法	194
A. 脂質平面膜形成法	194
(1) チェンバー	
1. 1 穴の作り方	
1. 2 チェンバーの組み立て	
(2) 平面膜形成法	
2. 1 リン脂質溶液	
2. 2 ペインティング法	
2. 3 張り合わせ法	
2. 4 クリーンな系の確立	
B. 平面膜の物理化学	199
(1) 平面膜の構造と形成	
(2) 静電膜容量	
(3) 溶媒含有膜と無溶媒膜	
(4) 脂質組成	
C. 膜蛋白組込み法	201
(1) 膜融合	
1. 1 膜融合法	
1. 2 融合の停止	
1. 3 膜融合機序	
(2) ナイスタチン法	
(3) 直接挿入法	
(4) 単層展開法	
D. 平面膜系のエレクトロニクス	208
(1) バックグラウンド電流ノイズの最小化	
1. 1 入力電位ノイズ	
1. 2 アクセス抵抗熱電位ノイズ	
1. 3 ノイズの評価	
(2) 容量性フィードバック	
E. 高解像度記録法	210
(1) ティップ=ディップ法	
1. 1 張り合わせティップ=ディップ法	
1. 2 改良ティップ=ディップ法	
1. 3 張り合わせティップ=ディップ法 と改良ティップ=ディップ法	
(2) 削り取り小孔法	
(3) パンチアウト法	
III. チャネル電流記録	214
A. 細胞小器官のチャネル	214
(1) 過渡的単一チャネル電流記録	
(2) Translocon	
B. ニコチン性アセチルコリン受容体	216
C. チャネルデザイン	217
D. オープンチャネルノイズ	219
IV. 今後の展望	219

I. はじめに

イオンチャネル研究のために脂質平面膜法を適用する目的は大きく2つに分けられる。通常のパッチクランプ法ではアクセスが困難なチャネルを対象とするとき、もう一つはチャネルの構造機能相関研究を深めるために単純な再構成系で実験を行う必要がある場合である。

いわゆる inaccessible チャネルとは、細胞小器官上のチャネルはもとより、細胞膜上でも解剖学的にパッチクランプが困難な場所にあるものを指す。シナプス前膜などの微小な構造物、極性を持った細胞の特定の膜、などである。また高抵抗のシールが得られないような膜上のチャネル、例えば刷子縁膜上のチャネルや、電気器官上のニコチン性アセチルコリン受容体のようにチャネル密度が高すぎるものは広義の inaccessible チャネルの範疇にはいる。後者については標本の選択や手技上の改善によってパッチクランプが不可能ではないのに対し、細胞小器官上のチャネルは何らかの生化学的操作をとおしてはじめて平面膜による電気生理学的対象となる。細胞内の反応を細胞の表面から眺めているだけでなく、細胞内コンパートメントの間で起こっている現象を直接捉えることによって、細胞小器官の電気生理学という視点から細胞機能が新しく見えてくるであろう。

イオンチャネルの基本的な機構や詳細な構造機能相関を研究するためにはチャネル分子そのものの性質、分子機構をできるだけ単純でコントロールされた系で解析する必要がある。脂質平面膜法では膜脂質の組成も変えられるので、チャネルを化学的に明確に限定された系に再構成できる。究極的には水、塩類、リン脂質、チャ

ネルという純粋な系が実現する。また、いったんチャネルが膜に組み込まれて活性を示せば、その後の実験条件を選ばない。高いイオン濃度、膜電位などの条件下で、通常見えないような小さなコンダクタンスのチャネルを捉えることも可能である。特に、膜脂質の組成を変えることによって、膜の流動性や表面電荷などの物理化学的なチャネルに対する影響だけでなく、チャネルと他の膜内分子との直接的な相互作用など、パッチクランプ法という複雑な系では研究が困難な領域に踏み込むことができる。

平面膜法の最大の欠点はその低分解能にあると最近までいわれてきた。平面膜の直径が通常 100 μm のオーダーであるため膜容量による電流雑音が大きく、また電位ステップに対する応答特性が悪いので、過渡的応答が捉えられない。しかし、最近技術的に目覚ましい2つの進展があった。ひとつは、ティップ=ディップ法などの低膜容量(小面積)の平面膜を使った方法である。従来からのバンチアウト法、ティップ=ディップ法に加え、より安定な改良ティップ=ディップ法、チェンバーに小孔を作る方法(小孔法)が確立してきた。この方法によって電位依存性に速い活性化過程を示すチャネルの記録も可能になっている。新しいティップ=ディップ法は単一チャネル記録法として最高の周波数帯域をもつ。

もうひとつの進歩は、平面膜へチャネルを組み込むための膜融合過程を可視化できるようになったことである。小さな面積の膜に対する膜融合の効率を高め、しかもその過程をリアルタイムでモニターできる。

これらの進歩を含めた現代の脂質平面膜法を紹介したい。本総説の構成は前半(Cまで)に平面膜法の基本的な手技と原理を記述した。具体的な手順を述べた項目は下線で示した。ここまでの知識で平面膜法をとりあえず始めることができる。Dで系を改善するための指針としての原理を示し、Eで高解像度記録法を記述した。これらの方法を使った具体例をⅢに示した。なお平面膜法によるイオンチャネル研究の成果に

ついては他の総説を参照されたい^{39,45,50}。

Ⅱ. 脂質平面膜法

A. 脂質平面膜形成法

平面脂質二重膜を形成するにはペインティング法と張り合わせ法という2つの方法がある。この2つの方法はすべての基本となるものである。テフロンなどの疎水性物質で作った2つのコンパートメントからなるチェンバーに数 ml 以下の塩溶液を満たし、コンパートメント間に直径数 10 μm から数 100 μm の平面膜を再現性よく形成できる。ペインティング法と張り合わせ法に共通なチェンバーの作り方からはじめる。

(1) チェンバー

私達の方法では穴を開けた隔壁をテフロンチェンバーの間に挟みこむ。平面膜の張りやすさと安定性に最も重要なのは素材と穴の形状である。

1.1 穴の作り方

穴の作り方のうち削り取り法⁹⁰を詳しく記述する(図1)。

- ①培養ディッシュの蓋(3.5cm 培養ディッシュ; 厚さ約 1mm)から適当な大きさ(約 1cm×1cm)のポリスチレン板を切り出す。
- ②ステンレス棒(直径 3mm のステンレス棒の先端を開口角が 90° になるように円錐形に削り、その後、表面ができるだけ平滑になるように磨く。ごく先端までシャープでなければならない⁹⁰)をガスバーナ(細い炎に絞れるもの: PRINCE ピエゾガスバーナ GB-2001)であたためる。ただし、最少限に留める。
- ③ステンレス棒をポリスチレン板に押し付け、他側にわずかにふくらみができるところまで進める。ゆっくり押し込まれていくような低い温度でないとポリスチレンの変形が穴の外側の広い範囲に広がってしまう。
- ④ポリスチレンが冷えて固まるまでステンレス棒を押し込んだ位置で待つ。
- ⑤ステンレス棒をはずす。表面が平滑な円錐状の穴ができる。

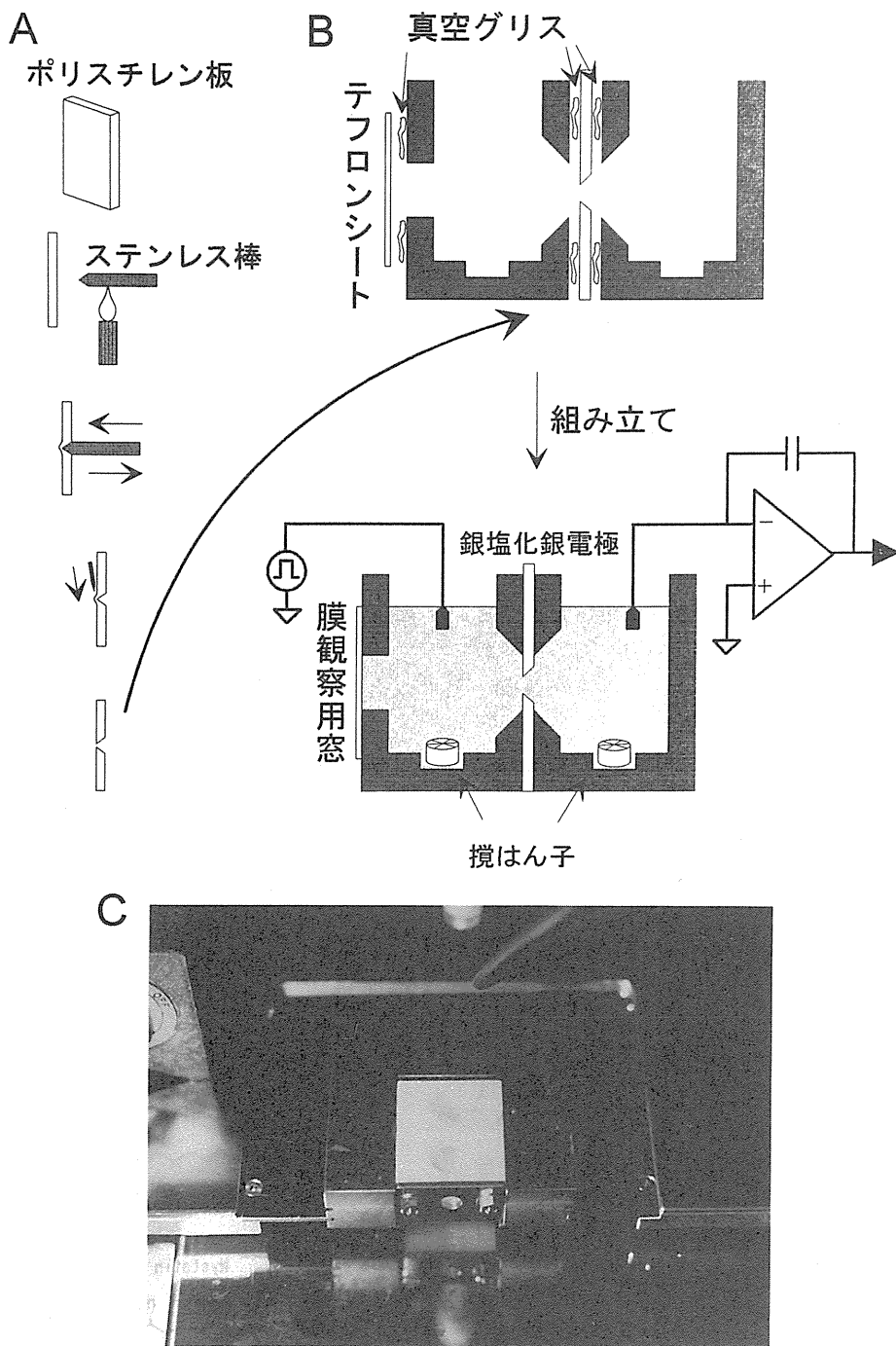


図1 平面膜チャンバーの組み立て

A. ポリスチレン隔壁への穴の作り方. B. 隔壁のテフロンチャンバーへの挟みこみ. C. ファラディボックス内の真鍮ブロックにセットされたチャンバー. 真鍮ブロックはステンレス板に固定してある. 熱伝導の低いステンレスによって熱の放散を妨げる.

- ⑥他側の膨らみを剃刀で切り取る。この時の加減で直径 $30\ \mu\text{m}$ から数 $100\ \mu\text{m}$ まで自由な大きさのものを作ることができる。穴の形状は真円でなければならない。穴のエッジは極めてシャープである。直径を記録しておく。
- ⑦水、エタノールで洗い、乾燥させる。

「削り取り法」は後述するペインティング法、張り合わせ法、小孔法、すべてに適用できる。この「削り取り法」の特徴は穴と隔壁に対する以下の要件を満たしていることである。i) 小浮遊容量, ii) 小アクセス抵抗, iii) 膜の安定性, iv) 少誘電損失。隔壁が薄すぎると浮遊容量が大きくなってしまう。この方法による浮遊容量は $5\ \text{pF}$ 以下である。一方厚すぎると穴の長さの分、アクセス抵抗(平面膜と直列に存在する溶液と電極の抵抗)が高くなる。2つの点を解決したのがこの穴で、隔壁が厚いため機械的強度が大きく、開口角度が大きいためアクセス抵抗が小さい。従って非攪はん層が小さく、ベシクルが平面膜表面に接近しやすい。さらにエッジがシャープであるため薄膜化を促進し、膜が安定である。隔壁はその素材がポリスチレンやテフロンのような誘電損失の少ないものが望ましい。ただし、ポリスチレンの場合1日以上使うとエッジにひびがはいることがある。隔壁を毎日取り替えることによって常に清潔な実験が行える。

1.2 チェンバーの組み立て

- ①チェンバーのデザイン⁴⁸⁾(図1B)：隔壁以外の素材はテフロンである。
- ②テフロンチェンバーのポリスチレン隔壁が当たる所に真空グリース(シリコングリース, ダウコーニング)を適量塗る。電気的なリークがないように注意する。膜観察用窓の周囲にも真空グリースを塗る。
- ③ポリスチレン隔壁をチェンバーに挟みこみ、テフロンシート片(厚さ $25\ \mu\text{m}$, YSI Membrane Kit, YSI Inc. Ohio)を窓に張り付ける。チェンバーはねじで固定する。チェンバーの

容量は $1.2\ \text{ml}$ である。

- ④組み立てたチェンバーをファラデーボックス内に固定する(図1C)。温度コントロールされた真鍮ブロックにおさめる。
- ⑤実験途中でチェンバーを洗う必要のあるときは水、エタノールで行う(クロロホルム/メタノールを使うとポリスチレン隔壁が溶けてしまう)。

(2) 平面膜形成法

2.1 リン脂質溶液

膜形成用として、脂質を有機溶媒(アルカン[飽和炭化水素: デカン, ヘキサデカン, ヘキササンなど]を使うことが多い)に分散したもの(脂質溶液)を使う。リン脂質濃度は通常 $4\sim 40\ \text{mg/ml}$ である。

目的によって純粋なリン脂質を使う場合と混合リン脂質を使う場合がある。単一の分子種を

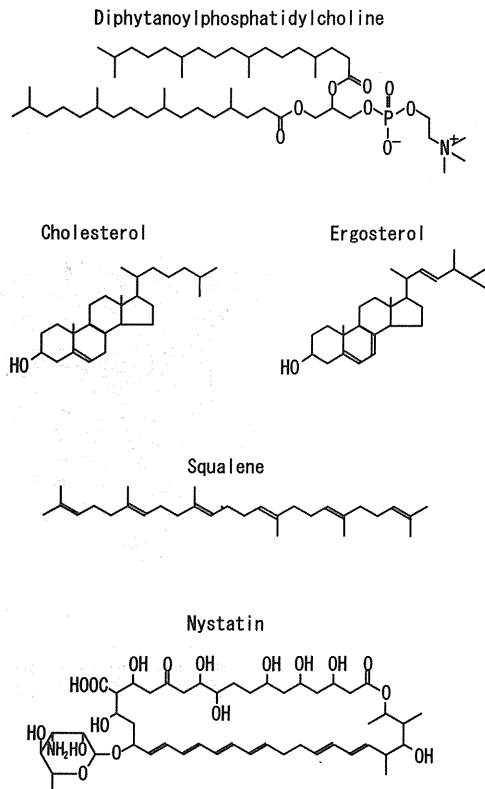


図2 平面膜に使用する分子の構造

使った方が実験の解釈が容易である。事実平面膜ではジフィタノイルホスファチジルコリンとグリセロールモノオレエイトのいずれかを使ったデータが蓄積している¹⁾。ジフィタノイルホスファチジルコリン(DΦPC, 分子量: 846.26, 図2)は分岐した飽和アシル基をもつ。全合成されたもので純度が高く化学的に安定である⁶⁵⁾。

膜に正味の表面陰電荷をもたせるためにホスファチジルセリン(PS)を加えた混合物を使うことも多い(例えばPC:PS=1:1, PE:PS=1:1)。一方, 特定のチャネル(例えばニコチン性アセチルコリン受容体)はチャネル活性維持のためにリン脂質だけでなくコレステロールを必要とする⁴⁸⁾。アソレクチンは大豆抽出物でPCを始め生体膜のすべての脂質成分を含む。

2.2 ペインティング法

リン脂質溶液を疎水性担体の穴に塗布すると, 有機溶媒が2枚の単分子層の間から排除され脂質二重層を形成する⁵¹⁾。ペインティング法の場合, 有機溶媒は通常デカンを使う。リン脂質溶液を穴に塗布する際に筆を使っていたことからペインティング法と呼ばれるが, 私達は泡吹き付け法を使っている。

- ①凍結保存したリン脂質溶液のクロロホルムを窒素ガスで完全に気化し乾固したあと, デカンを加える(20 mg/ml)。
- ②プレコーティング: 穴のまわりに両側から少量(2 μl)のリン脂質溶液を塗布し, 窒素ガス流下で乾燥させる。
- ③溶液をチェンバーに満たす。攪はん子の付近に気泡があるとスムーズに回転しないので取り除いておく。
- ④各コンパートメントを銀塩化銀電極(銀塩化銀合金, In Vivo Metric, US)あるいは塩橋を介してアンプに接続する。電位バランスをとる。
- ⑤清潔なパスツールピペット(隔壁の穴に傷をつけないため, 新しいパスツールピペットの

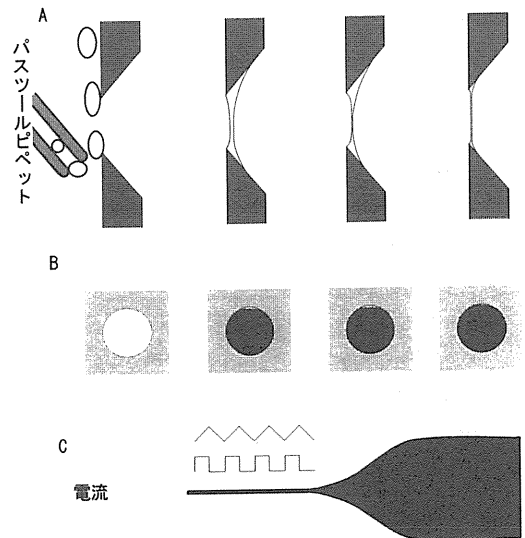


図3 ペインティング法(泡吹き付け法)による膜形成過程。

A. 穴の断面図。B. 穴の正面図。膜面からの反射光を実体顕微鏡で観察すると膜形成過程は, i) リン脂質溶液を塗布した直後, 虹色の膜(グラジエント)がみえる。ii) 下部に黒い楕円の領域ができこれが全体に広がる。iii) まわりのドーナツ状の環状バルク相が虹色に見えその中に黒い円形の二重層がみえる。境界部は明瞭である。C. ランプ波電位に対する電流応答と膜形成に対応した時間経過。

先端をガスバーナで熱し, ヒートポリッシュする。クロロホルム/メタノール(1:1)で洗浄する。)にごく少量(10 μl 以下)のリン脂質溶液を付け, 孔の下に先端を持っていき, 先端からの泡が孔を覆うようにして通過するようにゆっくり吹き出す(図3 A)。

- ⑥ランプ電位を負荷し, 膜容量を経時的にモニターする。i) 抵抗の増大でリン脂質溶液が穴を塞いだことがわかり, ii) 膜容量増大で薄膜化が進んでいることが確認できる。容量は速やかに増大し, 飽和レベルに達する(図3 C)。膜の薄膜化は光学的に黒膜化として観察できる。(25~50 Å の厚さの二重膜は周囲の厚い部分[環状バルク相]に比べ光をほとんど反射しないので黒く見える。図3 B)
- ⑦孔に比して小さな面積の黒膜しか形成されないことがあるが, 何度か破って張るうちに黒膜の占める割合が次第に大きくなって安定な

膜となる。

- ⑧大量のリン脂質溶液が塗布された場合は薄膜化が進まないことがある。その場合、泡を強く吹き付け膜を破る。この形状の孔を使う限り薄膜化が始まるのも、黒膜の面積が安定するまでの時間も速やかである。膜電位の印加は薄膜化を促進する。
- ⑨膜抵抗と膜容量をチェックする。膜抵抗は $100 \text{ G}\Omega$ 以上。黒膜の直径と膜容量から特性膜容量が計算できる。溶媒がデカンるとき特性膜容量は $0.3\sim 0.6 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ である。薄膜化したものが再び厚くなることがあるから膜容量が安定していることを確かめる。

例) 穴の直径が $200 \mu\text{m}$ で 2 重層の直径が $160 \mu\text{m}$ と読み取れたとする。特性膜容量が $0.5 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ のとき膜容量は 100 pF である。

2.3 張り合わせ法

張り合わせ法は Langmuir-Blodgett 法という単分子層形成技術を平面膜形成のために応用したものである。気-液界面に形成された単分子層を穴をあけた疎水性担体の両側に 2 枚対称させて、有機溶媒を含まない二分子膜(無溶媒膜)を形成することが当初のアイデアであった^{31,47,84}。ペインティング法にない利点は非対称組成の膜が形成できることである。リン脂質分子の膜内フリップ=フロップ速度は極めて遅いので非対称性は長時間維持される⁷²。

Langmuir-Blodgett法⁹³ 水溶液の上にリン脂質溶液を加え放置すると揮発性の高い有機溶媒(ヘキサンなど)が気化し、気-液界面に単分子層が形成される。単分子層に表面張力を負荷した状態で固体の担体(親水性あるいは疎水性)が気-液界面を通過すると、単分子層は配向をそろえたまま担体の表面に移行する。気-液界面を何回か上下させることによって単分子層は向きをそろえて表面に重畳する。

- ①プレコート; 疎水性の高いスクアレンを有機溶媒(ヘキサン)で希釈し、穴の両側からプレコートする。
- ②塩溶液をチェンバー両側の穴の下のレベルまで満たし、銀塩化銀電極あるいは塩橋を介し

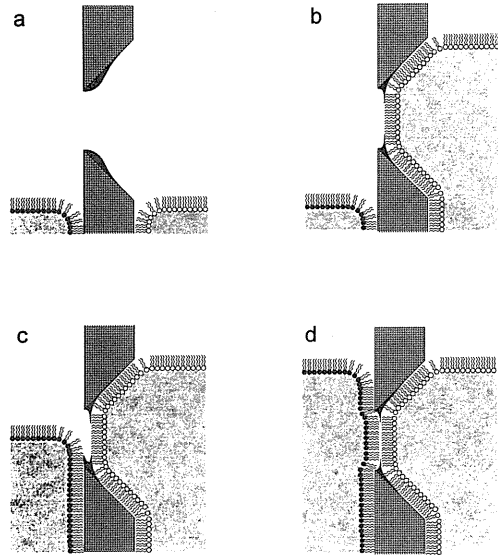


図4 張り合わせ法

a. 気-液界面には両側で異なる種類の脂質が単分子層を形成している。プレコートしたスクアレン(黒色で示す)は穴の付近にひろがっている。b. チェンバーの一方に緩衝液を加えて行き、液面が穴を通過するようにする。スクアレンがあるため一方の単分子膜が穴を越えて他側にひろがらない。c. 他方の液面も上げる。d. 非対称二重層の形成。スクアレンが環状バルク相を形成する。

アンプに接続する。

- ③リン脂質溶液(4 mg/ml ヘキサン)を両側に $50 \mu\text{l}$ 加える。リン脂質溶液の方が水溶液より比重が小さいので表面に分布する。
- ④数分間放置。溶媒が気化して気-液界面に単分子層が形成される(図4 a)。
- ⑤ランプ電位を負荷し、膜容量を経時的にモニターする。
- ⑥チェンバーの両側に溶液を加え水位を上げ、穴を通過させる(図4 b-d)。膜がただちに形成されるのが電気容量の経時変化として捉えられる。
- ⑦膜が形成されないときは液面の上下を何度か繰り返す。

張り合わせ法で形成されるいわゆる無溶媒膜では特性膜容量が $0.6\sim 0.8 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ であり、ペインティング法で形成される溶媒含有膜(0.3

~0.6 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$) に比べ薄い。

2.4 クリーンな系の確立

平面膜は界面活性剤を嫌う。両親媒性の界面活性剤が膜を攪乱するからである。ひとたび界面活性剤を使うと取り除くのは容易ではないので⁶⁷⁾、界面活性剤を含まない系を確立することが必要である。器具洗浄法は強酸とクロロホルム/メタノールでおこなう。私達の基本的な方針は、「できる限り器具はディスプレイに、それ以外は化学的に安定なテフロンやガラスで作り強力に洗浄」である。クリーンにすればするほど膜は安定になる。以下のような系では膜は高電圧にも耐えられ極めて安定である。

器具洗浄法

- ①テフロンチェンバーの真空グリスをティッシュペーパーで拭う。
- ②テフロンチェンバー、ガラス器具などを流水下で洗浄(塩を除く)。
- ③強酸(濃硝酸：濃硫酸=1：3)中に2, 3日放置。
- ④流水で4時間水洗後, 2回蒸留水で数回洗う。
- ⑤乾燥。
- ⑥クロロホルム：メタノール(2：1, v/v)中で超音波洗浄15分。
- ⑦乾燥。

リン脂質

高純度(99%)リン脂質が Avanti (Avanti Polar-Lipids, Inc., US) などからクロロホルム溶液として手にはいる。私達はこれをさらに精製して使っている。以下の操作に使用する有機溶媒は高速液体クロマトグラフィー用のものである。脂質の基本的な取り扱いについては「脂質研究法³⁴⁾」を参照のこと。

イオン交換クロマトグラフィーによるリン脂質精製法

この方法による脂質分離の原理は第一義的にはイオン性グループの交換に基づくが、水酸基のような非イオン性グループに基づく極性の差もまた影響をおよぼす。

- ①ジエチルアミノエチル(DEAE)-セルロースを脱気した氷酢酸に混和し、一夜放置する。

- ②直径2cmのカラムに約20cmの高さに充填。
- ③カラムを3~5ベッド容のメタノール、クロロホルム：メタノール(1：1)、クロロホルムで順次洗浄する。
- ④リン脂質のクロロホルム溶液をカラムに注入。
- ⑤3~5ベッド容のクロロホルムで洗浄。
- ⑥特定のリン脂質に対応した溶出溶媒で溶出。PCの場合クロロホルム：メタノール(9：1)、PEの場合クロロホルム：メタノール(7：3)で溶出。溶出の有無は、i) フィルター紙上に数滴滴下し、ii) 溶媒を乾燥させる。iii) よう素ガスを満たした密閉容器にいれ、iv) 褐色に変色すること、で確かめる。
- ⑦薄層(TLC Aluminium Sheets, Silica gel 60 F₂₅₄ pre-coated, Merck)クロマトグラフィーで溶出したリン脂質の純度をチェックする。
- ⑧溶出した液を窒素ガスで溶媒気化後、乾燥重量を計り、クロロホルムを加え、一定濃度にする。
- ⑨一回使用量をガラスバイアルに分注し、窒素ガスで満たす。-70℃凍結保存。

塩の精製

有機物の不純物を熱処理で除く。

- ①塩の粉末をろつばに入れ、電気炉(ADVANTEC KL-160)で500℃、24時間処理する。
- ②固まった塩を乳鉢で粉末にする。
- ③デシケータに保存する。

B. 平面膜の物理化学

平面膜の物理化学を知ることによって、より再現性の高い、コントロールされた実験を行うことができる。このような知識を基に安定な膜形成や膜融合のための多くの技術が開発されてきた。

(1) 平面膜の構造と形成

平面膜の構造は、疎水性の材料でできた穴に接した環状のバルク相(リン脂質と大量の有機溶媒からなる)とそれに支えられた脂質二重層からなる(図5)。環状バルク相と脂質二重層は一定の接触角をもち、その境界は光学的にはっきり区別できる⁸⁹⁾。いわゆる脂質二重層とは2枚の単分子膜とそれに挟まれた有機溶媒層を

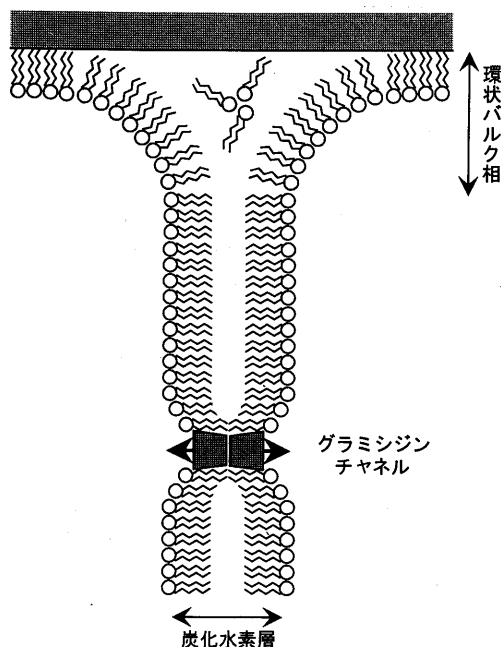


図5 平面膜の各相

環状バルク相(実際にはもっと大きい)には逆ミセルが存在する。グラミシジンチャネルの形成部位では有機溶媒層が排除されている。

さす。脂質二重層の厚さを規定するものは、i) リン脂質分子のアシル基の長さ、ii) コレステロールの有無(コレステロールを含むと膜は厚くなる¹³⁾)、iii) 有機溶媒層の厚さ(使用する有機溶媒分子が長いほど有機溶媒層は薄い⁸⁹⁾)、の3つである。

パッチクランプでのシール(ガラスピペットと生体膜の接点)に相当するものが環状バルク相である。環状バルク相と二重層の2つの相は化学平衡にある。量的には環状バルク相が圧倒的であるから、これが二重層の安定性と物理化学的性質を規定している。

両親媒性であるリン脂質分子はある濃度以上ではミセルを形成する(臨界ミセル濃度^{81,85)})。この濃度以上でないと二重層は形成されない。ペインティング法において、疎水性担体の穴に塗布した脂質溶液中のリン脂質分子は水との界面で単層に配向する。脂質溶液バルク相の有機溶媒は2枚の単分子層の間から排除され、膜は薄くなる。薄膜化の駆動力は、初期のPlateau-

Gibbs 境界吸引力, 中, 後期の van der Waals 力である。更に膜が薄くなると単分子層間の立体障害による反発力がバランスし, 一定の厚さに落ち着く⁸⁹⁾。わずかに残った有機溶媒相と2枚の単分子層で脂質二重層を形成する。

ペインティング法での薄膜化過程と張り合わせ法での膜形成過程は基本的に同じ原理が働いている。無溶媒膜では, 張り合わせ過程で2枚の単分子膜間にスクアレンを取り込み一旦溶媒含有膜となるが(図4C), ただちにスクアレンが排除され薄膜化することが光学的に観察されている⁵³⁾。形成された膜の物理化学的性質も溶媒含有膜と, いわゆる“無”溶媒膜とは同じである。環状バルク相のない平面膜はあり得ない⁸⁹⁾。

(2) 静電膜容量

脂質平面膜法では膜面積と, 必要なら厚さもコントロールできる。平面膜の実験において, 膜容量の測定は平面膜の構造と安定性を反映する重要な情報である。電気的に測定した膜容量と光学的に測定した膜面積とから特性膜容量(C_m)が求まる。

$$C_m = C_t / A_m \quad (1)$$

C_t は全容量, A_m は膜面積である(有機溶媒を含まない2分子膜の特性膜容量は $0.8 \mu\text{F}/\text{cm}^2$, 生体膜は $1.0 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ である)。特性膜容量は主に膜の厚さと炭化水素層の誘電率によって決まる。これを幾何学的特性膜容量(C_g)と呼ぶ⁸⁹⁾。

$$C_g = \epsilon_0 \epsilon_{hc} / d_{hc} \quad (2)$$

ϵ_0 は真空の誘電率, ϵ_{hc} は炭化水素の比誘電率, d_{hc} は炭化水素層の厚さである。ここで炭化水素層の厚さとはリン脂質分子の炭化水素鎖の長さとお有機溶媒層の厚さを含むものである(図5)。脂質分子アシル基とヘキサデカンなどの炭化水素の動的な振る舞いは同じなので⁸⁸⁾, 均一の相として一定の比誘電率 $\epsilon_{hc} = 2$ をとる。

これに加えて, 二重層表面の電気二重層

(C_{dl} : Gouy-Chapman-Stern 層⁴¹⁾)も特性膜容量にかかわる。この2つは直列の容量だから C_m は次のようになる。

$$\frac{1}{C_m} = \frac{1}{C_g} + \frac{2}{C_{dl}} \quad (3)$$

C_{dl} も(2)式と同様の式で表現できる。ただし、このとき ϵ_{dl} は電気二重層の比誘電率、 d_{dl} はデバイの長さで、表面電荷密度とイオン強度に依存することはいうまでもない。

特性膜容量は使用した有機溶媒分子によって決まるので、測定した膜容量は膜面積をあらわす。同一の穴を使用しても二重膜の占める割合は一定ではなく、膜容量は変化する。穴の70~80%を二重膜が占めるという状態が安定である。あまりにも容量が小さいのは環状バルク相が大きすぎて二重膜面積が不安定である。穴の面積にくらべて二重膜の面積の方が大きい場合はチェンバー両側の水位が等しくなく、膜が水圧差でふくらんでいると考えられる。これも不安定である。

膜容量は電位に依存して変化する。電位の絶対値が大きいと電縮のため環状バルク相と二重膜相の接触角が変化し、環状バルク相が退縮し二重膜の面積が広がることによる⁸⁹⁾。

$$\Delta F_V = -\frac{\epsilon_0 \epsilon V^2}{2d} \quad (4)$$

ΔF_V は電位 V による自由エネルギーの変化である。膜容量の電位依存性変化は非線型であり、電位ステップ応答の実験には好ましくない。一過性容量電流の単純な線型サブトラクションができないからである。環状バルク相をできるだけ小さくすること以外に解決の方法はない。

(3) 溶媒含有膜と無溶媒膜

溶媒含有膜と無溶媒膜の間には質的な差があるわけではなく、形成された膜の特性膜容量は使用する有機溶媒に依存する。実際、張り合わせ法ではスクアレンのほかにヘキサデカンもしばしば用いられ、特性膜容量はやや低い値をと

る。

溶媒含有膜と無溶媒膜でチャネル活性に差があるという報告はない³⁸⁾。チャネルを平面膜に組み込む膜融合に関しては無溶媒膜のほうが困難であるのでペインティング法の方が頻繁に使われている。しかし最近になって無溶媒膜で形成できる非対称性膜のチャネル活動に対する影響が研究されはじめてきた⁴⁾。

(4) 脂質組成

荷電脂質(PS, PI[ホスファチジルイノシトール]など)を加えることによる表面電荷密度の変化は静電膜容量だけでなくチャネルに対しても多大な影響がある。特にイオン透過について平面膜で詳細に検討されてきた^{24,40)}。

脂質組成によって相転移温度は異なる⁸¹⁾。相転移温度の上下で膜の物理的性質が変化するのでチャネルの活性に影響する¹²⁾。脂質分子はその形状によって集合体として特徴的な構造をとる。例えばPCは円柱状で二重膜相(L_α)をとりやすいが、ホスファチジルエタノラミン[PE]は頭部が小さい円錐形で六角構造(H_\parallel)をとる。このような構造の多型性が膜融合などの膜現象に重要な役割を担う²⁵⁾。

C. 膜蛋白組み込み法

手前のコンパートメントをcis側、他側をtrans側と呼ぶ。操作のし易いcis側に膜蛋白やベシクルを加えることが多い。電流の突然のジャンプとそれに引き続くコンダクタンスの遷移、あるいは次々と起こる電流のステップ⁴⁴⁾でチャネルが平面膜に組み込まれたことがわかる。

(1) 膜融合

平面膜にチャネルを組み込むのに最もよく使われる方法である³⁸⁾。膜分画やリボソームに組み込んだ膜蛋白に対して適用する。膜分画には目的とするチャネル以外のものが含まれていることもあるが、チャネルに対する処理としては実験操作上もっともマイルドである。ホモジェナイズすら不必要な膜分画もある⁷⁰⁾。

膜融合を促進する条件は次のようなものである^{15, 26, 38}). i) 浸透圧差(ベシクル内に水が流入するような条件), ii) ベシクルが溶質に対して透過性が高いこと(イオンチャネルを含んだベシクルの方が含まないものより融合しやすい.), iii) 平面膜のリン脂質組成に酸性リン脂質が含まれていること(酸性リン脂質[PS, PI]はカルシウム($[Ca^{2+}]_{cis}$: 1~10 mM)を介してベシクルを平面膜に強く結合させ融合の確率を高める. ただしイオン透過の解釈において表面電荷の影響を考慮する必要がある.), iv) 平面膜のリン脂質組成に PE が含まれていること(PE は脂質平面膜中で非二重膜(六角状)構造を取る²⁶).), v) 溶媒含有膜(溶媒含有膜の方が無溶媒膜より融合しやすい.), vi) 攪はん(非攪はん層を小さくし, ベシクルが平面膜に接近し易くする.), vii) 平面膜のごく近傍からベシクルを吹き付ける.

i), ii) と vi) は必須である. これらの条件は膜の組成や構造変化によって膜の不安定性をもたらしこれが膜融合を促進する.

1. 1 膜融合法

- ① 対称溶液条件で膜形成後, 高濃度塩あるいは非電解質溶液を cis 側に加え, 膜の両側に浸透圧差をつける. 浸透圧差 3 : 1 位からはじめる. なお, ベシクル内浸透圧よりも trans 側の方が低張でなければならない.
- ② 膜分画や精製蛋白の再構成ベシクルを加える. ベシクル内浸透圧が cis 溶液よりも高ければベシクルは体積膨張をおこし, 膜融合しやすくなる. 膜のごく近傍(数 10 μm)からベシクルを吹き付けると効率がよい¹⁵). 加えるべき膜蛋白量は 0.2~50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ である.
- ③ 攪はんする. 膜融合に攪はんは不可欠である.
- ④ ときどき膜容量をチェックせよ. ベシクルの添加により膜容量が小さくなることもある.

一個のベシクルが一分子のチャネルしか含んでいないという保証はない. また膜融合が次々と起こることもある. 一個だけのベシクルを再

現性よく融合させるような条件を試行錯誤の中で選ばなければならない.

組み込まれた膜蛋白の配向はベシクル内での配向によって決まる. 例えば, ER を生化学的に取り出すと right-side-out であるので cis 側は細胞質側となる. 微絨毛ベシクルも right-side-out だが cis 側は細胞外である. リポソームは一般にベシクルより融合しにくい. మరి リポソーム上の膜蛋白の配向はランダムである.

1. 2 融合の停止

攪はんをやめるだけで膜融合は停止するが, 完全に膜融合を停止させるには, i) ベシクルを除く, ii) cis 側のカルシウムを除く, iii) 浸透圧を平衡にする. cis 側を灌流すればすべての条件は満たされる. 単に cis 側への EGTA の添加によって, あるいは trans 側への高浸透圧溶液の添加により融合は停止する.

1. 3 膜融合機序

脂質二分子膜には, 膜蛋白の関与なしにそれ自体の性質として膜融合する能力があるということは以前から知られていたが⁵⁵), その機序が次のようなものであることが明らかになったのはごく最近のことである. 膜融合は i) 膜張力負荷時, あるいは ii) 膜が高い曲率を持った時に, 2 枚のリン脂質膜が近接して疎水性相互作用によって起こる²⁹). 張力や変形によってリン脂質の親水性頭部間の距離が離れ, その下に存在する炭化水素の疎水性部分が露出すると, 2 枚の膜の間に疎水性相互作用による吸引力が働いて速やかに接近・融合する. 膜融合の基本過程は脂質相互作用である. 融合促進膜蛋白の役割は融合を起こしやすくするため, 2 枚の膜を高い曲率に変形させ疎水性相互作用を促すものである⁴⁶). 膜融合は半融合という過程を経る(図 6). 2 枚の二重膜のうち相対する 2 枚の単層膜が消失し, 1 枚の二重膜ができる. 融合に先立つ融合ポアはこの半融合した二重膜に形成され, その実体は膜蛋白ではなく脂質自身であるといわれている⁴⁶).

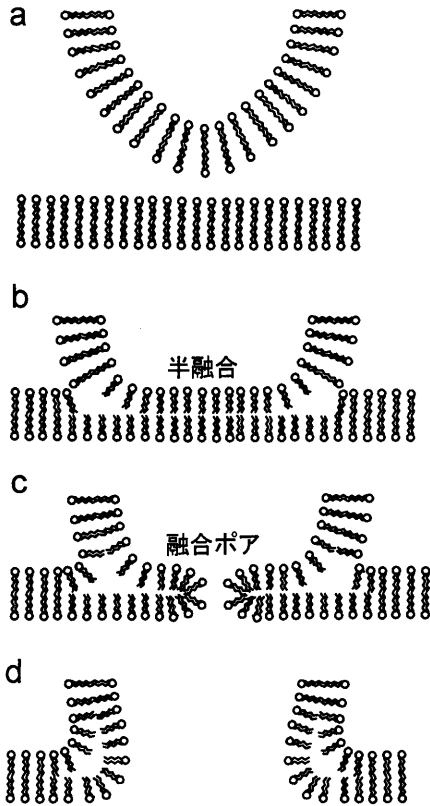


図6 膜融合過程

a. 高い曲率を持ったベシクル(上)が平面膜に接近している。b. 半融合。c. 融合ポア。d. 真の膜融合。

膜張力増大のために平面膜法では浸透圧差を利用する。ベシクルが平面膜に結合すると、ベシクル内と trans 側との浸透圧差で平面膜とベシクルの2枚の膜を経て水が流入し、ベシクル内圧が上昇する。体積膨張による膜張力の増大により膜融合が起こると考えられている。ここでベシクル上のチャネルの有無がベシクル内圧上昇の程度を規定する¹⁵⁾。もしベシクルがチャネルを含まないリポソームであると、ベシクル内静水圧の上昇に従って水は cis 側へ流出する(図7 A左の白矢印)。cis 側からベシクル内へ十分な量の浸透圧溶質を流入させるようなチャネルが存在すれば(図7 B黒矢印)体積膨張は促進する。trans 側からの水流入によるベシクル内溶質濃度の希釈がおさえられるからである。

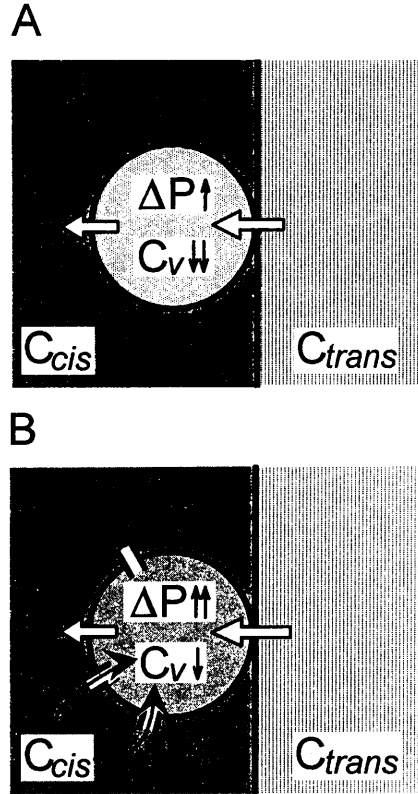


図7 平面膜とベシクルでの水と溶質の流れ

A. ベシクルにチャネルを含まない時。 $C_{cis} > C_v > C_{trans}$ 。なお、 C_{cis} などの記号は溶質濃度を表わす。水の流れ(白矢印)は trans 側からベシクルへは浸透圧差によって、ベシクルから cis 側へは静水圧差によって起こる。B. ベシクルにチャネルを含む時。 $C_{cis} \approx C_v > C_{trans}$ 。黒矢印: 溶質の流れ。cis 側とベシクル内が等浸透圧でも水の流入によって溶質濃度は下がる。溶質を透過するチャネルがあればベシクル内の溶質濃度は高く維持される。したがって $\Delta\Pi_{channel} > \Delta\Pi_{no\ channel}$ 。ただし $\Delta\Pi$ はベシクルと trans の間の浸透圧差。

ベシクルの平面膜への融合過程を一般の膜融合過程の枠組みで捉えようと、ベシクルが平面膜に結合して張力発生によって半融合が起こり、融合ポアの発生にも張力が寄与する、と考えると理解できる。溶媒含有膜と無溶媒膜での膜融合の頻度の差は膜の変形能の差によるものであろう。溶媒含有膜は膜の厚さの変化が起こり易く、局所的に「えくぼ」やレンズ(二分子膜の間に有機溶媒が蓄積しレンズ状になったもの)などの異なる曲率を持った膜が存在する⁸⁹⁾。

(2) ナイスタチン法

平面膜法の実験で律速段階になるのはベシクル融合過程などのチャネル組込み段階である。従来、この段階を完全にコントロールできなかった。ベシクルのサンプルによる差、同一のサンプル内の不均一性などによって融合されやすさに大きな差があることが知られている。ベシクルに含まれるチャネルの種類によっても融合のしやすさが異なる。

Woodbury と Miller⁹¹⁾はナイスタチン法という画期的な方法を開発した(図8)。これはすべてのベシクルにあらかじめ外来性のチャネル、すなわちナイスタチン=チャネルを組込み、個々のベシクルの融合しやすさを均一化すると同時に、膜融合現象を電氣的にリアルタイムで観察できるようにしたものである。その原理は、ナイスタチン=チャネルの3つの特性をうまく利用している。i) ナイスタチンは疎水性の高い低分子のポリエーテルであり、膜相に移行しやすい。ii) ナイスタチン=チャネルはカチオンとアニオンの選択性が弱い(ややアニオンに選択性²¹⁾)ため大量の溶質を輸送でき、ベシクル内圧を増大できる。iii) ナイスタチン=チャネルはステロールを含まない膜では存続できない。エルゴステロールをベシクルにのみ含ませ、平面膜には含ませないというのがこの方法の要点である。

ステロール コレステロール、エルゴステロールなど(図2)。ただしエルゴステロールの方がナイスタチン=チャネルの活性を維持しやすい。ナイスタチン単量体がオリゴマー(10量体)となってチャネルを形成する際に糊の役目をしているといわれている。

1個のベシクルが平面膜に膜融合すると、ベシクル内ですでに開いているナイスタチン=チャネルが電流のジャンプとして直ちに現れる(図9Bc)。ベシクルがチャネル蛋白を含むと、ナイスタチン=チャネルによる集合電流の上に、開閉を示す単一チャネル電流が認められる。融合後しばらくはベシクル膜のエルゴステロール成分が局所に留まるため(膜の黒い部分)ナイ

スタチン=チャネルの活性も持続する(図8Bd)がエルゴステロール濃度が拡散のため希釈されるに従ってチャネル活性は次第に消失していく(図8Be)。ベシクルに含まれていたチャネル蛋白は活性が持続する。なお通常のイオン環境ではナイスタチンのコンダクタンスは小さく単一チャネルとしてではなく巨視的電流として記録できる。ナイスタチン=チャネル活性の消失はゆっくりした電流の緩和消失過程として観察される。

従来、チャネル活動が観察できない場合、膜融合していないのかチャネル自体に問題があるのか判断がつかなかった。この方法を適用することによって膜融合が可視化されたため、チャネルに問題があるかどうかは明らかである。ナイスタチンがベシクルに均一に分布していると仮定すれば、一過性の電流量は個々のベシクルの大きさをあらわす。このことからベシクルのサイズの不均一性を見積もることができる。またベシクル内で機能しているチャネルの存在確率がわかる。

細胞内膜系(ER)はコレステロールを含まない¹³⁾。ベシクル懸濁液にエルゴステロールを単に加えてもベシクルには取り込まれない。エルゴステロールを含んだリポソームをあらかじめ作りそれをベシクルに融合させるというステップが不可欠である。ナイスタチン含有ベシクルの作製法と、蛋白含有ベシクルとナイスタチンベシクルの融合法について述べる。

ナイスタチン含有リポソームの作製(図9)

- ①リン脂質組成(モルパーセント)：PE 50%，PC10%，PS 20%，エルゴステロール20%。
- ②リン脂質 1 mg/100 μ l クロロホルムに 2 μ l のナイスタチンストック溶液(10 μ g)を加える。
- ③窒素ガスで溶媒を飛ばした後、NaCl 溶液 0.2 ml を加える。
- ④ソニケーション(パス)10~100秒。ソニケーター(ブランソン, Sonifier II)の破碎ホーンを溶液に浸す方法では金属の混入が避けられ

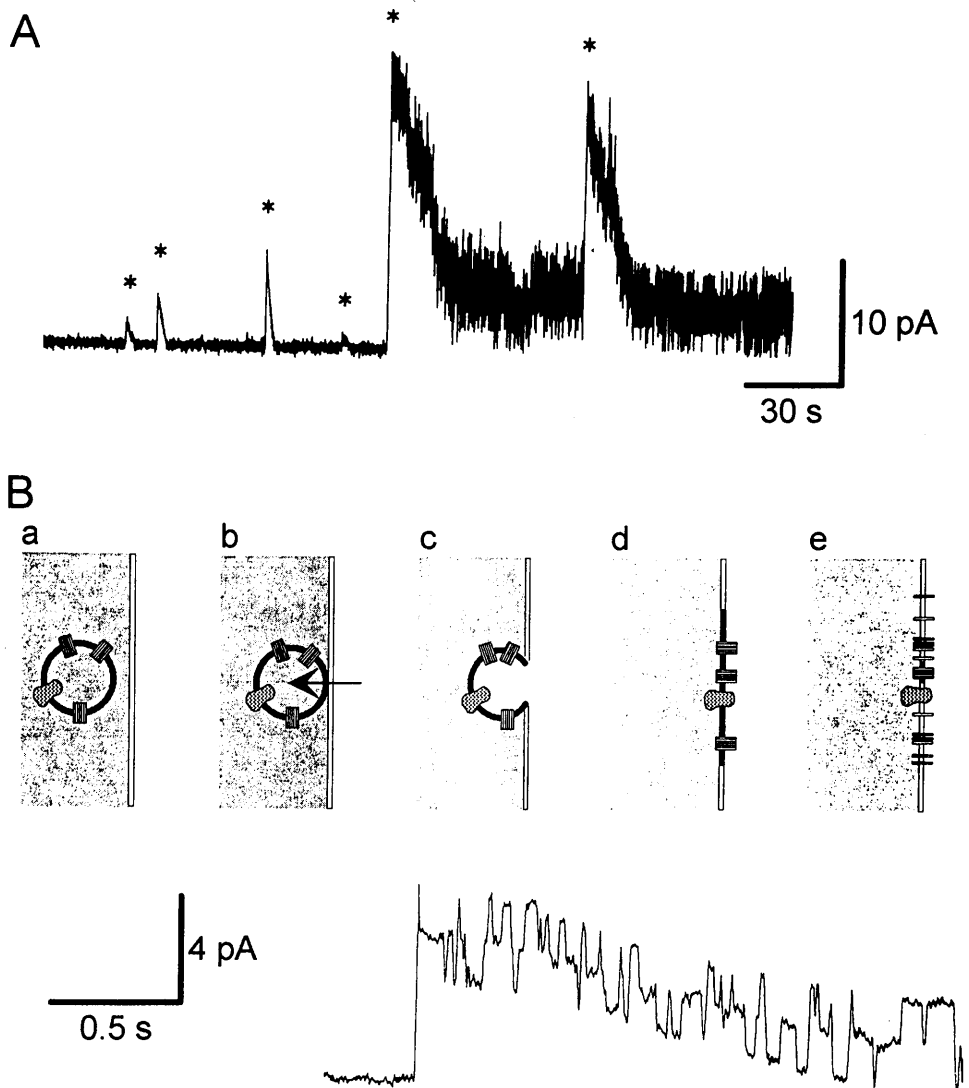


図8 ナイスタチン含有ベシクルの融合とナイスタチン=チャネルの消失過程

A. ナイスタチン法による電流記録。*が融合による電流ジャンプである。電流は一過性で秒オーダーの消失過程を示す。はじめの4つの融合事象はチャネル蛋白を含まないので電流レベルが基線まで戻る。融合と同時にチャネル蛋白の活動が観察され、ナイスタチン=チャネル消失後も持続して活性を保つ。B. ナイスタチン含有ベシクルの融合。不定形なのがチャネル蛋白、長方形なのがナイスタチン=チャネルである。白線は平面膜(エルゴステロールを含まない)を表す。膜の左側がベシクルを添加する cis 側である。ベシクル膜を表わす黒い円はエルゴステロールを含んでいることを示す。a) cis 側の方が浸透圧が高い。cis 側とベシクル内は等浸透圧である。b) ベシクルが平面膜に吸着するとベシクル内と trans 側との浸透圧差で水がベシクル内に流入し膨張する。c) 融合直後の様子。ここで電流のジャンプが起こる。d) 平面膜の黒い部分は未だエルゴステロールを含んでいる。e) エルゴステロールの希釈とともにナイスタチン=チャネルは単量体に解離する。なおこのチャネルはシビレエイ電気器官から得られた Cl チャネルである。約50%のサブコンダクタンスレベルを持つ単一チャネルである。(Woodbury & Miller⁹¹)より改変)

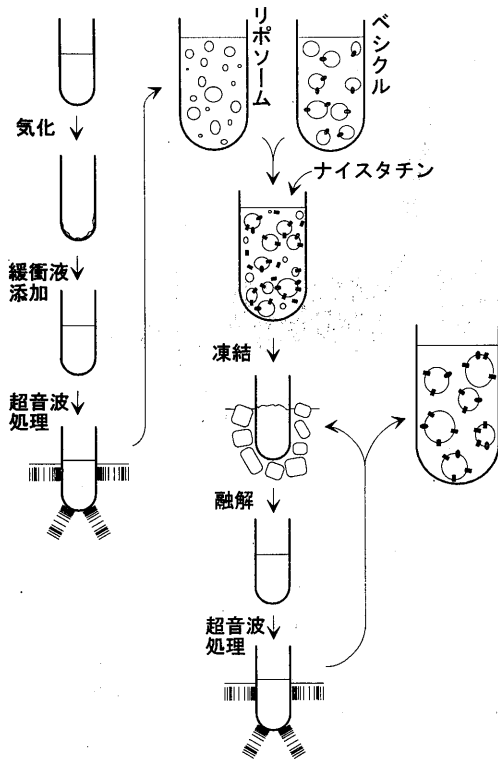


図9 ナイスタチン含有蛋白リポソームの作製
左) エルゴステロール含有リポソーム作製。中央) リポソームとベシクルの融合とナイスタチンの添加。凍結⇒融解⇒ソニケーションのサイクルを3回繰り返す。

ない。バスソニケーション(カップ型破碎ホーン)が望ましい。このときソニケーターの水の水位と試験管内の液面を合わせる⁵²⁾。

- ⑤リポソームをドライアイス/エタノールで凍結。
- ⑥使用直前に解凍し、5～15秒ソニケーション。(大きな単層リポソームを作るため)

リポソーム溶液のナイスタチンの最終濃度は50 $\mu\text{g/ml}$ である。ナイスタチンコンダクタンスから予想されるリポソームの大きさは最後のソニケーション時間に反比例する。膜上のチャネル数はナイスタチン濃度の高い次数に依存する。濃度が少し低いとチャネルを形成しないし、高すぎるとカチオン選択性チャネルが形成される(double-sided action²¹⁾)。困ったことにこの

チャネルはエルゴステロール依存性ではない。至適濃度は50～60 $\mu\text{g/ml}$ である。

チャネル蛋白含有リポソームの作製(図9)

- ①リポソーム作製：ナイスタチンを含まないリン脂質(PE 50%, PC 10%, PS 20%, エルゴステロール20%；2 mg)の溶媒を蒸発させ、300 mM NaCl 溶液 200 μl を加え、1分間ソニケーション。
- ②精製膜ベシクル(50～100 μg ；保存緩衝液は400 mM 蔗糖)を300 mM NaCl で平衡したセファデックス G-50 カラム(ファーマシア)を通す。蔗糖はベシクルとリポソームの融合を妨げるからである。
- ③膜ベシクルをナイスタチン含有リポソームに加える。
- ④ナイスタチンを加え、最終濃度が60 $\mu\text{g/ml}$ とする。
- ⑤凍結。ドライアイスにエタノールを加えた中に試験管を入れ凍結させる。
- ⑥融解。
- ⑦ソニケーション15～20秒。ソニケーションによってベシクルの大きさは小さくなる。
- ⑧凍結⇒融解⇒ソニケーションのサイクルを3回繰り返し、膜蛋白を加えたリン脂質に分散させる。

ナイスタチン法の問題点は、エルゴステロールをベシクルに取り込ませるために凍結融解法が必要なことである。この過程でチャネル蛋白が不活性化される可能性がある。またニコチン性アセチルコリン受容体のようにチャネル活性にコレステロールが不可欠なチャネルには使えない。平面膜にコレステロールを含ませるとベシクル融合後、ナイスタチン=チャネル活性が消失しないからである。

(3) 直接挿入法

チャネル形成抗生物質の多くは両親媒性の小分子(ペプチド¹⁾、ポリエン²¹⁾) であるので水相から容易に膜相に移行する。多くの種類

が知られているチャネル形成毒素蛋白(コリシン⁷⁴), エクトキシン²²), ラトロトキシン³⁷) など)の中には大きな蛋白分子のものもあるが, そもそも水相から膜相に移行できるような特殊化した機能が分子デザインされている. 膜への組込みの際に大規模な構造変化が起こる⁷⁴. 組み込まれるチャネルの向きは一定である. したがってこれらのチャネルの研究は比較的容易で毒素が膜をヒットする確率の問題である(膜面積と濃度による).

一方, 可溶化膜蛋白がどのようにして水相から膜相に移行するのか明らかではない. 可溶化蛋白の本来の膜貫通部分を覆っている界面活性剤がどのような過程で平面膜脂質に置き代わるのか? 真核生物では生合成されたごく限られた特定の蛋白が翻訳後膜透過という過程をとるが, それにはシャペロンなど多くの蛋白が関わってモルテングロビュール構造などを介して進むといわれている¹⁸). 界面活性剤で可溶化された蛋白と同一に議論することはできない.

直接挿入法の場合, 蛋白濃度を連続的に変化させてチャネル活性の出現を見る以外に方法はない. しかし, 可溶化蛋白の場合, 濃度を高めたからといって膜への取り込みが促進するわけではない. 特に可溶化蛋白の濃度上昇とともに界面活性剤の濃度も上昇するという厄介な問題がある. これに関連して重要なことは, 使うべき界面活性剤の種類を選ぶことである. 界面活性剤(Triton X など)の中には膜を攪乱し, みかけ上チャネル様の振る舞いを示すものがある³⁸). 可溶化に使った界面活性剤単独での平面膜への効果をあらかじめ検討しておく必要がある. チャネルが組み込まれたら cis 側を灌流することによってさらにチャネルが組み込まれるのを防ぐ.

ミトコンドリア電位依存性アニオンチャネル⁸⁶)のように直接挿入法での研究が確立したものはよいが, 新しいチャネル蛋白に対しては直接挿入法と並行して, リポソームへ一旦再構成してから膜融合過程を経て平面膜に組み込む方法を行っておく必要がある.

(4) 単層展開法(図10)

- ①通常の張り合わせ法に使うリン脂質溶液(4 mg/ml ヘキサン)を水面上に添加し, 気-液界面に単分子層を形成する.
- ②チェンバーの cis 側にベシクルを加える.
- ③両側の水位を上げ平面膜を張る. チャネル分子を含んだ単層膜の部分が穴を通過することを期待する.

この方法は張り合わせ法にのみ適用できる. 両親媒性のリン脂質は, 水中でミセルを作るのと同様に, ポテンシャルの谷間である気-液界面に吸着し単分子層を形成する⁶⁹). ベシクル

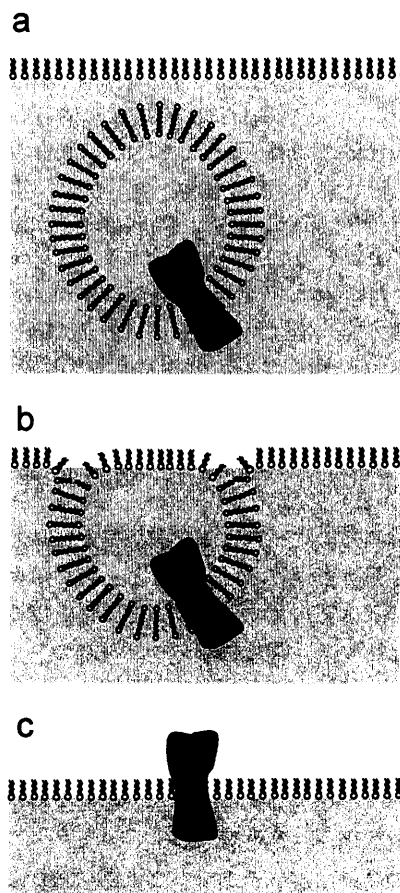


図10 単層展開法

a. 気-液界面に単分子層を形成する. b. 水中のベシクルは単分子層に接触する. c. ベシクル上のチャネルは単分子層に移行する.

を形成するリン脂質も自発的に気-液界面に単層展開する。ベシクルに組み込まれていた膜蛋白も単分子層のなかに埋めこまれるが膜蛋白のオリエンテーションはランダムである。張り合わせ法ではこの単層を張り合わせればよい。この方法ではチャネル蛋白が空気に暴露することによって変性する可能性がないとはいえない。しかし組込み方法の選択肢の一つとして、他の方法が有効でないときに利用できる。

D. 平面膜系のエレクトロニクス

電気系のセットアップの例を示す。

アンプ：Dagan Integrating patch clamp system 3900
あるいは

Warner Instrument Corp., Model BC-525B bilayer clamp

フィルター：NF Electronic Instruments, Dual Channel Programmable Filter 3624 あるいは
Warner Instrument Corp., Low Pass Bessel Filter 4 Pole, LPF-100A

データレコーダー：ソニー PCM-501ES を改造したもの¹⁰⁾：DC~44.1 kHz あるいは

Instrutec, VR-10B Digital Data Recorder

ビデオテープレコーダー

チャートレコーダー：Gould, EasyGraf TA240

除振台：明立, Visolator

その他, コンピュータ, A/D コンバータ (Axon Digidata), ソフトウェア (pClamp) など。

平面膜系のノイズは平面膜面積が大きく、大静電容量をもつことに起因する。特に膜面積が大きいとき音のピックアップによる低周波ノイズが派生する。機械的なノイズや音のノイズはいずれも溶液が振動したり平面膜がゆれたりして膜面積(膜容量)がわずかに変化することによる。通常のシールドケージではなく、密閉したファラデイボックスを用いる。厚い素材を使い防音材でボックスを覆う。

この章ではパッチクランプでは問題にならないもので平面膜系ではじめて問題になる点について述べたい^{71,90)}。

(1) バックグラウンド電流ノイズの最小化

ギガオームシールパッチクランプ法で問題となる、ヘッドステージ・フィードバック抵抗(50 GΩ)やシール抵抗に起因する熱雑音電流は平面膜記録では取るに足りない。平面膜法におけるバックグラウンドノイズは主に、大きな平面膜容量を介して電位ノイズを電位固定することに起因する。これは

$$I=C\frac{dV}{dt} \quad (5)$$

の関係を思いおこせば直感的に理解できる。特に電位の高周波数のゆらぎは大きな電流ノイズとしてあらわれるので重大である。ノイズ源のスペクトル密度は帯域と容量の2乗に比例して大きくなるので、膜容量の大きな平面膜では記録帯域が制限される。具体的な電位ノイズ源は：1) パッチアンプのFET(電界効果型トランジスタ)入力, 2) 電位コマンド回路, 3) アクセス抵抗, である。

1. 1 入力電位ノイズ

ヘッドステージ入力電位ノイズは、全入力容量 C_i を介して電流ノイズを発生させる。そのスペクトル密度 $S_{i(f)}^2$ はオームの法則に従い次のようになる⁷⁶⁾。

$$S_{i(f)}^2 = \frac{e_n^2}{X_c^2} \quad (6)$$

e_n はヘッドステージ入力の電位 rms ノイズ ($V/\sqrt{\text{Hz}}$), X_c は平面膜の容量性リアクタンスである。容量性リアクタンスは

$$1/(2\pi fC_i) \quad (7)$$

f は周波数, また

$$C_i = C_b + C_s + C_{FET} \doteq C_b \quad (8)$$

C_b は平面膜容量, C_s は浮遊容量, C_{FET} は FET 入力容量である。

$$S_{i(f)}^2 = e_n^2 (2\pi fC_b)^2 \quad (9)$$

内部電位のノイズは平面膜に相当する大きさの容量をアンプに接続することにより簡単に評価できる。パッチクランプ法に適したアンプが平面膜法にも適切であるという保証はない。

電位の外部コマンド，特にコンピュータからの D/A 出力を使うときはそのノイズに注意する必要がある。

1. 2 アクセス抵抗熱電位ノイズ

アクセス抵抗(R_a =平面膜と直列に存在する溶液と電極の抵抗)⁵⁾における熱電位ノイズを平面膜容量(C_b)を介して電位固定することによる電流ノイズは，そのスペクトル密度が次のようになる。

$$S_{i(t)}^2 = 4 kT \operatorname{Re}\{Y(f)\} \quad (10)$$

k はボルツマン定数， T は絶対温度， $\operatorname{Re}\{Y(f)\}$ は，直列な R_a と C_b のアドミッタンスの実部(コンダクタンス)である。これは

$$\operatorname{Re}\{Y(f)\} = \frac{(2\pi f C_b)^2 R_a}{1 + (2\pi f C_b R_a)^2} \quad (11)$$

一定の帯域において R_a の下限では

$$\operatorname{Re}\{Y(f)\} = R_a (2\pi f C_b)^2 \quad (12)$$

となり，7式と同様の形となる。すなわちヘッドステージの内部雑音と，直列の膜容量とアクセス抵抗で発生する電位雑音は同等に表現できる。 R_a の上限では

$$\operatorname{Re}\{Y(f)\} = 1/R_a$$

となる。 R_a に対する依存性が線型から逆数型へ移行する際，ノイズの最大値があらわれる。

1. 3 ノイズの評価

$S_{i(t)}^2$ を一定の帯域で積分すると電流分散値が求まる⁸⁾。図11は電流ノイズ(peak-to-peak 値)のアクセス抵抗と膜容量に対する依存性である。直流から 1 kHz の帯域における値を示している。ノイズはアンプの入力電位ノイズの成分(式9，ただし $e_n = 6 \text{ nV}/\sqrt{\text{Hz}}$)とアクセス

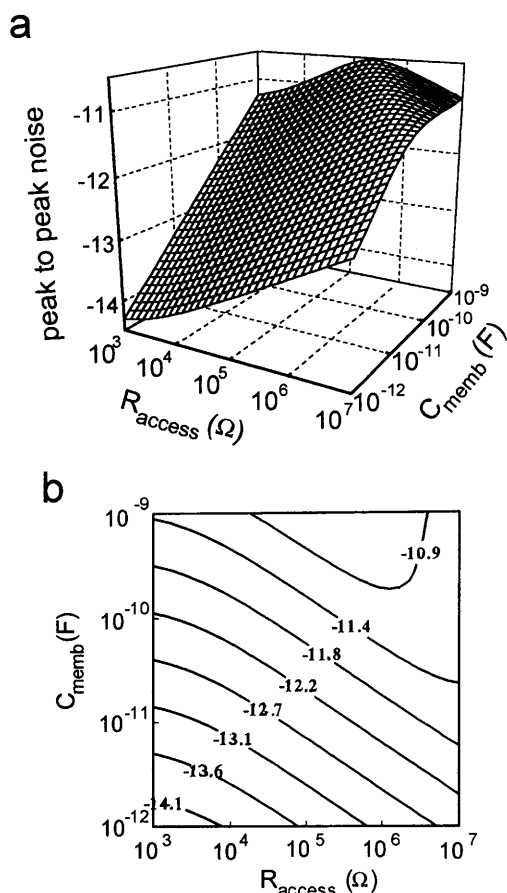


図11 平面膜雑音の膜容量(C_{memb})・アクセス抵抗(R_{access})依存性。

A. 3次元図。B. 等高線図。ただし，ノイズは対数値で表わしている。単位；A.

抵抗における電位ノイズの成分(式10)の和として示している。アクセス抵抗が数 $\text{k}\Omega$ 以上ではアンプ入力ノイズの寄与はほとんど無視でき，アクセス抵抗電位ノイズが主なノイズ源となってくる。ノイズを下げるにはアクセス抵抗，膜容量のいずれかを下げても効果がある。しかし膜面積が大きい方が膜融合の効率が高いのでアクセス抵抗を減少させることがノイズ減少のための現実的な手段となる。ただし膜容量が 100 pF 以上になるとアクセス抵抗 $1 \text{ M}\Omega$ 以下でもノイズの極大値が現われるので，このような抵抗値は避けるべきである。アクセス抵抗と膜容量のノイズに与える定量的な相互関係は等高線

図(図11 b)から明らかである。パッチクランプで使われる数 M Ω 、数 pF の時と同等のノイズレベルは、アクセス抵抗が数 k Ω であれば膜容量が数 10 pF でも実現できる。

アクセス抵抗 電極からチャネルまでの間に直列に介在する以下の成分である；電極-電解質界面、塩橋、緩衝溶液、膜近傍の幾何学的形状。このうち膜近傍の幾何学的形状による抵抗が制御しうる主要素である。ピペットを使うのにくらべチェンバーを使う平面膜の実験ではアクセス抵抗は極めて低く、通常数 k Ω から数 10 k Ω である。

以上の考察を総合してノイズを小さくするための方法は次のようなものである。1) 平面膜容量の減少。2) 内部電位ノイズの低いアンプを使う。3) 低ノイズ電位コマンド源を使う。4) アクセス抵抗を小さくする。5) チェンバーとくに隔壁の素材を選ぶ。

(2) 容量性フィードバック

最近のアンプはフィードバックとして抵抗の代わりに容量を使うものが多い(Dagan, Axon, Warner)。ヘッドステージは積分器となり、これを微分することによって電流を測定できる。この方が従来の高抵抗フィードバックのものに比べて、原理的に熱雑音などのノイズが小さく、帯域が広くとれる⁷¹⁾。

この方式ではフィードバック容量が飽和した時に放電する必要がある。この放電はフィードバック容量と並列に入った 10 k Ω 程度の低い抵抗を介して速やかに行われる。通常、放電は自発的に起こるが、電位ステップに同期して強制的に容量の放電を行うと、低抵抗を流れる大電流(< 1 mA)によって、平面膜容量を速やかに充電できる。全ての容量性フィードバックのアンプには外部トリガーによる強制的容量放電のための入力端子がついている。

E. 高解像度記録法

前章の議論から明らかかなように、平面膜法では膜面積を小さくするだけでなくアクセス抵抗

も低くすることができるので、パッチクランプ法よりも原理的に低い定常ノイズレベルを実現できる可能性がある。いかに小さな平面膜を簡単にかつ安定に形成できるかが実際上の最大のポイントである。

(1) ティップ=ディップ法

ティップ=ディップ法とは小さな面積の平面膜をガラスピペットの先端に形成する方法である²⁰⁾。ピペット先端を単分子層を通過させることによって膜を形成することからこの名称がついた。ティップ=ディップ法にも張り合わせ法とペインティング法に相当する2種類がある。張り合わせ法には通常のパッチ電極、改良法にはやや太いものを使う。

1. 1 張り合わせティップ=ディップ法

この方法は通常のパッチ電極(数 M Ω)を使ってその先端に2枚の単分子膜を張り合わせようというものである^{16,69,83)}。

- ①リン脂質の単分子層を気-液界面に展開する(図12 a)(II A(2)2. 3 参照)。
- ②パッチ電極の先端を気-液界面を通過させる(図12 b)。
- ③パルス電位をかけ入力抵抗をモニターする。
- ④界面を数回通過させることによってギガシールが達成できる(図12 e)。

張り合わせ法における膜形成が本当に図のような過程を経るのか、また二重膜がその支持体であるガラスとどのような関係にあるのか、明らかではない。単層展開すると単層膜だけでなく二重層(duplex film)を形成するのでこれが膜の安定性に寄与している可能性はある。

1. 2 改良ティップ=ディップ法

平面膜形成に対する考察と以下に述べるパンチアウト法の経験から、安定な膜を形成するために膜と支持体との関係は疎水性相互作用のほうがより好ましいことが予想された。そこで直径約 10 μm のガラスピペットの先端に平面膜

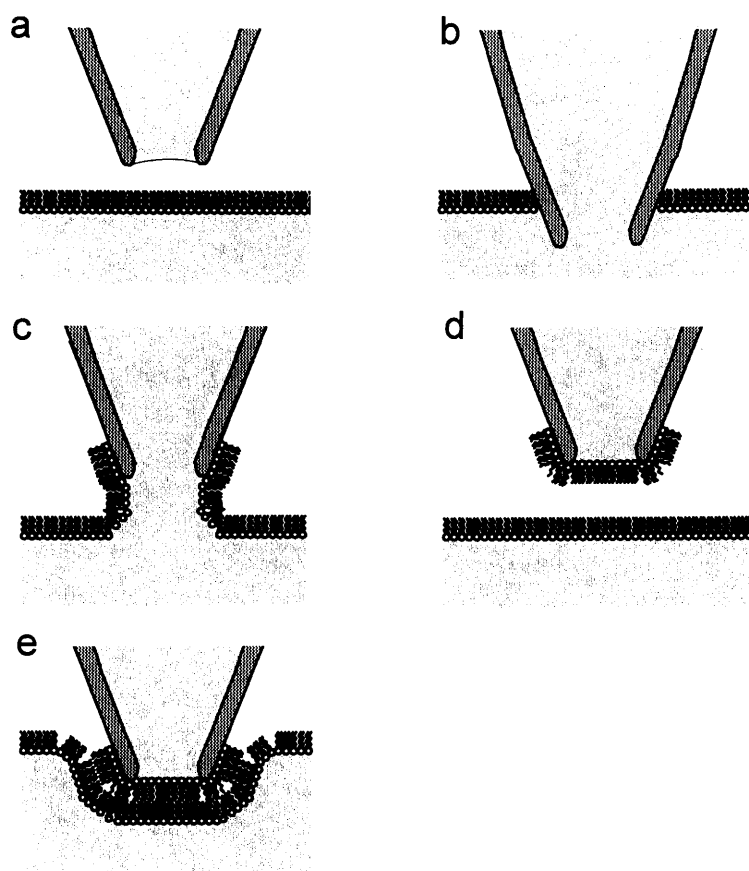


図12 張り合わせタイプ=ディップ法

を形成することを試みた^{63,68)}。ピペットの作製法は改良タイプ=ディップ法とパンチアウト法に共通である。ただし、先端の直径はパンチアウト法では約 $30\ \mu\text{m}$ 、タイプ=ディップ法では約 $10\ \mu\text{m}$ である。

ガラスピペットの作り方

- ①パイレックスガラス管(例えば、サミットメディカル、外径 $1.4\ \text{mm}$)を強酸、クロロホルム/メタノールで洗う(器具洗浄法参照)。
- ②ガラス管を引く。通常の白金フィラメントを使うと金属蒸着が著しく、膜形成時にいわゆるシール抵抗を十分高くすることができない。通常のブラーにガラス管をセットし、細いガスバーナを使って熱する(図13a)。
- ③マイクロフォージ(成茂)の白金フィラメント
- をパイレックスガラスでできるだけ厚くコートする。毎日、新たにコートしなければならない(b)。
- ④フィラメントを赤くならない程度に暖め、ガラス管の直径が $30\ \mu\text{m}$ あるいは $10\ \mu\text{m}$ のところでフィラメントのガラスコートに接触させる(c)。
- ⑤フィラメントのスイッチを切るとフィラメントの位置がずれ、引っ張り力が発生して、ガラス管の接触部位の上端で直角に割れる(d)。真円でなければならない。
- ⑥ガラスピペットの先端をわずかにヒートポリッシュする(e)。
- ⑦trioctylsilane をベンジンで希釈し10%溶液とする。
- ⑧ガラスピペットの先端にシリコン液を満た

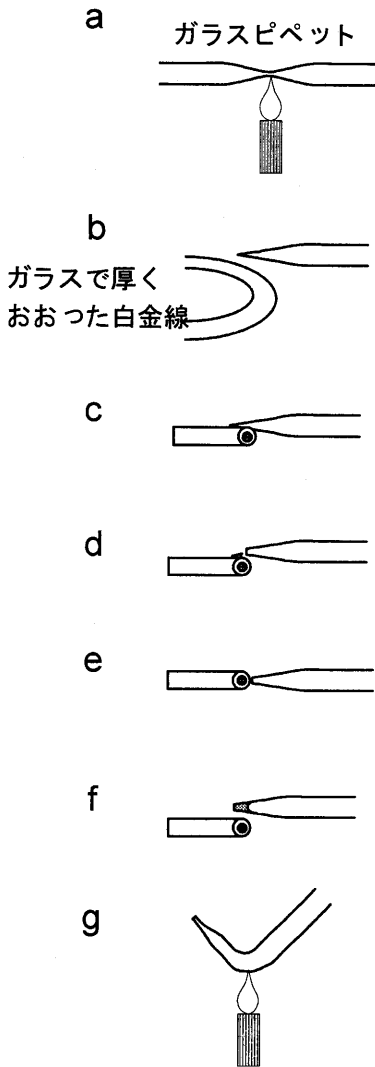


図13 改良ティップ=ディップ法のためのガラスピペットの作り方.

し、先端から弱く熱したフィラメントで暖め表面をシリコン化する。

⑨先端から約1 cm のところで直角に曲げる(f)。

⑩クロロホルム/メタノールで洗う。

なおティップ=ディップ法では⑨は必要ない。

この方法で作製したピペットの特徴は先端部のガラスの厚さが $1\ \mu\text{m}$ 以上と十分厚いので静電容量に対する寄与が小さい。

改良ティップ=ディップ法

張り合わせティップ=ディップ法との差は有機溶媒にヘキサンのような揮発性の高いものを使わず、気-液界面に展開した単層の上に有機溶媒が常に存在することである。したがってチャンネル蛋白は直接空気に暴露しない。

①ガラスピペターに満たした塩溶液(5 ml)の表面にリン脂質溶液(D Φ PC 20~40 mg/ml ヘキサデカン) 5 μl を加える。気-液界面に単層が展開する。ヘキサデカンは揮発しにくく、レンズ状、あるいはガラス壁に接してバルクとして存在する。

②ガラスピペットを圧負荷用の側孔を持った通常のパッチクランプ用電極ホルダー(E. W. Wright, USA)にセットする。

③直径10 μm のガラス電極の先端をヘキサデカン層に留める。プレコーティング。

④先端に詰まったヘキサデカン層を押し出し、単分子膜とヘキサデカンを含んだ層を通過させる。しばしば大量のヘキサデカンのため二重膜は形成できない。その場合ヘキサデカン層を押し出した後、再び層を通過させる。これを繰り返す。

⑤二重層ができ始めるとその後は何度でも膜が形成される。シール抵抗は1 T Ω に達する。

この方法による膜形成過程はペインティング法と同様である。直径30 μm 以上のピペットでは膜形成における薄膜化過程の容量増大が観察できる。ピペット先端の直径と膜容量の測定から明らかに環状バルク相が存在するといえる。ペインティング法ではデカン以外の有機溶媒を使うと薄膜化しないことがあるが、この方法では有機溶媒による膜形成の差は認められない。

1.3 張り合わせティップ=ディップ法と改良ティップ=ディップ法

張り合わせティップ=ディップ法は膜との相互作用が親水性であるのでシール抵抗を十分にあげることができないが、改良ティップ=ディップ

ブ法では疎水性相互作用による高いシール抵抗と長時間安定な膜が形成できる。張り合わせテック=ディップ法ではパッチ電極を使うので電極抵抗(アクセス抵抗)が高くノイズ源となるのに対し、改良テック=ディップ法で使う直径 $10\ \mu\text{m}$ の電極抵抗は約 $10\ \text{k}\Omega$ であるため低ノイズである。

テック=ディップ法では膜面積が小さいため二重膜が形成されたことを確認するのは光学的にも電氣的にも難しい。グラミシジンを水相に加え単一チャネル活性を観察することが最も簡単で確実な確認法である。

テック=ディップ法へのチャネルの組み込みに膜融合法を使うのは効率が悪い。膜に取り込まれやすいチャネル形成毒素などは直接挿入法、その他のものは単層展開法を使う。この方法では単層上にすでに存在するチャネルにピペットの先端がヒットすることによって組み込まれる。

(2) 削り取り小孔法

この方法はチェンバーの穴をピペット並みの小さなものにする事で膜容量を小さくする⁹⁰⁾。削り取り法では鋭いエッジをもった $50\ \mu\text{m}$ 以下の穴を比較的容易に作る事ができる。小さい穴の場合ペインティング法では一般に薄膜化が起こらないことがあるが、削り取り法で作った小孔ではこのような小さなものでも薄膜化が可能である。作り方の要点はいかに先

端までシャープなステンレス棒を作るかに尽きる。開口角が大きく、アクセス抵抗がピペットを使ったときよりも小さくできる。

膜面積が小さいので融合確率は低くなる。ベシクルを含んだピペットを膜のごく近傍にもってきて内容物を平面膜に極短時間(数ミリ秒)吹き付けるような効率のよい方法が必要である¹⁵⁾。 $30\ \mu\text{m}$ が膜融合とノイズのバランス点であるといわれている。

(3) パンチアウト法

ペインティング法でチェンバーに張った大きな膜(チェンバー膜)をパッチガラス電極で“パッチクランプ”するのがこの方法である³⁾。チャネル配向がはっきりしていること、両側溶液へのアクセシビリティ、という2つのチェンバー法の利点と、ピペット法の高分解能という利点をあわせ持ったものである。チャネルを大量に膜に組み込むことができると、巨視的電流と平行して単一チャネル記録ができる。

- ① ガラスピペットを圧負荷用の側孔を持った通常のパッチクランプ用電極ホルダーにセットする。
- ② ペインティング法でチェンバーに比較的大きな膜($500\ \mu\text{m}$ 以上)を張っておき、平面膜を透してピペットの先端を見ながら、膜に近づける。
- ③ 環状バルク相にピペットの先端を入れ、数分間放置する。これは穴をプレコーティングす

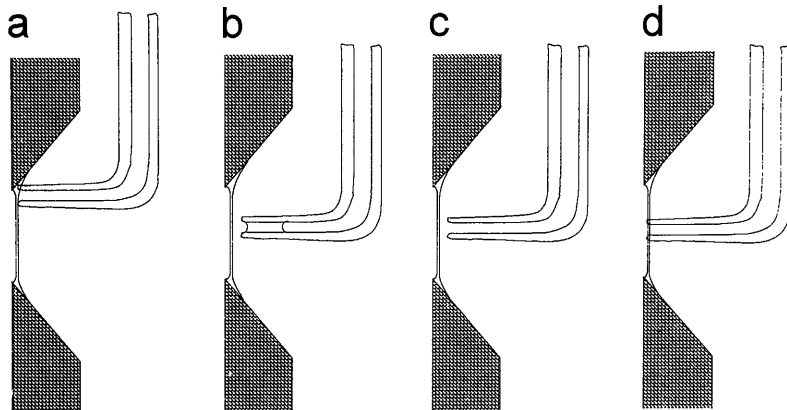


図14 パンチアウト法

ることに相当するコンディショニングである (図14 a).

- ④先端をバルク相から抜き、圧をかけて先端に詰まったリン脂質溶液を除く (b, c).
- ⑤チェンバー膜の二重層部分にパッチする。電極先端をチェンバー膜に接触すると同時にパッチ膜が形成される (d)。このことは電流ノイズが突然減少することでわかる。コンディショニングが不十分なときはチェンバー膜が破れる。
- ⑥ピペット先端の膜はくり返し形成できる。これには、i) ピペットへの圧負荷により破り、ii) チェンバー膜から引き抜き、iii) 引き抜く時、ピペット上に必ず膜が形成されるのでこれを破る、iv) 再びパッチする。

現在のところ膜融合法が可能で、しかも定常状態での分解能だけでなく過渡現象も捉えることができたという点で、削り取り小孔法が最もバランスのとれた方法といえるだろう。しかし最高の分解能を得るためには改良ティップ=ディップ法が原理的に最も優れている。パンチアウト法は大量にチャネルを組み込むことができるかどうかにかかっている。

III. チャネル電流記録

trans 側を基準電位 (0 mV) として、cis → trans 電流を正電流とする。細胞小器官のための膜電位の定義は、細胞小器官の内腔側を基準にして測定する。これによって細胞膜との連続性で首尾一貫した定義となる⁹⁾。最近、ミトコンドリアなどに関しても膜電位が改めて定義された⁷⁸⁾。

以下に平面膜法を使いたいいくつかの例を示したい。

A. 細胞小器官のチャネル

(1) 過渡的単一チャネル電流記録

Wonderlin ら⁹⁰⁾は平面膜にイカ巨大神経軸索の細胞質中を軸索輸送されている膜小胞をくみこんだ。この膜小胞には細胞体で合成され将

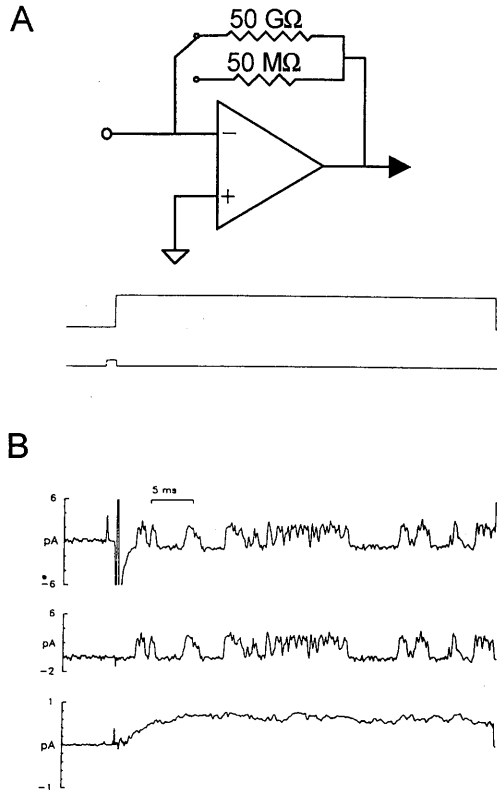


図15 イカ巨大神経軸索 K^+ チャネルの過渡的応答

A. ヘッドステージ回路と、電位ステップと論理パルスのタイミング。電位ステップ後 $25 \mu\text{s}$ で元のゲインに戻している。B. 電流トレース。上：電位ステップに対する応答の生電流トレース。中：デジタルサブトラクション後の電流トレース。容量性電流とスイッチングによるアーチファクトが除かれ、速やかに定常に達している。下：集合電流。240の電流トレースの平均電流。集合電流は遅延整流性 K チャネルの巨視的特徴を示している。(Wonderlin ら⁹⁰⁾より改変)

来細胞膜に組み込まれるチャネル(あるいは使用済みのチャネル)が含まれている。合成された蛋白を最終目的地の細胞膜で捉えるのではなく(細胞膜を取り囲むシュワン細胞のため外側からパッチクランプはできない)、細胞膜にソートされる過程の途中で捉えたのである。 Na^+ 、 K^+ チャネルはともに細胞膜で認められるものと同様の特性を示した(図15)。運ばれているベシクルの中ですでに活性を持っていることになる。特筆すべきは彼らが開発した削り取り小

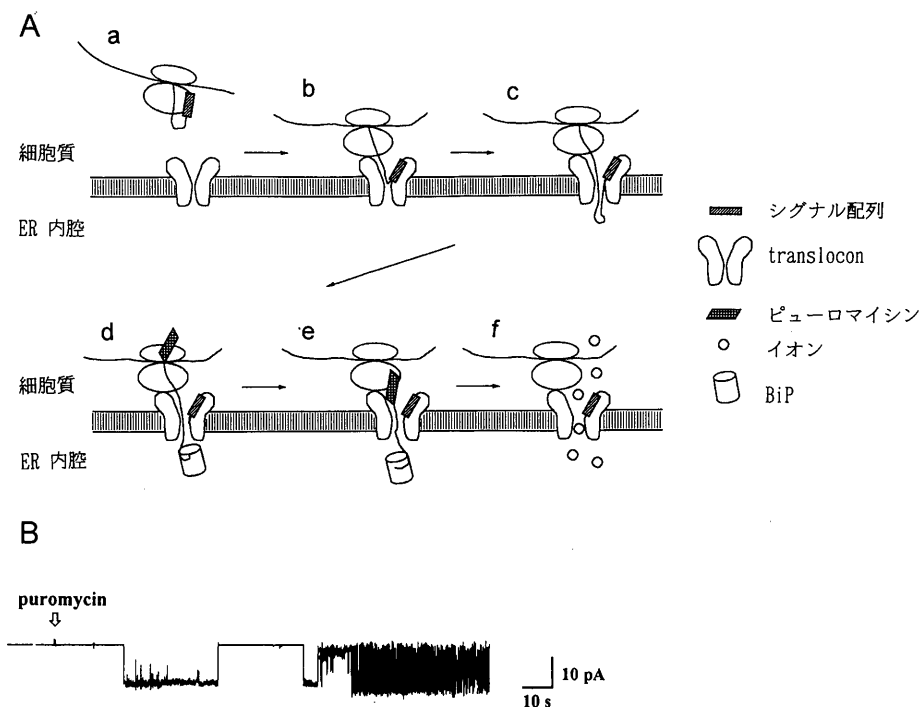


図16 ER の translocon チャネル

A. 膜蛋白、分泌蛋白の合成と膜輸送. a. シグナル配列を持つ蛋白(膜蛋白、分泌蛋白)はリボソームの上でシグナル配列が合成されると翻訳は一時中断し、ER に移動する. b. リボソームとシグナル配列は translocon に結合し、翻訳が再開する. c. 翻訳された新生ペプチドは translocon のポアを透過し、ER 内腔に輸送される. d. ER 内腔にある BiP (Binding Protein) というシャペロンが蛋白の折りたたみを促進する⁴³⁾. このときピューロマイシンが細胞質側に存在すると翻訳が終結する(未成熟終結). e. 未成熟な新生ペプチドはポアを透過し、ER 内腔に遊離する. f. 開いたままの translocon ポアをイオンが透過する. B. 単一 translocon チャネル電流⁹²⁾.

孔法を適用し、電位ステップに対する過渡的なチャネル応答を捉えることに成功したことがある。平面膜の面積を小さくし、チェンバーを使うことでアクセス抵抗を小さくするという工夫以外に、電位ステップ応答を改善するために次のような方法を取った。パッチクランプのヘッドステージに論理回路を組み込み、フィードバック抵抗を高ゲイン(50 G Ω)と低ゲイン(50 M Ω)の間で電位ステップに同期して変え(電位ステップ前後の 1 ms だけ低ゲインにする)、膜容量を速やかに充電する。デジタルサブトラクションによってステップ後 1 ms で定常のベースラインが得られ、過渡的単一チャネル電流を記録できた。アンサンブル電流は巨視的電流と同様のキネティクスを示した。

電位依存性チャネルには電位依存性不活性化を示すものが多く、平面膜においては不活性化をバトラコトキシンやプロナーゼで除いてはじめて定常状態での記録が可能であった²⁷⁾。Wonderlin らの方法は過渡的応答を示すチャネルを捉えることができたという点で新しい可能性を拓いたものといえる。

(2) Translocon

膜蛋白や分泌蛋白は翻訳と同時に(折れたたみが起こる前に)ER 膜を透過し(翻訳に共役した膜輸送)、ER 内腔あるいは膜相に移行する。このとき新生ペプチドは ER 膜の脂質二重層ではなく特定の蛋白(translocon と呼ぶ)内を透過するということが確立されてきた。ペプチドの透過路が存在するのであれば、通常のイオンが

透過するに十分な大きさのポアがあると考えられる。生化学的に取り出した粗面小胞体分画は図16Aのbからcの状態が存在する。SimonとBlobel⁸⁰⁾はこれを平面膜に組み込み、細胞質側にピューロマイシンを加えた。ピューロマイシンという翻訳停止剤は膜を貫通しつつある新生ペプチドの翻訳を終結させ(未成熟終結)、リボソームとの結合を失った新生ペプチドは translocon ポアから遊離・放出する。この開閉したポアを流れるイオン電流を記録できたのである。私達はツメガエル卵母細胞から得た粗面小胞体を平面膜に組み込み同様の実験を行った。通常のイオンチャネルと同様の、ゲーティングを伴ったイオン選択性の低い単一チャネル電流として記録できた⁹²⁾(図16B)。translocon の分子実体が明らかになりつつある現在²³⁾、このようなアプローチは蛋白透過過程の分子機構を知る上に不可欠な透過路の構造とその動的な構造変化についての情報を与えてくれることであろう。

B. ニコチン性アセチルコリン受容体

チャネル蛋白の活性を保持したまま高い純度のものを得るための方法が確立してきた^{73,79)}。現在までに精製されたチャネルで平面膜に再構成されたものはニコチン性アセチルコリン受容体^{14,48)}、ナトリウムチャネル²⁷⁾、リアノジン受容体¹⁷⁾などである。

ニコチン性アセチルコリン受容体に適用した方法を概説する(図17)⁴⁸⁾。チャネルを可溶性にする際に脂質はチャネル機能を保存する上で不可欠である⁶⁾。少量の脂質が界面活性剤からチャネルを保護していると考えられている。ここでは界面活性剤としてコール酸を使っているがこの濃度も重要である。(至適濃度：2%。コール酸：脂質=10：1)。可溶性チャネル蛋白をリボソームに組み込むには約10倍の高濃度の脂質が必要である。(至適条件は脂質：蛋白>16：1)

シビレイの電気器官から精製したニコチン性アセチルコリン受容体をリボソームに組込

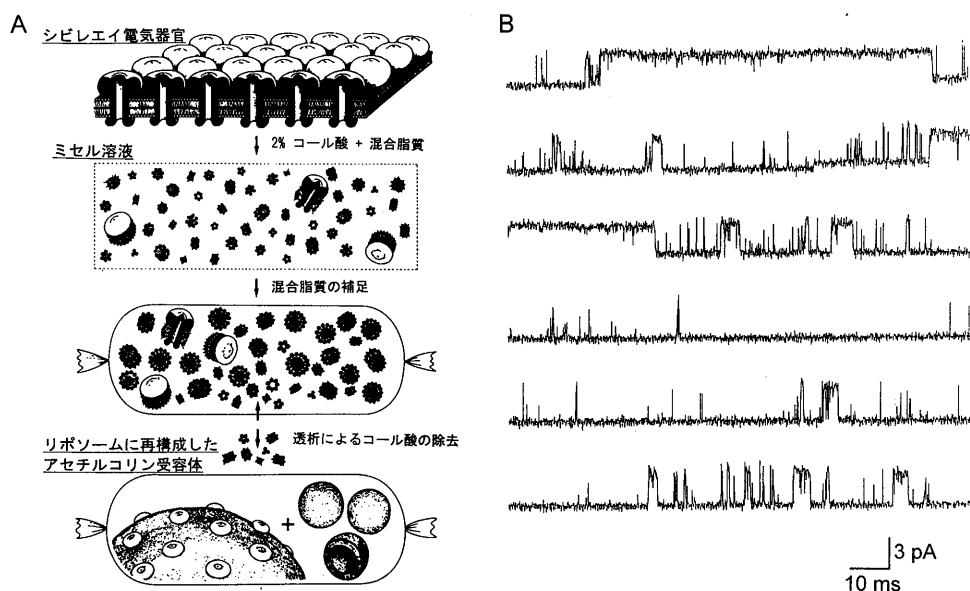


図17 ニコチン性アセチルコリン受容体

A. シビレイ、ニコチン性アセチルコリン受容体チャネル蛋白の精製。a. コール酸での可溶性。チャネルの疎水性領域に脂質や界面活性剤が結合している。b. 再構成に際してチャネル機能を保存するために高濃度の脂質を補う。c. 透析によりコール酸を除去。(Montalら⁴⁸⁾より改変)。B. 単一チャネル記録。ピペット内アセチルコリン濃度 $1 \mu\text{M}$ 、 500 mM NaCl 、 80 mV 。カットオフ周波数： 3 kHz 、 35 pS ⁵⁶⁾。

み、単層展開法によって受容体蛋白を気-液界面に移し、これをティップ=ディップ法で捉えて単一チャネル記録をおこなった(張り合わせティップ=ディップ法)⁵⁶⁾。単層展開法ではチャネルの配向がランダムであるが、ピペット内のみアセチルコリンを加えることによってリガンド結合部がピペット側に向けたもののみを電氣的に捉えることができる。膜面積が小さ

い(1 μm^2 以下)ので速い現象も捉えることができた³⁷⁾。

C. チャネルデザイン

ニコチン性アセチルコリン受容体の一次構造がイオンチャネルでは初めて決定され⁵⁴⁾、膜を4回(M1~M4)貫通することが予想された。一方2次元結晶凍結標本からの電子線像から低

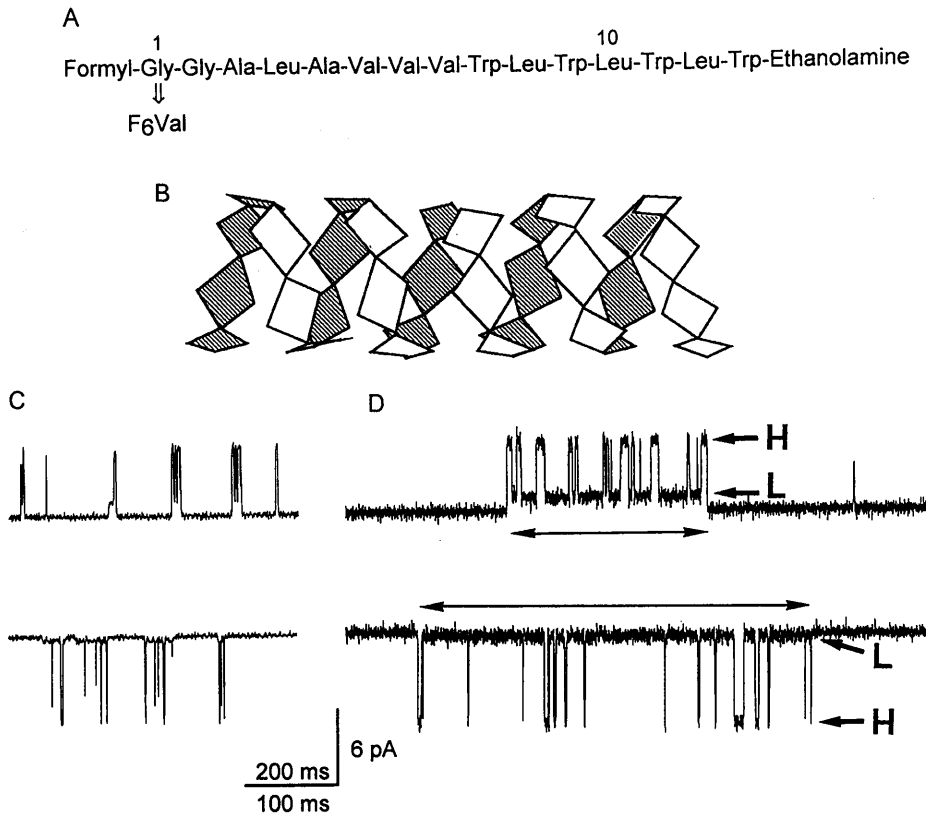


図18 電位依存性グラミシジンチャネル

A. グラミシジンAのアミノ酸配列。グリシン=グラミシジンAと第一残基を6フッ化バリンに置換した6フッ化バリン=グラミシジンA。B. グラミシジンチャネルのNMRから得られた3次元構造³⁵⁾の模式図。平行四辺形はアミド平面をあわらす。C. パンチアウト法によるチャネル記録。チャンバーのcis側にグリシン=グラミシジンA, trans側に6フッ化バリン=グラミシジンAを加えると平面膜上にヘテロ二量体のチャネルが形成される。これをピペットでパンチアウトすると常に同一のオリエンテーションをもったチャネルを捉えられる。基線からの電流のジャンプは二量体の形成をあらわす。2つの異なるコンダクタンス状態をとる。グリシン=グラミシジンAから6フッ化バリン=グラミシジンAに流れる電流(上向きの方)の方が逆向きよりも小さい(整流性)。カットオフ周波数: 500 Hz, $\pm 300 \text{ mV}^{61)$ 。D. 改良ティップディップ法による高解像度チャネル記録。有機溶媒にヘキサデカンを使用することによって二量体持続時間(矢印であらわす)が伸び、二量体の構造変化によるゲーティング(H状態とL状態)がより明瞭に観察できる。H状態確率は電位依存性を示す。カットオフ周波数: 5 kHz, $\pm 300 \text{ mV}^{60)$ 。

分解能の3次元構造が明らかになってきた⁸⁷⁾。どの膜貫通領域がポアを形成するのか²⁾？疎水性の最も高いM1と両親媒性のM2に相当するアミノ酸23残基のペプチドを合成した。気-液界面にペプチドを含んだリン脂質単分子層を形成し、これをティップ=ディップ法によって平面膜に再構成した(張り合わせティップ=ディップ法)。ネイティブなチャネルと同様のコンダクタンス、選択性、ゲーティングが観察された⁵⁸⁾。

このようなチャネル蛋白質工学⁵⁷⁾と呼ばれるアプローチは、チャネル分子内の機能単位(ポア・ゲート・センサーなどのパーツ)を組み立ててチャネル機能を再現するサブモレキュラーな再構成といえるだろう^{49,59)}。

ポアとしての性質だけでなく、電位依存性ゲート機構を持ったペプチドチャネルもデザインすることができた⁶⁰⁾。グラミシジンは短いペプチド(15アミノ酸残基: 図18A)¹⁾であるため半合成法によって非遺伝的アミノ酸によるア

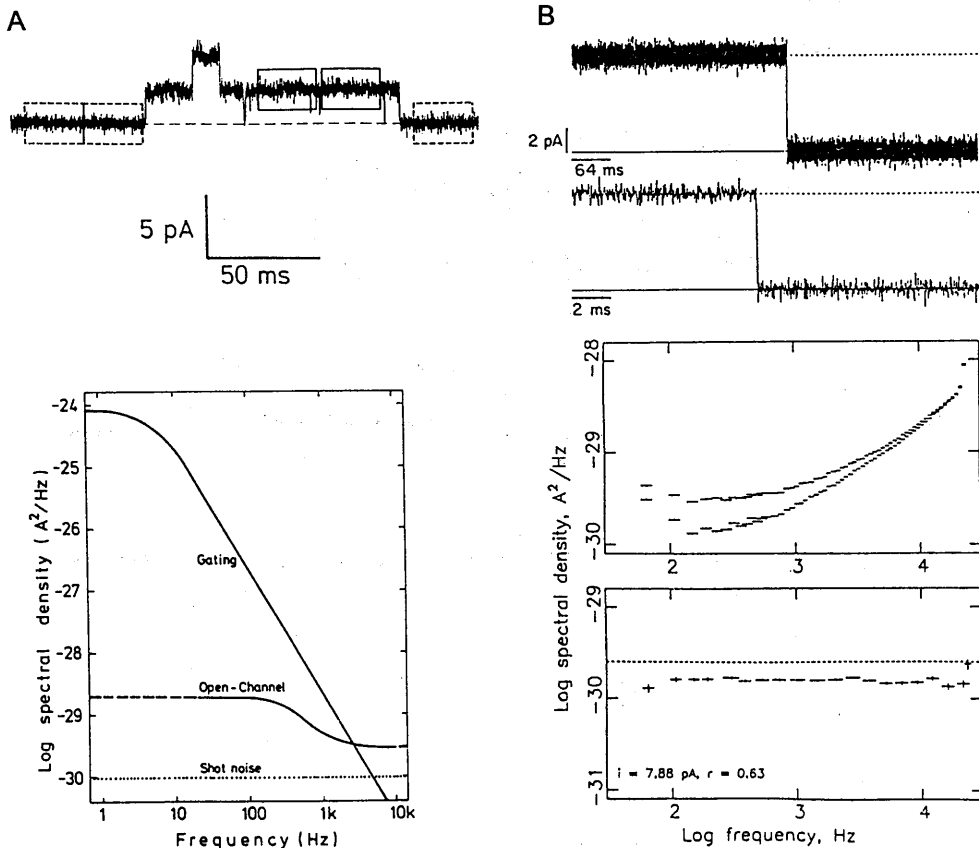


図19 オープンチャネルノイズ解析

A. ニコチン性アセチルコリン受容体のノイズ解析。上：記録領域の選択とパワースペクトル密度。8 kHz 帯域で得られた原トレース。破線が閉状態を示す。破線の箱は閉状態、実線の箱は開状態のサンプルである。下：チャネル開閉のゲーティングノイズ・オープンチャネルノイズ・ショットノイズによるスペクトルの相対的關係。B. グラミシジンチャネルのオープンチャネルノイズ解析。上：640 mM KCl での単一チャネル電流。実線：バックグラウンド、点線：チャネル電流。チャネルが閉じる過程のトレースを2つの時間スケールで示した。0.04~20 kHz の記録帯域である。下：チャネル、バックグラウンドそれぞれのパワースペクトル密度と差スペクトル。点線はチャネル電流から予想されるショットノイズのレベル。(Sigworth⁷⁷⁾, Heineman & Sigworth²⁸⁾より改変)

ミノ酸置換も可能である。原子レベルの構造(図18B)が既知³⁵⁾であるのでゲーティングの分子機構を詳細に研究できる⁶²⁾。単一のアミノ酸置換によって電位非依存性のポアであったグラミシジンチャネルが、電位依存性ゲーティングと整流性を持つチャネルとなった。最小の電位依存性チャネルである。ヘテロ二量体のオリエンテーションと、ゲーティング・整流性との関係はパンチアウト法により決定した(図18C)⁶¹⁾。ミリ秒オーダーの構造変化は改良ティップ=ディップ法で記録できた(図18D)⁶⁴⁾。

ペプチド以外にもポリエチレンなどの素材を使った新しいチャネルのデザインが進められている³⁶⁾。

D. オープンチャネルノイズ解析

「単一チャネル法(パッチクランプ法)は、通常の生理学の世界を越えた化学物理の世界に足を踏み入れるに十分な威力を持っている(Hille³⁰⁾)」。

単一チャネル記録はチャネル分子から見ると一分子のできごとだが、イオンの流れからみると多数のイオンの振る舞いを平均化した巨視的な現象である。開いたチャネルを輸送されるイオンによる電流のわずかなゆらぎからイオン輸送の本質的な過程を知ることができる。Sigworth⁷⁷⁾はオープンチャネルノイズ解析という新しい方法を開発した。従来巨視的電流に適用していたノイズ解析¹⁹⁾を単一チャネルのレベルに適用し、開状態と閉状態での電流のパワースペクトル密度の差からイオン透過過程に対する解析をおこなった(図19Aトレース)。1個のイオンが透過する過程はショットノイズで表現できる。

$$S(f) = 2iq \quad (13)$$

ただし、 $S(f)$; スペクトル密度、 i ; 単一チャネル電流、 q ; 輸送されるイオンの電荷。

ニコチン性アセチルコリン受容体に適用した例を通常の巨視的電流ノイズの結果と比較して図19Aに示した。チャネル開閉(ゲーティング)

によるノイズは大きく、ローレンツ型を示す。単一チャネル電流から予想されるショットノイズは点線で示す。マスキングという操作で構造変化に起因するノイズを除いた後でもオープンチャネルノイズはショットノイズの特性を示さない。通常の単一チャネル記録法では測定できない速いゲーティングが存在することが示唆された。

イオン透過過程をさらに深く追求するためにSigworthはこの方法をグラミシジンチャネルに適用した。最高の周波数帯域を得るために改良ティップ=ディップ法に相当する方法を使った。この場合、平坦な周波数特性を示したが、予想されるショットノイズよりも低い値をもつことがわかった。イオン透過過程をモデル解析することによって帯域を越えた100 nsのチャネルブロック現象を推定することができた²⁸⁾。

IV. 今後の展望

パッチクランプ法による細胞膜上のチャネルに対する広範で深い研究成果に比べれば、細胞小器官上のチャネルはまだ未開拓である。細胞内情報伝達とコンパートメント間物質輸送に関わる新しいチャネルが今後も続々と発見されるであろう^{33,42,82)}。最近、チャネル蛋白を精製するための機能アッセイ法として平面膜が使われた³²⁾。脂質平面膜法はこれらのチャネルをクローニングする際にも不可欠な方法である。

技術的にはこの数年間のうちに平面膜法において大きな進歩があった。平面膜法の長期的で大きな課題はやはりチャネルの組込みに関わることである。平面膜で電位依存性チャネルの巨視的振る舞いを記録した例は極めてまれである。同一の膜配向を持ったチャネル蛋白を小さな膜面積に大量に組み込むことが必要である。ナスタチン法を越えるような迅速に、効果的に膜蛋白を組み込む方法の開発が望まれる。これによって巨視的レベルで過渡的な電位依存性活性化過程やゲート電流を捉えることができるであろう。

単一チャネル記録がBeanら⁷⁾によって初め

て成功してからすでに25年になる。単一チャネル電流記録の先にあるものは何か?可能性の地平を拓くものの一例としてオープンチャネル電流ノイズ解析を挙げた。これはイオン透過過程におけるイオンとチャネル蛋白との相互作用をマイクロ秒以下の領域にまでひろげた。まさに単一イオン電流のレベルに達しようとしているのである。イオンの透過だけでなく、中性透過物質の輸送過程も単一チャネルレベルで解析が可能になってきた^{11,66)}。単一ゲート電流を目指したゲート電流ノイズ解析⁷⁵⁾も今後有望である。

イオンチャネルの構造と機能の関係を明らかにする上で脂質平面膜法は今後もユニークな情報を提供してくれるであろう。

謝辞

平面膜の化学と物理の世界に導いていただいた M. Montal 教授と O. S. Andersen 教授。チェンバー、ファラデイボックスなどを作製していただいた深尾昌弘氏、小原正裕氏。協同研究者の山本隆博士、Sabirov Ravshan 博士、山口宣秀博士、発表の機会をいただき御校閲いただいた岡田泰伸教授。以上の方々に深く感謝する。

参 考 文 献

- 1) Andersen, O. S. (1984) Gramicidin channels. *Annu. Rev. Physiol.* **46**, 531-548
- 2) Andersen, O. S. & Koeppe, R. E. II (1992) Molecular determinants of channel function. *Physiol. Rev.* **72**, S 89-S 158
- 3) Andersen, O. S. & Muller, J. (1982) Monazomycin-induced single channels. I. Characterization of the elementary conductance events. *J. Gen. Physiol.* **80**, 403-426
- 4) Anzai, K., Takano, C., Tanaka, K. & Kirino, Y. (1994) Asymmetrical lipid charge changes the subconducting state of the potassium channel from sarcoplasmic reticulum. *Biophys. Biochem. Res. Commun.* **199**, 1081-1087
- 5) Armstrong, C. M. & Gilly, W. F. (1992) Access resistance and space clamp problems associated with whole-cell patch clamping. *Methods Enzymol.* **207**, 100-122
- 6) Barrantes, F. J. (1993) Structural-functional correlates of the nicotinic acetylcholine receptor and its lipid microenvironment. *FASEB J.* **7**, 1460-1467
- 7) Bean, R. C., Shepherd W. C., Chan, H. & Eichner J. (1969) Discrete conductance fluctuations in lipid bilayer protein membranes. *J. Gen. Physiol.* **53**, 741-757
- 8) Bendat J. S. & Piersol, A. G. (1986) *Random data. Analysis and measurement procedures.* 2nd Ed. Wiley Interscience, New York
- 9) Berti, A., Blumwald, E., Coronado, R., Eisenberg, R., Findlay, G., Gradmann, D., Hille, B., Koehler, K., Kolb, H.-A., MacRobbie, E., Meissner, G., Miller, C., Neher, E., Palade, P. (1992) Electrical measurements on endomembranes. *Science* **258**, 873
- 10) Bezanilla, F. (1985) A high capacity data recording device based on a digital audio processor and a video cassette recorder. *Biophys. J.* **47**, 437-441
- 11) Bezrukov, S. M., Vodyanov, I. & Parsegian, V. A. (1994) Counting polymer moving through a single ion channel. *Nature* **370**, 279-281
- 12) Boheim, G., Hanke, W. & Eibl, H. (1980) Lipid phase transition in planar bilayer membrane and its effect on carrier- and pore-mediated transport. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **77**, 3403-3407
- 13) Bretscher, M. S. & Munro, S. (1993) Cholesterol and the Golgi apparatus. *Science*, **261**, 1280-1281
- 14) Chak, A. & Karlin, A. (1992) Purification and reconstitution of nicotinic acetylcholine receptor. *Methods Enzymol.* **207**, 546-555.
- 15) Cohen, F. & Niles, W. (1993) Reconstituting channels into planar membranes: A conceptual framework and methods for fusing vesicles to planar bilayer phospholipid membranes. *Methods Enzymol.* **220**, 50-68
- 16) Coronado, R. & Latorre R. (1983) Phospholipid bilayers made from monolayers on patch-clamp pipettes. *Biophys. J.* **43**, 231-236
- 17) Coronado, R., Morrissette, J., Sukhareva, M. & Vaughan, D. M. (1994) Structure and function of ryanodine receptors. *Am. J. Physiol.* **266**, C 1485-C 1504
- 18) Craig, E. A. (1993) Chaperones: Helpers along the pathways to protein folding. *Science* **260**, 1902-1903
- 19) DeFelice, L. J. (1981) *Introduction to membrane noise.* Plenum, New York
- 20) Ehrlich, B. (1992) Planar lipid bilayers on patch pipettes: Bilayer formation and ion channel incorporation. *Methods Enzymol.* **207**, 463-470
- 21) Finkelstein, A. (1987) *Water movement through lipid bilayers, pores and plasma membranes. Theory and reality.* John Wiley & Sons, New York
- 22) Gambale, F., Rauch, G., Belmonte, G. & Menestrina, G. (1992) Properties of *Pseudomonas aeruginosa* extoxin A ionic channel incorporated in planar lipid bilayers. *FEBS Lett.* **306**, 41-45
- 23) Gilmore, R. (1993) Protein translocation across

- the endoplasmic reticulum : A tunnel with toll booths at entry and exit. *Cell* **75**, 589-592
- 24) Green, W. N. & Andersen, O. S. (1991) Surface charges and ion channel function. *Annu. Rev. Physiol.* **53**, 341-359
- 25) Gruner, S. M., Cullis, P. R., Hope, M. J. & Tilcock, P. S. (1985) Lipid polymorphism : The molecular basis of nonbilayer phases. *Annu. Rev. Biophys. Biophys. Chem.* **14**, 211-238
- 26) Hanke, W. & Schlue, W.-R. (1993) *Planar Lipid Bilayers. Methods and Applications.* Academic Press, London
- 27) Hartshorne, R. P., Tamkun, M. & Montal, M. (1986) The reconstituted sodium channel from brain. In : Miller, C. *Ion channel reconstitution.* Plenum, New York.
- 28) Heinemann, S. H & Sigworth, F. J. (1988) Open channel noise IV. Estimation of rapid kinetics of formamide block in gramicidin A channels. *Biophys. J.* **54**, 757-764
- 29) Helm, C. A. & Israelachvili, J. N. (1993) Forces between phospholipid bilayers and relationship to membrane fusion. *Methods Enzymol.* **220**, 130-143
- 30) Hille, B. (1992) *Ion channels of excitable membranes*, 2nd Ed. Sinauer Associates Inc. Sunderland, MA
- 31) 平田 肇, 浜本敏郎 (1994) 平面膜. 日本膜学会編 膜学実験シリーズ, 第 I 巻生体膜編, 共立出版, 東京
- 32) Ide, T., Morita, T., Kawasaki, T., Taguchi, T. & Kasai, M. (1991) Purification of a K⁺-channel protein of sarcoplasmic reticulum by assaying the channel activity in the planar lipid bilayer system. *Biochem. Biophys. Acta* **1067**, 213-230
- 33) Kamata, H., Hirata, M., Ozaki, S., Kusaka, I., Kagawa, Y. & Hirata, H. (1992) Partial purification and reconstitution of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor/Ca²⁺ channel of bovine liver microsomes. *J. Biochem.* **111**, 546-552
- 34) Kates, M. (1972) 山川民夫, 斎藤國彦, 林陽 訳, 脂質研究法, 東京化学同人
- 35) Ketchum, R.R., Hu, W. & Cross, T. A. (1993) High-resolution conformation of gramicidin A in a lipid bilayer by solid-state NMR. *Science*, **261**, 1457-1460
- 36) Kobuke, Y., Ueda, K. & Sokabe M. (1992) Artificial non-peptide single ion channels. *J. Am. Chem. Soc.* **114**, 7618-7622
- 37) Krasilnikov, O. V. & Sabirov, R. Z. (1992) Comparative analysis of latrotoxin channels of different conductance in planar lipid bilayers. Evidence for cluster organization. *Biochim. Biophys. Acta* **1112**, 124-128
- 38) Labarca, P. & Latorre, R. (1992) Insertion of ion channels into planar lipid bilayers by vesicle fusion. *Methods Enzymol.* **207**, 447-463
- 39) Latorre, R. & Alvarez, O. (1981) Voltage-dependent channels in planar lipid bilayer membranes. *Physiol. Rev.* **61**, 77-150
- 40) Latorre, R., Labarca, P. & Naranjo, D. (1992) Surface charge effects on ion conduction. *Methods Enzymol.* **207**, 471-501
- 41) Lakshminarayanaiah, N. (1984) *Equations of membrane biophysics.* Academic press, Orlando.
- 42) Maeda, N., Kawasaki, T., Nakade, S., Yokota, N., Taguchi, T., Kasai, M. & Mikoshiba, K. (1991) Structural and functional characterization of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor channel from mouse cerebellum. *J. Biol. Chem.* **266**, 1109-1116
- 43) Melnick, J., Dul, J. L. & Argon, Y. (1994) Sequential interaction of the chaperones BiP and GRP94 with immunoglobulin chains in the endoplasmic reticulum. *Nature* **370**, 373-375
- 44) Miller, C. & Racker, E. (1976) Calcium-induced fusion of fragmented sarcoplasmic reticulum with artificial planar bilayers. *J. Membr. Biol.* **30**, 283-300
- 45) Miller, C. Ed. (1986) *Ion channel reconstitution.* Plenum, New York.
- 46) Monck, J. R. & Fernandez, J. M. (1994) The exocytotic fusion pore and neurotransmitter release. *Neuron* **12**, 707-716
- 47) Montal, M. & Mueller, P. (1972) Formation of bimolecular membranes from lipid monolayers and a study of their electrical properties. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **69**, 3561-3566
- 48) Montal, M., Anholt, R. & Labarca, P. (1986) The reconstituted acetylcholine receptor. In : Miller, C. Ed. *Ion channel reconstitution.* Plenum, New York
- 49) Montal, M. O., Iwamoto, T., Tomich, J. M. & Montal, M. (1993) Design, synthesis and functional characterization of a pentameric channel protein that mimics the presumed pore structure of the nicotinic cholinergic receptor. *FEBS Lett.* **320**, 261-266
- 50) Montal, M. (1987) Reconstitution of channel proteins from excitable cells in planar lipid bilayer membranes. *J. Membrane Biol.* **98**, 101-115
- 51) Mueller, P. Rudin, D. O., Tien, H. T. & Wescott, W. C. (1962) Reconstitution of excitable cell membrane structure in vitro. *Circulation* **26**, 1167-1171
- 52) New, R. R. C. Ed. (1990) *Liposomes : a practical approach.* IRL Press, Oxford.
- 53) Niles, W. D. Levis, R. A. & Cohen F. S. (1988) Planar bilayer membranes made from phospholipid monolayers form by a thinning process. *Biophys. J.* **53**, 327-335
- 54) Noda, M., Takahashi, H., Tanabe, T., Toyosato, M., Kikuyotani, S., Furutani, Y., Hirose, T., Takashima, H., Inayama, S., Miyata, T. & Numa, S. (1983) Structural homology of Torpedo californica acetylcholine receptor subunits. *Nature*, **302**,

- 528-532
- 55) Ohki, S. (1993) Fusion of spherical membranes. *Methods Enzymol.* **220**, 79-89
- 56) Oiki, S. & Montal, M. (未発表データ)
- 57) Oiki, S., Danho, W. & Montal, M. (1988) Channel protein engineering: Synthetic 22-mer peptide from the primary structure of the voltage-sensitive sodium channel forms ionic channels in lipid bilayers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 2393-2397
- 58) Oiki, S., Danho, W., Madison, V. & Montal, M. (1988) M2 δ , a candidate for the structure lining the ionic channel of the nicotinic cholinergic receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 2393-2397
- 59) 老木成稔 (1991) ペプチドによるイオンチャネル機能の再構成——アセチルコリン受容体ポアの構造と機能. *膜*, **16**, 284-294
- 60) Oiki, S., Koeppe II, R. E. & Andersen, O. S. (1992) A dipolar amino acid substitution induces voltage-dependent transitions between two stable conductance states in gramicidin channels. *Biophys. J.*, **62**, 28-30
- 61) Oiki, S., Koeppe II, R. E. & Andersen, O. S. (1994) Asymmetric gramicidin channels: Heterodimeric channels with a single F₆Val¹ residue. *Biophys. J.*, **66**, 1823-1832
- 62) 老木成稔 (1994) ポアからゲートへ—電位依存性チャネルの分子機構— *ブレインサイエンス*, **5**, 157-166
- 63) Oiki, S., Koeppe II, R. E. & Andersen, O. S. Voltage-dependent gramicidin channels. Sokabe, M., Auerbach, A. & Sigworth, F.J. Eds., "Progress in Cell Research: Molecular Biophysics of Ion Channels", Elsevier, Amsterdam (in press)
- 64) Oiki, S., Koeppe II, R. E. & Andersen, O. S. (1995) Voltage-dependent gating of an asymmetric gramicidin channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **92**, 2121-2125
- 65) Redwood, W. R., Pfeiffer, F. R., Weisbach, J. A. & Thompson, T. E. (1971) Physical properties of bilayer membranes formed from a synthetic saturated phospholipid in n-decane. *Biochim. Biophys. Acta* **233**, 1-6
- 66) Sabirov, R. Z., Krasilnikov, O. V., Ternovsky, V. I. & Merzliak, P. G. (1993) Relation between ionic channel conductance and conductivity of media containing different nonelectrolytes. A novel method of pore size determination. *Gen. Physiol. Biophys.*, **12**, 95-111
- 67) Sawyer, D. B., Koeppe II, R. E. & Andersen, O. S. (1989) Induction of conductance heterogeneity in gramicidin channels. *Biochemistry* **28**, 6571-6583
- 68) Sawyer, D. B., Oiki, S. & Andersen, O.S. (1990) Single channels formed by gramicidin A in "solvent-free" bilayers formed from surface monolayers using a tip-dip technique. *Biophys. J.* **57**, 100 a
- 69) Schuerholz, T. & Schindler, H. (1983) Formation of lipid-protein bilayers by micropipette-guided contact of two monolayers. *FEBS Lett.* **152**, 187-190
- 70) Shennan, D. B., Davis, B. & Boyd, C. A. R. (1986) Chloride transport in human placental microvillous membrane vesicles. I. Evidence for anion exchange. *Pflugers Arch.* **406**, 60-64
- 71) Sherman-Gold, R. Ed. (1993) *The Axon guide for electrophysiology and biophysics laboratory techniques*. Axon, Foster City.
- 72) Sherwood, D. & Montal, M. (1975) Transmembrane lipid migration in planar asymmetric bilayer membranes. *Biophys. J.* **15**, 417-434
- 73) 鳥崎久仁子, 曾我部正博 (1994) イオンチャネル. *日本膜学会編 膜学実験シリーズ, 第I巻生体膜編*, 共立出版, 東京
- 74) Shin, Y.-K., Levinthal, C., Levinthal, F. & Hubbell, W. L. (1993) Colicin E1 binding to membranes: Time-resolved studies of spin-labeled mutants. *Science* **259**, 960-963
- 75) Sigg, D., Stefani, E. & Bezanilla F. (1994) Gating current noise produced by elementary transitions in Shaker potassium channels. *Science* **264**, 578-582
- 76) Sigworth, F. J. (1983) Electronic design of the patch clamp. In Sakmann, B. & Neher, E. (Eds.) *Single-channel recording*. Plenum, New York.
- 77) Sigworth, F. J. (1985) Open channel noise. I. Noise in acetylcholine receptor currents suggests conformational fluctuations. *Biophys. J.* **47**, 709-720
- 78) Silverstein, T. P. et al. (1993) Transmembrane measurements across bioenergetic membranes. *Biochim Biophys Acta* **1183**, 1-3
- 79) Silvius, J. R. (1992) Solubilization and functional reconstitution of biomembrane components. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **21**, 323-348
- 80) Simon, S. M. & Blobel, G. (1991) A protein-conducting channel in the endoplasmic reticulum. *Cell* **65**, 371-380
- 81) Small, D. M. (1986) *The physical chemistry of lipids. From alkanes to phospholipids*. Plenum, New York.
- 82) Sokabe, M., Kasai, M., Nomura, K. & Naruse, K. (1991) Electrophysiological analysis of structural aspects of voltage-dependent SR K⁺ channel. *Comp. Biochem. Physiol. C.* **98**, 23-30
- 83) Suarez-Isla, B. A., Wan, K., Lindstrom, J. & Montal, M. (1983) Single-channel recordings from purified acetylcholine receptors reconstituted in bilayers formed at the tip of patch pipettes. *Biochemistry* **22**, 2319-2323
- 84) Takagi, M., Azuma, K. & Kishimoto, U. (1965) A new method for the formation of bilayer membranes in aqueous solution. *Annu. Rep. Biol.*

- Works Fac. Sci. Osaka Univ. **13**, 107-110
- 85) Tanford, C. (1980) 妹尾学, 豊島善則 訳, 疎水性効果, ミセルと生体膜の形成, 共立出版
- 86) Thomas, L., Blachly-Dyson, E., Colombini, M. & Forte, M. (1993) Mapping of residues forming the voltage sensor of the voltage-dependent anion-selective channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**, 5446-5449
- 87) Unwin, N. (1993) Nicotinic acetylcholine receptor at 9 Å resolution, *J. Mol. Biol.* **229**, 1101-1124
- 88) Venable, R. M., Zhang, Y., Hardy, B. J. & Pastor, R. W. (1993) Molecular dynamics simulations of a lipid bilayer and of hexadecane: An investigation of membrane fluidity. *Science* **262**, 223-226
- 89) White, S. H. (1986) The physical nature of planar bilayer membranes. In: Miller, C. Ed. *Ion channel reconstitution*. Plenum, New York.
- 90) Wonderlin, W. F., Finkel, A. & French, R. J. (1990) Optimizing planar lipid bilayer single-channel recordings for high resolution with rapid voltage steps. *Biophys. J.* **58**, 289-297
- 91) Woodbury D. J. & Miller, C. (1990) Nystatin-induced liposome fusion: A versatile approach to ion channel reconstitution into planar bilayers. *Biophys. J.* **58**, 833-839
- 92) Yamamoto, T., Kashihara, Y., Okada, Y. & Oiki, S. (1994) Translocating pathway of nascent polypeptide chain in endoplasmic reticulum: Analysis in planar lipid bilayer system. *Jpn. J. Physiol.* **44**, S 159
- 93) Zasadzinski, J. A., Viswanathan, R., Madsen, L., Garnæs, J. & Schwartz, D. K. (1994) Langmuir-Blodgett films. *Science* **263**, 1726-1733



発育に伴う筋細胞内膜系の分化と収縮特性の変化の特徴

竹 倉 宏 明

(聖マリアンナ医科大学第二生理学教室)

Relationship between differentiation characteristics of internal membrane systems and contractile properties in chicken pectoralis muscle. Hiroaki TAKAKURA
(Department of Physiology, St. Marianna University School of Medicine, Kawasaki, Kanagawa, 216, Japan)

Relationships between differentiation characteristics of internal membrane systems (transverse (T) tubules, sarcoplasmic reticulum (SR) and T-SR junctions (triad)) and contractile properties were investigated in developing (1 to 30 days after hatching) chicken pectoralis muscle. Internal membrane systems were visualized using calcium potassium-ferricyanide and lipid soluble fluorescent dye (DiIC₁₆(3)) and observed by electron and confocal microscopes. Location of triads at the Z-line in pectoralis muscles differentiated in three steps: an initial location of longitudinally oriented triads at the A-I junction (15 days after hatching); a subsequent movement to the Z-line to keep the longitudinal orientation (20 days after hatching); finally rotation to a transverse direction on the Z-line and finishing the differentiation (30 days after hatching). Maximum shortening velocity (+60%) and maximum tension development (+100%) increased following 30 days development after hatching. However, the time courses of the increases in contraction speed and tension development were different. It is likely that the developing pectoralis muscle transiently expresses a protein responsible for adhesion of the triads to the myofibrils at the A-I junction region, and later substitutes that for a Z-line level protein. These separate stages in the differentiation of the E-C coupling units imply distinct cellular mechanisms underlying each of these events as well as their differential regulation during myogenesis in chicken skeletal muscle.

key words: development, excitation-contraction coupling, sarcoplasmic reticulum, skeletal muscle, transverse tubules

I. 緒 言

骨格筋の収縮は運動神経終末からの情報が筋線維に伝達され、脱分極性の終板電位が発生することから開始される⁴⁵⁾。これによって発生した活動電位は細胞膜が筋線維内部に陥入して形成された特殊構造体である横行小管 (transverse tubules: T管)¹³⁾を通じて筋細胞内部へ伝搬される。T管は筋細胞内のA-Iジャンクション上あるいはZ線上で、筋小胞体 (sarcoplasmic reticulum: SR) との間にCa²⁺放出を担うトライアド (triad) を形成する²⁹⁾。これら一連の筋細胞内膜系 (T管, SR, その両者によって形成されるトライアド) が骨格筋の興奮収縮連関の機能発現に直接関与しており^{12, 48, 49)}、構造上の特徴に関して興奮収縮連関との関係から研究が報告されている^{46, 47)}。

これらの筋細胞内膜系の発生は筋細胞形成段

階の後期に観察される^{8, 45)}。ニワトリ骨格筋の場合、ミオシン、アクチン等の収縮蛋白質は受精後のかなり早い段階 (5日目~10日目, 通常受精後21日目に孵化する) に形成され始める^{14, 39)}のに対し、筋細胞内膜系は受精後15日目前後 (SRの発生はT管の発生に先んじて起こる) という比較的遅い時期に筋線維内部に突然発生するのが観察される⁴²⁾。しかし、トライアドがA-Iジャンクション上 (あるいはZ線上, 筋の種類によって異なる) に移動し、横断方向に位置を変化させて分化が完了するのは孵化後数週間 (およそ4週間) を経た後である^{8, 23, 41)}。また、T管形成以前にすでに脚の動きが観察される (受精後7日目) ことも報告されており⁴¹⁾、トライアドの形成以前の興奮収縮連関の機能分化の特徴に関して最近研究が報告されている^{7, 22, 35, 50)}。このように、筋細胞内膜系の発生と分化の特徴を構造的な側面から

検討した研究は報告されているが、内膜系の分化と実際の機能の分化(発育に伴う収縮特性の変化)との関係を継時的に検討した研究は報告されておらず不明な点が多い。ニワトリ胸筋の筋細胞内膜系の分化は段階的に進行し、孵化後30日目の時点でおおよそ分化が終了すると報告されている^{23,42)}。一方、ラットなどの哺乳類の骨格筋では生後3週齢(離乳期)の時点で神経支配が多重神経支配から単一神経支配へと移行して神経支配の分化が終了すると報告されている^{2,3)}。また、トライアドはA—Iジャンクション上に形成され、ニワトリ胸筋に比較して分化のステップが少なく(A—IジャンクションからZ線上への移動というステップがない⁴³⁾、神経支配の分化が完了する生後3週齢の時点ではほぼ分化が終了する(未発表資料)。上記の点からニワトリ胸筋は哺乳類の骨格筋に比較して筋細胞内膜系の分化の速度が比較的遅く、分化の過程の継時的変化を段階的にとらえやすい。

そこで本研究では、孵化後の異なる日齢のニワトリ胸筋における筋細胞内膜系の分化の特徴と発育に伴う収縮特性の変化を同一筋において検討することにより、骨格筋における興奮収縮連関の機能分化の特徴と収縮特性の発達過程の関連性を明らかにすることを目的として実験を行った。

II. 方 法

A. 実験動物

実験動物には孵化後1日目(D1)より孵化後30日目(D30)までのニワトリを用いた。すべてのニワトリは温度37℃、湿度70%を維持した恒温槽中にて受精卵より管理して孵化させた。孵化した後実験に供するまでは、室温25℃、湿度55%に維持した箱中にて飼育し、飼育全期間を通じて飼料並びに水の摂取は自由に行わせた。本実験は日本生理学会により定められた「生理学領域における動物実験に関する基本的指針」を遵守し行った。

B. 分析方法

1. 筋細胞内膜系の可視化及び観察

電子顕微鏡による筋細胞内膜系(T管, SR, トライアド)観察のために、エーテル麻酔下にて各ニワトリの胸筋(pectoralis: PEC)を露出し、2.5%のグルタルアルデヒド(100 mM カコジル酸緩衝液中, pH 7.35, 50 mM CaCl₂ を含む)により生体中にて固定した(2時間)^{9,11,34)}。固定に際しては、固定液が筋全体に浸透し易いように筋線維の走行方向にメスで数本の切り込みを入れ、ピペットにより固定液を繰り返し丁寧に吹きつけた。筋が完全に固定された後、数個の筋束を摘出して以後の処理を行った。100 mM のカコジル酸緩衝液(pH 7.35, 50 mM CaCl₂ を含む)にて洗浄後(5分×3回)、2%オスミウム酸(0.8%のK₃Fe(CN)₆を含む)にて後固定を行った(2時間30分)。100 mM のカコジル酸緩衝液(pH 7.35)にて2回(5分間×2)、引き続き蒸留水にて1回(5分間)洗浄した。飽和酢酸ウラニル水溶液中に1時間浸漬した後、エタノールにて脱水、アセトン置換を行いアセトン—エポキシ樹脂混合溶液(1:1)に1時間浸透し、最終的にエポキシ樹脂に包埋した。以上すべての包埋過程は室温下にて行った。また、筋の固定から包埋までの過程はすべて同日中に行った。包埋したサンプルは40℃並びに60℃にてそれぞれ1昼夜ずつ乾燥重合させた後、ウルトラミクロトーム(Ultracut E, Reichert-Jung, Austria)により厚さ0.3 μm~0.35 μmの切片を作製し、無染色のまま加速電圧100 KVにより観察、写真撮影を行った(JEM-2000 EX, JEOL, Japan)。共焦点レーザー走査蛍光顕微鏡により筋細胞内膜系を観察するために1, 1'-dihexadecyl-3, 3', 3', 3'-tetramethylindocyanine perchlorate (DiIC₁₆(3), Molecular Probes, Eugene, USA)によりT管及びSRの染色を行った。各日齢のニワトリよりエーテル麻酔下にてPECを摘出し、85 mM のsucrose 及び10 mM のEGTAを含む、カコジル酸緩衝液中(pH 7.2)にて数本ずつの筋線維の束を作製した。DiIC₁₆(3)によるSRの染色のため

めには、生体内において0.25%のグルタルアルデヒドにより固定した筋を摘出した後、T管染色と同様に処理した⁸⁾。0.25%のグルタルアルデヒドによる固定前処理によりSR及び核が染色される理由については、不明であり現在検討中である。DiIC₁₆(3)は2.5 mg/mlの濃度で100%エタノールに溶解して凍結保存(-20℃)し、使用直前に85 mMのカコジル酸緩衝液(pH 7.2, 85 mM: sucrose, 10 mM: EGTAを含む)に溶解して、最終濃度12.5 μg/mlとして用いた(染色液)。筋線維の束をDiIC₁₆(3)を含む染色液に直接浸透し、10分間ピペットを用いて溶液を繰り返し吹きつけた。これらの作業は暗所、室温下にて行った。DiIC₁₆(3)を除く同一の緩衝液にて数回洗浄し、筋線維の束を細断してスライドガラス上にカバーガラスを用いて包埋した。得られた標本は共焦点レーザー走査蛍光顕微鏡(BioRad Microscience, MRC-600, U. S. A.)により観察した。

2. 収縮特性

エーテル麻酔下にて誕生後7, 14, 21, 28日齢の各ニワトリのPECより数個の筋束を摘出して、収縮特性の分析に用いた。筋線維約40~50本の筋束をrelaxing solution(10 mM: PIPES, 4 mM: EGTA, 0.2 M: ionic strength, pH 6.8)中にて分離し、次にサポニン(50 μg/ml relaxing solution中)にて10分間処理し、chemically skinned fiberの筋束を作製して実験に供した。長さ3~4 mmの筋束の両端を反回転ねじった状態にて可動式のフックに固定し、光回折法にて筋節長2.6 μmに調整した。顕微鏡下にて測微計(×400, OSM, Olympus, Japan)を用いて長軸に沿って最大と最小の筋幅を求め、楕円近似にて筋束の横断面積を求めた。次に筋束両端を半導体トランスデューサー(AE-801, AME, Norway)と筋長を変えるためのドライブモータ(G-100 PD, General Scanning INC, USA)のフックに固定し直し、筋節長2.6 μmに調整した。最大短縮速度(V_{max})及び最大収縮張力(P_0)はactivation solution(pCa 4.0)中にて測定した¹⁷⁾。 V_{max} は筋長の20%以内の範囲において、4回

異なる筋長変化をさせるslack test法により求めた。SRのCa取り込み能はHoriuti¹⁹⁾の方法に従い、閾値下のCa濃度にて0.5, 1, 2, 3, 5, 10分間SRにCaを取り込ませた後、25 mM caffeine溶液に置換した際に得られる張力曲線と基線からなる面積として求めた。Ca感受性に関する実験では、筋線維束は50 μg/mlサポニンと0.1% Brij-58を含むrelaxing solution中にて30分間処理した後、種々の濃度のCaにて発揮される収縮張力を測定しpCa-tension curveとして表示した。

3. 統計処理方法

各日齢における収縮特性の測定値は通常の方法により平均値±標準偏差として算出した。また、各日齢間における平均値の差の検定はunpaired t-testによって行い、いずれの場合も危険率5%未満をもって有意とした。

Ⅲ. 結 果

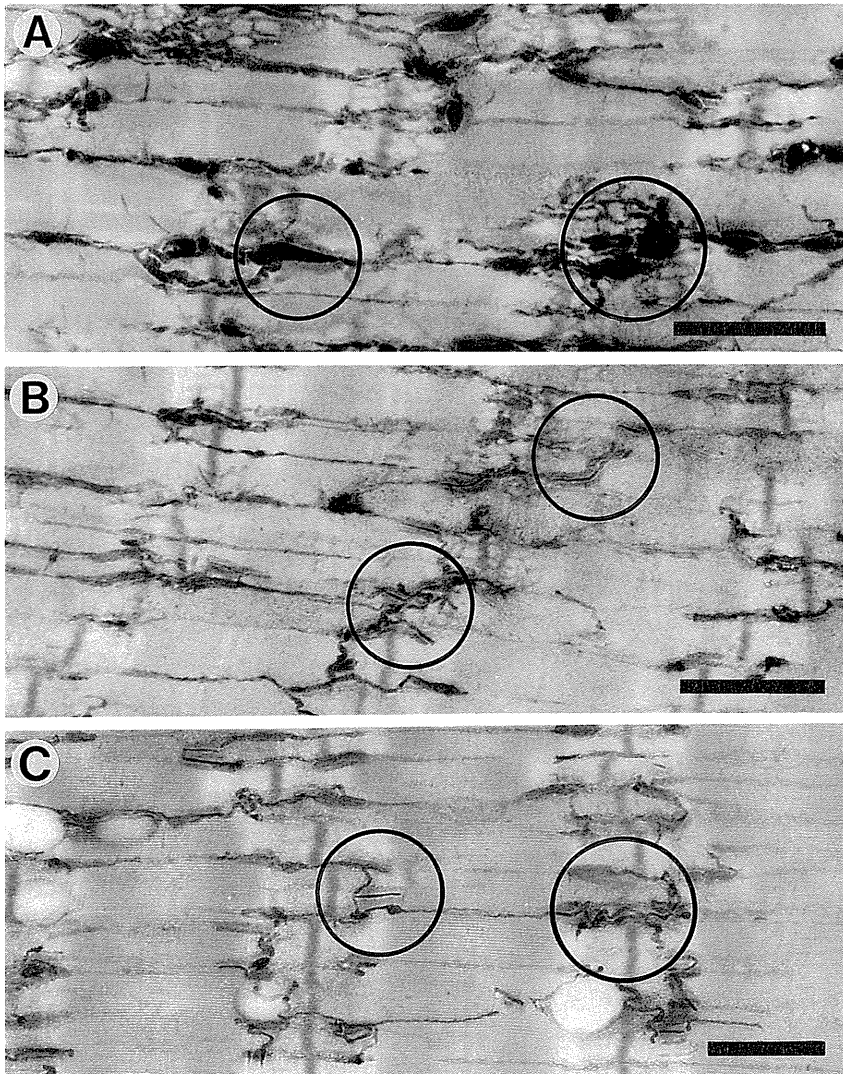
A. 発育に伴う筋細胞内膜系の分化の特徴

発育に伴う筋細胞内膜系の分化の特徴を電子顕微鏡(図1)並びに共焦点レーザー走査蛍光顕微鏡(図2)写真により示した。ニワトリ成鳥のPECはその大部分が速筋線維により構成されており、ニワトリ骨格筋の中でトライアドがZ線上に配列される唯一の骨格筋である²³⁾。ニワトリ骨格筋の場合、SR並びにT管は孵化以前の受精後15日目前後に形成され始めることが報告されており⁴²⁾、D1の時点(図1A)で観察されるトライアドについては、筋細胞内の位置に一定の規則性は認められず、大部分のトライアドが長軸方向(筋原線維の走行方向)を保持していた。また、T管そのものも「ちぢれ」ている状態にあり、SRとの間でトライアドを形成する部分のT管は膨化しており発生当初の幼弱な特徴を残していた。D5(図1B)の時点ではトライアド部分のT管の膨化は消失したが、「ちぢれ」は依然として観察された。D10(図1C)になると、T管の「ちぢれ」が観察されなくなり、幼弱期の特徴が徐々に消失したことを示している。また、D15(図1D)にはすべて

のトライアドが A—I ジャンクション上へと移行するが、この時点では依然として長軸方向を保持している。D20 (図 1 E) には、大部分のトライアドが長軸方向を保持したまま Z 線上へと移動するのが観察された。D30 (図 1 F) の時点でトライアドは Z 線上において方向を長軸方向から横断方向 (筋原線維の走行方向に直角) へとその方向を回転させて分化が完了する。トライアドの分化は、筋細胞内発生→配列 (A—I ジャンクション上・長軸方向)→移動 (Z 線上・長軸方向)→回転 (横断方向) という順序で分化が進

行して終了するものと考えられる。

D30 の時点で T 管は Z 線上に横断方向で配列されていることが電子顕微鏡による観察により確認されている。図 2 に D30 の T 管 (図 2 A) 及び SR (図 2 B) の共焦点レーザー走査蛍光顕微鏡写真を示した。D30 の時点で筋細胞の表面膜との連絡 (図 2 A, 矢印) も頻繁に観察される。一方 SR も Z 線上に形成されているのに加えて、M 線上における形成も明瞭に観察された (図 2 B, 矢印)。



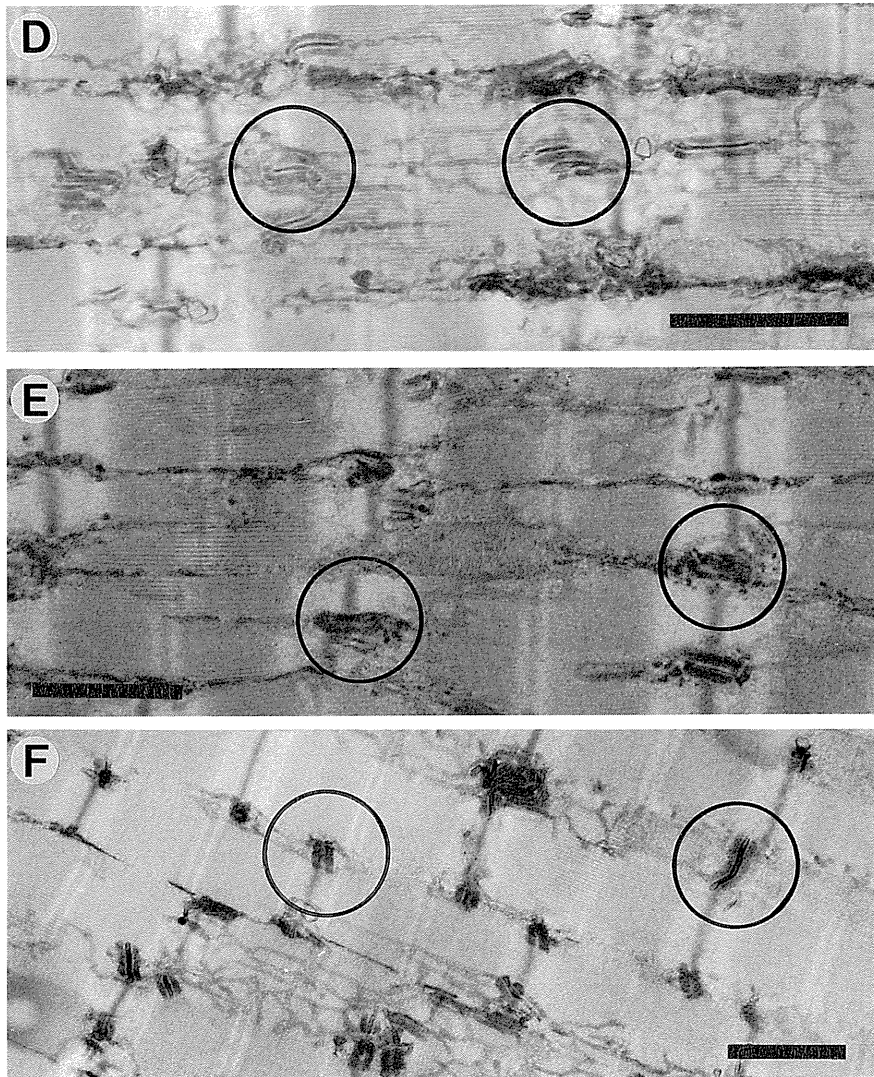


Fig. 1. Electron micrographs of pectoalis muscle fibers at D 1(A), D 5(B), D 10(C), D 15(D), D 20(E) and D 30(F). Following the development of T-tubule networks, some triads (circles) are observed with longitudinal orientation (A). There is no regular location in the fibers at this point, and these tendencies continue until D 15. All triads locate on the A-I junction with longitudinal orientation at D 15(D) and move to Z-line with keeping the longitudinal orientation at D 20(E). Finally, all triads rotate to the transverse orientation on the Z-line and finished the differentiation of triads (F). Scale bars=1 μ m.

B. 発育に伴う収縮特性の変化

最大短縮速度及び最大収縮張力の発育に伴う変化を表1に示した。最大短縮速度は発育に伴い増加する傾向を示し、孵化後14日目を境に、それ以前の日齢とそれ以降の日齢では顕著な差が認められた。D21の値はD6($p < 0.01$)及び

D14 ($p < 0.05$)の値に比較して有意に高値を示した。また、D30の値はそれ以前のいずれの日齢の値に比較しても有意に(vs D6, D14: $p < 0.01$, vs D21: $p < 0.05$)高値を示した。最大収縮張力も同様に発育に伴い増加する傾向を示し、D6の値と他の日齢との間には有意な

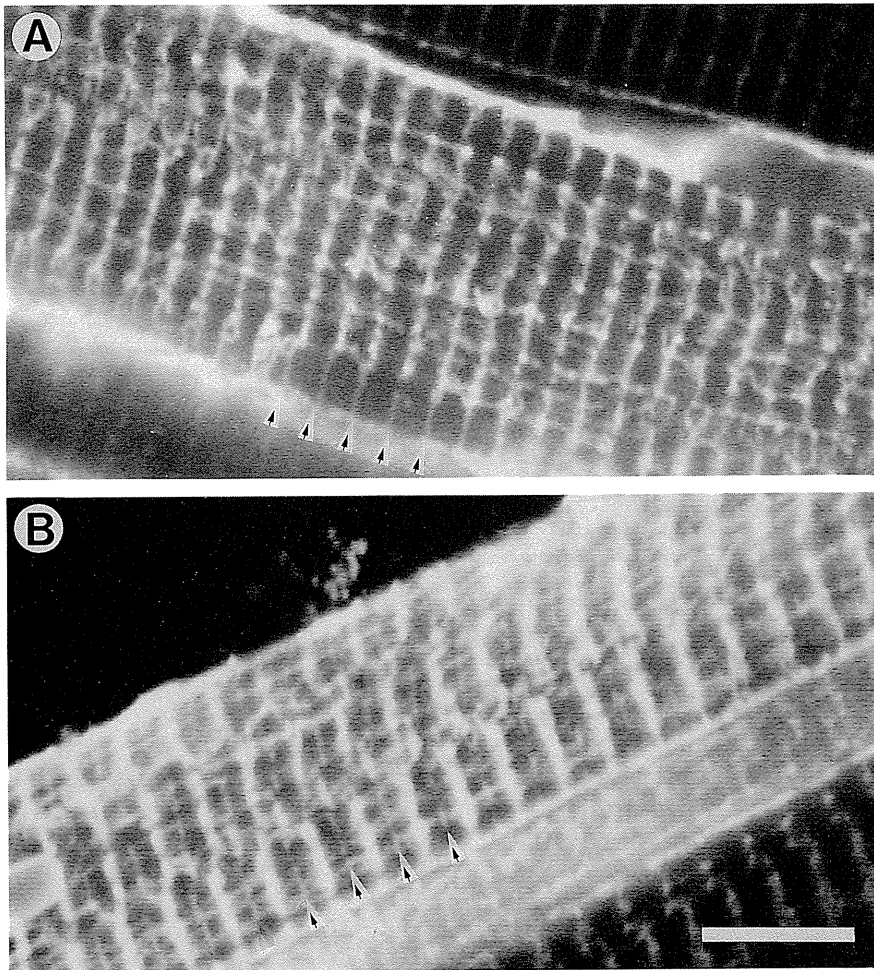


Fig. 2. Confocal images of pectoralis muscle fibers at D 30 (A and B). T-tubules (arrows) are arranged on the Z-line and connected with surface membrane (A). SR is arranged Z-line and M-line (arrows, B). Scale bars=10 μ m.

Table 1. Changes in maximum shortening velocity (V_{max}) and maximum tension (P_0) in chicken pectoralis muscle fibers following growth.

Age (days)	n	V_{max} (fiber length/sec)	P_0 (N/cm ²)
6	4	1.15 \pm 0.12	0.447 \pm 0.014
14	5	1.19 \pm 0.14	0.683 \pm 0.101 *
21	5	1.55 \pm 0.14 **,+	0.780 \pm 0.228 *
30	4	1.80 \pm 0.05 **,+, §	0.884 \pm 0.032 **,+

Age: days after hatching, n: number of fiber bundle measured, Values are means \pm S.D., Significant differences: * p <0.05, ** p <0.01 versus 6 days, + p <0.05, ++0.01 versus 14 days, § p <0.05 versus 21 days.

差が認められた (vs D 14, D21: p <0.05, vs D 30: p <0.01). また, D 30 は D 14 に比較しても有意に (p <0.05) 高値を示した. 最大短縮速度並びに最大収縮張力は D 6 から D 30 までのおよそ25日間の発育に伴いそれぞれ, 約60%, 100%の増加を示した. 最大短縮速度は D 14 から D 21 にかけての増加率が30.3%と最高を示したのに対し, 最大収縮張力の増加率は D 6 から D 14 にかけての増加率が最高であった (52.8%).

図3に異なる濃度の Ca^{2+} によって発揮される張力をその相対値によって示した. いずれの

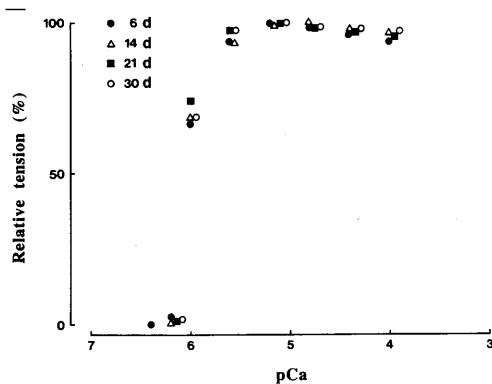


Fig. 3. pCa-tension relation from chicken pectoralis muscle at different ages after hatching.

日齢についても pCa 6.2 が張力を発揮させる閾値濃度であり、pCa 5 によって最大値を示した。異なる濃度の Ca^{2+} によって発揮される張力に発育時期による相違は認められず、孵化後の Ca 感受性に対する発育の影響は少ないものと考えられる。

図 4 にはカフェイン (25 mM) によって発揮される張力曲線の変化を、閾値以下の Ca (pCa 6.4) 取り込み時間の 5 分値を 100 とした際の相対値によって示した。5 分値を基準とした場合、10 分値には各日齢間間に有意な差は認められなかった。しかし、5 分値より前の値 (30 秒値、

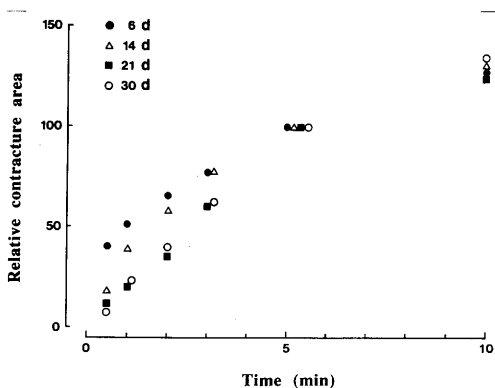


Fig. 4. Caffeine contracture due to Ca^{2+} release from the SR of the chicken pectoralis muscle fiber at different ages after hatching. Dependence of the area of caffeine contracture on the time of the loading period. The loading the SR was carried out pCa 6.6. Contracture areas were normalized to that at 5 min.

1, 2, 3 分値) に関しては、D21 及び D30 の値がそれ以前の日齢の値に比較して低値を示す傾向が認められ、その差は統計的に有意であった ($p < 0.01$)。D21 の値と D30 の値にはいずれの時点でも有意な差は認められなかった。また、30 秒値に関しては D14 の値も D6 の値に比較して有意に ($p < 0.01$) 低値を示した。1 分値以後に関しては D6 の値と D14 の値に顕著な差は認められなかった。D6 の場合、30 秒値と 5 分値の差は 60% 程度であるのに対し、D30 の場合その差は 90% にまで増加した。この結果から孵化後 14~21 日にかけて SR の Ca 取り込み能に変化が生ずる可能性が考えられる。

IV. 考 察

発育に伴う収縮特性の変化の一部は、ミオシンアイソザイムの分化のパターンや収縮蛋白質量に依存していることが報告されている。骨格筋のミオシン重鎖 (H鎖) と軽鎖 (L鎖) にはそれぞれ数種類のアイソザイムの存在が確認され³²⁾、発育に伴い構成比率が変化する^{27, 28)}のに対し、アクチンのアイソザイムは孵化後の骨格筋ではほとんど変化しない³³⁾と報告されている。またニワトリ胚の PEC ではミオシン L鎖 (胚型) が H鎖 に先んじて発現し、それに遅れて遅筋型 L鎖、速筋型 L鎖 と胚型 H鎖 がほぼ同時期に発現することも報告されている^{27, 28)}。ミオシン H鎖 に関しては発育に伴い、胚型、新生児型、親型の 3 種類の分化を示すことも報告されている^{27, 28)}。このように L鎖 と H鎖 ともに発育に伴い顕著な変化を示すが、両者の変化は完全に独立して進行し異なる遺伝子によって支配調節されているものと理解されている。

最大短縮速度は、個々の筋線維におけるミオシンアイソザイムの構成比率によって決定されると報告されている^{25, 26, 37)}。本実験では、最大短縮速度が生後 14 日目を境に急激な上昇を示した。この時期のミオシンアイソザイムは H鎖 に関しては成鳥型、L鎖 に関しては遅筋型もしくは速筋型への分化がすでに終了している²⁸⁾。

したがって、ミオシン ATPase 活性値の変化は、それぞれミオシンにおけるサブユニットの変化に依存している^{5,30,31})と考えられ、本研究において認められた最大短縮速度の増加はミオシンアイソザイムの構成比率の変化による³⁸)ものと考えられる。一方、単位断面積あたりの最大収縮張力は加齢に伴い漸次増加し、生後30日目に最大値を示した。Ca²⁺により activateされる skinned fiber の最大収縮張力の高低は Ca の拡散速度や収縮に伴う構造の乱れといった要素の他に、収縮蛋白質の量にも依存する。本研究では最大収縮張力が発育に伴い増加したことから、筋線維における myofibril の量は孵化後に増加するものと考えられる。最大短縮速度と最大収縮張力の発育に伴う増加のパターンの相違 (最大短縮速度は D14 から D21 にかけて最高に増加し (+30.3%)、最大収縮張力は D6 から D14 にかけての増加率が最高であった (+52.8%)) ことから、発育に伴う筋構成タンパク質の質的な変化と量的な変化は異なる速度で進行するものと考えられる。

これらの収縮蛋白質の分化に対して、興奮収縮連関に直接関与する筋細胞内膜系の分化の特徴については報告が少なく^{6,8,20,21})、不明な点が多い。T管とSRはそれぞれ時間的、場所的に完全に独立して発生し、分化が進行する^{6,8,42})。しかし、両者は分化の過程のある時期、ある場所で相互に認識し合い、Ca²⁺放出に直接関与するトライアドを形成し、筋細胞内での位置と方向が発育に伴い変化することは非常に興味深い。本研究で用いたニワトリ PEC の場合、筋線維内膜系の分化は孵化後30日をかけて完成した。さらにこの分化のパターンは筋線維タイプ別に異なることが報告されている⁴¹)。ニワトリ成鳥の posterior latisimus dorsi (速筋)のトライアド数は anterior latisimus dorsi (遅筋)の6~7倍であり、収縮速度との間に密接な関係があることも報告されている⁴¹)。したがってミオシンアイソザイムの構成比率の変化に加えてトライアドの数の相違が収縮速度を決定する因子の一つである可能性も考えられ

る⁴¹)。

筋線維の分化のパターンに影響を及ぼす因子として神経性あるいは体液性の因子が関与していることが除神経(あるいは交叉性神経支配)あるいはホルモン投与(あるいは内分泌腺切除)の実験結果を根拠として報告されている^{15,16,18,28})。ニワトリ骨格筋の場合、神経支配は受精後15日目までに完成すると報告されている¹⁵)。他の収縮蛋白質と同様に、このような神経性あるいは体液性の因子が筋細胞内膜系の分化に何らかの関与をしているものと考えられるが、直接的な支配因子に関しては報告がなく、筋細胞内膜系の分化を支配する因子の解明は今後の研究課題であると思われる。トライアドを A—I ジャンクション上あるいは Z 線上に留める蛋白質が存在する可能性も示唆されている⁴²) が、直接単離精製した研究は報告されておらず明確な証拠は得られていない。

本研究では、各 Ca 濃度で発揮される張力に発育の影響は認められなかった。一方、カフェインによる張力発揮曲線には発育の影響が認められ、特に孵化後14~21日齢を境に Ca 取り込み能に変化が生じたことが推察される。SR からの Ca²⁺ 放出を担っているカルシウムチャンネルは feet¹⁰)と呼ばれ、4量体で構成されている²⁴)。また、このチャンネルは ryanodine によっても開口固定され Ca²⁺ を放出することが報告され³⁶)、ryanodine receptor (RR) と称される場合も多い。最近、骨格筋型の RR 発現を抑制したミュータントマウス (dyspedic mouse⁴⁰) 骨格筋における収縮特性を検討し、RR が興奮収縮連関の Ca 放出を直接担っている機能的カルシウムチャンネルであることが証明された⁴⁴)。しかし、ニワトリ骨格筋における ryanodine の結合量は発育に伴い増加し、孵化前後に急激な上昇が認められ、孵化後7日目には成鳥と同程度の結合量を示すことが報告されている³⁵)。本研究でも観察された通り、孵化前後のこの時期はトライアドが形成されてその数が増加する時期にあたり、ryanodine の結合量の増加はトライアドの数の増加に依存した

カルシウムチャンネルの数の増加を反映しているものと理解できる。RRはmyofibrilが形成され、Z線が構築される時期に一致して発現すると報告されている³⁵⁾。ニワトリ骨格筋のRRには α 、 β の2種類のサブユニットが存在し¹⁴⁾、発育に伴いその構成が変化することも報告されている³⁵⁾。RRの発生初期(受精後10日目)には α サブユニットのみが認められ、発育に伴い β サブユニットが発現する。しかし、この β サブユニットの発現の時期もSR及びT管が発生する前後の受精後15日目という時期であり、孵化後の発育に伴うカルシウムチャンネルの機能の変化はサブユニットの移行からは説明することはできない。また、RRのサブユニットの変化、ryanodine結合量の増大(カルシウムチャンネル数の増加)の時期とSRのCa取り込み量が増加する時期は必ずしも一致してはいない。これらの結果は興奮収縮連関の一連の過程の中でT管とSRの機能をつかさどる各要素がそれぞれ独立した発達過程をたどることを示唆する結果であると思われる。また、筋細胞内の Ca^{2+} 濃度の変化が筋細胞の分化に影響を及ぼすことから、 Ca^{2+} 放出を担っているRRの発現そのものも筋細胞の分化に間接的に関与しているものと考えられる。

V. 結 論

本研究では、ニワトリ胸筋における内膜系の発達と発育に伴う収縮特性の変化の関連性を検討することにより、骨格筋における興奮収縮連関の機能分化の特徴を興奮収縮連関に直接関与する筋細胞内膜系の分化の特徴から明らかにすることを目的として実験を行った。誕生直後より生後30日目までのニワトリ胸筋(pectoralis muscle)を被検筋としてT管、筋小胞体及びその両者によって構築されるトライアドを可視化して電子顕微鏡、共焦点レーザー走査蛍光顕微鏡により観察した。さらに、同日齢の骨格筋を用いて収縮特性(最大短縮速度、最大収縮張力、異なる濃度の Ca^{2+} による収縮時及びカフェインによる収縮時の発揮張力)の分析を行い構造

上の特徴と比較して検討した。

A. トライアドは孵化後1日目より観察され、発育に伴いその数が増加した。また、トライアドが形成された初期段階では筋細胞内での位置・方向に規則性は認められず、発育に伴いその規則性が漸次形成されてくる。すなわち、無秩序→A-Iジャンクション上に整列(長軸方向)→Z線上への移動(長軸方向)→方向の変化(横断方向)という順序で孵化後30日をかけて分化が完了した。トライアドの分化は筋細胞内部の位置が決定された後、最後に方向の変化(長軸方向→横断方向)が起こって完成する。

B. 最大短縮速度及び最大収縮張力は発育に伴い増加する傾向にあり、最大短縮速度は孵化後14日目を境に急激な増加(+30.3%)を示した。孵化後14日目以前とそれ以降の値の間には有意な差が認められた。一方、最大収縮張力は孵化後6日目から14日目にかけての増加率が最高値(+52.8%)を示し6日目の値とそれ以降の値の間には有意な差が認められた。

C. 異なる濃度の Ca^{2+} によって収縮させた際に発揮される張力に、発育の影響は認められなかった。しかし、カフェイン拘縮時の発揮張力の継時的変化には発育の影響が認められた。

以上の成績より、興奮収縮連関に直接関与する筋細胞内膜系と収縮蛋白質の分化は、それぞれ固有の因子により支配され、異なる発育時期に発生し、分化の速度も異なるものと考えられる。発育段階で両者はそれぞれ独立して分化が進行・完了するものと考えられる。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました聖マリアンナ医科大学第二生理学教室吉岡利忠主任教授に甚大なる謝意を表します。また、終始実験にご協力頂き、御指導、御助言を賜りました愛知教育大学総合科学課程の春日規克助教授並びにペンシルバニア大学医学部細胞・発生生物学教室のClara Franzini-Armstrong教授に心より感謝致します。また、本稿をまとめるに当たり貴重な御示唆を頂きました鹿屋体育大学体力科学講座の倉田博教授に心より感謝致します。

参 考 文 献

- 1) Airey, J.A., Beck, C.F., Murakami, K., Transley, S. J., Deerinck, T. J., Elisman, M.H. and Sutko, J. L. (1990): Identification and localization of two triad junctional foot protein isoforms in mature avian fast twitch skeletal muscle. *J. Biol. Chem.*, **265**, 14187-14194.
- 2) Brown, M. C., Jansen, J. K. S. and Essen, D. V. (1976): Polynuronal innervation of skeletal muscle in new-born rats and its elimination during maturation. *J. Physiol.*, **261**, 387-422.
- 3) Changeux, J. P. and Duchin, A. (1976): Selective stabilisation of developing synapses as a mechanism for the specification of neuronal networks. *Nature*, **246**, 705-712.
- 4) De Jongh, K. S., Merrick, D. K. and Catterall, W. A. (1989): Subunits of purified calcium channels: A 212-kDa form of $\alpha 1$ and partial aminoacid sequence of a phosphorylation site of an independent β subunit. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 8585-8589.
- 5) Dow, J. and Stracher, A. (1971): Identification of the essential light chains of myosin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **68**, 1107-1110.
- 6) Ezerman, E. B. and Ishikawa, H. (1967): Differentiation of the sarcoplasmic reticulum and T-system in developing chick skeletal muscle *in vitro*. *J. Cell Biol.*, **35**, 405-420.
- 7) Flucher, B. E., Phillips, J. L. and Powell, J. A. (1991): Dihydropyridine receptor α subunits in normal and dysgenic muscle *in vitro*: expression of $\alpha 1$ is required for proper targeting and distribution of $\alpha 2$. *J. Cell Biol.*, **115**, 1345-1356.
- 8) Flucher, B. E., Takekura, H. and Franzini-Armstrong, C. (1993): Development of the excitation-contraction coupling apparatus in skeletal muscle. II. Association of sarcoplasmic reticulum and transverse tubules with myofibrils. *Dev. Biol.*, **160**, 135-147.
- 9) Forbes, M. S., Plantholt, B. A. and Sperelakis, N. (1977): Cytochemical staining procedures selective for sarco-tubular systems of muscle: modification and applications. *J. Ultrastruct. Res.*, **60**, 306-327.
- 10) Franzini-Armstrong, C. (1970): Studies of triad. I. Structure of the junction in transverse tubules. *J. Cell Biol.*, **47**, 488-499.
- 11) Franzini-Armstrong, C. (1991): Simultaneous maturation of transverse tubules and sarcoplasmic reticulum during muscle differentiation in the mouse. *Dev. Biol.*, **146**, 353-363.
- 12) Franzini-Armstrong, C. and Jorgensen, A. O. (1994): Structure and development of E-C coupling units in skeletal muscle. *Annu. Rev. Physiol.*, **56**, 509-534.
- 13) Franzini-Armstrong, C. and Porter, K. R. (1964): Sarcolemmal invagination constituting the T-system in fish muscle fibers. *J. Cell Biol.*, **22**, 675-696.
- 14) Gauthier, G. F., Lowey, S., Benfield, P. A. and Hobbs, A. W. (1982): Distribution and properties of myosin isozymes in developing avian and mammalian skeletal muscle fibers. *J. Cell Biol.*, **92**, 471-484.
- 15) Gordon, T., Perry, R., Spurway, N. G. and Vrbova, G. (1974): Possible mechanisms determining synapse formation in developing skeletal muscles of the chick. *Cell Tissue Res.*, **155**, 13-25.
- 16) Gordon, T. and Vebova, G. (1975): The influence of innervation on the differentiation of contractile speeds of developing chick muscles. *Pflugers Arch.*, **360**, 199-218.
- 17) Harafuji, H. and Ogawa, Y. (1980): Re-examination of the apparent binding constant of ethylene glycol bis (-aminoethyl ether)-N,N,N',N'-tetraacetic acid with calcium around neutral pH. *J. Biochem. (Tokyo)*, **87**, 1305-1312.
- 18) Hoh, J. F. Y. and Egerton, L. J. (1979): Action of triiodothyroxine on the synthesis of rat ventricular myosin isozymes. *FEBS letter*, **101**, 143-148.
- 19) Horiuti, K. (1986): Some properties of the contractile system and sarcoplasmic reticulum of skinned slow fibres from *Xenopus* muscle. *J. Physiol. (Lond.)*, **373**, 1-23.
- 20) 石川春律 (1983): 横細管系と筋小胞体の発生. 小沢英二郎, 嶋田 裕, 真崎知生編, 筋発生の細胞生物学, 学会出版センター, 東京, 144-151.
- 21) Ishikawa, H., Tsukita, S. and Ueno, H. (1977): Development of T-system in chick skeletal muscles. High voltage electron microscopy. *Proc. Annu. Meet. Muscular Dystrophy Res. Group*, 18-19.
- 22) Jorgensen, A. O., Shen, C.-Y., Arnold, W., Leung, A. T. and Campbell, K.P. (1989): Subcellular distribution of the 1, 4-dihydropyridine receptor in rabbit skeletal muscle *in situ*: An immunofluorescence and immunocolloidal gold labeling study. *J. Cell Biol.*, **109**, 135-147.
- 23) Kidd, P. M. and Yasumura, T. (1982): T system abnormalities in differentiating skeletal fibers of dystrophic chickens. *Muscle Nerve*, **5**, 471-478.
- 24) Lai, A. F., Erickson, H., Block, B. A. and Meissner, G. (1987): Evidence for a junctional feet-ryanodine receptor complex from sarcoplasmic reticulum. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **143**, 704-709.
- 25) Lowey, S., Benfield, P. A., LeBlanc, D. D. and Waller, G. S. (1983): Myosin isozymes in avian skeletal muscle. I. Sequential expression of isozymes in developing chicken pectoralis muscle. *J. Muscle Res. Cell Motility*, **4**, 696-716.
- 26) Lowey, S., Waller, G. S. and Trybus, K. M. (1993):

- Skeletal muscle myosin light chains are essential for physiological speeds of shortening. *Nature (Lond.)*, **365**, 454-456.
- 27) 大日向 昂 (1983): 筋肉の分化—筋タンパク質の多型性と可変性—. *科学*, **53**, 689-696.
- 28) 大日向 昂 (1983): 収縮蛋白質および調節蛋白質. 小沢英二郎, 嶋田 裕, 真崎知生編, 筋発生の細胞生物学, 学会出版センター, 東京, 153-181.
- 29) Porter, K. R. and Palade, G. E. (1957): Studies on the endoplasmic reticulum. III. Its form and distribution in striated muscle cells. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **3**, 269-300.
- 30) Rubinstein, N. A. and Holtzer, H. (1979): Fast and slow muscles in tissue cultures synthesize only fast myosin. *Nature*, **280**, 323-325.
- 31) Rubinstein, N. A., Pepe, F. A. and Holtzer, H. (1977): Myosin types during the development of embryonic chicken fast and slow muscles. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **74**, 4524-4527.
- 32) Schiaffino, S. and Reggiani, C. (1994): Myosin isoforms in mammalian skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.*, **77**, 493-501.
- 33) Shimizu, N. and Obinata, T. (1980): Presence of three actin types in the skeletal muscle of chick embryo. *Dev. Growth Diff.*, **22**, 789-796.
- 34) Sommer, J. R. and Waugh, R. A. (1976): The ultrastructure of the mammalian cardiac muscle cell with special emphasis on the tubular membrane system. *Am. J. Pathol.*, **82**, 192-232.
- 35) Sutko, J. L., Airey, J. A., Murakami, K., Takeda, M., Beck, C., Deerinck, T. and Ellisman, M. H. (1991): Foot protein isoforms are expressed at different times during embryonic chick skeletal muscle development. *J. Cell Biol.*, **113**, 793-803.
- 36) Sutko, J. L. and Kenyon, J. L. (1990): Action of ryanodine. *J. Gen. Physiol.*, **96**, 439-441.
- 37) Sweeney, H. L., Kushmerick, M. J., Mabuchi, K., Sreter, F. A. and Gergely, J. (1988): Myosin alkali light chain and heavy chain variations correlate with altered shortening velocity of isolated skeletal muscle fibers. *J. Biol. Chem.*, **263**, 9034-9039.
- 38) Sweeney, L. J., Kennedy, J. M., Kokjohn, K. and Kelly, S. W. (1989): Evidence for expression of a common myosin heavy chain phenotype in future fast and slow skeletal muscle during initial stages of avian embryogenesis. *Dev. Biol.*, **133**, 341-174.
- 39) Takano-Ohmuro, H., Obinata, T., Masaki, T. and Mikawa, T. (1982): Changes in myosin isozymes during development of chicken breast muscle. *J. Biochem.*, **91**, 1305-1311.
- 40) Takekura, H., Nishi, M., Noda, T., Takeshima, H. and Franzini-Armstrong, C. (1994): Peripheral couplings and triads lack feet and tetrads in dyspedic mice with a targeted mutation of the gene for skeletal muscle ryanodine receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, in press.
- 41) Takekura, H., Shuman, H. and Franzini-Armstrong, C. (1993): Differentiation of membrane systems during development of slow and fast skeletal muscle fibres in chicken. *J. Muscle Res. Cell Motility*, **14**, 633-645.
- 42) Takekura, H., Sun, X. and Franzini-Armstrong, C. (1994): Development of the excitation-contraction coupling apparatus in skeletal muscle. Peripheral and internal calcium release units are formed sequentially. *J. Muscle Res. Cell Motility*, **15**, 102-118.
- 43) 竹倉宏明, 吉岡利忠 (1993): 興奮収縮連関に直接関与する筋細胞内膜系の発生と分化の特徴. *日本生理学雑誌*, **55**, 392-405.
- 44) Takeshima, H., Iino, M., Takekura, H., Nishi, M., Kuno, J., Minowa, O., Takano, H. and Noda, T. (1994): Excitation-contraction uncoupling and muscular degeneration in mice lacking functional skeletal muscle ryanodine-receptor gene. *Nature (Lond.)*, **369**, 556-559.
- 45) 藪 英世, 太田 勲 (1986): 収縮系の活性化 Ca^{2+} . 富田忠雄, 杉 晴夫編, 新生理科学体系 4 筋肉の生理学, 医学書院, 東京, 71-81.
- 46) Yoshioka, T. (1982): Width of junctional gap of the triad at various sarcomere lengths in frog skeletal muscle. *Jpn. J. Physiol.*, **32**, 475-479.
- 47) Yoshioka, T., Ohmori, K. and Sakai, T. (1981): Ultrastructural features of the sarcoplasmic reticulum during rapid cooling contracture and tetanus in frog skeletal muscle. *Jpn. J. Physiol.*, **31**, 29-42.
- 48) Yoshioka, T. and Somlyo, A. P. (1984): The calcium and magnesium contents and volume of the terminal cisternae in caffeine-treated skeletal muscle. *J. Cell Biol.*, **99**, 558-568.
- 49) Yoshioka, T. and Somlyo, A. P. (1987): The effects of quinine on the calcium and magnesium content of the sarcoplasmic reticulum and the temperature-dependence of quinine contractures. *J. Muscle Res. Cell Motility*, **8**, 322-328.
- 50) Yuan, S., Arnold, W. and Jorgensen, A. O. (1991): Biogenesis of transverse tubules and triads: immunolocalization of the 1, 4-dihydropyridine receptor, TS28, and the ryanodine receptor in rabbit skeletal muscle developing in situ. *J. Cell Biol.*, **112**, 289-301.



〔編集後記〕

本号では、巻頭言として、本郷利憲、熊田 衛両先生に続いて3回目として、やはり常任幹事のお一人である菅野義信先生に「私の一番大切な日本生理学会」という表題で御執筆いただきました。生理学は生物を取り扱うすべて学問領域の基幹をなすものであるという先生の信念に基づいて、日本生理学会の将来の展望、生理学教育のあり方について、示唆に富むご意見をお寄せくださいました。確かに、生理学の進歩が関連分野の進歩の評価と相互の理解にあるとすると、学部や学問領域を越えた発表の場はぜひ必要であると思われるし、そのような場には日本生理学会が最適のように思われますが、皆様はどの様にお考えでしょうか。本号の巻頭言を読まれて、日本生理学会の将来の展望についてのご意見がありましたら、ぜひ御寄稿ください。

今号も Information, Calender に多数の情報をいただきありがとうございます。ぜひ有効にお役立てください。Records には約160名にのぼる、たくさんの方々の名簿を載せています。仲間が増えることはうれしいことです。転勤、移動の情報とともに御利用ください。

Profile では北村憲司先生の研究、教育の抱負と展

望についてのべていただきました。先生の今後の一層の御活躍を期待しております。

今号のパッチクランプ実験技術法講座は老木成稔先生にイオンチャンネル研究のための脂質平面膜法についての記事をいただきました。種々の平面膜の作り方とその特性および記録法について詳しく述べられております。

実際に Inaeccessible チャンネルの解析や、特にイオンチャンネルの構造と機能の関係を明らかにする上で非常に有効な手法であるとおもわれます。この手法を使っている方や予定している方には大変有用な report になると思いますが、直接実験に携わっていない者にとってもこの手法の適用が具体的に実験例で示されており、大いに勉強になると思われます。

原著論文は竹倉宏明先生よりの寄稿をいただいております。ご協力に感謝いたします。

巻頭言にたいする御意見をはじめとして、Information, Calendar, Records 等の情報提供のコーナーを通じて紙上討論のようなものに発展させ、会員相互の交流の場として一層充実した誌面にしたいと思っております。是非、会員の方々の活発な御意見をお寄せください。お待ちしております。

(野崎修一 記)

編集委員

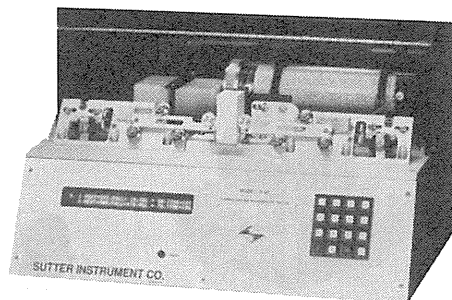
金子 章道(幹事)	野口 鉄也	野村 正彦
神田 健郎	野崎 修一	中島 祥夫
青木 藩(北海道)	土居 勝彦(東北)	工藤 典雄(関東)
松波 謙一(中部)	福田 淳(近畿)	片岡 喜由(中・四国)
山下 博(九州)		



孤高の境地に到達するサッターのプラ (ガラス電極作製装置)

P-97 **NEW**

各界で圧倒的な支持を得た
銘器P-87をさらにブラッシュ・アップ。
再現性とユーティリティにいっそう
磨きをかけました。



- ◇日本で特に再現性の敵となる湿度の影響を最小限に抑えるフィラメント・ハード・カバーを装備
- ◇ヒーター電流25%強化・冷却エア能力強化により大径・肉厚ガラスにも余裕の対応
- ◇メモリ可能なプログラム数を一挙に100まで増加
- ◇P-87で立証されたすぐれたメカニカル・ハードウェアを踏襲

P-2000 **for QUARTZ**

計り知れないポテンシャルを
もつクォーツ・ガラスからの電極
作製を可能としたサッター会心
のプラ。



- ◇従来のガラスとは比較にならない強度をはじめ、数々のメリットを持つクォーツ・ガラスからあらゆる形状のガラス電極を作製します。通常のガラスにももちろん対応
 - ◇レーザー光線を熱源としながら、金属フィラメントと同様の高操作性・安全性を達成
- ※クォーツ・ガラスの数々のアドバンテージをお知り頂くためにサンプルをお作りしています。
下記へお問合わせ下さい。

◆詳しい資料をご請求下さい



サッター社 日本総代理店

ショーシンEM株式会社

〒444-02 愛知県岡崎市赤浜町蔵西1-14 ショーシンビル2 F

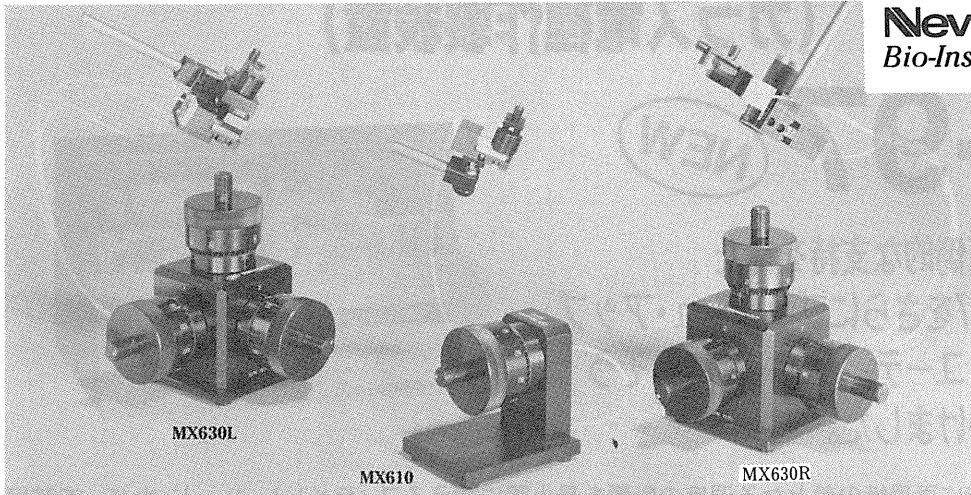
TEL. (0564) 54-1231番(代表)

FAX. (0564) 54-3207番

水圧式マイクロマニピュレータ



Newport
Bio-Instruments



- コンパクトで遠隔操作型
- 低ドリフトで驚くべき安定性
- 高い分解能
- スムーズで応答性に優れた駆動
- 顕微鏡や粗動マニピュレータへのセッティングが簡単

ニューポート社の高性能、低ドリフト型MX-610及びMX-630シリーズの水圧式マイクロマニピュレータは、他社で見られる多くの技術的な問題点を解消しました。手動調節による駆動は円滑で応答性に優れ、Intracellularやパッチクランプの長時間記録をはじめ、マイクロインジェクションや超精密細胞刺入に理想的なマニピュレータです。同社独自の設計により定温下でのドリフトを $1\mu\text{m}/\text{時}$ 以下に抑え、精密なポジショニングが十分な駆動距離から得られます。水圧式のメリットは、油圧システムに比べ熱膨張率が2~3倍低い水の特性を利用したものです。

High Performance Oocyte Clamp 高性能Oocyteクランプ装置 CA-1 クランプエータワン **Dagan社製**

- * CA-1 は最も低ノイズで高速度のOocyteクランプシステムです。
- * 従来の2電極モードと最新のCut-Open Vaseline Gap法によるクランプができます。



- 通常の2電極クランプモード(TEVモード)を、コンプライアンス電圧145V、3タイムコンスタントで容量補正します。これにより従来に無いバスクランプが高精度で得られ、従来機種のご倍以上高速でクランプします。(当社比)
- 新しい技法である「Cut Oocyte Vaseline-Gap法」は、極めて低ノイズでかつ従来Oocyteクランプ法に比べて50倍以上速くクランプが可能です。(20~100 μs で膜ポテンシャルを変化させる)。

このモードでは、Oocyteの内部還流による細胞内環境の管理が可能です。これにより、数時間に亘り安定した記録が実行できます。

この方法の利点は、速いイオンカレントやゲートチャージカレントの経過時間分解能が著しく向上します。カレントノイズは3KHzで僅か1nARMS以下です。従来の2電極法に比べ大幅に改善されます。CA-1は操作が簡単で、幅広く応用でき優れた性能が得られます。

CA-1のオリジナル設計はBaylor医科大学のDr.Enrico StefaniとUCLA医学部のDr.Francis Benzanillaとの業績によるものです。

日本総代理店



バイオリサーチセンター株式会社

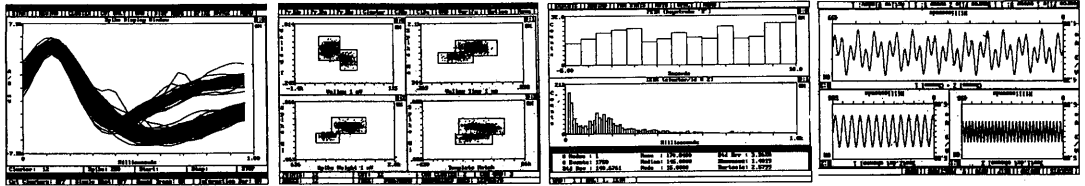
本社 名古屋市東区東桜2-10-21(錦見ビル2F) ☎ 052(932)6421 FAX 052(932)6755
東京 東京都江戸川区東葛西6-4-10(第6頼長ビル203号) ☎ 03(3878)6471

アナログ信号リアルタイム解析システム

BrainWave社製

WorkBench & Discovery

ワークベンチ&ディスカバリーシステムは、EEG、ECG、EMG等のアナログ信号、ユニット信号を取り込み、リアルタイムで多種多様な解析が可能な優れたシステムです。豊富なコマンドファンクションを持ち、マウス操作で画面表示、データ記録、演算・解析処理、ユニット分離、印刷等が簡単に自動化できます。

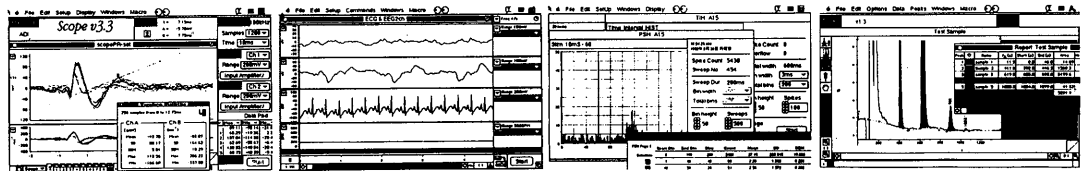


- ユニット分離 1つのユニットより12項目の値を抽出し、最大12のグループに区別します。
- ヒストグラム PETH、IEIH、XCRR、Rate Meter、JPST、Replay、Periodic PETH。
- 波形演算処理 アベレージング、スムージング、FFT、微積分、刺激誘発反応、可変面積、他多数。
- 波形数値抽出 Peak to Peak、dv/dtをはじめ、70種類にも及ぶデータ抽出が可能です。
- ディスプレイ オシロスコープ、ヒストグラム、XYプロット、デジタル表示、他多数。

動作環境	IBM PC-ATまたは100%互換機 (486DX-33MHz推奨)	
最大サンプリングレート	150KHz (1chに限定)	標準装備
	500KHz (1chに限定)	オプション
最大同時入力チャンネル数	16ch (A/Dボード1枚使用時)	標準装備
	32ch (A/Dボード2枚使用時)	オプション

マックラブシステム

MacLab/8 (8 ch)
MacLab/4 (4 ch)
MacLab/2e (2 ch)



マックラブシステムは、アンプ、CPUを搭載したインテリジェントタイプのA-D、D-A インターフェイスです。

《機能例》

	マクロによる自動記録	ハードディスクレコーディング
Scope	ストレージオシロスコープ	加算平均
	FFT、X-Yプロット	ピーク自動読み取り
	面積計算	プレ・ポストトリガー
Chart	チャートレコーダー	レートメーター
	ピークホールド	周波数カウンター
	タイムスケジューリング記録	ペリオドメーター
Peak	クロマトグラフ	エリア、リテンションタイム測定
Histogram	ペリスティムラスヒストグラム	タイムインターバルヒストグラム
		オートベースライン
		オートイベント
		スティムレーター
		dv/dt波形
		シグナルジェネレーター
		カウンター
		最高、最低トレンドグラフ
		BINカウント

《仕様》

アナログ入力	xch Max. ±10V	サンプリング	100KHz (Max 1ch)
アナログ出力	1ch Max. ±10V	(シングルパルス、バイポーラ、ランプ、ステップ、自在波形)	
デジタル入力	8ch (/4, /8), 2ch (/2e)	TTL5V (Ver. 3.3)	
デジタル出力	8ch (/4, /8), 2ch (/2e)	TTL5V (Ver. 3.3)	

A. D. I. 社
日本総代理店



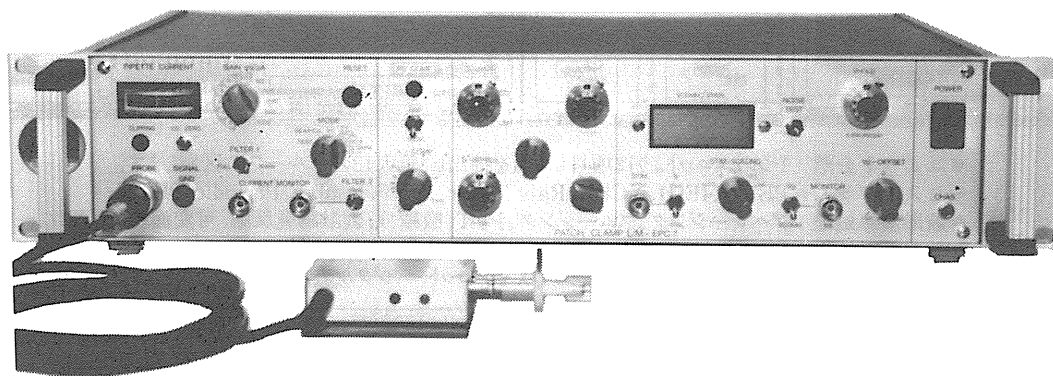
バイオリサーチセンター株式会社

本社 名古屋市東区東桜2-10-21(錦見ビル2F) ☎ 052(932)6421 FAX 052(932)6755
東京 東京都江戸川区東葛西6-4-10(第6頼長ビル203号) ☎ 03(3878)6471

実績 No.1!! F. J. Sigworth, E. Neher のオリジナル

西独リスト社

パッチクランプシステム *EPC-7*



■ 主な性能

- ノイズレベル (rms) : 0.05pA 1KHz, 0.30pA 3KHz
- 電流レンジ : 200pA (50G Ω), 20nA (500M Ω)
- 周波数応答 : 100KHz (500M Ω)
- 電位増幅度 : X10
- 測定モード : VC, CC, CC+COMM
- Rs補償 : 1-100M Ω
- 容量補償 : 0-10pF (First)
: 0.2-10pF, 2-100pF (Slow)
- ホールド電位 : ± 200 mV
- オフセット電位 : ± 50 mV
- コマンドレベル : 0, .1, .05, .001, -.1, -.05

日本総代理店 / 西日本地区発売元



ショーシンEM株式会社

〒444-02 愛知県岡崎市赤浜町蔵西1番地14ショーシンビル
TEL (0564) 54-1231(代) FAX (0564) 54-3207

東日本地区発売元

(Physio-Tech)

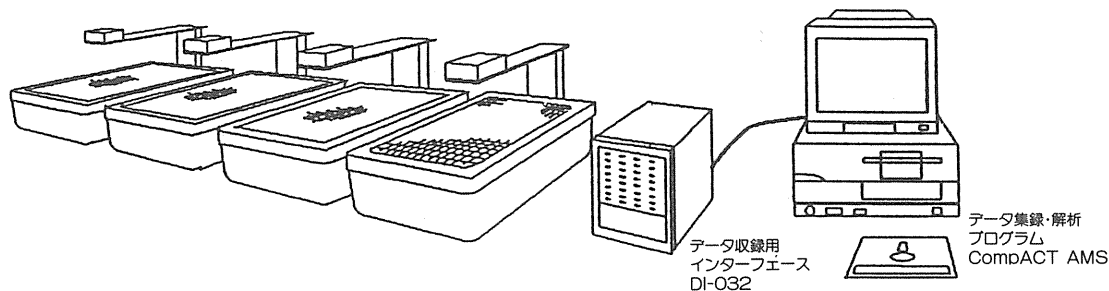
株式会社 フィジオテック

〒101 東京都千代田区内神田3丁目10番3号コイダビル4F
TEL (03) 3258-1641(代)

ローコスト型 自発運動量測定システム

スーパーメックス SUPERMEX

PAT. P.



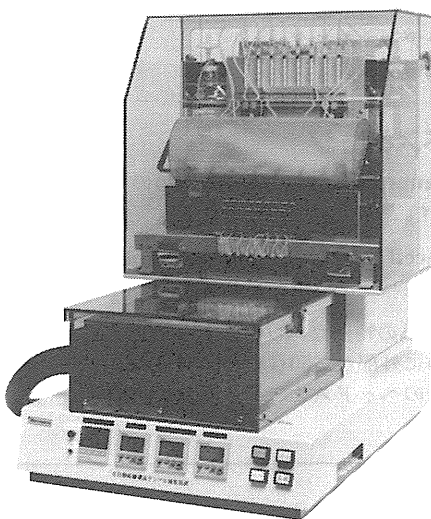
- 飼育ケージを使用することができます。
- 小動物(マウス、ラット、マーモセット等)から大動物(イヌ、サル、ブタ等)までの自発運動量を測定することができます。
- 感度調整等の煩わしい操作は不要です。
- 従来の自発運動量測定装置に比べ少ない予算で多チャンネルのシステム構成が可能です。
(例：4chのシステム価格 ¥1,500,000.- 8chで¥2,100,000.-)
- 標準で32ch、オプションで最大80chまでのアーターを集録し、附属の運動量解析プログラム(CompACT AMS)及び周期解析プログラム(オプション)にてデータの集録・解析を行います。
- 増設は簡単にでき、1ch増設の費用は約15万円です。
- 測定場所から離れた所でデータ集録を行なうことができます。(パソコンとインターフェースの最大距離は約1km)
- 自発運動量に加え、飲水量及び餌の摂取量の測定システムも御見積り致します。

Muromachi

総発売元

室町機械株式会社

本社：〒103 東京都中央区日本橋室町4-2-1 大辻ビル
TEL 03(3241)2444 FAX 03(3241)2940
大阪営業所：〒532 大阪市淀川区木川東4-5-3長谷興産新大阪ビル
TEL 06(302)1277 FAX 06(302)5026



全自動

細胞灌流サンプリング装置 MK-4000

脳スライス切片の各部位を灌流しながら、生体内で行なわれている化学的・電気的刺激及び、電氣的刺激により灌流液中に放出される物質(サイクリックAMP、神経伝達物質、代謝産物等)を捕集することを目的とした装置です。従来より行なわれていたレセプター結合実験(RRA)と併用することで、より効果的な神経伝達物質、セカンドメッセンジャー間の相互作用の研究が行なえます。

■主な特長

- 脳切片を専用チャンバーにセットするだけで予め設定した灌流操作をし、専用ラックに灌流液を捕集します。
- 切片を入れるチャンバー数及びチャンバーは、ご指定に応じて作成いたします。
- 各チャンバーは、独立した系になっており、コンタミネーションは一切ありません。
- 本体フロントの設定スイッチにより、全ての設定ができます。

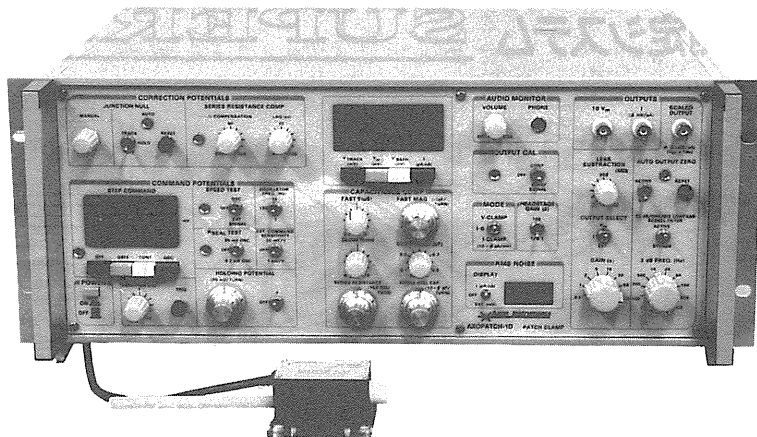
Muromachi

総発売元

室町機械株式会社

本社：〒103 東京都中央区日本橋室町4-2-1 大辻ビル
TEL 03(3241)2444 FAX 03(3241)2940
大阪営業所：〒532 大阪市淀川区木川東4-5-3長谷興産新大阪ビル
TEL 06(302)1277 FAX 06(302)5026

AXOPATCH-1D PATCH CLAMP



低ノイズ ハイスピード 安定性と信頼性

AXOPATCH-1Dは single-channel パッチクランプと whole-cell クランプするために開発された増幅器です。極めて低いノズル・レベルと素早い応答力を特徴としています。重要な部分はハイブリッド化により完全シールドされています。

AXOPATCH-1D はボルテージクランプと同様にカレントクランプ・モードでも作動します。フィードバック抵抗は同じセルから single-channel 電流と whole-cell 電流を記録するため、リモートコントロールができます。

CV4 ヘッドステージは下記の3種類があります。

AXOPATCH-1Dの特徴

- 使いやすい容量補償
- ラグ・コントロールつき直列抵抗補償
- コマンド電位発生器
- 接合電位除去
- RMS ノイズモニター
- ZAP (パッチ膜破壊)
- 可変出力ゲイン
- DC オフセット除去
- 可変低域通過ベッセルフィルター
- シールドテスト
- オーディオモニター
- 漏れ電流除去

AXOPATCH-1Dのヘッドステージ

CV4 1/100 whole-cell クランプ (20 nA まで) と single-channel 電流を記録するためのものです。50 GΩ と 500 MΩ のフィードバック抵抗があります。

CV4 0.1/100 大きなセル (200 nA; >> 100 pF) の whole-cell クランプと single-channel 電流を記録するためのものです。50 GΩ と 50 MΩ のフィードバック抵抗があります。

CV4B 0.1/100 人工膜から single-channel 電流を記録する為の特別なヘッドステージです。大きなコマンド電圧の間、サチレーションを防ぐために外部から 50 GΩ と 50 MΩ のフィードバック抵抗でコントロールできます。(大きなセルのヘッドステージと同型です)

西日本地区発売元



INTER MEDICAL CO., LTD.

株式会社 インターメディカル

本社/〒461 名古屋市東区葵一丁目25番1号
TEL (052) 937-7060 FAX (052) 937-5423
TLX 444-3603 WDMC J
東京支社/〒157 東京都世田谷区柏谷三丁目32番16号
製造営業部 アビタシオン千歳烏山102号
TEL (03) 5384-6387 FAX (03) 5384-6487

東日本地区発売元

(Physio-Tech)

株式会社 フィジオテック

〒101 東京都千代田区内神田3丁目10番3号
コイダビル4F
TEL (03) 3258-1641 (代)

Whole-Cell Clamp System

MODEL

TM-1000

- 人間工学的なデザイン、簡便で確実な動作。
- 安全性の高い直列抵抗の補償。(Rs:0~20M Ω)
- ダイナミックレンジの大きなオフセット及びホールド電圧設定。



※2点支持タイプ(メカニカルドリフトフリー)の電極ホルダー標準装備。

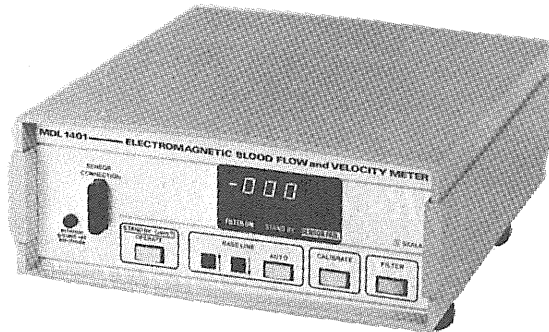
ACT ME LAB.

株式会社 アクトME研究所

〒173 東京都板橋区大谷口北町89-8-202 TEL:03-3554-5946

SKALAR サイン波 電磁血流計 MDL 1401

超小型軽量プローブにより、ラットの心拍出量から門脈、肝、腎動脈まで急性及び慢性実験用として安定した測定が可能となりました。



サイン波電磁血流計 MDL 1401

スカラー社製 サイン波電磁血流計 (MDL 1401) はサイン波励磁により、低雑音 (0.12 μ Vrms) 低ドリフト (2%以内) 及び超小型軽量プローブ (0.5mm ϕ) が可能となり、急性実験はもとより、慢性実験にも安定した測定ができる画期的な血流計です。

日本総代理店

LMS
Laboratory & Medical Supplies

株式会社 エル・エム・エス

デモのご依頼等、お気軽にご相談下さい。

〒113 東京都文京区湯島2-22-10 後藤ビル
☎03-3833-0910(代) FAX(03)3833-5910(代)

ラットから犬までの血圧を自動測定できます！

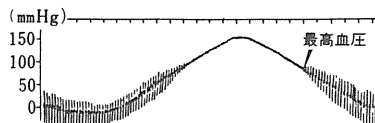
米国 NARCO 社製

非観血式血圧測定装置 PE-300

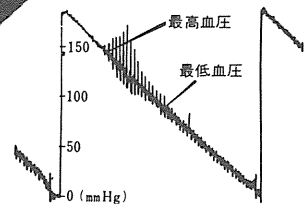
本装置は高感度トランスジューサーを用いてラット及びマウスの尾動脈よりパルスを検出し、非観血的に最高血圧を自動測定するものです。PE-300は発売以来、研究者の皆さまに好評を得ており、さらにアクセサリを交換すれば各種動物の最高および最低血圧を自動測定できます。

■特徴

- ① マウス・ラットの最高血圧を簡単に測定できます。
- ② カフの交換により、犬・猿・人間等の最高血圧及び最低血圧の測定が可能です。
- ③ 本体は一般のチャート・レコーダ等にも容易に接続できます。
- ④ 極めて再現性の高い血圧測定装置です。



＜RATの血圧データ＞



＜DOGの血圧データ＞

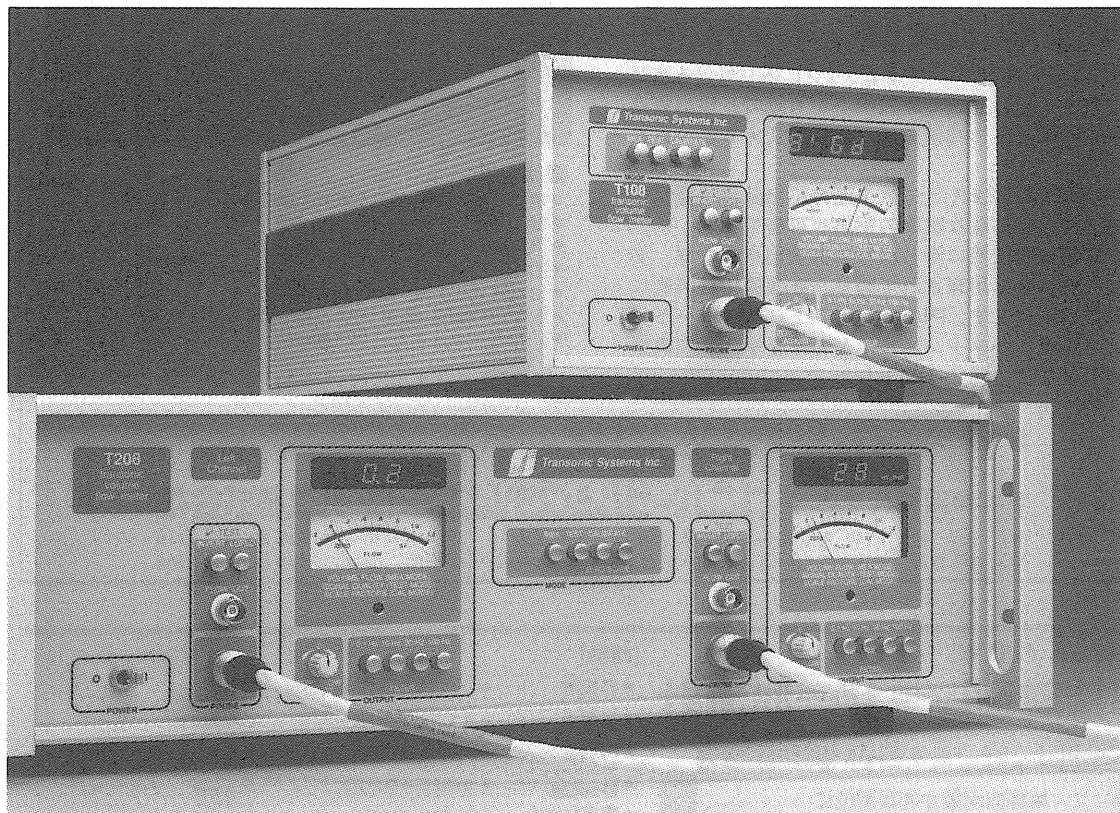
株式会社 エル・エム・エス

〒101 東京都千代田区外神田2-2-19ロクゴウビル
TEL:(03)5296-0950 FAX:(03)5296-0945

超音波トランジットタイム血流量計

Volume Flow in ml/min

T106/206 HT107/207 T108/208 HT109



実験動物の小型化に対応してトランソニック社ではコーネル大学と協力して微小血管(0.25mm φ)の定量測定用(ml/min)超小型プローブを開発致しました。

特長

- 血管に対して無拘束で血流量(ml/min)を連続測定できる。
- 最小血管径0.25mm φから最大48mm φまで測定できる。
- ラット等小動物の微小血流のモニタリングができる。
- 急性、慢性(長期埋込み)測定ができる。
- 血管の形状に左右されないので静脈も測定できる。
- 血管に無拘束なので正確な拍動波形が測定できる。
- 体外循環などチューブの上からも測定できる。
- 2チャンネルでは同時に2ヶ所の血流量測定ができる。
- 超音波トランジット方式なので血液以外の流体でも測定できる。

(株)トランソニック システムズ ジャパン

〒350 埼玉県川越市山田1621-1 Tel. 0492-26-0557 Fax. 0492-23-0028

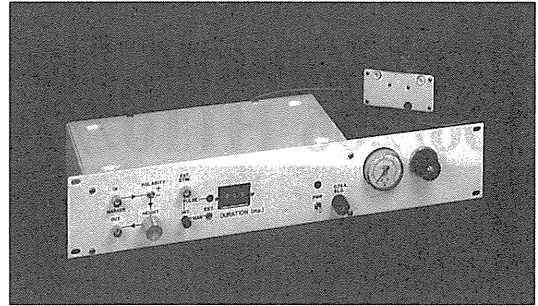
Transonic Systems Inc. Ithaca, NY, USA

PICOSPRITZER II

圧力駆出に依る細胞内及び細胞外に定量極微量(ピコリター単位)試薬駆出装置

PICOSPRITZER IIは標準ラックに取り付ける事が出来ます。繰り返し連続使用が可能で、駆出量は設定時間と圧力調整に依り任意に変える事が出来ます。

PICOSPRITZER IIに依る圧力駆出装置は電気泳動法では不可能な試薬の駆出が可能です。本装置は御使用に際し直ちに稼動出来ます様、必要な物は全て用意されて居り、亦廉価で経済的に御使用頂けます。PICOSPRITZERには単一チャンネル用、多チャンネル用があります。又、真空吸引装置付も開発されました。



仕様

- 電 源：115V. A.C. 50Hz及び60Hz
- 電 流：1A. max
- 消費電力：15W. max
- 電源コード：2.5m
- 操作圧力範囲：7kg/cm²G
- 圧力パルス信号：2ミリ秒～999ミリ秒
- タイムマーキングナル：1～30mV

製造元 **GV GENERAL VALVE CORPORATION**

日本韓国総代理店 **ユニバーサルシステムコントロールズ株式会社**

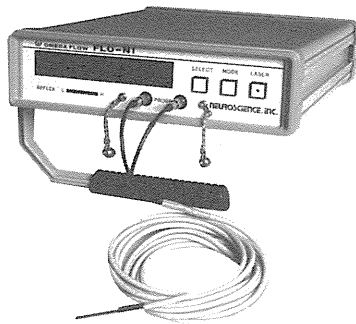
本 社 〒140 東京都品川区北品川1-13-7 長栄ビル7F TEL 03-3450-6161 FAX 03-3450-6110
名古屋営業所 〒452 名古屋市中区小田井5-20 犬飼北計ビル506号 TEL 052-504-5977 FAX 052-504-4603

OMEGA FLOW

非接触型レーザー血流計

FLO-N1

組織血流量が測定部位に触れることなく測定できます。



《基礎実験用》

接触型FLO-O1も用意しています。

【特徴】

- ★非接触 ●3cm程度離して測定可能
- ★広範囲 ●最大直径15mm程度円内のサンプルボリューム
- ★再現性 ●接触の影響が無く、広範囲に平均化された再現性を実現
- ★アーチファクト軽減回路 ●被測定部の微妙な動きによる影響を軽減
- ★豊富な出力 ●FLOW, MASS, VELOCITY, REFLEX
- ★接触用 ●接触用プローブも接続可能
- ★コンピュータ ●NEC製98NOTE又はディスクトップに接続(オプション)
- ★使い易さ ●標準プローブが小型、ガイド光付き、専用固定器有り

【用途】

- ★脳 ●骨の上から測定ができます。
●ロースベンガル血栓作成時に光の干渉を受けずに測定できます。
●深部の特定部位に小型センサーを埋め込んで、無麻酔下で測定が可能です。(接触型)
- ★神経、脊髄 ●接触すること自体問題がある部位でも簡単に測定できます。
- ★目(兎、ラット) ●眼球の外から網膜の血流測定が可能です。
- ★皮膚 ●軟膏を塗る、薬液をたらす等の今まで困難であった処置ができます。
●経日的変化の測定も可能です。
- ★消化器系臓器 ●粘膜に触ること無く測定ができます。
●水面の上からでも測定が可能です。
- ★口腔内 ●圧迫の影響無く測定ができます。
- ★その他 ●筋肉、内耳、鼻腔内、骨(骨髄)等の測定が可能です。

製造元

オメガウェブ

総発売元

NS NEUROSCIENCE, INC.

株式会社 ニューロサイエンス

本 社 〒110 東京都台東区台東3-15-1 平和生命ビル
TEL.(03)5688-1061 FAX.(03)5688-1065
大阪支店 〒532 大阪市淀川区西中島6-1-19
TEL.(06) 307-7311 FAX.(06) 307-7727
福岡支店 〒812 福岡市博多区博多駅東3-1-29 博多第2ムカイビル
TEL.(092)414-0251 FAX.(092)414-0125

パッチクランプ / ホールセルクランプの 測定に威力を発揮!



細胞膜の研究に

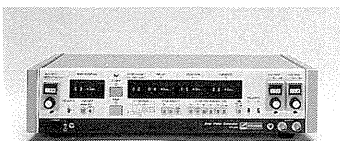
パッチ/ホールセルクランプ用増幅器 CEZ-2400

パッチクランプ法とホールセルクランプ法（小型細胞全体の膜電位固定法）による測定が、プローブの交換無しで可能。セルアタッチレコーディングからホールセルレコーディングまで、効率よく実験が行えます。

- 同一プローブ内で50GΩ / 500MΩ の電流検出抵抗が切り換え可能。
- トランジェント補正完了時に、膜容量・シリーズ抵抗が測定可能。
- 4次ベッセルフィルタを内蔵、更にノイズの低減を実現。

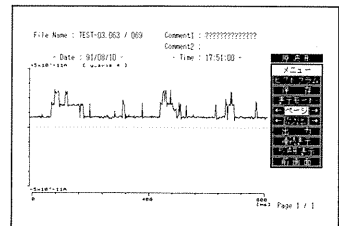
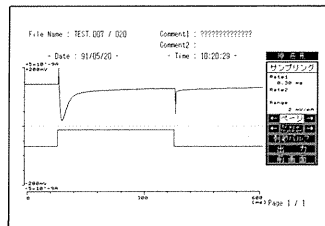
ステップパルスジェネレータ SET-1201

高精度のパルス発生回路と、ステップ電圧発生回路を組み合わせ、パッチ/ホールセルクランプに必要なコマンド信号を高い精度で発生できます。



パッチ/ホールセルクランプ用処理プログラム QP-120J

パッチクランプ法及びホールセルクランプ法により測定された微小イオン電流のデータを、パーソナルコンピュータ（PC-98シリーズ）を使用して、保存・解析するためのプログラムです。



日本光電

〒161 東京都新宿区西落合1-31-4
 ☎03(5996)8028 宣伝課

カタログをご希望の方は宣伝課宛ご請求下さい。

