

日本

# 生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

57巻

5号

1995

〔巻頭言〕 津本忠治：生命科学に命を吹き込む生理学を ..... 239

*INFORMATION* ..... 240

*CALENDAR* ..... 244

*RECORDS* ..... 245

*PROFILE* ..... 245

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」

曾我部正博：単一チャンネルデータ解析法 ..... 247

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 愛知県岡崎市赤渋町蔵西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  
コイイダビル4F  
TEL. 03-3258-1641  
FAX. 03-3258-1657

## 目 次

〔巻頭言〕 生命科学に命を吹き込む生理学を (津本忠治) .....	239
------------------------------------	-----

### **INFORMATION**

財団法人 黒住医学研究振興財団研究助成応募要領第3回(平成7年度分).....	240
財団法人 ソルト・サイエンス研究財団1995年度研究助成および 1994年度助成研究発表会.....	240
大阪大学基礎工学部生物工学科教官の公募について.....	240
第4回浜松医科大学メディカルホトニクス, ワークショップの案内 Life science における光技術の利用 .....	241
1995年度「生理学研究所生命科学実験技術トレーニング・コース」の案内.....	242
第3回身体運動科学シンポジウム.....	243

### **CALENDAR**

主な学会開催日程.....	244
---------------	-----

### **RECORDS**

会員消息.....	245
-----------	-----

### **PROFILE**

「生理学者群像」(森山朝正) .....	245
----------------------	-----

### **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」 曾我部正博：単一チャンネルデータ解析法.....	247
--	-----

## 〔巻頭言〕

## 生命科学に命を吹き込む生理学を

大阪大学医学部バイオメディカル教育研究センター高次神経医学部門 津本忠治

20世紀も終わりに近づき、生命科学研究は最近益々進展の速度を速めているように見える。新しい技術や装置の導入、学術集会の相次ぐ開催、原著論文の爆発的增加など、どれをとってみても生命科学の進歩の激しさは明らかである。この加速度的な生命科学研究発展の牽引車として中心的役割を果たしているのは、現時点では、分子生物学といえるであろう。例えば、私が専門とする神経科学領域でも、シナプス受容体のクローニングによる一次構造の解明とサブタイプの確立、体節構造や神経回路の発生を制御する遺伝子群の同定等、目ざましい成果をあげてきたのは分子生物学であった。特に、最近、目標の遺伝子をノックアウトした動物作成法の開発により、特定の機能分子と個体行動を直接的に関係づけることができるだろうとの期待のもとに多くの研究がなされつつある。

このような動向を背景にして、最近、多数の分子生物学者が細胞生理学や神経生理学の領域へ進出しつつあるように思える。現に、一部の大学ではあるが、分子生物学者が従来の生理学教室を主宰する場合もみられるようになった。特に憂慮すべきことは若手研究者が分子生物学を指向し、その方法論でもって研究を行ってこと足れりとする傾向が強いことである。このような時流の中で生理学者は何処にアイデンティティーを求めべきなのであろうか？ 生理学に若者を引きつけるような未来はあるのだろうか？

ここで私は、It is physiology that breathes life into anatomy という古い言葉を引用しそこに込められている思想を強調したい。ただし、上述した理由で現在は anatomy を molecular biology に変えるべきかも知れないが、確かに、分子生物学は受容体やセカンドメッセンジャー等、生体を構成する機能分子の一次構造は明らかに出来るかも知れない。確かに、ある物質の関連遺伝子を欠如した動物は作れるかも知れない。確かに、特異的神経結合を作り上げる蛋白質は明らかに出来るかも知れない。しかし、それらの受容体やメッセンジャーがどのように組み合わさって生きた細胞が機能するのか、さらにはそれら多数の細胞がどのように統合され、生体としてあるいはシステムとして働くのか、は生理学なしにはわからないのである。生きた細胞や生体をオンラインで時々刻々“生きたまま”観察・分析するという思想に裏打ちされた生理学なしにはそのような機能は結局はわからないであろう。まさに、分子生物学的、生化学的あるいは形態学的知見に命を吹き込み生命科学として意味あるものにするのは生理学である。

しかし、そのためには生理学は従来の方法論に安住することは許されないと思われる。分子生物学を始めとする最近の生命科学の新しい展開に対応できるように自己を革新する必要があるだろう。単に分子生物学だけでは生命はわからないと唱和し、生理学は時間がかかり、それ故結果の発表が少ないと言いつつ的言を奔することはつづしみたい。従来の生理学の観察、計測、解析法を越える新しい技法の開発と今迄にはなかった新しい概念の創出が必要であろう。それなしには、関連研究分野を凌駕し、若い研究者を生理学に引きつけることはできないであろう。その意味で、我々生理学者の時代を先取りした意識改革が望まれている。

## INFORMATION

### 財団法人 黒住医学研究振興財団研究助成応募要領 第3回(平成7年度分)

助成の目的：若手の育成を主眼とする。

応募資格：医学関連の大学及びその他の教育機関、研究所、並びに医療機関などにおいて、臨床検査、衛生検査及びこれらに係る基礎医学に関する調査・研究に従事している者とする。

対象領域：生化学、微生物学、免疫学、血液学、病理学、疫学、の領域とする。

助成金：1件100万円を限度とし、10件以上とする。原則として単年度とするが内容によっては助成を2～3年継続することも考慮している。

応募方法：当財団所定、申請用紙に必要事項を原則として、タイプ・ワープロあるいは黒インキで記載し申請者が直接郵送のこと。

申請者は原本と複写2部、計3部を提出のこと。

助成金受領者の義務：下記の1)、2)の事項を6ヶ月以内に提出すること。

- 1) 研究成果については2000字以内の報告書の提出。

- 2) 会計報告の提出。

- 3) 研究成果を発表する論文に当財団の助成を受けた旨の附記。

- 4) 継続研究の場合は中間報告書提出。

選考結果の発表：決定次第適当な紙上に発表する。平成7年11月10日の小島三郎記念文化賞贈呈式時に併わせて研究助成金の贈呈式を行う。

締切期日：平成7年6月9日(当日消印有効)

書類提出先：〒113 東京都文京区本郷1-33-8

栄研化学内

財団法人

黒住医学研究振興財団研究助成委員会宛

TEL (03) 3812-3173

FAX (03) 3813-2206

附記

○所属機関長は大学長、医学部長、研究所長、病院長及びそれに相当する職域の長であること。

○応募書類は返却いたしません。

### 財団法人 ソルト・サイエンス研究財団1995年度研究助成および 1994年度助成研究発表会を決定

• 1995年度助成件数 55件 (46機関)

• 助成金額 総額1億500万円

• 1994年度助成研究発表会

1994年度助成研究の『助成研究発表会』を平成7

年7月19日(水)、日本都市センター(平河町)にて開催。(聴講無料)

聴講希望者は、直接財団に申し込んで下さい。

☎03-3497-5711

### 大阪大学基礎工学部生物工学科教官の公募について

この度本学科では、下記の通り教官の公募を行うことになりました。つきましては、適任者の推薦、関係各位への周知につき、御高配賜りますようお願いいたします。

記

公募人員：教授または助教授1名

所属学科：生物工学科

専門分野：神経科学、分子生物学、神経情報工学、数理生物学、生物物理学。

ただし、これらの分野に関心があれば現在の専門分野は問いません。

着任時期：平成8年4月1日

任期：学生の臨時定員増にともなうポストのた

め、平成8年4月1日から平成11年3月31日までの3年間の時限ポストです。

応募資格：博士の学位を有すること。なお大阪大学の教官の停年は63歳です。

提出書類：(1) 履歴書（A4サイズ、形式は任意、写真貼付）

(2) 研究業績目録

(3) 主要論文数編の別刷またはコピー各一部および概要

(4) これまでの研究概要（2000字程度）

(5) 助教授のポストを希望する場合に限り、その旨明記した上で、着任後本学科で行う研究についての抱負(2000字程度)

(6) 担当可能な科目名（本学科の授業科目

に關係のありそうなものを2、3あげて下さい）と簡単な内容紹介

公募締切：平成7年7月28日(金)必着

書類送付先および問合せ先：

〒560 豊中市待兼山町1-3

大阪大学基礎工学部生物工学科

教室主任 柳田敏雄

TEL 06-850-6510

封筒には「生物工学科教官応募書類在中」と朱筆し、簡易書留で郵送して下さい。また、応募書類は理由の如何を問わずお返ししません。また、選考の結果は郵便にてお知らせします。

大阪大学基礎工学部生物工学科

教室主任 柳田敏雄

## 第4回 浜松医科大学メディカルホトニクス、ワークショップの案内

### Life science における光技術の利用

光学顕微鏡にビデオカメラと画像処理を組み合わせた Video-microscope system は従来の光学的限界を超え、分子レベルに迫る分解能を持つようになっています。このような光技術で、カルシウムに代表される細胞内イオンの分布定量や、活動電位の2次元測定、細胞内微小顆粒やタンパク質1分子の挙動を見ることも可能になっています。

本ワークショップは、この光技術の有用性と適用限界を理解して生命科学研究の発展に寄与することが目的です。対象者は、ある程度の研究経験を持ち、新たに光学顕微鏡技術を実験手段として取り入れたい研究者や技術者です。各自のサンプルでの測定も計画しています。詳しい内容や、応募用紙は下記へご請求ください。

開催期間：1995年 8月20日(日)～26日(土)

トレーニングコース 8月20日(日)～25日(金)

講演会 8月26日(土)

その他、半日のレクリエーションやサテライトト

レーニング、懇親会なども予定

開催場所：浜松医科大学、他（静岡県 浜松市）

トレーニングコース（5.5日間）

(1) 顕微鏡と画像処理の基礎（1日）

Video-microscope を行うための光学顕微鏡の調整と取扱い、ビデオカメラの選択、画像処理法の基礎を実習。

(2) 細胞内カルシウム分布測定（1.5日）

蛍光性カルシウム指示薬 fura-2 による細胞内カルシウム濃度分布の測定実習。

(3) 超微細形態測定法（1.5日）

バックグラウンド減算とコントラスト増強を用いた、いわゆる Video Enhanced Contrast 法で、光学顕微鏡の理論的分解能を超えた微細な物体の観察と検出。

(4) 活動電位分布測定法（1.5日）

膜電位感受性色素を使用した細胞の光学的2次元活動電位測定の実習。

講演会(International Conference on Advanced Video-Microscope)

cAMP や PKC のプローブ試薬で知られている B. J. Bacskai や M. Poenie 様もお招きして、6題の講演や討論を予定しています。

募集人員：トレーニングコース 20名（全日程の参加となります）

実習を行いますので、参加人数に制限があります。申込多数の場合は、参加理由により採否を決めさせていただきます。

講演会 100名

参加費用：トレーニングコース、5万円（講演会など全日程の費用を含む）

大学院生、および、大学、国公立研究機関に所属

する若手研究者に対しては、参加費と宿泊費の補助制度を設けましたので、申請してください。参加理由により採否を決めさせていただきます。

講演会 5千円

主催：浜松医科大学メディカルホトニクス

ワークショップ 委員会

共催：浜松ホトニクス株式会社, 株式会社ニコン,

株式会社ニコンインステック

募集要項の申込先と期限:

〒431-31 静岡県浜松市半田町3600番地

浜松医科大学メディカルホトニクスワーク

ショップ委員会 宮川厚夫

Tel/Fax 053-435-2235

1995年6月1日(木)~7月10日(月)必着

## 1995年度「生理学研究所生命科学実験技術トレーニング・コース」の案内

日本生理学会教育委員会は、生理学研究所のご協力をえて、毎年、生理学の実験技術に関する講習会を共催してまいりました。本年度も、下記のような予定で、生命科学実験技術に関する講習会を開催いたしますので、ここにご案内いたします。奮ってご応募ください。

日本生理学会教育委員会

期 日：8月17日~25日

講 演：“分子細胞生物学の展開と生理学”

(受入人数約60名)

(1) 「機能発現法による cDNA クローニング」

8月17日(木)午後2時~5時

久保義弘(都神経研)

井本敬二(生理研)

(2) 「細胞への遺伝子導入」

8月18日(金)午前9時~12時

金田安史(阪大・細胞工学センター)

田村雅一, 池田一裕(生理研)

(3) 「マウス個体を用いた遺伝子操作」

8月18日(金)午後2時~5時

八木健(生理研)

実 習：講義 8月19日(土)午前9時~12時

(受入人数約60名)

実習 8月21日(月)より

① 「細胞内  $Ca^{2+}$  濃度変化の画像解析」

(10名：3日間)

浅田尚登(北教大・旭川)

葉原芳昭, 菅野富夫(北大・獣医)

② 「神経活動に伴う蛋白質リン酸化および遺伝子発現変化」

(RI 資格者4名：4日間)

児島伸彦, 山肩葉子, 丸山敬

浅田英穂, 小幡邦彦(生理研)

③ 「パッチクランプ」(20名：3日間)

中山晋介, 成瀬恵治, 告野正典

L. M. Smith(名大・医)

久木田文夫, 老木成稔, 森島繁

挟間章博, 富永真琴, 岡田泰伸

(生理研)

④ 「神経発生における遺伝子発現」

(6名：5日間)

池田一裕, 鹿川哲史, 馬場広子

山田真久(生理研)

⑤ 「神経ネットワークの標識・同定」

(5名：5日間)

松山清治, 宮下英三, 中隴克己

森茂美(生理研)

⑥ 「脳磁図を用いたヒト脳機能の研究」

(3名：3日間)

柿木隆介, 宝珠山稔, 小山幸子

(生理研)

⑦ 「摘出モルモット腸管の蠕動反射記録法」

(2名：5日間)

尾崎毅(生理研)

⑧ 「超高压電子顕微鏡操作実習」(2名：2日間)

有井達夫(生理研)

主 催：岡崎国立共同研究機構・生理学研究所

協 催：日本生理学会教育委員会

協 賛：日本神経科学会研究者育成専門委員会

対 象：学部学生, 大学院生, 若手研究者

費 用：懇親会費として4,000円のみ。宿泊は個室ロジ(一泊1,600円以下)35名利用可能

申 込：FAXかハガキで名前, 所属, 身分, 学会名, 参加希望項目(実習は第二希望まで記入可),

連絡先：(TEL, FAX, 住所)を記して下記宛に。締切7月10日

〒444 岡崎市明大寺町字西郷中38

生理学研究所・機能協働部門

岡田泰伸

FAX 0564-55-7735

TEL 0564-55-7734

### 第3回身体運動科学シンポジウム

期 日：1995年6月24日(土)午後2時～5時  
 場 所：東京大学教養学部11号館1106番教室  
 (京王井の頭線「駒場東大前」下車)  
 \* 同日午後1時～ポスター発表を同時開催  
 (場所：11号館1103番教室)

「生命科学から身体運動科学を解明する」  
 —骨格筋の適応機構を細胞・  
 分子・遺伝子から考える—

「分子レベルでみた力—速度関係」 石井直方  
 「骨格筋の機械的刺激への適応の機構」  
 —ストレスタンパク質・  
 $\alpha$ B-クリスタリンの機能から探る—

跡見順子  
 「肥大を支配する遺伝子群の機能解明へのアプローチ」  
 山田 茂

運動は動物にとって最も基本的な性質の一つである。人も動物の一員であり、人の身体も動物のそれと

基本的なしくみは同じである。ひとの身体は数十億の細胞から成り立っている。これらの細胞のうち、筋細胞は神経細胞とともに運動を担う主要な組織を形成している。近年、飛躍的に発展した生命科学の手法と考え方により、これまでマクロの立場から見てきた身体運動の機構、その適応の機構があきらかにされようとしている。個体のマクロな運動をミクロな分子・細胞から構成することはそれほど困難なことではない。なぜなら骨格筋を介しての運動は完璧なまでに力と機械的刺激にたいして対応するように適応しているからである。本年で第3回を迎える身体運動科学シンポジウムは、今回ミクロからマクロまでをつなげる視点で身体運動の解明に迫ろうとする。参加無料です。多くの参加者を期待しています。

東京大学生命環境科学系運動適応科学認知行動科学  
 身体運動科学シンポジウム実行委員会  
 跡見順子, 大築立志  
 連絡先：03-5454-6134 (東京大学教養学部体育研究室)

## CALENDAR

### 主な学会開催日程

開催日 (演題縮切)	名 称	会 場	連 絡 先
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 ☎022-274-1111
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 (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 薬・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 ー会議	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：アルカディア市ケ 谷	都精神研 精神生理・橋本 勲 ☎03-3304-5701 FAX：03-3304-9396
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)	バイオメデカル・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 LIRIO	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 ☎03-3353-1211(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

#### <転 勤・異 動>

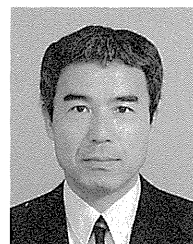
氏 名	勤 務 先 名	勤務先TEL・FAX
稲 瀬 正 彦	電子技術総合研究所生体機能研究室	0298-58-5556
後 藤 倬 男	愛知県立芸術大学	0561-62-1180
長 町 恵 磨	香川医科大学第一外科	0878-98-5111
増 田 敦 子	帝京平成短期大学	0436-74-8881
吉 本 由喜子	大阪大学医学部第二薬理	06-879-3512・06-879-3619

## PROFILE

### 「生理学者群像」

## 森 山 朝 正 君

筑波技術短期大学鍼灸学科教授  
平成6年11月1日就任



#### ① 現在の研究内容

Microneurography の手法に取り組んで末梢神経活動の観察を始めて14年になる。当初は Muscle spindle からの求心性信号を捉え、骨格筋の反射性収縮機構に対して侵害刺激が抑制する現象を明らかにしようとした。Microneurography の手法の指導を受けた当初はタングステンの高価な電極が神経幹に当たらず、EMG の記録を神経活動と勘違いしたりかなりの苦戦を強いられた。

日本にこの手法をスウェーデンのウプサラ大学から導入、発展させた研究者は名古屋大学環境研の間野忠明教授だが、直接、間接に指導を受けた先生方に感謝している。

当時私の在籍していた職場は、主たる仕事は臨床でしかも科学的に未知の分野が多かった(今でも多い)、東洋医学の鍼灸部門である。鍼の侵害刺激が骨格筋の緊張を取り除ける生理学的機構は何なのかと言う問題にまったく手が触れられていなかった。そこでこの機構を明らかにする事に取り組んだが、spindle からの求心性活動を拾う事の困難さをいやと言うほど知らさ

れた。つまり、神経幹の中のG IないしG II群線維に当たらないのである。当たっても同定が難しく、かろうじて半年かけて3例のみの記録ができた。

しかし、余りにも効率の悪さに耐えかね、その後は骨格筋支配の血管運動神経を中心とした交感神経活動の変化を追っている。最近筋支配の交感神経活動のリズム成分に注目し、各種の生理学的パラメーターに対して、筋支配の交感神経活動の中に含まれるリズム成分との関連性をスペクトル分析の手法で調べる研究を行っている。筋支配の交感神経活動が侵害性刺激で抑制されれば、末梢循環の改善につながる。もう一つの鍼灸の効果の解明である。

#### ② これからの研究と教育の展望

現在の私の職場は障害を有する者の高等教育機関である。障害者のための我国唯一の国立大学である。3年制の短期大学で鍼灸の国家試験を受ける資格を付与する事が出来る。

大学の教官に与えられた使命は研究と教育である。自分のテーマとする研究を進めていく中でそれを教育

に反映させ、最先端の知見を学生に示し、教育効果を高める。

この高邁な目標に向かうとき大きな壁が立ちほだかる。実験系の教育を進めるときに、視覚障害をどのように克服するかである。視覚から得られる情報を他の情報に置き換えるためには、情報量の多さと質の良さが問われる。視覚情報を音声の情報に置き換える、触覚の情報に置き換える。膨大な時間と質の高い情報が必要である。これがマニュアル化されれば事は楽であ

ろうが応用が利かないという欠点も容易に想像がつく。しかし立ち止まって考えている時間はない。幸いな事に、筋支配の交感神経の活動は非常に特徴的な群発放電を示す。これを音声に変換し、それを目標に電極を操作させる事はそれほど困難な事ではない。視覚情報を他の情報に変えて行けるマニュアル作りが当面の目標である。しかし研究の目標とはならないのが残念である。

## 単一チャンネルデータ解析法

曾我部 正 博

(名古屋大学医学部第二生理学教室)

### はじめに

#### — 単一チャンネル電流とはなにか —

機能中の1分子の動きを捕らえることは、科学計測における究極の技術である。一部の例外を除けば、多くの計測は分子集団に対して行われる。しかるのちに、統計力学の助けを借りて1分子の挙動を推定することになる。そうしてみると、間接的ではあれ、イオンチャンネル1分子の挙動を実時間で観測できる技術は大したものである。ここで間接的というのは、我々が観ているものがチャンネル1分子の構造変化ではなくて、その結果生じた電流変化であるという意味である。イオンチャンネルの並はずれて高い酵素活性によって、チャンネル1分子の活性化(開)が、莫大な数のイオンの流れ(電流)に変換されるが故に、我々の目に観測可能となる。例えば、100 mV の膜電位下で 10 pS のコンダクタンスをもつチャンネルが開いたときに流れる電流は 1 pA ( $10^{-12}$  A) となる。電気素量 ( $1.6 \times 10^{-19}$  クーロン) でイオンの数に変換すれば、 $6.25 \times 10^6$ 、すなわち毎秒約 6 百万個のイオンの実効的な移動があることになる。チャンネルはそもそも超高ゲインの電流生成変換器なのである。この値から単純にイオンの実効移動速度を割り出すと、約 160 nsec/channel となる。つまり平均 160 ナノ秒に一個の割合でイオンが移動する。もし超高速の電荷カウンターがあれば、チャンネルを通過する電流を個々のイオン移動の離散的時系列として観測できるはずであり、イオン透過機構に関するより詳細な情報を得ることができるであろう。しかし実際には、電流増幅器の応答速度の制限のために、せいぜい 100  $\mu$ sec 中に移動した電荷の積分量を電流として

見ているに過ぎない。また同様の理由で、チャンネル開閉の途中経過や高速の開閉そのものも充分には時間分解できない。そしてなにより、種々の背景雑音のために、微小で速い電流変化についてはお手上げの状態である。こうして、究極の技術といえども諸々の限界があるのだが、今までに知られている主要なチャンネルは、幸いこれらの限界内ではほぼ生理応答(細胞応答)との関連がついている。これから解説するデータ処理については、こうした限界を頭の隅に留めつつ、通常の実験室で実現可能な手法を中心に述べていきたい。

#### 1. 実験手技 — ドリフト対策 —

単一チャンネル電流の計測法には、脂質平面膜法とパッチクランプ法の2通りがあるが、詳しいことは他の文献<sup>1,2)</sup>を参照いただくことにして、ここではパッチクランプ法について簡単に解説する。最も基本的なモードは cell-attached mode (on-cell mode) で、次いで、excised mode (inside-out, outside-out) があり、最近 open cell-attached inside-out, perforated vesicle outside-out という新しい方法も開発された。それぞれの手技および利点、欠点は本シリーズの論文<sup>3)</sup>を参照していただきたい。いずれにしても、微小な単一チャンネル電流を計測するので、1) 背景雑音の減弱と、2) 容量補正の2点が重要である。また whole-cell 記録に比べて格段に長い記録が要求されるので、3) ドリフトに対する対策も重要である。1) と 2) についてはやはり前出の論文<sup>3)</sup>に詳しいので、ここでは 3) についてのみ注意点をのべる。ただしアンプや電気系統のドリフトは問題外である。cell attached mode の際に深刻なのが、マ

ニピュレータのドリフトである。これによってシール抵抗が変化してリーク電流やノイズのレベルが変動することがある。ドリフトの原因としては、顕微鏡ステージとマニピュレータの機械的ズレがあり、これはマニピュレータを、ステージあるいは顕微鏡本体にしっかり取付け、可能な限りヘッドステージの固定点から電極先端までの距離を短くすることで解決する。問題は油圧あるいは水圧マニピュレータを用いたときの、熱膨張に起因するドリフトである。当然熱膨張係数の小さい水圧式が優れており、発売当初は問題があったものの、現在のバージョン(成茂科学器械, Newport)は実用的な性能に向上しているようである。より安定なのは機械式であろう。ただし手動式の場合、手を触れたときに大きなドリフトが生じてしまう欠点がある。そこでステッピングモータ(成茂科学器械)、サーボモータ(Newport, Eppendorf)あるいは piezo 駆動(Sutter, Burleigh)のリモート制御方式が優れているが、高価なのが欠点である。予算が許せばこれをお勧めしたい。つぎに問題になるのが小容量のチャンバーを使った時に起こる溶液の蒸発である。一回の記録では問題にならないが、実験を繰り返すうちに溶液濃度が

変化し、水面レベルの変化で補正容量にズレが生じる。適当に蒸留水を追加するのは適切な方法ではない。実験にもよるが、灌流するか、シリコンオイルを微量添加して水面上に油膜を作ることによって対処することができる。

## 2. データの記録と信号前処理

### 1) データの記録

一般的な測定ダイアグラムを図1に示す。whole cell 記録の場合にはデータはオンラインで刺激信号と同時に直接コンピュータのハードディスクに取り込むが、単一チャンネル電流の測定ではデータ量が多いので、データレコーダに記録した後、オフラインで本格的なデータ解析を行うのが一般的である。例えば、チャンネル開閉のキネティクスを解析する場合、一般に1000事象以上が要求されるが、平均1ミリ秒の開事象が平均1秒に1回生起するとすれば、10 KHz のサンプリングで1000秒間記録する必要がある。12ビットの A/D コンバータを使用すれば、1サンプル当り2バイト必要なので、合計  $2 \times 1000 \times 10000 = 2 \times 10^7 = 20 \text{ MB}$  のメモリを消費することになる。ここまで極端ではないにしろ、1実験あたり数 MB が必要とされる

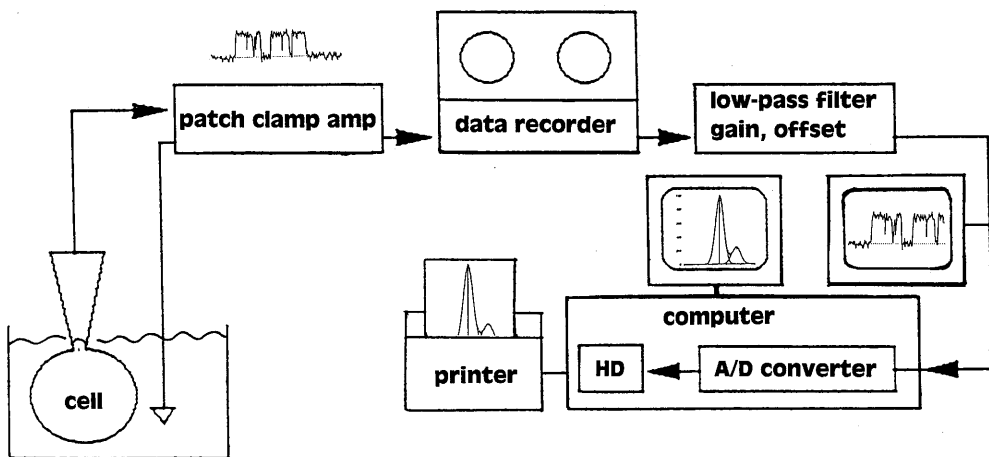


図1. 単一チャンネル電流の計測・解析のための一般的装置：パッチクランプアンプからの未処理出力はデータレコーダに入力されると同時に、レコーダのモニター出力からフィルタとA/Dコンバータを介してコンピュータのハードディスクに記録される。オフラインで解析するときは、同じ構成で記録テープを再生すればよい。

ので、すべてをハードディスクに蓄えておくことは現実的ではない。しかしデータをすぐ解析するには同時にハードディスクにも記録しておく必要がある。そのために記録はデータレコーダとハードディスクの並列記録となる。前者はできるだけ高い周波数で記録し、後者は波形モニターを兼ねるので適当なフィルタをかけて記録して、予備解析が終わればディスクから消去するのが普通である。データレコーダへの記録に際して、できるだけ入力ダイナミックレンジ(通常 $\pm 10$  V)を有効に利用するように増幅器のゲインを調整しておく必要がある。

データレコーダとしては、FM、PCM、DATレコーダが使われるが、コストパフォーマンスの良いPCMタイプ(例えばInstrutech VRシリーズ)が最も良く使われているようである。この機種では周波数特性も44 kHzあり実用上問題は少ない。多少面倒なのが、再生時にデータレコーダから目的の場所をサーチする手間である。しばしばコンピュータへの再取り込みが必要だからである。PCMレコーダでは、家庭用VTRを記録器として使うので、一般的にはタイムカウンタを目安にして再生場所を探すことになる。再生位置の正確を期したい場合にはテープ上にタイムコードを記録してサーチするのが最も良いが、これをサポートしている解析ソフトウェアは市販されていない。次善の策として、VTRかPCM変換器のインデックスマーカーを使うか、補助チャンネルにトリガ信号を記録してこれを目安にコンピュータへの取り込みを開始することはできる。また適当に取り込みをしたあと、ソフトウェア的に再生したデータから必要な部分のみを選んで解析することもできる。

## 2) 信号の前処理

### — ゲイン調整とフィルタ設定 —

データレコーダの再生信号を、A/Dコンバータを介してコンピュータに取り込む場合いくつか注意すべきことがある。すでにデータレコーダの項でも述べたが、出力電圧のレンジをできるだけ、A/Dコンバータの入力レンジ(通常

$\pm 5 \sim 10$  V)に合わせることである。一度A/D変換したものは、あとでいくら増幅しても精度は回復しない。もしテープ上に記録されたデータの電圧レンジがA/Dコンバータの入力レンジとマッチしていないときは、間にブースターアンプを挿入するか、プログラマブルA/Dコンバータの入力レンジをソフトウェア上で調節しておく。場合によってはオフセット電圧の調整が必要なこともある。

しかし最も重要なのはローパスフィルタの設定である。これは2つの目的で使用される。まず、信号成分に含まれる高周波の雑音成分を取り除くためである。このときフィルタに要求される性能は、忠実な波形再現と急峻な遮断特性であるが、生体信号では前者が優先される。その意味で位相遅れ(これがあると波形が歪む)が少ない遅延平坦特性を有するベッセル(Bessel)フィルタが最適である。このフィルタの欠点は遮断特性が緩やかな点であるが、4~8次(-24~-48 dB/oct)のものであれば使える。後(5-1-b)に述べるように、フィルタの遮断周波数(信号が-3 dB減衰する周波数)の決定は、信号の忠実な再現と雑音除去の妥協の中で判断すべき難しい問題である。ソフトウェアの中にはデジタル・ガウシアン(Gaussian)フィルタを備えたものもある。処理速度さえ問題なければ、高い周波数で取り込んだデータを何回でも処理できるので大変便利である。ガウシアンフィルタの特性は高次のベッセルフィルタとほぼ同様である。

フィルタを使う第2の理由は、A/Dコンバータのサンプリングによって生じるエイリアジングを防ぐためである。信号成分の中にサンプリング周波数より高い周波数成分が含まれていると偽信号が発生する(エイリアジング)からである。標本化定理によれば、取り込みたい最高周波数の2倍のサンプリング周波数があれば元の信号を忠実に再現できる。逆に言えばサンプリング周波数はフィルタの遮断周波数の2倍という関係になっていけばよい。しかし実際には遮断周波数で信号が完全に遮断されるわけではな

いので、フィルタを通過した信号を忠実に再現し、かつエリアジングを防ぐには、少なくとも遮断周波数の5~10倍のサンプリング周波数が必要になる。A/Dコンバータの最高サンプリング周波数は製品によって違うので、この点も良く考慮して最終的な遮断周波数を決定しなければならない。ゲイン、オフセット調整つきのベッセルフィルタが販売されているので(Warner, Frequency Device), これを使えば、本稿で述べた信号前処理を一台の装置ですませることができて便利である。

### 3. コンピュータ, 解析ソフトウェア, A/Dコンバータ

コンピュータは使うべき解析ソフトウェアによって決定する。なんとといってもIBM PC/AT互換器(いわゆるDOS/Vマシン)上で走るソフトウェア(pCLAMP(Axon), PAT(Dagan), ISO<sub>2</sub>(MKF)など)が圧倒的に多い。以前のPC/AT互換機はソフトウェアやA/Dコンバータとの相性(ISAバスのタイミングのズレなど)でトラブルが多かったが、最近では名の通ったマザーボードを使用したものであれば、大丈夫のようなのである。近頃MAC上で動くソフトウェアTAC(Heka)もリリースされたが、多少未熟な感じである。NEC 98 ユーザには日本光電からも解析ソフトウェア(QP-120J)が発売されている。コプロセッサは必須と考えたほうがよく、その意味で486 DXマシンが適当であろう。もしデータの2次加工を同一のマシン上で行くとすれば、Windowsが快適に動く8MB・RAM, 300MB超のHDは用意したいところである。A/Dコンバータは、当然ソフトウェアがサポートしているものを使うことになる。pCLAMPであればDigidata(Axon), もしくはLabmaster DMA(Scientific Solution), PATであればLabmaster DMA, DT 2801 A(Data Translation), LabPC+(National Instruments)などが代表的であり、価格は20~50万程度である。価格差は主に最高サンプリング周波数の違いを反映しているので、目的にあったものを選択する必要がある。

すでに指摘したように観測したい周波数(遮断周波数)の最低5倍のサンプリング周波数を目安にするとよい。一般にA/Dコンバータは、付属のD/Aコンバータから刺激を発生しながら、入力波形をモニタし、同時にハードディスクに信号を書き込むので、高速データ転送のできるDMA(direct memory access)が可能なものが望ましい。

筆者はpCLAMPとPATを使用しているが、これから示す解析例は主として後者によるものである。

### 4. 振幅解析

単一チャンネル電流の解析は一般に2段階からなる。すなわち振幅解析と開閉キネティクス(ゲーティング)の解析である。まず振幅のall point histogram解析が出発点になる。横軸に電流値、縦軸に頻度をプロットしたのから3つの情報が得られる。一つは言うまでもなくチャンネルコンダクタンスで、もうひとつはチャンネルの開確率であり、最後にパッチ膜中のチャンネル数の下限である。

#### 1) コンダクタンスの推定

簡単にコンダクタンスを知りたいときは、ベースラインのピーク値を零点として、開電流のピーク値をカーソルで読めばよい。より定量的に解析したいときは、ガウス分布曲線でピーク値を推定する。通常複数個のピークを同時にガウス近似できるが、うまくいかないときは、明瞭なピークから順番に近似していけばよい。この方法は雑音レベルが高くてピークの視認が難しい時に威力を発揮する(図2 a, b)。問題なのは、高速の開閉があるときに、測定系の周波数限界のために、完全に閉じない、あるいは開ききらないように見える事象が多く混入する場合である。このとき、ピークの分布型は左右に非対称な歪み(skew)を含むものになり、ガウス曲線ではピークの推定値は真の値からずれてしまう(図3 a)。この場合には、未分解の事象を含まない右肩のデータだけで近似を行うとよい(図3 b, c)。しかしノイズレベルが大き

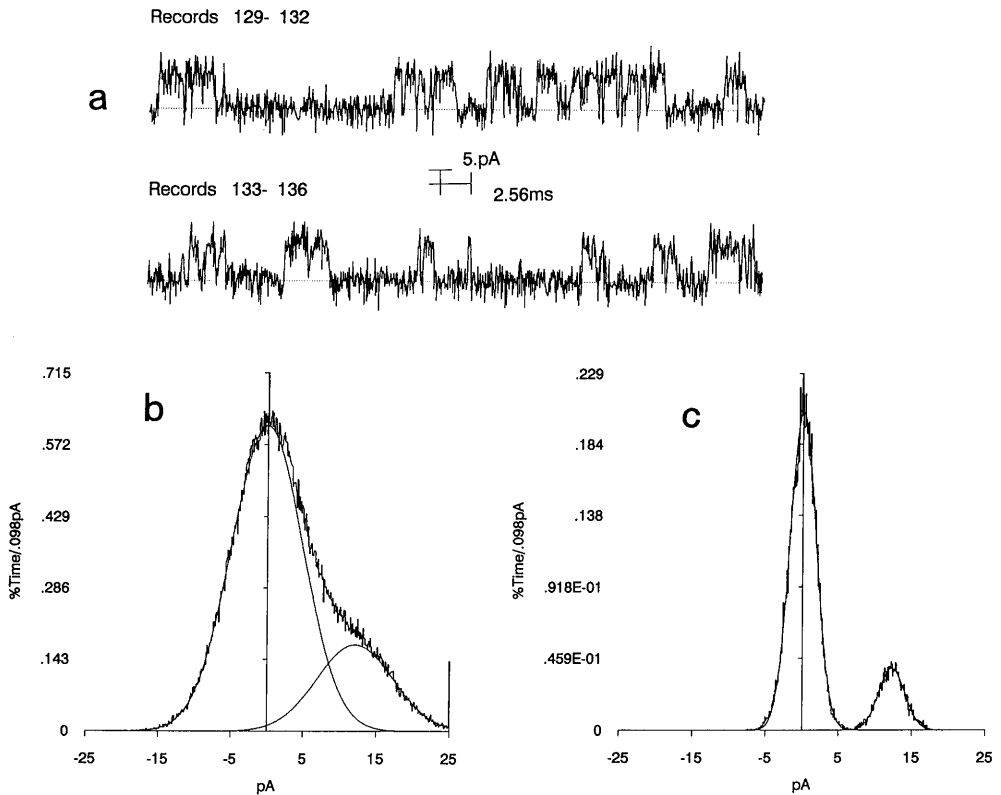


図2. 単一チャンネル電流の推定法. a, 単一チャンネル電流の一例(平均値, 12, 49 pA). b, 振幅ヒストグラムとガウス分布(滑らかな曲線)によるフィッティング(推定ピーク値=12.09 pA). c, Patlak の移動平均(8ポイント)処理後の振幅ヒストグラム(推定ピーク値=12.3 pA). この処理によって, ピークは明瞭に分離しているが, ピーク下の面積比は真の値から大きく外れることに注意.

て, 開閉のピークが大きく重なる場合は, ガウス近似でも正確にピーク値を推定することが難しい場合がある. そんなときには, なんらかの方法でノイズを軽減する必要がある. 最も単純なのは, 低域フィルタで高周波ノイズを除去する方法であるが, 情報を失うことになるので, あとあとのゲーティングの解析を考えると望ましくない(ただし, ソフトウェア上でデジタルフィルタを施す場合はこの限りではない). 最も有効なのは, Patlak の移動平均である<sup>4)</sup>. 適当な幅の窓(データポイント数)を設定して移動平均すると, 単なる all point histogram より明瞭なピークを持つヒストグラムが得られる(図2c). このとき開閉の遷移点を含む移動平均値が純粋な開または閉のみの平均値に対して

大きな偏差を持つことを利用すれば, こうした特異な移動平均値はプログラム上で自動的に取り除くことができる. それでもピーク分離が困難な場合は, 元のトレースを表示して, カーソルで確実な開あるいは閉の範囲を指定してその区間の平均値を求め, これを何度か繰り返して開閉の平均値を求めるしかない.

振幅解析から得られるチャンネルコンダクタンスはもっぱらチャンネルのイオン透過機構の解析に用いられる. 例えば a) 電位依存性, b) 透過イオン濃度依存性, c) ブロッカー濃度依存性, あるいは d) ブロッキングの電位依存性などが得られる. これらの関係からイオン透過機構を解析する際の理論は Eyring の絶対反応速度論が用いられる. 即ち, チャンネルを透過

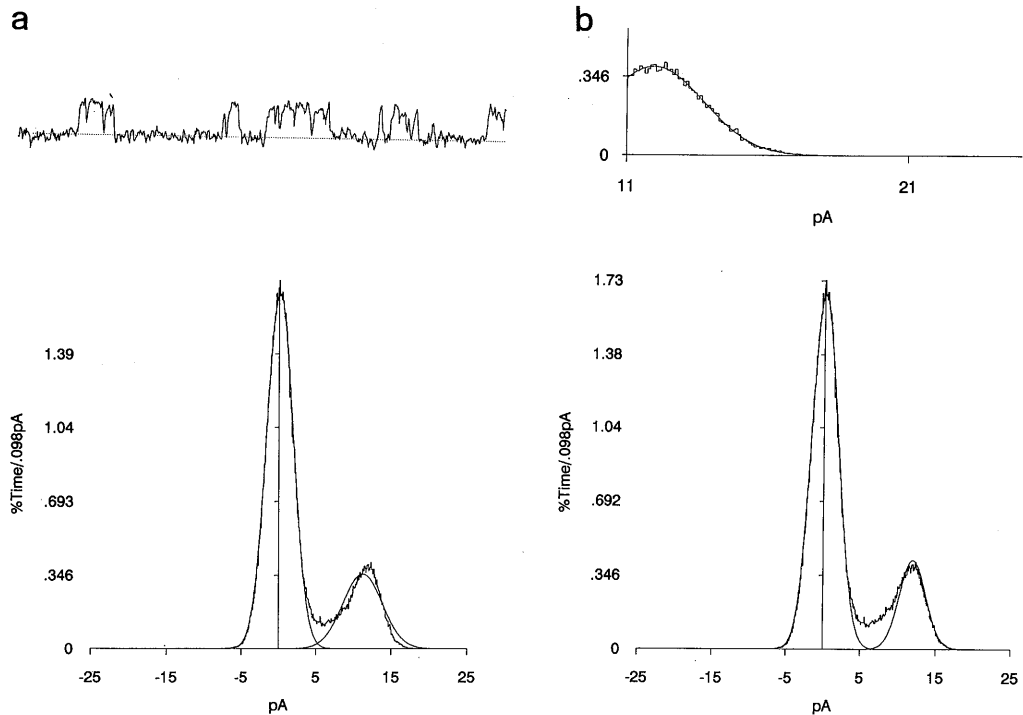


図3. 振幅ヒストグラムのピークが正規(ガウス)分布でない場合のフィッティング. a, フィルタの遮断周波数( $f_c$ )が低すぎて, 高速の開閉が十分に時間分解できていない記録例(上)とその振幅ヒストグラム(下). ガウス分布による推定値が真値より大きくずれている. b, 処理領域を第2ピークの右肩に限定してフィッティングしたのち(上), この推定値を固定して全体を再度フィッティングした例(下).

イオンやブロッカーに対するいくつかのエネルギー障壁で表現し, その山と谷の数や相対的位置とエネルギー値を上記の関係から推定するのである. 詳しくは文献を参照されたい<sup>5)</sup>. 最近では, イオン透過部位のアミノ酸配列も明らかになりつつあるので, 分子動力学を用いてイオン透過のプロセスをシミュレーションすることも可能になりつつある.

## 2) 開確率とチャンネル数の推定

チャンネルの開確率( $P_o$ )は, パッチに一個のチャンネルのみが含まれている場合には, ガウス分布で近似した各ピーク下の面積の比率から容易に求めることができる. あるいはゲーティングの解析をしたときに, ソフトウェアが開時間と閉時間の総計を報告してくるのでそれを用いてもよい. 複数個のチャンネルが含まれる場合は, 開確率が小さくかつチャンネルの総数 $N$ が分かっ

ている場合にのみ  $P_o = 1 - P_c^{1/N}$  で求められる. ここで  $P_c$  は総記録時間のうち閉状態が占める割合である. なぜならば,  $P_c$  はすべてのチャンネルが同時に閉じている確率なので, 一個のチャンネルの開確率を  $P_{ci}$  とすれば  $P_c = P_{ci}^N = (1 - P_o)^N$  が成り立つからである. チャンネル総数 $N$ は, 開確率が大きい場合には, 同時に開口するチャンネルの最大数と一致する. 開確率が低くて同時開口事象が観察されないか極めて稀である場合には, ゲーティングの解析から平均開閉時間を推定して, 何個のチャンネルであるかを統計的に検定しなければならない. このとき平均開閉時間は直接求められるが, 真の平均閉時間は, チャンネルが $N$ 個の場合, 見かけのその約 $N$ 倍になると仮定できる. そうするとチャンネルが $N$ 個の場合の同時開口確率の期待値が計算でき,  $N$ 個のチャンネルが含まれるという仮説が検

定可能となる。勿論低い同時開口確率にみあう多数の事象数が必要である。例えば、開確率が0.01であれば2個のチャンネルの同時開口確率は0.0001となり、少なくとも数千事象のデータがなければ信頼できる検定はできない<sup>6)</sup>。逆に一旦、特定のチャンネルのその条件下での平均開閉時間が分かれば、観測されるみかけの平均閉時間からチャンネル数を推定することができる。あるいは、チャンネルの同時開口頻度が2項分布に従うことを利用して推定することも可能である<sup>7)</sup>。

### 5. ゲーティングの解析

振幅解析はチャンネルの定常的性質に関するものであるが、イオンチャンネルの性質を決めるもう一つの重要なパラメータは各開閉状態間の遷移速度定数である。これらはチャンネルの開確率を通してマクロな定常応答の大きさを決めるだけでなく、刺激変化に対するマクロな応答速度を支配する。速度定数は単一チャンネル電流の開閉の持続時間(dwelling time)の解析によって推定することができる。持続時間の解析は、1) 開閉遷移の検出と、2) 持続時間ヒストグラムの作成と解析、および、3) 反応モデルの決定の3つのステップからなる。

#### 1) 開閉遷移の検出

##### a) いき値レベルの設定

コンピュータ解析が普及する前は、チャートレコーダーのデータを人力で解析していたが、極めて時間がかかり不正確になる。しかし余程理想的な記録でないかぎり、自動化することも容易ではない。それは背景ノイズの混入、高速のopening, バーストでみられる高速のclosing, サブステートの存在、複数チャンネルの同時openingなどによって訓練された研究者ですら状態の区別が困難な記録がままあるからである。ここではまず簡単な場合から順を追って説明する。

最も一般的な手法は、適当ないき値レベルを設定して遷移を判別する方法であり、通常は振幅解析で求めた単一チャンネルコンダクタンスの

50%にいき値を設定する。これ以外のレベルに設定すると持続時間の推定に誤差が生じる。その理由は、開電流の波形が測定系の低域フィルタ効果のために、完全な方形波ではなく、台形状に変形しているからである。50%以上では開時間が過小評価となり、50%以下では過大評価となる。閉時間についてはこれと逆になる。

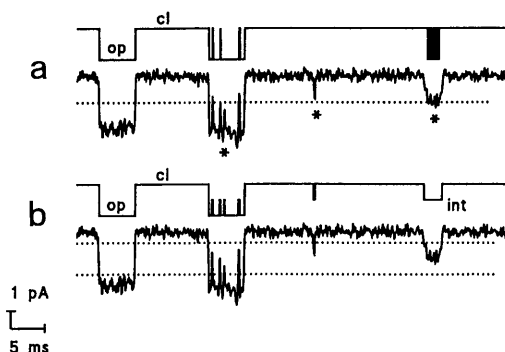


図4. 2レベルいき値法による遷移検出の改善例. a, 一般的な1レベルいき値法(50%)による検出. 上段は検出後の理想化されたトレースを示す. \*印の部分が未分解, サブステート, 雑音による誤検出箇所を示す. b, 2レベルいき値法(25%と75%)による検出例. aでの誤検出箇所はサブステートレベルに分離されている. 文献(9)より.

しかしこの方法では、しばしば見られるサブステートや高速の開閉を適切に検出することは困難で、大きな誤差を生じることがある(図4 a)。これを軽減する有効な方法として、2レベルいき値法がある<sup>8)</sup>。例えば閉レベルから25%と75%の2レベルにいき値を設定し、開、中間状態、閉の3状態に分類するわけである(図4 b)。個々の持続時間の推定の正確さを多少犠牲にしてもはるかにメリットのある場合がある。

##### b) 背景ノイズの軽減

実際に遷移検出で最も問題になるのは、高周波の背景ノイズである。具体的な例を見てみよう。図5 aはノイズ無しの理想的開閉をコンピュータで発生したものである。単一電流は12.5 pA、開閉平均時間はそれぞれ1.03 ms、と1.65 msに設定してある。これに2.5 pA

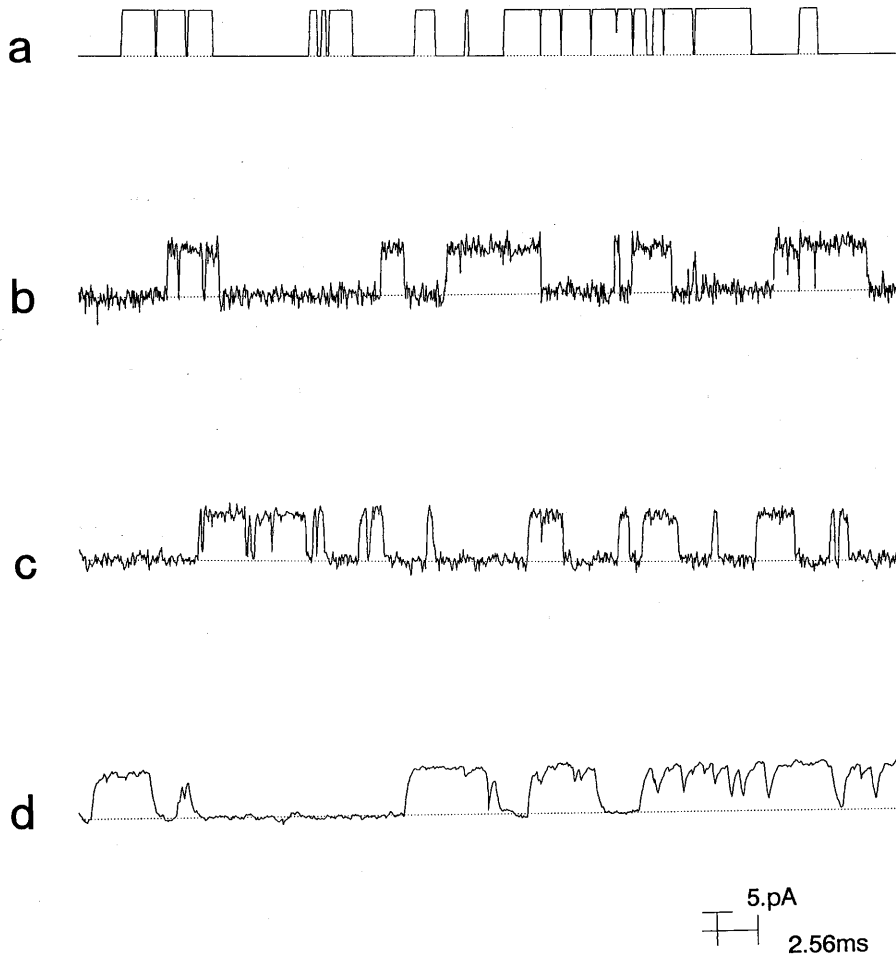


図5. 開閉時間の推定に与えるノイズとフィルタの効果. a, コンピュータ出力した理想的開閉のトレース(単一チャネル電流=1.30 pA, 平均開時間=1.03 ms, 平均閉時間=1.65 ms, 開確率=0.38). b, a にノイズ(rms=0.25 pA)を重ねたもの(平均開時間=0.607 ms, 平均閉時間=1.04 ms, 開確率=0.37). c, b に適当な ガウシアンフィルタ(偏差係数=0.5)をかけたもの(平均開時間=1.08 ms, 平均閉時間=1.85 ms, 開確率=0.37). d, a に強いフィルタ(偏差係数=0.9)を掛けたもの(平均開時間=1.95 ms, 平均閉時間=3.22 ms, 開確率=0.38).

(rms)のノイズを重畳したのが図5 bである。一見影響はなさそうであるが、50%いき値法で推定した平均開閉時間はそれぞれ 0.607 ms, 1.04 ms となり真の値より約40%小さな値になっている。そこでこのデータに適当なガウシアンフィルタをかけたのが図5 cで、このときの平均開閉時間は 1.08 ms と 1.85 ms になり、ほぼ真の値に復帰していることが分かる。ところが強くフィルタをかけすぎると原波形は大きく歪み、平均開閉時間も 1.95 ms と 3.22

ms となって真値の約2倍になっている(図5 d)。持続時間の推定にいかんフィルタの設定が重要であるかがわかる。ではどのようにして適切にフィルタの遮断周波数を決めればよいのか? 実際には次のようにする。ベースラインに対して、実際の開方向とは逆の方向にコンダクタンスレベル(-100%)を設定し、これに対して50%いき値レベル(-50%)を設定する。この状態で遷移検出を行い、ノイズによるみかけの開事象が検出できなくなるまでフィルタの遮

断周波数を下げる。こうしてノイズによる擬事象 (false event, 図 5 b) を防ぐことができる。言うまでもないが、この操作で高速開閉の未検出事象 (missing event) が生じることも忘れてはならない (図 5 d)。解析の目的に応じて適当なところで妥協するしかない。false event があるときには平均開閉時間が 2 重に過小評価されることに注意したい。つまり多数の短寿命の擬開閉事象と、それらによって長い開閉事象が中断されるためである。これに対して missing event があるときには開閉時間が過大評価されるが、missing した短い事象は後で述べる fitting によって外挿されるので false event と比べて誤差は少ない。

#### c) ベースラインの補正

これまではベースラインのドリフトを考慮しなかったが、実際にはフィルタでは除去できない低周波のゆらぎやドリフトが混入する場合がある。そのためにせつかく設定したいき値のレベルが意味をなさなくなる。これを自動的に補正する一つの方法として零クロス法がある<sup>7)</sup>。まずミニマムレベルを設定して、徐々にレベルを上昇させ、零クロスの数が最大値になるところをベースラインとする。つまりノイズの平均値レベルを探しながらそれをベースラインとする。しかしこの方法は、長い開事象や瀕回なバーストを含むデータでは必ずしも有効ではない。現在使われている一般的な方法では、一定の持続時間を有する開事象の移動平均をとり直前の閉事象の平均値との間で重み付き平均を取ったものを新たなベースラインとする<sup>9)</sup>。例えば、直前のベースラインが 1 pA で、当該の閉レベルの移動平均値が 2 pA の場合、その重みを 0.1 とすれば新たなベースラインは  $1 \times 0.9 + 2 \times 0.1 = 1.1$  pA と計算される。多くのソフトウェアにはこうしたベースライン補正機能が付属しているので、状況に応じて利用できる。より精密な方法として time course fitting も提案されているが、かならずしも実用的ではない。興味がある方は文献<sup>10)</sup>を参照されたい。

以上、事象検出の方法と注意点を紹介したが、

いずれも完全ではない。最後の仕上げはやはり実験者が一つ一つの事象が正しく検出分類されているかを、目で見ながらチェックをして、アーチファクトを除去しなければならない。多くのソフトウェアにはこうした編集モードが付属している。

### 2) 開閉持続時間 (dwell time) の解析

#### a) dwell time histogram の作成

1) で検出された各事象ごとの dwell time の系列は event list とよばれ、ASCII ファイルとして保存できる。次の段階はこの list を、横軸に dwell time、縦軸に事象数というヒストグラムに整理することである。このときヒストグラムの bin 幅は事象数に応じて適切に設定する。解析したい最小の dwell time の 10~20% 程度に設定すれば良いとされている。また、後の指数関数へのあてはめ (fitting) を考えると、50~100 ビン程度が望ましい。そのためには最低 1000 事象程度のデータがほしいところである。ただしこの方法は、精々 2 成分の指数関数で、それらの時定数が 1 桁程度の違いしかない場合にのみ信頼できると考えるべきである。もし、3 成分以上で、時定数の違いが 2 桁を越える場合は、短い成分から順に拡大して fitting するか、もしくは log-log あるいは log-square root プロット (図 6) によって速い時定数成分を強調しなければ、指数関数への信頼できる fitting は期待できない。その場合でも、種々の制限があるので、詳しくは文献を参照されたい<sup>11)</sup>。

#### b) 指数関数への fitting

チャネルの開閉反応はマルコフ連鎖過程とみなせるので、開閉持続時間の分布ヒストグラムは  $f(t) = (1/\tau) \exp(-t/\tau)$  という確率密度関数で近似されると考えてよい。ここで  $f(t)$  は持続時間  $t$  の事象が出現する確率を表す確率密度関数で、 $\tau$  は持続時間 (寿命) の平均値に相当し、時定数と呼ばれる。これは次のように考えればよい。

今、 $\text{closed} \xrightleftharpoons[\beta]{\alpha} \text{open}$  という開閉反応を考えると、開状態の生存確率 (寿命)  $F(t)$  について、 $dF(t)/dt = -\beta F(t)$  が成り立つ。これを積分す

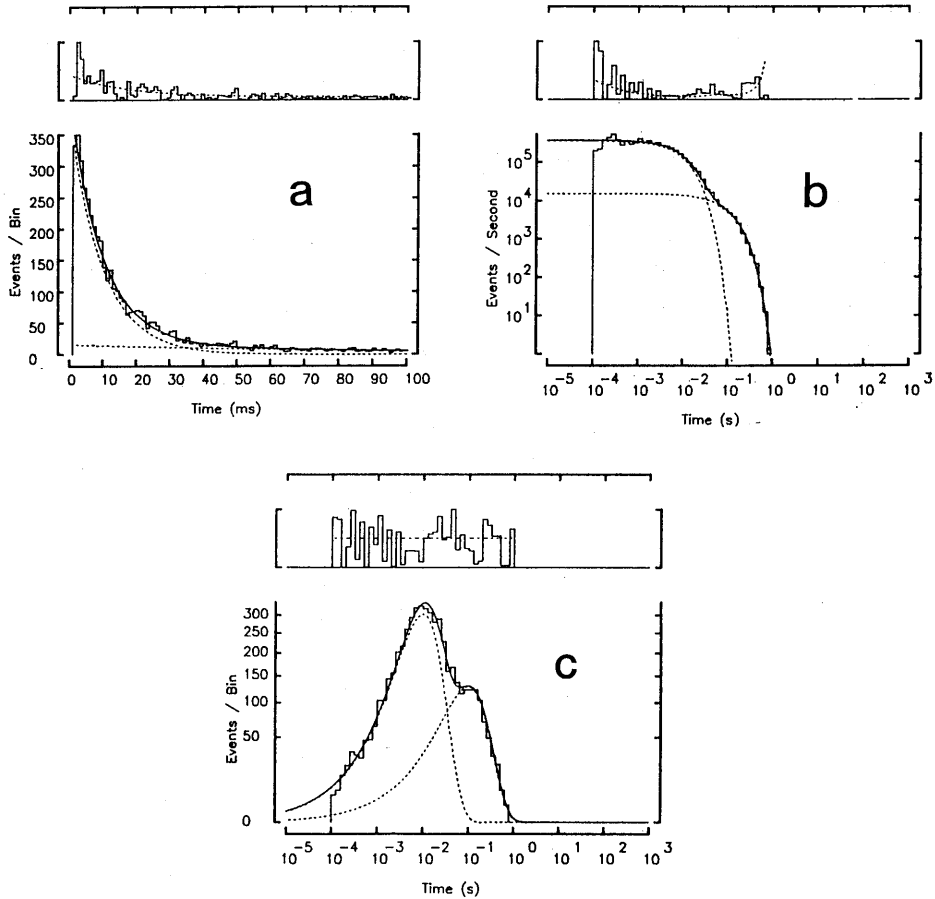


図6. 閉鎖時間(dwell time)ヒストグラムの様々なプロット法. a, 時定数 10 ms (頻度 = 70%) と 100 ms (頻度 30%) の分布をもつ 5120 のランダム事象を 1 ms きざみのビン幅で linear-linear プロットしたもの. 上段は理論値(破線)からの偏差をあらわす. このプロットでは 100 ms の成分が過小に評価されてしまう. b, log-log プロット. ここではビン幅が対数スケールで増加していく. ただし縦軸には事象数を各ビン幅で除した値が用いられている. c, 横軸は時間の対数, 縦軸に事象数の平方根をプロットしたもの. 上段の偏差が時間によらずほぼ一定になっていることに注意. 文献(11)より.

れば  $F(t) = \exp(-\beta t)$  が得られる. 言い換えると  $F(t)$  は閉状態の寿命が  $t$  以上である確率を表す. したがって寿命が  $t$  以下である確率は,  $1 - \exp(-\beta t)$  となる. これから寿命が  $t$  である確率, 即ち確率密度関数はこれを微分して  $\beta \exp(-\beta t)$  となる. ここで  $\beta \rightarrow 1/\tau$  と置き換えれば与式  $f(t) = (1/\tau) \exp(-t/\tau)$  を得る. 閉状態の寿命についても全く同様に考えることができ, 単に  $\beta$  を  $\alpha$  に置き換えればよい. この例でもわかるように, その状態の平均寿命はそこから別の状態へ遷移する速度定数(一般的には

その和)の逆数になる. したがってこの反応モデルでは, ヒストグラムから時定数を求めれば速度定数が直接求められ, 反応の性質が決定できる.

コンダクタンスが区別できない閉(開)状態を複数個含むような反応では, 一般に閉(開)状態のヒストグラムは状態数 ( $n$ ) に応じた複数の指数関数の重ね合わせとなり, 理論曲線は  $f(t) = \sum_{i=1}^n (a_i/\tau_i) \exp(-t/\tau_i)$  と書ける. ただし  $a_i$  は各成分の総事象数に比例する相対頻度で,  $\sum_{i=1}^n a_i = 1$  となる. 言い換えると  $a_i$  は各分布の面積の

割合に相当する。これは例えば上記関数の  $i$  成分 ( $f_i(t)$ ) のみについて 0 から  $\infty$  まで積分した値 (その状態の出現確率) が  $a_i$  になることによって容易に確認することができる。この例のようにヒストグラムが複数の指数関数から構成される場合には、各反応速度定数は、一般に  $\tau_i$  と  $a_i$  から成るかなり複雑な関数となる。簡単な例は次節で紹介する。

指数関数への fitting のアルゴリズムとしては Levenberg-Marquardt 法 (非線形最小 2 乗法)<sup>12)</sup> が実用的であるが、データが少なくてヒストグラムに空 bin があるようなときには誤差が大きくなる。この場合には最尤推定法 (most likelyhood method)<sup>13)</sup> を使うほうが良い結果が得られる。ソフトウェアにはいずれを使うか選択できるものもあるが (pCLAMP. 6.0), 前者が付属するものが多い。何個の成分で fitting するかは結果をみながら試行錯誤で決めるしかない。

### 3) 反応モデルの決定

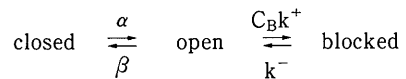
dwell time 解析の最終目標は、チャネルの開閉の反応モデルと各状態間の速度定数を決定することにある。先の dwell time histogram から得られた開閉各状態の時定数の数は、開閉各状態に含まれる状態数の最小値を与え、これが出発点となる。それらの状態を線形につなぐか環状にするか、あるいはその組合せにするかは容易には決められない。チャネルの性質や実験条件から試行錯誤的に決定するしかない。このとき良く使われるのが、シミュレーションを使った半経験的方法である。すなわち得られた状態数から適当な反応モデルを仮定し、dwell time histogram から得られた  $a_i$  と  $\tau_i$  から速度定数を決定して、模擬的データを発生する。このデータから dwell time histogram を作成して、実際のデータとの比較をして最も適合度の良いモデルを決定する<sup>14)</sup>。反応モデルからチャネル電流のデータを発生するプログラム (CSIM) は Axon 社から販売されており、12 状態までのかなり複雑なシミュレーションをこなすことができる。ヒストグラムから得られる  $a_i$ ,  $\tau_i$  と反応

モデルの速度定数との関係を解く一般的な方法は Colquhoun らによって与えられている<sup>15)</sup>。その解説は本稿の範囲を越えるので、ここではその原理を多少天下りの的に要約する。

同一のコンダクタンスをもつ  $n$  個の閉状態について考えると、閉状態の dwell time の確率密度関数は  $n$  階の線形微分方程式に従う。これを直感的に分かり易く書き直すと、 $n$  個の閉状態に関する 1 階の連立微分方程式になる。このとき連立微分方程式の係数 (各状態間の遷移速度定数からなる) は  $n$  次の正方行列を構成する (次節\*参照)。さて  $n$  階の線形微分方程式の一般解は  $f(t) = \sum_{i=1}^n w_i \exp(-\lambda_i t)$  となる。ここで  $\lambda_i = 1/\tau_i$  と置けば  $\tau_i$  は前節で述べた時定数に相当する。 $\lambda_i$  は  $n$  階微分方程式の特性方程式 ( $df(t)/dt^i$  を  $\lambda^i$  に置き換えてつくられる  $n$  次方程式) の根として求まり (行列表現の場合は  $\lambda_i$  は行列の固有値として求められる),  $w_i$  (ここでは  $\sum_{i=1}^n w_i / \lambda_i = 1$ ) は初期値から決まる。これが, dwell time histogram が指数関数の線形和として近似できる (5-2-b 節) 数学的根拠である。一般に状態数が 3 を越えると、 $\lambda_i$  と速度定数の関係は非常に複雑になり、行列法で解くのが効率的であるが、詳しくは文献を参照されたい<sup>15)</sup>。ここでは、open channel blocking を表す簡単なモデルの解析例を紹介するにとどめる。

### 4) オープンチャネルブロッキングの解析例

解析するモデルは、



である。ここで  $C_B$  はブロッカーの濃度を表す。この反応から得られる単一チャネル電流は、開状態のなかに短いブロッキングが挿入されたバースト状のトレースを示す。この反応では一般に closed state と blocked state のコンダクタンスの区別はつかないので、closed dwell time histogram は blocked state に起因する短い時定数  $\tau_B$  とバースト間の真の closed state に起因する長い時定数、 $\tau_c$  をもつはずである。これ

に対して open dwell time histogram は、時定数 ( $\tau_o$ ) の単一の指数関数になる。これらの時定数は、容易に  $\tau_B=1/k^-$ ,  $\tau_c=1/\alpha$ ,  $\tau_o=1/(\beta+C_Bk^+)$  と求められる。これから closed dwell time のヒストグラムを近似する確率密度関数  $f(t)$  は、前節を参考にして、 $f(t)=a_1k^- \exp(-k^-t)+a_2\alpha \exp(-\alpha t)$  とかける。  $a_1$  と  $a_2$  はそれぞれ blocked state と closed state の存在確率(相対頻度)であるから、速度定数  $\beta$  と  $C_Bk^+$  を用いて  $a_1=C_Bk^+/(\beta+C_Bk^+)$ ,  $a_2=\beta/(\beta+C_Bk^+)$  とかける。これらの関係から4つの速度定数 ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $k^+$ ,  $k^-$ ) がすべて実験値から決定される ( $\alpha=1/\tau_o$ ,  $\beta=a_2/\tau_o$ ,  $k^+=a_1/\tau_oC_B$ ,  $k^-=1/\tau_B$ )。

ちなみに  $k^-/k^+$  はブロッカーの解離定数 ( $K_B$ ) に相当する。また簡単な計算により、1バースト当りの平均総開時間は  $1/\beta$ , 平均総閉時間は  $C_B/K_B\beta$  となる。これから、平均のバースト時間は、 $(1+C_B/K_B)/\beta$  と求められる<sup>16)</sup>。

**\*) Q 行列による解法**

前出の反応モデルにおいて、open, blocked, closed の各状態の存在確率をそれぞれ O, B, C とすれば、その時間変化を表す微分方程式は以下のようになる。

$$\begin{aligned} dO/dt &= -(\beta+C_Bk^+)O + k^-B + \alpha C \\ dB/dt &= C_Bk^+O - k^-B \\ dC/dt &= \beta O - \alpha C \end{aligned}$$

これを行列表現すれば

$$\begin{pmatrix} O' \\ B' \\ C' \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -(\beta+C_Bk^+) & k^- & \alpha \\ C_Bk^+ & -k^- & 0 \\ \beta & 0 & -\alpha \end{pmatrix} \begin{pmatrix} O \\ B \\ C \end{pmatrix}$$

となる。ここで右辺の列ベクトルを前に移動すると、行列は転置されて

$$\begin{pmatrix} O' \\ B' \\ C' \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} O \\ B \\ C \end{pmatrix} \begin{pmatrix} -(\beta+C_Bk^+) & C_Bk^+ & \beta \\ k^- & -k^- & 0 \\ \alpha & 0 & -\alpha \end{pmatrix}$$

となる。この転置行列を特に **Q** 行列と呼ぶ。右

辺の列ベクトルを **P** とすれば、上式は

$$dP(t)/dt = P(t) \cdot Q(t)$$

とまとめられる。ちなみにこの一般解は  $P(t) = e^{Q(t)}$  である。あとは行列演算の常法に従って **Q** 行列 (実際には  $-Q$ ) の固有値 ( $\lambda_i$ ) を決めていくことになる。ここでは開と閉に分離された dwell time histogram との対応を取るために上記の **Q** 行列を、それぞれ 開 (O) と 閉 (B, C) に対応する小行列 (**A**, **B**) に分離して(破線)、各々の固有値を固有方程式 ( $|-A-\lambda I|=0$ ,  $|-B-\lambda I|=0$ ; ただし **I** は単位行列) から決定する。この例では **A** は1次行列、**B** は対角行列なので、計算するまでもなくそれぞれの固有値は、 $(\beta+C_Bk^+)$  および  $k^-$ ,  $\alpha$  となり先に求めた結果と一致することが分かる。この方法 (**Q** 行列法) は、**Q** 行列さえ作れば複雑な反応モデルの解析にも使うことのできる一般的な手法である。そこで **Q** 行列の簡単な作り方を紹介する。

先の転置行列の対角要素を 0 とした行列

$$\begin{matrix} & O & B & C \\ O & \begin{pmatrix} 0 & C_Bk^+ & \beta \end{pmatrix} \\ B & \begin{pmatrix} k^- & 0 & 0 \end{pmatrix} \\ C & \begin{pmatrix} \alpha & 0 & 0 \end{pmatrix} \end{matrix}$$

をよく眺めれば、 $i$ (行) から  $j$ (列) への遷移行列になることが分かる。また先の転置行列の対角要素は各状態の寿命(時定数)に負号をつけたものになっている、つまり各行の和はゼロになっている。言い換えると各行の対角要素は遷移行列(これは反応モデルから即座に構成できる)の行要素の和に負号をつけるだけで求められるわけである。複雑な行列の固有値の計算は適当なプログラムパッケージに任せるのが賢明である。

**6. おわりに**

振幅解析までは比較的スムーズに進むが、dwell time の解析は非常に時間がかかるうえに、最後まで確信が持ちにくいというのが筆者の感想である。しかし一方でチャネル蛋白質の構造も次第に明かとなり、部位特異的突然変異

によって自在に構造変化が導入できるようになってきた。そのときの微妙なコンダクタンスやゲーティングの変化を解析することによって分子レベルの本格的な構造機能連関の研究が可能になりつつある。その意味で単一チャンネルデータ解析はますます重要になってきた。本稿が、これからイオンチャンネルの構造機能連関を明らかにしようという研究者の方々に多少ともお役に立てば幸いである。

### 文 献

- 1) Miller, C. (ed.) (1986) "Ion Channel Reconstitution", Plenum, New York
- 2) Sakmann, B. & Neher, E. (eds.) (1983) "Single-Channel Recording", Plenum, New York
- 3) 岡田泰伸, 小原正裕 (1994) パッチクランプ法の原理と実際. 日本生理学雑誌, 56(5), 133-145
- 4) Patlak, J. B. (1988) Sodium channel subconductance levels measured with a new variance-mean analysis. *J. Gen. Physiol.* **92**, 413-430
- 5) Hille, B. (1992) "Ionic Channels of Excitable Membranes, 2nd ed.", Sinauer, Sunderland, MA.
- 6) Colquhoun, D. & Hawkes, A. G. (1983) The principles of the stochastic interpretation of ion-channel mechanisms. In "Single-Channel Recording" (Sakmann, B. & Neher, E. (eds.)), pp. 135-189
- 7) Sachs, F., Neil, J. & Barkakati, N. (1983) The automated analysis of data from single ionic channels. *Pflugers Arch.* **395**, 331-340
- 8) Dempster, J. (1993) "Computer Analysis of Electrophysiological Signals" Academic Press, London. pp. 167
- 9) Colquhoun, D. (1987) Practical analysis of single channel records. In "Microelectrode techniques. The Plymou Workshop Handbook" (Standen, N. B. Gray, P. T. A. & Whitaker M. J. (eds.) Company of Biologist Ltd. Cambridge, pp. 83-104
- 10) Sigworth, F. J. & Sine, S. M. (1987) Data transformations for improved display and fitting of single channel dwell time histograms. *Biophys. J.* **48**, 149-158.
- 11) Jackson, M. B. (1992) Stationary single-channel analysis. *Method Enzymol.* **207**, 729-746
- 12) 中川徹, 小柳義夫 (1982) "最小二乗法による実験データ解析" 東大出版会, 東京
- 13) 栗屋隆 (1991) "データ解析, 第2版" 学会出版センター, 東京
- 14) French, R. J. & Wonderli, W. F. (1992) Software for acquisition and analysis of ion channel data: choices, tasks, and strategies. *Method Enzymol.* **207**, 711-728
- 15) Colquhoun, D. & Hawkes, A. G. (1981) On the stochastic properties of single ion channels. *Proc. R. Soc. London B*, **211**, 205-235
- 16) Colquhoun, D. & Hawkes, A. G. (1983) On the stochastic properties of bursts of single ion channel openings and clusters of bursts. *Phil. Trans. R. Soc. London B*, **300**, 1-59



### 〔編集後記〕

風薫る5月、五月晴れなどと申しますが、爽やかさはほど遠く、梅雨のような天気が続いています。1月の阪神大震災、3月の地下鉄サリン事件と、今年は異常な出来事が続いておりますが、異常気象の前兆でないことを祈念いたします。地下鉄サリン事件の解明が進んでおりますが、学生諸君の神経伝達物質の放出、拡散、受容体への結合、分解という神経生理学の基礎への関心が例年になく高いことは、講義を担当するものとしては単純には喜べない複雑な心境です。

さて、遅くなりましたが、57巻5号をお届けいたします。本号では、巻頭言を大阪大学の津本忠治先生をお願いいたしました。生命科学の進歩のなかで、包括的、統合的学問としての生理学の果たすべき重要性を歴史的に振り返りながら、21世紀に向けていま生理学に携わるわれわれに新しい技法と概念の創出と意識の改革が必要であることを強調されています。日々の教育や研究に追われる私のようなものにとっては、生理学という学問領域を改めて考え直すいい機会になりそうです。有難うございます。

PROFILEで抱負を述べられている森山朝正先生のご活躍を期待いたします。好評の生理学実験技術法講

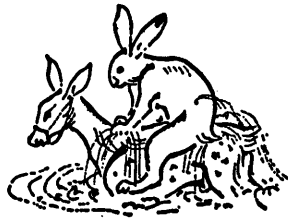
座は、今回は曾我部正博先生をお願いいたしました。単一チャンネルのデータ解析法が解りやすく解説されており、私のような門外漢にも大いに勉強になります。

アジア・オセアニア生理学会 (FAOPS) の名誉会員で、中国科学院院士、上海生理学研究所名誉所長の馮徳培先生が4月10日、88才でご逝去されました。1930年代初頭にロンドン大学の A. V. Hill のもとで筋収縮における熱産生に関する研究をされ、帰国後は神経筋接合部の化学伝達機構について多くの先駆的研究をされましたが、第2次世界大戦の混乱により中断を余儀なくされました。また、1960年頃より再開した遅筋に見られる神経切除後肥大に関する研究も、文化大革命により中断されています。これらの混乱期にも拘わらず中国に留まり、文化大革命後は中国の神経生理学研究の重鎮として活躍されました。また、研究に対する情熱は衰えることなく、最近では、中枢神経系の可塑性に興味を持ち、自ら長期増強現象の細胞内機構について研究されています。FAOPSを通じて面識のある本学会会員も多いと存じます。ここに慎んでお知らせいたします。

今回より、編集委員として末席を汚すこととなりました。少しでもお役に立てればと思っております。宜しくお願いいたします。(高松 研 記)

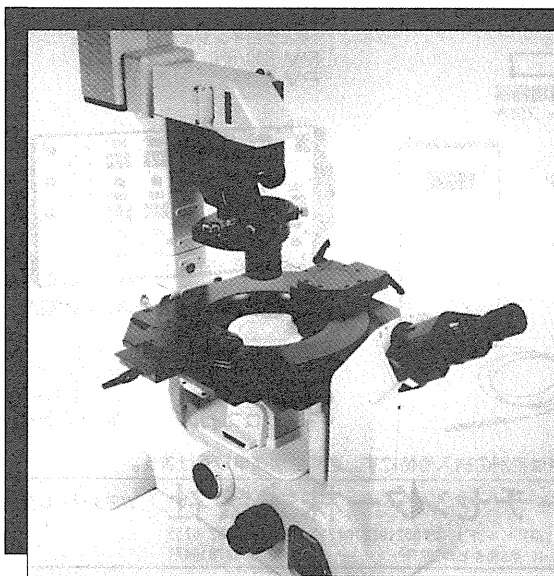
### 編 集 委 員

金子 章道(幹事)	野村 正彦	野崎 修一
中島 祥夫	佐々木 成人	高松 研
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)		



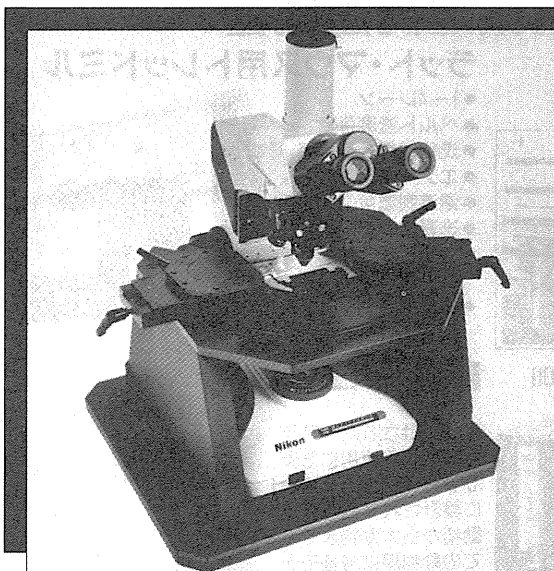
Meridian Manufacturing 社製

# ORBITAL STAGE SYSTEMS



## 倒立顕微鏡用

- Zeiss社製  
IM 35  
Axiovert
- ニコン社製  
Diaphot TMD  
Diaphot TMD 300
- 顕微鏡ステージに直接取り付け  
けるため、振動から解放され  
ます。



## 鏡筒上下式正立顕微鏡用

- Zeiss社製  
Axioskop FS
- ニコン社製  
Optiphot UD  
MM 22
- オプションとして……  
顕微鏡自体をX・Y軸に可動  
させる装置があります。



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番地14(ショーシンビル)

TEL. (0564) 54-1231番(代表)

FAX. (0564) 54-3207番

信頼と実績のヴァリエーション。直販システムで一層お求めやすくなりました。

## WPI 製品ダイレクト販売のお知らせ!

**円高差益還元  
大巾プライスダウン**

弊社は米国WPI社の日本総代理店として、長年研究者の皆様にご愛顧を頂いてまいりました。このたび、今春のWPI日本支社開設に伴い同社との協力・連携のもと、ユーザーの皆様にご満足頂けることと存じます。(直販価格はWPI英文カタログに記載)

何卒この機会に、ぜひ弊社のダイレクト販売システムをご活用下さいませようご案内申し上げます。詳細は弊社WPIダイレクト販売課までお気軽にお問い合わせ下さい。



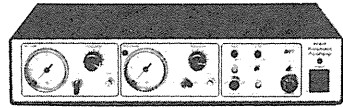
●DAM-80 差動型前置増幅器  
ヘッドフロープ付き  
¥221,800

●ISO-NO NOメータ  
¥559,200

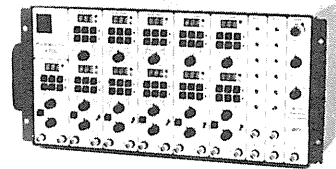
●ガラスキャピラリー  
I B100F-4 500本入り  
¥6,400

I B120F-4 350本入り  
¥6,400

I B150F-4 225本入り  
¥7,200



●気圧式ピコポンプ  
(マイクロインジェクション用)  
PV-800/820 ¥221,800  
PV-830 ¥290,200



●A-300 マルチチャンネル刺激装置  
¥509,600

●電極ホルダー ¥5,100~  
●バッチ用電極ホルダー ¥13,600  
●電極バレット ¥3,400~  
●マイクロフィル ¥5,600~

注：価格は税別納入価格です。送料は別途申し受けます。



**バイオリサーチセンター株式会社**

WPIダイレクト販売課

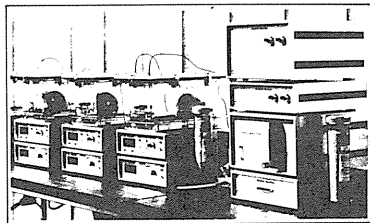
本社 名古屋市中区東桜2-10-21(錦見ビル2F) ☎052(932)6421 FAX052(932)6755  
東京 東京都江戸川区東葛西6-4-10(第6頼長ビル203号) ☎03(3878)6471

## 実験動物用薬理関連機器

### VO<sub>2</sub>/VCO<sub>2</sub>呼吸代謝モニター

小〜大動物の長期間のモニターが可能です。

- 酸素消費量
- CO<sub>2</sub>発生量
- 呼吸置換比
- コンピュータ制御
- トレッドミルとの併用可



### 動物用呼気CO<sub>2</sub>モニター CAPSTAR-100

(小〜中・大動物まで)

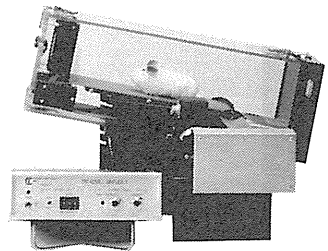
呼気CO<sub>2</sub>モニター CAPSTAR-100は、赤外線シングルビームにより正確且つ連続的にラットから各種動物の呼気ガスを応答性良く、最小限のサンプル量で、長期間安定してモニターします。



- 分析原理 赤外線シングルビーム
- 測定レンジ 0~100%
- 応答時間(T<sub>10</sub>-T<sub>90</sub>) 130ms(50ml/min. Sample)  
150ms(10ml/min. Sample)
- 測定呼気流量 10~100ml/min.

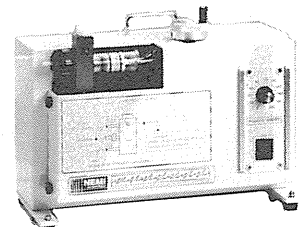
### ラット・マウス用トレッドミル

- 1~4レーン
- ベルト速度可変
- 走行傾斜角度可変
- エア・バフ刺激可
- 電流刺激可
- 逃避センサー付き
- 代謝用チャネル可
- コンピュータ制御可



### 動物用人工呼吸器

軽量設計された、苛酷な長期間の使用にも安心して使用出来るように設計されており、小動物から大動物まで全ての動物用に各種モデルを揃えています。



- Model: 131 シリンダー容量5ml 10ml (モルモット・ラット用)
- Model: 141 シリンダー容量10ml 30ml (ラット用)
- Model: 121 シリンダー容量30ml 70ml (ネコ・ウサギ用)
- Model: 101 シリンダー容量750ml (イヌ用)

日本総代理店



**バイオリサーチセンター株式会社**

本社 名古屋市中区東桜2-10-21(錦見ビル2F) ☎052(932)6421 FAX052(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

# Laser Flow BRL-100 バイオリサーチ レーザー血流計!

従来のレーザー血流計に満足ですか……?



本体価格 ¥770,000

- 軽量小型なセンサーで、驚くほどフレキシブルなファイバーコード (要望に応じたカスタムメイドも可能)
- 小動物(ラット、マウス)から大動物まで対応 ● マルチチャンネルに対応
- 低コスト、高性能化を実現 ● ムダを排除し、取り扱いを簡素化
- 急性実験から慢性実験に応用 ● 定量化も可能

●センサー(価格 各¥120,000)	先端部	コード部
プレート型(皮膚、臓器表面)		
BP-8S	φ8×0.7(H) φ4×3 (H)	φ2×2m
BP-8L	φ8×0.7(H) φ4×3 (H)	φ2×2m
ディスク型(脳皮質、臓器表面)		
BD-6	φ6×3(H)	φ2×2m
スティック型(脳皮質、臓器表面)		
BS-2.4	φ2×10	φ2×2m
ニードル型 (脳、筋肉、臓器深部、脳皮質、脊髄、臓器表面)		
BN-1.1	φ1.1×6 φ2.4×4	φ2×2m
BN-0.5	φ0.5×6 φ1.3×5	φ2×2m

(単位: mm)

日本総発売元



## バイオリサーチセンター株式会社

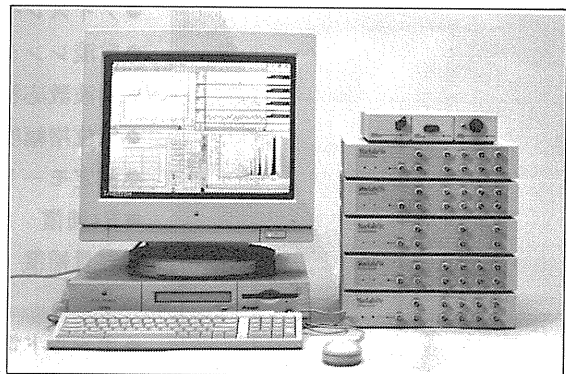
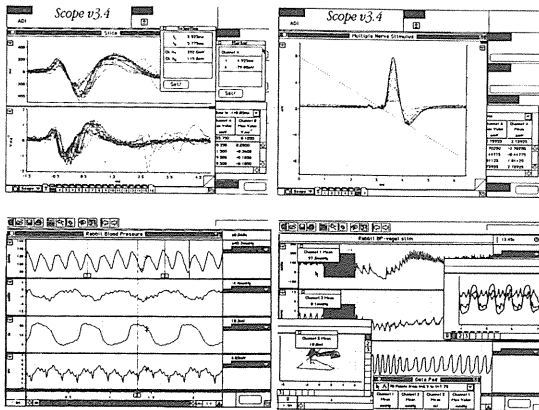
本社 名古屋市東区東桜2-10-21(錦見ビル2F) ☎052(932)6421 FAX 052(932)6755  
東京 東京都江戸川区東葛西6-4-10(第6頼長ビル203号) ☎03(3878)6471

Macintosh 専用データ収録・解析プロセッサ

# MacLab /4s/8s /2e/4e/8e

高速サンプリング/Sシリーズ新登場!!

最大100KHz(100,000サンプル/秒)でサンプリングが可能!  
マックラプ専用アンプを使って、心電、呼吸、脳波等の  
生体現象の測定記録として、マッキントッシュをボリグ  
ラフとして利用できます。



Sシリーズは10KHz-8ch、20KHz-4ch、40KHz-2chの  
連続サンプリングが可能です。  
Chartエクステンションにより将来性を含めて大きく機能向上!!!  
Chartエクステーションはアドインモジュールで各種専用解析用を開発予定  
演算

- ・ 微分、積分…平均、加算平均
- ・ 波形間のSubtract等、四則演算
- ・ 最大、最小(振幅、スロープ、タイム)
- ・ ピークホールド、カウント
- ・ スティムレータ、シグナルジュネレータ
- ・ レートメータ、ペリオドメータ
- ・ FFT(Real, dB, ハミング処理他)、整流
- ・ スムージング、オートベースライン
- ・ リアルタイムX-Yプロット
- ・ 単位変換、キャリブレーション、演算表示
- ・ タイムベース外部機器コントロール
- ・ ベースライントラック

記録

- ・ ハードディスクレコーディング
- ・ オンメモリーレコーディング
- ・ 圧縮記録で長時間記録が可能です (EEGで1MBあたり約2時間/100Hz/1CH)
- ・ SCSI接続により1台のコンピュータで複数台数同時記録が可能 (例32ch等)
- ・ ClassicIIからPowerBook, PowerMacまで接続可能

日本総代理店



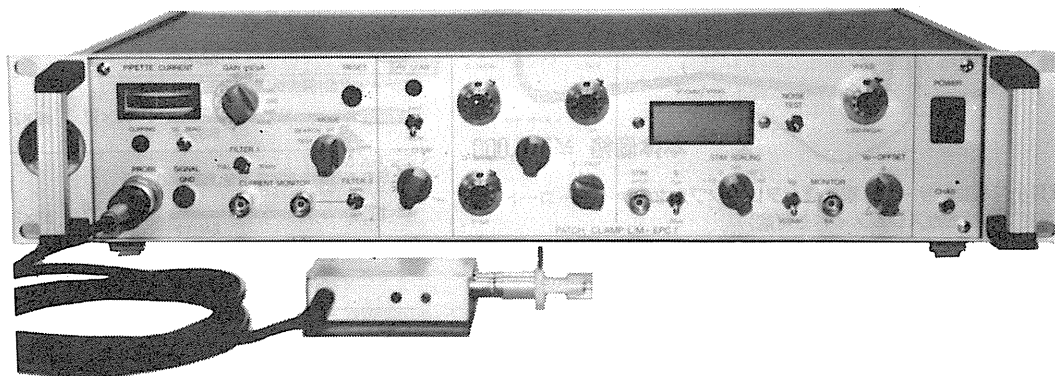
## バイオリサーチセンター株式会社

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 $\Omega$ ), 20nA (500M $\Omega$ )
- 周波数応答 : 100KHz (500M $\Omega$ )
- 電位増幅度 : X10
- 測定モード : VC, CC, CC+COMM
- Rs補償 : 1-100M $\Omega$
- 容量補償 : 0-10pF (First)  
: 0.2-10pF, 2-100pF (Slow)
- ホールド電位 :  $\pm 200$ mV
- オフセット電位 :  $\pm 50$ 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

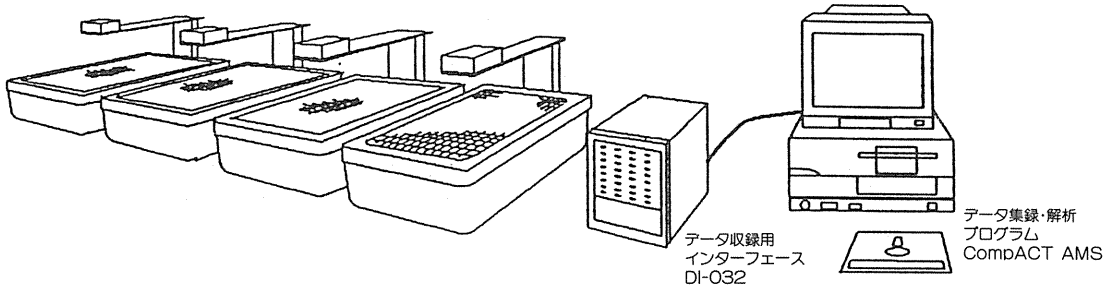
東日本地区発売元

(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号コイイダビル4F  
TEL (03) 3258-1641(代)

# ローコスト型 スーパーメックス PAT. P. 自発運動量測定システム SUPERMEX



- 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までのデータを集録し、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 **室田機械株式会社**

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

## ラット・マウス用 非観血式血圧測定装置

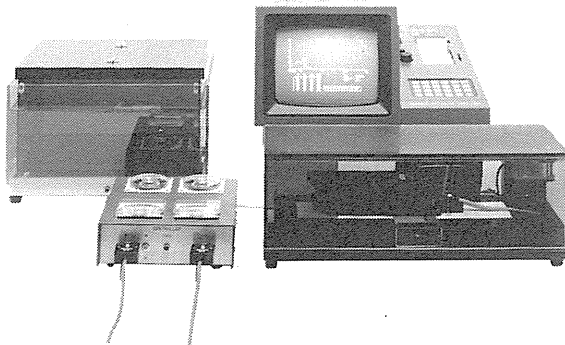
### MODEL MK-1100

\* 収縮期血圧 /

\* 平均血圧 /

\* 拡張期血圧(計算値) /

\* 脈拍数 / の安定した測定に



#### ■特長

- 脈拍信号を音で聞くことができます。(音量の調節可)
- 連続測定機能及び高速測定機能の追加により測定時間が大幅に短縮。
- 400mmHg 迄加圧可能ですのでSHRSPも測定できます。
- 高速印字機能 / 全ての測定データは、音の静かな高速一マルプリンタにより約1秒間で打ち出されます。また、平均値の他にSD値も打ち出されます。
- タイムスタンプ機能 / テータ印字の際に計測時の時間も印字されます。
- 画面コピー機能 / 付属のプリンタで画面のハードコピーを行なえます。
- マーモセットやスングスの測定を行なうこともできます。
- R232C出力が標準装備されています。
- センサーの感度はMK-1000型と比較して約5倍アップしています。

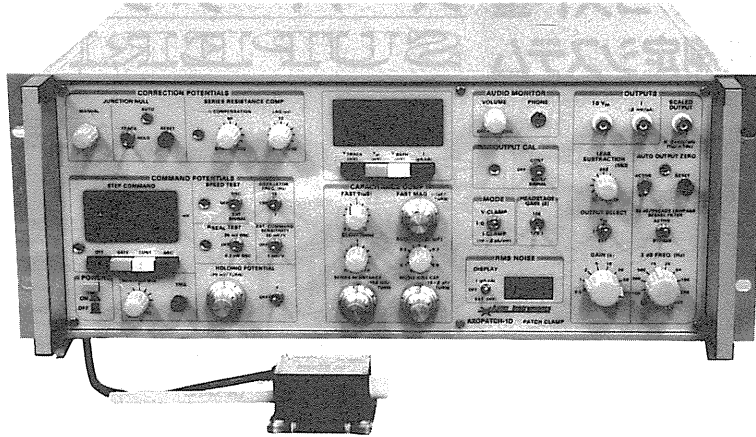
**Muromachi**

総発売元

**室田機械株式会社**

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: 大阪市淀川区木川東4-5-3 長谷興産新大阪ビル  
〒532 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 (20nA まで) と single-channel 電流を記録するためのものです。50GΩ と 500MΩ のフィードバック抵抗があります。

**CV4 0.1/100** 大きなセル (200nA; >>100pF) の whole-cell クランプと single-channel 電流を記録するためのものです。50GΩ と 50MΩ 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 50GΩ と 50MΩ 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      アビタシオン千歳鳥山102号  
TEL (03) 5384-6387      FAX (03) 5384-6487

東日本地区発売元

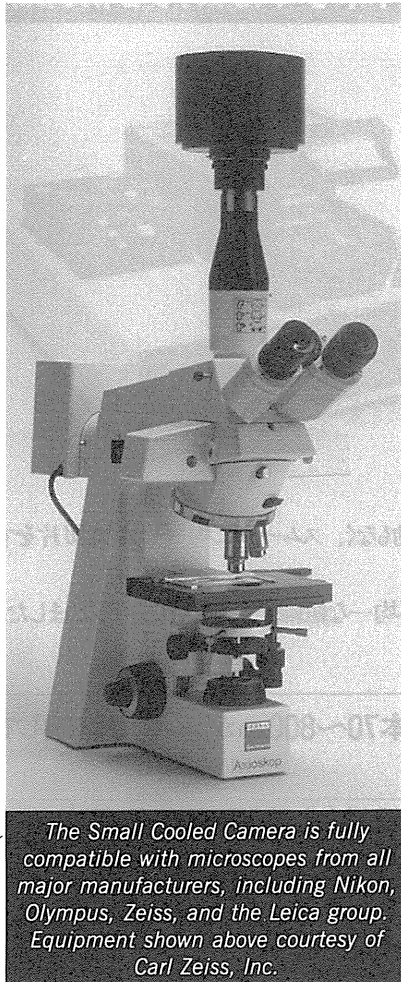
(Physio-Tech)

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)

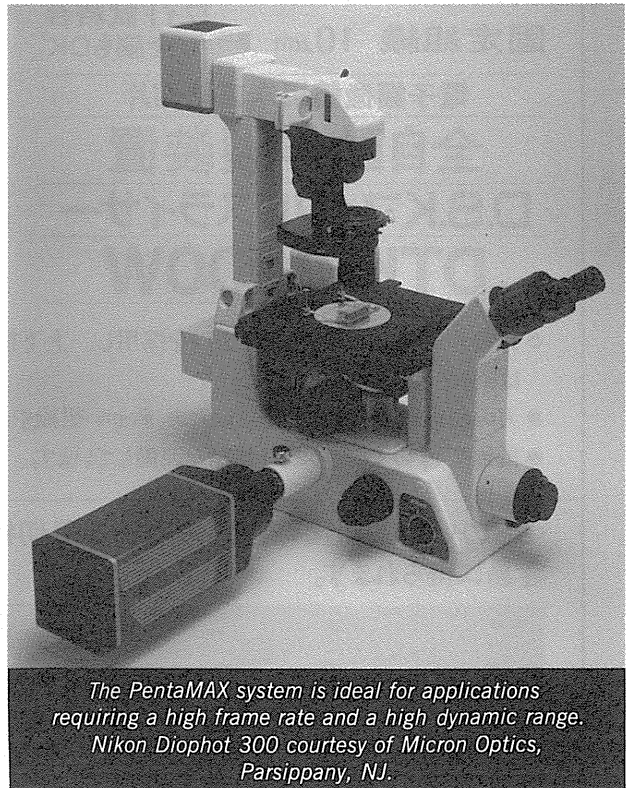
最高性能のデジタルカメラ登場!!

# 高速、高精度デジタルCCDカメラ



*The Small Cooled Camera is fully compatible with microscopes from all major manufacturers, including Nikon, Olympus, Zeiss, and the Leica group. Equipment shown above courtesy of Carl Zeiss, Inc.*

- ★ 広ダイナミックレンジ: 12~18ビット
- ★ 画素数: 512×512~3072×2048
- ★ 感度: ビデオカメラの10倍~1,000倍
- ★ 高速度: 100KHz~5MHz
- ★ ビデオ&デジタル出力



*The PentaMAX system is ideal for applications requiring a high frame rate and a high dynamic range. Nikon Diaphot 300 courtesy of Micron Optics, Parsippany, NJ.*

ダイナミックレンジが12ビットで、

AD変換レートが5MHzと高速、高精度のカメラが遂に発売されました。

素子数は、35万画素~600万画素と豊富です。

読み出しノイズを極限まで下げ、CCDを-50℃まで冷却することで感度を向上しました。

# 生理学・薬理学・脳神経科学用研究機器

マウス

ラット

ネコ

……

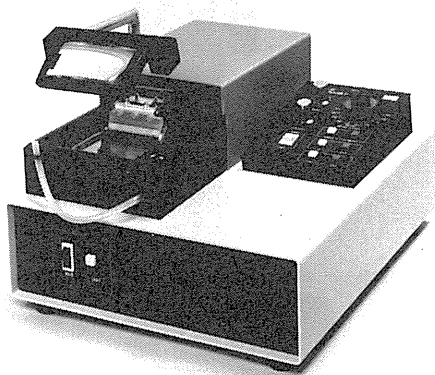
新鮮脳 50 $\mu$ m 70 $\times$ 70の  
固定組織 10 $\mu$ m ワイド試料台  
で全脳もOK

電子顕微鏡用未凍結切片

## 全自動作製装置

### D.S.Kマイクロスライサー

## DTK-3000W



- 刃の作動方式に滑走式(PAT)を採用し、上下振動もなく、スムーズに均一な連続切片をすばやく作製します。
- 刃の往復数が自由に変えられるため、軟かい組織や、不均一な組織でもとても切りやすくなりました。
- 低温で薄切するための冷却槽を装備しています。

生きのいい脳組織(海馬)の均一な薄切標本70~800 $\mu$ mが液中で連続して容易に得られます。



脳組織(生体)専用薄切標本

## 自動作製装置

### D.S.Kロータースライサー

## DTY-8700

- 丸刃回転方式(PAT.P)の素晴らしい切れ味ですばやく作製します。
- 組織の薄切の厚さ、刃の回転速度、下降速度の三つをセット、あとはスタートボタンを押すのみ。

★詳しい資料・文献・デモンストレーションは下記までご請求ください。

# D.S.K 堂阪イーエム(株)

本社・工場/〒601-11 京都市左京区静海市原町1032の3 TEL (075)741-3069 FAX (075)741-3026

# MCQによる 生理学問題集

【編集】 日本生理学教育委員会

学ぶ事柄の多い生理学で、近年は生理学教育の一助として学生が自分の知識レベルを、ためすことのできる多肢選択問題(multiple choice questions:MCQ)が、試験に使われるようになってきた。

本書は各問題に難易度をつけ利用しやすいようにした。

医学生はもとより、歯学部、薬学部など生理学を学ぶ全ての学生に有用な1冊。

A5判・332頁 定価 3,605円(税込)



 文光堂

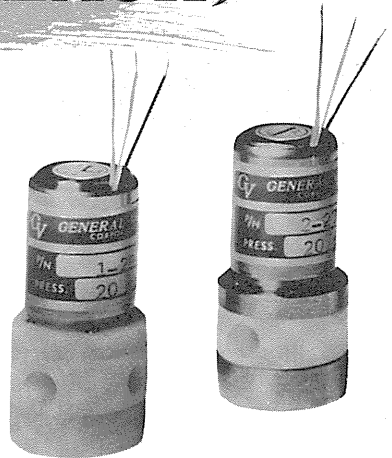
〒113 東京都文京区本郷7丁目2番7号 ☎03(3813)5478

## 目次

- 細胞機能, 一般生理
  - ・胞膜物質輸送, 能動・受動輸送
  - ・酸化還元, pH, バッファー
  - ・膜のイオンチャンネル, イオン透過性, チャンネル開閉機構
  - ・細胞内情報伝達(チャンネルを含む)
  - ・興奮性膜の興奮過程消退のイオン背景
  - ・興奮性と閾値, クロナキシー不応期, 全か無の法則, 極興奮, 伝導速度
  - ・静止電位, ドナナ膜平衡
  - ・膜等価回路と膜常数, 膜特性
- 筋肉
  - ・骨格筋: 興奮, 興奮収縮連関
  - ・骨格筋: 収縮蛋白, 収縮, エネルギー利用
- 神経・シナプス
  - ・静止膜電位, 活動電位
  - ・イオンチャンネル
  - ・刺激と興奮, 興奮伝導
  - ・化学シナプス, 電気シナプス
  - ・伝達物質
- 運動系
  - ・脊髓反射
  - ・随意運動と反射活動, 歩行運動中枢・パターンジェネレーター
  - ・脊髓と脳幹
  - ・姿勢反射, 眼球と頸の運動
  - ・基底核, 運動発現の中枢機序・プログラム
  - ・小脳
- 感覚
  - ・感覚中枢
  - ・細胞内情報伝達
  - ・網膜
  - ・聴覚
  - ・平衡感覚
  - ・味覚
  - ・嗅覚
  - ・体性・内臓感覚
- 中枢神経統合系
  - ・大脳運動野
  - ・大脳感覚野
  - ・脊髓・脳幹
  - ・小脳
  - ・辺縁系
  - ・大脳連合野
  - ・視床, 視床下部, 大脳基底核
- 血液(体液)
  - ・造血, 赤血球, ヘモグロビン, 鉄, ヘモグロビン代謝
  - ・体液分布, 浸透圧, 酸塩基平衡, 電解質
  - ・白血球, 血漿蛋白, 抗体, 血液型, 輸血, 赤沈
  - ・凝固, 線溶, 血小板, 血管壁
- 心臓
  - ・心筋代謝
  - ・情報伝達機構と自律神経によるイオン電流調節
  - ・固有心筋, 特殊心筋のイオン機序と心臓内興奮伝播
  - ・E-C-coupling (興奮収縮連関)とその調節
  - ・心筋の収縮機序とその調節
  - ・心筋のメカニクス, 心拍出量, スターリングの法則
  - ・冠循環, 心内圧, 静脈還流
- 自律神経
- 循環
- 呼吸
  - ・換気力学, 呼吸運動
  - ・肺循環と肺のガス交換, 血液ガス
  - ・呼吸調節(呼吸中枢, 肺気道反射, 化学受容器)
  - ・肺機能
  - ・呼吸と環境(運動)
- 消化・吸収
  - ・消化
  - ・吸収
- 腎
  - ・糸球体機能, 尿成分
  - ・尿管機能
  - ・腎機能調節, その他
- 体温・エネルギー代謝
  - ・総合
  - ・体温と調節中枢
  - ・発熱
  - ・代謝
  - ・発汗
- 内分泌・生殖
  - ・総論
  - ・神経内分泌
  - ・甲状腺
  - ・インスリンと成長因子
  - ・副腎皮質と髄質
  - ・カルシウム代謝
  - ・生殖

# 米国ジェネラルバルブ社製 画期的電磁弁(ISOLACH)

- ◎節電型：電力をほとんど消費致しません。
- ◎無発熱型：発熱致しませんので熱に依る変質を嫌う流体(分解、重合、結晶化)に最適です。
- ◎接液部：オールテフロン製
- ◎超小型：25mm径×50mm高(12V、24VDC)
- ◎作動：約15ミリsecのシフトパルスに依り動作致します。(電力は必要無)
- ◎シフト：コモンランドを有する2つのコイルに依り切換致します。



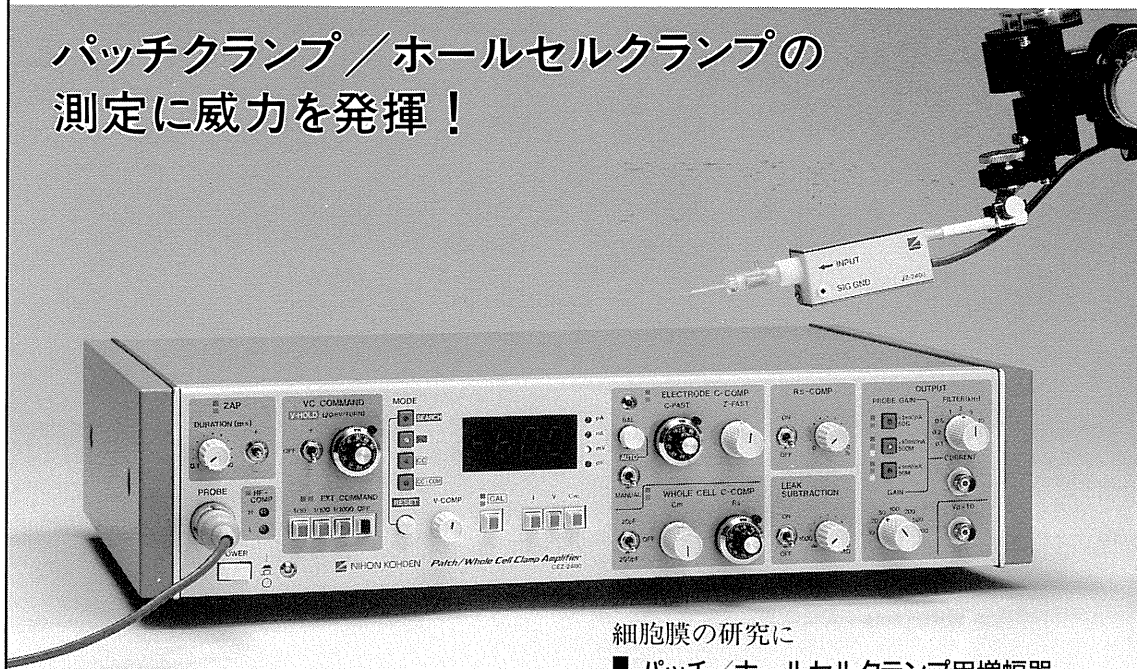
詳細情報及びカタログ等の御必要な方は、今すぐ下記まで御連絡下さい!!

米国ジェネラルバルブ社

日本総代理店 **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 TEL03-3450-6161 FAX03-3450-6110  
名古屋営業所 〒452 名古屋市中区中小田井5-20 犬飼設計ビル506号 TEL052-504-5977 FAX052-504-4603

# 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

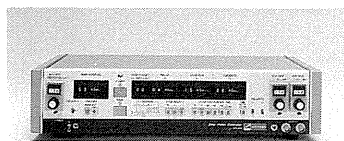
## パッチ/ホールセルクランプ用増幅器 CEZ-2400

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。

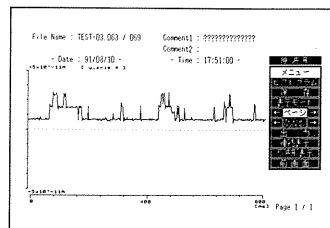
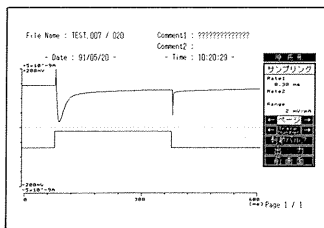
### ステップパルスジェネレータ SET-1201

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

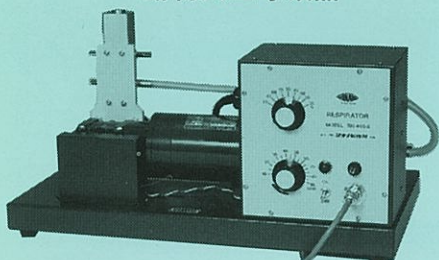
パッチクランプ法及びホールセルクランプ法により測定された微小イオン電流のデータを、パーソナルコンピュータ（PC-98シリーズ）を使用して、保存・解析するためのプログラムです。



# 実験動物飼育用管理器具



## 動物人工呼吸器



SN-480-5

本閉鎖式動物人工呼吸器は、犬、ネコ、ウサギ、モルモット、ラット等の動物に定められた呼吸容量を正確に必らず一度は肺内に送気され換気される様特別設計されています。

従来の開放式の人工呼吸器は、肺内の残存空気量によって気管カニューレのバイパスで送気量の調節をしているため、定められた呼吸容量が正確に肺内に送気されないで、使用中酸素不足になることがあり常に問題になっていましたが、閉鎖式人工呼吸器はその様な問題をすべて解決し安心してご使用できます。

## SN-480

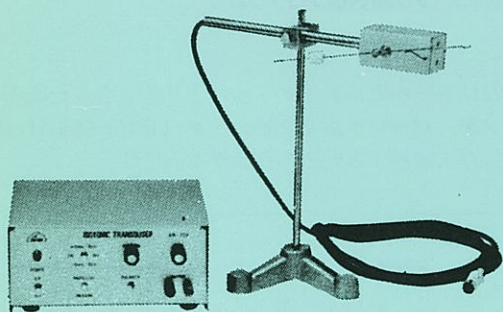
### 《規格表》

規	格	容 量
SN-480~3	犬 用 比率可変	50~750cc
SN-480~4	犬 用 コンスタント	50~750cc
SN-480~5	ネ コ 用 比率可変	10~100cc
SN-480~6	ネ コ 用 コンスタント	10~100cc
SN-480~7	ラット用 コンスタント	0~ 10cc
SN-480~7	ラット用 コンスタント	0~ 30cc
SN-480~7	マウス用 コンスタント	0~ 3cc

東京都文京区本郷1-12-9 株式会社 **シナノ製作所** 電話 (03) 3814-8538 代表

# KN-259 生体用変位計 PAT.P

トランスジューサーと増幅器からなる、微小変位測定装置です。これまでキモグラフィオン・ヘーベルを用いて行なっていた測定を電氣的測定におきかえることにより、取扱いの簡便さ、再現性および信頼性を高めました。



測 定 範 囲 0~50mm (±25mm)  
(中心軸より100mmの時)

分 解 能 無限大

最大摩擦トルク 50mg・cm以下

直 線 性 ±3%

出力インピーダンス 5KΩ以下

校 正 器 10mm  
極性切換スイッチ付

理化学器械・基礎医学器械・実験動物飼育機械器具・薬学研究器械・医科器械一般

〒113 東京都文京区湯島2丁目18番6号  
電話 03(3813)3251 FAX 03(3815)2002  
千里技術開発室(千里ライフサイエンスセンタービル11F)  
〒565 大阪府豊中市新千里東町1-4-2  
電話 06(873)3251 FAX 06(873)2045

株式会社 **夏目製作所**



編集  
兼  
行人

金 子 章 道  
東京都文京区本郷三丁目一〇  
市野ビル(四階)日本生理学会

印刷  
所

山形町  
〒九九七  
平岡印刷株式会社  
〒四一四  
岡田印刷株式会社

発行  
所

日本生理学会  
〒一三三  
東京都文京区本郷三丁目一〇  
市野ビル(四階)

振F電  
A 話  
替X話  
〇〇〇  
〇〇〇  
一三三

定〇五三八  
価〇八五一  
一〇四五一  
八二一一  
千六五六二  
三三二  
円〇九四