機械的変形に応ずる膜チャネル

曾我部 正 博, 野 村 一 央, 成 瀬 恵 治
加 藤 隆 司, 伊 藤 文 雄*

1. はじめに

機械受容変換機構は動物の感覚器に広く知られてきた。内耳の蝸牛や平衡器の有毛細胞が音波や重力を感受したり²¹⁾、皮膚の触・圧・振動受容器²⁴⁾や筋伸長受容器(筋紡錘³⁾・ゴルジ腱器官・関節受容器を含む²⁵⁾)も機械的変形を感受するのに役立っている。心・血管圧受容器は自律神経終末で感受されると考えられている²⁾。同様に、肺泡や気管⁶⁾・腸管³⁷⁾・膀胱・乳腺そして脳脊髄腔を支配している自律神経終末も機械受容に関与して、それらの内圧のフィードバック調節にあずかっているものと考えられている。

これらの神経終末では、機械的変形を電気的信号に変えている。その変換機序として、ピエゾ効果³²⁾や水流とイオン流の相関などが提案^{34), 43)}されたこともあった。1983年になって、イオンチャネルの概念がとり入れられた。電位依存性イオンチャネルが機械的変形を受けて表面荷電を変える¹³⁾とか、膜の変形で Ca^{2+} や Mg^{2+} あるいは伝達物質を遊離するなどの説も出された。そして最後に、機械受容チャネルがあるという考えに終着した⁸⁾。

2. 種々の機械受容チャネル

Hamil¹⁸⁾はカエルの赤血球で、GuharayとSachs^{14), 15)}はニワトリの培養筋細胞で、機械受容チャネル(stretch activated channel; SAチャネル)を発見した。これはSakmannとNeherによって開発されたパッチクランプ法を使って、膜に機械的刺激を与えながら単一チャネルの応答が調べられるようになったためである。表1は、最近の報告から種々の細胞膜上の機械受容チャネルを比較したものである。植物細胞(培養タバコ細胞)、大腸菌、ミトコンドリ

ア内膜には、100~970 pSの大きなコンダクタンスをもつSAチャネルがあり、Cl⁻に対して比較的選択透過性が高い。

大腸菌には外・内膜があり、外膜には比較的大きな穴が開いているから、それにパッチクランプをかけているためにコンダクタンスが大きくみえるのであって、それは本当のチャネルではないとする意見もある。しかし、菌体の分裂中にcephalexin(ペニシリンの1種)で中隔形成を抑え、細菌の長いフィラメントを作る(snakeと呼ぶ)。それをlysozymeで処理して細胞膜(内膜)を消化し、直径5~10 μm の球形にして実験している。したがって、外膜のパッチクランプをしている可能性は少ないように思える。

これらは細胞質の浸透圧調節(体容積の調節)に意義がある。それらのチャネルはslow kineticsを示し、秒のオーダーで開き放しである(図1 AとB)。血管内皮細胞やサンショウウオの上皮細胞も40~200 pSのコンダクタンスのSAチャネルが観察されており、 Ca^{2+} に対して選択的に透過性がある。その他の大部分のSAチャネル(アフリカツメガエルの卵母細胞からヒヨコの内耳有毛細胞まで)は30~50 pSで K^{+} に高い透過性を示す。それらはfast kineticsを示し、10 msのオーダーで開閉する(図1 C)。

トリ培養筋細胞のSAチャネルのコンダクタンスは、その細胞膜上のニコチン作働性アセチルコリンチャネルのそれ(約50 pS¹¹⁾)に似ているから、その一部がSAチャネルとして働いている可能性も考えられる。しかし α -bungarotoxin 2 $\mu\text{g/ml}$ でアセチルコリンチャネルを遮断してもSAチャネルの活性には変わらないし、高濃度のアセチルコリンで脱感作させてもSAチャネルは正常に働き、逆転電位も

* Masahiro SOKABE, Kazuo NOMURA, Keiji NARUSE, Takashi KATO & Fumio ITO,
名古屋大学医学部生理学第二講座(〒466 名古屋市昭和区鶴舞町65)

表1 種々の細胞にあるSAチャネル

	コンダクタンス (pS)	逆転電位 (mV)	イオン選択性	有効圧変化 (mmHg)	機 能 (遮断剤)	文 献
大 腸 菌	650~970 (脱)(過分極)		陰イオン≫陽イオン	100	浸透圧調節 浸透圧走性	30
イ ー ス ト			K^+ $P_{Cs^+}/P_{Cl^-} > 40$	10~20	浸透圧調節	17
培養タバコ細胞	100 (0 mVで)		$P_{Cl^-}/P_{K^+} = 9.5$			9
モノアラガイ 心 細 胞	30		$P_{K^+}/P_{Na^+} = 14$		容積の調節	40
モノアラガイ 神 經 細 胞	32	-60	K^+	40	(キニジン)	39
サンショウウオ 上 皮 細 胞	200		Ca^{2+}	10	容積の調節	5
カエルのレンズ 上 皮 細 胞	50		$K^+ \geq Rb^+ > Cs^+ > Na^+ > Li^+$	30		7
カエルの赤血球	38~50	0	K^+			18, 19
アフリカツメガ エル卵母細胞	28	-10	K^+	$\geq 5 \text{ m bar}$		31
アフリカツメガ エル筋細胞	50	-5	K^+ (Na^+)		Ach受容器と同じ (α -ブンガロトキシン)	4
カエル蝸牛 有 毛 細 胞	50		K^+	纖毛の6° の傾き	聴覚受容	21
トリ培養筋細胞	35~70	-30	$P_{K^+}/P_{Na^+} = 4$	10~50		14~16
ヒヨコ内耳 有 毛 細 胞	50	-12~-20	K^+ $P_{Ca^{2+}}/P_{K^+} = 4$		平衡覚受容	33
マウスのミトコ ンドリア内膜	107	-22	$P_{Cl^-}/P_{K^+} = 4.5$		体積の調節	41
ラット脊髄後角 神 經 節 細 胞	50		$K^+ \sim NH_4^+ > Cs^+ > Na^+ > Li^+$			44
新生ブタ血管 内 皮 細 胞	40	+8	$P_{Ca^{2+}}/P_{Na^+} = 6$	5~12	血管拡張に対する調節	29

図1 大腸菌(AとB)およびトリ骨格筋培養細胞(C)のSAチャネルの活動記録の模写 巨大大腸菌のパッチクランプ実験で、膜電位差が -30 mV の場合より $+40\text{ mV}$ のときの方が多数のチャネルが開く。Cでは吸引圧を高めるにつれて開く確率が高まることを示す。A・BとCとでは開閉の時間経過が約100倍も違うことに注意してほしい。AとBは文献30より、またCは文献36より模写した。Dは圧に対してSAチャネルの開く確率がS字状に高まることを示す(文献40から模写)。

両種のチャネルで別であった。そこで、別種のチャネルであると信じられている。

3. SAチャネルの一般的特性

一般に、SAチャネルの密度は $1\sim10/\mu\text{m}^2$ (トリ

培養筋細胞³⁶⁾)から $100/\mu\text{m}^2$ (軟体動物心筋³⁹⁾)とされている。カエル有髄神経ランピア絞輪部の Na^+ チャネルが $1,200/\mu\text{m}^2$ ³⁵⁾~ $3,000/\mu\text{m}^2$ ²⁰⁾であるのと較べて、極めて低密度である。そこで、パッチ電極の先端も直径 $2\mu\text{m}$ 程度の太いものを使わないと

図2 種々のイオン環境下でのSAチャネルの電流-電圧関係(A)と、そのチャネルの開時間(B)と2つの閉時間(CとD)の分布 A図中の表示の分子は細胞外イオン濃度、分母は細胞内イオン濃度である。Eでは与えた陰圧の2乗の関数としてチャネルkineticsの4状態の速度定数を示す。 K_{12} の速度定数だけが $0.12/\text{cm}^2 \text{Hg}$ の比率で与えた陰圧の2乗に指数関数的に増大した。即ち $8.4 \text{ cm}^2 \text{Hg}$ の陰圧で K_{12} の速度はe倍大きくなる。(文献36より模写)

図3 直径dのパッチ電極(P)に吸引された細胞膜(M)の1個のSAチャネル(C)の模式図 そのチャネルの半径は r_c チャネルに連結している細胞骨格(破線)と連結していない細胞骨格(実線のS)とが推察されている。

記録しにくい。Cell attached patch か inside-out patch では吸引(陰圧)で, outside-out patch では陽圧で応答する³⁶⁾。細胞の膨張に応答することがわかる。

図1Dは, モノアラガイ心筋細胞のSAチャネルが圧依存性に開確率を高めていることを示している。この圧依存性は, 膜電位によって変化する。トリ培養筋細胞では, 膜電位を0から -160 mV まで変えると, 外液 150 mM Na^+ , 内液 150 mM K^+ の状態, コンダクタンスは 35 pS であり, -30 mV に逆転電位があった(図2A)。Goldman-Hodgkin-Katzの式から, P_K/P_{Na} は4であることになる。内・外液ともに 150 mM K^+ のとき, コンダクタンスは 70 pS で, 逆転電位が 0 mV であるから P_K/P_{Na} は2になる。内・外両液ともに Cs^+ か Na^+ の場合には 35 pS のコンダクタンスで, 逆転電位は 0 mV であった(図2A)。

図2Bに示すように, 開時間ヒストグラムは単一な指数関数であるが, 閉時間ヒストグラムは3段の指数関数を含んでいる。そこでSAチャネルのkineticsモデルでは, 少なくとも1つの開状態と3つの閉状態があることになる。

ここで C_{1-3} は閉状態を, O は開状態を示す。この K_{12} は最も遅い閉時間の指数曲線から得られる速度定数である。この K_{12} だけが圧力と膜電位に対して敏感であって, $\text{pH } 7.4$ ではそれぞれ 7.23 cm Hg/e (陰圧方向で上昇), 45 mV/e (過分極方向で減少)の割合で変化する。アフリカツメガエル筋細胞でも3つの閉状態と1つの開状態がある⁴⁾。

モノアラガイ心室細胞にあるSAチャネルは, 2つの開状態と3つの閉状態が予測されている³⁹⁾。それは K^+ に選択的透過性を示し, $0 \sim 35\text{ mm Hg}$ の圧に対して開く確率は非線形関数である。この範囲で閉時間の分布の平均時間は圧依存性に短くなる。開く確率も増大している。チャネルの活動特性は, 3.6 ms の平均時間でバースト状に現れる。そのバースト期間の78%の間, チャネルは開いている。要するに, 伸長に敏感なkinetics要素はバーストとバーストの間の閉状態にある。

Eyringのエネルギー障壁の機序を考えると, K_{12} は1つのエネルギー障壁を越えることを示している。実際に, その反対方向の速度 K_{21} は圧を変えても変わらない(図2E)。そこで圧の効果は C_1 の自由エネルギーレベルを高めていて, その障壁の高さを変えているのではない。膜の伸長に対する K_{12} の感度は, 平均の熱エネルギー($kT = 0.025\text{ eV}$)に対する機械的変形によりもたらされる自由エネルギーの比

図4 ヒヨコ内耳有毛細胞(A)とカエル筋紡錘神経終末(B)の構造と脱分極中の膜電位振動現象(それぞれ下の図) SAチャンネルは黒四角で示してある。矢印で Ca^{2+} , K^+ , Na^+ の動きを示した。B図のMは錘内筋線維。Sは髄鞘。

で考えると便利である。これから感度を予測する1つの模型が考えられる。

4. SAチャンネル模型

どれほどのエネルギーがSAチャンネルを開閉(ゲート)するのに必要であろうか。Sachsは図3のような円筒でSAチャンネルを表した。膜張力はその円筒の直径を拡げる。その仕事(エネルギー)の一部

が、チャンネルをゲートするのに使われると考える。フックの法則で解析すると、膜の伸展による面積の増大 (ΔA) は、その膜の粘性に対する張力に比例する。

$$T = K_A \frac{\Delta A}{A} \quad (1)$$

ここで、 T は張力 (dyne/cm)、 A は面積 (cm²)、 K_A はその膜の弾性 (dyne/cm) である。小さな変形 ($\Delta A/A \ll 1$) では、その変形から派生するエネルギーは、

$$\Delta G = \int_0^{\Delta A} dG = \int_0^{\Delta A} T d(\Delta A) = \int_0^{\Delta A} K_A \frac{\Delta A}{A} d(\Delta A)$$

($\Delta A/A \ll 1$ であるから)

$$\begin{aligned} &= \frac{K_A}{A} \int_0^{\Delta A} \Delta A d(\Delta A) \\ &= \frac{K_A}{2A} (\Delta A)^2 = \left(\frac{A}{2K_A} \right) T^2 \quad (2) \end{aligned}$$

と表される。ここで考えている面積 A は πr^2 で (r は図3の円筒の半径)、チャンネル分子の表面積に相当する。

パッチ (電極の先端) が半球状のものと推定すると (Sakmann & Neher³⁷⁾ により肯定)、Laplace の法則より、

$$T = Pd/4 \quad (3)$$

ここで、 P は膜を介する圧 (dyne/cm²)、 d はパッチの直径である。そのパッチの直径は $1 \sim 4 \mu\text{m}$ で、普通は $2 \mu\text{m}$ のものをよく使う。10mmHgの圧 (1.3×10^4 dyne/cm²) で $2 \mu\text{m}$ の直径のパッチには、0.67 dyne/cmの張力がかかることになる。

3式と2式および絶対反応速度論から、速度定数の式は次のようになる。

$$\begin{aligned} k_{12} &= k_0 e^{QP^2} \\ Q &= d^2 A / (32 K_A kT) \quad (4) \end{aligned}$$

ここで、 k_0 は k_{12} の0圧値であり、 kT は Boltmann の定数に絶対温度を乗じた値 (20℃では、 $kT = 4.04 \times 10^{-14}$ dyne · cm) になる。

4式から、その速度定数は与えた圧の2乗の指数関数になることがわかる。Scaling定数 Q は、その感

度に相当する。実験的に得られた最大感度 $Q = 4.36$ /cmHgと、パッチの直径 $2 \mu\text{m}$ を用い、またエネルギーの一部しかゲーティングに使われないとすれば、 r^2/K_A (r はÅ、 K_A はdyne/cm)は少なくとも 2.5×10^3 以上になる。

K_A は赤血球細胞で約250 dyne/cm¹²⁾である。大部分の生物脂質膜は、もっと弾性があるから100 dyne/cm前後と推察される。チャンネル蛋白の K_A は膜のそれよりもかなり大きいはずで、コラーゲンや絹の K_A から推定した100Å厚の膜蛋白の K_A は、およそ 10^4 dyne/cmと見積もられる。この値を用いてSAチャンネルで観察される感度を説明するには、図3のモデルにおいて、半径 (r) が5,000 Å以上の円筒でなければならない。この値は、既に推定されているチャンネル蛋白の半径 (たとえば、ニコチン性アセチルコリンリセプターで約50 Å) に比べて、いかにも大きすぎる。なにか他の方法で、広い面積からのエネルギーを集めているにちがいない。

そこで考えられるのは、円筒が細い紐で引っ張られている可能性である。細胞骨格がSAチャンネルと結びついて、裏打ち構造をつくっている可能性は充分考えられる。cytochalasin A, BまたはEをSAチャンネルに与えると、その結合が切れて感度が低下すると予想した。しかし実際には、感度は上がった。それはむしろ、細胞骨格がチャンネルとは並列にあって、それが切断されると膜の K_A が低下するので、SAチャンネルが開き易くなったと考えられる。

細胞外pHを7~10の範囲で変えても、SAチャンネルのコンダクタンスや逆転電位は変わらない。しかし圧力依存性や電位依存性は変化し、そのpK値はともに約9.1であった。このことは、SAチャンネルのN末端アミノ酸またはリジンのいずれかの単一の残基が、電圧受容と圧受容の両者に関与していることを示唆している。そのpHの効果は、つぎのように要約できる。

$$\begin{aligned} k_{12} &= k_{012} \exp [\alpha (\text{pH}) V_m + Q (\text{pH}) P^2] \\ \alpha (\text{pH}) &= 0.010 + 0.018 / [1 + 10^{(9.1 - \text{pH})}] \\ Q (\text{pH}) &= 0.66 + 0.47 / [1 + 10^{(9.1 - \text{pH})}] \\ k_{012} &= 33/\text{sec} \end{aligned}$$

ここで V_m は膜電位、 k_{012} は膜電位と圧に独立な要素を表す。 k_{012} が pH に依存しないことは、pH 7~10の範囲で有意な表面荷電の変化がないことを意味している。なぜなら表面荷電の変化は、 k_{12} の電圧

感度を変えないが、 k_{12} —電圧曲線を電圧軸にそってシフトさせ、 k_{012} を変化させるからである。

5. SA チャネル活性化後の細胞機能

培養タバコ細胞、大腸菌、ミトコンドリア内膜では、 Cl^- に選択透過性をもつSAチャネルがあった。これらが活性化されれば、膜電位は過分極する。血管内皮細胞やサンショウウオの上皮細胞のSAチャネルで Ca^{2+} 選択透過性である以外は、大部分のSAチャネルが K^+ に透過性が高い。それらのSAチャネルが活性化しても、膜電位は過分極する。ニューロンでは興奮性が抑制される。これらの過分極電位変化を受容器電位とすれば、その刺激—応答様式は網膜の光受容細胞のそれに似ていることになる。

これらのイオンの流入・流出のバランスによって浸透圧を調節し、細胞体の容積を制御するのがSAチャネルの主目的かもしれない。しかし細胞内イオン濃度の変化は、second messengerを活性化して細胞内代謝系やその他の機能に大きな影響を及ぼすであろう。SAチャネルの働きの最終目標が、そこにある可能性も今後考えねばなるまい。たとえば、筋紡錘の囊細胞は、化学的・機械的バリアとしか従来は考えられていなかった。しかし、そこにあるSAチャネルが伸長度に応じて活性化され、その結果流入したイオンで代謝系が修飾されることも予測される。その囊細胞から遊離する栄養因子が、感覚神経終末のSAチャネル(伸長受容変換チャネル)の密度や分布を制御するという仮説は検討するに値する。

内耳有毛細胞も K^+ 透過性の高いSAチャネルをもっているが、この場合はチャネルが開くことによって、脱分極性の受容器電位が生じる。そのチャネルの外液(中央階の内リンパ液)は、 K^+ の濃度が約120 mMと高い。血管条の内リンパ液面の膜には、細胞外(内リンパ液側)が+80 mVの電位差がある(図4 A)。有毛細胞の基底膜面は通常の細胞外液に接し、普通の膜電位(約60 mV)がある。そこで繊毛部のSAチャネルが開くと、140 mVのドライビングフォースによって受容器電位ができる。内耳では、音波に同期した蝸牛電位として記録される。

基底側の膜には、電位依存性 Ca^{2+} チャネル、 Ca^{2+} activated K^+ チャネルとA電流をおこす K^+ チャネルがある。受容器電位により電位依存性 Ca^{2+} チャネルが活性化されて、 Ca^{2+} が細胞内に流入する。その Ca^{2+} は伝達物質の遊離に働くとともに、 Ca^{2+} activated K^+ チャネルを活性化して減衰振動様の電位

を発生する。その頻度は音の周波数に同調して、符号化機序に大きく寄与している^{22), 23)}。

筋紡錘感覚神経終末でも、電位依存性 Ca^{2+} チャネル、 Ca^{2+} activated K^+ チャネルやその他の K^+ チャネルが存在することを、我々は既に報告している^{26) - 28)}。そこでは伝達物質の遊離には関係ないが、電位依存性 Ca^{2+} チャネルは感覚神経終末(直径0.1 μm 、長さ100 μm 以上)のSAチャネルでおきた受容器電位(脱分極性)に応じて Ca^{2+} の流入をきたし、受容器電位の振幅を増幅するとともに、 Ca^{2+} activated K^+ チャネルを活性化して、神経終末部の膜電位振動をおこす²⁷⁾(図4 B)。その振動が閾値を越すごとに求心性放電がおきる。このSAチャネルの活性化に続いてcyclic nucleotideが関与して、符号化機序への細胞内シグナル伝達に役割を果たしている可能性が、最近の我々の研究で示された^{11), 41)}。おそらく他の種々の細胞にあるSAチャネルの活動も、これらのsecond messengerを介して、いろいろな細胞機能に影響を及ぼしているものと推察される。

6. おわりに

最近、急にSAチャネルの研究報告が増えた。原核細胞からニューロンまで、各細胞自体の容積を調節するための装置が備わっていても不思議でない。それ以上に、血管内皮細胞などでは血圧調節に関与しているかもしれないし、second messengerによって更に広範囲の機能にかかわっている可能性すら考えられる。

文 献

- 1) Auerbach, A. & Sachs, F.: Biophys. J., 45, 187-198 (1984)
- 2) Bishop, V. S., Mallioni, A. & Thoren, P.: Handbook of Physiology, section 2, III/2, eds. J. T. Shepherd, F. M. Abboud & S. R. Geiger, Amer. Physiol. Soc., Bethesda, M. D. pp497-555 (1983)
- 3) Boyd, I. A. & Rosenberg, J.: The Muscle Spindle, eds. I. A. Boyd & M. H. Gladden, Macmillan Press, London, pp327-352 (1985)
- 4) Brehm, P., Kullberg, R. & Moody-Corbett, F.: J. Physiol., 350, 631-648 (1984)
- 5) Christensen, O.: Nature, 330, 66-68 (1987)
- 6) Coleridge, H. M. & Coleridge, J. C. G.: Hand-

- book of Physiology, Section 3, II/1, eds. A. P. Fishman, N. S. Cherniack, J. G. Widdicome & S. R. Geiger, Amer. Physiol. Soc. Bethesda, M. D., pp 395-447 (1986)
- 7) Cooper, K. E., Tang, J. M., Rae, J. L. & Eisenberg, R. S.: *Biophys. J.*, 49, 6a (1986)
- 8) Corey, D. & Hudspeth, A. J.: *J. Neurosci.*, 3, 962-976 (1983)
- 9) Falke, L., Edwards, K. L., Pickard, B. G. & Misler, S.: *Biophys. J.*, 51, 251a (1987)
- 10) Edward, C.: *The Physiology of Excitable Cells*, eds. A. D. Grinnel & W. J. Moody, Alan R. Liss, New York pp 497-503 (1983)
- 11) Evans, E. A. & Hochmuth, R. M.: *Current Topics in Membrane Transport*, eds. F. Bronner & A. Kleinzeller, Academic Press, New York, pp 1-64 (1973)
- 12) Fujitsuka, N., Kori, A. A., Sokabe, M. & Ito, F.: *Brain Research*, 443, 243-253 (1988)
- 13) Gross, D., Williams, W. S. & Connor, J. A.: *Cell. Mol. Neurobiol.*, 3, 89-111 (1983)
- 14) Guharay, F. & Sachs, F.: *J. Physiol.*, 352, 685-701 (1984)
- 15) Guharay, F. & Sachs, F.: *J. Physiol.*, 363, 119-134 (1985)
- 16) Guharay, F. & Sachs, F.: *Biophys. J.*, 47, 2039 (1985)
- 17) Gustin, M. C., Zhon, X. L., Martinac, B., Culbertson, M. R. & Kung, C.: *Biophys. J.*, 51, 251a (1987)
- 18) Hamill, O. P.: *Single Channel Recording*, eds. B. Sakmann & E. Neher, Plenum, New York, pp 451-471 (1983)
- 19) Hamill, O. P., Marty, A., Neher, E., Sakmann, B. & Sigworth, F. J.: *Pflügers Arch.*, 391, 85-100 (1981)
- 20) Hille, B.: *Ionic Channels of Excitable Membranes*, Town, MA., Sinauer Assoc. Inc. (1984)
- 21) Hudspeth, A. J.: *Ann. Rev. Neurosci.* 6, 187-215 (1983)
- 22) Hudspeth, A. J. & Lewis, R. S.: *J. Physiol.*, 400, 237-274 (1988)
- 23) Hudspeth, A. J. & Lewis, R. S.: *J. Physiol.*, 400, 275-297 (1988)
- 24) Iggo, A. & Andres, K. H.: *Ann. Rev. Neurosci.*, 5, 1-31 (1982)
- 25) 伊藤文雄: *筋感覚の科学*。名古屋大学出版会, 名古屋 (1985)
- 26) Ito, F. & Komatsu, Y.: *Brain Research*, 175, 160-164 (1979)
- 27) Ito, F., Komatsu, Y. & Fujitsuka, N.: *Brain Research*, 252, 39-50 (1982)
- 28) Ito, F., Fujitsuka, N. & Fan, X. L.: *Brain Research*, 326, 107-116 (1985)
- 29) Lansman, J. B., Hallam, T. J. & Rink, T. J.: *Nature*, 325, 811-813 (1987)
- 30) Martinac, B., Buechner, M., Delcour, A. H., Adler, J. & King, C.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84, 2297-2301 (1987)
- 31) Methfessel, C., Witzemann, V., Takahashi, T., Mishima, M., Numa, S. & Sakmann, B.: *Pflügers Arch.*, 407, 577-588 (1986)
- 32) Naftalin, L.: *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 30, 169-180 (1965)
- 33) Ohmori, H.: *J. Physiol.*, 350, 561-581 (1984)
- 34) O'Leary, D. P.: *Biophys. J.*, 10, 859-875 (1970)
- 35) Rosenbluth, J.: *J. Neurocyto.*, 5, 731-745 (1976)
- 36) Sachs, F.: *Memb. Biochem.*, 6, 173-195 (1986)
- 37) Sakmann, B. & Neher, E.: *Single-channel Recording*, eds. B. Sakmann & E. Neher, Plenum Press, New York, pp 37-51 (1985)
- 38) Sharma, K. N.: *Handbook of Physiology, Section 6, 1.* ed. C. F. Code, Amer. Physiol. Soc. Bethesda, pp 225-237 (1967)
- 39) Sigurdson, W. J., Bedard, E. & Morris, C. E.: *Biophys. J.*, 51, 50a (1987)
- 40) Sigurdson, W. J., Morris, C. E., Brezden, B. L. & Gardner, D. R.: *J. exp. Biol.*, 127, 191-209 (1987)
- 41) Sokabe, M., Fujitsuka, N., Kori, A. A. & Ito, F.: *Brain Research*, 443, 254-260 (1988)
- 42) Sorgato, M. C., Keller, B. U. & Stühmer, W.: *Nature*, 330, 498-500 (1987)
- 43) Theorell, T.: *Principles of Receptor Physiology*, ed. W. R. Loewenstein, Springer-Verlag, New York, pp 291-339 (1971)
- 44) Yang, X. C., Guharay, F. & Sachs, F.: *Biophys. J.*, 49, 373a (1986)