●特集：人工膜と生体膜の接点をさぐる

電位依存性 Na^+ チャネルの生理機能と構造

上 坂 伸 宏

日本医科大学 第一生理学教室 ☎ 113 文京区千駄木 1-1-5

Cellular and Molecular Physiology of Voltage-Gated Sodium Channels

Nobuhiro Uyesaka M. D.

Department of Physiology, Nippon Medical School
Sendagi 1-1-5, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan

The voltage-gated sodium channels are responsible for the generation of conducted electrical signals in neurons and other excitable cells. The biphasic behavior of sodium permeability is described in terms of two experimentally separable gating processes that controls sodium channel functions, i.e., voltage-dependent activation and inactivation. The ion conductance of the activated sodium channels is both highly selective and remarkably efficient. Purification, molecular cloning and determination of the primary structure of the principal subunits of sodium channels has provided a molecular template for probing the relationships between structure and functions. Thus, this article reviewed the current status of research on the molecular basis of the three major elements of voltage-gated sodium channel functions, that is, voltage-dependent activation, sodium conductance and inactivation. Also, to enter the realm of the molecular physiology of the sodium channels, this article contains a brief, classical description of the channels.

Key words : sodium channels, gating, activation, inactivation, structure

---

1. はじめに

電位依存性 Na^+ チャネルの生理機能について、チャネルタンパクの構造も考慮して簡単に紹介する。はじめにお断りせねばならぬことは、著者はいわゆるイオンチャネルの専門家ではないということである。「人工膜と生体膜の接点をさぐる」というシンポジウムの主旨に沿って、専門家でない人にもわかりやすい紹介をということで、お鉢

がまわってきたものと理解している。電位依存性 Na^+ チャネルの研究は日進月歩であり、次々と新しい報告がなされているが、上述の主旨に基づいて、評価の定まった概念および実験結果について紹介する。本稿は Hille の著書¹⁾、Catterall^{2, 3)} と Armstrong^{4, 5)} の総説に多くを負っている。詳細はそれらを参照されたい。

Fig. 1. 興奮性膜の電気的特性

A: 活動電位と, Na^+ チャネルと K^+ チャネルの開放率 [Hodgkin and Huxley⁷⁾ を Hille が改変した図¹⁾ を引用]
 B: 膜電位固定法によるイオン電流の測定 [Hodgkin and Huxley⁸⁾ を引用]

2. 電位依存性イオンチャネルに関する生理学的予備知識^{1, 6)}

神経や筋の細胞のように刺激によって活動電位を発生する細胞を興奮性細胞という。それらの細胞膜に存在する Na^+ , K^+ -ATPase の働きによって、細胞外液には Na^+ が多く、細胞内液には K^+ が多い。静止状態では、膜の K^+ に対する透過性は Na^+ に対するそれに比べてはるかに高く、静止電位は、 K^+ の膜を介しての電氣的ポテンシャルと化学的ポテンシャルが平衡に達したときの電位、すなわち、 K^+ 平衡電位 E_K にほぼ一致する。 E_K およびその代表的な値は、

$$E_K = -\frac{RT}{F} \ln \frac{[\text{K}]_i}{[\text{K}]_o} \simeq -70 \text{ mV}$$

である。R は気体定数、T は絶対温度、F はファラデー定数で i と o は細胞内と外を示す。式から自明のごとく、 E_K は細胞により異なる。静止状態では Na^+ の透過性は極めて低い、ゼロではない。また、 Cl^- もかなり透過する。従って、膜電位は、P を透過係数として、以下の Goldman (Goldman-Hodgkin-Katz) の式で与えられる。

$$E = -\frac{RT}{F} \ln \frac{P_K[\text{K}]_i + P_{\text{Na}}[\text{Na}]_i + P_{\text{Cl}}[\text{Cl}]_o}{P_K[\text{K}]_o + P_{\text{Na}}[\text{Na}]_o + P_{\text{Cl}}[\text{Cl}]_i}$$

例えば、カエルの骨格筋細胞では、 $P_K : P_{\text{Na}} : P_{\text{Cl}} = 1 : 0.04 : 0.2$ である。膜電位は基準電極を細胞外に置き、微小電極を細胞内に刺入して記録するので負の電位であり、普通、 $-40 \sim -100 \text{ mV}$ の値を示す。細胞膜を横切って外向きに電流が流れる方向（脱分極をおこす方向）に通電すると、脱分極がある閾値に達するとそれ以後は脱分極が急速かつ自動的に進行、膜電位は正となり、ピークに達した後電位は下降に転じ（再分極し）、一定の時間で静止電位にもどる。すなわち、活動電位の発生をみる (Fig. 1 A)。活動電位の持続時間は神経細胞では数 msec である。静止膜は Na^+ をほとんど通さないが、脱分極すると Na^+ に対する透過性が増し、 Na^+ が細胞内に流入、それがさらに脱分極を促進し、脱分極が急速に進む。従って、活動電位のピークは、 Na^+ 平衡電位 E_{Na} 、すなわち、

$$E_{\text{Na}} = -\frac{RT}{F} \ln \frac{[\text{Na}]_i}{[\text{Na}]_o} \simeq 60 \text{ mV}$$

に近い値となる。活動電位の再分極相では、 Na^+ 透過の不活性化がおこり、一方で K^+ に対する透

Fig. 2. Na⁺ チャネルのイオン選択性

TEA 存在下に於ける膜電位固定法によるイオン電流の測定より得たピーク電流と膜電位の関係. 細胞外液を Sodium イオン (Na⁺) の他に, TMA (tetramethylammonium), ammonium (NH₄⁺), guanidinium イオンに置換した時の結果を示す [Hille^{10, 11}) を Hille が再編した図¹⁾を引用]

過性は増して K⁺ の流出 (外向き電流) が始まり, Na⁺ の内向き電流の効果を打消して電位は下向, 静止電位に戻る (Fig. 1 A)⁷⁾.

膜電流 I は容量分で流れる容量電流 I_c とイオンによって運ばれるイオン電流 I_i の 2 成分からなる. C_m を膜の容量として, I は,

$$I = I_c + I_i = C_m \frac{dE}{dt} + I_i$$

と表せる. 膜電位一定の条件 (dE/dt=0) 下で電流を測定すれば, イオン電流を得る. フィードバック回路を用いて膜に流す電流を自動的に調節し, 膜電位を任意に保持する方法 (膜電位固定法) の確立によって, イオン電流の測定が可能となった. 静止電位と E_{Na} の中間の脱分極では, 電流は最初内向きに流れ次いで外向きに流れるが, 脱分極が大きくなると, 内向き電流は小さく, 外向き電流は大きくなる. 脱分極が E_{Na} を越えると外向き電流のみとなる. また, 細胞外液を Na⁺-free にすると, 外向き電流のみとなり, 内向き電流はみられない (Fig. 1 B). 従って, 最初の内向き電流は Na⁺ チャネルへの Na⁺ の流入に, 遅れて現れる外向き電流は K⁺ チャネルからの流出によって生じたと考えられる⁸⁾. その後, Na⁺ チャネルを特異的にブロックする tetrodotoxin (TTX) を

作用させると外向きの K⁺ 電流しかみられず, K⁺ チャネルをブロックする tetraethylammonium (TEA) を作用させると Na⁺ 電流しかみられないことも判明した⁹⁾. このようにして, 電位依存性 Na⁺ チャネルと K⁺ チャネルの存在が次第に明らかにされていった⁶⁾.

3. 電位依存性 Na⁺ チャネルの選択性

Fig. 2 に, TEA 存在下 (K⁺ チャネルはブロックされる) で, カエル神経細胞の外液を NH₄⁺, tetramethylammonium (TMA), guanidinium イオンに置換し, 電流測定を行って得たピーク電流と膜電位の関係を示す. 対照の Na⁺ 溶液中では, 多くの電位で大きな内向き電流 (Fig. 2 のマイナス電流) がみられ, E_{Na} 以上の電位では小さな外向き電流 (Fig. 2 のプラス電流) がみられた. Na⁺ チャネルを透過出来ない TMA の置換では, 内向き電流は全く見られず, 外向き電流のみを認めた. 一方, NH₄⁺ などでは, 小さいながらも明確に内向き電流の存在を認めた (Fig. 2). 同じ実験で TTX (Na⁺ チャネルをブロックする) を用いるとこれらの電流は消失した. 従って, NH₄⁺ などでは, 透過性は低い, Na⁺ チャネルを透過し得ることが判明した^{10, 11)}.

Fig. 3. Na⁺ チャネルの α および β_1 サブユニットの一次構造

太いループ状の線はポリペプチド鎖を、円筒 (1~6 : S1~S6 セグメント) は膜貫通性の α ヘリックスを表わす。 α サブユニットは、6つの膜貫通性セグメント (S1~S6) からなる4つのドメイン (I~IV) によって構成される。TTX (Tetrodotoxin) の結合部位は、各ドメインのS6セグメントに連なる短いセグメント (SS2) にあり、⊖はドメインI~IVの負電荷のアミノ酸残基、⊕はIIIの正電荷のそれ (Lys 1422)、○はIVの中性のそれ (Ala 1714) を表わす。SS2のある膜内ループの対側部分の短いセグメントをSS1といい、合わせてSS1-SS2領域という。①は不活性化に関与する部位、ScTX はサソリ毒結合部位、 ϕ はグルコシル化部位、②はサイクリック AMP 依存性リン酸化部位、③はC-キナーゼによるリン酸化部位を示す [Catterall²⁾ を一部改変して引用]

電流がゼロの時の膜電位をゼロ電流電位または反転 (reversal) 電位という。膜外のイオン A⁺ と膜内のイオン α + が同一の電荷 (Z) をもち、他に膜を透過するイオンがないとすると、反転電位 E_r は、

$$E_r = -\frac{RT}{ZF} \ln \frac{P_A[A]_o}{P_\alpha[\alpha]_i}$$

で与えられる。従って、外液に A⁺ が存在した時の反転電位 $E_{r,A}$ と外液に B⁺ が存在した時のそれ $E_{r,B}$ が既値であれば、

$$E_{r,B} - E_{r,A} = \frac{RT}{ZF} \ln \frac{P_B[B]_o}{P_A[A]_o}$$

より、 P_B/P_A が求まる。例えば、Fig. 2 では、110 mM の Na⁺ と NH₄⁺ で、 E_r は各々 +58, +14 mV であり、 $P_{NH_4}/P_{Na} = 0.16$ となる。このようにして、電気生理学的には電位依存性イオンチャ

ネルの選択透過性を調べ得る。代表的な1価陽イオンの Na⁺ チャネルの透過性は、Na⁺ $\approx$ Li⁺ > K⁺ > Rb⁺ > Cs⁺ であり、 $P_K/P_{Na} = 1/12$ である¹⁾。

4. チャネルタンパクの分離同定とパッチクランプ法の登場

イオンチャネルの研究を大きく前進させた要因の一つは、チャネルタンパクの分離精製とその分子遺伝学的研究成果にある (詳細は高桑 総説、本号 386 頁を参照)。Na⁺ チャネルのタンパクは、 α , β_1 , β_2 のサブユニットから成り、特に α サブユニットは生理機能発現に重要な役割を果たしている。 α サブユニットは、6つの膜貫通性の α ヘリックス (S1-S6 セグメント) で形成される4つのドメイン (I-IV) によって構成されている (Fig. 3)。ちなみに、電位依存性の Ca²⁺ チャネルおよび K⁺ チャネルも同様の構造を持つことは

Fig. 4. パッチクランプ法

A: 測定法の概要. FAB はフィードバック増幅器を表す.

B: パッチクランプ法の代表的な実験モード[Hille¹⁾を引用]

C: 単一チャネル電流. ラット脳より分離精製した Na^+ チャネルをリン脂質に組込んだ再構成膜による実験 [Catterall²⁾を引用]

良く知られている¹⁾. チャネルの孔 (transmembrane pore) は, 6つのヘリックスから成る4つのドメインによって形成されるが, S5ヘリックスとS6ヘリックスの間にある短いノンヘリカルセグメント(SS1およびSS2)も孔の形成に寄与している. このSS1-SS2領域(ときにP領域と呼ばれる)はイオンチャネルの特異性に関与す

る重要な領域である. Na^+ チャネルの特異的ブロッカー, TTXの結合部位は, 各ドメインのS6ヘリックスに連なるSS2セグメントにあり (Fig. 3), この部位は孔の細胞外開口部にあたる. TTXの結合能は, SS2セグメントのアミノ酸残基の荷電 (Fig. 3)によって大きく左右される. 例えば, ドメインIのSS2のセグメントのグルタミン酸 (Glu 387)をグルタミンに変えて中性化すると (ミュータントを作ると), TTXの結合能は1/1000以下となる¹²⁾. ちなみに, K^+ チャネルブロッカー, TEAの結合部位も K^+ チャネルのSS1-SS2領域とされている¹³⁾. Na^+ チャネルのSS2セグメントに関してさらに興味深いことは, その選択透過性に重要な役割を果たすということである. すなわち, SS2セグメントのたった2つのアミノ酸残基, リジン (Lys 1442) とアラニン (Ala 1714)を負電荷のグルタミン酸に変えるだけで, Na^+ チャネルが Ca^{2+} チャネルへと変化する¹⁴⁾. このことは, SS2セグメントの選択透過性に果たす役割の重要性のみならず, Na^+ チャネルと Ca^{2+} チャネルの構造上の相同性を考える上でも興味深い.

これら, 構造と機能の関連の研究は, 一方で, 生理学上の新しい研究法の開発がなければ不可能であった. すなわち, 1976年, NeherとSakmannによるパッチクランプ法の開発である¹⁰⁾. 細胞膜にガラス微小ピペット(パッチ電極)をギガオーム以上の高抵抗で“密着”させ(ギガシール), その先端開口部の微小領域(パッチ膜)を電氣的に他の領域と隔絶した上で電位固定し, そこに含まれるイオンチャネルを通る電流を計測する方法である (Fig. 4). パッチクランプ法には各種の実験モードがあり, パッチ電極を細胞上に密着したまま単一チャネルを記録する方法 (on-cell mode), 電極下の膜を破り, 電極内の溶液と細胞内液を交通させ(細胞内灌流が可能となる), パッチ膜以外の全細胞膜を流れるイオン電流を記録する方法 (whole-cell mode), on-cell mode (または whole-cell mode) からパッチ電極を引きはなし, 細胞からパッチ膜を切り取って行う inside-out mode (または outside-out mode) などが

Fig. 5. Na^+ チャネルの活性化

A: ゲート電流とイオン電流 [Armstrong and Bezanilla¹⁷⁾ の結果を Hille が改変した図¹⁾ を引用]

B: スライディングヘリックスモデル [Catterall²⁾ を引用]

ある (Fig. 4 B). パッチクランプ法は、電極を刺入するのではなくて密着させる方法なので、小さな細胞や脂質膜を用いての実験も可能である。リン脂質膜に Na^+ チャネルタンパクを埋め込んだ再構成膜での単一チャネルの実測例を Fig. 4 C に示す。電位依存性にチャネルが開いている。この再構成膜の実験では、本来の神経細胞で得られた結果とほぼ同じ、電位依存性、コンダクタンス、イオン選択性、薬物作用特異性、等々の結果を得ている¹⁶⁾。電位依存性イオンチャネルを流れる単一電流は数 pA で、そのコンダクタンスは数 10 pS である¹⁾。なお、単一チャネルのアンサンブル平均をとると、 Na^+ の内向き電流が得られる¹⁾。

5. 電位依存性 Na^+ チャネルの活性化

電位依存性 Na^+ チャネルのゲートは、電位センサーの働きによって電位依存性に開閉する。膜が脱分極すると、電位センサーのコンフォメーション変化によってゲートが開く。この変化に伴う電荷の移動は、内向きの Na^+ 電流に先行する微小な外向き電流(ゲート電流)として認められ、同様に、再分極によってゲートを閉じると内向きのゲート電流が記録される (Fig. 5 A)^{4, 17)}。電位センサーは α サブユニットの各ドメインの S 4 ヘリックス (Fig. 3) と考えられている。S 4 ヘリックスはアルギニンなどのアミノ酸によって正に荷電しており、S 3 や S 1 など隣接するヘリックスの負電荷と対をなしている。脱分極によって外向きの力が S 4 ヘリックスに働き、S 4 ヘリックスは約 60° の回転によって外側へ約 5 Å 移動し、S 4 ヘリックスあたり 1 電荷 (チャネル全体として 4 電荷) 移動する。すなわち、外向きのゲート電流が流れる。これが、電位依存性 Na^+ チャネル活性化のスライディングヘリックスモデル (Fig. 5 B) である。

ゲートの状態として開 (O) と閉 (C) の 2 状態を考え、電位センサーのコンフォメーションエネルギーを ω 、移動電荷を Zg とし、Boltzman の式を適用すると、チャネル開放率の電位依存性は

$$\frac{O}{O+C} = \frac{1}{1 + \exp [\omega - ZgeE/KT]}$$

で与えられる。e は素電荷、K はボルツマン定数である。実測による Na^+ コンダクタンスの電位依存性との比較によって、イカの巨大神経の Na^+ チャネルでは、約 6 電荷が移動すると推定されている¹⁾。スライディングヘリックスモデルでは、移動電荷数は 4 (または 8¹⁸⁾) となり、この推定とは一致しない。S 4 セグメントに α ヘリックスのみならず β シートも含むモデルも考えられているが¹⁹⁾、実験的な根拠はない。このように未解明の問題も多々あるが、S 4 セグメントが電位センサーであることは確からしい。例えば、ドメイン II の S 4 セグメントのロイシン (Leu

Fig. 6. Na^+ チャネルの不活性化

A: 細胞内プロナーゼ処理による Na^+ チャネルの不活性化 [Bazanilla and Armstrong²¹⁾ を Hille が改変した図¹⁾ を引用]

B: アコニチン存在下のピーク電流と膜電位の関係 [Mozhayeva et al.²⁷⁾ を Hille が改変した図¹⁾ を引用]

C: 迅速不活性化機構の“球と鎖”モデル [Armstrong and Bezanilla²²⁾ を Hille が改変した図¹⁾ を引用]

860)をフェニルアラニンに変えるだけで、電位依存性は 20 mV もシフトする²⁰⁾。なお、上述の 6 電荷移動に関して興味深いことは、この 6 電荷移動が Na^+ チャネルの活性化に全て寄与すると仮定して求めた Na^+ チャネルの膜内分布密度は、TTX の結合から求めたそれと、多くの細胞ではほぼ一致するということである¹⁾。

6. 電位依存性 Na^+ チャネルの不活性化

電位依存性 Na^+ チャネルには、電位センサーの変化によって開閉するゲート機構の他に、迅速な不活性化をもたらす別のゲート機構が存在する。この不活性化ゲートは、細胞内をプロナーゼで処理すると破壊され、不活性化がおこらなくなる (Fig. 6 A) ので、細胞内側のチャネル開口部近傍にあると考えられる²¹⁾。この不活性化機構を、Armstrong は“球と鎖”のモデル (Fig. 6 C) で説明した^{4, 5, 22)}。すなわち、脱分極による電荷の移動によってゲートは開き、同時に不活性化ゲートの“球”結合部を形成し、それに続く“球”の結合によって速やかに不活性化されるとした。抗体²³⁾やミュータント²⁴⁾の作製によって、“鎖”に相当する部分はドメインⅢとⅣを結ぶ短いセグメントである事が判明しており、同様に“球”部分も同定されている²⁵⁾。 α -サソリ毒は Na^+ チャネルの不活性化を阻害するが²⁶⁾、この毒の結合部位は、不活性化機構の存在する細胞内側ではなく、細胞外側である (Fig. 3)。このことは、ゲートの不活性化機構にはチャネルタンパクの高次構造が関与している可能性を示唆している。Fig. 6 B は、アコニチンを Na^+ チャネルに作用させた時のピーク電流—電圧特性を示すが、対照に比べて、-90 mV ですでにチャネルは活性化されるが、ピーク電流は -50 mV でわずかに -5 nA であり、逆転電位は +15 mV である。さらに驚くべきことは、アコニチン存在下で外液を NH_4^+ に置換したときには、ピーク電流が Na^+ のそれより増しており、逆転電位も Na^+ のそれより正にシフトしている。すなわち、アコニチン存在下では、 Na^+ チャネルがあたかも NH_4^+ チャネルになっている²⁷⁾。アコニチンは脂溶性の物質で、ゲート部位や選択フィルター部位に特異的に結合する物質ではないが、両者に影響をおよぼしている。このことは、チャネルタンパクの高次機構はもとより、脂質とタンパクの相互作用を含めた広い意味でのチャネルタンパクの構造ないしは存在様式の研究の必要性を示唆していると思われる。

7. おわりに

はじめに記したごとく、本稿は、「人工膜と生体膜の接点をさぐる」というシンポジウムに基づいている。稿を終えるにあたり、接点をさぐることの難しさに関連して、生理学的実験の問題点について付記したい。生体膜で、例えば -100 mV の膜電位で 10 pS のコンダクタンスのイオンチャネルが開いた時に流れる電流は、 1 pA となる。電気素量 (1.6×10^{-19} A $\cdot$ sec) でイオン数に換算すると 6.25×10^6 /sec のイオンが流れたことになる。個々のイオンが順次孔を流れたと仮定すると、 1 個のイオンがチャネルを通過するのに要する時間は 0.16 μ sec である。もし、夢の超高速電荷カウンターがあれば、個々のイオンの移動を離散的時系列として観測可能である。従って、清水先生(京大工)のコメントにあったように、力学的解析が可能であり、例えば選択透過性を速度の関数として解析し得るかもしれない。換言すれば、人工膜と生体膜の接点をさぐることも容易となろう。しかしながら、現状では、電流増幅器の応答限界などによって、高々 100 μ sec 間の移動電荷の積分量(先の例ではイオン数 625)を電流として測定しているにすぎない。せめて μ sec オーダーでの測定が望まれる。コンダクタンスの極めて低いイオンチャネルを合成する(生体膜では捜す)ことも当面は必要かとも思われる。

本稿に関連して有意義な討論をして頂いた、日本医科大学、第2生理学教室、原田嘉夫先生に深く感謝致します。

文 献

- Hille, B., *Ionic Channels of Excitable Membranes* (2nd Ed.) Sinauer Associates Inc., Massachusetts (1992)
- Catterall, W. A., *Physiol. Rev.*, **72**, S15-S48 (1992)
- Catterall, W. A., *TINS (Trends Neurosci.)*, **16**, 500-506 (1993)
- Armstrong, C. M., *Physiol. Rev.*, **61**, 644-683 (1981)
- Armstrong, C. M., *Physiol. Rev.*, **72**, S5-S13 (1992)
- Junge, D., *Nerve and Muscle Excitation* (3rd Ed.) Sinauer Associate Inc., Massachusetts (1992)
- Hodgkin, A. L. and Huxley, A. F., *J. Physiol.*, **117**, 500-544 (1952)
- Hodgkin, A. L. and Hurley, A. F., *J. Physiol.*, **116**, 449-472 (1952)
- Hille, B., *J. Gen. Physiol.*, **50**, 1287-1302 (1967)
- Hille, B., *J. Gen. Physiol.*, **58**, 599-619 (1971)
- Hille, B., *J. Gen. Physiol.*, **59**, 637-658 (1972)
- Noda, M., Suzuki, H., Numa, S. and Stühmer, W., *FEBS Lett.*, **259**, 213-216 (1989)
- Yellen, G., Jurman, M. E., Abramson, T. and MacKinnon, R., *Science*, **251**, 939-942 (1991)
- Heinemann, S. H., Telau, H., Stühmer, W., Imoto, K. and Numa, S., *Nature*, **356**, 441-443 (1992)
- Neher, E. and Sakmann, B., *Nature*, **260**, 799-802 (1976)
- Hartshorne, R. P., Keller, B. U., Talvenheimo, J. A., Catterall, W. A. and Montal, M., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**, 240-244 (1985)
- Armstrong, C. M. and Bezanilla, F., *J. Gen. Physiol.*, **63**, 533-552 (1974)
- Conti, F. and Stühmer, W., *Eur. Biophys. J.*, **17**, 53-59 (1989)
- Guy, H. R. and Conti, F., *TINS (Trends Neurosci.)*, **13**, 201-206 (1990)
- Auld, V. J., Goldin, A. L., Krafte, D. S., Catterall, W. A., Lester, H. A., Davidson, N. and Dunn, R. J., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 323-327 (1990)
- Bezanilla, F. and Armstrong, C. M., *J. Gen. Physiol.*, **70**, 549-566 (1977)
- Armstrong, C. M. and Bezanilla, F., *J. Gen. Physiol.*, **70**, 567-590 (1977)
- Vassilev, P., Scheuer, T. and Catterall, W. A., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 8147-8151 (1989)
- Stühmer, W., Conti, F., Suzuki, H., Wang, X., Noda, M., Yahagi, N., Kubo, H. and Numa, S., *Nature*, **339**, 597-603 (1989)
- West, J. W., Patton, D. E., Scheuer, T., Wang, Y., Goldin, A. L. and Catterall, W. A., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 10910-10914 (1992)
- Catterall, W. A., *J. Gen. Physiol.*, **74**, 375-391 (1979)
- Mozhayeva, G. N., Naumov, A. P., Negulyaev, Y. A. and Nosyreva, E. D., *Biochim. Biophys. Acta*, **466**, 461-4730 (1977)

(受付 1995年9月30日)