神経細胞の研究におけるラジオアイソトープの利用†

竹 中 敏 文

横浜市立大学医学部第一生理学教室

232 横浜市内南区浦舟町2-33

Key Words: neuron, axonal flow, excitation, channel proteins, photochemical modification

1. はじめに

われわれの神経系はニューロン (Neuron) を構成要素としている。ニューロンという言葉から思い浮かんでくる像は神経細胞体ならびにこれからでている2種の突起、すなわち軸索と樹状突起が枝をはっている姿である(図1)。ニューロンは形態学的、生理学的、物質代謝のうえでひとつの単位であり、周囲からいろいろの刺激をうけ入れている。樹状突起や細胞体は刺激をうけ入れることにより活動電位を発生する。これを興奮という。発生した活動電位は軸索を通り、他のニューロンとシナプスを介して興奮を伝えていく。このようにしてニューロンからニューロンへと興奮は伝えられる。活動

図1 ニュロン

電位は神経細胞の膜で発生する¹⁾。一方、細胞体で合成されたタンパク質などは軸索内を1時間あたり16 mmの速度で運ばれている。これを軸索輸送といい、軸索終末部のシナプス伝達機能に必要な成分の供給や軸索構成成分の補給に関与している²⁾。この小文ではラジオアイソトープ (RI) を利用して神経細胞の機能を調べる研究と軸索輸送への応用についてのべる。

2. 神経細胞膜の透過性と RI

2・1 静止時のフラクス

神経細胞膜のイオン透過性はいろいろの材料で調べられる。ここではイカの巨大神経線維膜を用いた実験を紹介する。なぜイカの神経をもちいるかという点、ふつうの神経線維の直径は数 μm であるが、イカの巨大神経線維は500 μm という太さなので実験に使いやすいからである。巨大神経線維内には原形質がつまっているが、これを図2のようにガラス管を挿入してすいとり、さらにタンパク分解酵素で洗い去り、線維内に人工液を流すことができる。このような神経線維を細胞内灌流神経とよぶ³⁾。この標本をもちいれば、膜を通るイオンの流れすなわちフラクスを簡単に測定することができる。外液, NaCl 400 mM, KCl 10 mM, CaCl_2 10 mM, MgCl_2 50 mM, 中に $^{22}\text{NaCl}$ あるいは

図2 巨大神経線維の細胞内灌流。神経線維の内部はくりぬかれて、ちょうどドカンになっている。

† Radioisotope Studies of Physiological Mechanism in Nerve Cell. Toshifumi TAKENAKA: Yokohama City Univ., Sch. of Med., Physiology, 2-33 Urafune, Minami-ku, Yokohama-shi 232.

図3 Na^+ のイン・フラックス，細胞内灌流神経線維をもちい5分ごとに灌流液をあとめ測定している。斜線部は100サイクルの刺激を行っている。

表1 各イオンの神経膜でのフラックス

	濃度(mM)		静止時 flux (pmoles/ $\text{cm}^2 \cdot \text{sec}$)		興奮時 influx (pmoles/ $\text{cm}^2 \cdot \text{impulse}$)
	内側	外側	内向き	外向き	
Na^+	50	460	32~131	31~67	3.7~10.3
K^+	400	10	17~60	50~60	0.4
Ca^{++}	0.4	11	0.04	0.04	0.006

$^{24}\text{NaCl}$ を入れ，神経線維をつけ線維内液から出てくる液の放射能を測定すればイン・フラックスがえられる(図3)。図3では5分ごとに内部灌流液を集めて測定している。斜線なしの部分は刺激なしの静止状態，斜線の部分は興奮状態である。この値よりフラックスを計算すると表1のようになる。静止状態のとき Na^+ のイン・フラックスは約 $50 \text{ pmole}/\text{cm}^2 \cdot \text{sec}$ である。 K^+ のイン・フラックスも大体 Na^+ と同じ値であり，2価イオンの Ca^{++} のイン・フラックスは少なく $0.04 \text{ pmole}/\text{cm}^2 \cdot \text{sec}$ という値になる。アウト・フラックスは細胞内灌流液に測定しようとするイオンの放射性同位元素を入れ，5分ごとに外液をくみとってその放射能を測定することにより測定できる。一価イオンの Na^+ や K^+ のアウト・フラックスも約 $50 \text{ pmoles}/\text{cm}^2 \cdot \text{sec}$ の値がえられる⁴⁾。

2.2 興奮時細胞内にはいるイオンの量^{4),5)}

静止時と同様， ^{24}Na ， ^{22}Na ， ^{42}K のはいった外液中に神経をひたし，刺激をあたえながら内部灌流液を測定すればよい。図3の斜線部はその一例であるが，神経を5分間毎秒100回刺激することにより ^{24}Na のイン・フラックスが著明に増加していることがわかる。この実験により Na^+ のイン・フラックスは毎秒100回の刺激により，静止時の $61 \text{ pmole}/\text{cm}^2 \cdot \text{sec}$ から $110 \text{ pmole}/$

$\text{cm}^2 \cdot \text{sec}$ に増加することがわかる。これから1個の神経衝撃にともない外液から線維内にはいってくる Na^+ の量は $10.3 \text{ pmole}/\text{cm}^2$ で，活動時におなじく外液中にでていく Na の量は $6.6 \text{ pmole}/\text{cm}^2 \cdot \text{imp}$ である。したがって正味1個の神経衝撃あたりはいってくる Na^+ の量は $3.7 \text{ pmole}/\text{cm}^2$ となる。 Ca^{++} のイン・フラックスも興奮時増加し，その値は $0.06 \text{ pmoles}/\text{cm}^2 \cdot \text{imp}$ である。

2.3 オートラジオグラムによるイン・フラックスの測定⁶⁾

活動電位が発生したとき， Na^+ のイン・フラックスの時間経過はどうであろうか。活動電位の全経過が1 msec ぐらいなので RI で測定するには十分な分解能がない。しかし電気生理的には膜電位固定法をもちいて推測することができる。図4は活動電位と Na^+ のとおり易さすなわち Na 伝導度と K 伝導度の変化の時間経過を示したものである。神経を刺激すると Na^+ がまず膜をとおってはいり込み， K^+ はややおくれて細胞外に出ていく，そして図のような電位変化がおこる。ところで酵素処理をした神経細胞では心筋と同じように長い経過をもった活動電位を発生させることがで

図4 活動電位と Na -伝導度ならびに K -伝導度の時間経過。

図5 イン・フラックス測定のためのオートラジオグラフィ法。時間経過をおって細胞内灌流液は紙テープに記録される。このテープをもちいてオートラジオグラフィを行う。

図6 プラトウ型の長い活動電位と興奮時のイン・フラクスをオートラジオグラフィで示したもの

きる(図6)。このような活動電位発生時のイン・フラクスは図5のような装置で測定できる。細胞内灌流神経標本をもちい灌流液の出口の所に一定速度ではしる紙テープをつけると、細胞内灌流液はテープの上に時間経過をおって記録される。このテープを乾燥後フィルムにつけてオートラジオグラフィをおこなう(図6)。図から活動電位が発生したときイン・フラクスは増加しているが、その増加は全経過中大体同程度であることがわかる。つぎにこれらのイオンが通過する膜について考えてみる。

3. 膜のタンパク質研究への RI の利用⁷⁾⁸⁾

3.1 膜のタンパク質

Singer らによってタンパク質を脂質層に組み込んだモデルが1972年に提唱された。これを流動モザイクモデルという⁹⁾。膜は水の中では安定した状態を保つ必要がある。タンパク質、脂質などには親水性の部分と疎水性の部分があり、親水性のものはイオン性のもので水の方向に向き、疎水性のものは水から遠くに存在する。したがって水に面したほうにはアミノ酸残基や糖残基および脂質の極性頭部をもった親水部分がくる。膜の内部には疎水性のタンパク質の非極性残基や脂質の炭化水素鎖がきて、お互いに疎水結合によって結ばれていて疎水領域をつくる。流動モザイクモデルによると脂質がきわめて動きやすいため、膜内のタンパク質もまた流動的である。膜タンパク質には膜内に存在する内在性タンパク質と膜表面にある周辺タンパク質の2種類がある。膜のタンパク質を調べるには¹²⁵I や ¹⁴C などを含んだ標識薬を膜の分子と反応させ、その後 SDS-polyacrylamide gel 電気泳動法によってタンパク質を分類する。赤血球では、主要の糖タンパク質がくわしく調べられている。そこで赤血球で使用方法を神経に应用することからはじめられた。ラクトベルオキシダーゼを用いて膜のタンパク質のチロシン、ヒスチジンなどの特定の amino 酸残基に¹²⁵I を結合させる方法である。この方法を用いて Gainer らは、イカの巨大神経を細胞内灌流法によって内側からヨウ素ラベルすることに成功した¹⁰⁾。ラベルされた

試料を取り出して、SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動法によってタンパク質を分析した。分子量 12000 と 60000 のところに放射能のピークがみられた。神経をラベルしたのち、外液の K⁺ 濃度を 300 mM まで上げて脱分極させたときの神経を取り出して同様に処理した場合とをくらべると、分子量 12000 のタンパク質の放射能の強さが減少しているのがわかる(図7)。神経を刺激しても同様のパターンが得られるので、分子量 12000 のタンパク質は興奮にともなって膜から離脱していくと考えた。この離脱した分子量 12000 のタンパク質はわれわれの所で細胞内灌流液中に証明することができた¹¹⁾。ところで興奮するたびに分子量 12000 のタンパク質が流れ出たのでは、膜タンパク質がなくなってしまう。そこでこのタンパク質は膜の近傍から供給されているに違いないと考え、タンパク質の生合成の行われている場所を調べた結果、神経線維の周りの細胞がその場所であると考えられた。³H-ロイシンを外液中に混ぜてしばらく放置したのち外液の³H-ロイシンを洗い流して、神経の切片をオートラジオグラフィで調べるとシュワン細胞中から原形質中まで³H-ロイシンが点々と分布している¹²⁾。シュワン細胞中の黒点の濃度は原形質の2倍ほどある。電気泳動のパターンでみると分子量 12000 のタンパク質はシュワン細胞中に存在するが原形質中ではきわめて少ない。このようなことから分子量 12000 のタンパク質はシュワン細胞からつくられて送られてきたものと考えられる。

図7 膜内側を放射性ヨウ素で標識したイカ巨大神経の電気泳動パターン(実線)と脱分極による変化(点線)。

近年開発された膜タンパクの RI 標識薬は表2に示すように多々ある。Bolton-Hunter 試薬 (B-H) は、iodinated *p*-hydroxyphenylpropionic acid の N-hydroxy-

表3 Na チャネルの表面密度一覧

材 料	方 法	密 度 (pores/ μm^2)	文 献
1. ロブスターの脚	TTX 結合	<13	Moore, Narahashi & Shaw (1967)
2. カニの脚	TTX 結合	49	Keynes, Ritchie & Rojas (1971)
3. ウサギの迷走神経	TTX 結合	75	
4. ロブスターの脚	TTX 結合	36	
5. サヨリ嗅覚神経	放射能 TTX 結合	2.5	Colquhoun, Henderson & Ritchie (1972)
6. ウサギの迷走神経	放射能 TTX 結合	27	
7. ロブスターの脚	放射能 TTX 結合	16	
8. イカ巨大神経	TTX のカイネテイクス結合	200	Keynes, Rajas & Talor (1973)
9. イカ巨大神経	gating 電荷/6e	200~300	Bezanilla & Armstrong (1973)
10. イカ巨大神経	gating 電荷/6e	400	Keynes & Rojas (1973)

る。放射化された TTX や STX をもちいて得られた結果は、それ以前の非放射性 TTX により得られた値より少なめに出ているが Colquhoun らの実験結果がいちばん確からしいと思われる。放射性 TTX は、NEM に TTX を送り トリチウムガスで触媒還元してもらう。

TTX も STX もともに Na チャネルに図 11 のように選択的に結合するのであるから、たがいに競合する。両者の共通性としては、その構造のなかにグアニジン・グループをもつことがわかっているのも、このグアニジン基が Na チャネルの中に向かって挿入され Na^+ の移動を妨げることがありうると思われる¹⁰⁾。ところでこの両者ともチャネルの外側からだけ有効で膜の内側からは何の効果も示さないでチャネルの外側と内側とでは構造がかなり違うはずである。たとえば南米のカエルの皮からとったバトラコトキシンは膜の内側から Na チャネルに働きかけ、その一部を開いたままにしておくことがわかっている。TTX と STX のチャネルへの結合力はともに同じ程度で、その結合は Ca^{++} の存在により影響をうけ、また低い pH でも結

合は阻害される。Benzer や Henderson らは garfish という鼻の長い魚の嗅神経を切り出し、その膜画分を抽出し、それに放射化された TTX (^3H -TTX) を作用させた。膜成分と ^3H -TTX との結合は可逆的で、その解離定数は $6\sim 8 \times 10^{-9} M$ であった。この値が TTX と Na チャネルとの結合の解離定数 ($10^{-8}\sim 10^{-9} M$) と一致するところから、かれらは ^3H -TTX の結合した膜画分の成分が Na チャネル・タンパクであろうと推定した。しかし ^3H -TTX と膜成分との結合が可逆的な非共有結合であるため、SDS ポリアクリルアミド電気泳動を行うと ^3H -TTX と膜成分との結合が切れて ^3H -TTX の結合したタンパク質が分離できない。TTX の結合したタンパク質を分離するためには TTX とタンパク質を共有結合させなければならない。この目的にかなった方法が光化学修飾法である。この方法は ATPase の解析などに使われており、ハワイの Guillory¹⁷⁾ は Jeng¹⁸⁾ の用いた方法を TTX の光化学修飾に採用した。その光化学修飾法は、まず TTX に光活性の高いアリルアジドグループを結合させ、つぎにアリルアジドの結合した TTX をチャネルタンパクに作用させて光を照射し、TTX をチャネルタンパクに共有結合させる方法である(図12)。もちいたアジド化合物はアリルアジド β アラニン ($\text{A}\beta\text{A}$) である。この方法で大切なことは $\text{A}\beta\text{A}$ を TTX に結合させたとき、TTX の Na チャネル抑制作用に変化がないことであり、この点は生物活性をみることにより確かめられる。Guillory らはこの $\text{A}\beta\text{A}$ の結合した TTX の作用をカエルの骨格筋を用いて調べた。われわれの研究室でも、同じ手法をもちいてイカの巨大神経線維から ^3H -TTX の結合したタンパク質を分離する研究をすすめている。それによると TTX の結合するタンパ

図11 TTX と STX のチャネルとの結合モデル。黒は炭素、白は水素、周囲に点線をうっているのが酸素原子、三角の内側が…でふちどられているのは窒素原子である¹⁰⁾。

図12 TTX の光化学修飾のモデル図(右)と arylazide- β -alanine と TTX の結合(左)

ク質は分子量23万前後のものであろうと思われる。

3.3 K-チャンネル・タンパク質

活動電位の発生には K^+ も関与する。前に述べたように K^+ の動きは Na^+ より少しおくれてはじまる。 Na^+ -チャンネルに対する TTX のように、 K チャンネルは TEA によって特異的に抑制される。しかし TEA と K チャンネルとの結合は非共有結合であるため、SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動法では、 K チャンネルタンパクを ^3H -TEA が結合した形で単離できない。そこで TEA を光化学的修飾法によって K チャンネル・タンパクに共有結合させる方法が考えられた。Hucho ら¹⁹⁾ は TEA の誘導体である光化学物質 4-azido-2-nitrobenzyltriethyl-ammonium-fluoroborate をカエルの脊髄神経に作用させて K^+ の動きを調べた。 K^+ の

図13 TEA の光化学修飾¹⁹⁾

カエルの脊髄神経に TEA の光化学修飾を行い電位固定法でみた実験。第1列はコントロール、第2列は試薬の作用により K 電流が減少しているのがわかる。第3列は(A)照射せずに試薬をとりさったもの、(B)照射後試薬を洗い去ったもの。

動きのみをみるため、 Na^+ イオンの動きを抑える必要がある。そのため外液に $3 \times 10^{-7} M$ の TTX を入れ、 K 電流の変化だけを追った。図13は K 電流をしめたもので A では試薬を神経に作用させて紫外線を照射しないで洗い流した場合で第3列にみられるように K 電流はほとんど回復している。B は試薬を神経に作用させておいて紫外線照射後試薬を洗い流してから40分後の K 電流の大きさを調べると第3列目にみられるようにほとんど回復していない。このことは試薬 4-azido-2-nitrobenzyltriethyl-ammonium-fluoroborate を神経に作用させておいて紫外線を照射すると、試薬は K チャンネルタンパクに不可逆的に結合する

図14 膜成分に ^3H -TEA の光化学修飾を行い、それを取りだして SDS polyacrylamide gel 電気泳動を行った実験²⁰⁾。

ことを意味する。かれらはさらに実験をすすめ、抽出された神経の膜成分に放射化された 4-azido-2-nitrobenzyltriethyl-ammonium-fluoroborate を作用させて紫外線を照射し、その試料を SDS ポリアクリルアミド電気泳動で分離した²⁰⁾。ザリガニの歩行神経をすりつぶし、Triton X-100でとかしてから膜成分を取り出し、それに ^3H でラベルされた試薬を作用させて紫外線を照射した。そしてその試料を SDS ポリアクリルアミド電気泳動で分離した。図14はそのパターンであり、(a)では Triton X-100 に可溶化した膜成分について行った実験結果でゲル切片80のところに放射能のピークがある。(b)は Triton X-100 に不溶な膜成分についての実験で全体に放射化されていない。こうして神経の膜成分から TEA の結合したタンパク質が光化学修飾法と SDS ポリアクリルアミド電気泳動法で分離されるようになった。これは多分 K チャネル・タンパク質であろうと推定されている。

4. 軸索輸送の研究に対する RI の利用^{21), 21)}

神経細胞体で合成されたタンパク質は神経線維中で送られていき、軸索の維持、更新、伸展またシナプスに必要な物質を供給する。この運搬機構を軸索輸送という。これを研究するには標識化したアミノ酸を細胞体にとり込ませると細胞体で放射能で標識化されたタンパク質が合成されるので、このタンパクの軸索内の流れをおっかけていけばよいことになる。図15はその一例を示したものであり、ネコなどの動物の脊髄後神経節あるいは運動神経節のところに ^3H -ロイシンか ^3H -リジンを注射してやる。細胞体で合成された放射能標識タンパク質は神経内を一定速度で送られていく。一

図15 軸索輸送の実験における RI の神経節への注射と輸送パターンを測定する方法。

図16 神経節に ^3H -leucine を注射後 2, 4, 6, 8, 10 時間後の放射能の強度分布を示す。横軸は神経線維で神経節からの距離をしめす。

定時間後にこの神経線維を切りだし、図のように 5 mm の断片にして、そのおのおの放射能を測定すると図の下部に示されるようなパターンがえられる。同様のことを時間経過を変えて何本かの神経束で行うと図16のような各時間におけるパターンがえられる。この図から軸索輸送の速度が計算できる。速度は 410 ± 50 mm/day のものがえられた。軸索輸送の速度は運ばれるものによって異なり、速いものとおそいのもの 2 種類に分けられる。速いものはタンパク質などで 410 mm/day、おそいものはコレステロールなどで 1 日わずか数 mm というものである。しかし、このような方法だと実験動物が何匹も必要となる。軸索輸送は生理的現象なので、どうしても生理的な面ととらえなければならない。そこでわれわれは小さな半導体放射線検出器を直接神経線維にあって、軸索輸送を生理的条件下で測定する方法を考えた²¹⁾。この方法をもちいると軸索輸送の動的な動きをたった一本の神経線維束で追求することができるので軸索輸送の研究にとって非常に有力な手法となる。図17は半導体放射線検出器の原理図である。高純度の Si 素材の表面にボロンを熱拡散させて薄い層をつくり p 型とする。p-n 接合部に逆バイアス電圧を印加すると接合部両側に空乏層ができ強い電場が生じる。荷電粒子である β 線はこの空乏層内で Si の結晶内電子との強い相互作用によりエネルギーを失い電子・正孔対を発生する。この電子・正孔対が強い電場によって電極に掃引され、検出器外部へバ

図17 半導体放射線検出器の原理図

図18 半導体放射線検出器をもちいて測定するときのブロック図²¹⁾

ルス性電気信号となって送り出される。この検出器の利用は東芝との共同研究であり、直径2 mmという小さなカテーテル型である。図18には測定系全体のブロック図を示す。 ^{14}C の最大 β 線エネルギー155 eVはカテーテル型半導体検出器の出力電圧で約50 $\mu\text{V}_{\text{p-p}}$ に相当する。このため後段電子回路系、とくに前置増幅器は低雑音化が要求される。われわれの場合初段増幅素子にTEXAS製F・E・T(2N4416A)を用いインダクタンス負荷方式を採用した。検出器系全体のエネルギー分解能は約10 keV (FWHM)である。線型増幅器以下はNAIGの機器をもちいた。前置増幅器からのパルス信号を必要な波高まで増幅するとともに最適なS/Nを得るため微積分回路を有し波形整形を行い、時定数1~2 μsec に設定した前置増幅器をもちいた。波形弁別回路はノイズレベルを完全に切り信号成分のみ一定波高の方形波パルスに整形して計数回路に導く。そしてカウンターに放射能の強さがでくる。この計測器をもちいて実験を行った一例をのべる。

ウシガエルの第9脊髄後神経節に1 μl 中5 μCi を含んだ ^{14}C -ロイシンを注入する。注入されたロイシンはすぐにタンパク質にとり込まれる。このことはTCA不溶成分を測定してみることにより判明する。ロイシンの取り込まれたタンパク質は軸索流によって運ばれるのでこれを検出器で測定すればよい。直径2 mmの検出器を図18のように軸索上で移動させて、軸索各点の放射能を測定する。図19は1本の神経束から

図19 半導体放射線検出器をもちいて測定した軸索輸送の分布図。 ^{14}C -leucineを注射後6, 7.5, 9, 11時間後に測定している。実線は11.3時間後に神経を切り出し、従来の細断法で測定したもの²¹⁾。

の記録である。横軸は神経節から軸索上各点までの距離であり、測定開始6時間後、7.5時間後、11時間後と順次測定したパターンを示している。そして11.3時間後に軸索を取り出し、従来の方法で5 mmの画分に連続細断してそれぞれを液体シンチレーションカウンターで測定してみると実線で示したような分布図が得られる。これは11時間目に検出器で生理的条件下で測定したものと同様パターンを示している。このことから、この検出器で測定した軸索輸送の分布は、現在一般に行われている静的な測定法で測ったものと一致することがわかる。軸索流の波の先端位置を時間経過とともにのっていき、速さが計算できる。速さは24°Cでは1時間あたり6.6 mmの値となる。軸索流に対する温度効果もこの検出器をもちいれば容易にもとめられる。神経線維の浸っている外液温度はサーモ装置をもちいて任意の温度に変えられるので、各温度における軸索内の ^{14}C 分布を半導体放射線検出器をもちいて測定した。その結果軸索輸送速度は5°Cでは1.11 mm/hr, 10°Cでは1.76 mm/hr, 15°Cの場合2.80 mm/hr, 24°Cでは6.6 mm/hr, 36°Cでは17.0 mm/hrとなり、 Q_{10} として2.4がえられた。さきに哺乳動物では17.1 mm/hr, カエルでは6.6 mm/hrという軸索輸送速度がえられていたが、この差は動物の種によるものではなくて、単に温度の差によることがわかった。いいかえるとネコでも、カエルでも軸索輸送の機構は同じなのである。現在のところこの機構はわかっていないが、二、三の説がある。たとえばOchsのTransport filament説は、筋肉収縮の滑走説をモデ

ルにしたものである²⁾。それによると、運搬されるものは、ATP のエネルギーを使って細胞内の微小管などと cross-bridge をつくりつぎからつぎへと移動していくものと考えられている。いずれにしても軸索輸送の生理的役割や機構はこれからの問題であり、生理的条件下で測定できるこのような半導体放射線検出器は大いに利用できると思われる。

文 献

- 1) Takenaka, T., Hirakow, R., & Yamagishi, S.: *J. Ultrastr. Res.*, **25**, 408 (1968)
- 2) Ochs, S.: Research Status of Spinal Manipulative Therapy, *NINCDS*, **15**, 189 (1975)
- 3) 竹中敏文: 続生物物理, **9**, 191, 吉岡書店 (1969)
- 4) 佐藤昌康: 神経の興奮と伝導, 金芳堂 (1961)
- 5) 竹中敏文, 吉岡享: 生体膜の構造と機能, 殿村, 佐藤編, 188, 講談社 (1979)
- 6) Takenaka, T. & Yumoto, K.: *Proc. Jap. Acad.*, **45**, 751 (1969)
- 7) 竹中敏文: 生物物理, **18**, 28 (1978)
- 8) 香川靖雄: 生体膜, 岩波 (1978)
- 9) Singer, S.J., & Nicolson, G.L.: *Science*, **175**, 720 (1972)
- 10) Gainer, H., Carbone, E., Singer, I., Sisco, K. & Tasaki, I.: *Comp. Biochem. Physiol.*, **47A**, 477 (1974)
- 11) Takenaka, T., Yoshida, T., Horie, H. & Watanabe, F.: *ibid.*, **68**, 385 (1976)
- 12) Gainer, H., Tasaki, I. & Lasek, R.J.: *J. Cell Biol.*, **74**, 524 (1977)
- 13) Yoshioka, T., Takenaka, T., Horie, H., Inoue, H. & Inomata, K.: *Proc. Jap. Acad.*, **54B**, 310 (1978)
- 14) Yoshioka, T., Takenaka, T., Horie, H., Inoue, H. & Inomata, K.: *Brain Res.*, **B4**, 196 (1979)
- 15) 吉岡享, 竹中敏文: 代謝, **16**, 285 (1979)
- 16) Hille, B.: *Biophys. J.*, **15**, 615 (1975)
- 17) Guillory, R.J., Payner, M.D. & D'Arigo, J.S.: *Science*, **196**, 883 (1977)
- 18) Jeng, S.T. & Guillory, R.J.: *J. Supramol. Struct.*, **3**, 448 (1975)
- 19) Hucho, F., Bergman, C., Dubois, J.M., Rojas, E. & Kiefer, H.: *Nature*, **260**, 802 (1976)
- 20) Hucho, F.: *ibid.*, **267**, 719 (1977)
- 21) Takenaka, T., Horie, H. & Sugita, T.: *J. Neurobiol.*, **9**, 317 (1978)