

## 1 実験条件

実験日時 2010（平成 22）年 7 月 1 日 木曜日 午後 1 時～午後 4 時 15 分

天気 晴れ

気圧・気温・湿度 省略

## 2 実験の目的

生物細胞に電位をかけた時の応答を、等価な電気回路で置き換えたシステムとして捉え、アナログコンピュータでシミュレーションを行う。その結果をもとに解析し、細胞の受動・能動特性を評価する。

## 3 実験の原理

### 3.1 細胞の等価回路モデル

#### 3.1.1 神経細胞の電圧応答とその仕組み

細胞はその形を作る細胞膜と細胞内の電解質から構成されている。細胞膜は脂質でできており、細胞内外の電解質を隔てる役目がある。細胞膜の一部には細胞内外のイオンの出入りをするための穴があり、イオンチャネルと呼ばれる。このチャネルはタンパク質でできており、ここを通るイオンの量を調節することにより、細胞内外の電位差をコントロールし、情報を伝達することができる。細胞の構造を図 1 に示す。通常の細胞は静

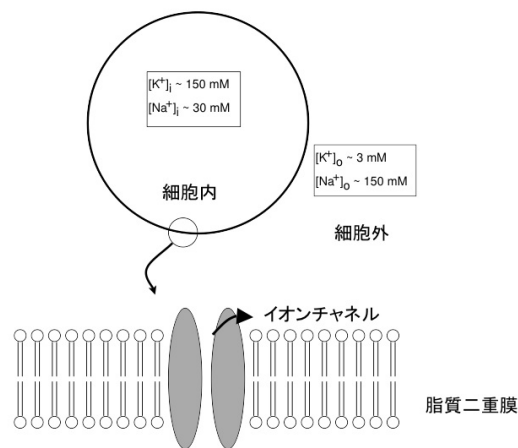


図 1 細胞の構造

止時に K イオンを通過するチャネルが開いているため、静止時の膜電位は K イオンのイオン流が 0 となる電位、すなわち静止膜電位  $E_{rest}$  になっている。この時の細胞は受動特性にあると呼ばれる。

一方、細胞が情報伝達を行う際には、前述のように細胞内外の電位差を制御して信号を作る。そのためには電位依存性チャネルと呼ばれる、膜内外の電位差をセンシングしてスイッチングできるチャネルが活動する。中でも Na イオンを選択的に通過させる電位依存性 Na チャネルが神経細胞に活動電位を発生させる重要な役

割を果たしている。また、K イオンを選択的に通過させる電位依存性 K チャネルは、Na チャネルによって上昇した活動電位を速やかに元に戻す働きを持っている。これらのチャネルが活動する時の細胞は能動特性にあると呼ばれる。

### 3.1.2 細胞の等価回路への置き換え

前節で述べたように、細胞はチャネルの開き具合を調節することによって、細胞内外の電位差をコントロールしていた。そこで細胞を 1 つの電気回路として捉えて解析を行うことを考える。

前節で述べたように、細胞膜は絶縁体でできており、その内部と外部には電解質が満たされているので、細胞全体で見るとキャパシタと捉えることができる。またイオンチャネルは膜を越えて電流を流すので、コンダクタンスとして捉えることができる。細胞の等価回路モデルを図 2 に示す。キャパシタンス成分を膜容量  $C_m$ 、抵抗成分を膜抵抗  $R_m$ 、細胞内外の電位差を  $V_m$  とする。

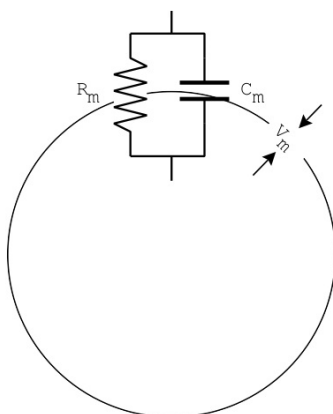


図 2 細胞の等価回路

細胞内外の電解質溶液は、そのイオン組成が異なり、膜内外に電位差が生じる原因となっている。これが膜電位  $V_m$  である。 $V_m$  は、あるイオンのみを通すチャネルが開いたときに、細胞膜を横切るイオン流の総和が 0 となる電位とも言えるので、これを平衡電位  $E_{ion}$  と呼ぶ。 $E_{ion}$  は Nerst の式から導出され、

$$E_{ion} = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[ion]_o}{[ion]_i} \quad (1)$$

ただし、 $E_{ion}$ ：平衡電位、 $R$ ：気体定数、 $T$ ：絶対温度、 $z$ ：イオン価数、 $F$ ：ファラデー定数、 $[ion]_o$ ：細胞外のイオン濃度、 $[ion]_i$ ：細胞内のイオン濃度である。

細胞の受動特性について述べる。通常の細胞は静止時に K イオンを透過するチャネルが開いており、静止時の膜電位は K イオンの平衡電位に近く、約-80mV から-60mV に保たれている。この電位を静止膜電位  $E_{rest}$  と呼んでいる。静止膜電位を含む等価回路は図 3 のように表わされる。

この図をもとに微分方程式を立てると式 2 のようになり、この式で表される特性を細胞の受動特性と呼ぶ。

$$I_m = C_m \frac{dV_m}{dt} + \frac{V_m - E_{rest}}{R_m} \quad (2)$$

一方細胞の能動特性は、細胞同士の情報伝達のために、電位依存性チャネルが非線形コンダクタンスとしてはたらく時の細胞の特性である。この時の細胞の等価回路は図 4 のように表され、ここから式 3 が得られる。

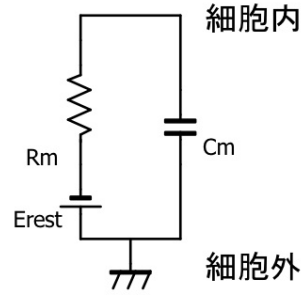


図3 静止時の細胞の等価回路

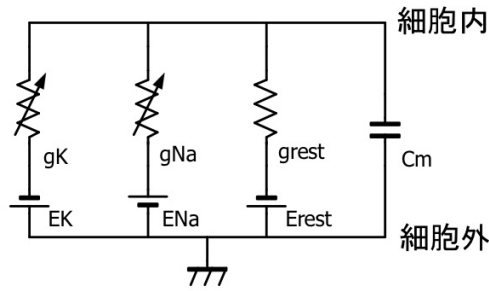


図4 非線形コンダクタンスを含む細胞の等価回路

$$I_m = C_m \frac{dV_m}{dt} + g_{rest}(V_m - E_{rest}) + g_{Na}(V_m, t)(V_m - E_{Na}) + g_K(V_m, t)(V_m - E_K) \quad (3)$$

式3で示された非線形コンダクタンスのモデルには、Hodgkin & Huxley モデルが良く使われる。これは

$$g_{ion} = G_{ion} \cdot m(V_m, t)^M \cdot h(V_m, t)^H \quad (4)$$

のように、非線形コンダクタンスがあるイオンに対する細胞の最大コンダクタンス  $G_{ion}$  と、確率変数  $m \cdot h$  のかけ算で表されることを示すものである。このモデルにより、細胞膜のある特定のイオンに対するコンダクタンスは、細胞膜中の多数のチャネル分子により決定され、イオンチャネル分子中のゲートが開閉することが分かる。チャネル1つには活性化・不活性化ゲートの2種があると仮定しているが、当実験では前者のみを考慮して考えている。イオンチャネルの開き具合を決定する  $m_\infty$  はボルツマン分布の確率密度関数を用いることにより、横軸を膜電位としてプロットすると図5に示すようなシグモイド関数となることが分かっている。

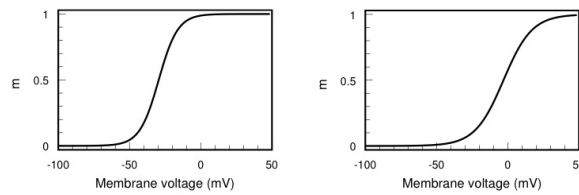


図5 電位依存性 Na チャネル (左) と電位依存性 K チャネル (右) の  $m_\infty$  関数

最後に、実際の神経細胞に電流注入した際の電圧応答を図 6 に示す。鋭い電圧ピークはスパイクと呼ばれ、細胞の信号伝達の重要な特性になっている。

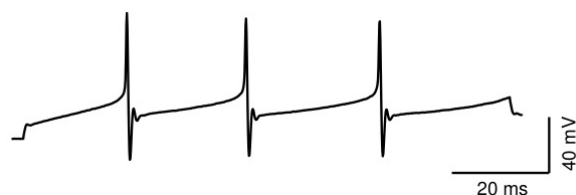


図 6 実際の神経細胞に電流注入した際の電圧応答の例

### 3.2 FPAA を用いたシステム解析

細胞モデルのシミュレーションにおいて、当実験では等価な電子回路をシステムと捉えて解析する。これにより複雑な微分方程式を解くことなく、システム応答の解析が可能になる。

例として、図 7 に示すようなキャパシタのみの回路をブロック線図に置き換えれば、これをコンピュータにプログラムして解析することですぐにシステム応答を調べることができる。

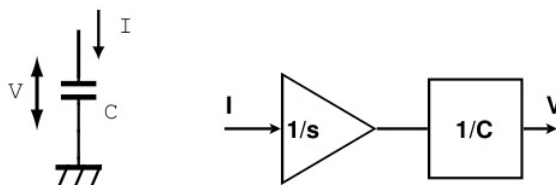


図 7 容量  $C$  のコンデンサに電流  $I$  を流したときの電圧応答を示すブロック線図

当実験では、解析結果を高速に求められるアナログコンピュータの一種である FPAA を用いた。これはプログラムにより回路構成を書き換えできるアナログ集積回路ボードであり、オペアンプやキャパシタなどから成る。ユーザーがブロック線図をコンピュータ上でインプットすることで、集積回路内の配線が自動で構成され、目的の解析結果を得ることができる。

## 4 使用器具及び装置

- コンピューター
- ファンクションジェネレーター
- オシロスコープ
- アナログコンピュータ開発ボード AN221K04-DVLP3 (Anadigm 社製)
- 配線
- USB メモリ
- 筆記用具・グラフ用紙・実験レジュメ・実験ノート・カメラ

## 5 実験結果

実験を行うにあたって、各種パラメータを次のように設定した。 $E_{rest} = -70\text{mV}$ 、 $E_{Na} = 50\text{mV}$ 、 $E_K = -100\text{mV}$ 。ただし、回路設計の都合上、 $E_{rest}$  を基準電位としたため、 $E'_{Na} = E_{Na} - E_{rest} = 120\text{mV}$ 、 $E'_K = E_K - E_{rest} = -30\text{mV}$  と換算した。また FPAA 上の設定値と細胞中のパラメータは次のように換算している。FPAA 上の  $1\text{V}$  は細胞膜電位の  $100\text{mV}$  に対応させ、 $C_m$  は  $10\text{pF}$  を  $0.1$  に、 $R_m$  ( $=\frac{1}{g_{rest}}$ ) は  $100\text{M}\Omega$  を  $10$  に換算し、この値をそれぞれの初期値とする。

**課題 1** まず、細胞内に電流を注入した際の受動特性を解析するために、式 2 を変形しブロック線図を描いたものを図 8 に示す。三角形は積分器を表し、四角は乗算器を表している。

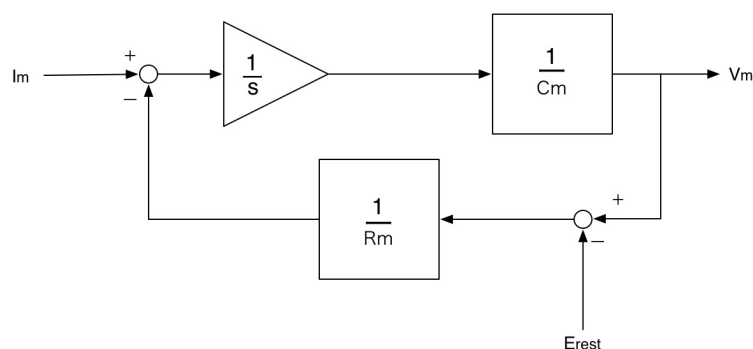


図 8 課題 1：ブロック線図

このブロック線図をコンピュータプログラムを使って FPAA に実装し、入力に周波数  $10\text{Hz}$  と  $10\text{kHz}$  の  $\sin$  波を入れた時の波形をプロットしたところ、図 9 および 10 を得た。入力周波数が小さい時は入力と出力がほとんど同じタイミングで観察され、入力に比べて出力振幅が大きい。一方入力周波数が大きくなると、出力が遅れ始め、振幅も小さくなるのが分かった。

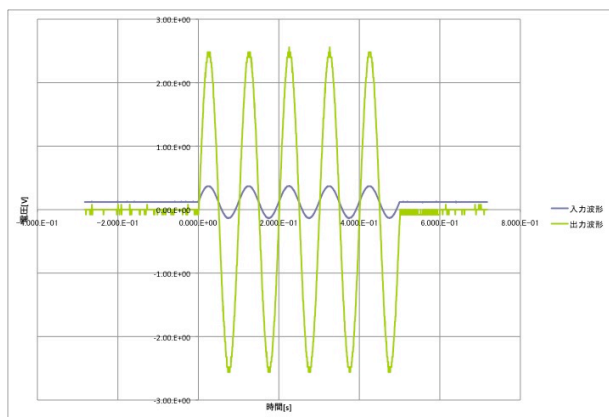


図 9 課題 1：入出力  $\sin$  波形（入力周波数  $10\text{Hz}$ ）

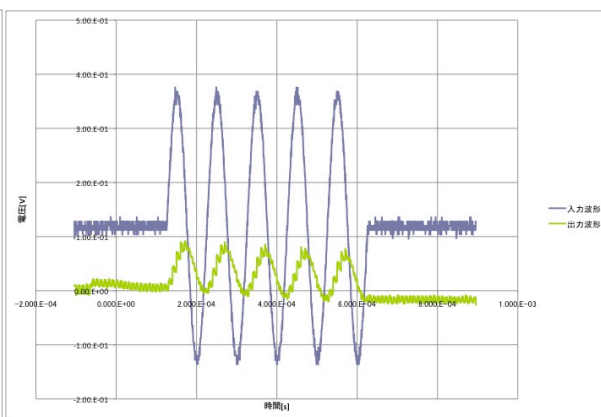


図 10 課題 1：入出力  $\sin$  波形（入力周波数  $10\text{kHz}$ ）

次に、 $C_m$  の値を  $5 \cdot 10 \cdot 20\text{pF}$  と変化させて入力・出力電圧振幅を測ったところ表 1 のようになった。

表 1 課題 1:  $C_m$  を変化させた時の入力・出力電圧振幅の変化

入力周波数[Hz]	$C_m=0.1$ (10[pF])			$C_m=0.2$ (20[pF])			$C_m=0.05$ (5[pF])		
	入力電圧振幅[V]	出力電圧振幅[V]	ゲイン[dB]	入力電圧振幅[V]	出力電圧振幅[V]	ゲイン[dB]	入力電圧振幅[V]	出力電圧振幅[V]	ゲイン[dB]
10	0.504	5.12	20.14	0.508	5.12	20.07	0.508	5.12	20.07
20	0.504	5.04	20.00	0.508	5.00	19.86	0.508	5.08	20.00
50	0.504	4.88	19.72	0.508	4.40	18.75	0.508	5.04	19.93
100	0.504	4.32	18.66	0.508	3.40	16.51	0.508	4.88	19.65
200	0.504	3.36	16.48	0.508	2.20	12.73	0.508	4.32	18.59
500	0.504	1.92	11.62	0.508	1.06	6.39	0.508	2.94	15.25
1000	0.504	1.10	6.78	0.508	0.560	0.85	0.508	1.88	11.37
2000	0.504	0.560	0.92	0.508	0.274	-5.36	0.508	1.05	6.31
5000	0.504	0.242	-6.37	0.508	0.113	-13.06	0.508	0.488	-0.35
10000	0.508	0.128	-11.97	0.508	0.0604	-18.50	0.508	0.252	-6.09

これをもとに横軸に周波数、縦軸にゲインをとって対数プロットした物が図 11 である。

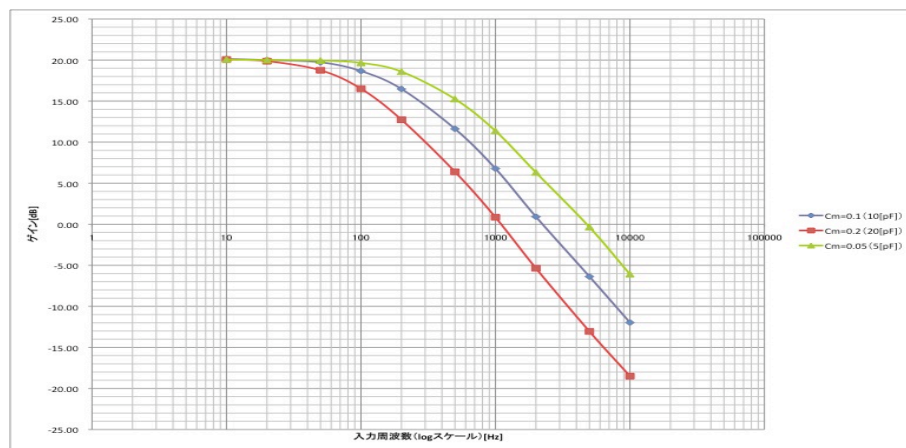


図 11 課題 1: ボード線図 ( $C_m=5 \cdot 10 \cdot 20$ pF)

そして、入力をステップ信号に変更し、 $C_m$  を  $5 \cdot 10 \cdot 20$ pF と変化させた時の応答波形をプロットした。結果を図 12・13・14 に示す。入力信号に対して出力信号の立ち上がりの遅れが発生しているが、それは  $C_m$  が大きいほど顕著であった。

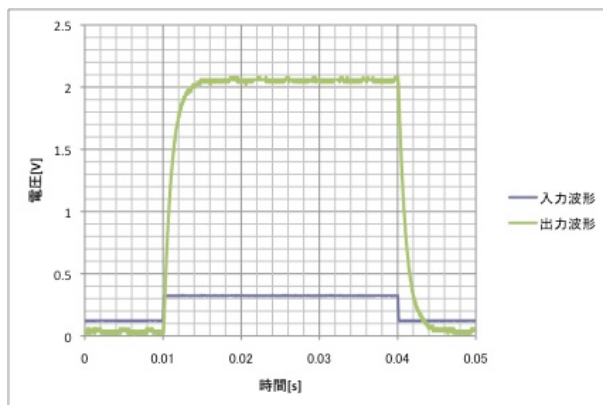


図 12 課題 1: ステップ応答波形 ( $C_m=10$ pF)

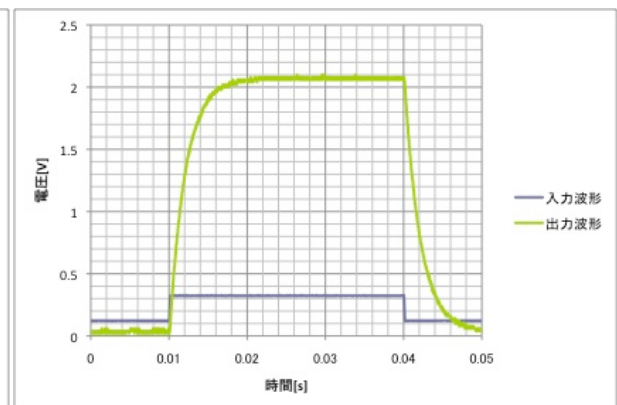


図 13 課題 1: ステップ応答波形 ( $C_m=20$ pF)

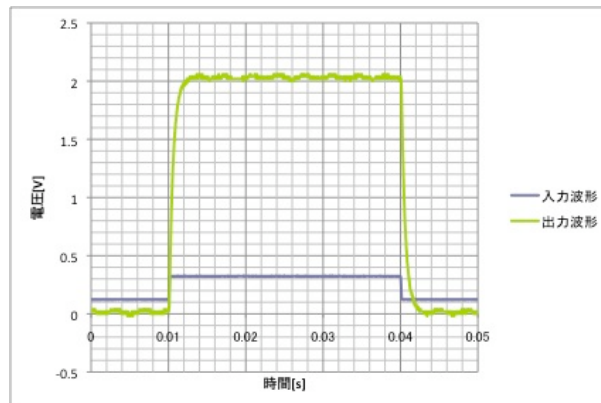


図 14 課題 1：ステップ応答波形 ( $C_m=5\text{pF}$ )

さらに、 $C_m=10\text{pF}$  のときの入出力電圧の関係を調べたところ、表 2 のようになり、これをグラフにした物が図 15 である。これより入出力電圧振幅の関係は比例であることが分かった。

表 2 課題 1：入力・出力電圧振幅の関係 ( $C_m=10\text{pF}$ )

$C_m=0.1(10[\text{pF}])$		入力周波数 1Hz	
入力電圧振幅[V]	出力電圧振幅[V]		
0.2	2.08		
0.264	2.64		
0.312	3.12		
0.4	4		
0.6	4.08	除外	

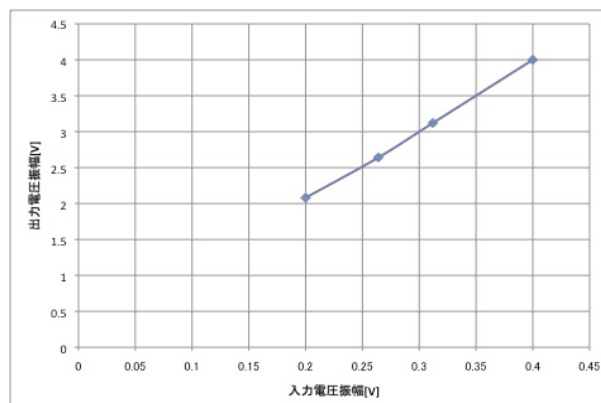


図 15 課題 1：入力・出力電圧グラフ ( $C_m=10\text{pF}$ )

最後に、膜抵抗と出力電圧の関係を調べるために、膜抵抗の値を変化させて表 3 の結果を得た。これをグラフにプロットしたところ、図 16 のようになった。これより、膜抵抗と出力電圧の間には比例の関係があることが分かった。

**課題 2** 図 4 で  $g_K$ 、 $E_K$  を開放除去した回路、すなわち、神経細胞で Na イオンのみの影響を考えたときの回路を考えた。ブロック線図は図 17 に示す通りである。

表 3 課題 1：膜抵抗・出力電圧振幅の関係 ( $C_m=10\text{pF}$ )

$C_m=0.1(10[\text{pF}])$		
膜抵抗 $R_m$	膜抵抗 $R_m[\Omega]$	出力電圧振幅 $V$
5	$5.0\text{E}+07$	1.36
10	$1.0\text{E}+08$	2.64
15	$1.5\text{E}+08$	3.92
20	$2.0\text{E}+08$	4.08 除外

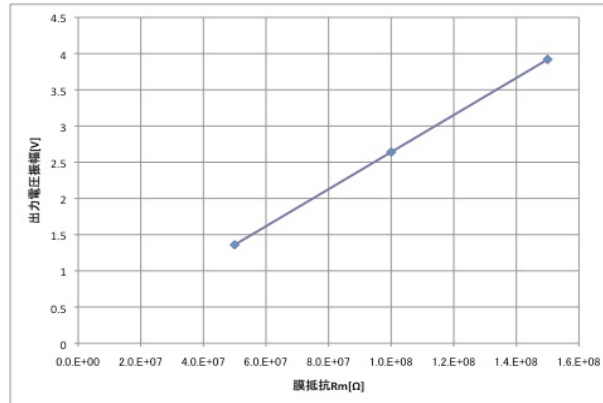


図 16 課題 1：膜抵抗・出力電圧グラフ ( $C_m=10\text{pF}$ )

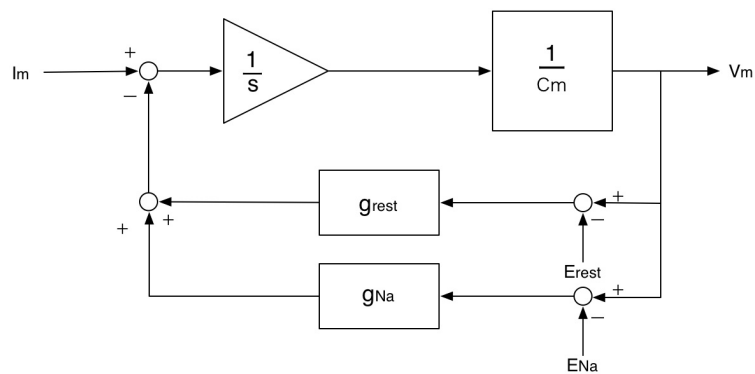


図 17 課題 2：ブロック線図

このブロック線図を FPAA に設定し、入出力電圧振幅を記録した。ここから図 18 および図 19 の 2 種類の波形が得られた。前者は入力に対して電圧の時間変化がなかったが、後者は周期的にピークが見られた。

入力電圧と出力電圧の関係について、スパイクが生じるまでの変化を詳しく調べたところ、表 4 を得た。青く塗った部分それぞれが図 18 および図 19 の波形に対応している。これをもとにグラフを描いたものが図 20 である。これより、出力電圧は入力電圧  $0.079\text{V}$  を境に急激に大きく変化していることが分かった。また、入力電圧振幅が  $0.0840\text{V}$  を越えると、出力電圧は急激に上昇し、実験回路で計測できなくなった。



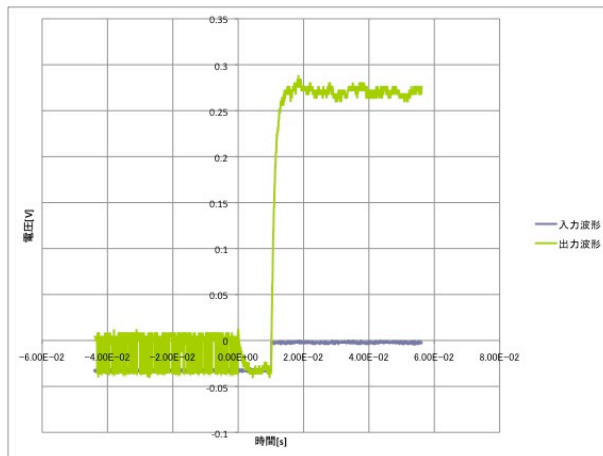


図 18 課題 2：入出力波形（入力電圧振幅=35.2mV・スパイク 0）

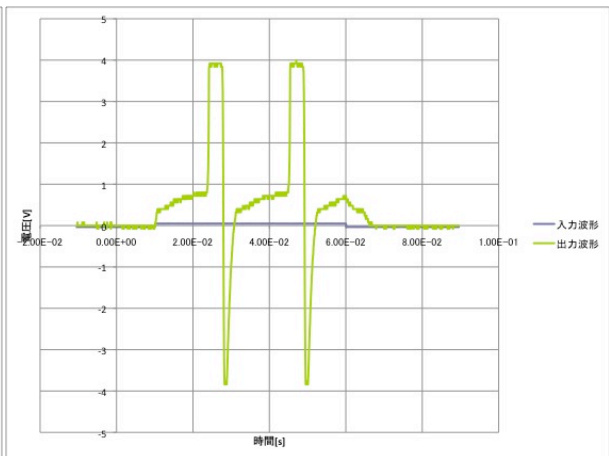


図 19 課題 2：入出力波形（入力電圧振幅=86.0mV・スパイク 2）

表 4 課題 2：入力・出力電圧振幅の関係 ( $C_m=10\text{pF}$ )

$C_m=0.1(10[\text{pF}])$		
入力電圧振幅[V]	出力電圧振幅[V]	
0.0352	0.328	除外
0.0752	0.768	
0.0768	0.768	
0.0776	0.766	
0.0792	0.766	
0.0800	0.808	
0.0808	0.808	
0.0816	0.824	
0.0824	0.832	
0.0840	7.84	除外
0.0860	7.84	除外

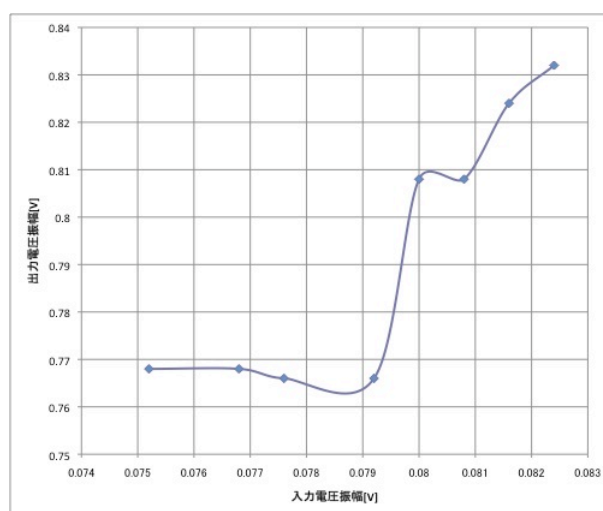


図 20 課題 2：入力・出力電圧グラフ ( $C_m=10\text{pF}$ )

課題3 図4に示された回路をブロック線図にしたものを図21に示す。

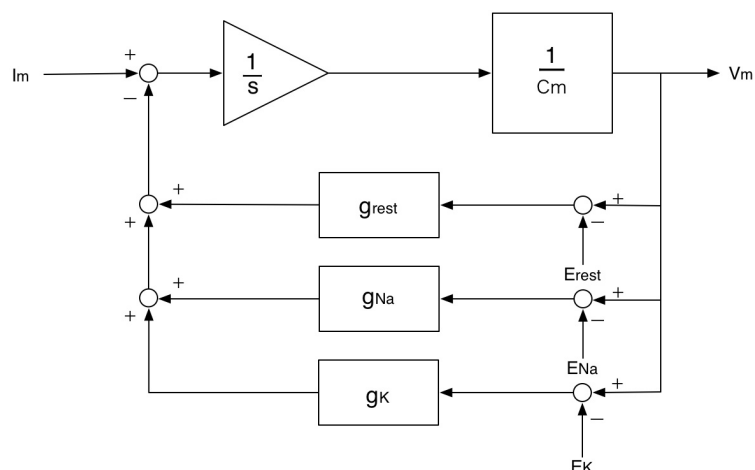


図21 課題3：ブロック線図

このブロック線図をFPAAにインプットし、様々な入力を与えたところ、3種類の波形が見られることが分かった。入出力波形3種を図22・23・24に示す。入力電圧が小さいとスパイクは見られないが、0.182Vを越えると少しずつスパイクが見え始め、0.208Vで最大のスパイク数17が得られた。

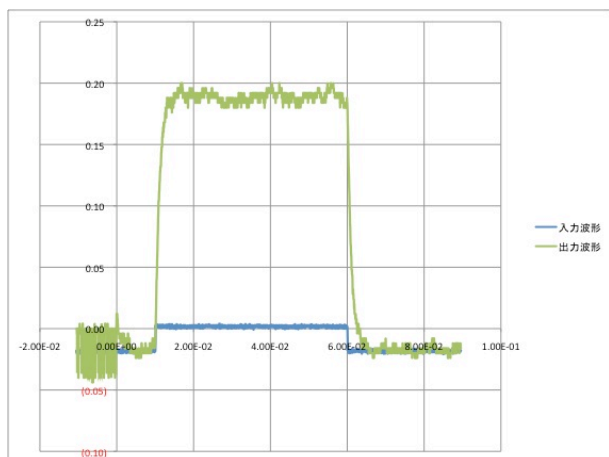


図22 課題3：入出力波形（入力電圧振幅=24.8mV・スパイク0）

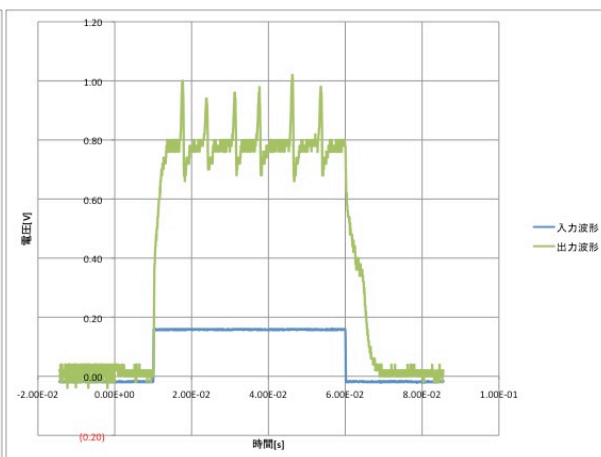


図23 課題3：入出力波形（入力電圧振幅=184mV・スパイク6）

入力電圧によって、出力電圧とスパイク数がどう変化するかを調べたところ、表5のようになった。青く塗った部分それぞれが図22・23・24の入出力波形に一致している。

これより、入力と出力電圧の関係をグラフにしたところ図25のようになった。また入力電圧とスパイク数の関係は図26のようになった。

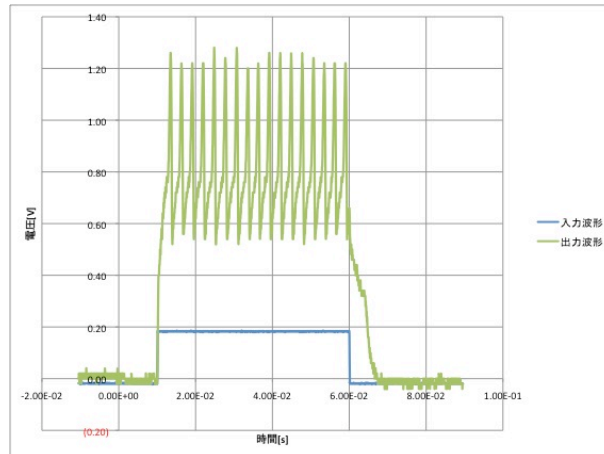


図 24 課題 3：入出力波形（入力電圧振幅=208mV・スパイク 17）

表 5 課題 3：入力・出力電圧振幅とスパイク数の関係（ $C_m=10\text{pF}$ ）

$C_m=0.1(10[\text{pF}])$			
入力電圧振幅[V]	出力電圧振幅[V]	スパイク数	
0.0248	0.248	0	
0.0348	0.344	0	
0.0448	0.44	0	
0.0552	0.52	0	
0.0648	0.528	0	
0.0752	0.56	0	
0.0864	0.592	0	
0.096	0.616	0	
0.106	0.648	0	
0.116	0.672	0	
0.182	1	3	
0.184	1.06	6	
0.186	1.06	8	
0.188	1.1	12	
0.192	1.12	14	
0.208	1.32	17	

## 6 検討

- (1) **受動特性の周波数特性について** 受動特性の等価回路である図 3 を見ると、この回路は電気回路のローパスフィルタに対応していることが分かる。周波数による変化は図 11 に示されたボード線図から調べることができる。周波数が小さい領域ではゲインは最大であるが、周波数が大きくなるにつれゲインは低下し、 $-20\text{dB/dec}$  の傾きで下がっている。また、 $C_m$  の値が大きくなるにつれ、ゲインの低下が低周波数領域で起こることが推測される。

ローパスフィルタの遮断周波数  $f_c$  は  $f_c = \frac{1}{2\pi R_m C_m}$  で求めることができるので、キャパシタンスが大きくなるに連れて遮断周波数は小さくなることが予想される。実際に  $C_m=5 \cdot 10 \cdot 20\text{pF}$  それぞれについて遮断周波数を求めると、 $f_c=318\text{Hz}$  ( $C_m=5\text{pF}$ )、 $159\text{Hz}$  ( $C_m=10\text{pF}$ )、 $79.6\text{Hz}$  ( $C_m=20\text{pF}$ ) と計算できる。この理論値は実験で得られたボード線図の遮断周波数に良く一致していると考えられる。

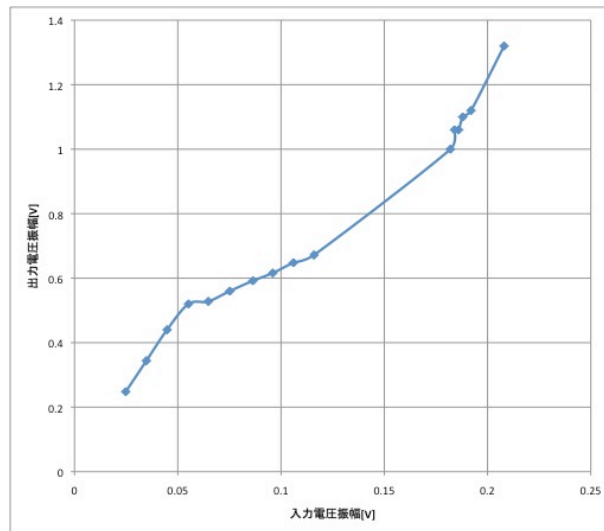


図 25 課題 3：入力・出力電圧グラフ

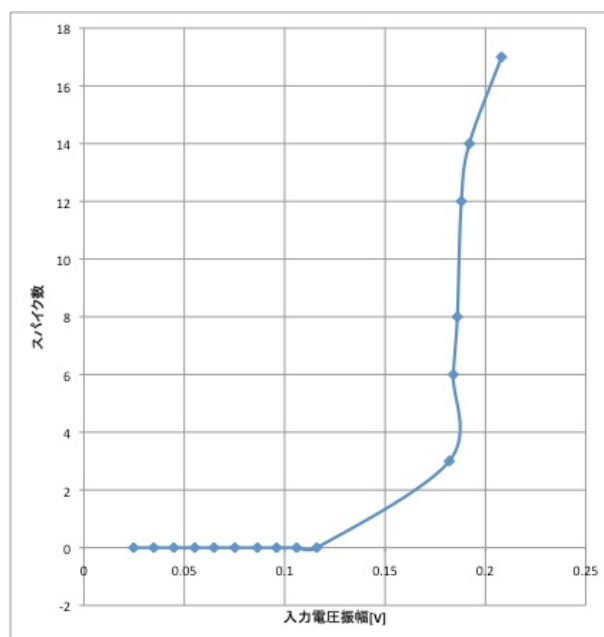


図 26 課題 3：入力活動電位（スパイク）数の関係

(2) **Na・K イオンチャネルの役割について** 静止膜電位はナトリウムとカリウムの相対的な透過性によって決定される。イオンチャネルがNaイオンとKイオンの濃度勾配を変化させることにより、細胞内外のイオン濃度が変化する。Overtonの研究によって、神経や筋の活動電位が発生するためにはナトリウムが必要であることが分かっており、実際にイカの軸索の実験で明らかにされている。さらにHodgkinとHuxleyらによって活動電位は一過的にプラスになるオーバーシュートが起こることが示されている。結局、長年の研究によって、多数のナトリウムチャネルが開くことによって膜のナトリウム透過性増大が起こることが実証されている。

一方活動電位の下降相はナトリウムチャネルが閉じるだけでなく、電圧依存性カリウムチャネルが開くことによる膜透過性の増大が原因となって起こることが分かっている。

以上のメカニズムにより、活動電位は膜のナトリウムに対する透過性が突然増大し、プラスの電荷を持つナトリウムイオンが急速に流入する結果発生するものであり、それに続いてカリウムに対する透過性が増大することでカリウムイオンが外向きに移動し、細胞内に蓄積したプラス電荷が消失することで活動電位が平衡状態に戻る事が分かる。

実験結果より、Naイオンのみが作用している時の出力電圧の変化は表4と図20で見ることができる。一方Na・K両イオンが作用している時の変化は表5および図25で確認できる。両者を見比べると、同じ入力電圧振幅でも出力電圧振幅はNaイオンのみの時の方が大きいことが分かる。例えば入力電圧振幅が0.0752Vの時、Naイオンのみの時では0.768Vであるのが、Kイオンも作用する時は0.56Vと抑えられていることが確認できる。また、Naイオンのみのときには入力電圧振幅が0.0840Vで出力電圧振幅が測定不能な値にまで増加しているが、Kイオンがはたらく時は0.592Vと低く抑えられたままである。これらの実験結果は、理論で述べたKイオンが活動電位を下げる働きを持っているために見られたと考えられる。

(3) **入力と出力の関係について（受動と能動）** 検討(2)と同じく、表4・図20と表5・図25で比較する。課題2で実験した受動特性では入力・出力電圧の関係は線形でなく、ある電位で急激に変化していることが分かる。出力電圧が測定不能になるぎりぎりの入力電圧のオーダーは10の-2乗オーダーである。逆に課題3の能動特性では入力・出力電圧の関係がほぼ線形で、入力電圧振幅が増加しても出力電圧振幅が振り切れることはない。これは前節で考察した通り、電位依存性Naチャネルは活動電位、すなわちスパイクを増やす働きがあり、電位依存性Kチャネルは活動電位により上昇した膜電位を静止電位に落とそうとする抑制効果があることを示していると考えられる。

なお、能動特性にある時の細胞の非線形コンダクタンス  $g_{Na}$  および  $g_K$  は検討の章で述べたHodgkin & Huxleyモデルが用いられるが、正確には

$$g_{Na} = g_{Na(max)} m^3 h, m = 1 - \exp(-t/\tau_m), h = \exp(-t/\tau_h) \quad (5)$$

および

$$g_K = g_{K(max)} n^4, 1 - \exp(-t/\tau_n) \quad (6)$$

で与えられる\*1。 $\tau$ は電圧に依存する時定数であり、 $n$ 、 $m$ 、 $h$ はそれぞれ0から1の間をとる指数関数である。すなわち、NaとKのコンダクタンスの時間経過は緩いS時型カーブを描き、膜電位が大きくなればなるほどコンダクタンスも上昇する。すると図4に示す可変抵抗 ( $g_{Na}$  および  $g_K$  の逆数) が小さくなり、カリウムチャネルおよびナトリウムチャネルを透過するイオンの動きが激しくなることが分かる。

\*1 「ニューロンから脳へ」 ジョン・G. ニコルス他著 第1部第4章 110 ページ

## 7 結論

1. 細胞はそれ自体がキャパシタと抵抗成分で構成された電気回路と捉えることができ、これをブロック線図に置き換えてシミュレーションすることで、神経細胞の電圧応答を解析することができる。
2. 細胞の受動特性は、細胞が静止しているときに K イオンチャネルが開いた状態で静止膜電位にあるときを言う。受動特性には周波数依存性があり、低周波数領域でゲインが大きくなるという電気回路におけるローパスフィルタと似た特性を持つ。キャパシタンスが小さいほどステップ応答波形は鋭い立ち上がり・立ち下がりを見せる。出力電圧は入力電圧と膜抵抗それぞれに比例する。
3. 能動特性は電位依存性の Na・K チャネルがはたらくことによって活動電位と呼ばれるインパルスを作る状態で、Na チャネルは活動電位を上昇させ、K チャネルはそれを静止膜電位に戻す働きを持つ。Na チャネルのみはたらく時は入力・出力特性は非線形となるが、K チャネルも同時にはたらく時は線形になる。また両チャネルがはたらくと入力電圧に応じてスパイクが見られるようになり、入力電圧が大きくなるほど活動電位数は上昇する。

## 8 謝辞

最後になったが、実験に協力してくれた班員の 5 人と、丁寧に指導して下さいった先生方・TA の方々に感謝申し上げたい。

## 9 参考文献

- 実験テキスト「B3 システム応答のシミュレーション解析」
- 「大阪大学物理学実験 2008」大阪大学物理教育研究会編 学術図書出版社 第 2 版第 1 刷 第 2 編
- 「ニューロンから脳へ」ジョン・G. ニコルス他著 金子章道他訳 廣川書店 第 3 版初版
- 「 $\text{\LaTeX}$  2<sub>ε</sub> 美文書作成入門 改訂第 4 版」奥村晴彦著 技術評論社 第 4 版第 6 刷

以上