

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年6月3日現在

機関番号：14303

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010～2012

課題番号：22350033

研究課題名（和文） 異相間電荷移動に駆動された電位振動の空間伝播・同期現象の計測と機構解明

研究課題名（英文） Measurement of spatial propagation and synchronization of potential oscillation driven by charge transfers between two phases and evaluation their mechanisms

研究代表者

前田 耕治 (MAEDA KOHJI)

京都工芸繊維大学・工芸科学研究科・教授

研究者番号：00229303

研究成果の概要（和文）：連結された2つの液膜電位振動系の相互依存関係が距離によって変わることを見出し、その関係を独立振動、不完全同期、完全同期の3つに分類した。同期関係にある場合は、一方の液膜系から他方へ電気パルスが伝播していること、その主要な経路は水相 | 有機相界面であること、その際、塩化物イオンの界面拡散がトリガーイオンとして重要であることなどを明らかにした。また、固有周期の異なる場合は、引き込み現象が生じることを示した。

研究成果の概要（英文）：Two liquid membrane oscillators composed of an aqueous solution containing cetyltrimethylammonium chloride (CTACl) and alcohol, W1 and W1', a nitrobenzene solution containing picric acid, O, and pure water phase, W2, were connected through O and W2 as common phases. The oscillations of two membrane potentials synchronized each other depending on the distance between the oscillators. The synchronization was attended by the propagation of potential pulse from one side to another with a velocity of 15 cm/s. It has been demonstrated that the propagation of oscillation pulse was dominated mainly by the interfacial conduction process and that the interfacial diffusion and distribution of Cl<sup>-</sup> played a crucial role.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	7,600,000	2,280,000	9,880,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	9,300,000	2,790,000	12,090,000

研究分野：分析化学

科研費の分科・細目：複合化学・分析化学

キーワード：(1) 膜電位振動 (2) 人工液膜系 (3) 振動の同期 (4) 電気信号の伝播 (5) 自律性

## 1. 研究開始当初の背景

神経科学の分野で活動電位の跳躍伝導が田崎一二によって提案されて久しい (Tasaki, 1939 年)。その後、ホジキン・ハックスレーによって活動電位の発生メカニズムが明らか

かにされ (Hodgkin, Huxley, 1952 年)、電気生理の研究はイオンチャネルなどの分子論的機構の解明に向かった。しかし、生命を司る神経、心臓、感覚細胞などの生体電気現象は、生体膜あるいは細胞間における複数の電荷

移動反応の複合として制御されており、電気化学的手法による界面電荷（イオン・電子）移動および膜透過電荷移動の時間・空間制御に関する総合的な検討が必要とされる。例えば、(i) 生体膜でのイオンや電子の移動は、電気的中性条件の制約より、別の電荷移動と共役して生じるとされるが、その共役反応の熱力学的・速度論的解析のための電気化学的研究は乏しい。また、共役する複数の電荷移動反応は必ずしも同一の部位で生じるとは限らず、トランスフェリンによる鉄イオンの取り込みとアニオン分配との共役など、ひとつの細胞内の異なる部位で共役が生じることも知られている。同一界面の異なる部位での電荷移動の共役は、2つのイオン移動部位間の距離や細胞内外液の電気伝導度などに依存して生じるが、共役の条件と可能性に関する電気化学的検討は皆無に近い。(ii) 神経における活動電位の伝導や心臓の拍動などは、複数の細胞間での電気信号の伝播や同期現象の代表例である。これは複数の細胞（電池）間での電気化学的共役現象にモデル化される。

液膜電位振動系での伝播をモデル化した研究例はわずかにあった（Yoshihisa ら、1997年）が、精密な解析のためには、異相空間での制御機構に関する電気化学理論と計測法の開発が必要とされる。本研究において基礎とした方法論は、異相界面におけるイオンや電子の移動を電気化学的に取り扱う方法として発展してきた液液界面電荷移動ポルタンメトリーおよび膜透過電荷移動ポルタンメトリーであった。この四半世紀の液液界面電気化学の発展は、電気化学、電気分析化学の概念を拡張し、2相間の電荷移動、すなわち、界面イオン移動・電子移動反応の精密な解析を可能にしてきた。その成果により、溶媒抽出、イオンセンサーなど、分離・分析化学の各種方法論の基本的原理の理解や基本的概念が確立された。さらに、2相系のイオン分配とガルバニ電位差の相補関係（Kakutani ら 1994年、Yoshida ら 1998年）や、膜反応と膜電位差の関係（Shirai ら 1995年、Kakiuchi 1998年）が理論的にも実験的にも明らかにされた。本研究では、これらの方法を基盤として、電荷移動反応の空間的制御や伝播の測定用に改良を加え、伝播機構およびそれがもたらす振動の同期の機構を明らかにした。

## 2. 研究の目的

(1) 2つの液膜電位振動系間に同期をもたらす伝播機構の解明

振動の伝播に、バルク伝導と界面伝導がどの程度関与しているのか、また、互いに制御し合うかどうかを明らかにする。2つの伝播様式による伝播速度の違いを明らか

にして、現実の伝播速度と比較する。

(2) 引き込み現象について

固有振動数の異なる2つの振動系を相互作用させた場合の引き込みの成否、また引き込みと伝播様式との関係を明らかにする。

(3) 第3の液膜系の効果

液膜振動系あるいは非振動性液膜系を3つ以上組み合わせたときの同期・伝播様式を調査し、生体での多様なシグナル伝達系との比較を行う。

## 3. 研究の方法

(1) 2つの液膜振動系での同期と伝播

セチルトリメチルアンモニウムという陽イオン性界面活性剤の塩化物塩（CTACI）を含む水相（W1）とピクリン酸を含むニトロベンゼン液膜（O）と何も含まない水相（W2）からなる  $W1 | O | W2$  の3相系をつくって、W1とW2の間の電位差  $E_{W1-W2}$  を測定すると、 $E_{W1-W2}$  は図1のように、約0.4Vの振幅の電位パルスが約1分の周期で自発的に継続して発生する。これは、NakacheとDupeyrat（1983年）が発見した液液界面での振動が液膜系に拡張された典型的な電位振動反応系である。

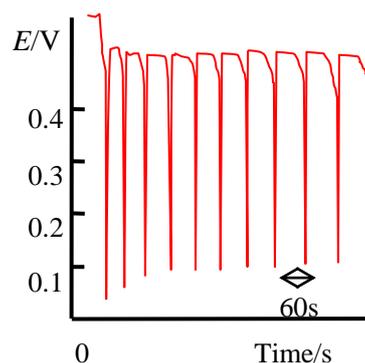


図1  $W1 | O | W2$  液膜系で観察される膜電位  $E_{W1-W2}$  の振動

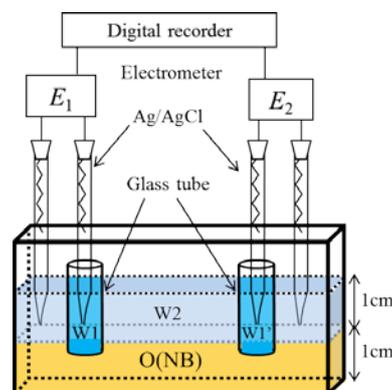


図2  $W1 | O | W2$  系と  $W1' | O | W2$  系を連結した液膜セル

この液膜振動系を2つ連結した電気化学セルを図2のように作製した。

E1 と E2 の膜電位差は、デジタルレコーダーで同時計測され、 $1 \mu\text{s} \sim 10 \text{ms}$  の分解能で伝播過程を解析した。また、界面に活性炭を浮かべて、デジタルカメラで界面拡散の様子を撮影した。

E2 の代わりに、液液界面電位差モニター用の 1 対の参照電極に変えて、伝播パルスの減衰を確認した。

#### (2) 引き込み現象の計測

図 2 において、CTACl の濃度を変えることにより、液膜系を非対称系として、一方向に偏った伝播過程、すなわち、引き込みが生じたかどうかを調査した。

#### (3) 第 3 の液膜系の挿入

図 2 の 2 つのガラス管の間に、もう 1 本のガラス管を挿入し、それが CTACl を含む振動系である場合とそうでない場合について調査した。

### 4. 研究成果

#### (1) 同期と伝播の距離依存性

2 つのガラス管の距離が 20 mm 以上離れたら、E1 と E2 の振動は全く影響し合わず、独自のタイミングでパルスが発生する。ガラス管の距離が 10 mm 以下になると、E1 と E2 は同時にパルスを発生する。すなわち、2 つの振動は同期する。10~20 mm の場合には、不完全に同期した。

このとき、デジタルレコーダーを用いて、同期した 1 組のパルスを 5 ms の時間分解能で解析すると、図 3 のように、一方のパルスは他方のパルスに約 70 ms 遅れて発生することが分かった。この時間差をパルス伝播速度に換算すると、15 cm/s であった。この結果は、同期現象は一方が他方に同調することにより生じることを示す。

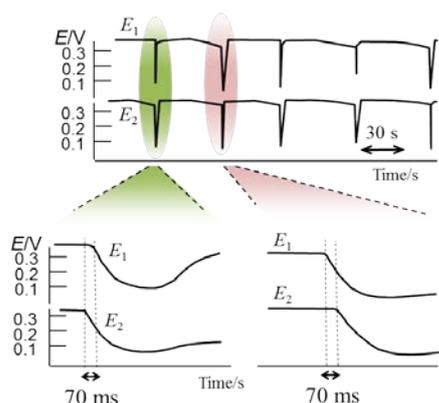


図 3 同期パルスの伝播の様子

伝播したパルスの減衰を調査すると、減衰の程度に応じて、完全同期、不完全同期、独立振動が生じていることが分かった。

0 と W2 に支持電解質を加えると、伝播速度は約 2 倍になった。しかし、界面のみを遮蔽したときのバルクのみでの伝播過程は、伝播速

度は 200cm/s 程度と早くなり、かつ振動の振幅は 100mV 以下と大きく減衰した。この結果は、バルク伝播ではなく、界面伝播が同期をもたらす本質的伝播様式であることを示す。活性炭の界面拡散の速度が電位パルスの伝播速度と一致したことにより、界面伝播の優位性が裏付けられた。

W2 側の界面近傍に  $\text{Cl}^-$  センサーを設置して界面近傍の  $\text{Cl}^-$  濃度を計測すると、電位パルスに同期して  $\text{Cl}^-$  濃度が変動した。 $\text{Cl}^-$  の拡散が電位パルスのトリガーになっていることが示唆された。

#### (2) 引き込み現象

同一周期の振動間では、伝播の方向は両方向性を示した。一方、30~150 秒の範囲で、異なる周期 T1, T2 をもつ振動を組み合わせると、伝播の方向性は、 $(T1/T2)^5$  にしたがって非線形的に一方に偏ることが示された。この指数は引き込みの強さを示している。

#### (3) 第 3 の液膜系の影響

同期しない距離にある 2 つの振動系 E1 と E2 の間に、第 3 のガラス管を挿入した。そのガラス管内の水溶液は、非振動系である NaCl 水溶液のみであるにもかかわらず、その挿入により、E1 と E2 の同期が促進された。

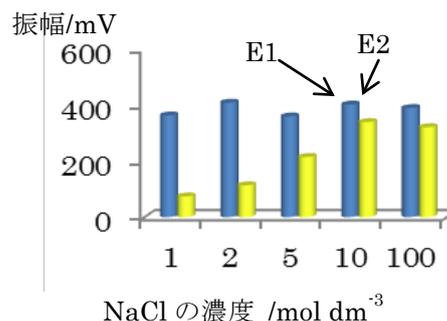


図 4 第 3 の液膜中の NaCl の濃度と E1 に同期した E2 の振幅の関係

生体中の神経軸索における電位パルスの伝播は、中間に髄鞘という絶縁部位とその切れ目のイオン透過部位の存在により加速するといわれている。先の実験において、パルス発生には関わらない第 3 のガラス管がパルス伝播を促進するという現象は髄鞘の役割に似ている。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

- ① Y. Tatsuno, T. Kozuru, Y. Yoshida and K. Maeda, Propagation and synchronization of potential oscillations in multiple liquid membrane systems, *Analytical Sciences*, 査読有り, 28(12) (2012) 1145-1151.

<http://www.jsac.or.jp/analsci/toc.php/28/12/>

〔学会発表〕(計 62 件)

- ①小鶴拓海、山口祐哉、吉田裕美、前田耕治、液液界面を伝播する電位パルスの経路と速度、第 73 回分析化学討論会、2013 年 5 月 18 日、北海道大学函館キャンパス。
- ②辰野吉英・小鶴拓海・吉田裕美・前田耕治、複数の液膜電位振動間の伝播と同期、日本化学会第 93 春季年会、2013 年 03 月 22 日、立命館大学びわこ草津キャンパス。
- ③小鶴拓海、山口祐哉、辰野吉英、吉田裕美、前田耕治、複数の連結液膜系を用いた電位振動の界面伝播の機構、第 58 回ポーラログラフイーおよび電気分析化学討論会、2012 年 11 月 26 日、高尾の森わくわくビレッジ 東京都八王子。
- ④小鶴拓海、辰野吉英、吉田裕美、前田耕治、3 つの連結液膜系での電位振動の相互伝播—同期の抑制と促進—、日本分析化学会第 61 年会、2012 年 09 月 19 日、金沢大学角間キャンパス。
- ⑤小鶴拓海、辰野吉英、吉田裕美、前田耕治、同期中の液膜電位振動の自律性の解析、第 72 回分析化学討論会、2012 年 05 月 19 日、鹿児島大学郡元キャンパス・工学部。
- ⑥辰野吉英、杉本満、小鶴拓海、吉田裕美、前田耕治、液膜電位振動の伝播機構—バルク伝導と界面伝導の競合—、日本分析化学会第 60 年会、2011 年 9 月 14 日、名古屋大学・名古屋市。
- ⑦ Kohji Maeda, Yoshihide Tatsuno, Yumi Yoshida, Mechanism of Propagation and Synchronization Of Potential Oscillations in Liquid Membrane Systems, IUPAC International Congress on Analytical Sciences 2011, May 22 (2011), Kyoto International Conference Center, Japan.
- ⑧辰野吉英、吉田裕美、前田耕治、複数の液膜系における電位振動の伝播と同期の機構、日本分析化学会第 59 年会、2010 年 9 月 15 日、東北大学・仙台市。
- ⑨ Y. Tatsuno, Y. Yoshida, K. Maeda, Synchronization of multiple potential oscillations in liquid membrane systems, 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Dec 15, 2010, Honolulu, USA.
- ⑩辰野吉英、奥垣智彦、吉田裕美、前田耕治、膜電位振動はどのように伝播するのか—細胞間の伝播と同期のモデル—、第 56 回ポーラログラフイーおよび電気分析化学討論会、2010 年 11 月 6 日、秋田大学工学資源学部・秋田市。

〔図書〕(計 1 件)

- ①岡田哲男、垣内隆、前田耕治、「分析化学の基礎」(化学同人、2012 年)

〔その他〕

<http://www.cis.kit.ac.jp/~anallab/AnalChemHP/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

前田 耕治 (MAEDA KOHJI)  
京都工芸繊維大学・工芸科学研究科・教授  
研究者番号：00229303

### (2) 研究分担者

吉田 裕美 (YOSHIDA YUMI)  
京都工芸繊維大学・工芸科学研究科・准教授  
研究者番号：40314306

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：