

速 報

ノナクチンによる脂質二分子膜を介した促進イオン透過の
電気化学的研究大西 純¹, 加納 健司¹, 白井 理^{®1}

1 緒 言

細胞膜は主に脂質とタンパク質から構成されており、疎水性のアルキル鎖が内側に向き合って二列に並んだ脂質二分子膜 (BLM) は最も単純な細胞膜モデルとしてよく用いられてきた^{1)~3)}. 細胞膜を介したイオン透過は神経伝達や呼吸・代謝, 光合成などの生体内反応に関与しているため, BLM を介したイオン透過機構の解明はこれらの生体内反応の理解において重要であると考えられる.

細胞膜を介したイオン透過には (i) 疎水性イオンのように直接脂質層を透過するもの, (ii) 対象となるイオンがキャリアと呼ばれる配位子と錯体を形成して膜を透過するもの, (iii) チャネル・ポンプのようにペプチド及びタンパク質によって形成された透過孔を介してイオンが膜を透過するものが一般的に知られている^{1)~3)}. (i), (ii) については, 疎水性イオン及びキャリア化合物と錯形成するイオンが主に移動していると考えられている. しかし, 著者らは (i) のタイプによるイオン透過について, 疎水性イオンが膜系に存在する場合は, 疎水性イオンだけでなくその対イオンも移動することを見いだした⁴⁾. とくに水相に疎水性が極めて高いイオンが $10^{-7} \sim 10^{-5}$ M 含まれる場合は, 疎水性イオンが膜内で対イオンを運ぶキャリアとしてふるまうことを報告した. このことから, (ii) のキャリアタイプのイオン移動においても, 疎水性イオンの場合と同様に対イオンも移動していることが類推される.

(ii) のキャリアタイプの膜透過については, とくに中性のキャリア化合物による促進移動について数多く報告されている^{4)~13)}. 具体的な例としては, valinomycin (Val), nonactin (Non) などの抗生物質やクラウンエーテルなどによるアルカリ金属イオンの促進移動がある. 中性キャリアによるイオンの膜透過機構は, イオンが膜内のキャリア化合物と安定な錯体を形成し, その錯体が膜内を拡散し反対側の水相へと移動するというモデルが一般的である^{6)~8)} (Fig. 1a). しかし, このモデルで考えた場合, 膜内に存在するイオンはキャリア化合物と錯形成した錯イオンだけ

となるため, 膜内の電気的中性則が保持されていないことになる.

そこで著者らは, 疎水性イオン添加時のイオン透過⁴⁾と同様に膜内の電気的中性則を保持しながら錯イオンと対イオンが等量膜内に分配し, 両イオンが逆向きに移動するモデルを提案した⁴⁾⁵⁾ (Fig. 1b). また, Sato らや Wittenkeller らも中性キャリアによるイオン透過の際に対イオンが移動していることを報告している^{11)~13)}. しかし, このモデルの詳細はいまだ明らかにされていない. そこで, 本研究では, 多くの類縁体を持つ中性キャリア化合物である Non について, 対イオンの影響を考慮して解析を行い, 促進イオン透過機構の詳細を検討した.

2 実 験

BLM は Fig. 2 のセルを用いて下記のとおりで作製した⁴⁾⁵⁾. (i) セルの両室 (W1, W2) にそれぞれ 15 mL の支持電解質溶液 (例: 0.1 M KCl) を満たした. (ii) W1, W2 間にはさみ込んだテフロンシート (膜厚 0.2 mm) の小孔部分 (直径 1 mm) に脂質溶液を絵筆で塗りつけた

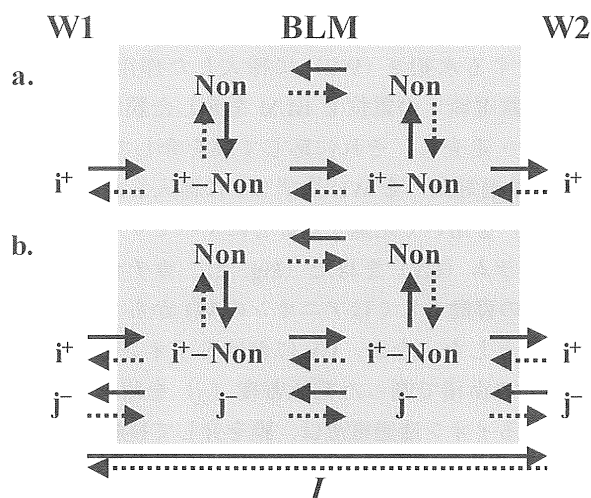


Fig. 1 The schematic models of the ion transfer mechanism in the presence of nonactin

(a) prevailing model and (b) our proposed model⁴⁾⁵⁾

¹ 京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻生体機能化学分野: 606-8502 京都府京都市左京区北白川追分町

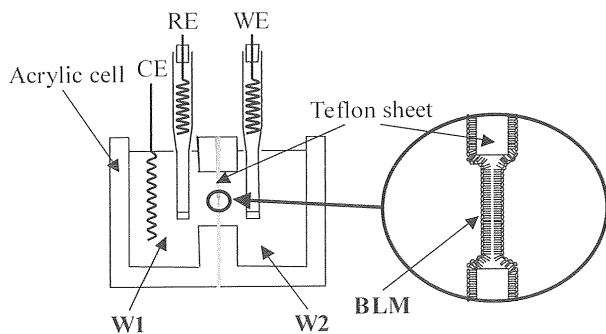


Fig. 2 The schematic diagram of the electrochemical cell used for voltammetric measurements for the ion transport across BLMs⁽⁴⁾⁵⁾

(刷毛塗り法). (iii) 脂質溶液の液膜が自然薄化して BLM (黒膜) が形成した. (iv) 全反射光の観察によって BLM の形成を確認し, 電気容量の測定からも BLM の形成を確認した. このようにして形成した BLM は, 小孔部分の 7~9 割の面積であった (BLM の面積は顕微鏡の目盛を用いて目視で計測した). なお, BLM 形成に用いた脂質溶液は lecithin (卵黄由来, 和光純薬工業製) 10 mg, cholesterol (Chl, 関東化学製) 5 mg を *n*-decane (和光純薬工業製) に溶かして 1 mL に調製したものである. Non (*Streptomyces tsusimaensis* 由来, シグマ製) は式(1)で示される濃度比 (r_{Non}) となるように脂質溶液に溶解させた. ここで [X] は X の脂質溶液中でのモル濃度である. なお, 同法で作製した BLM には若干の溶媒が残ると考えられるが無視できるほど少量であると仮定した.

$$r_{\text{Non}} = \frac{[\text{Non}]}{[\text{lecithin}] + [\text{Chl}] + [\text{Non}]} \quad (1)$$

水相 1 (W1) に挿入した参照電極 (RE, 銀 | 塩化銀電極) に対する水相 2 (W2) に挿入した作用電極 (WE, 銀 | 塩化銀電極) の電位を BLM を介した膜電位 (E) として印加・走査し, それに応じて膜を介して流れる電流 (イオン透過電流) を WE 及び W1 に挿入した対極 (CE, 白金電極) を用いて記録することによってサイクリックボルタモグラム (CV) を得た (Fig. 2). カチオンの W2 から W1 への移動もしくはアニオンの W1 から W2 への移動を正電流とした. なお, CV におけるイオン透過電流は, 黒膜部分の面積で割った電流密度 (j) を用いた. また, 観察されるイオン透過電流は, 膜を介して移動するすべてのイオンのイオン透過電流を合計したものである. 電解質溶液としては 0.1 M LiCl, 0.1 M NaCl, 0.1 M KCl, 0.1 M RbCl, 0.1 M CsCl, 0.1 M KF, 0.1 M KBr, 0.1 M KSCN, 0.1 M KClO₄ を用いた. ここで, Non は pH の影響は受けられないと考えられるので, 膜を介して移動するイオンの種類

を減らすために緩衝液は用いなかった.

なお, 電気ノイズを減少させるため, セルをファラデーケージに入れて測定を行った. また, 試薬は指定しない限りすべて試薬特級品を用い, 測定はすべて室温で行った.

3 理 論

従来の中性キャリアによるイオン透過モデルを Fig. 1a に示す. このモデルでは, イオンの錯形成反応及び錯イオンの BLM 内の拡散のみを考慮していた^(6)~10). この場合, BLM 内に存在するイオンは錯イオンだけとなるため, BLM 内の電気的中性則が保持されておらず, 電荷の不均衡が生じてしまうと考えられる. そこで著者らは Fig. 1b に示すように, 錯イオンと等量の対イオンが BLM 内に分配し, BLM 内の電気的中性則を保持しながら両イオンが同時に移動しているというモデルを提案した⁽⁴⁾⁵⁾. 定常電流になっている場合は, BLM を介したあるイオンのイオン透過電流密度 (j) は式(2)に示す Goldman-Hodgkin-Katz の式に従うと考えられる⁽¹⁴⁾.

$$j = - \left(\frac{c_w P z^2 F^2}{RT} \right) \Delta E \quad (2)$$

ここで, c_w は水相中のイオン濃度, P は透過係数, z はイオンの電荷数, ΔE は膜電位である. P は分配係数 (β) と拡散係数 (D), BLM の膜厚 (d) を用いて以下のように表される.

$$P = \frac{\beta D}{d} \quad (3)$$

観察されるイオン透過電流密度は各イオンにより生じるイオン透過電流密度の合計である. そこで, 移動するイオンはカチオン (M^+) とアニオン (X^-) の二つのイオンだけであり, カチオン及びアニオンの水相での濃度は等しく, また電気的中性則から β は等しいと仮定すると, 観察されるイオン透過電流密度 (j_{total}) は式(4)で表される.

$$j_{\text{total}} = - \frac{c_w z^2 F^2}{RTd} \Delta E \beta (D_{M^+} + D_{X^-}) \quad (4)$$

水 | 各種有機溶媒間での分配係数はイオンの種類により数百倍から数万倍も変化することが Walter らにより報告された⁽¹⁵⁾. 例えば水 | ヘキサデカン間の分配係数は HF では 4.2×10^{-6} だが HCl では 6.0×10^{-2} であり, 約 1 万倍も異なる. 一方, 拡散係数の変化は分配係数の変化に比べてはるかに小さい⁽¹⁶⁾. 例えば, 0.1 M LiCl の水中での相互

Table 1 The molar Gibbs energy of the hydration, $\Delta G_{\text{hyd}}^{\circ}$ ²⁰⁾, and the standard molar Gibbs energy of transfer of ions from water to nitrobenzene, NB, $\Delta G_{\text{tr,NB}}^{\circ}$ ¹⁹⁾ of ions^o

ion	$-\Delta G_{\text{hyd}}^{\circ}/\text{kJmol}^{-1}$	$\Delta G_{\text{tr,NB}}^{\circ}/\text{kJmol}^{-1}$
Li ⁺	476	38.2
Na ⁺	365	34.2
K ⁺	295	23.5
Rb ⁺	275	19.4
Cs ⁺	250	15.4
F ⁻	465	—
OH ⁻	430	—
Cl ⁻	340	38.2
Br ⁻	315	27.8
SCN ⁻	280	15.8
ClO ₄ ⁻	205	7.9

拡散係数は $1.26 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ であるのに対して 0.1 M KCl の水中での相互拡散係数は $1.84 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ である. このことから, イオン透過電流の変化は主に分配係数の変化に依存していると考えられる.

次に, 水相 | BLM でのイオン対の分配は水相 | 有機相でのイオン対の分配と同様に取り扱えると仮定して, 分配係数と溶媒間イオン移動エネルギー ($\Delta G_{\text{tr}}^{\circ}$) の関係を議論する. また, 水相 | BLM では体積比は非常に大きい, イオンの移動により各相の体積変化が起こらないと仮定すると, 体積比が 1:1 の場合と同様に取り扱うことができる¹⁷⁾. これらの仮定の下で水相 | BLM でのイオン対抽出を考えると, β は各イオンの水から BLM への溶媒間イオン移動エネルギー ($\Delta G_{\text{tr}}^{\circ}$) の関数として式(5)で表現できる¹⁸⁾.

$$\ln \beta = -\frac{\Delta G_{\text{tr,M}^+}^{\circ} + \Delta G_{\text{tr,X}^-}^{\circ}}{2RT} \quad (5)$$

$\Delta G_{\text{tr,M}^+}^{\circ}$, $\Delta G_{\text{tr,X}^-}^{\circ}$ はそれぞれカチオン (M^+), アニオン (X^-) の溶媒間イオン移動エネルギーである. また, カチオン (M^+) が BLM 内のキャリア化合物と 1:1 で錯形成する場合には式(5)は式(6)のように表現される¹⁸⁾.

$$\ln \beta = -\frac{\Delta G_{\text{tr,M}^+}^{\circ} + \Delta G_{\text{tr,X}^-}^{\circ}}{2RT} \quad (6)$$

ここで, $\Delta G_{\text{tr,M}^+}^{\circ}$ は錯形成によるカチオンの安定化効果を含む溶媒間イオン移動エネルギーであり式(7)で表現される¹⁸⁾.

$$\Delta G_{\text{tr,M}^+}^{\circ} = \Delta G_{\text{tr,M}^+}^{\circ} - 2RT \ln(1 + K_{\text{st}} c_{\text{carrier}}) \quad (7)$$

ここで, K_{st} は錯形成定数であり式(8)で表される. ま

た, c_{carrier} は BLM 中のキャリア化合物の濃度である.

$$K_{\text{st}} = \frac{[\text{M}^+ - \text{carrier}]}{[\text{M}^+][\text{carrier}]} \quad (8)$$

イオン対の分配係数は式(5)より各イオンの溶媒間イオン移動エネルギーに依存する. また, イオンがキャリア化合物と錯形成する場合には, 式(6), (8)より溶媒間イオン移動エネルギーは錯形成定数及びキャリア化合物の濃度の関数となる.

しかし, 水から BLM への溶媒間イオン移動エネルギーは評価されていない. そこで, 溶媒間イオン移動エネルギーを疎水性の尺度であると考え, 同様に疎水性の指標として用いられる水和エネルギーを用いて考える. 水和エネルギーとは水相中での水との結合を切断し真空中へと移動させるために必要となるエネルギーである. 比較のために Table 1 に水からニトロベンゼンへの溶媒間イオン移動エネルギー ($\Delta G_{\text{tr,NB}}^{\circ}$)¹⁹⁾ と水和エネルギー ($\Delta G_{\text{hyd}}^{\circ}$)²⁰⁾ を示した. $\Delta G_{\text{tr,NB}}^{\circ}$ は Osakai らによって液液界面イオン移動ポルタンメトリーによって見積もられた値であり, $\Delta G_{\text{hyd}}^{\circ}$ は Marcus によってイオン半径から見積もられたものである. 溶媒間イオン移動エネルギーと水和エネルギーの間には直線関係が成立することから, 水から BLM への溶媒間イオン移動エネルギーを水和エネルギーに置き換えて考察することは妥当であると思われる.

したがって, キャリア化合物の BLM 内の濃度だけを変えた場合には式(4), (6), (7)よりイオン透過電流密度はその濃度に依存し, 特に $1 \ll K_{\text{st}} c_{\text{carrier}}$ の条件が成立する場合には, イオン透過電流密度の対数は c_{carrier} に比例すると考えられる. また, アニオンの種類を固定したまま, カチオンの種類を換えた場合は, 式(4), (6), (7)よりイオン透過電流密度の対数はカチオンの水和エネルギー及び錯形成定数に依存すると考えられる. 逆に, カチオンの種類を固定したままアニオンの種類を換えた場合は, 式(4), (6)よりイオン透過電流密度の対数はアニオンの水和エネルギーに依存すると考えられる.

4 結果及び考察

4.1 0.1 M KCl を支持電解質とした場合の BLM を介した Non による促進イオン移動

W1, W2 を 0.1 M KCl で満たし, r_{Non} が 5.3×10^{-4} , 1.6×10^{-4} , 5.3×10^{-5} , 0 の BLM を作製して, -125 mV から $+125 \text{ mV}$ の電位差領域で CV を測定した (Fig. 3). Non を含まない場合は Fig. 3 curve 4 のようにイオン透過電流は流れなかった. Non を含む場合はイオン透過電流が流れ, 電位走査速度に依存せず定常電流となった. イオン透過電流は BLM 内の r_{Non} の上昇とともに上昇した. 本

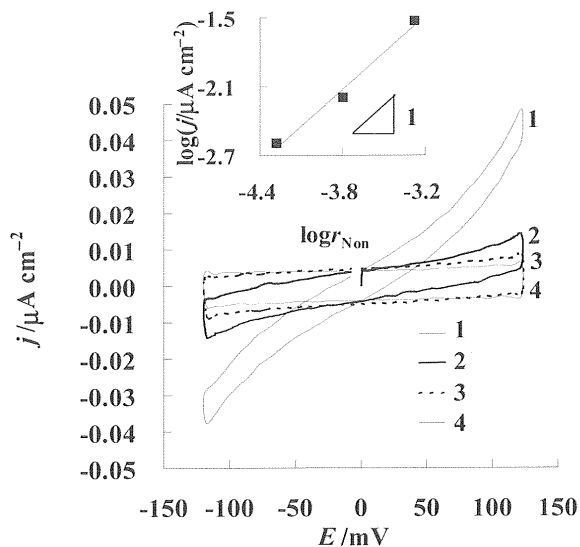


Fig. 3 Cyclic voltammograms for the ion transfer across a BLM composed of lecithin, cholesterol and nonactin

Potential scanning rate: 10 mV s^{-1} . $r_{\text{Non}}: 5.3 \times 10^{-4}$ (curve 1), 1.6×10^{-4} (curve 2), 5.3×10^{-5} (curve 3), 0 (curve 4). The inset shows the dependence of $\log j$ at 100 mV on $\log r_{\text{Non}}$

実験系においては $[\text{lecithin}] + [\text{Chl}] \gg [\text{Non}]$ の関係が成り立つと考えられる。したがって、 c_{carrier} は r_{Non} を用いて式(9)のように書き換えることができる。

$$c_{\text{carrier}} = ([\text{lecithin}] + [\text{Chl}])r_{\text{Non}} \quad (9)$$

よって式(4), (6), (7) から $1 \ll K_{\text{st}}c_{\text{carrier}}$ の条件下では j_{total} は r_{carrier} に比例すると考えられる。ここで、膜電位として 100 mV 印加時のイオン透過電流密度の対数を r_{Non} の対数に対しプロットしたところ、Fig. 3 挿入図のように傾きは約 1 となった。また、任意の膜電位を印加した際のイオン透過電流密度についても同様の関係が成立した。したがって任意の膜電位においてイオン透過電流密度は r_{Non} に比例することが分かった。

4・2 Non による促進イオン移動へのカチオンの影響

W1, W2 を 0.1 M MCl ($M = \text{Li}^+, \text{Na}^+, \text{K}^+, \text{Rb}^+, \text{Cs}^+$) で満たし、 r_{Non} が 5.3×10^{-4} となる BLM を作製して CV を測定した (Fig. 4)。CV は定常電流となり、カチオンを換えることによりイオン透過電流の大きさが変化した。任意の膜電位におけるイオン透過電流密度は $\text{RbCl} > \text{KCl} > \text{CsCl} \equiv \text{NaCl} \equiv \text{LiCl}$ の順となった。カチオンとして K^+, Rb^+ を用いた場合は大きなイオン透過電流が流れたが、 $\text{Li}^+, \text{Na}^+, \text{Cs}^+$ を用いた場合はほとんどイオン透過電流が流れなかった。このカチオンへの依存性は式(4),

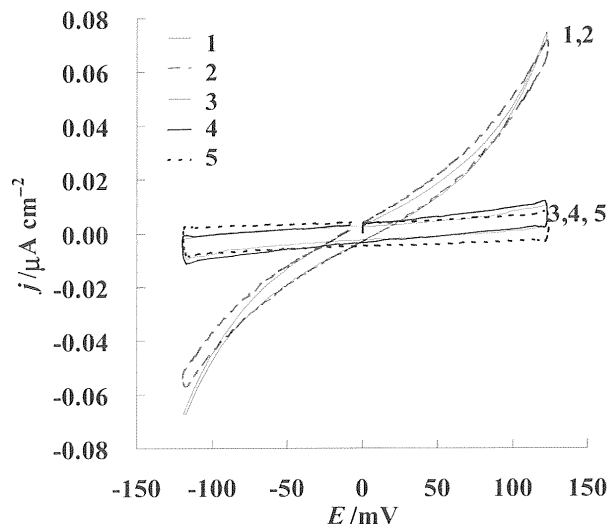


Fig. 4 Cyclic voltammograms for the ion transfer across a BLM composed of lecithin, cholesterol and nonactin

Potential scanning rate: 10 mV s^{-1} . $r_{\text{Non}}: 5.3 \times 10^{-4}$. Electrolyte in W1 and W2: 0.1 M RbCl (curve 1), 0.1 M KCl (curve 2), 0.1 M CsCl (curve 3), 0.1 M NaCl (curve 4), 0.1 M LiCl (curve 5)

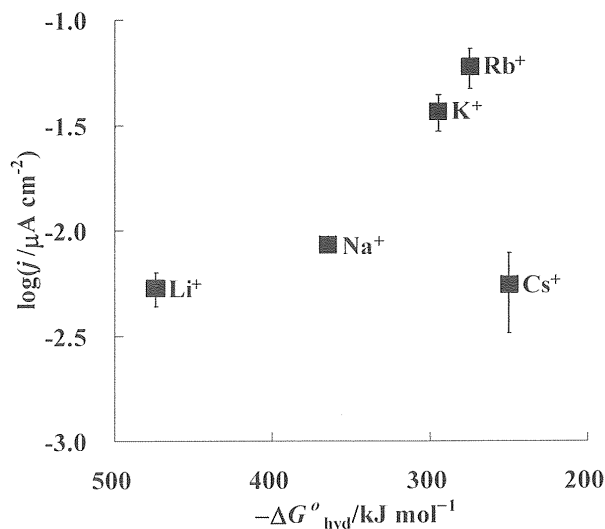


Fig. 5 The dependence of $\log j$ at 100 mV on the molar Gibbs energy of the hydration, $\Delta G_{\text{hyd}}^{\circ}$. $r_{\text{Non}}: 5.3 \times 10^{-4}$. Electrolyte in W1 and W2: 0.1 M MCl ($M = \text{Li}^+, \text{Na}^+, \text{K}^+, \text{Rb}^+, \text{Cs}^+$)

(6), (7) からカチオンの $\Delta G_{\text{hyd}}^{\circ}$ 及び K_{st} に依存すると考えられる。Fig. 5 は 100 mV 印加時のイオン透過電流密度の対数を $\Delta G_{\text{hyd}}^{\circ}$ に対してプロットしたものである。Cs⁺ を除くと $\Delta G_{\text{hyd}}^{\circ}$ に依存してイオン透過電流密度の対数が上昇していることが分かる。Cs⁺ が $\Delta G_{\text{hyd}}^{\circ}$ から予想されるよりも非常に小さい値となっているのは、錯形成による影響であると考えられる。BLM 中での K_{st} は評価できない

Table 2 Stability constants in acetonitrile, $K_{st,1}^{21)}$, in dry acetone, $K_{st,2}^{22)}$, and in wet acetone, $K_{st,3}^{22)}$ of alkali metal cations

cation	$\log K_{st,1}$	$\log K_{st,2}$	$\log K_{st,3}$
Li^+	—	—	—
Na^+	4	4.8	2.3
K^+	4.4	4.8	4.3
Rb^+	3.9	—	—
Cs^+	2.6	4.0	2.6

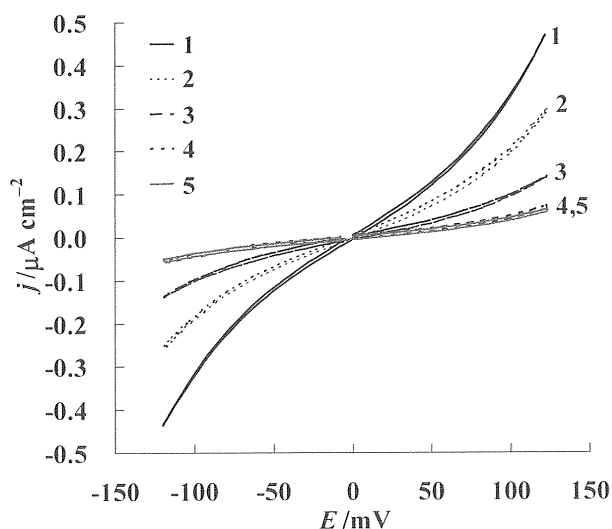


Fig. 6 Cyclic voltammograms for the ion transfer across a BLM composed of lecithin, cholesterol and nonactin

Potential scanning rate: 10 mV s^{-1} . $r_{\text{Non}}: 5.3 \times 10^{-4}$. Electrolyte in W1 and W2: 0.1 M KClO_4 (curve 1), 0.1 M KSCN (curve 2), 0.1 M KBr (curve 3), 0.1 M KCl (curve 4), 0.1 M KF (curve 5)

ためいくつかの溶媒中での各カチオンについての Non との $K_{st}^{21)22)}$ を Table 2 に示す. いずれの溶媒中でも Cs^+ の K_{st} は非常に小さくなっている. このことから BLM 中での K_{st} も他のカチオンに比べ小さいと推測される. これが CsCl を用いた場合にイオン透過電流密度が非常に小さくなっている原因であると考えられる.

4.3 Non による促進イオン移動へのアニオンの影響

W1, W2 を 0.1 M KX ($\text{X} = \text{F}^-, \text{Cl}^-, \text{Br}^-, \text{SCN}^-, \text{ClO}_4^-$) で満たし, r_{Non} が 5.3×10^{-4} となる BLM を作製して CV を測定した (Fig. 6). CV は定常電流となり, アニオンを換えることによりイオン透過電流が大きく変化した. イオン透過電流密度の大きさは任意の膜電位において $\text{KClO}_4 > \text{KSCN} > \text{KBr} > \text{KF} > \text{KCl}$ となった. Sato らは, キャリア化合物の BLM への添加による BLM を介したカチオンの促進移動の際に, 対イオンであるアニオンも

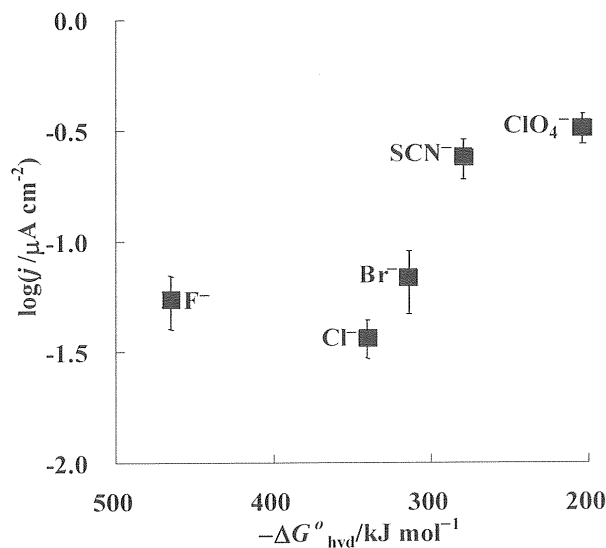


Fig. 7 The dependence of $\log j$ at 100 mV on the molar Gibbs energy of the hydration, $\Delta G_{\text{hyd}}^{\circ}$. $r_{\text{Non}}: 5.3 \times 10^{-4}$

Electrolyte in W1 and W2: 0.1 M KX ($\text{X} = \text{F}^-, \text{Cl}^-, \text{Br}^-, \text{SCN}^-, \text{ClO}_4^-$)

BLM を介して移動していることを報告しているが, 対イオンの移動はキャリア化合物の BLM への添加と無関係であり, 疎水的な対イオンがキャリア化合物と錯形成したイオンの移動とは無関係に移動していると報告している¹¹⁾. このため, BLM 内の電気的中性則については考慮していない. 一方で, Wittenkeller らはベシクルを用いたイオン透過実験において, キャリア化合物による促進移動が対イオンの影響を受けていることを実証した¹²⁾¹³⁾. そこでは, 電気的中性則を念頭においてイオン対の分配を想定し, カチオンだけでなくアニオンも同時に移動することを提案している. また, 著者らも中性キャリア化合物である Val を用いた際にイオン透過が対イオンの疎水性に依存することを報告した⁵⁾.

本研究においても, Non を添加していない BLM 系では大きなイオン透過電流は観察されず, Non を添加することによって, イオン透過電流のアニオンへの依存性が現れた. このことから, Non の添加により促進されたイオン透過電流は対イオンの種類に依存していることが分かった. この対イオン依存性は, 従来のキャリア化合物と錯形成するイオンのみが移動するモデル (Fig. 1a) では説明することができない. このアニオンを換えることによるイオン透過電流の変化は著者らが提案したモデル (Fig. 1b)⁴⁾⁵⁾ で考えると, 式(4), (6) からアニオンの $\Delta G_{\text{hyd}}^{\circ}$ に比例すると考えられる. そこで, Table 1 に示した各アニオンの $\Delta G_{\text{hyd}}^{\circ}$ に対してイオン透過電流密度の対数をプロットしたものが Fig. 7 である. F^- を除くとアニオンの $\Delta G_{\text{hyd}}^{\circ}$ に比例してイオン透過電流密度の対数が上昇してい

ることが分かった。F⁻を用いた場合に疎水性から予想されるよりも大きなイオン透過電流密度の対数となった。これはKFを支持電解質溶液とした場合には他の支持電解質溶液よりもpHが高かったことが原因であると考えている。pHが高いため、OH⁻の濃度が他の支持電解質溶液を用いた場合よりも高くなり、F⁻よりも疎水性の高いOH⁻が対イオンとして働いたと考えられる。このことは、H⁺及びOH⁻の透過係数がNa⁺やCl⁻などの他の一価イオンに比べて10⁶倍も大きいというGutknechtの報告²³⁾から推測することができる。

5 結 論

本研究により、Nonによる促進イオン透過機構はキャリア化合物の濃度、錯形成するイオンであるカチオンのNonとの錯形成定数、疎水性だけでなく、対イオンであるアニオンの疎水性にも依存していることを確認した。この現象は、著者らが以前に報告したValによる促進イオン透過機構⁴⁾⁵⁾と同様に、錯カチオンとアニオンが等量BLM内に分配し移動しているというFig. 1bのモデルで説明することができた。多くの類縁体を持つNonにおいてもValの場合と同様の促進イオン透過機構で説明できることから、他の多くの中性キャリアにおいても同様のモデルで説明できると思われる。また、従来はほとんど影響を考慮されていなかったが、中性キャリアによるイオン透過においてもpHが影響すると考えられ、今後の課題である。これらの中性キャリアによる促進イオン透過機構への対イオンの影響に関する知見は細胞膜を介したイオン透過を利用している神経伝達や呼吸・代謝、光合成などの生体内反応の解明において重要であると考えられる。また、対イオンによる促進・妨害など膜型センサーの性能向上に寄与すると考えられる。

文 献

- 1) 西島正弘, 天野富美夫, 柿沼喜己, 金沢 浩, 北 潔, 北川隆之, 田中康仁, 中野明彦, 前田正知,

- 山口明人, 山登一郎共訳: “生体膜: 分子構造と機能”, (1990), (シュプリンガー・フェアラーク東京); R. B. Gennis: “*Biomembranes: Molecular Structure and Function*”, (1988), (Springer-Verlag New York).
- 2) 野島庄七, 砂本順三, 井上圭三編: “リポソーム”, (1990), (学会出版センター).
- 3) 日本膜学会編: “膜学実験シリーズ 第I巻 生体膜編”, (1994), (共立出版).
- 4) O. Shirai, Y. Yoshida, S. Kihara: *Anal. Bioanal. Chem.*, **386**, 494 (2006).
- 5) O. Shirai, H. Yamana, T. Ohnuki, Y. Yoshida, S. Kihara: *J. Electroanal. Chem.*, **570**, 219 (2004).
- 6) G. Stark, B. Ketterer, R. Benz, P. Läuger: *Biophys. J.*, **11**, 981 (1971).
- 7) P. Läuger: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **24**, 905 (1985).
- 8) R. Naumann, D. Walz, S. M. Schiller, W. Knoll: *J. Electroanal. Chem.*, **550-551**, 241 (2003).
- 9) L. Becucci, M. R. Moncelli, R. Naumann, R. Guidelli: *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 13316 (2005).
- 10) M. Naumowicz, J. Kotynska, A. Petelska, Z. Figaszewski: *Eur. Biophys. J.*, **35**, 239 (2006).
- 11) H. Sato, H. Hakamada, Y. Yamazaki, M. Uto, M. Sugawara, Y. Umezawa: *Biosen. Bioelectron.*, **13**, 1035 (1998).
- 12) L. Wittenkeller, D. M. Freitas, R. Ramasamy: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **184**, 915 (1992).
- 13) L. Wittenkeller, W. Lin, C. Diven, A. Ciaccia, F. Wang, D. M. Freitas: *Inorg. Chem.*, **40**, 1654 (2001).
- 14) 鈴木泰三, 星 猛, 鈴木祐一訳: “生体膜輸送の基礎”, (1982), (東京化学同人); Stanley G. Schultz: “*Basic principles of membrane transport*”, (1980), (Cambridge University Press).
- 15) A. Walter, J. Gutknecht: *J. Membrane Biol.*, **90**, 207 (1986).
- 16) 日本化学会編: “化学便覧 基礎編”, 第二巻, p. 65 (2004), (丸善).
- 17) T. Kakiuchi: *Anal. Chem.*, **68**, 3658 (1996).
- 18) Y. Yoshida, M. Matsui, O. Shirai, K. Maeda, S. Kihara: *Anal. Chim. Acta*, **373**, 213 (1998).
- 19) T. Osakai, K. Ebina: *J. Phys. Chem. B.*, **102**, 5691 (1998).
- 20) Y. Marcus: *Biophys. J.*, **51**, 111 (1994).
- 21) A. Hofmanová, J. Koryta, M. Březina, T. H. Ryan, K. Angelis: *Inorg. Chim. Acta.*, **37**, 135 (1979).
- 22) J. H. Prestegard, S. I. Chann: *J. Am. Chem. Soc.*, **92**, 4440 (1970).
- 23) J. Gutknecht: *J. Membrane Biol.*, **77**, 2038 (1980).

Electrochemical Study on Facilitated Ion Transport Across a Bilayer Lipid Membrane in the Presence of Nonactin

Jun ONISHI¹, Kenji KANO¹ and Osamu SHIRAI¹

¹ Division of Applied Life Sciences, Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Kitashirakawa Oiwakecho, Sakyo-ku, Kyoto-shi, Kyoto 606-8502

(Received 14 September 2007, Accepted 13 October 2007)

The facilitated ion transport from one aqueous phase (W1) to another (W2) across a bilayer lipid membrane (BLM) in the presence of nonactin (Non) as an ion carrier in a BLM was elucidated. A cation-Non complex is distributed into the BLM with an anion as a counter ion to hold the electroneutrality within the BLM phase. It was found that the anion transferred between W1 and W2 across the BLM in the opposite direction from that of the objective cation upon applying the membrane potential. These phenomena can be interpreted based on the relation between the distribution coefficient and the hydration energy and on the dependence of the ion transport facilitated by Non through a BLM on the concentration of Non in the BLM, the stability constant of Non with cations and the hydrophobicity of both cations and anions.

Keywords : ion transport; bilayer lipid membrane; ionophore; nonactin; distribution.