

토끼 동방결절 세포의 Delayed Rectifier K^+ 전류에 미치는 이가 양이온의 차단효과

계명대학교 의과대학 생리학교실, 의과학연구소 및 서울대학교 의과대학* 생리학교실

송대규 · 호원경* · 엄용의*

=Abstract=

Effects of External Divalent Cations on Delayed Rectifier K^+ Current in Rabbit Sinoatrial Node Cells

Dae Kyu Song, M.D., Won Kyung Ho*, M.D., and Yung E Earm*, M.D.

Department of Physiology, Keimyung University School of Medicine & Institute for Medical Science, Taegu and
College of Medicine, Seoul National University*, Seoul, Korea

In sinoatrial(SA) node cells, K^+ conductance increases only when the membrane is depolarized and the delayed rectifier K^+ current, i_K , is activated. This leads to repolarization which in turn induces the deactivation of i_K channel, causing the membrane potential to depolarize once again towards the threshold of the action potential. Therefore the decay of i_K plays a key role in the pacemaker depolarization.

In the present study, we have investigated the effects of divalent cations(Ni^{2+} , Ba^{2+} , Co^{2+} , and Mn^{2+}) on the delayed rectifier K^+ current in rabbit SA node cells using the whole cell voltage clamp technique.

$CsCl(2\text{ mM})$ was added to block the hyperpolarization activated inward current(i_h). K^+ currents were recorded in high $K^+(140\text{ mM})$ solution.

When divalent cations were added to a control solution, they reduced both the instantaneous and the steady-state values of currents recorded on hyperpolarization. The blockade was potential-dependent, and steady-state currents were significantly reduced with increasing hyperpolarization. The inward currents that recorded during hyperpolarizing voltage steps were relaxed exponentially with time as the blockade by divalent cations developed. Increased the concentration of the divalent cations elevated the rate of the blockade at a given potential. These phenomena were highly sensitive to temperature, suggesting the presence of ionic binding sites on the channel.

Inward K^+ currents measured at -80 mV after various depolarizing prepulses(-10 to -40 mV) were increased in the more depolarizing prepulses, and showed the steady-state blocking evidence at $0.1\text{ mM } Ni^{2+}$.

Ni^{2+} , Ba^{2+} , Co^{2+} , and Mn^{2+} had a similar effect, but the velocity of the blocking action is slightly different from one another($Ni^{2+} > Co^{2+} > Mn^{2+} > Ba^{2+}$).

Key Words : sinoatrial node cell, delayed rectifier K^+ channel, divalent cations.

서 론

심장에서 정상적인 pacemaker의 역할을 하는 동방결절세포들(sinoatrial node cells)은 전기생리학적 측면에서 심방 및 심실근세포들과는 차이를 보인다 (Irisawa et al, 1993). Hyperpolarization activated inward current(i_h ; DiFrancesco et al, 1986)가 존재한다는 사실과, inward rectifier K⁺ current(i_{K_r})가 없는 것이 pacemaker 세포의 또 다른 중요한 특징이다 (Noma et al, 1984). i_{K_r} 은 다른 심장세포에서 안정기의 K⁺ conductance를 크게 하는 역할을 하므로, 동방결절에서 i_{K_r} 이 없다는 것은 K⁺ conductance가 적으며, 안정막전압(resting membrane potential)이 다른 심장부위보다 높다(more positive)는 의미가 있다. 그러므로 동방결절에서의 K⁺ conductance는 단지 막이 탈분극될 때 일어나며, 이때 관여하는 전류가 delayed rectifier K⁺ current(i_K)이다. i_K 는 막전압을 재분극시키고, 재분극에 의한 i_K 의 감소가 다시금 활동전압을 유발할 수 있는 역치까지 막전압을 탈분극시킨다는 것이 동방결절의 자동성을 설명하는 한기전이다.

그러나 재분극에 의한 i_K 의 감소 기전에 대해서는 아직 확실하지 않으며, i_K 는 활동전압의 기간에 영향을 미치므로, 임상에서 부정맥의 치료제로서 사용되는 많은 약제들을 개발하는 표적이 되고 있다.

i_K 의 감소기전과 관련하여 이가 양이온(divalent cations)의 작용에 대해 많은 연구가 이루어지고 있다(Armstrong & Matteson, 1986 ; Armstrong & Lopez-Barneo, 1987 ; Spires & Begenisich, 1992). Ba²⁺이나 Sr²⁺의 K⁺ channel에 대한 효과는 Hagiwara et al (1978) 및 Standen & Stanfield(1978)에 의해 상세히 연구되었으며, 그들의 이온통로 차단효과는 전압의 존성(voltage-dependent) 및 시간의존성(time-dependent)이라는 것을 밝혔다. 최근에는 인체에 생리적으로 존재하는 Ca²⁺과 Mg²⁺에 대해서도 연구되었으나(Ho et al, 1995), 다른 이가 양이온들도 같은 효과가 있는지, 있다면 차단효과의 크기는 비교될 수 있는지에 대해서는 면밀히 연구된 바가 아직 없다. 본 실험에서는 이가 양이온으로서 Ni²⁺, Co²⁺, Mn²⁺, Ba²⁺을 사용하여, 그들의 i_K 차단의 특성을 살펴보고, 각 이온들의 차단의 크기를 시간상수(time constant)를 통해 상대적으로 비교해 보고자 하였다. 또한 이가 양이온이 이온 통로의 특정부위와 반응하는지를 보기 위해 온도에 의해서도 차단효과가 영향

을 받는지의 유무를 확인해 보고자 하였다.

재료 및 방법

세포분리 및 용액 : 0.8~1.5 Kg의 흰 토끼의 심장을 entobar(1 cc/Kg, i.v.) 마취하에 적출하여, 즉시 37°C normal tyrode 용액이 통과하는 Langendorff apparatus에 장치하고, 심장 박동이 원활한지를 확인한 후, Ca²⁺-free tyrode solution으로 약 15분간 관류시키며, 심장 박동을 멎게 하였다. 이어 동방결절부위를 절취하여, 3x0.5 mm의 여러 절편으로 자른 다음, 1 mg/cc collagenase가 포함된 37°C Ca²⁺-free tyrode solution에서 약 35분간 incubation하였다. 절편들을 고칼륨의 KB medium으로 옮기고, pipette으로 분쇄(trituration)하여 단일세포를 얻었다. 실험은 단일 세포를 현미경상의 bath로 옮기고, 실험용액을 1 ml/min의 속도로 관류시키며 실시하였다.

Tyrode solution의 조성(mM)은 140 NaCl ; 5.4 KCl ; 0.5 MgCl₂ ; 1.8 CaCl₂ ; 10 glucose ; 5 HEPES이며, NaOH로 pH를 7.4로 하였다. 실험용액(고칼륨용액)의 조성(mM)은 140 KCl ; 10 glucose ; 5 HEPES ; 2 CsCl이며, pH는 KOH로 역시 7.4로 하였다. 실험에 사용된 이가 양이온들은 필요시 실험용액에 섞어 사용되었다. 실험용액의 CsCl는 hyperpolarization activated inward current(i_h)나 acetylcholine activated current(i_{ACh})를 차단하기 위해 첨가되었다(Denyer & Brown, 1990 ; Ito et al, 1994). KB medium의 조성(mM)은 70 KOH ; 40 KCl ; 50 L-glutamic acid ; 20 taurine ; 20 KH₂PO₄ ; 3 MgCl₂ ; 10 glucose ; 10 HEPES ; 0.5 EGTA이고, pipette 용액의 조성(mM)은 50 KCl ; 90 K-aspartate ; 10 HEPES ; 1 MgCl₂ ; 5 MgATP ; 2.5 ditris-phosphocreatine ; 2.5 disodium-phosphocreatine ; 5 EGTA이며, 역시 pH는 7.4로 하였다.

전기생리학적 실험 및 분석 : 단일 동방결절세포의 전류변화는 막전압고정법(patch clamp technique)을 이용하여, whole cell mode로 측정하였다. 사용된 pipette은 Narishige puller(pp-83)를 사용하여, 외경이 1 mm인 유리관(Clark electromed)을 두 번 당겨서 얻었다(2-5 MΩ). 막전압 고정을 위해 Axopatch 1-C patch clamp amplifier(Axon Instruments, Inc.)를 사용하였고, 실험중 전기신호는 oscilloscope(Philips, PM-3335)와 chart recorder(Gould)에서 관찰하였다. 기록은 차후 분석을 위해 AD/DA converter(CED 1401)를 통해 디지털화 하여,

magnetic tape에 녹화하였다.

결 과

저자들은 보다 넓은 범위의 막전압에서 전류를 관찰하기 위해 고칼륨농도(140 mM in the bath & pipette solution)에서 delayed rectifier K⁺ current (i_K)를 측정하였다. Bath의 Mn²⁺농도를 0.5 mM로 하고, 고정전압(holding potential) 0 mV에서 4초간의 과분극 펄스(hyperpolarizing pulse)를 주었을 때 나타나는 전류는 Fig. 1에서와 같았다.

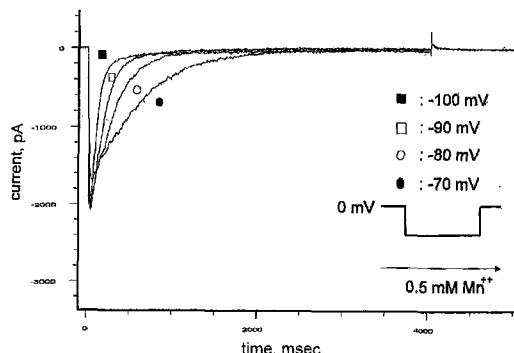


Fig. 1. Voltage-dependency of inward K⁺ current and time course of relaxation in high K⁺ solution.

펄스의 크기가 클수록 초기 내향전류(inward current)는 증가하였으며, 이후 전류는 시간에 따라 지수함수적으로 감소하는 양상을 보였다. 이때 전류의 감소속도는 펄스의 크기가 클 때 더욱 빨라지는 것을 볼 수 있었다. 즉, i_K 는 전압의존적이고, 시간의 존적인 전류임을 알 수 있었다. 다음으로 고정전압 0 mV에서 -90 mV의 일정한 과분극 펄스를 주면서 이가 양이온인 Co²⁺의 농도를 변화시킬 때 전류의 변화를 관찰하였다(Fig. 2).

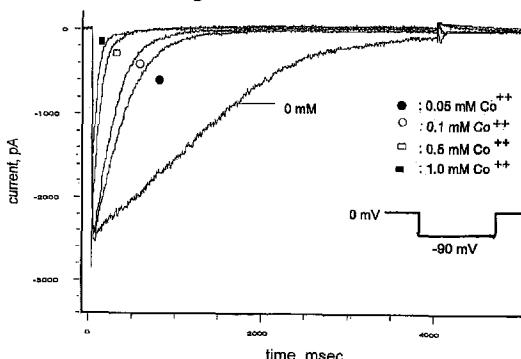


Fig. 2. Concentration- and time- dependency of inward K⁺ current and current relaxation in high K⁺ solution

Co²⁺가 없는 상태에서 내향전류의 시간적 감소속도가 가장 느리게 나타났으며, Co²⁺의 농도가 증가 할수록 초기 내향전류의 크기는 감소하고, 전류의 감소속도는 빨라지는 것을 관찰할 수 있었다. 이는 이가 양이온인 Co²⁺가 i_K 를 용량의존적으로 차단한다는 사실을 의미한다. 본 실험에 사용된 다른 이가 양이온들에 있어서도 실험결과는 같게 나타났다. Fig. 1과 2에서 동방결절세포의 제분극시(실험의 과정극 펄스) K⁺ conductance는 초기에 증가하고, 이어 점진적으로 감소되며, 이때 이가 양이온의 존재는 초기 K⁺ conductance를 감소시키고, 감소속도도 더욱 증가시킨다는 것을 알 수 있었다. Fig. 3은 -10 mV~ -40 mV까지의 4초간의 펄스를 준 후 다시 과분극 펄스(-80 mV)를 주었을 때, 관찰된 전류의 양상을 표기하였다. -80 mV에서 관찰된 내향전류는 -10 mV에서 가장 커졌으며, -40 mV에서 가장 작았다. 0.1 mM Ni²⁺을 첨가시 전류가 줄어드는 것을 관찰할 수 있었다. 이는 -10 mV에서 delayed rectifier K⁺ channel들이 가장 많이 열려 있었다는 것을 의미하며, 이가 양이온은 이들을 차단하고 있다는 것을 알 수 있었다. 동적 상태(dynamic state)가 아닌 항정상태(steady state)에서도 이가 양이온들은 차단효과를 나타내고 있음을 말해 준다.

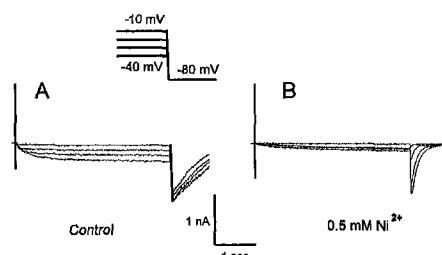


Fig. 3. Effect of prepulse potential on inward K⁺ current in high K⁺ solution(A). Adding 0.1mM Ni²⁺ (B) decreases the currents.

차단속도의 시간상수(τ_{off} , τ)의 역수(τ^{-1})와 막전압을 함수로 나타낸 것은 Fig. 4와 같다. 같은 온도, 같은 농도에서는 막전압이 과분극 될수록 차단속도는 빨라짐을 알 수 있다. 한편, 같은 막전압에서는 이가 양이온의 농도가 증가하면, 차단속도는 빨라진다. 그리고, 같은 농도, 같은 막전압에서는 온도가 높을수록 차단속도가 빨라짐을 보여준다. 이는 저체온증시 서맥(bradycardia)의 한 기전으로 생각된다. Fig. 5는 이가 양이온들의 차단효과를 서로 비교해 보고자하여 실험한 결과이다. 같은 농도, 온도

및 전압에서 통로차단 속도는 Ni^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Ba^{2+} 의 순으로 나타났다.

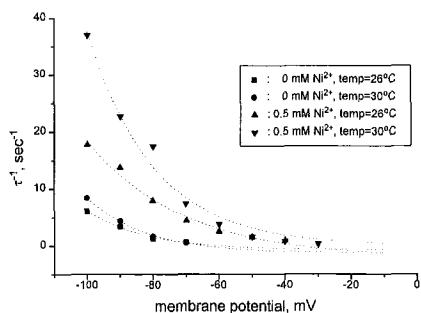


Fig 4. Concentration -and temperature-dependency of the effect of $[\text{Ni}^{2+}]_o$ on the time constant of K^+ current relaxation. Lines drawn by least square fitting.

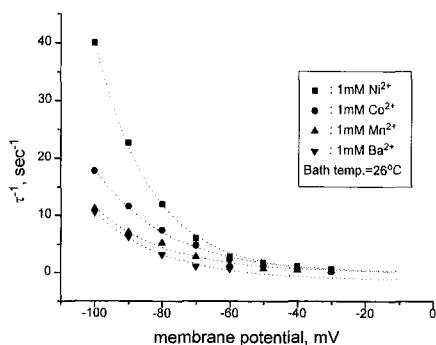


Fig 5. Relative potency of external divalent cations on the time constant of K^+ current relaxation. Lines drawn by least square fitting.

고 찰

본 실험에서 큰 과분극펄스를 줄수록 초기 내향성 전류가 더 크게 나타난 것은 i_K 의 inward rectifying property(내향성 정류성질)를 나타내며, 시간의존적으로 전류가 증가하였기 때문이다. 그리고 초기 내향전류의 발생후에 관찰된 전류감소의 속도가 온도에 매우 민감한 현상을 알 수 있었다. 온도가 증가 할수록 감소속도가 빨라졌으며, 이것은 Standen과 Stanfield(1978)의 관찰과 일치하였다.

이가 양이온이 없는 고칼륨 농도(140 mM)에서 과분극 펄스가 -60 mV보다 작은 경우에는 초기 내향성 전류의 시간에 따른 감소는 없었다. i_K 는 과분극에 의해 활성화(activation)되지만, 비활성화(inactiva-

tion)은 단지 더 큰 과분극(-70 mV이상)에서만 나타남을 보여준다. i_K 의 이와 같은 특징은 과분극에서 활성화되지만, 더 큰 과분극에서 비활성화되는 i_K 의 그것과 비슷하다. 정상생리적 조건하($[\text{Ca}]_o=1.8 \text{ mM}$, $[\text{K}]_o=5 \text{ mM}$)에서 i_K 는 -40~-50 mV사이에 완전히 비활성화가 되는 것으로 알려져 있는데(Ho et al, 1995), 본 실험에서 이가 양이온이 참가될 때 i_K 의 비활성화가 시작되는 전압이 저분극쪽으로 가는 사실과 일치하였다.

심장의 i_K 를 기록하는 모든 연구는 생리적 조건에서 이루어졌으며, -40 mV의 holding potential에서 탈분극 펄스(depolarizing pulse)를 주었을 때, 외향성 전류의 시간의존성 증가를 보였다. 그러므로 i_K 는 탈분극에서 활성화되는 전류로 해석되고 있다. Shibasaki(1987)가 고칼륨용액에서 토끼의 동방결절세포의 i_K 를 기록하였을 때, 본 실험과 같은 결과를 얻었다. 그는 탈분극에서 활성화된다는 기본 개념을 살펴, 과분극에 의한 이온 통로의 inactivation gate의 rapid opening과 activation gate의 slow closing(deactivation)으로 해석하였다. 그러나, Ho et al (1995)은 이 현상을 과분극 초기의 활성과 이어지는 비활성 단계라고 하였다. 그 근거로서 정상적으로 존재하는 이가 양이온(Ca^{2+} , Mg^{2+})들의 결합부위가 이온통로 단백에 존재하여, 과분극시에는 열려 있는 이온통로를 차단하고(blocking), 저분극시에는 이온통로 차단을 헤지한다(unblocking)는 것이다.

이온통로 차단제(ion channel blocker)로서의 H^+ 의 작용은 Woodhull(1973), Cs^+ 은 Hagiwara et al (1976)과 Gay & Stanfield(1977), 그리고 Ba^{2+} 의 작용은 Hagiwara et al(1978) 및 Standen과 Stanfield (1978)에 의해 이온통로연구가 시작될 때 발견되어, 그것과 관련된 기전의 연구가 활발히 진행되어 왔다. 양이온의 차단효과는 전압의존성, 즉 막전압이 과분극될 때 작용이 커진다. Woodhull(1973)은 이온이 이온통로내의 결합부위(binding site)에 결합함으로써 작용한다고 가정하였다. i_K 에 대한 Ba^{2+} 의 차단은 전압의존성이며 시간의존성이다. Sr^{2+} 과 Ca^{2+} 도 비슷한 작용을 보이나, 고농도에서도 효과가 Ba^{2+} 보다는 작다(Hagiwara et al, 1978). 본실험에서 나타난 이가 양이온들의 차단효과는 Ba^{2+} 의 i_K 에 대한 작용과 비슷하다. 정상적으로 존재하는 이온이 차단효과를 나타내는 예로서 Mg^{2+} 을 들 수 있다. 세포내 Mg^{2+} 은 i_K channel, ATP-dependent K^+ channel, 그리고 Ach-activated K^+ channel 등에서 차단효과가 있다(Horie et al, 1987; Horie & Irisawa, 1987;

Matsuda et al, 1987; Vandenburg, 1987; Matsuda, 1988). 세포의 Mg²⁺는 전압의존성으로 NMDA 수용체 통로를 차단하는 것으로 알려져 있다(Nowak et al, 1984).

이온통로 차단제로서의 작용외에 이가 양이온은 여리 가지로 이온통로 활동에 영향을 미친다. 거의 모든 전압의존성 현상은 세포의 양이온의 세포표면 음전하에 대한 상쇄효과(surface charge screening effect)에 영향을 받으므로, surface charge effect를 고려해야만 한다. 본 실험의 결과로서는 surface charge effect가 얼마나 영향을 주었는지는 알 수 없다. 그러나 surface charge effect가 본 실험 결과의 중요한 기전은 될 수 없다는 것은 알 수 있었다. 왜냐하면, 이가 양이온의 이온통로 차단효과가 온도에 의해 영향을 받는다는 것은 이가 양이온과 이온통로의 어떤부위 사이에 반응이 있다는 것이다, 이를 surface charge theory로는 설명할 수 없다. 그러므로 차단효과는 이온통로의 내부 특정부위에 이가 양이온이 결합한 결과로 생긴 것이라 해석할 수가 있다.

Channel gating에 대한 이가 양이온의 조절효과(modulating effect)도 고려되어져야 한다. Armstrong과 Lopez-barneo(1987)는 squid neuron에서 세포의 Ca²⁺을 10 mM에서 0 mM로 낮추었을 때, 막의 전도도가 증가하고, i_K의 특징적인 time course가 사라지는 것을 관찰하고, Ca²⁺이 K⁺ 통로의 필수적인 cofactor이며, Ca²⁺이 없으면 K⁺ 통로의 조절기전과 ion selectivity에 장애가 초래된다고 주장하였다. 본 실험에서도 이가 양이온이 없는 상태에서는 세포의 투과도가 점점 증가하는 것을 관찰할 수 있었다. 그러나, Ca²⁺이 아닌 다른 이가 양이온의 존재로도 투과도의 비정상적 증가는 없었으며, 이는 Ca²⁺만의 특징이 아님을 알 수 있다.

이상의 결과로, surface charge effect나 gating modulator로서가 아닌 이가 양이온의 특별한 이온통로 차단효과를 관찰하였다. 그러나, 관찰된 차단효과의 강도는 surface charge effect를 주로 고려하여 실험한 Hille et al(1975)의 결과와 비슷하였다. 현재로서는 이가 양이온의 작용을 어느 특정한 기전만으로 설명하기는 어려울 것으로 생각되고, surface charge effect와 gating modulation, 그리고 본 실험에서 관찰한 차단입자(blocking particle) 기능들의 복합적인 관계정립이 이루어져야 할 것으로 생각된다.

요 약

동방결절세포에서 K⁺ conductance는 단지 세포막이 탈분극될 때 증가하며, 이때 delayed rectifier K⁺ current(i_K)가 활성화된다. 이것에 의해 세포막은 다시 재분극되고, 재분극은 다시 i_K를 감소시켜 세포막을 탈분극시킨다. 역치까지 막전위가 도달하면, 활동전압이 유발된다. 이것은 i_K의 감소가 심장의 자동성(automaticity)에 중요한 역할을 한다는 것을 의미한다. 재분극시에 나타나는 i_K의 감소원인 중에서 이가 양이온의 이온통로 차단효과가 연구되고 있다.

이에 본 실험은 여러 이가 양이온중 비교적 기능이 알려지지 않은 Ni²⁺, Co²⁺, Mn²⁺과 알려진 Ba²⁺을 사용하여 차단효과의 특성을 확인하고, 차단효과의 크기를 서로 비교하고자 하였다.

토끼의 동방결절에서 단일세포를 분리하여, patch clamp technique으로 whole cell mode에서 전류를 측정하였다. CsCl는 hyperpolarization activated inward current(i_H)를 차단하기 위해 bath solution에 첨가되었다.

이가 양이온이 없는 고칼륨 용액(140 mM)을 관류하며, holding potential 0 mV에서 과분극 펄스(hyperpolarizing pulse)를 주었을 때 내향성 전류가 관찰되었으며, 그 크기는 펄스의 크기와 일치하였다. -70 mV이상의 펄스에서는 전류의 점진적 감소가 관찰되었으며, 감소속도는 펄스의 크기에 비례적으로 빨라졌다. 이가 양이온의 첨가시 농도에 비례하여, 초기 내향성 전류가 감소하였고, 이후 감소속도도 비례적으로 증가하였다. 전류의 감소속도는 온도의 변화에 영향을 받았다. Prepulse holding potential을 변화시키며 과분극 펄스를 준 결과 depolarizing holding potential일수록(-10 mV>-40 mV) 전류의 크기는 증가하였으며, 이가 양이온의 첨가시 전류는 상대적으로 감소하였다.

본 실험의 결과로 볼 때, 이가 양이온은 전압의존적으로, 시간의존적으로 i_K를 차단함을 알 수 있었고, 이온통로 내부의 binding site와의 반응으로 이루어짐을 관찰하였다. 이가 양이온의 i_K 차단효과는 steady-state와 dynamic state에서 공히 나타났으며, dynamic state에서 차단속도는 Ni²⁺, Co²⁺, Mn²⁺, Ba²⁺의 순이었다.

참 고 문 헌

- Armstrong CM, Matteson DR : The role of calcium ions in the closing of K channel. *J Gen Physiol* 1986 ; 87 : 817-832.
- Armstrong CM, Lopez-Barneo J : External calcium ions are required for potassium channel gating in squid neurons. *Science* 1987 ; 236 : 712-714.
- Denyer JC, Brown HF : Pacemaking in rabbit isolated sino-atrial node cells during Cs⁺ block of the hyperpolarization-activated current, i_h. *J Physiol Lond* 1990 ; 429 : 401-409.
- DiFrancesco D, Ferroni M, Mazzanti M, Tromba C : Properties of the hyperpolarizing-activated current (i_h) in cells isolated from the rabbit sino-atrial node. *J Physiol Lond* 1986 ; 377 : 61-88.
- Gay LA, Stanfield PR : Cs⁺ causes a voltage-dependent block of inward K currents in resting skeletal muscle fibres. *Nature* 1977 ; 267 : 169-170.
- Hagiwara S, Miyazaki S, Rosenthal NP : Potassium current and the effect of cesium on this current during anomalous rectification of the egg cell membrane of a starfish. *J Gen Physiol* 1976 ; 67 : 621-638.
- Hagiwara S, Miyazaki S, Mooky W, Patlak P : Blocking effects of barium and hydrogen ions on the potassium current during anomalous rectification in the starfish egg. *J Physiol Lond* 1978 ; 279 : 167-185.
- Hille B, Woodhull AM, Shapiro BI : Negative surface charge near sodium channels of nerve : Divalent ions, monovalent ions, and pH. *Phil Trans R Soc Lond* 1975 ; B270 : 301-318.
- Ho WK, Noble D, Earm YE : Effects of external Ca and Mg ions on the K conductance in sinoatrial node cells of the rabbit. *Heart vessels* 1995 ; Suppl 9 : 17-18.
- Horie M, Irisawa H : Rectification of muscarinic K current by magnesium ion in guinea pig atrial cells. *Am J Physiol* 1987 ; 253 : H210-214.
- Horie M, Irisawa H, Noma A : Voltage-dependent magnesium block of adenosine-triphosphate sensitive potassium channel in guinea-pig ventricular cells. *J Physiol Lond* 1987 ; 387 : 251-272.
- Irisawa H, Brown HF, Giles W : Cardiac pacemaking in the sinoatrial node. *Physiol Rev* 1993 ; 73 : 197-227.
- Ito H, Ono K, Noma A : Background conductance attributable to spontaneous opening of muscarinic K⁺ channels in rabbit sino-atrial node cells. *J Physiol Lond* 1994 ; 476(1) : 55-68.
- Matsuda H : Open-state substructure of inwardly rectifying potassium channels revealed by magnesium block in guinea-pig heart cells. *J Physiol Lond* 1988 ; 397 : 237-258.
- Matsuda H, Saigusa A, Irisawa H : Ohmic conductance through the inwardly rectifying K channel and blocking by internal Mg²⁺. *Nature* 1987 ; 325 : 156-159.
- Noma A, Nakayama T, Kurachi Y, Irisawa H : Resting K conductances in pacemaker and non-pacemaker heart cells of the rabbit. *Japanese J Physiol* 1984 ; 34 : 245-254.
- Nowak L, Bregestov P, Ascher P, Herbet A, Prochiantz A : Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones. *Nature* 1984 ; 307 : 462-465.
- Shibasaki T : Conductance and kinetics of delayed rectifier potassium channels in nodal cells of the rabbit heart. *J Physiol Lond* 1987 ; 387 : 227-250.
- Spires S, Begenisich T : Chemical properties of the divalent cation binding site on potassium channels. *J Gen Physiol Lond* 1987 ; 100 : 181-193.
- Standen NB, Stanfield PR : A potential- and time-dependent blockade of inward rectification in frog skeletal muscle fibres by barium and strontium ions. *J Physiol Lond* 1978 ; 280 : 169-191.
- Vandenberg CA : Inward rectification of a potassium channel in cardiac ventricular cells depends on internal magnesium ions. *Proc Nat Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 2560-2564.
- Woodhull AM : Ionic blockage of sodium channels in nerve. *J Gen Physiol* 1973 ; 61 : 687-708.