

## 第44回東北生理談話会

会 期：平成24年10月27日（土）  
 会 場：山形大学医学部内山形医学交流会館  
 当番幹事：山形大学医学部生理学講座 藤井 聡  
 参加者数：28名  
 演 題 数：16題

日本生理学会東北地方会は、第44回東北生理談話会として上記日程で開催されました。口演16題が発表され、青森県から福島県までの28名の先生方に参加していただきました。昨年は東日本大震災で東北地方が広範囲に被害を受けました。そのため、東北地方の会員の皆様に地方会の開催の是非についてお諮りいたしました。東北地方の被災地各県の大学からは、「被害を受けたこの年に復興の魁として開催すべきである」とのご意見を複数賜りました。しかし、「地震および津波で多くの市民が亡くなっているため開催は控えるべきである」との会員からのご意見が多数を占め、平成23年は大会の中止を決定しました。今回の地方会開催では、日本生理学会から被災3県の会員への参加費補助など、数々のご支援をいただきました。おかげさまで盛会のうちに終えることが出来ました。厚く御礼申し上げます。次回の当番幹事は八尾寛教授（東北大学生命科学研究科脳機能解析分野）です。

### 1. 先行刺激によるIP<sub>3</sub>受容体の活性化は海馬シナプス可塑性の方向性を規定する

後藤純一<sup>1,2</sup>、山崎良彦<sup>1</sup>、杉田 誠<sup>1</sup>、藤原浩樹<sup>1</sup>、金子健也<sup>1</sup>、御子柴克彦<sup>2</sup>、藤井 聡<sup>1,2</sup>（<sup>1</sup>山形大・医・生理、<sup>2</sup>理研・BSI・発生神経）

げっ歯類海馬の苔状線維-CA3及びSchaffer側枝-CA1シナプスにおいては、低頻度シナプス入力（1~2 Hz, 1000発）は先に誘導された長期増強（LTP）を逆転させる（depotentialiation）。また、低頻度刺激が先行して入力されることで、LTP誘導は抑制される（suppression of LTP）。我々はこれらのシナプス可塑性修飾がどのような機序で起こるかを調べた。

苔状線維-CA3シナプスにおいて、イノシトール三リン酸（IP<sub>3</sub>）受容体阻害薬2-APBをテタヌス刺激時に投与するとLTP誘導には影響がないが、その後の低頻度刺激によるdepotentialiation誘導を阻害した。各種阻害薬を用いた実験から、LTP誘導刺激によるmGluR-IP<sub>3</sub>受容体経路の活性化がdepotentialiation誘導における最初期過程であることが示唆された。またsuppression of LTPにおいても、先行する低頻度刺激によるmGluR-IP<sub>3</sub>受容体経路の活性化が必要であることが示された。一方でNMDA受容体の阻害はdepotentialiation, suppression of LTPともに影響を与えなかった。

これらの結果は先行刺激によるIP<sub>3</sub>受容体の活性化がそ

の後のシナプス可塑性を負の方向に調節することを示唆する。

### 2. 小脳におけるイプシロン型ジアシルグリセロールキナーゼの発現局在と行動解析

八月朔日泰和<sup>1</sup>、藤原浩樹<sup>2</sup>、金子健也<sup>2</sup>、藤井 聡<sup>2</sup>、後藤 薫<sup>1</sup>（<sup>1</sup>山形大・医・解剖学第二、<sup>2</sup>山形大・医・生理）

ジアシルグリセロール（DG）キナーゼ（DGK）はDGをリン酸化し、フォスファチジン酸に変換する酵素である。本研究では、DGKアイソザイムのうちDGKεの機能解析を目的として、特異抗体を用いたDGKεの発現局在を解析を行なった。さらに、協調運動機能へのDGKεの関与を検討するため、DGKε-KOマウスを用いてロータロッド試験を行った。

共焦点レーザー顕微鏡を用いて多重染色法を施行した結果、DGKε免疫反応はプルキンエ細胞の樹状突起、軸索および細胞体に顆粒状構造物として検出された。これらのDGKε免疫反応は、1型イノシトール三リン酸受容体（IP<sub>3</sub>R1）の免疫反応との共存を示した。また包埋前金コロイド銀増感免疫電子顕微鏡法を施行した結果、DGKεはプルキンエ細胞の樹状突起形質膜直下の滑面小胞体であるsub-surface cistern（表面下槽）の内部に局在していた。さらにロータロッド試験において、DGKε-KOマウスは野生型マウスに比べ、協調運動機能が低下していることが明らかと

なった。以上より、DGKEは小脳プルキンエ細胞の主として subsurface cistern に局在し、IP<sub>3</sub>R1と密接な関連をもって小脳機能に関与している可能性が示唆された。

### 3. 前頭前野における情報の動的符号化と興奮・抑制バランスの時間発展

坂本一寛<sup>1</sup>、斎藤尚宏<sup>2</sup>、吉田 隼<sup>3</sup>、香取勇一<sup>4</sup>、丹治順<sup>3</sup>、合原一幸<sup>4</sup>、虫明 元<sup>3,5</sup> (1東北大・電気通信研、<sup>2</sup>山形大・医・高次脳機能障害、<sup>3</sup>東北大・医・生体システム生理、<sup>4</sup>東京大・生産技術研、<sup>5</sup>CREST)

前頭前野は、絶えず変化する環境への適応に重要な役割を果たしている。その柔軟な適応能力の背後では、その神経回路自身が柔軟に状態を取り、情報を動的に符号化していると考えられる。経路探索課題と呼ばれる最終ゴールに向けてカーソルを段階的に動かすことを要求する課題を遂行中のサル前頭前野神経活動を記録し、運動準備期間に1手目のカーソル方向を符号化する細胞群 (I群) と最終ゴール位置を符号化する細胞群 (F群) を得た。I群ではカーソル方向を符号化する前に最終ゴール位置を符号化していた。更に2つの群で興奮性細胞と抑制性細胞を区別して解析し、興奮・抑制の活動バランスの時間発展と細胞の符号化する情報の対応を検討したところ、I群がカーソル方向を有意に符号化するタイミング、I群F群共に最終ゴールを有意に符号化するタイミングで、一過性に抑制が強まることが見て取れた。前頭前野においては、ある細胞のある発火頻度は定まった情報を符号化しているのではなく、むしろ動的に変化し、その変化に興奮・抑制バランスの一過性の変化が関与しているのかもしれない。

### 4. 眼と手の協調到達運動におけるサル弓状溝周辺皮質の機能分担と多様性

歳田 潔 (弘前大院・医・統合機能生理)

サル大脳皮質前頭葉の弓状溝周辺皮質は前壁に存在する前頭眼野 (Frontal Eye Field, FEF) と後壁に存在する運動前野 (premotor cortex) の少なくとも2つの領域から構成されることが知られている。FEFは急速眼球運動に、またPMは上肢の到達運動における座標系として機能していることが示されてきた。しかし、日常の到達運動では眼と手が協調して動作しており、効果器の異なる運動をどのように協調させるため制御しているかは明らかではない。本研究では、FEFとPM、および、それらの間に位置する弓状溝の深部領域に注目し、これらの領域が眼と手の運動にどのように関わるかを調べるため、眼のみ、手のみ、その両者の協調運動を要求する課題をサルに訓練し、ニューロン活動を記録した。その結果、FEF表在部は眼球運動に、PM

表在部は手の運動を主体とする運動に主に関わっていた。しかし、PMとFEFの深部ではこれらの運動のいずれを行うか、特に両者の協調運動時に特異的な活動を示すニューロンが多数含まれていた。このことは弓状溝周辺皮質に機能分担があるとともに、それらを協調させる機構がこの領域にあることを示している。

### 5. ラット心房筋のG蛋白質共役型内向き整流性K<sup>+</sup>チャンネル電流に対するイブジラストの抑制効果

原田美里<sup>1</sup>、川崎 敏<sup>1</sup>、木村真吾<sup>1</sup>、藤田玲子<sup>2</sup>、弘瀬雅教<sup>3</sup>、久保川 学<sup>1</sup> (1岩手医大・医・統合生理、<sup>2</sup>岩手医大・共通教育センター・化学、<sup>3</sup>岩手医大・薬・分子細胞薬理)

イブジラストは気管支喘息や脳血管障害の治療薬であり、実験的には心拍数を促進すると報告されている。そこで今回、ラット単離心房筋を用い、ホールセルパッチクランプ法で心拍数に影響を与えるM<sub>2</sub>受容体-G蛋白質共役型内向き整流性K<sup>+</sup>(GIRK)チャンネルに対するイブジラストの効果について検討した。膜電位固定(-60mV)下で浴液にアセチルコリン(ACh)を投与するとGIRKチャンネル電流が観察され、この電流はイブジラスト投与により著明に抑制された。また、パッチ電極内にGTPγSを充填し、GIRKチャンネルを不可逆性に活性化させた後にイブジラストを投与しても、チャンネル電流は著しく抑制された。イブジラストにはphosphodiesterase (PDE)阻害作用があると報告されているが、PDE阻害薬であるテオフィリンやIBMXは、AChや細胞内GTPγSによるチャンネル電流の活性化に影響を与えなかった。さらに、電極内に高濃度(1mM)イブジラストを充填し、ACh誘発電流に対する細胞内イブジラストの効果について検討したが、ACh応答は抑制されなかった。以上より、イブジラストは細胞外からGIRKチャンネル蛋白、あるいはその結合蛋白質等に直接作用してチャンネル電流を抑制することが示唆された。

### 6. 巨核球細胞表面における脂質二重膜曲率の変化と膜小胞形成

風間逸郎、村田喜理、丸山芳夫 (東北大・医・生理)

サリチル酸(SA:負に帯電)やクロロプロマジン(CPZ:正に帯電)などの両親媒性荷電物質はそれぞれ、二重膜の外と内に分配蓄積することが知られている。膜へのこれら薬剤の蓄積は膜の曲率を変える。言い換えれば、SAは膜外に蓄積することから外へ凸に、逆にCPZは内に凸となるよう膜を変形させる。こうした曲率変化あるいは膜変形は、膜の小胞形成を促進したり抑制したりすることが予想される。巨核球表面でのマイクロパーティクル(MP)形成を例

にとり、SA および CPZ の効果をアドミッタンス計測法 (パッチクランプホールセル記録法) により調べた。両薬剤は膜容量とアクセス抵抗を同時に減少させた。いっぽう、蛍光色素 (ルシファーイエロー) の巨核球表面への残存を調べた結果、SA の場合のみ残存が確認できた。巨核球表面は MP 前駆構造にて覆われており、曲率の変化は MP と前駆体間の平衡を前後に傾斜させようことを前提とし、「CPZ による膜内葉の凸変化は、MP 平衡を形成方向に促進させる」と結論した。MP は癌細胞転移機序の一つとも考えられており、転移機序と CPZ のような MP 促進物質 (曲率変化薬剤) との関連が注目される。

#### 7. 細胞のグルコース輸送を蛍光標識グルコース誘導体による解析の試み

山田勝也<sup>1</sup>、佐々木綾子<sup>1</sup>、田原 強<sup>2</sup>、山本敏弘<sup>3</sup>、尾上博隆<sup>2</sup>、長友克広<sup>1</sup> (1 弘前大・医・統合機能生理、<sup>2</sup> 理研・分子プローブ機能評価、<sup>3</sup> (株) ペプチド研・采都研)

D-グルコースは多くの生物にとって、基本的なエネルギー源であると同時に、貴重な炭素源である。しかしその細胞内への取り込みの詳細には不明の点も多い。過去 10 年間、D-グルコースを蛍光標識した 2-NBDG により、様々な細胞のグルコース取り込みが単一細胞レベルで評価され (Yamada 他, Nat Protoc 2007; Zhong 他, Cell 2010 など)、特に脳では新しい細胞間メタボリックコミュニケーションの発見をもたらした (Giaume 他, Nat Rev Neurosci 2010)。また最近では、2-NBDG のがん診断への臨床応用が急加速している。しかし、2-NBDG の使用の広がりと共にその課題も明らかとなってきた。我々は 2-NBDG の対照化合物として L 型グルコースの蛍光誘導体 2-NBDLG 等を開発し、種々の細胞の立体選択的なグルコース取り込みを解析した結果、いくつかの興味深い展開が得られ始めている。現状の一部と蛍光グルコースイメージングの可能性について報告する。

#### 8. ラット皮質集合管主細胞における低浸透圧刺激によって活性化される Cl<sup>-</sup>電流

駒切 洋、中村一芳、久保川 学 (岩手医大・医・統合生理学)

低浸透圧刺激時の細胞容積調節には K<sup>+</sup> 及び Cl<sup>-</sup> チャネルが重要な役割を果たす。我々は以前、ラット皮質集合管 (CCD) 主細胞において低浸透圧刺激によって管腔側膜の BK チャネルが活性化することを明らかにした。一方で、低浸透圧刺激に応答する Cl<sup>-</sup> チャネルの性質及び分子実体は不明である。本研究では CCD 主細胞における低浸透圧刺激に応答する Cl<sup>-</sup> 電流の性質及び Cl<sup>-</sup> チャネル分子の発現

について whole-cell voltage clamp 法と免疫蛍光染色法を用いて調べた。等張条件下において NPPB (100 $\mu$ M) 及び niflumic acid (NFA, 200 $\mu$ M) に強く抑制される Cl<sup>-</sup> 電流が観察された。低浸透圧刺激によってこの Cl<sup>-</sup> 電流の振幅は増大し、この振幅の増大は NPPB 及び NFA によって有意に減少した。容積感受性 Cl<sup>-</sup> チャネルの候補分子の一つである CIC-3 チャネルの特異抗体を用いて免疫蛍光染色を行った所、CIC-3 抗体陽性反応は間在細胞に局限して観察された。以上の結果からラット CCD 主細胞において、CIC-3 チャネルとは異なる、低浸透圧刺激によって活性化される NPPB 及び NFA 感受性の Cl<sup>-</sup> チャネルの発現が示唆された。その分子基盤について、今後さらに探索を続ける。

#### 9. コーヒーの芳香刺激がもたらす中枢神経系への覚醒作用と反応時間の短縮作用

大友祐也、松浦哲也、一ノ瀬充行 (岩手大院・工・応用化学・生命工学)

コーヒーの芳香刺激の生体作用を明らかにするために、随伴陰性変動 (CNV) を用いた脳波、ボタン押し反応時間、心拍数・心拍ゆらぎの解析および心理学的多面的感情状態尺度・覚醒状態 (GACL) の変化を調べた。被験者は男性 6 名、女性 4 名。コーヒー 20g を白湯でビーカーに抽出し、アルコールランプで加温し香りを室内に充満させた。副交感神経と交感神経活性の指標として、心拍変動の high frequency (HF) と low frequency/HF (LF/HF) を用いた。10 人中 9 人の被験者は GACL において「脱活性-睡眠」で減少が見られた。コーヒーの芳香刺激により対照実験と比較して CNV の面積が増加した。CNV 作業中の PSD の傾きも対照実験では時間経過と共に減少する傾向が見られたが、コーヒーの芳香刺激では上昇もしくは変化しない傾向が見られた。CNV 作業時のボタン押し反応時間もコーヒー芳香により短縮する傾向が見られた。心拍および心拍ゆらぎの HF と LF/HF は対照実験と比較して変化が小さかった。コーヒーの芳香刺激は脳波 CNV に覚醒興奮性の効果を持ち、体性運動の反応性も向上させるが、心拍数などの自律神経活動への効果は小さいものであることが示唆された。

#### 10. レム睡眠の自律神経系変動における扁桃体の役割

西村邦広、春山直人、小山純正 (福島大・共生システム理工)

大脳辺縁系を構成する一つである扁桃体は情動や情動に伴う生理応答に重要な役割を果たす。また、扁桃体はレム睡眠時の心拍や血圧などの自律神経系の激しい攪乱に大きく寄与する。しかしながら、扁桃体ニューロンの活動がレ

ム睡眠時の生理変動を引き起こす神経機構は未だ明らかになっていない。本研究では、扁桃体がレム睡眠時の自律神経系変動を調整する神経機構を明らかにするため、レム睡眠時の血圧変動に注目し、頭部を無痛的に固定した無麻酔ラットから、睡眠・覚醒サイクルにおける扁桃体のニューロン活動と下行大動脈の血圧を同時に記録した。その結果、(1) 扁桃体ニューロンの多く (53%) が、レム睡眠中に活動が上昇する。(2) レム睡眠中に活動上昇するニューロンの多くは、相動性発火を示す。(3) レム睡眠中のニューロンの相動性発火は、一過性の血圧変動と同期することが分かった。これらの結果より、扁桃体は血圧変動を含むレム睡眠中の自律神経系変動に深く関係することが分かった。

#### 11. 血圧変動を引き起こす扁桃体の部位差について

春山直人, 西村邦広, 小山純正 (福島大・共生システム理工)

扁桃体は覚醒時において、情動刺激によって活性化し、情動反応や呼吸、心拍、血圧などの自律神経系の変動を引き起こす。また、ヒトを対象とした研究で扁桃体の活動がレム睡眠時に上昇することが報告されている。レム睡眠時には、急速眼球運動や脳波の速波化、筋弛緩に加え、自律神経系の変動が生じる。したがって、レム睡眠時にも扁桃体が活動し、覚醒時と同様な情動反応やそれに伴う自律神経系の変動が生じている可能性が考えられる。われわれは、扁桃体ニューロンの一部が、レム睡眠中の血圧変動と同期して発火することを確認した。このようなニューロンの局在を明らかにするため、本研究では、ラットを用いて扁桃体のさまざまな部位の電気刺激による、血圧反応の違いを調べた。扁桃体への電気刺激は麻酔下のラットにおいて血圧の減少を引き起こした。特に扁桃体中心核への電気刺激による血圧の減少が顕著であった。以上の結果から、レム睡眠中の血圧変動においても、扁桃体中心核が重要な役割を果たすと考えられる。

#### 12. 血流停滞領域で起こる血管内血液凝固の反応機構

岩田宏紀<sup>1</sup>, 貝原 真<sup>2</sup> (<sup>1</sup>山形大・医・教育研究支援センター, <sup>2</sup>理研)

[緒言]旅行者症候群などの名で社会に認知されるようになったように、静脈系の血栓症は日本でも症例数が欧米並みに増加しつつある。静脈血栓症は血流の停滞が原因の一つと考えられているが反応の機構は不明であった。本報告では、血液凝固を引き起こす原因因子を単離・精製し、分子同定及びキャラクタリゼーションをおこなった結果について報告する。

[方法] 血液は 3.8% クエン酸ナトリウムを用いて健康人

の肘静脈より採血した。血液の凝固過程は減衰振動型レオメーターを用いてモニタし、各凝固因子の凝固反応は生化学的手法により活性化の有無を調べた。タンパク質の精製は、各種クロマトグラフィーを用い、得られたタンパク質はプロテインシーケンサーおよび質量分析装置を用いて分子同定を行った。

[結果] 生化学的解析より血液凝固第 IX 因子が赤血球膜上で活性化されることが確認された。第 IX 因子を活性化物質は 25.7kDa のタンパク質で、構造解析をした結果エラスターゼに類似したセリンプロテアーゼであることを同定した。この酵素は既知の反応とは異なった機序により第 IX 因子を活性化することを明らかにした。

#### 13. 線条体 GABA ニューロンにおける自発 $Ca^{2+}$ 濃度変化による SOC チャネルの開口

菊田里美<sup>1,2</sup>, 柳川右千夫<sup>2,3</sup>, 森 一生<sup>1</sup>, 小山内 実<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>東北大・医, <sup>2</sup>JST CREST, <sup>3</sup>群馬大・医)

小胞体内の  $Ca^{2+}$  が枯渇すると、ストア依存性  $Ca^{2+}$  チャネル (SOCC) が開口するといわれている。我々は線条体で IP3 受容体を介した小胞体からの  $Ca^{2+}$  放出による持続時間の長い自発的な細胞内  $Ca^{2+}$  濃度 ( $[Ca^{2+}]_i$ ) 変化が発生していることを発見した。しかし、この  $Ca^{2+}$  上昇を長時間持続させる機構は不明である。そこで、この  $Ca^{2+}$  上昇を持続させる機構に SOCC が関与しているかを検討した。まず、線条体 GABA ニューロンの小胞体を枯渇させたところ、SOCC 由来の  $Ca^{2+}$  上昇が確認された。次に自発  $[Ca^{2+}]_i$  変化による小胞体の枯渇で SOC チャネルが開口すれば、 $Mn^{2+}$  存在下では、自発  $[Ca^{2+}]_i$  変化が発生している細胞ほど、細胞内に  $Mn^{2+}$  が蓄積することが予想されるため  $Ca^{2+}$  感受性蛍光色素のクエンチ現象を利用して、細胞内に蓄積される  $Mn^{2+}$  の量を調べた。その結果、自発  $[Ca^{2+}]_i$  変化が見られた細胞の方が  $Mn^{2+}$  の蓄積量が多かった。このことから、自発  $[Ca^{2+}]_i$  変化によって SOC の開口率が上がることが示唆された。

#### 14. 多細胞高速カルシウムイメージング法を用いたマウス線条体の機能的神経結合の検討

菊地琴美<sup>1,2</sup>, 田村篤史<sup>2,3</sup>, 森 一生<sup>3</sup>, 八尾 寛<sup>1,2</sup>, 柳川右千夫<sup>2,4</sup>, 小山内 実<sup>2,3</sup> (<sup>1</sup>東北大・生命・脳機能解析, <sup>2</sup>JST CREST, <sup>3</sup>東北大・医・医用画像工学, <sup>4</sup>群馬大・医・脳神経発達制御学)

線条体は基底核の主な入力部位であり、線条体ニューロンは投射ニューロン (MSN) を含めて 9 割以上が GABA 作動性の抑制性ニューロンである。これまで MSN と介在ニューロンが皮質から興奮性入力を受けていること、介在

ニューロンがMSNへ抑制性の出力をしていることが知られているが、線条体神経結合のダイナミクスについては不明である。本研究では線条体神経結合のダイナミクスを解明することを目指し、カルシウムイメージング法を用いた皮質の有無による線条体GABAニューロンの活動の比較から、線条体の機能的神経結合について検討した。その結果、通常状態では皮質の有無に活動の差が見られなかったが $Mg^{2+}$ -free, 5mM  $K^+$ で活性を高めた状態では多細胞での同期した大きな $Ca^{2+}$ 変動が見られた。このことは皮質の出力ニューロンが同期して複数のMSNに入力していることを示唆している。また、この同期細胞集団には密集しているものと分散しているものがあった。このような解析を詳細に行うことにより、皮質—線条体ネットワークの構造が明らかになることが期待される。

#### 15. 杯状シナプスにおけるシナプス除去機構への光遺伝学的アプローチ

細島頌子, 石塚 徹, 八尾 寛 (東北大・生命・脳機能解析)

プレシナプスはポストシナプスに対して、あらかじめ過剰に形成されるが、成熟に伴い除去され、最終的に1対1の関係になる。ニワトリ胚の毛様体神経節で形成されるプレシナプス(杯状シナプス)は巨大であることから、これまで多くの研究にモデルとして用いられてきた。私たちは*in ovo* electroporation法を用いることで、ニワトリ胚の杯状シナプスに遺伝子を導入することに成功した。これまでに各種蛍光タンパク質、Brainbowコンストラクト、SynaptopHluorin、チャンネルロドプシンなどの遺伝子導入を行った。これによりプレシナプスへの形態的および機能的アプローチが可能になった。

シナプス除去の機構はいくつかの仮説が提唱されている

が、本研究では活動依存性とシナプス除去の関連に着目した。杯状シナプスでは活動頻度が高いものが生き残り、低いものが除去されると言われている。そこで杯状シナプスに*in ovo* electroporation法を用いて、チャンネルロドプシンをコードするプラスミドを導入し、発現させた。チャンネルロドプシンを発現した杯状シナプスに光刺激を与えることで、選択的な神経活動を引き起こし、『シナプス除去が活動依存的に起こるのか否か』を検証する。

#### 16. 光受容体チャンネル、チャンネルロドプシンのイオン流は $Gd^{3+}$ によりブロックされる

谷本早希<sup>1,2</sup>, 石塚 徹<sup>1</sup>, 八尾 寛<sup>1</sup> (<sup>1</sup>東北大・生命・脳機能解析, <sup>2</sup>Department of Neurobiology and Behavior, University of California, Irvine)

単細胞緑藻類の一種*Chlamydomonas reinhardtii*に由来するチャンネルロドプシン2(ChR2)は、古細菌型ロドプシンファミリーに属し、単一の分子で、光感受性とイオンチャンネルの機能をあわせ持っている光受容チャンネルである。しかし、イオン透過性を制御しているメカニズムは不明である。われわれは、ChR2の第2膜貫通ドメインのグルタミン酸残基がイオン透過性に関与しているという仮説に基づいて研究を進めている。ChR2の97番目のグルタミン酸残基を中性(Q)または塩基性アミノ酸(R)に置換すると、電荷依存的にイオン流が抑制された。このグルタミン酸残基は、イオンの脱水和に必須であると考えられる。また、ガドリニウム( $Gd^{3+}$ )によってChR2の光電流は強く抑制されるが、E97Q/R置換において、 $Gd^{3+}$ によるチャンネル阻害効果は低下した。 $Gd^{3+}$ が97番目のグルタミン酸と結合し、チャンネルポアを塞ぐことで、他の陽イオンの透過を阻害したことが示唆される。