

交感神経系における電位依存性N型カルシウムチャネル

村上 学

要約：高電位依存性カルシウムチャネルは興奮性細胞膜上に存在する。電位依存性カルシウムチャネルは細胞膜の脱分極に応じてカルシウムを流入させ、神経伝達物質の放出など、生命にとって基本的な機能を多数制御する。高電位依存性カルシウムチャネルはヘテロマルチマーと言われる構造をとり、 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2 \delta$ 、 β 、 γ サブユニットから構成される複合体である。 $\alpha 1$ サブユニットはカルシウムが通過するチャネルポア（孔）を構成し、膜電位変化を感受する電位センサーでもあり、カルシウム拮抗薬など、さまざまなカルシウムチャネルを修飾する薬物の結合部位である。 β サブユニットは4種類の遺伝子が報告されているが、副サブユニットとしては生理学的に最も重要と考えられている。生理・薬理的に5つのカルシウムチャネルが分類されているが、交感神経系の神経終末において最も重要なのはN型カルシウムチャネルと考えられている。このカルシウムチャネルのチャネルポアはCaV2.2（旧 $\alpha 1 B$ ）遺伝子によってコードされ、主な β サブユニットは $\beta 3$ である。交感神経系はキャノンの言う“戦闘あるいは逃避反応”における本質的制御システムであり、ストレスや危機の状態において鍵となる行動である。N型チャネルの交感神経系における意義を精査するために、 $\beta 3$ 遺伝子欠損、 $\beta 3$ 過剰発現トランスジェニック、およびCaV2.2遺伝子欠損のマウスを解析した。 $\beta 3$ 過剰発現トランスジェニックマウスは心拍数増加を示し、N型チャネル阻害薬に対する反応性が増大していた。ランゲンドルフ心による解析では電気刺激に対する反応性の増大を示した。 $\beta 3$ 欠損、あるいはCaV2.2遺伝子欠損マウスにおいては反応性の低下が認められた。これらの結果から、CaV2.2、および $\beta 3$ が交感神経N型カルシウムチャネルの構成において、生理学的にも決定的に重要であることが確かめられた。

[平成23年10月25日入稿，平成23年11月2日受理]

電位依存性カルシウムチャネル

電位依存性カルシウムチャネルは興奮性組織に存在する。電位依存性カルシウムチャネルは膜電位の脱分極に反応し、カルシウム流入を仲介し、生命にとって基本的な機能である神経伝達物質のシナプス間隙への放出や、筋肉の収縮、遺伝子発現などを制御する¹⁾。

電位依存性カルシウムチャネルの歴史的背景

1950年代、ファットとカツツにより、甲殻類の筋肉において電位依存性カルシウムチャネルの存在が最初に報告された²⁾。さらに荻原生長らにより、詳しい電気特性が明らかになった³⁾。その後、カルシウムチャネルは心筋などの哺乳類興奮性細胞膜においても存在することが証明された。フレッケンシュタインは最初のカルシウム拮抗薬であるベラパミル

を報告したが、カルシウム拮抗薬を用いることにより、複数の電位依存性カルシウムチャネルの存在が明らかとなった⁴⁾。フレッケンシュタインはさらに1,4-ジヒドロピリジン体の最初の化合物であるニフェジピンも報告している。さまざまなカルシウム拮抗薬を用いることにより、これらカルシウム拮抗薬の選択性が各々異なることも理解された。心筋においては、ジヒドロピリジンはわずかな効果しか示さないが、血管平滑筋には強い阻害効果を示すことが知られており、ジヒドロピリジンの血管選択性(平滑筋弛緩による血管拡張および降圧効果)は、末梢血管を弛緩して降圧効果を示す一方、心筋収縮力への抑制効果が少ないという側面から、高血圧治療を考える上で重要である。

上記カルシウム拮抗薬に加え、イモ貝毒である ω -コノトキシンGVIA（N型チャネルを特異的に阻害）、クモ毒である ω -アガトキシンIVA（P型チャネルを特異的に阻害）などが開発され、薬理・生理

学的解析が可能となった。小脳のプルキンエ細胞にはP型チャンネルが豊富に存在し、不活性化が遅いことが特徴である。さらに ω -アガトキシンIVAに対する感受性がより低く、速い不活性化を示すカルシウムチャンネルの存在が小脳顆粒細胞等で報告されており、Q型チャンネルと呼ばれている。P型、Q型チャンネルの α 1サブユニットは、同じ遺伝子でコードされることが知られている(CaV2.1遺伝子)ので、まとめてP/Q型チャンネルとも表記されることが多い⁵⁾。その他、上記阻害薬に抵抗性を示すカルシウムチャンネルの存在が知られており、R (resistant: 抵抗性あるいはresidual: 残余)型チャンネルと言われ、CaV2.3遺伝子でコードされる。

カルシウムチャンネルの遺伝子サブタイプ

高電位依存性カルシウムチャンネルはヘテロマルチマーと言われる複合体構造をとり、5つのサブユニットにより構成され、 α 1 (170kDa)、 α 2 (150kDa)、 β (50-70kDa)、 δ (17-25kDa)、 γ (32kDa) と呼ばれる。精製タンパクの電気泳動結果から、各分子がそれぞれ一つずつ集まって、チャンネルを構成すると思われるが、一部の α 1サブユニットには複数の β サブユニット結合部位の存在が報告されており、各分子が一つずつ集合してチャンネルを構成するかどうかは不明である。チャンネル分子の集合体を対象とした結晶解析は現時点では困難であり、今後の研究が待たれる。 α 1サブユニットはカルシウムが通過するチャンネルポア(孔)を構成し、ジヒドロピリジンなどのカルシウム拮抗薬の結合部位であり、さまざまなカルシウムチャンネルを修飾する薬物の結合部位である^{1,6)}。そのほか、 ω -コノトキシンGVIAや ω -アガトキシンIVAなど、多くのチャンネル阻害作用を示す薬物は、 α 1サブユニットに作用すると考えられている。

1980年代以降、京都大学・沼正作の一派が、電位依存性カルシウムチャンネルのみならず、多くの電位依存性チャンネル、あるいはアセチルコリン受容体などのイオンチャンネル共役型受容体の遺伝子クローニングに成功し、一時代を形成した。その後、ヒトゲノム遺伝子解読の結果、電位依存性カルシウムチャンネル α 1サブユニット遺伝子は10種類の遺伝

子が存在することが明らかとなった。電位依存性カルシウムチャンネル α 1サブユニットは生理学的チャンネル特性から高電位活性化型チャンネル群(HVA: high voltage-activated)と低電位活性化型チャンネル群(LVA: low voltage-activated)とに大別される。さらに遺伝子配列の解析と薬剤感受性などで、3つのグループ(CaV1.X, CaV2.X, CaV3.X)に大別される(図1a)⁷⁾。 α 1サブユニット遺伝子は4つのCaV1.X(L型カルシウムチャンネル群; long lasting)、3つのCaV2.X(L型に含まれない高電位活性化型チャンネル群)、そして3つのCaV3.X(低電位活性化型チャンネル群、すなわちT型カルシウムチャンネル群; transient: 一過性、あるいはtiny: 小さい電流量を示す)に分類される。遺伝子から予想されるアミノ酸配列のコンピューター解析(親水性、あるいは疎水性アミノ酸の連続解析からの膜貫通領域のプログラム予想)により、各 α 1サブユニットタンパクは、アミノ酸配列が類似する4つの連続ドメイン(I~IV)から構成されることが判明した。各ドメインは6回膜貫通領域を持っており(S1~S6)、電位依存性カリウムチャンネル1分子と似た構造を有している。電位依存性カリウムチャンネル、あるいはナトリウムチャンネルと共通する構造として、6つある膜貫通領域の中でも、第4膜貫通領域においてプラスに荷電したアミノ酸(リジン、アルギニン)が規則的に数多く存在し、脱分極刺激に反応する電位センサーを構成していると考えられている。電位依存性カルシウムチャンネルはカルシウムに対するイオン選択性が非常に高く、このイオン選択性は、第5と第6膜貫通部の間にある細胞外のアミノ酸領域(SS1およびSS2領域と呼ばれる)に含まれるマイナス荷電しているグルタミン酸によるものである⁸⁾。

副サブユニット

β サブユニット

副サブユニットとしては生理学的に最も重要と考えられているのが β サブユニットである。 β サブユニットは副サブユニットとしては生理学的に最も重要と考えられており、チャンネル電流を倍加し、チャンネル活性化や不活性化に影響することが、共発現実

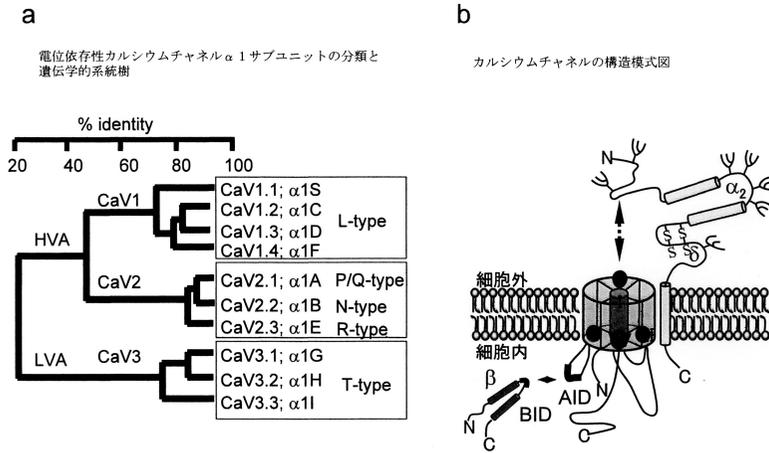


図1.
a) 電位依存性カルシウムチャネルα1サブユニットの分類と遺伝学的系統樹 (HVA: high voltage-activated, LVA: low voltage-activated)
b) カルシウムチャネルの構造模式図 (Dolphin, 2006より改変)
(AID: α1 subunit interaction domain domain, BID: β subunit interaction domain)

験の系で報告されている。

4 遺伝子の存在が報告されており、β1が骨格筋に存在するL型カルシウムチャネルの構成因子である。β2は心筋より遺伝子が単離され、心筋に存在するL型カルシウムチャネルの構成に関わる。β3は心筋でのクローニングが最初の報告であったが、中枢神経系、平滑筋、内分泌系で豊富に発現することが知られている。β4は脳よりクローニングされた遺伝子で、おそらく小脳においてP型チャネルの構成に関与している。

βサブユニットは2つの保存されたドメインとそれ以外の3領域から構成される。親水性で細胞内に存在し、高電位依存性カルシウムチャネル (HVA: T型以外の電位依存性カルシウムチャネルでCaV1.X, CaV2.Xのいずれかに属す) においてはα1サブユニットの細胞内輸送 (ゴルジから細胞膜表面への移動) や、電位依存性、チャネルの活性化、不活性化に大きく影響する^{9, 10)}。

βサブユニットは機能的 (チャネルとして実際に機能している) α1サブユニットの数を増加させ得ると考えられている。α1サブユニットをゴルジから細胞膜へ運び、細胞膜表面におけるカルシウムチャネル数を増加させることにより、カルシウム電流量を増加させることが、βサブユニットのもつ

とも重要な機能と考えられる。βサブユニットはカルシウムチャネルの電圧-電流関係をより過分極側 (すなわち、より深い電位でチャネルが開口しやすくなるということ) に偏移させる¹¹⁾。さらにβサブユニットはチャネルの開口確率を増大することが知られている。上記、細胞膜表面におけるチャネルの数の増加、さらに個々のチャネルの開口する確率を上げることにより、総和としてのカルシウム電流量が相当増加することになる。電位感受性は主にα1サブユニットの電位センサーで決定されるわけであるが、βサブユニットはチャネルの不活性化にも影響を及ぼす。βサブユニットとα1サブユニット間の結合はそれぞれのβサブユニット結合ドメイン (β subunit interaction domain; BID) とα1サブユニット結合ドメイン (α1 subunit interaction domain; AID) との間で行われることが知られている¹²⁾。βサブユニットのBIDは18程度のアミノ酸ドメインであり、α1サブユニットのI-IIループにあるAIDに結合する¹³⁾。AIDは高電位活性化型カルシウムチャネルのα1 (CaV1.XとCaV2.X) に共通して見られるアミノ酸配列であり、そのコンセンサス配列 (共通配列) はQQxExxLxGYxxWIxxxEである。このAID配列はGタンパクとの結合配列と一部共通するアミノ酸配列があるため、βサブユ

ニットとGタンパクが競合的に $\alpha 1$ サブユニットと結合してチャンネルの電気特性に影響すると考えられる。

神経伝達物質放出とカルシウムチャンネル

神経シナプスにおいて、前シナプスからの神経伝達物質放出には神経終末に豊富に存在するN型、あるいはP/Q型チャンネルが、重要と考えられている。自律神経系や知覚神経など末梢神経系においてはN型チャンネルが重要とされているが、脳内においては主にP/Q型カルシウムチャンネルを経由するカルシウム流入が最も重要と考えられている。しかし、脳内の神経ネットワークは複雑であり、単純化して考えることが妥当とは思えない。

CaV2.3遺伝子によってコードされるR型チャンネルも神経系で発現することが知られているが、どのような役割を担っているのかについての知見は不足している。L型チャンネルを構成するCaV1.3や1.4遺伝子によってコードされる $\alpha 1$ サブユニットの脳内における発現も確認されており、低い程度の脱分極で神経伝達を行う網膜や聴覚神経において、持続的な神経伝達を行うために重要であると考えられている。

交感神経系と電位依存性カルシウムチャンネル

交感神経系は“戦闘あるいは逃避反応”における本質的な制御システムであり、ストレスや危機の状態において鍵となる行動である。交感神経系は循環系に強い影響を及ぼす。交感神経トーンは高血圧や心不全において亢進することが知られており、予後を悪化させる因子の一つである。N型カルシウムチャンネルは交感神経終末におけるカルシウム流入の経路であることが知られており、流入したカルシウムはノルアドレナリン放出のトリガーとなる¹⁴、¹⁵。主なN型カルシウムチャンネル構成分子はCaV2.2($\alpha 1$)と $\beta 3$ (β)遺伝子によってコードされると考えられている¹⁶。2001年にCaV2.2遺伝子欠損のマウスにおいて交感神経系の陽性変力反応が低下していることが報告された。同報告ではCaV2.2遺伝子欠損のマウスにおける陽性変力反応は、特異的N型チャンネル阻害薬である ω -cコノトキシンGVIAに

感受性を示さないことも報告されている¹⁵。本報告では、交感神経系における意義を精査するために、N型カルシウムチャンネルを構成するCaV2.2と $\beta 3$ 遺伝子に着目し、 $\beta 3$ 遺伝子欠損、 $\beta 3$ 過剰発現トランスジェニック、およびCaV2.2遺伝子欠損のマウスを比較検討した。

CaV2.2遺伝子欠損マウス(N型チャンネル欠損マウス)

CaV2.2遺伝子欠損マウスは圧-受容器反射(頸動脈洞圧迫による血圧上昇)においてわずかな血圧上昇しか示さなかった¹⁵。同マウスにおける交感神経系を調べる目的でテレメトリー心電図を行った。テレメトリー心電図とは心電図記録を電波記録する方法で、無麻酔の条件で検査することが可能である(図2a)。CaV2.2遺伝子欠損マウスはR-R間隔の延長、すなわち心拍数の減少を示した。これは交感神経トーンの低下を示している。さらにCaV2.2遺伝子欠損マウスはN型チャンネル阻害薬である ω -コノトキシンGVIA(30 μ g/kg, 静注)に対する心拍数の減少が認められなかった。さらにR型チャンネル阻害薬であるSNX 482(3 μ g/kg, 静注)を投与したところ、コントロールの野生型マウスでは認められなかった心拍数の減少が認められ、CaV2.2遺伝子欠損マウスにおいては、R型チャンネルを経由するカルシウム電流が、代償的に交感神経伝達を担っていると考えられた(図2b)。長時間解析の結果を基に、“心拍のゆらぎ”をプログラム解析したところ(図2c)、CaV2.2遺伝子欠損マウスはR-R間隔が変動しやすいことが明らかとなった。同マウスにおいては交感神経系の制御機構がうまくいかないため、心拍数が変動しやすくなっていると思われる。

心電図で認められた反応をさらに確かめる目的で、ランゲンドルフ心を用いて心臓のポンプ機能を調べた。電気刺激により、交感神経終末からノルアドレナリンを放出させ、陽性変力作用を調べた(図2d)。コントロールの野生型マウスでは電気刺激により、明らかな陽性変力作用が認められた。この陽性変力作用はN型チャンネル阻害薬である ω -コノトキシンGVIAによりほとんどなくなったことから、N型チャンネルを経由したカルシウム流入が重要

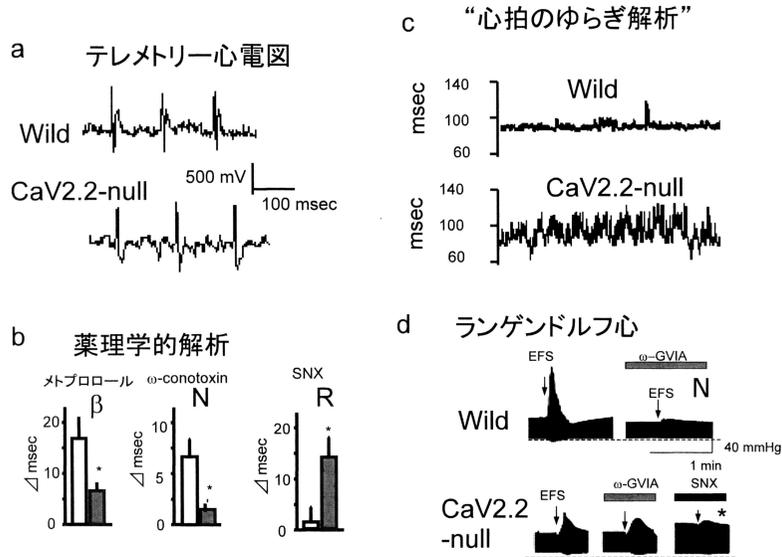


図2. テレメトリー心電図

- a) CaV2.2遺伝子欠損マウスにおけるR-R間隔の延長
野生型コントロール (Wild, 上) とCaV2.2遺伝子欠損マウス (CaV2.2-null, 下) の典型例を示す
- b) 薬理的解析によるR-R間隔の変化
βブロッカー (メトプロロール), N型チャネル阻害薬 (ω-コノトキシンGVIA, 30 μg/kg, 静注), およびR型チャネル阻害薬 (SNX-482, 3 μg/kg, 静注) による変化. * p < 0.05.
- c) “心拍のゆらぎ”解析
野生型コントロール (Wild, 上) とCaV2.2遺伝子欠損マウス (CaV2.2-null, 下) の典型例を示す. 欠損マウスにおいて, R-R間隔の変動が明瞭である.
- d) ランゲンドルフ心
野生型コントロール (Wild, 上) とCaV2.2遺伝子欠損マウス (CaV2.2-null, 下) の典型例を示す. 電気刺激 (EFS: electric field stimulation, 矢印) により, 陽性変力作用が認められる. ω-コノトキシンGVIA (ω-GVIA, 1 μM) により, 野生型コントロールでは陽性変力作用がほぼ消失している. 一方, CaV2.2遺伝子欠損マウスでは同程度の電気刺激に対しても陽性変力作用が減弱している. さらにω-コノトキシンGVIA (ω-GVIA) は阻害効果を認めず, R型チャネル阻害薬であるSNX-482 (SNX, 0.1 μM) ではほぼ消失している (★印). イソプロテレノール (100 nM) による反応を1.0とした.

であることがわかる。さらにCaV2.2遺伝子欠損マウスにおいては, 電気刺激により, コントロールの30%程度の陽性変力作用しか得られず, ω-コノトキシンGVIAは無効であった。テレメトリー心電図の実験同様, R型チャネル阻害薬であるSNX 482により陽性変力作用が低下した。すなわち, CaV2.2遺伝子欠損マウスにおいては, R型チャネルを経由するカルシウム電流が, 代償的に交感神経伝達を担っていることを確認した。

交感神経制御におけるβ3サブユニットの重要性

交感神経系制御機構におけるβ3サブユニットの重要性を調べる目的で, β3遺伝子欠損マウス(17), およびβ3遺伝子過剰発現マウスを作製した

18)。過剰発現の遺伝子コンストラクトはプロモーターとしてサイトメガロプロモーターとβアクチンの合成遺伝子であるCAG (大阪大学・宮崎純一先生からの供与) を用いた。βサブユニット遺伝子数はβ3遺伝子欠損マウスでは欠損 (すなわち0), 野生型コントロールマウスでは2遺伝子 (常染色体上に2つあるほか, 8コピー程度の外來性遺伝子の組み込みをサザン解析で確認) ある。

心拍数

CaV2.2遺伝子欠損マウスにおける解析同様, β3遺伝子欠損マウス (β-/-), 野生型コントロールマウス (WT) およびβ3遺伝子過剰発現マウス (Tg) を用いてテレメトリー心電図解析を行った (図

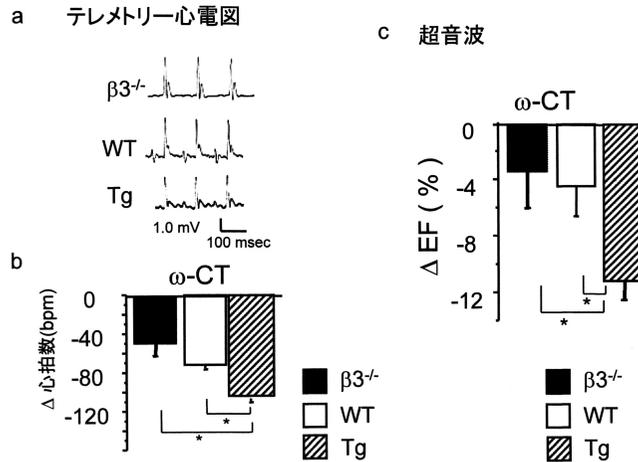


図3. β サブユニット遺伝子改変動物解析 (1)

- a) テレメトリー心電図
 β 3 遺伝子欠損マウス (β 3^{-/-}, 上), 野生型コントロール (Wild, 中), β 3 遺伝子過剰発現マウス (Tg, 下) の典型例を示す. 過剰発現マウスにおいて R-R 間隔が短縮している.
- b) N 型チャンネル阻害薬による心拍数低下の程度
 ω -コノトキシンGVIA (30 μ g/kg) 静注後の心拍数変化を示す. 過剰発現マウスにおいて有意に心拍数が変動している. * $p < 0.05$.
- c) 超音波検査
 ω -コノトキシンGVIA (30 μ g/kg) 静注後の駆出率変化を示す. 過剰発現マウスにおいて有意な低下が認められる. * $p < 0.05$.

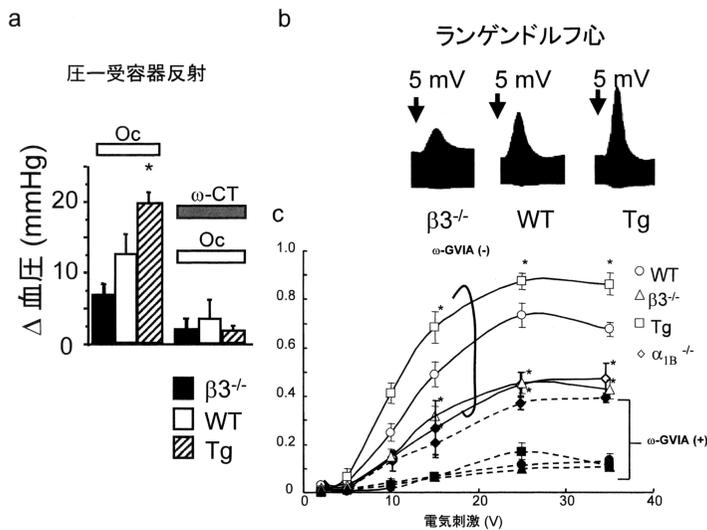


図4. β サブユニット遺伝子改変動物解析 (2)

- a) β 3 遺伝子過剰発現マウスにおける圧-受容器反射が変化している. ω -コノトキシンGVIA (30 μ g/kg) により圧-受容器反射が消失している. * $p < 0.05$.
- b) ランゲンドルフ心
 β 3 遺伝子欠損マウス (β 3^{-/-}, 左), 野生型コントロール (Wild, 中), β 3 遺伝子過剰発現マウス (Tg, 右) の典型例を示す. 過剰発現マウスにおいて陽性変力作用が増強している.
- c) 各電気刺激に対する陽性変力反応 (ランゲンドルフ心)
 野生型コントロール (WT ○), β 3 遺伝子欠損マウス (β 3^{-/-}, △), と β 3 遺伝子過剰発現マウス (Tg, □), CaV2.2 遺伝子欠損マウス (α 1B^{-/-}, ◇). ω -コノトキシンGVIA 処理 (ω -GVIA, 1 μ M) 後の反応は黒塗り印, 破線で示した. * $p < 0.05$ vs. 野生型コントロール.

3a)。β 3 遺伝子過剰発現マウスは心電図上、異常波形を認めなかったが、心拍数は増加しており、R-R間隔が短縮していた。ω-コノトキシンGVIA投与による心拍数の減少を調べたところ、有意に阻害薬に対する反応性が增大していた(図3b)。

超音波

超音波検査により心臓の駆出率(ejection fraction)を検討した。ω-コノトキシンGVIA投与による心拍数の減少を調べたところ、β 3 遺伝子過剰発現マウスは有意に阻害薬に対する反応性が增大していた(図3c)。

圧-受容器反射

β 3 遺伝子過剰発現マウスがω-コノトキシンGVIA投与に対する感受性増大を示したので、血圧を指標とし、圧-受容器反射を検討した(図4a)。圧-受容器反射はβ 3 サブユニット遺伝子の数に依存して変化した。すなわち、β 3 遺伝子の数が多いほど、圧-受容器反射における血圧上昇反応が増大していた。さらにこの圧-受容器反射はω-コノトキシンGVIA投与により消失したので、N型カルシウムチャンネルが関与していることが確実であった。したがって、圧-受容器反射が強くなったβ 3 遺伝子過剰発現マウスは交感神経のトーンスが亢進していると考えられた。

ランゲンドルフ心による解析

上述した心電図、超音波、血圧測定におけるω-コノトキシンGVIAに対する反応性の増大は明らかにβ 3 遺伝子過剰発現マウスにおける交感神経トーンスの亢進を示唆している。ランゲンドルフ心における心ポンプ機能の解析においても同様で、各刺激電位において、β サブユニット発現の度合いに応じて、陽性変力作用による心ポンプ機能の亢進が認められた(図4b, c)。ω-コノトキシンGVIA(1 μM)はこの陽性変力効果を阻害した。唯一ω-コノトキシンGVIAによる阻害を示さなかったのはCaV2.2遺伝子欠損マウスである。ω-コノトキシンGVIAに対する感受性は他の実験系同様、β サブユニットの発現に応じ変化した。β 3 の発現は交感

神経系におけるN型カルシウムチャンネルの数を規定すると考えられる。したがって、ランゲンドルフ心においても交感神経のトーンスはβ 3 サブユニットの発現、その結果として神経終末におけるN型カルシウムチャンネルの数を反映すると考えられた。

結 論

本論文において、電位依存性カルシウムチャンネル、特にN型チャンネルが交感神経制御機構において重要なカルシウム流入経路を形成し、交感神経のトーンスを規定することが明らかとなった。β 3 サブユニットは交感神経終末におけるN型チャンネルの数を規定すると考えられる、交感神経系のトーンスの維持に重要であることが明らかになった。

謝 辞

本研究は日本国科学研究費、健康保健財団、斎藤報恩会、日本循環器学会からの支援による。

β 3 遺伝子過剰発現マウスは日本国特許申請中である(#2004-256532)。

参 考 文 献

- 1) Dolphin AC. A short history of voltage-gated calcium channels. *British Journal of Pharmacology* 2006 ; 147 : S56-S62.
- 2) Fatt P, Katz B. The electrical properties of crustacean muscle fibres. *J. Physiol.* 1953 ; 120 : 171-204.
- 3) Hagiwara S, Byerly L. Calcium channel. *Annu. Rev. Neurosci.* 1981 ; 4 : 69-125.
- 4) Fleckenstein A. History of calcium antagonists. *Circ. Res.* 1983 ; 52 : 13-6.
- 5) Randall A, Tsien RW. Pharmacological dissection of multiple types of Ca²⁺ channel currents in rat cerebellar granule neurons. *J. Neurosci.* 1995 ; 15 : 2995-3012.
- 6) Varadi G, Strobeck M, Koch ES, Caglioti L, Zucchi C, Palyi G. Molecular elements of ion permeation and selectivity within calcium channels. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 1999 ; 34 : 181-214.
- 7) Ertel EA, Campbell KP, Harpold MM, et al. Nomenclature of voltage-gated calcium channels. *Neuron* 2000 ; 25 : 533-5.

- 8) Yang J, Ellinor PT, Sather WA, Zhang JF, Tsien RW. Molecular determinants of Ca²⁺ selectivity and ion permeation in L-type Ca²⁺ channels. *Nature*. 1993 ; 366 : 158-161.
- 9) Yamaguchi H, Hara M, Strobeck M, Fukasawa K, Schwartz A, Varadi G. Multiple modulation pathways of calcium channel activity by a β subunit. Direct evidence of beta subunit participation in membrane trafficking of the α_1C subunit. *J. Biol. Chem.* 1998 ; 273 : 19348-19356.
- 10) Josephson IR, Varadi G. The β subunit increases Ca²⁺ currents and gating charge movements of human cardiac L-type Ca²⁺ channels. *Biophys. J.* 1996 ; 70 : 1285-1293.
- 11) Birnbaumer L, Qin N, Olcese R, et al. Structures and functions of calcium channel β subunits. *J. Bioenerg. Biomembr.* 1998 ; 30 : 357-375.
- 12) Maltez JM, Nunziato DA, Kim J, Pitt GS. Essential Ca (V) β modulatory properties are AID-independent. *Nature. Struct. Mol Biol.* 2005 ; 12 : 372-7.
- 13) Pragnell M, De Waad M, Mori Y, et al. Calcium channel β -subunit binds to a conserved motif in the I-II cytoplasmic linker of the α_1 -subunit. *Nature*. 1994 ; 368 : 67-70.
- 14) Molderings GJ, Likungu J, Gothert M. N-Type calcium channels control sympathetic neurotransmission in human heart atrium. *Circulation* 2000 ; 101 : 403-7.
- 15) Ino M, Yoshinaga T, Wakamori M, et al. Functional disorders of the sympathetic nervous system in mice lacking the α_1B subunit (Cav 2.2) of N-type calcium channels. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2001 ; 98 : 5323-8.
- 16) Scott VE, De Waard M, Liu H, et al. Identification of three subunits of the high affinity ω -conotoxin MVIIC-sensitive Ca²⁺ channel. *J. Biol. Chem.* 1996 ; 271 : 3207-3212.
- 17) Murakami M, Fleischmann B, De Felipe C, et al. Pain perception in mice lacking β_3 subunit of voltage-activated calcium channels. *J. Biol. Chem.* 2002 ; 277 : 40342-40351.
- 18) Murakami M, Ohba T, Xu F, et al. Modified sympathetic nerve system activity with over-expression of the voltage-dependent calcium channel β_3 subunit. *J. Biol. Chem.* 2008 ; 283 : 24554-24560.