

龙虾肌肉的膜电位

本篇讨论如何使用PowerLab用简单的标本记录龙虾肌肉纤维膜电位。

Phil Stephens, ADInstruments Pty Ltd.

前言

通过大龙虾肌肉的膜电位可以向学生们介绍细胞内微电极的技术。可以通过改变细胞外阳离子的浓度学习 Nernst 和 Goldman 方程。本实验可以用于动物和神经生理学科。

一台带有Chart或Scope软件的PowerLab设备能给学生们提供永久的数据文件。因为数据被不停地记录下来，这也免去了实验中测量的必要以及测量中的不精确性。在实验中改变细胞外阳离子水平，溶液的离子水平可以通过刺激改变，应用Nernst 和 Goldman 方程式计算。可以得到通过鱿鱼的巨神经轴突膜，得到平衡电位和膜电位的作用。这些得到的数据可与学生测量到的数据比较，这些比较结果表明学生在分析数据时是有价值的。

设备

PowerLab

静电计 或 ML165 pH放大器

微转换平台

电极

Chart/s 或 Scope 软件

方法

龙虾尾部的快速伸肌是一个非常好的标本，因为解剖简单，而且6段腹部节片的每一段都含有一对快速伸肌。具有基本解剖能力的学生只须用一对弯刀剪刀就能解剖下尾部。把龙虾放在冰上，去头，去尾部。一面刀刃插入到尾部的切头并沿着表皮的轮廓线从侧面切除甲壳和屈肌。

从尾部剩余的部分拉去背部表面的表皮并且放在充满盐水和用软蜡划过线的陪替氏培养皿里。把尾巴的两端用大头针固定，用解剖显微镜识别每段腹部节片的快速伸肌。每一侧节片上两个快速伸肌的区域里有独立的肌肉纤维，学生经常会对这些每个体节中两个快速伸肌上的大尺寸的独立肌肉纤维感兴趣。在这个阶段要求去除肠子以及任何肌肉上的结缔组织。

传统的玻璃微电极技术可以用来刺穿肌肉纤维膜。玻璃微电极放在适配器上并连接到一个静电计的探头里。静电计是测量两个电极之间的电压差的仪器。如果没有静电计，可用ADInstruments ML165 pH放大器代替。微操作器能牢固地固定探头并且能用于微电极的尖端放入盐溶液槽。参考电极放在槽内，并连接到静电计，静电计依次连接到PowerLab，在这个阶段，打开静电计，通过两台设备的控制（装有Chart软件PowerLab设备的监测）轨迹放在接近屏幕的顶部。

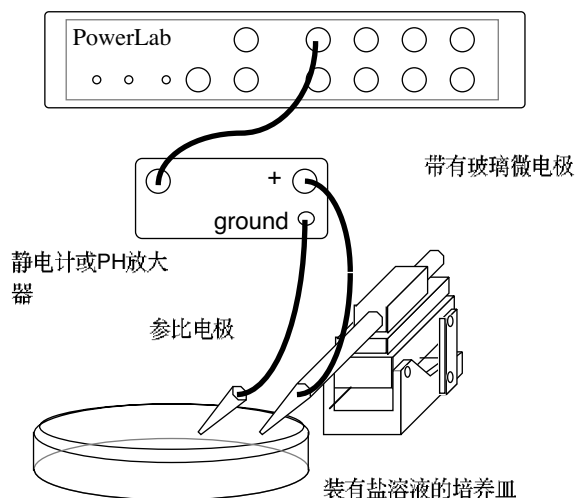
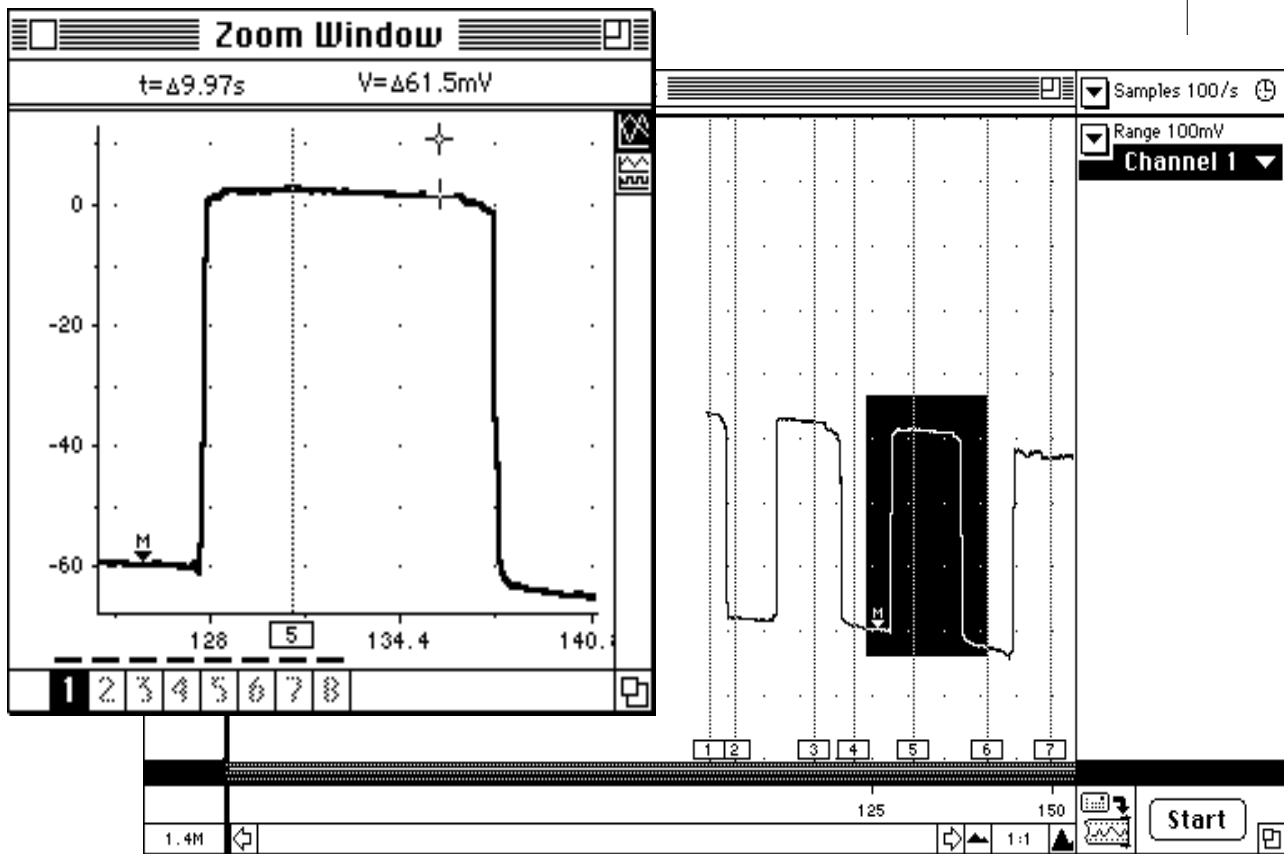


图 1. 图中显示了PowerLab、静电计、微量吸液管和电极之间（安装在微操作器上）的连接。微量吸液管和静电计的连接需要屏蔽。



Comments

Channels: **1 2 3 4 5 6 7 8**

| | Time | Comment |
|---|--------|---|
| 1 | 102.5 | Out of cell |
| 1 | 106.12 | enter cell - Em about -62 mV |
| 1 | 117.12 | out of cell |
| 1 | 122.62 | Penetrate cell - Em about -65 mV |
| 1 | 130.75 | Out of cell |
| 1 | 141.12 | Penetrate cell - not stable - Em about -68 mV |
| 1 | 149.87 | Out of cell again - end of sequence |

Show Times **Delete** **Go To**

图 2. 这是用PowerLab和Chart软件得到的典型轨迹。5个平均值光滑的点用来消除仪器噪音。选定的轨迹可以在Zoom窗口放大显示。当电极刺穿细胞时，有一个明显的、约60-65mV的电位改变。Chart可以运行，这样在每一个记录阶段可以完成许多循环。使用注释特性在注释窗口作注解。

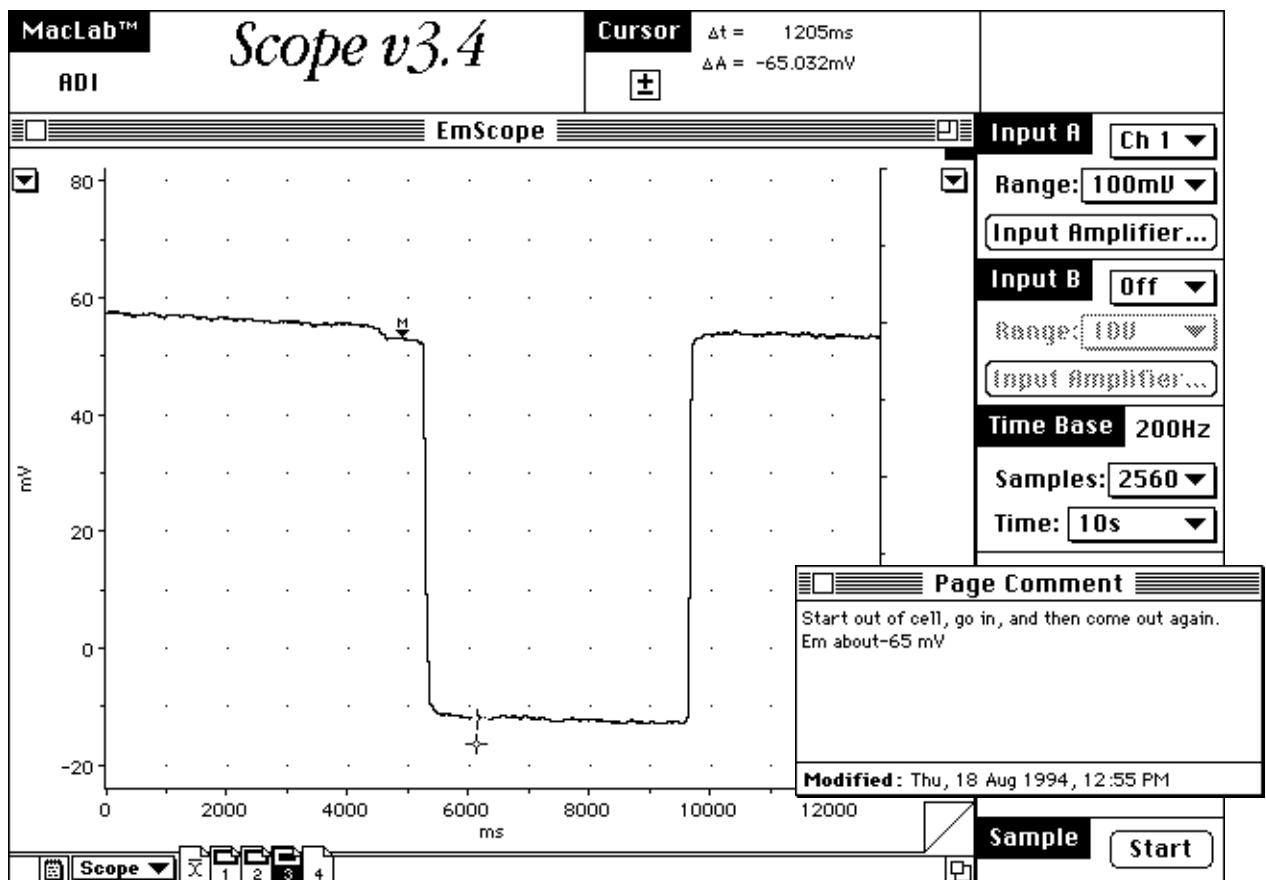
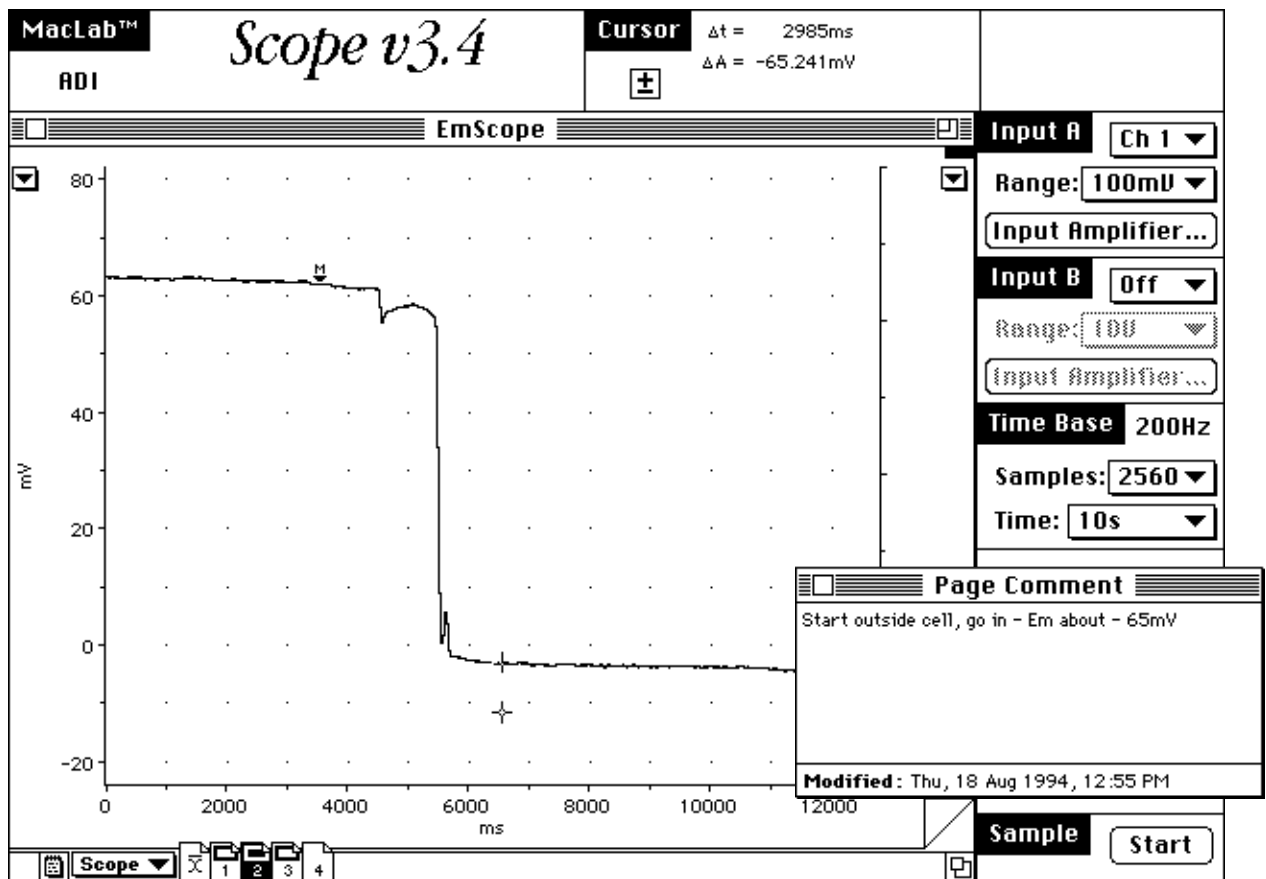


图 3. 如果您喜欢用示波监视这类实验，那您可以选择使用PowerLab的Scope软件。通常您只在Scope软件的每一页上记录一个周期，但您可以在另一页上进行新的扫描。使用标记工具，您可以用鼠标在鼠标面板中直接读到相对值（在这张图中大约是65mV）。

Trademarks

MacLab and PowerLab are registered trademarks, and Chart and Scope are trademarks, of ADInstruments Pty Ltd. Other trademarks are the properties of their respective owners.

Addresses

中国地区总公司:
中国上海陆家嘴金融贸易区
浦东东方路 8 9 9 号
浦东假日酒店 9 楼 1 3 室
邮政编码: 2 0 0 1 2 2

Phone: +86(0)21-58305639
Fax: +86(0)21-58305640
Email: info@adstruments.com.cn
http://www.adstruments.com.cn

上海代理处:
上海岳阳路 3 2 0 号
中国科学院上海生理研究所
联系人: 吴秀凤
Phone: +86(0)21-64313251-8500
Fax: +86(0)21-64746305
E-mail: znzhou@server.shnc.ac.cn

International
ADInstruments Pty Ltd
Unit 6, 4 Gladstone Road
Castle Hill, NSW 2154
AUSTRALIA
Phone: +61 (2) 9899 5455
Fax: +61 (2) 9899 5847
Email: enquiries@adi.com.au
Web: http://www.adstruments.com

Power Lab 系统具有CE资格,
并通过ISO9001认证。

如果你想获得更多关于使用
Power Lab 的信息, 请随时与
我们的技术人员联系。

所有PowerLab仪器都享有三
年保修服务。

Copyright. All rights reserved.

微操纵器将微电极的尖端放在肌肉上, 并且缓慢地降低尖端。示波器上轨迹的快速位移表示微电极的尖端已经接触到了膜。刺穿膜可以通过轻微地移动操纵器或降低尖端。一个快速轨迹的下降偏离表明纤维被刺穿了, 这时可以记录膜电位了。当设备安装好并开始工作时, 大量的读数可以在很短的时间里被记录下来。如图2, 图3。

连接 PowerLab

静电计可以直接地用一条简单的BNC电缆连接到PowerLab数据获取设备。如果班级里的学生对胞内技术十分有限, 指导老师可决定先让学生使用示波器, 当他们适应了刺穿纤维膜后, 可以切换到PowerLab设备。也可以用BNC的T型接口让静电计同时连接到示波器和一台PowerLab设备上。通过这种方法, 学生们可以在示波器上监测膜的穿刺情况, 同时在计算机上进行“硬拷贝”。静电计的输出可以在带有Scope或Chart软件的计算机上显示。

学生们可用Chart或Scope.设置记录参数。或者也可以由指导老师在实验以前保存记录参数作为一个独立的(锁定的)

“设置”文件。参数包括: 关闭不需要的通道命名并扩展剩余的通道, 设置采样速率, 时间基值, 电压量程。从不同标本记录的信号差异, 要求学生改变某些设置。这是一个简单的操作, 因为PowerLab界面是直观易懂的。

Chart和Scope两种软件都有放大选定区域数据检测和测量的功能。这样可以得到记录的特写, 为了保证精确的光标和标记的测量, 可将Zoom窗口的轨迹打印下来。或者在Zoom窗口里保存并粘贴到剪贴本或直接粘贴到学生实验报告的word文件。

注解

在记录阶段, 必须鼓励学生将注释键入页面注解, 每一页注解都不同。在实验中, 学生在他们的数据文件里用键盘输入特定注解。学生可以(在Scope的“页面注解”和Chart的“注解”)输入描述信息, 这样在以后的数据分析中就能方便地查阅了。本实验的各种注释可以包括完成测量的区域和半节片, 以及盐溶液组分。

数据分析

学生可以将他们的数据保存在一个大文件或许多小文件里。我们建议给每个学生小组提供一张空磁盘, 这样计算机的硬盘驱动器不会因为外部的文件而弄乱。况且, 一张空磁盘可以给学生提供便捷, 数据分析能在任何一台计算机上进行, 因为数据分析不需要PowerLab设备。学生只要双击文件打开他们的数据。通过拖动Chart文件以及点击注释框或在Scope程序中翻动页面浏览页面注释可以查看数据。在Chart和Scope里“标记”和光标连接可以测量刺穿膜前后的不同电压。全面的有关数据分析的用法说明可以从手册或Chart扩展软件上得到。

进一步研究

该标本可以用来测量肌肉两个区域其余的电位, 并且可以比较不同的节片左右的测量值。这样可以向学生介绍不同纤维的不同膜电位而且数据可以介绍统计分析。其他实验涉及到寻找有相似的膜电位的纤维小区域, 也可用一系列改变过的不同浓度的钾, 钠离子的盐溶液替换盐水。