

龙虾肌肉的突触后电位

本篇讨论了如何使用带有Scope软件的PowerLab引发单肌肉纤维的兴奋和抑制突触后电位。

Phil Stephens, ADInstruments Pty Ltd

前言

简单的无脊椎动物标本，可以用来记录单个肌纤维上激发的兴奋和抑制突触后电位。这个实验应用胞内技术并且给学生介绍刺激器和带有Scope软件PowerLab的触发概念。

仪器

Powerlab

静电计或pH放大器

转换盒

电极

Chart 或Scope软件

方法

解剖龙虾尾部的快速伸肌十分简单，即使对于只有基本解剖知识的学生来说也如此。每个腹部节片包括一对快速伸肌，所以有许多可用的标本。在肉眼解剖从标本上去除肠子之后，要用解剖显微镜除去标本上多余的屈肌，结缔组织。

每半侧的肌肉受节片的神经分支支配。学生必须首先选择一侧特定的节片，这个节片上的快速伸肌要看上去完整无损伤。操纵器用来将一对金属钩状电极放于半节片的快速伸肌的外侧，而没有必要识别标本的（切割）神经。短暂(1ms)的电击通过钩状电极刺激神经并产生肌肉反应。大多数新鲜的标本上，增加阈上刺激的电压能导致快速的肌肉抽搐，这种现象可以通过显微镜观察到。在这个阶段，刺激应该停止，电压必须降到最低。

传统的玻璃电极技术应用于刺穿单条快速伸肌纤维。带有微电极的探针和接地电极连接到静电计，一条BNC电缆用于将静电计的输出连接到PowerLab输入通道。

实验用刺激器可以用于刺激神经以及触发PowerLab。然而，PowerLab设备含有一个精密的刺激器，它的参数与实验用的刺激器相似。所以，熟悉一种刺激器的学生一定很方便地使用另一种。另外，“采样”指令可以在设置触发参数的同时，设置其他选项，如单独和反复刺激，以及求平均。当刺激产生，参数就显示在显示屏上了，这样，学生不用回到原来窗口的浏览菜单就能改变参数了。

PowerLab的输出和传统的刺激器相似，除了它是由Scope软件控制的。触发PowerLab不需要特殊的电缆——当按下“Start”按钮，就能通过Scope软件控制记录和刺激。通过刺激器平面对PowerLab的输出电压的调节允许向神经输送电击同时开始扫描。

“输入放大器”可以用于监测来自静电计的信号而不用记录它。这个功能可以用来刺穿单一的肌肉纤维，将DC偏移补偿设置到合适的水平，并寻找产生兴奋突触后电位的电压阈值。刺激器电压必须缓慢地增加，直到人为刺激过后就能产生突触后电位为止。在这个阶段，学生可以回到Scope主屏幕，点击“Start”开始产生轨迹并刺激标本。

通过多次测试调整电压强度可以给学生引入阈值的概念和受多个神经元支配的特定肌肉纤维概念。每次测试会显示在“页面”上，与示波器存储扫描相似。

在这个标本上，大多数的纤维受一侧节片的通常的兴奋神经和抑制神经的支配。刺激电极的位置可能改变而且极性会改变两个运动神经元差异地刺激。在一侧节片的大多数纤维中通常兴奋原会产生动作电位。由于玻璃微电极经常会因为肌肉抽搐而移位，因而引发的收缩是一个问题。在屏幕上，人为刺激在动作电位后出现，当电极离开细胞后一个快速的上升的轨迹偏离就会出现。这个移位问题可以通过把电极尖端设置在不易出现移位的区域解决，或通过反复的刺激使标本疲劳。在后面的例子中，动作电位通常被兴奋突触后电位（EPSP）取代，然而，其他运动神经元产生的EPSP的振幅经常有伴随性地下降。

6个运动神经元位于每侧节片的神经里。神经支配的模式可以通过肌肉纤维在一侧节片的不同位置的记录检测。将电压脉冲仔细调节可以用来确定有多少运动神经元支配一根特定的肌肉纤维。这个标本也可以展示突触后的抑制和易化以及时间的总和。

仪器的连接

静电计的一条BNC电缆可以直接连接到PowerLab的数据获取设备如图1，或者也可以将一条BNC的T型接口将静电计与示波器及PowerLab设备连接。通过这种方法，学生可

以在示波器上监测标本的膜穿透以及引发的突触后电位。同时，用Scope软件进行“硬拷贝”。

数据显示

Scope软件的数据分析功能是由软件驱动的，不需要PowerLab设备。任何带有Scope软件的计算机都能分析数据。我们这里提供学生用的Scope软件包并带有完整的使用手册。我们建议给每个学生一个空的磁盘，这样他们就能在任何计算机上进行数据分析了。学生们只要双击他们的图标就能在计算机屏幕上显示他们的数据。显示叠加图指令将所有的有地址的轨迹叠加——点击页面图标的命令能控制显示在叠加图上的扫描页。这样，学生能观察，例如：许多轨迹当电压强度被改变，反应振幅也相应地变化时，如图2。可以用标记和光标得到精确的测量。关闭选定轨迹区域的观察可以在Zoom窗口完成。

注释

在记录阶段，要鼓励学生在页面注释中键入注解。每一页的页面注释都不同。笔记本功能可以写下所有的实验步骤。通过这种方法，观察，注释和数据记录可以合在一起，而不是用单独的笔记本（或一张纸！）。

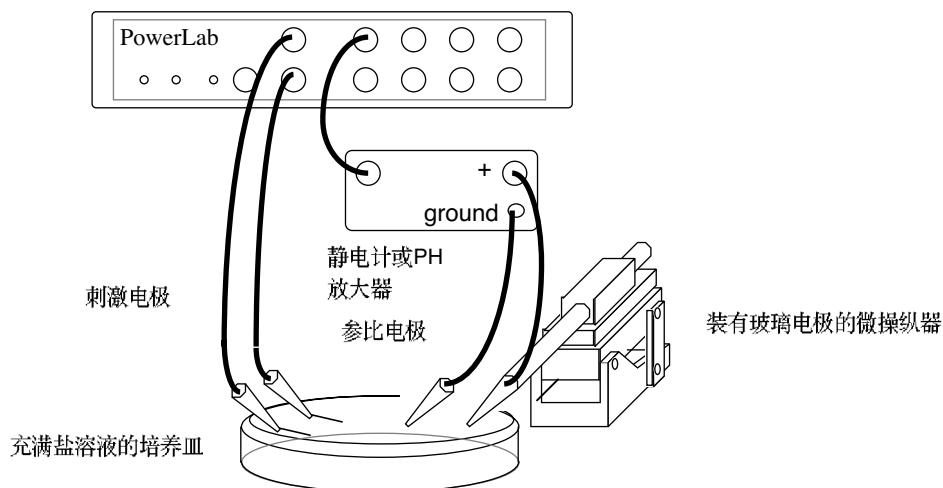


图 1. 图中显示一台PowerLab连接到一对刺激电极和记录数据的静电计上。

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.

进一步研究

这个实验练习的其他工作包括, 装填第三神经根的运动轴突。解剖后的腹神经索被钉在充满盐水的小实验盘的底部, 并且识别一个以上的第三神经根。一个充满凡士林的注射器用来形成一个"井"使第三神经根通过

染料(如0.5M的二氯化钴)的盐水就充满了神经根。在冰箱里过夜培养后, 标本被移到充满新鲜盐水的盘里, 通过加入硫化铵使钴离子沉淀。几分钟后, 填充过的运动神经元和它们的神经索可以通过解剖显微镜观察。随后标本要进行固定, 脱水, 清洗, 这样细胞体的位置以及每个在神经节里的神经元的分支形状就可以被确定了。

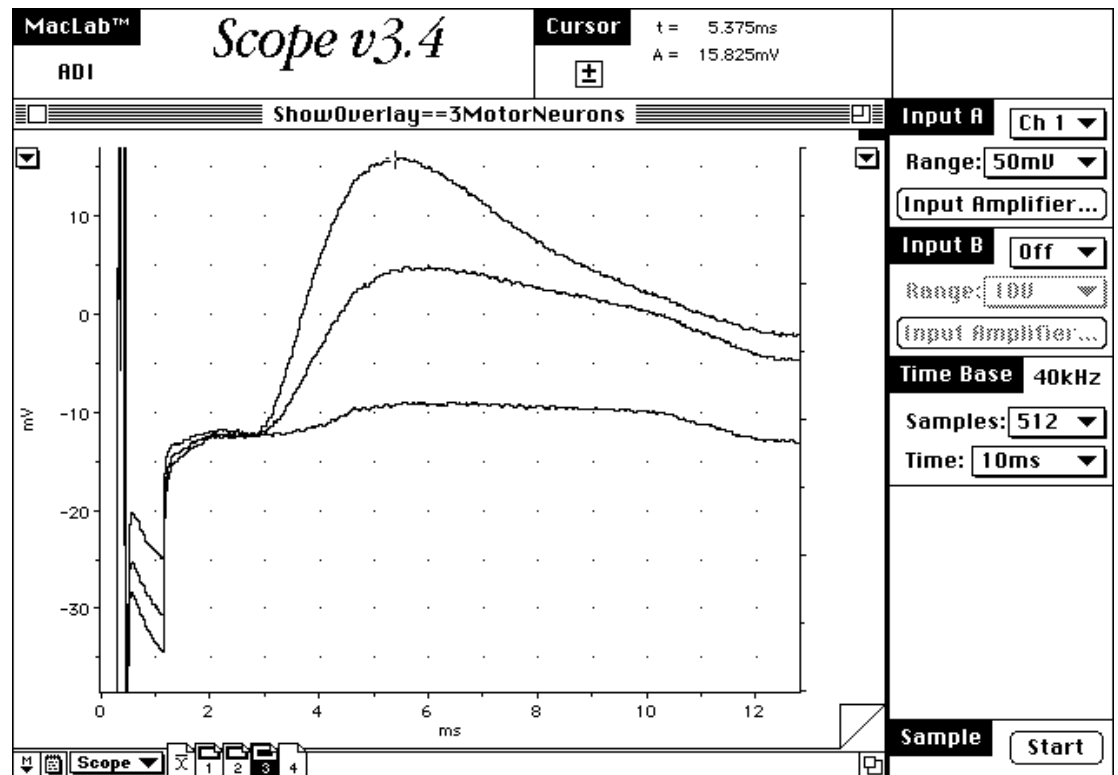
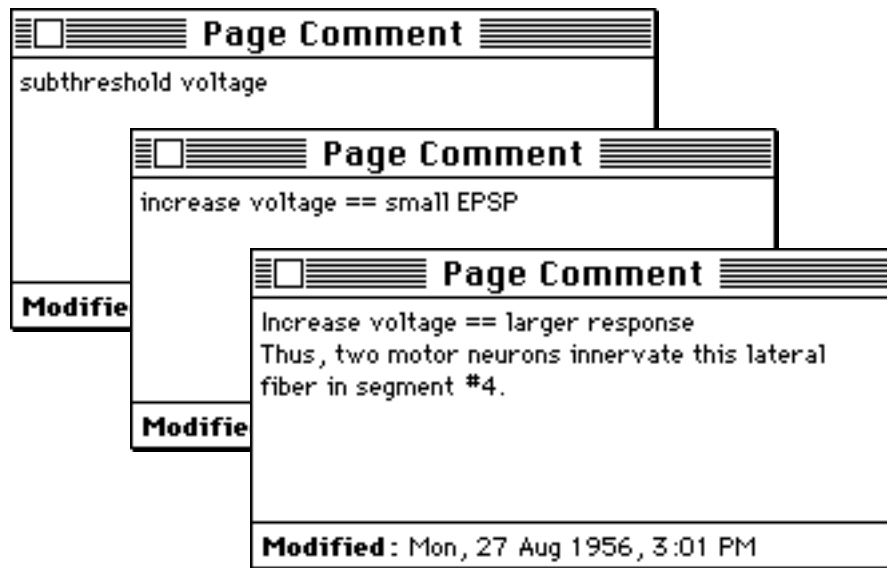


图 2. 实验收集到了三条轨迹, 并用Scope显示。三条轨迹都能重叠地显示。如图所示, 关于每条轨迹的注解可以储存在页面注释窗口。