

龙虾自发神经与肌肉的活动

本篇阐述了如何使用附有Scope软件的PowerLab记录龙虾神经与肌肉的活动。

Phil Stephens, ADInstruments Pty Ltd.

前言

表面屈肌是位于龙虾尾部每一节成对的肌肉。每一侧的肌肉受6个运动神经元支配，这些运动神经元的轴突来自腹神经索第三根处。运动神经元显示紧张性活动，这个特性使表面屈肌标本能够理想地记录到来自运动神经元和肌纤维的自发活动。

仪器

PowerLab

静电计或pH放大器

微转换平台

电极

桥式放大器(可供选择)

Chart/s或Scope软件

方法

理论上，标本分离是很简单的。把分离后的尾部以腹部朝上钉在充满盐水的盘里，学生可用解剖显微镜鉴别被腹甲(带条纹的硬表皮)包裹的片段。镊子和锋利解剖刀刀刃的尖端可以用来去除段片中部的滑动关节隔膜，这样腹神经索和表面屈肌就暴露在外了。

实际上，对微分离了解不多的学生来说，这个实验可能比较困难，因为在一条尾巴上肌肉是四段潜在标本的部分，(第一段和最后一段在钉制标本时通常被破坏)。表面屈肌直接位于滑动关节隔膜下方，解剖时很容易被破坏。一个好的光学显微镜和解剖前学生对肌肉的识别是非常

重要的。把标本钉在解剖盘以前，将尾巴背部表面和多数牢固的屈肌(尾巴上的"肉")去除对实验很有帮助。若用一面镜子把光从底部反射上来，肌肉和第三根腹神经索的标本识别过程将更容易。最后，一些标本的结缔组织可能位于肌肉和腹神经索之间。虽然它不会遮掩肌肉，但为了使第三对腹神经索暴露，还是要将它去除。

表面屈肌有很大的纤维，很容易被玻璃微电极刺穿。传统的微电极技术用于刺穿单根肌肉纤维，但必须注意，由于纤维形成了一层薄衣，很容易使电极尖端穿过肌肉。习惯于测量静休膜电位的学生，看到示波屏自发兴奋突触后膜电位(EPSPs)通常会十分吃惊。他们会立刻注意到EPSPs有不同的振幅，它们的频率不是恒定的。

吸入电极可以用一个压力半电池 (pressure half cell) 和一个破的玻璃电极制得。合适的插头连接在屏蔽电缆的一条导线上，而第二条导线焊接在包在玻璃电极外的银制导线。屏蔽线和插头被包裹在坚硬的塑料管子里，由操作者控制。待盐水吸收到电极和半电池后，把电极的尖端仔细插入第三根腹神经索。平缓的吸收可使神经进入电极尖端。

仪器的连接

来自静电计的BNC电缆可以直接连接到PowerLab主机上的数据获取设备，如图1(静电计是高阻抗电压表，如果没有静电计的话，可用ADInstruments (埃德仪器) 的ML165 pH放大器代替)。换句话说，BNC的T型接头可以把静电计连接到示波器和PowerLab设备。吸入电极的输出可以直接连接到PowerLab设备，若实验指导老师要用微分放大器(这样就要使用高、低通滤波器)，

也可将这些放大器连接到PowerLab设备。在这种情况下，吸入电极的两条导线要连接到微分放大器上，显示屏要接地，一条BNC电缆连接放大器输出到PowerLab的第二个输入通道。

数据显示

第二通道的增益调节能使学生把细胞外记录下的运动神经元活动的自发的EPSPs进行校正。选择带有小尖端的电极，或吸入到分支，可以允许选择来自6个运动神经元中的一部分记录，这种方法是值得赞赏的。在这样的条件下，才有可能校正运动神经元峰值和一些EPSPs，图2。

在Scope软件里，学生能设置记录参数，或在实验之前由实验指导老师设置，把记录参数保存为一个独立的(锁定的)"设置"文件。参数包括重定义坐标轴，设置测试速率，时间基线，电压量程。实验不需要的菜单选项可以隐藏或锁定。不同标本的信号记录不同，所以要求学生更换一些设备。

Scope的"输入放大"可以用来监测在没有准确记录情况下来自静电计的信号。在刺穿单一肌肉纤维时，这个设备有助于把DC补偿设置到适当水平。在这个阶段，学生能切回

到Scope主窗口，点击Start按钮。记录显示在一系列的"页面"上，每一页都是对示波器存储的屏幕镜头的分析。

可以通过Windows菜单中的放大窗口（Zoom Windows）仔细观察选中的轨迹。通过这种方法，标记和光标可以准确地放在需要的位点。这个选项可以将放大的轨迹直接复制和粘帖到剪贴板和Word字处理文件，可以作为学生的一部分实验报告。

注释

在记录时，学生可以在页面注释（Page Comments）上打入注解，这样可以区分不同的页面。笔记本（Notebook）程序也能写下所有的实验过程。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！）。

数据分析

Scope的数据分析不需要和PowerLab设备连接。所以，学生能使用任何内存足够大可用于Scope软件

（这里有学生用的Scope软件包）的计算

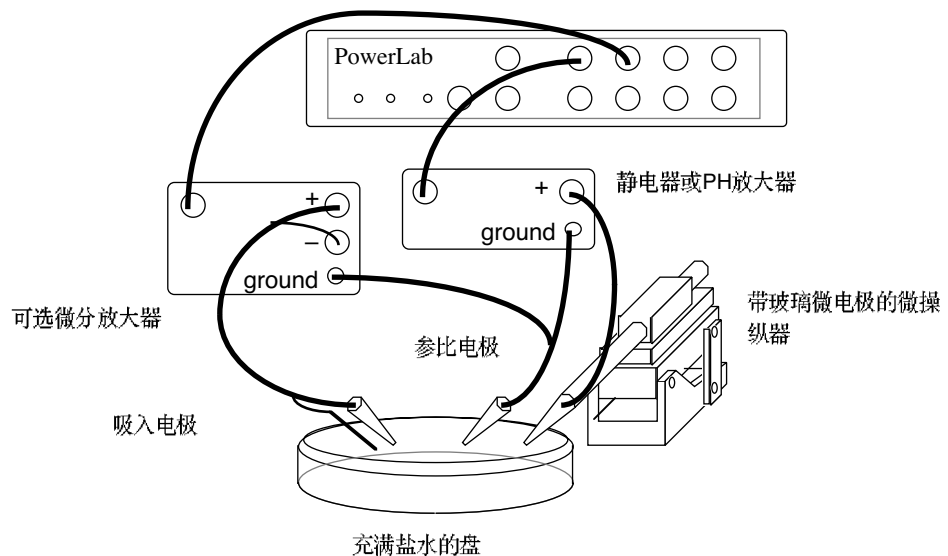


图 1. 该图显示了PowerLab与其他仪器的连接。注意微分放大器可以省略。吸入电极分别连接到PowerLab的微分输入的一通道的正极和负极上。微吸管和静电仪的连接必须被屏蔽。

机分析他们的数据。建议给每个学生都提供一张软盘，这样他们就能在任何计算机上分析数据了。学生只要双击图标，就能在计算机屏幕上显示他们的数据了。可以通过点击右下角的图标或点击写有正确页码的页边的空白，或写地址，找到页数。这样数据分析就能放在实验以后，而不会浪费宝贵的实验时间了。

可以通过标记和光标进行精确测量。根据每种给定时间范围内记录下的波峰，可以测出波峰的振幅并画出柱状图。这样允许学生可以通过在波峰的振幅基础上识别6个运动神经元并且能估计每个神经元的激发速度。虽然这样可以使使用EPSP振幅重复实验，但是要认识到，不是所有的肌肉纤维都是靠运动神经元支配的。可以通过以下的方法很好地证实上述结论，用神经波峰与EPSP在肌肉中的结果关联，并且注意在穿刺后的肌肉里一种或多种的神经波峰没有共存的EPSP。同样地一种或多种EPSP与神经

波峰不匹配，图3。如果吸入电极很小或者记录来自第三足分支，仅含有部分运动轴突，就能观察到这些现象。

进一步研究

这个实验的简单附加操作涉及将第三根的运动轴突充填和一个或几个第三根鉴别。分离后的腹神经索被钉到充满盐水的解剖盘的底部，一个充满凡士林油的注射器可以用来形成一个“井”随第三根传过壁。把该足的末端切除，这样井里的盐水可以将染料（例如，0.5M的二氯化钴）注入足里。经过在冰箱内过夜培养，标本被移到装有新鲜盐水的盘内，加入硫化铵可使钴离子沉淀。几分钟后，可以从解剖显微镜中看到填充过的运动神经元以及它们的轴突。标本需要连续地固定，脱水，清洗，因此在神经节中每个神经元的细胞体和分支形状的位置就能确定。

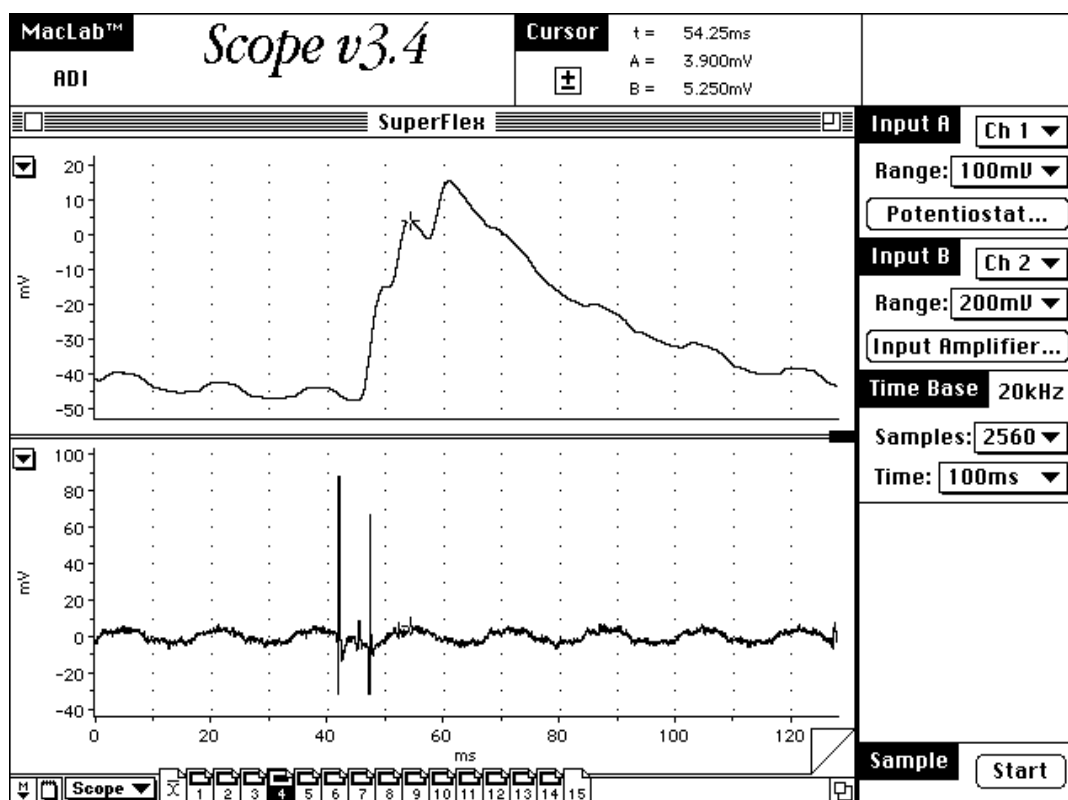


图 2. 通过Scope软件得到了一个典型的轨迹。许多轨迹保存在一个文件里，通过从显示屏底部选择确定的“页面”就能看到这些轨迹了。在这个例子中，操作着从该文件选择了第4页的14个扫描页。扫描15是空白的用于下一个记录。

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 899 号
浦东假日酒店 9 楼 13 室
邮政编码: 200122

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 320 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

PowerLab 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
PowerLab 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.

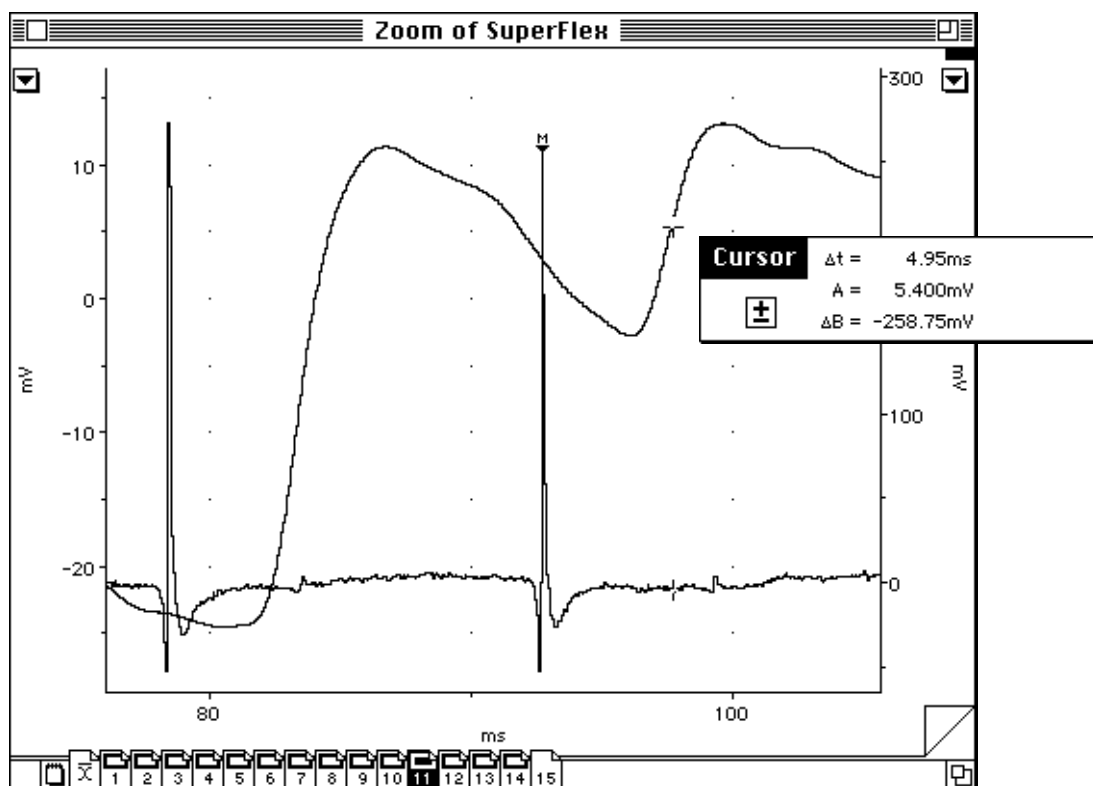
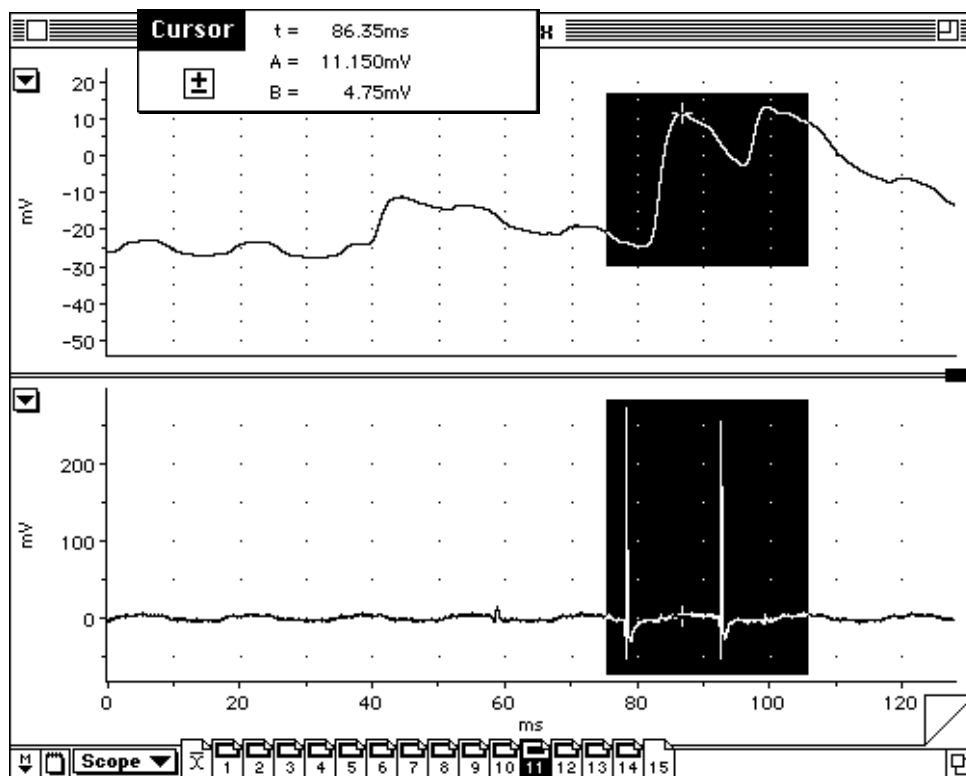


图 3. 来自 2 个通道的部分信号, 以及放大窗口, 既可以扩大又可以覆盖轨迹, 标记工具点在了个自发的 EPSP, 而光标点在一个约 5ms 后运动神经元的明显相关增值点上。