



Anleitung zum Praktikum Elektrophysiologie

Philipps Universität Marburg

2012

Praktikumsbetreuer: **Kirill Essin**



C-NERV / C-NEURON. Aktionspotentiale.

Extrazelluläre und intrazelluläre Messungen in virtuellen Laboren

➤ Anleitung

- **Elementarphysik. Elektrizität.**

Passive Membraneigenschaften. Kapazität und Widerstand.

Ruhemembranpotential. Nernst-Gleichung.

- **Extrazelluläre Messungen. Summenaktionspotential (SAP).**

Programm „**C-NERV**“.

- **Intrazelluläre Messungen. Aktionspotential (AP).**

Programm „**C-NEURON**“. Programm Modul „**Strom-injektion**“.

- **Spannungsklemmen-Messungen (Voltage-clamp). Die Messung des Ionenstroms.**

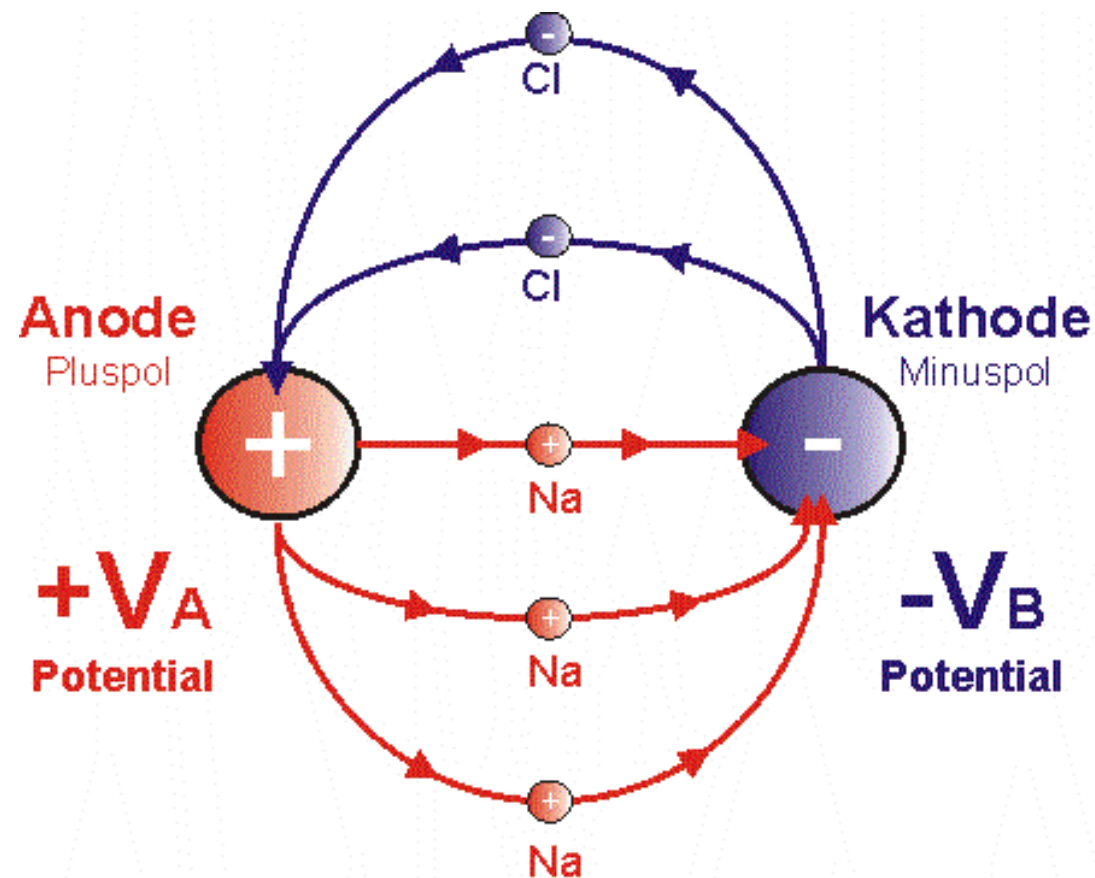
Programm „**C-NEURON**“. Programm Modul „**Spannungs-klemme**“.

➤ Prüfung

➤ Praktikum



Stromstärke. Elektrische Spannung oder Potentialdifferenz.



Die Stromstärke (I)

bezeichnet die Menge der elektrischen Ladungen (Q), die in einer Zeiteinheit (t) bewegt werden. Ihre Einheit ist Ampère (A).

$$I = \frac{Q}{t}$$

Elektrische Spannung (U)

Eine Potentialdifferenz zwischen zwei Körpern ($V_A - V_B$) nennt man Spannung (U). Ihre Einheit ist das Volt (V).

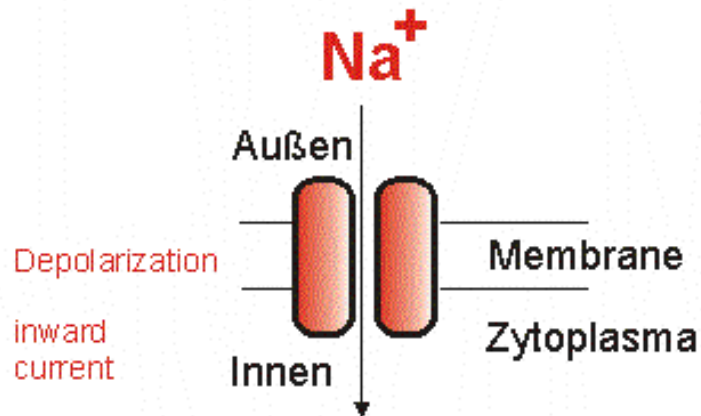
$$U = (V_A - V_B)$$

$$I \sim U$$

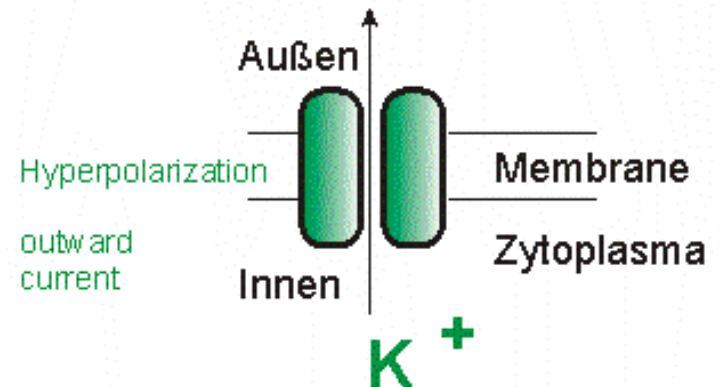
Je größer der Potentialunterschied zwischen Pluspol und Minuspole ist - also die Anzahl entgegengesetzter Ladungen - desto größer ist auch die Kraftwirkung auf die Ladungsträger

Die Stromrichtung in der Elektrophysiologie.

Die positive Stromrichtung ist die Bewegungsrichtung der positiven Ladungen - Na und K Kationen
Current direction is defined by the direction of increasing positive charge



Strom von Außen nach Innen

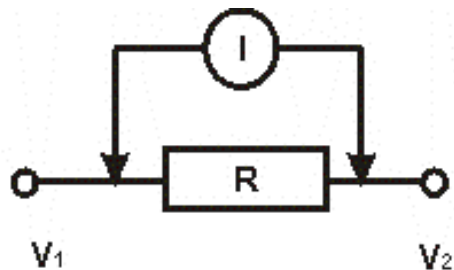


Strom von Innen nach Außen





Ohmsches Gesetz. Elektrische Leitfähigkeit. Strom-Spannungs-Kurve.



$$I = \frac{(V_2 - V_1)}{R}$$

Ohmsches Gesetz

Elektrische Leitfähigkeit

$$g = \frac{1}{R}$$

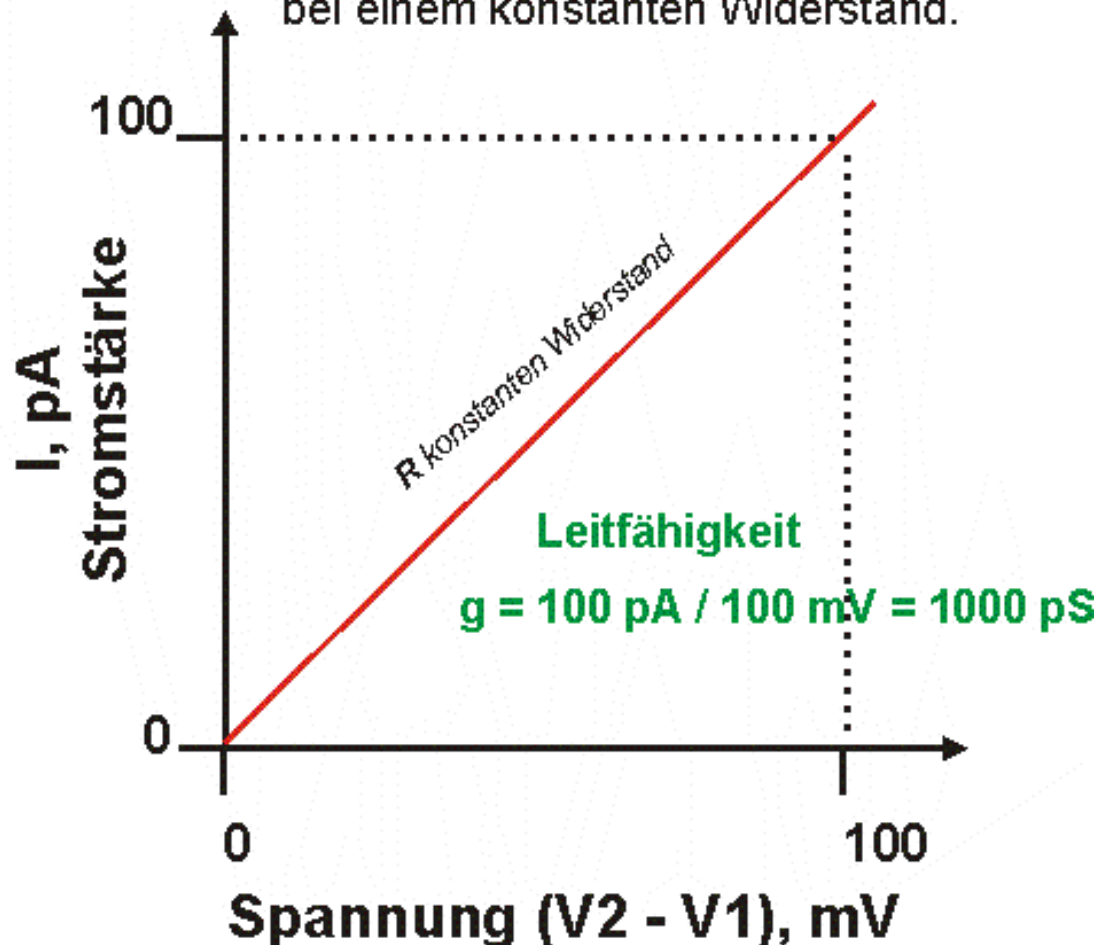
Die Leitfähigkeit ist der Kehrwert des Widerstandes. Einheit ist Siemens

$$I = g * (V_2 - V_1)$$

Ohmsches Gesetz
in der Elektrophysiologie

Strom-Spannungs-Kurve.

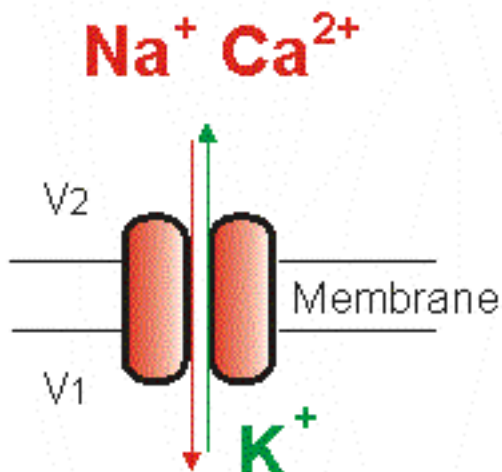
Der Strom ist der Spannung proportional bei einem konstanten Widerstand.



Umkehrpotential. Strom-Spannungs-Kurve.

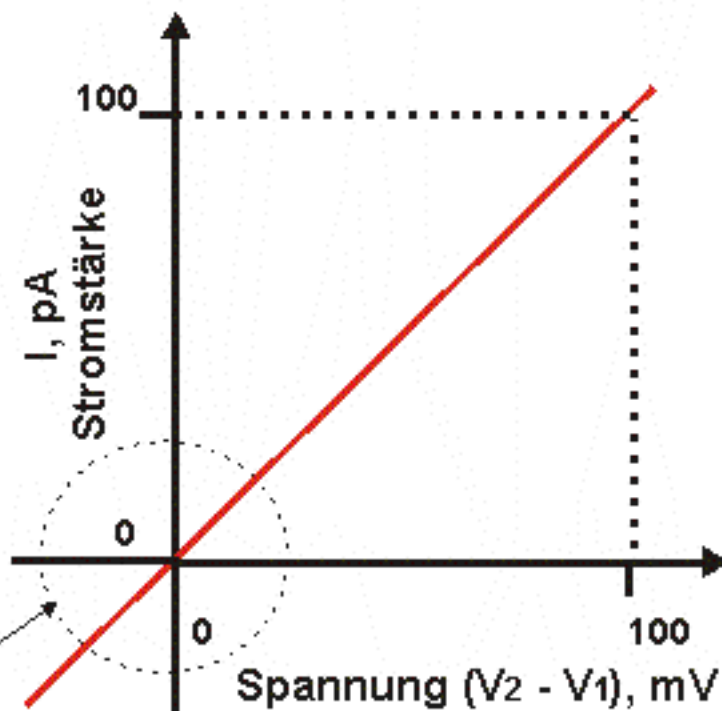
Umkehrpotential: kritischer Wert bei dem sich die Richtung des Stromflusses umkehrt

Nicht selektiven Kationenkanal.



Umkehrpotential = 0 mV

Strom-Spannungs-Kurve.





Elektrische Kapazität. Kondensator. Entladungsstrom.

Kapazität

$$C = \frac{Q}{V_2 - V_1}$$

Einheit ist Farad

Die elektrische Kapazität (C) zwischen zwei isolierten elektrischen Leitern ist gleich dem Verhältnis der Ladungsmenge (Q) die auf diesen Leitern gespeichert ist und der an ihnen anliegenden elektrischen Spannung ($V_2 - V_1$).

Kondensator



Umladungsstrom



$$V_2 - V_1 = 0 \text{ mV}$$

$$V_2 - V_1 = -70 \text{ mV}$$

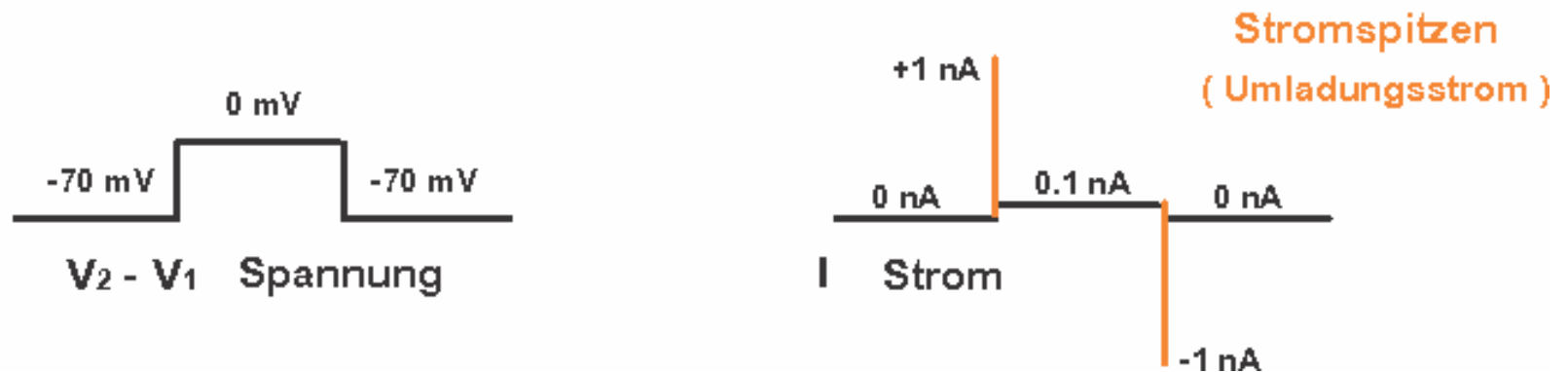
Spannung

0 nA

+1 nA

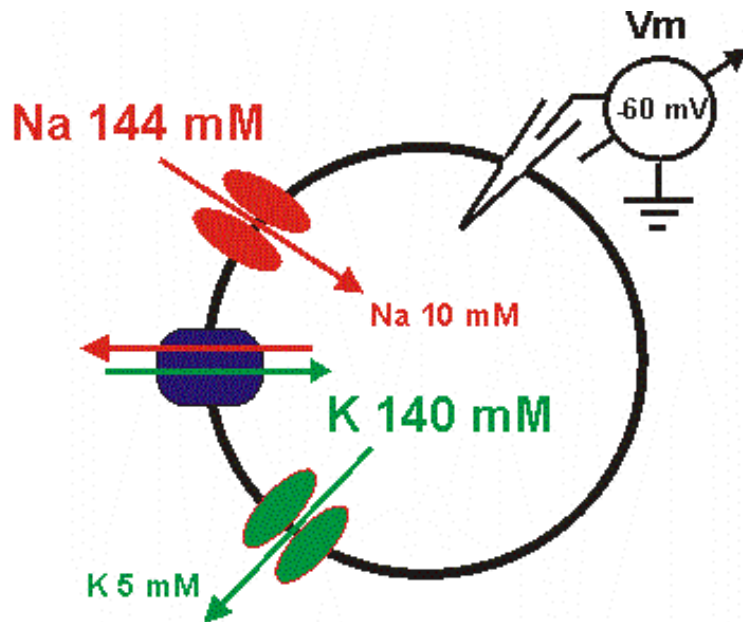
0 nA

Strom





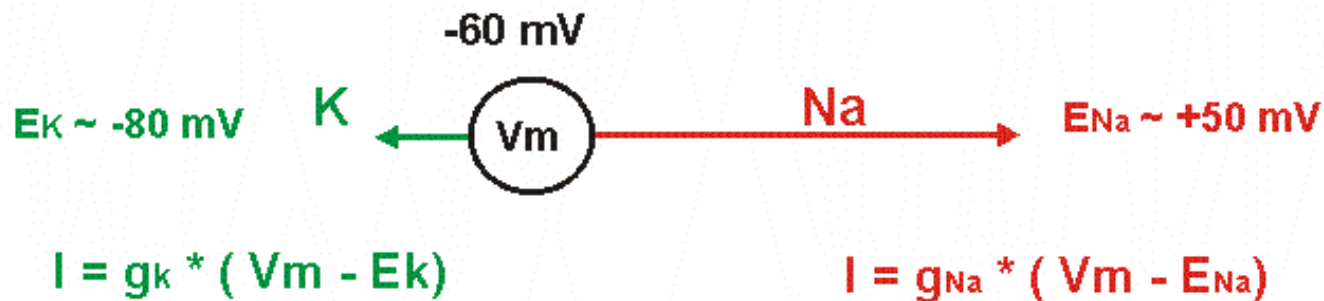
Ruhemembranpotential. Nernst-Gleichung.



Nernst equation
(Gleichgewichtspotential)

$$E = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[\text{ion}]_o}{[\text{ion}]_i}$$

http://www.physiologyweb.com/calculators/nernst_potential_calculator.htm



$$I = g_k * (V_m - E_k)$$

$$I = g_{Na} * (V_m - E_{Na})$$

Ohmsches Gesetz ; g - Leitfähigkeit für Natrium oder Kalium



Nernst-Gleichung berechnen. Nernstpotential für Kalium **Ek**.

$$E_{\text{ion}} = \frac{RT}{Z_{\text{ion}}F} \ln \frac{[\text{ion}]_{\text{aussen}}}{[\text{ion}]_{\text{innen}}}$$

R Universelle oder molare Gaskonstante
T absolute Temperatur (=Temperatur in Kelvin)
F Faraday-Konstante
z die Ladung des Ion

Gebräuchlich ist eine vereinfachte Form der Gleichung, bei der R, F und T (310 K oder 37 °C) sowie der Umrechnungsfaktor zum dekadischen Logarithmus in eine Konstante gefasst werden.

$$E_{\text{Na}} = \frac{-61,5 \text{ mV}}{Z_{\text{ion}}} \lg \frac{[\text{ion}]_{\text{aussen}}}{[\text{ion}]_{\text{innen}}}$$

$$E_{\text{K}} = \frac{-61,5 \text{ mV}}{+1} \lg \frac{10 \text{ mM}}{144 \text{ mM}} = 89.8 \text{ mV}$$

http://www.physiologyweb.com/calculators/nernst_potential_calculator.html

<http://www.nernstgoldman.physiology.arizona.edu/launch/>



Organ-Konservierungslösungen. Ionenkonzentrationen.

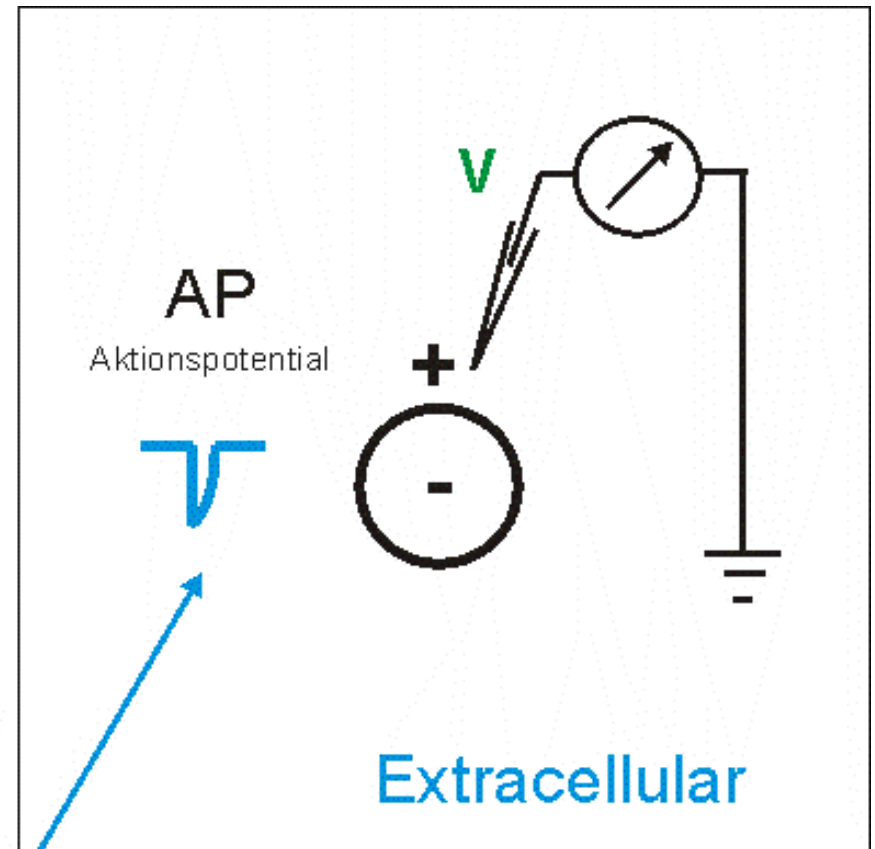
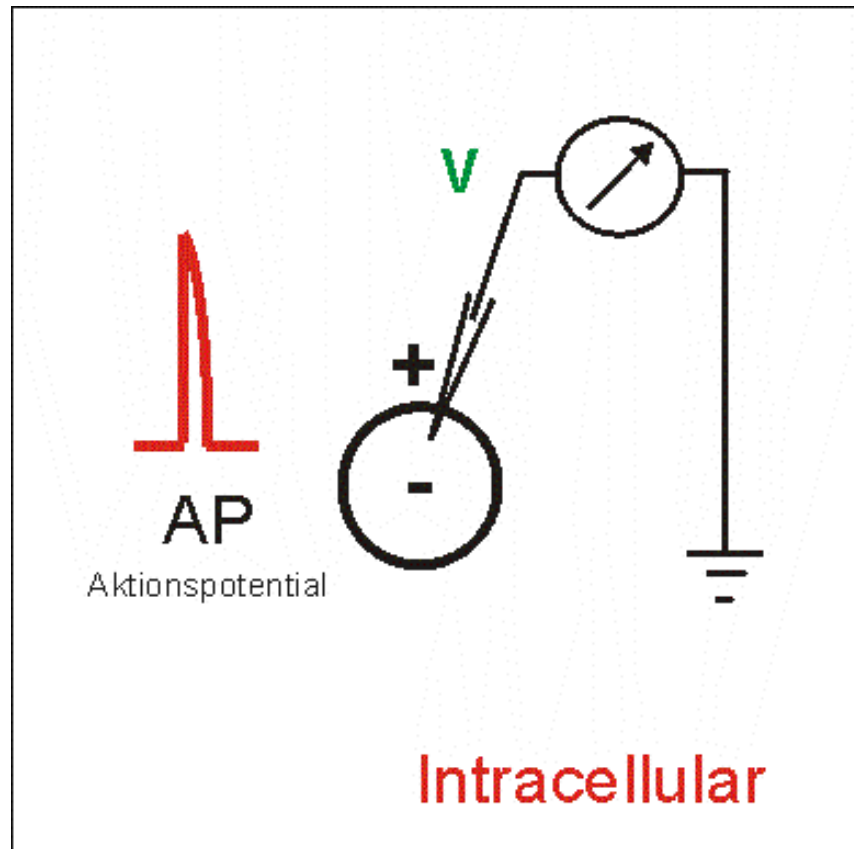
Ruhemembranpotential. Nernst-Gleichung. Medizinische Anwendung
(Sandeep Mukherjee et al, 2011; <http://emedicine.medscape.com>).

In Organ-Konservierungslösungen ist die Konzentration von Kalium erhöht und von Natrium erniedrigt.

Lösungen (Solutions)					Kalium	Natrium
University of Wisconsin solution					135 mM/L	35 mM/L
Euro-Collins solution					115 mM/L	10 mM/L
Kyoto ET solution					44 mM/L	100 mM/L

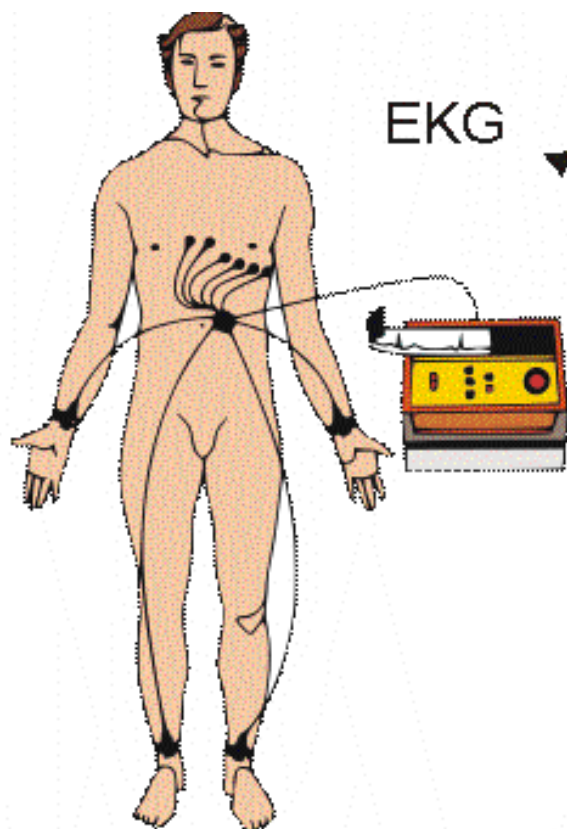
“Intracellular-type electrolyte solutions were developed for cold storage of kidneys to prevent an intracellular–extracellular Na^+ and K^+ gradient and the net diffusion of cations (3 Na^+ vs 2 K^+) into parenchymal cells” Ying-Hua Tian et al “High- and low-potassium solutions for the storage of abdominal and thoracic organs” [Langenbeck's Archives of Surgery](#), 2000

Extrazelluläre und Intrazelluläre Membranpotentialmessungen.



Die Signal-Richtung ist umgekehrt.

Extrazelluläre Membranpotentialmessungen. Medizinische Anwendungen.

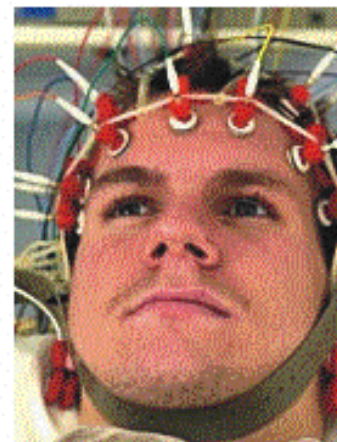


EKG

Extrazelluläre
Messungen

EEG

ENG



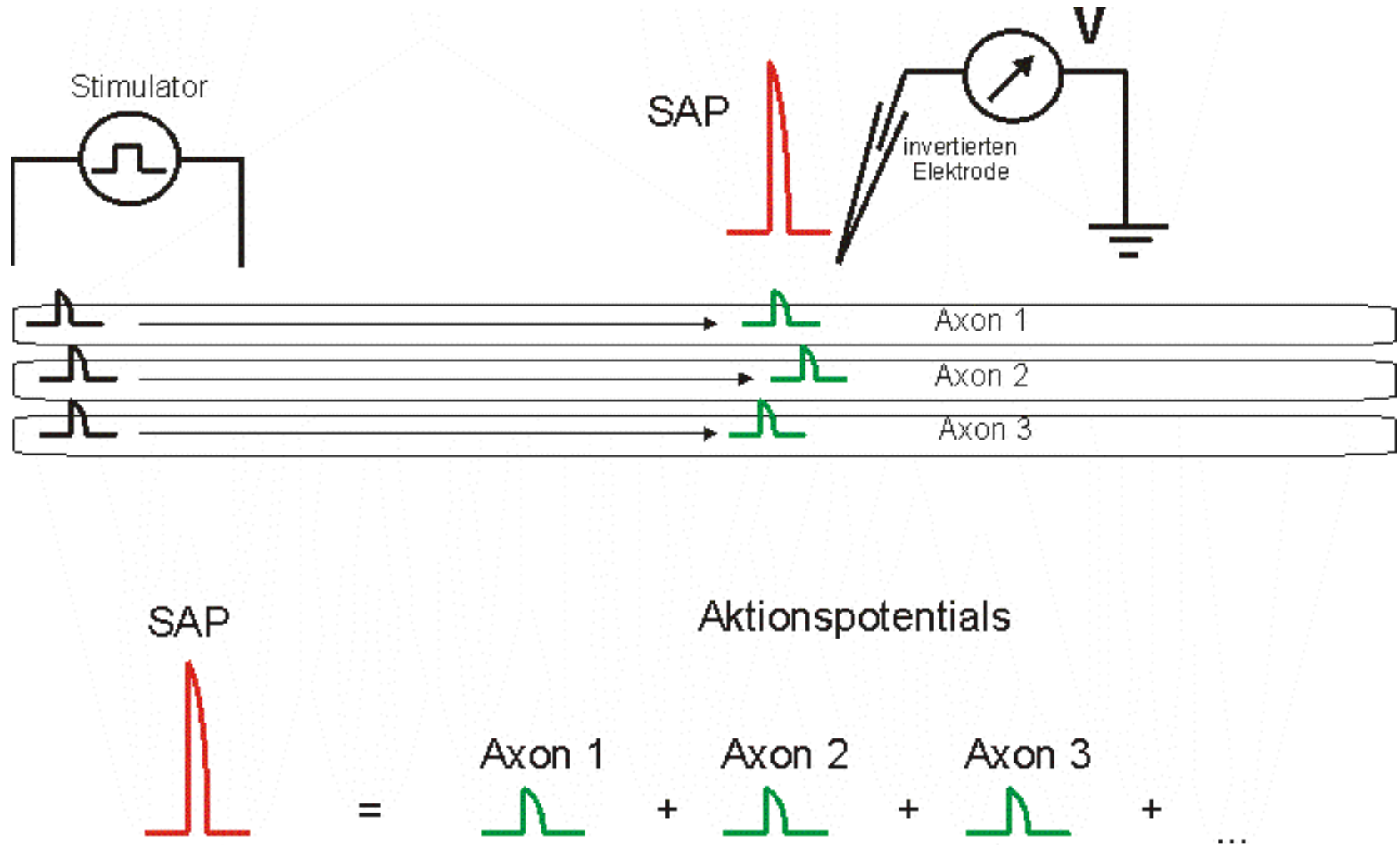
Enzephalogramm
misst Gehirnstromwellen



Elektroneurografie
misst die Nervenleitgeschwindigkeit.

Elektrokardiogramm
die Herzaktivität misst

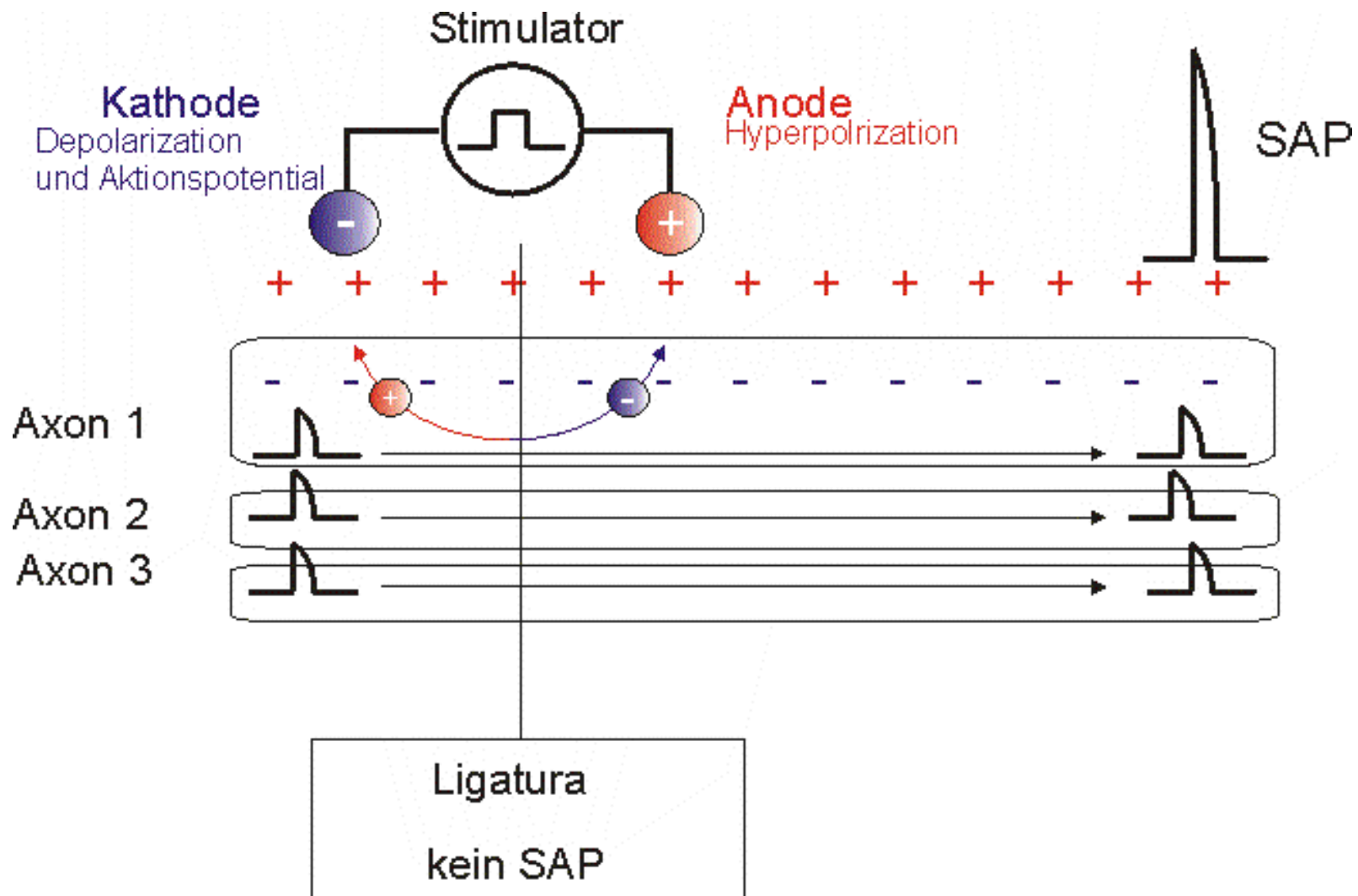
Überlagerung der AP's aller Axone wird Summenaktionspotenzial (SAP).



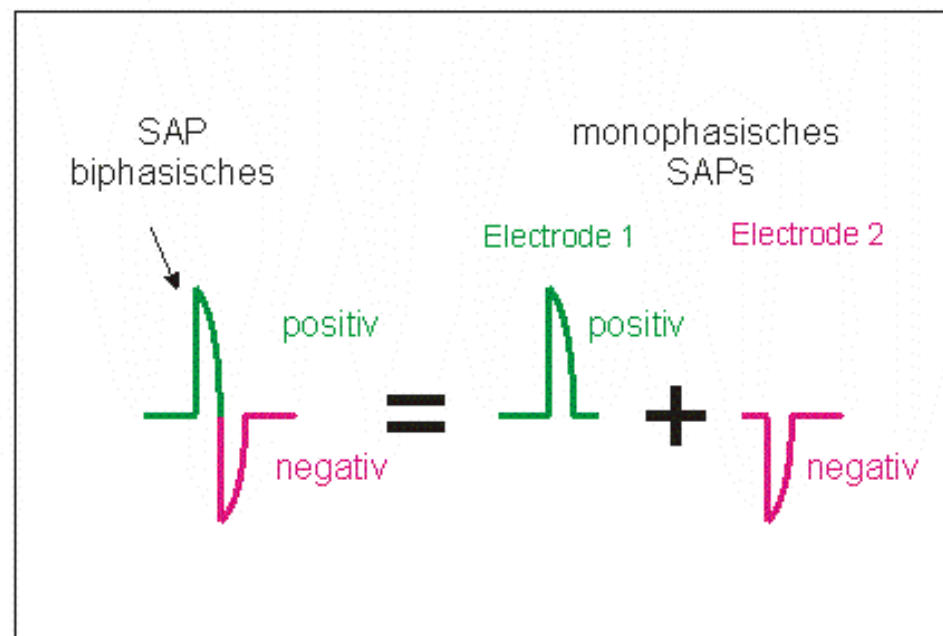
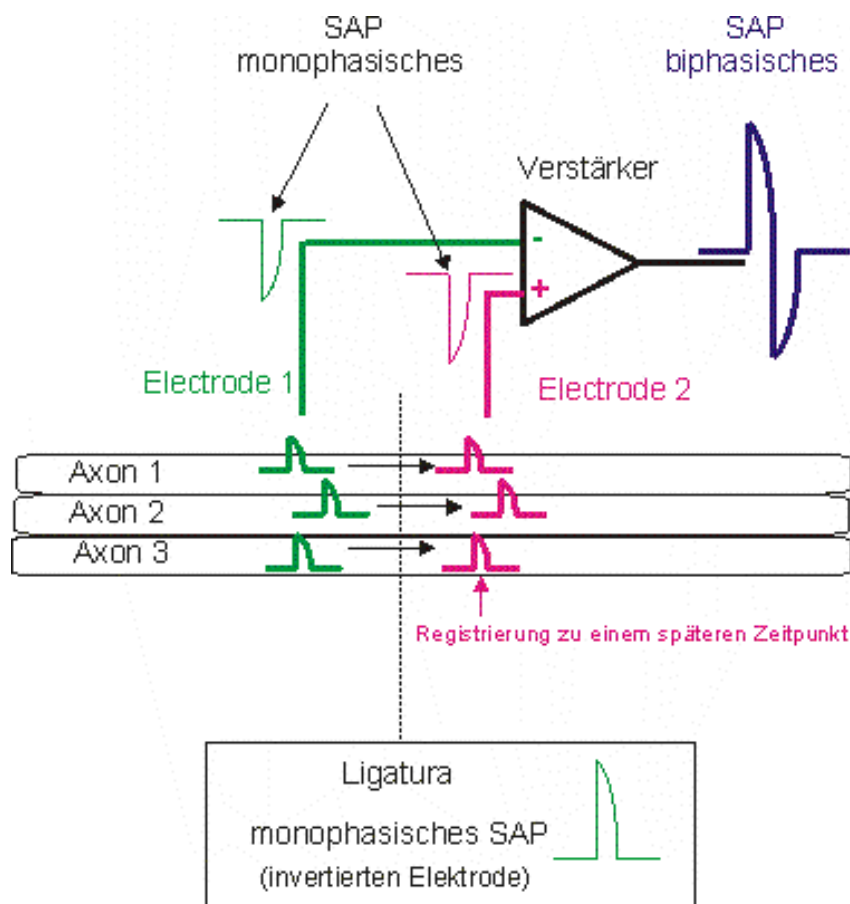
Im Gegensatz zum einzelnen Axon ist die Amplitude des SAPs abhängig von der Reizstärke was dadurch zu erklären ist, dass in Abhängigkeit von der Reizstärke nur ein Teil der Nervenfasern erregt wird. Das Alles-Oder-Nichts-Prinzip gilt nicht für SAP.



Stimulator. Depolarisation der Membrane unter der Kathode.

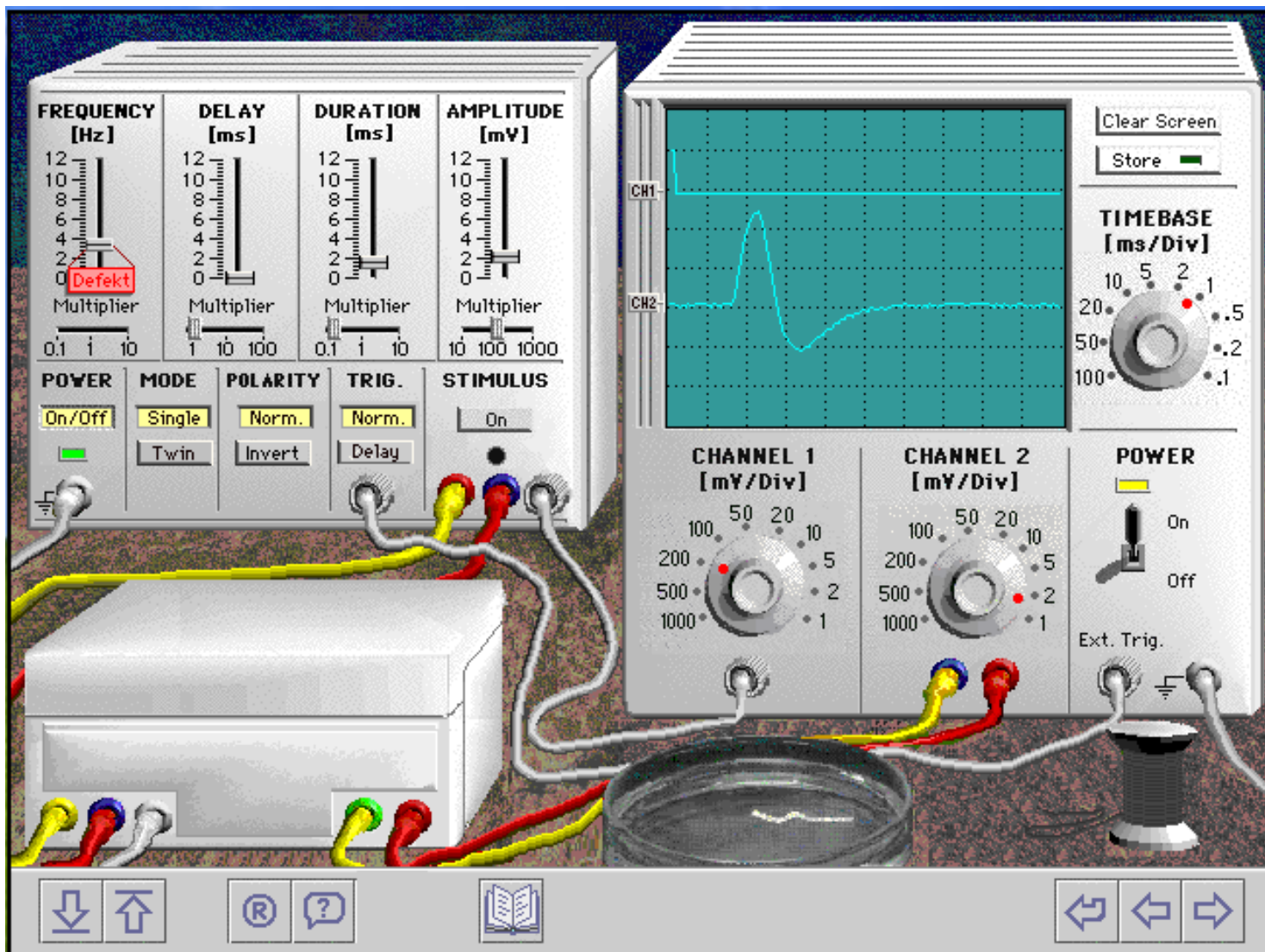


Monophasisches und biphasisches Summenaktionspotenzial (SAP).



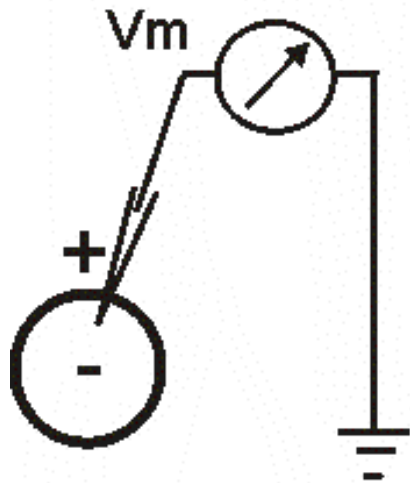


Programm-Demonstration. "C-NERV". Isolierten Froschnerven.



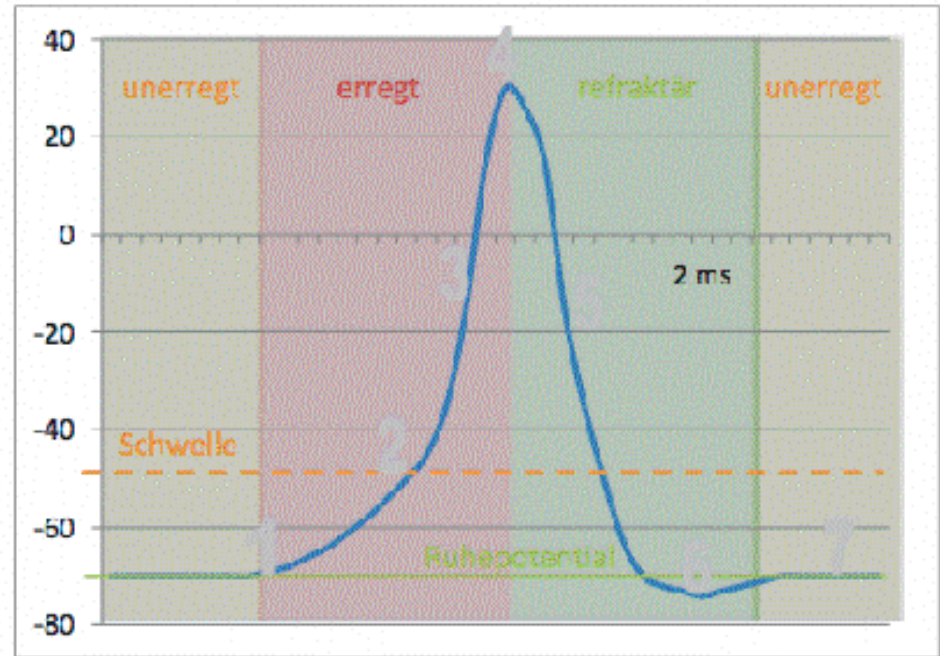


Aktionspotential (AP) Phasen und Ablauf. Intrazellulären Messungen.



Intrazellulären
Messungen

Membrane potential (V_m), mV



Zeit, ms

Na⁺ Kanälen
öffnen sich

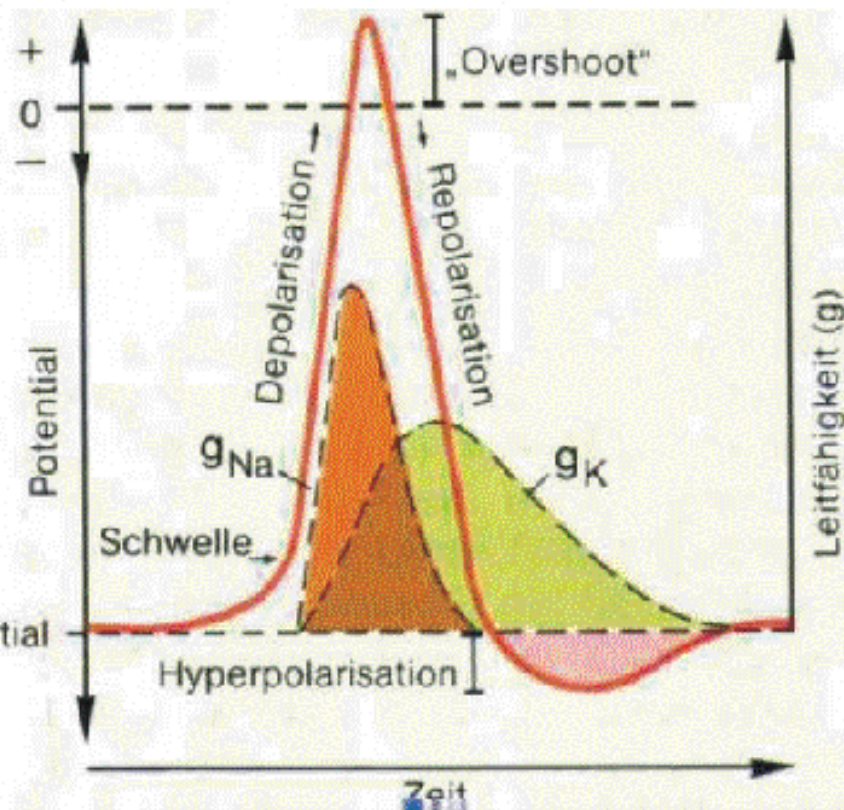
Aktivität von K⁺-Kanälen
Inaktivierung der Na⁺-Kanäle

$E_K \sim -90 \text{ mV}$

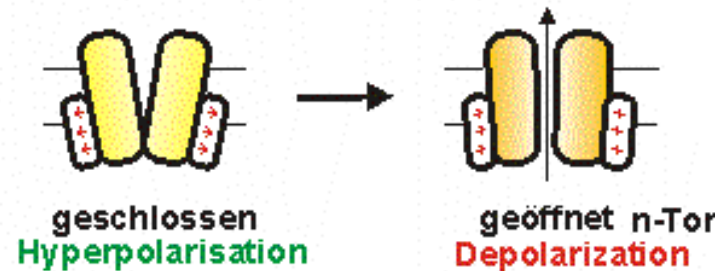


$E_{Na} \sim +60 \text{ mV}$

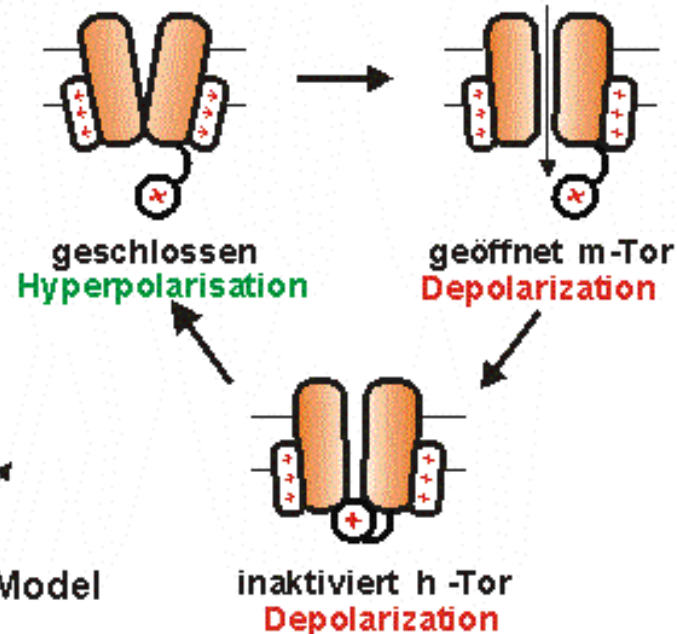
Aktionspotential. Na^+ und K^+ Leitfähigkeiten und Kanälen.



spannungsabhängiger Kaliumkanal



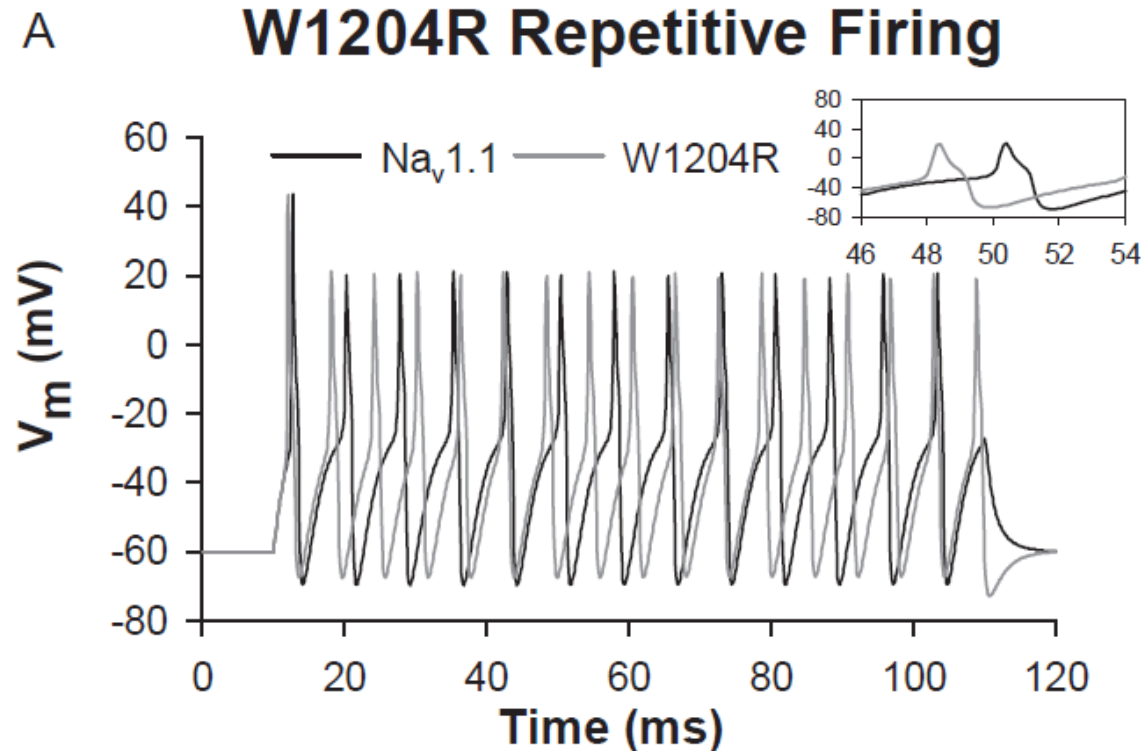
spannungsabhängiger Natriumkanal



Simplified Model



Die Veränderung der Aktivierung des Natriumkanals bei einer bestimmten Form von familiäre Epilepsi. Ionenkanalkrankheit Beispiel (engl. Channelopathy).



Geringere Depolarization reichen aus,
um den mutierten Na-Kanal (W1204R) zu aktivieren



Aktionspotential. Programm-Demonstration.

Programm „C-NEURON“. Programm Modul „Strom-injektion“.

Registrierung von Membranpotentialen (Strom-Applikation)

vereinfachtes HH-Neuron

STANDARD

Neuron-Parameter ändern

START

speichern

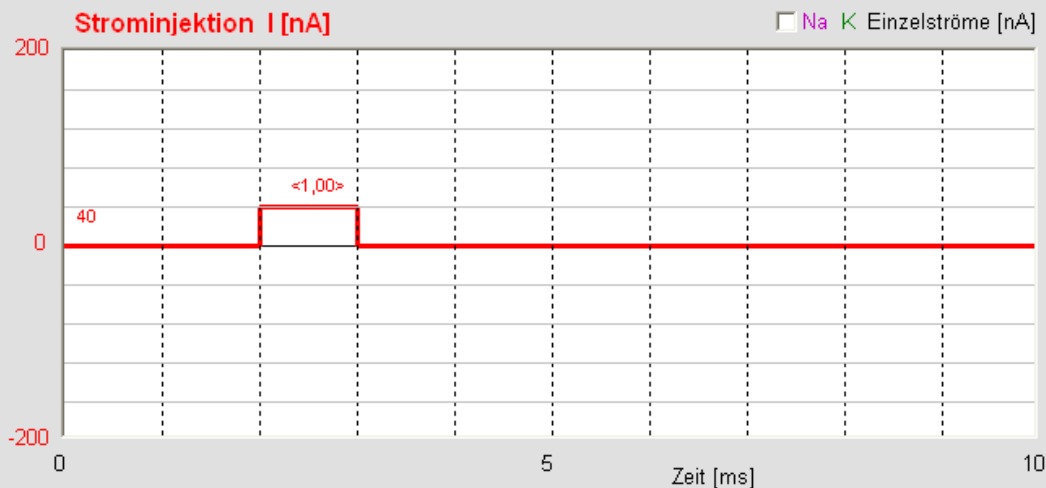
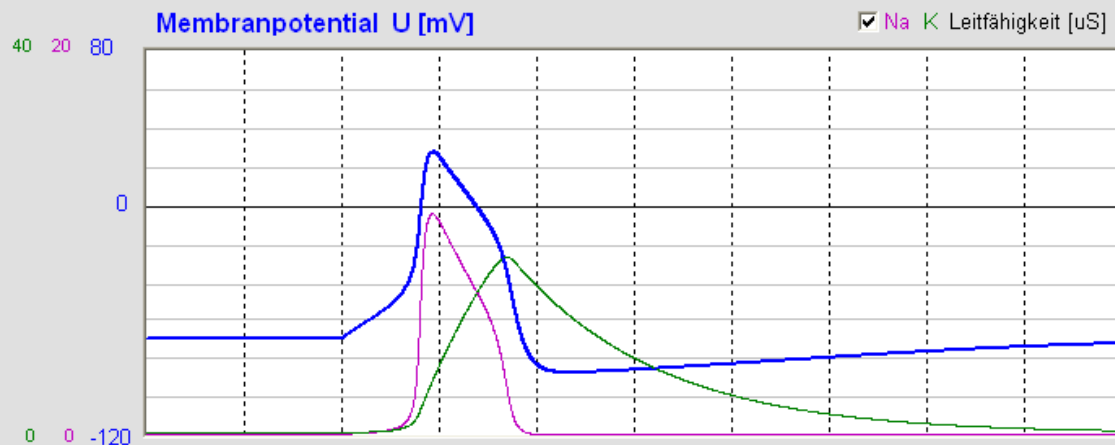
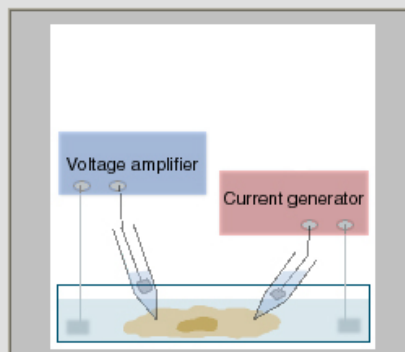
löschen

Strom-injektion

Spannungsklemme

TTX-Applikation

TEA-Applikation



BEENDEN

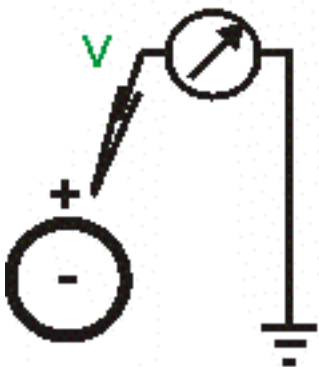


Spannungsklemme (Voltage clamp).

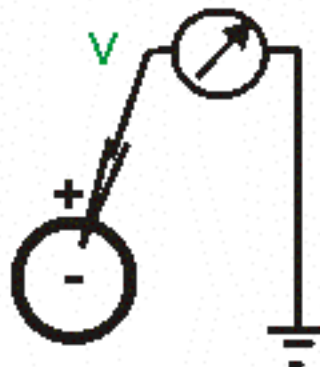
fixiert das Membranpotential und misst den Strom, der fließen muss, um die Spannung konstant zu halten

Spannungsmessung

Extracellular



Intracellular



Strommessung

Spannungsklemme (Voltage Clamp)

I
misst den Strom,
der fließen muss,
um die Spannung
konstant zu halten

V
Spannung ist
konstant
und regulierbar



no AP



Spannungsklemme (Voltage clamp).

Der zeitliche Verlauf der Leitfähigkeiten und Strömstärke. Na-Kanal.

$$I = g_{Na} * (V_m - E_{Na})$$

Ohmsches Gesetz

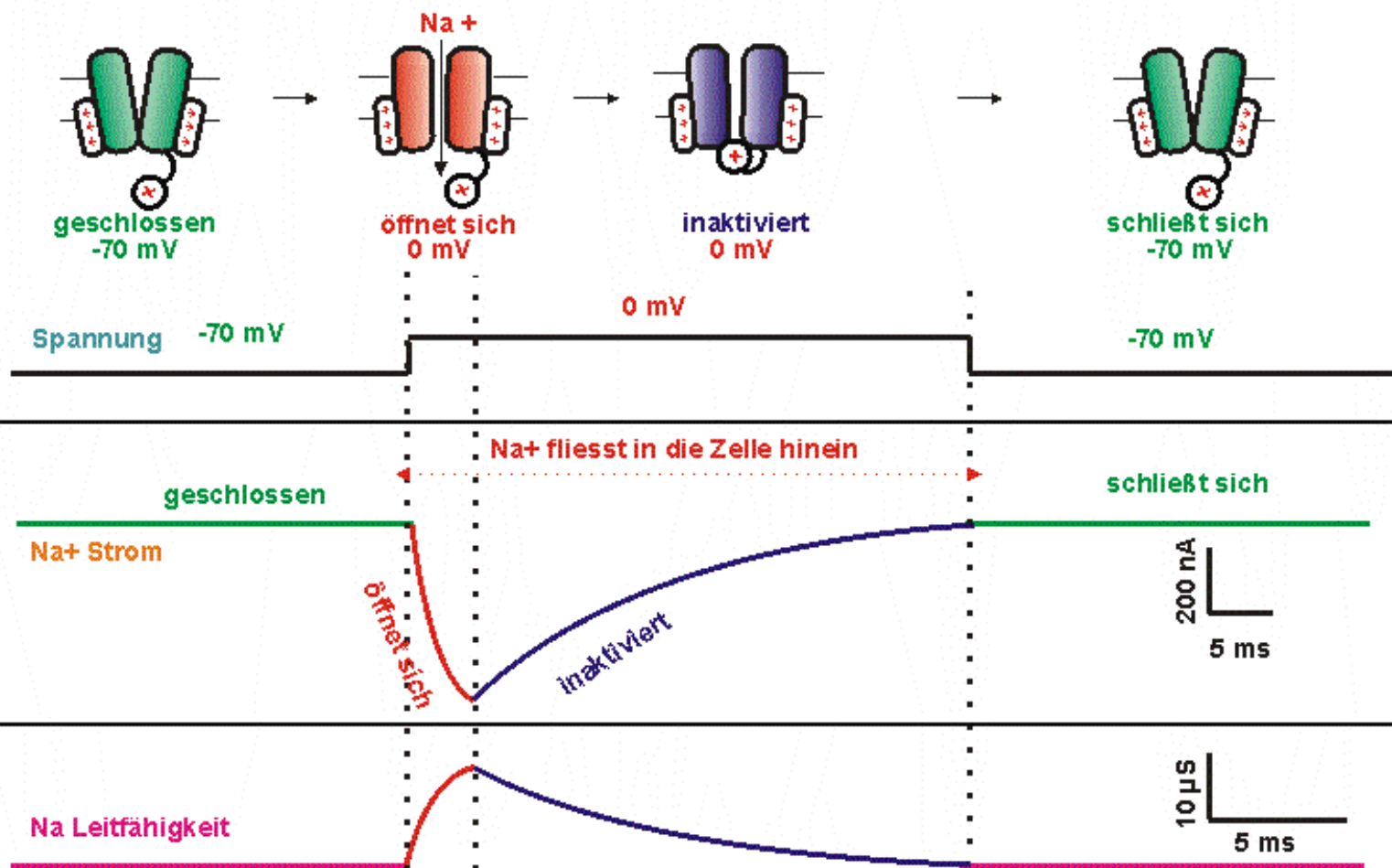
Stromstärke ist Spannung mal Leitfähigkeit

Spannungsklemm-Technik.
Spannung ist konstant
und regulierbar

$$I \sim g_{Na}$$

Ohmsches Gesetz bei der
Spannungsklemm-Technik

Natriumkanal
spannungsabhängiger





Spannungsklemme (Voltage clamp). Programm-Demonstration.

Programm „C-NEURON“. Programm Modul „Spannungs-klemme“.

Registrierung von Ionenströmen (Spannungs-Klemme)

vereinfachtes HH-Neuron

STANDARD

Neuron-Parameter ändern

START

speichern

löschen

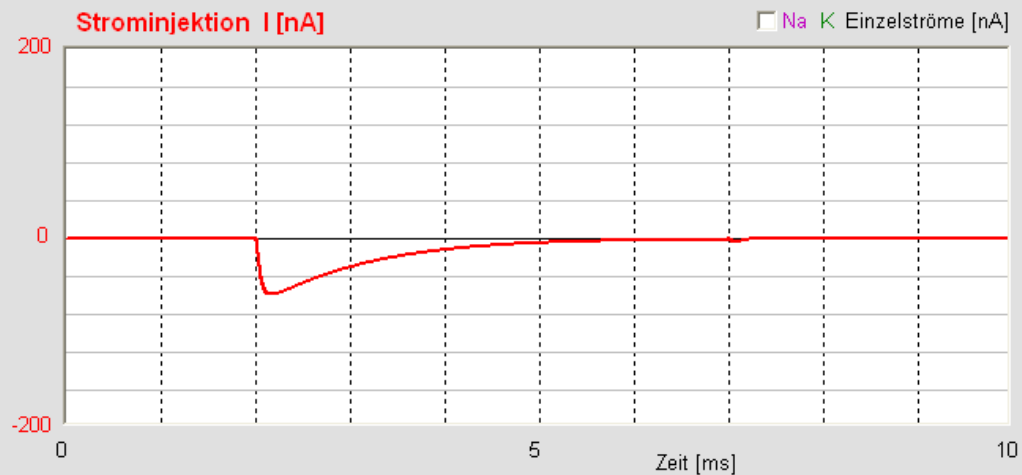
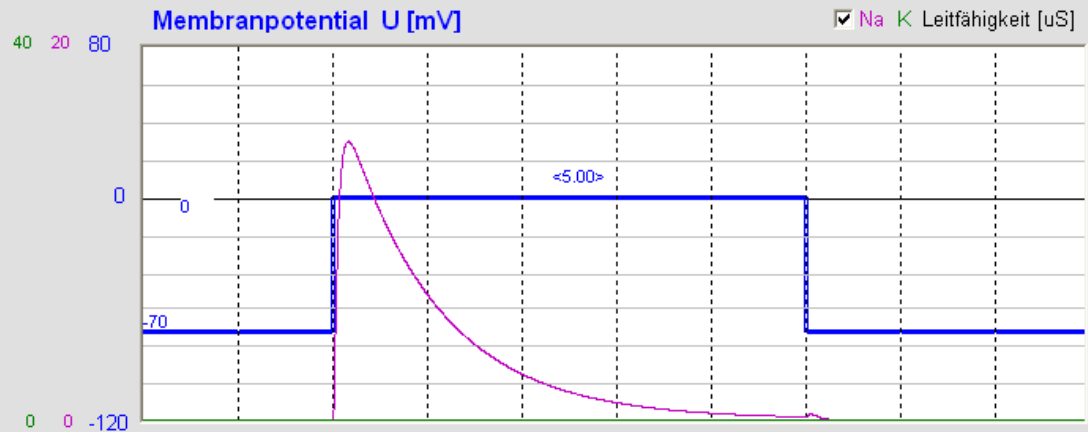
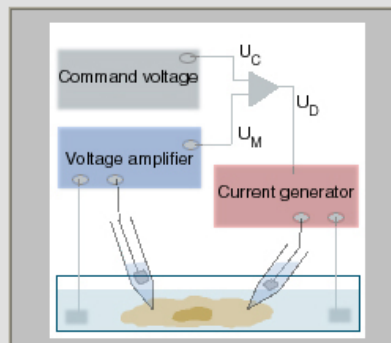
Strom-injektion

Spannungs-klemme

mit RC-Kompensation

TTX-Applikation

TEA-Applikation



BEENDEN

Ich bedanke mich für ihre Aufmerksamkeit

Thank you for your attention

zur Prüfung

Praktikumsbetreuer: **Kirill Essin**, 2012

Institut für Physiologie und Pathophysiologie