

“十一五”国家重点图书出版规划项目



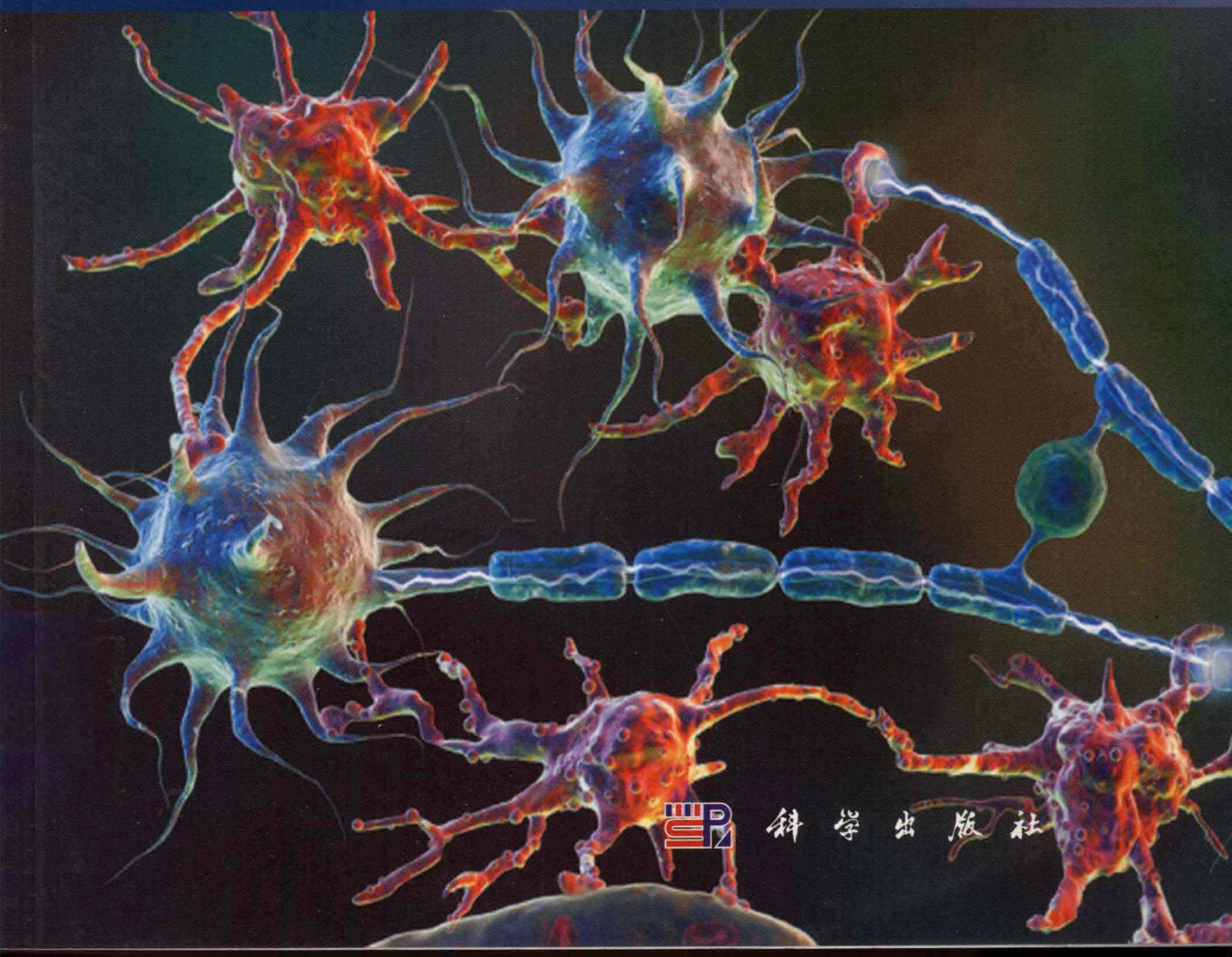
生命科学实验指南系列

Principle and Technology of
Neurobiological Experiments

神经生物学

实验原理与技术

吕国蔚 李云庆 主 编
李菁锦 武胜昔 李金莲 邵 国 副主编



科学出版社

“十二五”国家重点图书出版规划项目



中国科学院出版社 北京 100049

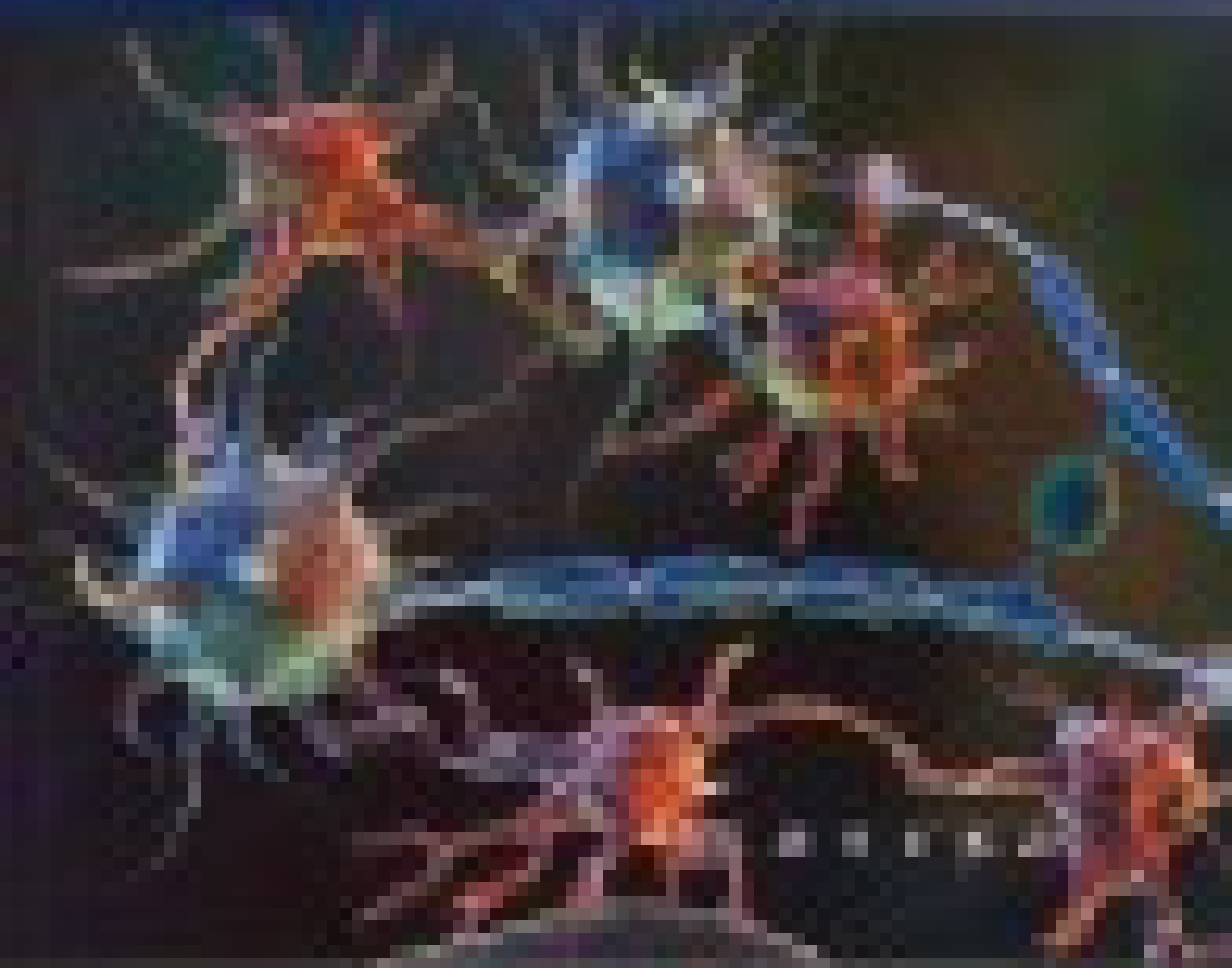
Principles and Technology of
Neurobiology

神经生物学

实验原理与技术

主编 王作新 副主编 王作新 王作新

作者 王作新 王作新 王作新 王作新 王作新



“十一五”国家重点图书出版规划项目
生命科学实验指南系列

神经生物学实验原理与技术

PRINCIPLE AND TECHNOLOGY OF NEUROBIOLOGICAL EXPERIMENTS

吕国蔚 李云庆 主编
李菁锦 武胜昔 李金莲 邵国 副主编

科学出版社

北京

内 容 简 介

神经生物学是生命科学的前沿,是应用神经解剖学、神经生理学、神经化学和分子生物学等多学科现代技术,对神经系统进行多层次综合研究的实验性科学。本书作为《生命科学实验指南系列》的重要分册,遵循理性思维与实际操作相结合的原则,全面而系统地介绍了神经生物学实验研究的方法学(第1篇),并将编著者20余年的有关科研成果转化为可操作的实验指导(第2篇),以及提供可供参考的有关实验研究信息(第3篇)。

本书适合高等医学院校研究生、七年制和五年制医学生及从事神经生物学的研究人员使用,对于普通高等院校生物系研究生与本科生及生物学工作者亦有很好的参考价值。

图书在版编目(CIP)数据

神经生物学实验原理与技术/吕国蔚,李云庆主编. —北京:科学出版社,2011

(“十一五”国家重点图书出版规划项目·生命科学实验指南系列)

ISBN 978-7-03-030032-4

I. ①神… II. ①吕… ②李… III. ①人体生理学:神经生理学-实验-指南 IV. ①R338-62

中国版本图书馆CIP数据核字(2011)第009070号

责任编辑:罗 静/责任校对:林青梅

责任印制:钱玉芬/封面设计:耕者设计工作室

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

隆 志 印 刷 厂 印 刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2011年2月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2011年2月第一次印刷 印张:39 3/4

印数:1—2 500 字数:950 000

定价:98.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

序

神经生物学是 21 世纪的前沿学科之一。从 19 世纪末 Golgi 和 Cajal 创立真正意义的神经解剖学和 Sherrington 等开创的神经生理学，到近代的神经系统超微结构学、束路学、化学神经解剖学、细胞及分子神经生物学、发育神经生物学，以及认知科学的发展，每一重要进展无不是与各种实验技术的发展创新密切相关，每项实验技术的创新都使我们对脑的结构和功能的认识向前迈出了一大步。

吕国蔚和李云庆两位神经生物学家组织编写的这部《神经生物学实验原理与技术》是《生命科学实验指南系列》的重要单册，也是吕国蔚教授主编的《医学神经生物学》的姊妹篇，内容涵盖了神经生物学实验技术与方法中常用的神经电生理学、神经化学、神经解剖学、分子神经生物学、神经行为学观察等部分。该书由方法论、具体实验和神经生物学资料三部分组成，从理论到实践深入浅出地介绍了当代神经生物学实验的主要手段和部分研究成果，尤其可贵的是大多数实验方法中都融合了作者们多年从事实验研究工作的心得体会。

目前我国，神经生物学实验原理与技术相关的图书尚属少见，也是市场上非常需要的一类著作，该书的出版无疑将会促进我国神经生物学研究的发展。我相信广大的神经生物学工作者，尤其是年轻的同道和学员将会从这部著作中得到全新的感受和很大的裨益。

中国科学院院士

鞠 躬

于第四军医大学全军神经科学研究所

2010 年 8 月

FOREWORD

Neurobiology is one of the frontier disciplines in the 21st century. Elegant progresses have been made since set up of neuroanatomy in its true sense by Golgi and Cajal and the establishment of neurophysiology by Sherrington in the end of the 19th century and up to the development of modern ultra structure and tract tracing in the nervous system, as well as chemical neuroanatomy, cellular and molecular neurobiology, developmental neurobiology and recognition neuroscience. All of these advances are not closely related to the development and creation of various experimental techniques and methods. Great insights into structure and function of the brain have thus been stepped forward by each creation in experimental techniques.

The book “Principle and Technique of Neurobiological Experiments” edited by Drs. Lu Guowei, Li Yunqing and their colleagues is the important composition of the Series of the Laboratory Manuals in Life Sciences that are publishing by Science Press. The content of this book covers techniques and methods in common use in the fields of electroneurophysiology, neurochemistry, neuroanatomy, molecular neurobiology and animal behavior observation. The book includes three parts consisting of methodology, specific experiments and appendices and introducing major means in neurobiological experiments and partial achievements in research in a way of deeply going in and easily coming out. It should be treasurable that the most experimental methods presented in the book are well permeated with experience and appreciation of authors themselves engaged in their researches.

“Principle and Technique of Neurobiological Experiments” is unique in its topic option based on up to date and original ideas. Academically, the writing is powerful and excellent and seems to be the first and a very important work in relevant areas at present in our country. Its publication would undoubtedly promote the development of neurobiology. I am confident that it would be great beneficial to vast internal neurobiologists and young colleagues and students in particular. These readers would be impressed with all refreshment and novelty shown in the book.

Academician of Chinese Academy of Sciences

JU Gong

Institute of Neuroscience, the Forth Military Medical University

August, 2010

前 言

神经生物学（亦称神经科学或脑科学）是近年在神经解剖学、神经生理学、神经化学、分子生物学以及认知神经科学等多学科基础上发展起来的一门综合科学。神经生物学的任务是研究脑和神经的解剖构筑、工作原理，以及神经系统生、老、病、死的发生机制及其病损的防治策略，借以揭示脑的奥秘、提高人类的智力活动水平和达到控制人类神经系统病损的目的。

神经生物学是应用神经解剖学、神经生理学、神经化学和分子生物学等多学科现代技术手段对神经系统进行多层次研究的一门实验性科学。同其他生物医学的发展轨迹一样，神经生物学也主要是沿着还原论的方向，逐步逼近神经活动的分子基础和理化本质；与此同时，也必然要沿着合成论的方向，对神经活动进行综合和整合，从整体上把握生命活动的规律与本质。

作为一种尝试，我们编著了这部《神经生物学实验原理与技术》，以期能够体现神经生物学源于实验研究。本书共分3篇。第1篇可视为本书的总论，依次介绍有关科学思维、实验设计、实验分析以及电刺激、电记录、神经化学、化学神经解剖学、神经形态学、分子神经生物学、神经行为学观察和脑成像等技术方面的理论基础。第2篇相当于通常意义上的实验指导，可视为本书的各论，依次介绍神经生理学、神经化学、神经组织免疫细胞化学、神经形态学、分子神经生物学和神经行为学等一个个具体的实验。第3篇为神经生物学资料，介绍一些可供读者参考的有关实验研究的其他信息。

本书的第1篇侧重方法论，通过理性思维，去把握尚未感知到的神经生物学具体实验的本质与规律，在突然、必然、或然三种水平上获得对实验原理的认识。本书第2篇侧重实验运作、转化与再现我们的部分科研成果。每一个实验均有明确的目的和可据以操作的步骤；均附有典型的结果示例，供实验者参照或对比；均附有文献出处，有据可查；均备有思考题，供实验者手脑并用，从而使实验者能全面地完成一个实验过程。此外，我们还致力于内容的共性与个性、全面性与系统性、科学性与可读性以及言简意赅与图文并茂的诸多方面的统一与和谐。

本书是由首都医科大学低氧医学研究所和第四军医大学人体解剖与组织胚胎学教研室的同道们，在首都医科大学讲义《神经生物学实验》和两高校有关著述的基础上，共同编写完成的。由此而产生的这部书的个性与局限，自然是在所难免的。另外，当今神经科学实验研究发展之迅猛，也远非我们的认识和经验所能匹配的。对于本书的尝试与局限，渴望得到读者和同道的评说。

值此本书出版之际，我代表全体编著者，向我国著名的神经科学家、中国科学院院士、第四军医大学全军神经科学研究所所长鞠躬教授致以最真挚的谢忱，感谢他百忙中欣然挥笔为本书作序。对于本书编写过程中曾被我们参阅和引用的国内外专家学者也深表谢意，是他们的有关著述使本书得以充实。最后，我们还要感谢科学出版社的同志们为出版本书所付出的辛劳和所给予的支持。

吕国蔚

于首都医科大学低氧医学研究所

2010年8月

PREFACE

Neurobiology (Neural Science or Brain Science) is a synthetic discipline recently developed on the basis of multidisciplinary sciences including neuroanatomy, neurophysiology, neurochemistry, molecular neurobiology, and recognition science. Its task is to study anatomical architecture and working principle of the brain and nerves, genesis, development, aging, diseases and death in the nervous system and strategy in prevention and treatment of its disorders and damages. Neurobiology is aimed at exploring the mystery of the brain, improving human intelligence activity and controlling human diseases in the nervous system.

Neurobiology is an experimental science studying the nervous system at multi-level of the brain using modern multidisciplinary techniques of neuroanatomy, neurophysiology, neurochemistry and molecular neurobiology. Similar to the trajectory of development of other fields in biomedicine, neurobiology is also mainly coming along the reductionism and gradually approaching to molecular basis and physico-chemical essence of neural activity. In the meantime it also consequently synthesizes and integrates the neural activity along the way of compositionism and grasps the law and essence of life activity as a whole.

As a try, the book "Principle and Technique of the Neurobiological Experiments" was written by us in terms of showing, by any case, that neurobiology came from experimental research. The book includes three parts. Part I describes experimental principle in general, subsequently introducing theoretical basis related to scientific thinking, experimental design, outcome analysis and methodology of electrostimulation, electrorecording, chemical neuroanatomy, neuromorphology, molecular neurobiology and animal behavior observation. Part II corresponds to a laboratory manual, describing separately every concrete experiment in field of behavior, neuroelectrophysiology, neurochemistry, neuromorphology and molecular neurobiology. Part III is providing relevant data and information in experimental research for reference to readers.

Part I of the book focus on methodology, as mentioned above, trying to grasp the law and essence of concrete experiments in neurobiology not yet be experienced by readers through theoretical thinking and gaining knowledge on experimental principle at levels of real, necessity and probability. In part II, experimental proto-

cols are followed and mainly based on transformation and reproduction of some research achievements done by ourselves. Each experiment has its distinct goals, operational procedures and one or two typical examples of illustrations for reference to experimenters; cited references are given for further reading; questions are provided for simultaneously using both hands and brain of readers; and the experimental procedures would thus be comprehensively completed by experimenters. More over, the authors of this book tried to make a combination and harmony between generality and individuality, comprehensiveness and systematicness, scientific background and readability, and easy language and ample pictures.

The book was written together by colleagues in Institute for Hypoxia Medicine, Capital Medical University and Department of Anatomy, Histology and Embryology, The Forth Military Medical University based on the reading material “Experiments in Neurobiology” used in the Capital Medical University and other publications made by the two universities. The recent development of experimental research in Neurobiology is so fast that our knowledge and experience are far to match. Limitations are thus unavoidable in the writing. Comments and suggestions are thus greatly expected from colleagues and readers.

Upon the publication of the book, we are greatly indebted to Professor Ju Gong, Academician of Chinese Academy of Sciences, Director of Institute for Neuroscience of the PLA, The Forth Military Medical University for his kind writing of the foreword for this book. Gratitude is extended to all authors whose publications are referenced in the book. We also would like to thank editors in Science Press for their efforts in the publication of this book.

LU Guowei

Institute for Hypoxia Medicine, Capital Medical University

August, 2010

目 录

序

前言

1 神经生物学实验方法学	1
1.1 科学思维方法学	1
1.1.1 科学技术的历史动力	1
1.1.2 辩证地去求索	3
1.1.3 辩证地去思考	7
1.1.4 辩证地去验证	17
1.1.5 辩证地去训练	24
1.2 实验设计方法学	29
1.2.1 选题	30
1.2.2 专业设计	44
1.2.3 对照设计	54
1.2.4 统计设计	63
1.3 实验分析方法学	79
1.3.1 数据整理	79
1.3.2 统计分析	88
1.3.3 专业分析	100
1.3.4 论文书写	109
1.4 电刺激方法学	117
1.4.1 电刺激的基本原理	117
1.4.2 电刺激的物理特性	119
1.4.3 神经制备的生物特性	123
1.4.4 选择性刺激	127
1.4.5 刺激电流扩散	132
1.5 电记录方法学	136
1.5.1 容积导体内记录	136
1.5.2 诱发电位记录	143
1.5.3 单单位记录	150
1.5.4 计算机辅助的记录	158
1.5.5 细胞内记录	161

1.5.6	膜片钳记录	174
1.5.7	神经纤维速度谱测定	178
1.5.8	轴突分叉点位置测定	182
1.5.9	压脚痛阈测定法	187
1.6	神经化学方法学	190
1.6.1	组织细胞破碎法	190
1.6.2	突触体制备	193
1.6.3	电泳法	198
1.6.4	色谱法	203
1.6.5	高效液相色谱法	213
1.6.6	微透析技术	222
1.7	化学神经解剖学方法学	229
1.7.1	免疫细胞化学技术	229
1.7.2	原位杂交组织化学技术	239
1.7.3	受体定位技术	248
1.7.4	免疫电子显微镜技术	250
1.8	神经形态学方法学	253
1.8.1	辣根过氧化物酶示踪技术	253
1.8.2	荧光素示踪技术	260
1.8.3	放射性核素示踪技术	262
1.8.4	顺行示踪技术	269
1.8.5	激光扫描共焦显微镜技术	271
1.8.6	定量及分析细胞学技术	278
1.9	分子神经生物学方法学	282
1.9.1	核酸分子杂交技术	282
1.9.2	蛋白质印迹法	290
1.9.3	DNA 重组技术	296
1.9.4	聚合酶链反应技术	306
1.9.5	DNA 序列测定技术	313
1.9.6	mRNA 差异显示技术	323
1.9.7	基因芯片技术	329
1.9.8	转基因动物技术	334
1.10	神经行为学实验方法学	338
1.10.1	行为学实验的神经基础及常用动物	339
1.10.2	常用的高级脑功能研究方法	340
1.10.3	常用痛行为研究方法	348
1.11	脑成像	352
1.11.1	计算机辅助体层摄影	352

1.11.2	磁共振成像	356
1.11.3	放射性核素断层成像	362
1.11.4	超声成像	365
2	神经生物学实验与示教	368
2.1	神经生理学实验	368
2.1.1	家兔外周神经干复合动作电位记录	368
2.1.2	家兔后肢传入神经纤维速度谱	370
2.1.3	扩张肛门对猫骶神经后根放电的影响	372
2.1.4	大鼠脊髓节段性及下行性诱发电位记录	374
2.1.5	脊髓节段性缺血时脊髓诱发电位的变化	375
2.1.6	家兔大脑皮质体感诱发电位记录	377
2.1.7	脑缺血对家兔大脑皮质诱发电位的变化	379
2.1.8	蟾蜍离体脊神经节神经元静息膜电位与动作电位记录	381
2.1.9	大鼠培养脑细胞膜的电学特性	384
2.1.10	大鼠在体脊神经节神经元动作电位的细胞内记录	386
2.1.11	猫脊髓背索突触后神经元的细胞内与细胞外记录	388
2.1.12	猫脊颈束-背索突触后神经元的顺、逆向反应	390
2.1.13	大鼠脊髓背角神经元电活动的细胞内记录	392
2.1.14	大鼠脊孤束-背索突触后神经元对躯体与内脏传入的反应	394
2.1.15	家兔中缝大核对外周传入刺激的反应	397
2.1.16	家兔丘脑腹后外侧核电活动的细胞外记录	398
2.1.17	躯体内脏传入在脊髓背角的相互作用	400
2.1.18	缺氧预适应鼠脑提取液对 ATP 敏感性钾电流的作用	401
2.2	神经化学实验	408
2.2.1	缺氧耐受小鼠脑匀浆提取液的抗缺氧作用	408
2.2.2	急性重复缺氧小鼠脑单胺类含量的变化	411
2.2.3	不同强度躯体刺激对家兔脑脊液中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 含量的影响	414
2.2.4	不同强度躯体刺激对家兔脑脊液中单胺类含量的影响	417
2.2.5	兔脑内腺苷的微透析法测定	420
2.2.6	缺氧对小鼠大脑皮质突触体 LDH 透出率的影响	421
2.2.7	低氧预适应小鼠脑匀浆提取液对 PC12 细胞的保护效应	423
2.3	神经组织免疫细胞化学实验	425
2.3.1	延髓背角和中缝大核内的 P 物质样阳性结构——免疫细胞化学或免疫荧光细胞化学染色法	425
2.3.2	大鼠三叉神经节内阿片 μ 受体与降钙素基因相关肽共存的阳性神经元——免疫荧光细胞化学双重标记染色法	428
2.3.3	大鼠延髓背角浅层内 P 物质样阳性终末与含钙结合蛋白神经元的联系——免疫荧光细胞化学双标染色及激光扫描共焦显微镜观察	430

2.3.4	面口部注射甲醛溶液后大鼠延髓背角内的 FOS 样阳性神经元观察——免疫细胞化学染色法	432
2.3.5	大鼠中缝核簇内 5-羟色胺样阳性神经元表达 FOS 蛋白——免疫细胞化学双染色法	435
2.3.6	大鼠延髓背角内向丘脑投射的 FOS 样阳性神经元——逆行标记与免疫细胞化学双染色法	437
2.3.7	大鼠三叉神经节内钙结合素 mRNA 阳性神经元的分布——放射性核素标记的原位杂交组织化学法	440
2.3.8	大鼠中脑导水管周围灰质内的 5-羟色胺样阳性亚微结构——免疫电镜法	444
2.3.9	大鼠孤束核内 GABA 能纤维终末与 P 物质受体样阳性神经元的突触联系——包埋前与包埋后免疫电镜双标记法	446
2.3.10	大鼠延髓背角内 GABA 能神经元与 P 物质能纤维终末的突触联系——包埋前免疫电镜双标记法	449
2.4	神经形态学实验	452
2.4.1	大鼠脊髓灰质向孤束核的投射	452
2.4.2	猫脊髓背角神经元向外侧颈核和背索核的分支投射	454
2.4.3	大鼠脊孤束-背索突触后神经元的超(亚)微结构	455
2.4.4	大鼠脊孤束-背索突触后神经元对躯体感觉核与内脏感觉核的分支投射	457
2.4.5	大鼠脊髓立体定位磁控过半夹断模型	459
2.4.6	大鼠臂旁核向杏仁中央核的投射——HRP 逆行追踪方法	461
2.4.7	大鼠中脑导水管周围灰质向伏核的 5-羟色胺能投射——HRP 逆行追踪与免疫细胞化学染色相结合的双标记法	464
2.4.8	大鼠延髓背角内 P 物质受体样阳性神经元向丘脑胶状质核投射——荧光素逆行追踪与免疫荧光染色相结合的双标记方法	466
2.4.9	大鼠中缝大核向脊髓背角和延髓背角的分支投射——荧光素双标记法	469
2.4.10	中脑导水管周围灰质和中缝背核内 5-羟色胺能神经元的下行分支投射——荧光素双标记与免疫荧光染色相结合的三标记法	472
2.4.11	大鼠三叉神经脊束核吻侧亚核向三叉神经运动核的投射——植物凝集素(PHA-L)顺行示踪法	474
2.4.12	大鼠延髓背角浅层向臂旁外侧核及丘脑腹后内侧核的投射——BDA 顺行示踪法	477
2.4.13	大鼠中脑导水管周围灰质-中缝大核-三叉神经感觉核簇的间接投射——PHA-L 顺行示踪与 HRP 逆行追踪相结合的双标记法的光镜观察	480
2.4.14	大鼠中脑导水管周围灰质-中缝大核-三叉神经脊束核尾侧亚核的间接投射——PHA-L 顺行示踪与 HRP 逆行追踪相结合的双标记法的电镜观察	483
2.4.15	大鼠延髓背角向丘脑投射神经元与 5-羟色胺阳性终末的突触联系——HRP 逆行追踪与免疫细胞化学染色双标记法	486
2.4.16	大鼠孤束核-臂旁核-中央杏仁核的间接投射通路——溃变与 HRP 逆行追踪相结合的双标记法	489

2.5	分子神经生物学实验	492
2.5.1	用差异显示法分离特异表达的基因片段	492
2.5.2	慢性缺氧培养细胞中缺氧诱导因子-1 的提取与检测	497
2.5.3	大鼠三叉神经节总 RNA 的提取及 cDNA 的制备	500
2.5.4	5-HT ₃ 受体亚型 mRNA 在大鼠三叉神经节的表达	502
2.5.5	乙酰胆碱转移酶在大鼠纹状体的表达及其 DNA 片段的回收	505
2.5.6	乙酰胆碱转移酶 DNA 片段的亚克隆	507
2.5.7	ChAT-pGEM 重组质粒 DNA 的制备及限制性酶切分析	510
2.5.8	ChAT-pGEM 重组质粒 DNA 序列的测定	513
2.5.9	乙酰胆碱转移酶表达蛋白的 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳分析	516
2.5.10	乙酰胆碱转移酶在大鼠纹状体分布的 Western 印迹检测	520
2.5.11	性激素对周围伤害性刺激诱导脊髓 PPD mRNA 表达上调的影响	523
2.5.12	坐骨神经部分切断后初级感觉神经元(背根节)的差异表达基因克隆	526
2.6	神经行为学实验	530
2.6.1	一足致炎大鼠双足痛感受性的变化	530
2.6.2	甲醛溶液致炎大鼠疼痛行为的观察	532
2.6.3	神经反射在一足致炎大鼠非致炎足痛阈变化中的作用	533
2.6.4	体液因素在一足致炎大鼠非致炎足痛阈变化中的作用	536
2.6.5	急性缺氧预适应对小鼠缺氧耐受性的影响	537
2.6.6	麻醉与兴奋小鼠缺氧耐受性的变化	539
2.6.7	大鼠脊髓横断及半横断模型的复制	541
2.6.8	慢性束缚应激对大鼠空间学习记忆能力的影响	543
2.6.9	创伤后应激障碍模型大鼠的自发活动和焦虑水平检测	548
3	神经生物学资料	552
3.1	神经生物学常见概念	552
3.1.1	生物电学常见概念	552
3.1.2	生物化学常见词汇	558
3.1.3	细胞培养常见词汇	561
3.1.4	分子生物学常见词汇	565
3.2	常用的实验方法	570
3.2.1	电生理学仪器方法	570
3.2.2	动物实验的实施	577
3.3	实验动物常用数据	589
3.3.1	实验动物常用生理数据	589
3.3.2	实验动物常用麻醉剂与肌肉松弛剂	589
3.4	常用试剂、缓冲液、贮存液与酶的配制	592
3.4.1	组织培养常用试剂	592
3.4.2	电泳缓冲剂	593

3.4.3 常用贮存液	595
3.4.4 常用酶的配制	597
3.5 常用限制性酶识别序列	598
3.6 常用细胞系、细胞培养基、抗生素	603
3.6.1 细胞系	603
3.6.2 常用培养液成分及配方	605
3.6.3 抗生素	607
3.7 核酸、蛋白质常用数据及相对分子质量标准参照物	607
3.7.1 常用核酸的长度与相对分子质量	607
3.7.2 常用蛋白质分子质量标准参照物	607
3.8 赫尔辛基宣言 II	608

CONTENTS

FOREWORD

PREFACE

1	Experimental Methodology in Neurobiology	1
1.1	Methodology of Scientific Thinking	1
1.1.1	Historical impetus of science and technology development	1
1.1.2	Dialectically to seek	3
1.1.3	Dialectically to think	7
1.1.4	Dialectically to verify	17
1.1.5	Dialectically to train	24
1.2	Methodology of Experimental Design	29
1.2.1	Project option	30
1.2.2	Professional design	44
1.2.3	Control design	54
1.2.4	Statistical design	63
1.3	Methodology of Experimental Analysis	79
1.3.1	Data manipulation	79
1.3.2	Statistical analysis	88
1.3.3	Professional analysis	100
1.3.4	Paper writing	109
1.4	Methodology of Electrical Stimulation	117
1.4.1	Basic principle of electrical stimulation	117
1.4.2	Physical properties of electrical stimulation	119
1.4.3	Biological properties of neural preparation	123
1.4.4	Selective stimulation	127
1.4.5	Stimulating current spread	132
1.5	Methodology of Electrical Recording	136
1.5.1	Recording in volume conductor	136
1.5.2	Evoked potential recording	143
1.5.3	Single unitary recording	150
1.5.4	Computer associated recording	158
1.5.5	Intracellular recording	161
1.5.6	Patch clamp recording	174
1.5.7	Determination of velocity spectrum of nerve fibers	178