

第一集

生理学 方法与技术

周衍楦 赵铁千 王雨若 主编



生理学方法与技术

第一集

周衍椒 赵轶千 王雨若 主编

科学出版社

内 容 简 介

本丛书专以介绍当前我国生理科学领域内所用的实验研究方法与技术。由于生理科学的学科范围比较宽广，所使用的方法与技术更是多式多样，远非一本书所能包容，加之实验研究方法与技术总是随着生产技术的发展而在不断的完善与更新，因此本书采用汇编的方式分集出版发行，以便及时收集各方面所用的新的研究方法、新的技术，以利于推广应用，促进学科发展。

第一集收集了有关中枢神经及听觉方面部分常用的方法，并对电生理学所使用的基本仪器、器材原件和基本线路作一简明介绍。

本书可作为从事基础医学、临床医学、动物生理学、教育学、心理学、体育卫生、畜牧兽医等方面的教师、医师、科学研究人员工作中的重要参考书。

生 理 学 方 法 与 技 术

周衍康 赵铁千 王雨若 主编

责任编辑：侯爱珍

科学出版社出版

北京朝阳门内大街137号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1984年2月第一版 开本：787×1092 1/32

1984年2月第一次印刷 印张：13 7/8 插页：2

印数：0001—5,400 字数：317,000

统一书号：13031·2466

本社书号：3384·13-10

定价：2.20元

编 辑 组

(按各单位名称及编者姓氏笔划为序)

山西医学院 赵荣瑞 (循环系统)

上海中医学院 曾兆麟 (感官)

上海第一医学院 陈子彬 (呼吸系统)

上海第二医学院 边毓土 (电子技术及肌肉神经)

徐有秋 (循环系统)

中国医学科学院、基础医学研究所

郑永芳 (中枢神经系统)

中国医科大学 姚承禹 (代谢、体温)

中国科学院 上海生理研究所 梁之安 (感官)

安徽医学院 徐光尧 (消化系统)

河南医学院 王雨若 (副组长)

武汉医学院 杨焜 (循环系统) 赵轶千 (副组长)

贵阳医学院 吴熙春 (电子技术及肌肉神经)

湖南医学院 周衍椒 (组长) 唐恢玲 (血液)

暨南大学医学院 王子栋 (电子技术与肌肉神经)

遵义医学院 孙云寿 (中枢神经系统)

林茂璋 (泌尿系统)

梅懋华 (消化系统)

前 言

《生理学方法与技术》是为了适应当前建设现代化的社会主义强国的需要而编写的。实现四个现代化要求迅速出成果，出人才。所有生物科学与医学工作者都面临着不断提高教学质量、广泛开展科学研究工作的任务；需要用生理学的方法与技术，来解决他们在科学研究中遇到的一些问题。可是十余年来我国生理科学受到严重损失，科学队伍的建设也受到极大的破坏，使我国生理学在许多领域内与国际先进水平的差距增大了，远远不能适应形势的需要。摆在我们生理科学工作者面前的任务之一，就是编一本关于生理学方法与技术的参考书，供年轻的生理学工作者和临床工作者使用，这对于解决他们在科学研究和教学中遇到的部分问题，将有所帮助。因此，本书在选题方面多着重于基本的、现代的和实用的方法与技术，然而对于已经在临床和生理教学中广泛、常规使用的，国内已有较多的其他材料可查阅的方法与技术就不列入。

本书在写法上着重于实验方法和技术的描述，注意经验与体会的介绍，力求阅读之后就能应用，但为有助于正确地选择方法与技术，也斟酌情况说明其理论基础。在编辑出版方面，采取分册陆续出书的办法，这样较能及时反映国内生理科学的发展，另外也便于读者选购所需资料。

本书在编辑过程中得到各校领导同志和科学出版社的大力支持以及不少单位的专家、教师的赞助与扶植，积极为本

书撰稿，才使本书能早日与读者见面。但是我们业务水平有限，对国内各单位的科研情况了解不够，以致在本书的选题及编辑方面必然存在缺点和问题，请读者批评指正或提出建议。

编者

1980年11月

目 录

前言.....	v
单管玻璃微电极的制备.....	黄承钧等 1
多管玻璃微电极.....	刘祚延等 17
多管微电极与微电泳.....	谢贻芳 30
慢性微电极技术——记录清醒动物脑神经元单 位放电.....	孙公铎 44
多头金属微电极.....	王振中、董承统 62
✓ 神经组织的微电极尖端定位.....	王绍 68
脑的部分(或核团)的电解损毁法.....	朱新裘、李俊成 75
测定豚鼠微音器电位与复合听神经电位实验 方法.....	曾兆麟 83
豚鼠听神经电位的引导方法.....	梁之安、冯俊明 92
豚鼠皮层听区声音诱发电位记录 方法.....	梁之安、冯俊明 97
豚鼠听觉实验的一些基本问题.....	梁之安、冯俊明 105
听觉实验用的声音刺激器.....	周伟德、梁之安 115
听觉生理用的简便前置放大器.....	周伟德、梁之安 124
电生理仪器所用的基本原件及线路简介.....	张士儒 128
示波器基本部件原理简介.....	殷松生 278
SBR-1型示波器的应用.....	王载礼 284
电子刺激器.....	孙云寿 290
前置放大器.....	张士儒、滕国玺 306

医用数据处理机在生理学上的应用·····	魏劲波	327
磁带记录技术·····	高汝弼等	342
实验动物的麻醉·····	刘汉清	354
各种生理性溶液的配制·····	郑 谦	375
乏极化电极·····	王子栋	381
几种动物的脑定位图谱·····	郑 谦	389

单管玻璃微电极的制备

黄承钧 王士端 钱治强

(武汉医学院生理教研室)

微电极可分为金属微电极和玻璃微电极两大类。玻璃微电极又有单管、双管和多管之分。由于玻璃微电极的制作比较简便, 尖端易于控制, 绝缘性能良好, 电学性能稳定, 电极与记录组织的接触可靠, 故已广泛应用于生物科学的许多领域, 成为电生理学研究技术的重要工具^[1,2]。本文介绍主要用于记录中枢神经元电活动的单管玻璃微电极的制备方法。

单管微电极是一根尖端开口处甚细的硬质细玻管, 管腔内充灌电解质溶液。如图 1 所示, 电极分为茎、肩、杆、尖

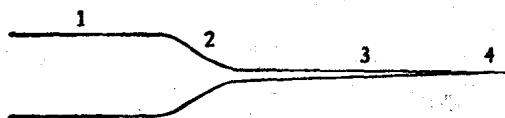


图 1 单管微电极各部分的名称。

1. 茎; 2. 肩; 3. 杆; 4. 尖。

四部分^[1]。用于细胞内记录的微电极, 尖径应小于 0.5 微米, 尖端的倾斜度应相当缓和, 以免穿透细胞膜时造成明显的损伤。这种微电极适合于从细胞内引导电活动和测量膜电位^[2-4]。用于细胞外记录的微电极, 尖径约在 1—5 微米的范围内。一般认为, 尖端内径为 1—4 微米的玻璃微电极, 适

· 本文承赵铁千副教授审阅, 特此致谢。

宜于记录神经元胞体的活动，而记录不到白质纤维的活动。若尖端太粗，则容易同时记取几个单位的活动，产生一个混杂的记录^[6]。微电极杆的长度应视需要而定，但插入脑组织内的部分不能太粗，以免插入时造成显著的损伤。

制作玻璃微电极应选用高熔点、高度化学稳定性、高电阻率和膨胀系数低的硬质玻璃管^[1]。国外常采用 Pyrex 玻管，国内一般采用 GG-17 和 95 料玻管。

单管微电极一般用自动控制仪控制，也可用手工控制。使用控制仪时，只要控制的参数调节得合适，即可拉出规格比较一致的微电极。手工拉制的操作比较麻烦，又很难拉制出尖径小于 0.5 微米的细胞内微电极，但拉制装置简单，一般均可动手制作，并且拉制尖径在一至数微米范围内的细胞外微电极并不困难，故仍有一定的实用价值。

一、毛坯细玻管及其清洁处理

先将硬质粗玻管在电热丝石英炉中拉制成毛坯细玻管，然后再经过一定的工序拉制成需要的微电极。毛坯细玻管的尺寸视需要而定，通常多采用外径 2—3 毫米，内径与外径之比约为 2:3 至 5:6，长 6—8 厘米的细玻管^[2,4]。

拉制微电极前，必须对毛坯细玻管作充分的清洁处理：将一捆细玻管放在浓硫酸和等容量的浓硝酸配制的清洁液中，或热浓硫酸中浸泡 1—2 小时，取出后用自来水冲洗 20 分钟，再放入蒸馏水中煮沸 10 分钟，更换蒸馏水后再煮沸 10 分钟，这样反复洗涤 3 次。最后将细玻管烘干，贮存在干燥、防尘的器皿中备用。

二、单管微电极的拉制

(一) 自动拉制

国内外已有多种玻璃微电极自动拉制仪^[6-10]。我室装制的自动拉制仪已使用多年,其性能稳定,操作简便。现将此拉制仪的工作原理、基本结构和使用方法介绍如下,以供参考。

1. 玻璃微电极自动拉制仪 此拉制仪是一种对拉制微电极过程中的玻管加热、重力拉细和电磁牵引拉尖,通过电路联动的方式进行自动控制的装置。调节加热温度、拉力的大小和两次拉力的间隔等条件,便能拉出各种规格的单管微电极。图2示拉制仪的整机外形。

拉制仪由底部的控制箱、支柱、滑杆、电极夹、加热装置、牵引电磁铁和光电自动控制电路等部分组成,如图3,4所示。

(1) 滑杆和电极夹:滑杆⑨是一根直径为8毫米的铜质圆柱,可在滑杆支架⑦和光电管装置⑧中部的孔道中上下滑动。滑杆的下端栓一根尼龙线牵挂电磁铁芯。上、下两个电极夹作垂直固定毛坯细玻管之用,上夹④固定在支柱①上,下夹⑩安装在滑杆的上端,两个电极夹的中心保持在一条垂直线上。

(2) 加热装置:安装在支架上的电热丝圈⑤位于上、下电极夹之间,对毛坯细玻管起加热作用。电热丝圈用直径0.5毫米的电炉丝(或铂丝)绕制,圈径4.8毫米,绕8—10圈。电热丝圈的导线进入拉制仪底部的控制箱内,与电源变压器的输出端连接。

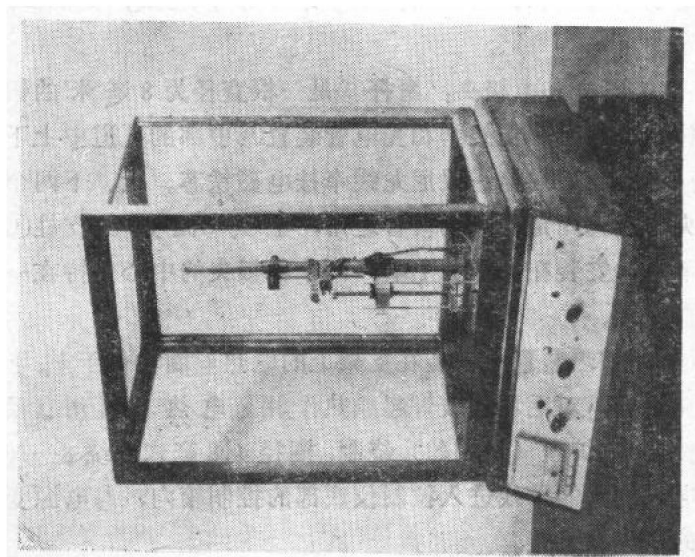


图2 玻璃微电极自动拉制仪整机外形。

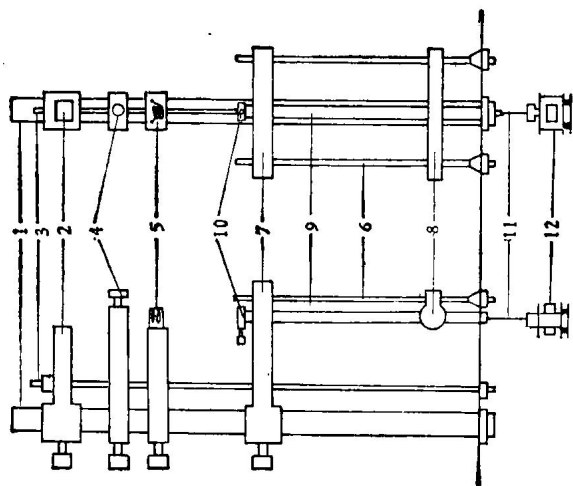


图3 微电极拉制仪结构示意图。

1. 支柱；2. 固定架；3. 固定杆；4. 上电极夹；
5. 电热丝圈及其支架；6. 平行支柱；7. 滑杆支架；
8. 光电管装置；9. 滑杆；10. 下电极夹；11. 尼龙线；12. 牵引电磁铁。

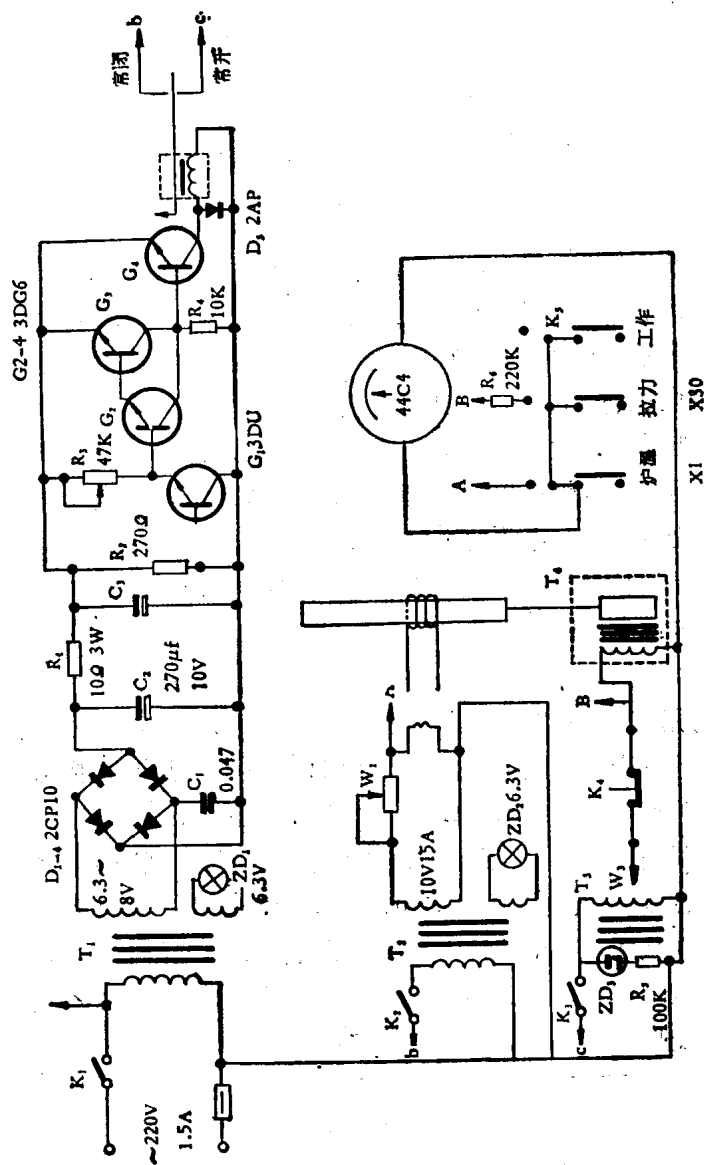


图 4 微电接拉制仪电源原理图。

(3) 光电管装置：将一段中空的有机玻璃横装 在两根平行的支柱⑥上，其位置可按需要上下移动。在有机玻璃的两端内分别装一微型电珠和一支光电管，组成自动控制系统中的光电管装置⑧。当滑杆进入此装置中部的孔道内时，可遮蔽电珠对光电管的照射。

(4) 拉制仪的电路：拉制仪的全部电路由光电控制、加热、牵引电磁铁电路和指示部分组成，电路原理见图1.4。光电控制部分：电源由 6—8 伏输出电铃变压器 (T_1) 降压，经二极管整流输出 6—8 伏直流电压供给。放大部分由 3 支 3DG6 硅三极管 (G_2 — G_4) 组成。高敏度直流继电器 (J) 的直流电阻为 300 欧姆，吸合电流为 12 毫安，触点电流需大于 1 安培。光电管采用 3DU 型光电三极管 (G_1) 或其他同类型的光电管。光电管的光源使用 6.3 伏微型指示电珠。电热丝圈温度控制部分：电源变压器 (T_2)，可用 5 灯交流收音机的电源变压器芯，初级线圈 L_1 用直径 0.35 毫米的漆包线绕 1,100 圈，次级线圈 L_2 用直径 1.5 毫米的漆包线绕 50 圈， L_3 用直径 0.47 毫米的漆包线绕 33 圈。调节电热丝圈温度用的可变电阻器 (W_1) 是利用 50 瓦旋转式可变电阻器改制，将原电阻丝拆除换以 3,000 瓦的电阻丝，取阻值为 2.5 欧姆的长度绕上，用耐火泥粘牢，恢复原状。牵引电磁铁拉力控制部分：用 MQ1-5101 型牵引电磁铁，其工作电压为 220 伏时，产生的拉力为 1.5 公斤，降低工作电压可使拉力相应地减小。电磁铁线圈的工作电压用 500 伏安的自耦式可调变压器 (T_3) 调节。利用安装在控制箱内的拉线盘操纵自耦式变压器，调节牵引电磁铁的拉力。将一微动开关 (K_4) 安装在电磁铁线圈的外侧，与它相连的杠杆伸入到线圈框的底部，当线圈通电时，电磁铁芯被吸引向下压在杠杆

上,即可关闭电磁铁线圈的电源。指示部分:用安装在控制箱面板上的三键琴键开关、旋钮和一只44C4型10伏交流电压表,调节所需要的电热丝圈加热温度和牵引电磁铁的拉力。指示灯ZD₁、ZD₂采用6.3伏微型电珠,ZD₃是起辉电压180伏的猫眼氛管。

2. 拉制步骤和拉制仪的工作程序

用拉制仪拉制微电极应在防风玻璃罩内进行。先按所需电极的尖径和杆长试拉几次,找到合适的加热温度、牵引电磁铁的拉力和光电管装置在平行支柱上的适宜位置(两次拉力的间隔),然后用这些参数进行拉制。

(1) 打开电源开关,提起滑杆使电珠的光线照射光电管。用控制箱面板上的旋钮1,将电热丝圈的加热温度调至预定值。

(2) 放下滑杆以遮蔽电珠对光电管的照射,调节旋钮2,将电磁铁线圈的拉力调至预定值,然后关闭电源。

(3) 取一根毛坯细玻管,穿入电热丝圈固定在上、下电极夹之间。玻管的中间一段应位于电热丝圈的中心部分。

(4) 打开电源开关,拉制仪经过下述工作程序,在50秒钟内即自动拉制出一对微电极:电热丝圈通电加热→热源区的玻管软化,由于滑杆和电磁铁的重力牵拉而较缓慢地延长变细(拉出细段)→滑杆的下端进入光电管装置中部的孔道→遮蔽照射光电管的光束→截断电热丝圈的电路,同时接通牵引电磁铁线圈的电源→电磁铁芯快速下降→牵引软化的玻管细段而拉制出上下一对单管微电极。此时电磁铁芯落在线圈框底部的杠杆上,按动微动开关而关闭电磁铁线圈的电源。

用自动拉制仪拉制单管微电极,只要各种参数调节得合

适，成功率较高，拉成的电极规格也比较一致。在参数合适的条件下，可将直径3毫米，壁厚0.5毫米，长8厘米左右的毛坯细玻璃管，拉制成两根杆长约12毫米，尖径在0.5微米以下的微电极（图5），电极的同心度和尖端斜度均较好，直流电阻为10—30兆欧姆，成功率可达90%左右。恰当地改变拉制的参数，也可拉制出尖径在0.5—3微米范围内的微电极。

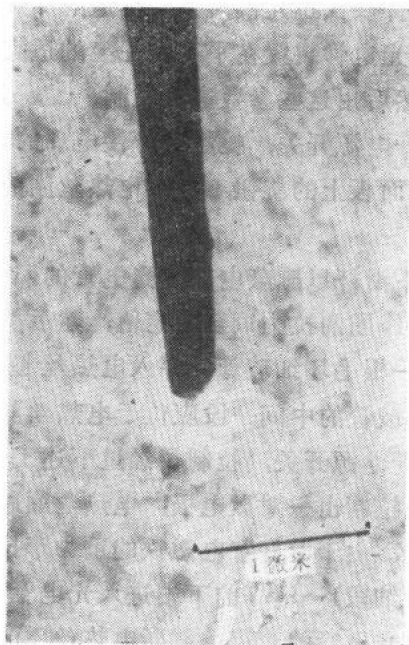


图5 单管微电极尖端的电镜照片。

（二）手工拉制

手工拉制是利用重力牵拉加热软化的毛坯细玻璃管，先拉出一细段，再拉尖而成微电极。

1. 拉制装置 手工拉制装置由电极夹、加热装置、三向推进器和支架等部分组成，如图 6 所示。

(1) 电极夹：用一缩口夹作电极夹，安装在万能支架上，其空间位置可随意调节。

(2) 加热装置：用上下两个电热丝圈依次给毛坯细玻管加热。上电热丝圈用直径 0.5 毫米的铂丝绕 8 圈，圈径适当地大于玻管的外径。下电热丝圈用直径 0.3 毫米的铂丝绕 2 圈，圈径 3 毫米。每一电热丝圈的两端固定在一个二线瓷接头一端的二孔内，另一端的二孔与调节范围为 0—10 伏，容量大于 50 伏安的调压电源连接。两组电热丝圈通过转换开关分别使用。

(3) 三向推进器：在万能支架上装一三向推进器，将上述两个二线瓷接头安装在三向推进器上，以便对电热丝圈的位置进行微调。

2. 拉制步骤

(1) 在煤气灯或酒精喷灯上将毛坯细玻管的一端烧软拉细，并将其末端弯曲呈钩状。可预先加工一批这样的毛坯备用。

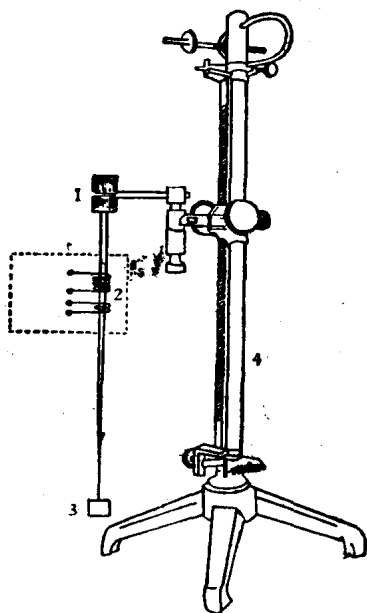


图 6 玻璃微电极手工拉制装置示意图。

1. 电极夹；2. 上、下电热丝圈；
3. 砝码；4. 万能支架。