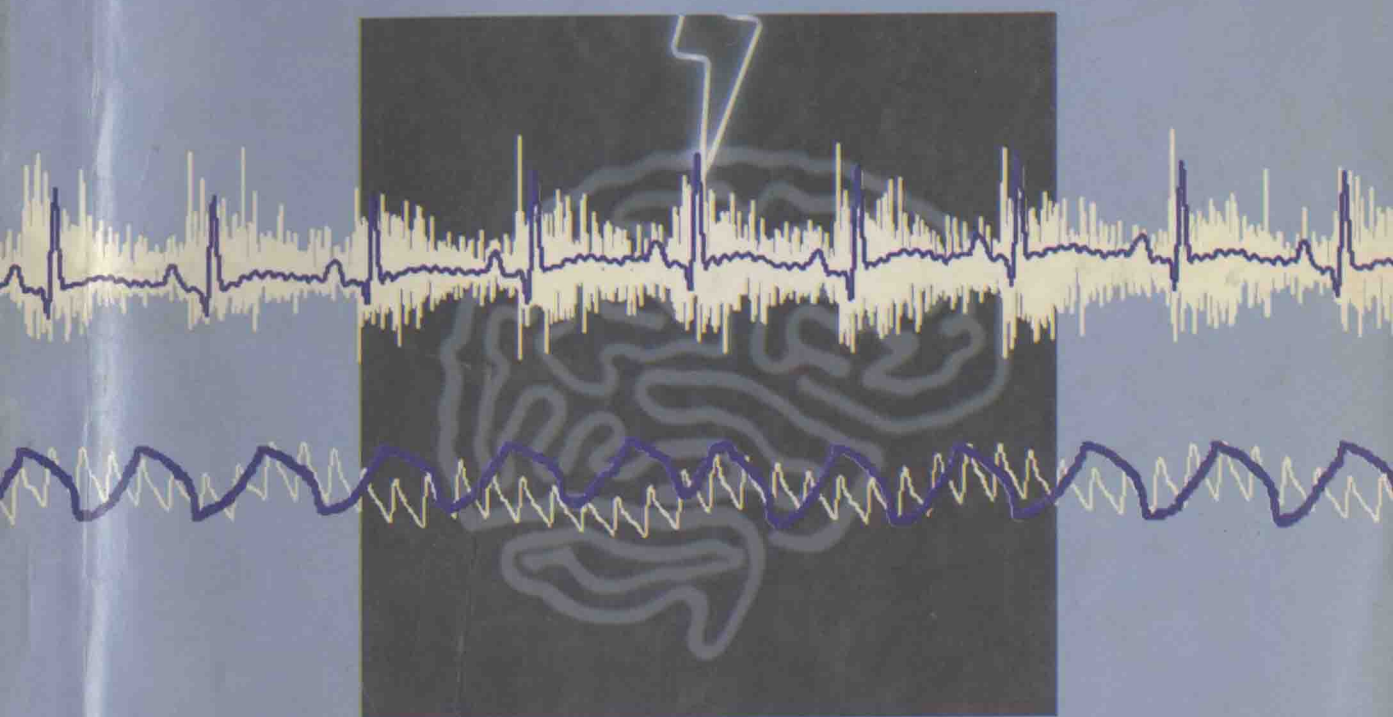


面向21世纪高等院校试用教材

生理学实验

SHENG LI XUE SHI YAN

主编 宛霞 赵晓进



中国商业出版社

面向 21 世纪高等院校试用教材

生理学实验

主编 宛 霞 赵晓进

中国商业出版社

(京)新登字 073 号

责任编辑:姜 仲

责任校对:宛 霞

中国商业出版社出版发行

(100053 北京广安门内报国寺1号)

(中国电波传播研究所印刷厂)

1995年3月第1版 2001年元月第2次印刷

787×1092毫米 16开 13.5印张 315千字

ISBN 7-5044-0546-9/TS.86

印数:2000册 定价:22.00元

(如有印装质量问题可更换)

前 言(第二版)

在生命科学的 21 世纪,培养什么样的生理学人才,是生理学工作者必须面对和必须解决的课题。《生理学实验》再版的目的是,在于通过对生理学方法的学习和实践,培养学生的科学思维方法,科学创新意识和科学工作态度,训练他们的基本技能,提高他们分析问题和解决问题的能力。

本书第一版出版以来,在河南师范大学、辽宁师范大学、山东聊城师范学院、信阳师范学院等十几所院校生理学专业均以此作为教材。随着科学技术的进步,实验设备不断更新,实验技术、实验方法不断改进与提高。因此作者根据长期教学实践的意见反馈与当前对教学的要求对原书的 74 个生理实验进行了认真的修改与增删。并以我室近年来使用的 Pclab 生物信号采集处理系统为例,阐述其工作原理,硬件组成与软件特性及在不同实验中的应用。修订后全书共分十二章,编入 75 个实验。本书的修订注意了章节的系统性、科学性、完整性,更加注重实验手段的先进性、实验内容的创新性和实验方法的可操作性。鼓励和引导学生自行设计和利用计算机技术进行实验,使他们尽快尽早成为 21 世纪复合型的生命科学人才。

参加本书编写与修订的人员,有河南师范大学生命科学学院宛霞教授、赵晓进教授、张红绪教授、李卫国副教授、杨太有副教授、翟心慧讲师、王建设主治医师,商丘师范学院滑冰副教授、赵秀勤讲师,最后由宛霞教授对全书进行统笔。

限于编者水平,谬误不当之处,敬请读者批评、指正。

编者

2001 年 1 月

《生理学实验》编委会名单及作者分工

主 编	宛 霞	赵晓进				
副主编	张红绪	李卫国	翟心慧	杨太有		
编 委	宛 霞	赵晓进	张红绪	李卫国	翟心慧	杨太有
	滑 冰	赵秀勤	王建设			

第一章	李卫国	
第二章	翟心慧	
第三章	翟心慧	
第四章	杨太有	
第五章	杨太有	
第六章	王建设	赵秀勤
第七章	张红绪	
第八章	宛 霞	赵晓进
第九章	杨太有	
第十章	滑 冰	
第十一章	赵秀勤	王建设
第十二章	滑 冰	

目 录

第一章 总论	(1)
第一节 生理学实验的目的、要求和规则	(1)
第二节 常用生理学实验仪器介绍	(3)
刺激系统	(3)
探测系统	(7)
信号调节系统	(11)
记录与信号处理系统	(14)
第三节 常用生理实验技术	(26)
第二章 神经与肌肉	(42)
实验 1 坐骨神经——腓肠肌标本的制备	(42)
实验 2 坐骨神经——缝匠肌标本的制备	(45)
实验 3 刺激强度与肌肉收缩反应的关系	(46)
实验 4 骨骼肌单收缩的描记与分析	(47)
实验 5 骨骼肌收缩的总和与强直收缩	(49)
实验 6 时值与强度——时间曲线的测定	(51)
第三章 血液	(53)
实验 7 红细胞比容的测定	(53)
实验 8 红细胞计数	(54)
实验 9 白细胞计数	(56)
实验 10 血红蛋白的测定	(57)
实验 11 红细胞渗透脆性的测定	(59)
实验 12 红细胞沉降率试验	(61)
实验 13 ABO 血型鉴定与交叉配血	(62)
实验 14 出血时间及凝血时间测定	(63)
实验 15 血小板计数	(64)
实验 16 血液凝固	(65)
第四章 循环	(68)
实验 17 蛙类心搏过程的观察	(68)
实验 18 蛙类心室的期外收缩与代偿间歇	(69)
实验 19 蛙类离体心脏灌流	(72)
实验 20 蛙类心脏的神经支配	(75)
实验 21 家兔动脉血压的神经体液调节	(76)
实验 22 人体动脉血压测定及其影响因素	(82)
实验 23 蛙类毛细血管血液循环的观察	(81)
实验 24 人的心音听诊	(85)

实验 25	人体心电图的描记	(87)
实验 26	蟾蜍心电的记录	(89)
实验 27	容积导体模型	(91)
实验 28	人体脑血流图的描记	(91)
第五章	呼吸	(95)
实验 29	肺通气功能测定	(95)
实验 30	人体呼吸运动的描记及其影响因素	(97)
实验 31	人体肺泡气成分的分析	(99)
实验 32	家兔呼吸运动的调节	(101)
实验 33	家兔胸内负压的测定	(103)
第六章	消化	(105)
实验 34	离体小肠平滑肌的生理特性	(105)
实验 35	大白鼠胃液分泌调节	(107)
实验 36	神经系统对消化管运动的调节	(108)
实验 37	离体小肠平滑肌电活动的描记	(109)
实验 38	小肠的吸收	(111)
实验 39	人体唾液分泌	(111)
第七章	代谢与泌尿	(113)
实验 40	人体基础代谢的测定	(113)
实验 41	大白鼠耗氧量的测定	(115)
实验 42	甲状腺激素对代谢的影响	(117)
实验 43	影响尿生成的因素	(117)
第八章	内分泌与生殖	(120)
实验 44	甲状腺素对蝌蚪发育的影响	(120)
实验 45	胰岛素惊厥	(121)
实验 46	妊娠试验	(122)
实验 47	雌性大鼠的性周期与排卵 ——阴道涂片法及给予戊巴比妥钠的效应	(125)
实验 48	血浆激素的放射免疫分析	(128)
实验 49	大鼠肾上腺摘除的观察	(131)
第九章	中枢神经系统	(133)
实验 50	反射时的测定	(133)
实验 51	反射弧的分析	(134)
实验 52	脊髓背根和腹根的机能	(135)
实验 53	损伤小白鼠小脑的效应	(136)
实验 54	家兔大脑皮层运动区的刺激效应	(137)
实验 55	去大脑僵直	(138)
实验 56	小白鼠电防御条件反射的建立、分化与消退	(139)
实验 57	脊髓反射——人的腱反射	(141)

第十章 感觉器官	(144)
实验 58 蛙类一侧迷路破坏的效应	(144)
实验 59 视觉调节反射与瞳孔对光反射	(144)
实验 60 视力的测定	(146)
实验 61 视野的测定	(147)
实验 62 盲点的测定	(148)
实验 63 色盲的鉴定	(149)
实验 64 听觉的测验	(149)
实验 65 声音的传导途径	(150)
第十一章 电生理学实验	(151)
实验 66 蟾蜍坐骨神经动作电位的测定	(151)
实验 67 神经冲动传导速度的测定	(153)
实验 68 神经干不应期的测定	(154)
实验 69 动物的 ECG 描记	(155)
实验 70 人体肌电图的描记	(157)
实验 71 人体脑电图的描记	(159)
实验 72 家兔大脑皮层诱发电位	(162)
实验 73 家兔减压神经传入冲动的引导	(165)
实验 74 家兔膈神经传出冲动的引导	(169)
实验 75 豚鼠耳蜗电位的引导	(171)
第十二章 附录	(176)
附录一 实验动物及其主要生理学数据.....	(176)
附录二 常用生理溶液的配制.....	(184)
附录三 生理学上常用溶液的浓度及计算.....	(185)
附录四 实验设计.....	(187)
附录五 实验数据的统计与处理.....	(188)
附录六 (一)体温、饱和水汽、大气压状态下气体容量换算系数.....	(198)
(二)标准状态气体容积换算系数.....	(200)

第一章 总 论 解剖生理学实验简介

第一节 生理学实验课的目的、要求和规则

一、生理学实验的重要性

生理学是一门实验的科学。它的一切概念,同自然科学的其他分科一样,都是根据实验或观察而获得的。从发展史上看,生理学能成为一门独立的学科,应归功于17世纪的英国著名医生威廉·哈维(William Harvey)。他采用活体解剖法和动物实验法在多种动物体上进行研究,并在人身上进行观察,才得出血液循环的正确结论。并于1628年出版了《心血运动论》。所以,生理学是建立在实验和观察的基础上,充分说明了生理学实验对生理学创立和发展的重要作用。因此国内外生理学家无不重视生理学实验课,因为一个只能记忆生理学概念而不会动手的人,是不可能对生理学作出贡献的。对于在校就读的学生们一定要注意:只有通过实验才能更好地理解和掌握教科书或老师讲授的科学内容;才有可能在来日为生理学的发展做出贡献。

二、生理学实验课的目的

在校期间能够接触和实习的项目是有限的。但是,通过实验使学生逐步掌握生理学实验的基本操作技术,了解生理学实验设计的基本原则,进一步了解获得生理学知识的科学方法,以及验证和巩固生理学的基本理论。在实验中,能够学到有关生命活动的一些规律是如何被认识的,同时培养了对科学工作的严肃的态度、严格的要求、严密的方法和严谨的作风。通过实验使学生逐步提高对实验中各种生理现象的观察能力、分析能力、独立思考和独立解决问题的能力。

三、生理学实验课的要求

生理学实验的特点是:动物实验多,实验仪器多而复杂。因此为提高实验课的教学质量,需教师 and 学生的密切配合和共同努力。

(一)实验前

1. 学生必须认真阅读实验指导,了解实验的目的、要求、基本原理以及简要的操作步骤。
2. 结合实验内容,复习有关理论,以便提高实验过程中的主动性和效率,进一步巩固有关理论知识。
3. 预测该实验各个步骤应得的结果,注意和估计实验中可能发生的误差。

(二)实验过程中

1. 教师应严格要求学生,对必须学会的基本操作技术应一丝不苟,培养学生的科学素养和分析问题、解决问题的能力。
2. 实验器材要摆放整齐,布局合理,便于操作。要保持清洁卫生,随时清除污物。实验桌上不得放置与实验无关的物品。
3. 按照实验步骤,以严肃认真的态度循序操作,不能随意更动,不得进行与实验无关的活动。以人体为对象的实验项目,要恪守注意事项,在确认安全无误之后,才能开始实验。要注意保护实验动物和标本,节省实验器材和试剂。
4. 遵守实验室规则,注意实验小组内的团结、配合与分工协作。要仔细、耐心地观察实验过

程中出现的现象,如实进行记录,并对引起各种生理现象的原因、意义进行分析与思考。

(三)实验后

1. 将实验用具整理就绪,所用器械擦洗干净。如有损坏缺少,应立即报告负责教师。作好实验台、实验室的清洁卫生工作。

2. 整理实验记录,认真书写实验报告,对实验结果进行分析讨论,作出实验结论。及时将实验报告交负责教师评阅。

3. 妥善处理实验动物,如实验结束后动物尚未死亡,应在教师指导下处死,尔后放于指定地点。~~掩埋~~

四、实验报告的书写

写实验报告是生理学实验课的基本训练之一,应以科学态度认真、严肃地对待,以便为日后撰写科学论文奠定良好的基础。现将其格式、内容和要求作一简要说明。

(一)实验结束后,均需根据指导教师的要求,每人写一份实验报告,并按时完成,及时送交指导教师评阅。

(二)书写实验报告要求文字简练、通顺,书写清楚、整洁,正确使用标点符号。

(三)在书写实验报告时,提倡学生间的相互讨论和争辩,但必须自己独立完成。否则,应重写。

(四)实验报告的格式与内容

1. 注明姓名、专业、班次、组别、日期。

2. 实验序号及题目。

3. 实验的目的及原理。

4. 实验方法 实验指导书上有的或重复使用的方法,仅作扼要说明。但实验指导书之外新补充的方法需写下来,便于日后查阅和参考。

5. 实验结果 是实验中最重要的一部分。应将实验过程中所观察或记录到的生理现象或效应如实地、正确地记述和说明。结果部分常需用实验记录,这就需要将实验记录进行合理地加工与剪贴、并加图号、图注及必要的文字说明。不得将原始记录原封不动地附在报告上。

凡属定量测量资料,例如快慢、轻重、长短、高低、多少等,均应以正确的单位和具体的数值严格地写在报告上。不能只是简单地描述(如呼吸频率加快或减慢)。

在实验中取得的原始资料必要时需要通过统计学处理,这样可以明确得到和可以用来对实验结果某些规律性进行适当估价的数值。这些数值如平均数、标准差以及显著性检验……,具体方法参见第十二章附录三。

为了便于说明和比较,有些实验结果可以列表或绘图表示。做表格时,应事先详细考虑,制出较完善清晰的表格。

6. 讨论和结论 实验结果的讨论是根据已知的理论知识对结果进行的解释和分析,并判断实验结果是否为预期的。如果出现非预期的结果,也不应该盲目的予以否定。遇到这种情况,首先应检查标本的制备是否精心正确,实验条件有无差错等等。如果几经反复实验,依然获得同样的结果,仪器的工作也属正常,此时和指导教师磋商后,应把该结果如实地写在实验报告中。并分析其可能的原因。

实验结论是从实验结果中归纳出一般的、概括性的判断,也就是这一实验所能验证的概念、原则或理论的简明总结。结论中一般不要罗列具体的结果,在实验结果中未得到充分证据

的理论分析不应写入结论。

实验讨论和结论的书写是富有创造性的工作,应该严肃认真,不应该盲目抄袭书本和他人的实验报告。应提倡学生根据自己的实验结果提出创造性的见解和认识,但必须有科学依据。

五、实验室规则

(一)进实验室前,应充分预习本次实验的实验内容,未预习者,不得参加实验。

(二)遵守学习纪律,准时上、下课。实验期间不得借故外出或早退。特殊情况下,应向教师请假。

(三)必须严肃认真地进行实验操作、观察实验结果。实验期间要保持室内安静,不得高声喧哗,不得进行任何与实验无关的活动。

(四)实验时不能把实验全部委托于实验小组某个人,而要小组的每个人都参加实验,做到既有明确分工,又能通力协作。其分工在每次实验中应不断更换,使每个人的各方面实验技能都得到提高。

(五)各组的仪器和用品,由本组使用,不得与别组随意调换,以免混乱。如遇仪器损坏或丢失,应报请教师处理。

(六)爱护公共财物,注意节约各种实验用品。实验动物按组发给,如需补充使用,须经教师同意才能补领。

(七)保持实验室清洁整齐,随时清除污物。实验完毕后,应将实验器材、用品收拾妥当,将手术器械擦洗干净,清点数量,放回原处,经教师检查后才能离开实验室。

骨钳用于粉碎骨性腔

第二节 常用生理学实验仪器介绍

生理学实验常用的仪器种类繁多,根据用途的差异可分为四大类,即刺激系统、探测系统、信号调节系统和信号记录系统。刺激系统是用以产生特定的刺激,作用于可兴奋组织或细胞,并使其产生兴奋的装置,常用电子刺激器。探测系统是用以探测与引导组织细胞兴奋时产生生理反应的装置,包括用以引导组织生物电活动的引导电极,如记录单细胞活动的玻璃电极和记录多细胞活动产生场电位的金属电极;以及用以探测与引导其它能量形式,并予以转换的换能器,如张力换能器、压力传感器等。信号调节系统是用以将微弱的生理反应信号加以放大的装置,包括对生物电进行放大的生物电放大器以及对其它能量形式有放大作用的传动装置等。记录系统是用以记录组织细胞各种生理反应的装置,常用的有示波器、笔式记录仪、磁带记录器和记纹鼓等。目前则出现了将刺激、放大、记录功能集于一身的生物信号采集处理系统,如PCLab生物信号采集处理系统。

【刺激系统】

多种刺激因素,如光、声、电、温度、机械以及化学因素都可使可兴奋组织细胞产生生理反应。但生理学实验中应用最广泛的是电刺激,因为它与生理性刺激相似,对组织细胞没有损伤或损伤较小,刺激参数易于控制,并且可以进行重复试验。当需要进行非电性质的刺激(如光、声刺激)时,还可将电脉冲转换成光刺激、声刺激等,并且同样可以调节刺激参数。下面将介绍常用的电子刺激器、锌铜弓和各种刺激电极。

一、电子刺激器

电子刺激器是一种能产生一定波形的电脉冲仪。所产生的波形大致有方波、正弦波、锯齿形

波和微分波。其中最为常用的是方波,其特点是波形简单,刺激参数(包括刺激强度、刺激时间和刺激频率)易于控制,方波的强度—时间变化率大,即波形陡峭,这种形式的刺激对于生物组织来说是较为有效的刺激。

刺激强度是指方波幅度,可用电压或电流强度表示。电流强度可从微安级至毫安级,电压可在 200V 以内加以调节。刺激强度过小,不能使细胞膜的静息电位达到阈电位,从而也就不能引起细胞兴奋;刺激强度过大,则可在组织细胞内产生电解作用和热效应而使其损伤和破坏。因此在实验过程中,过强过弱的刺激都是不适宜的。

刺激时间是指方波的持续时间,又叫波宽。一般刺激器的波宽均限制在微秒数量级至毫秒数量级。采用单向方波刺激时,刺激时间不宜过长,否则将会引起组织细胞损伤。另外,还应根据可兴奋组织细胞的强度—时间曲线,选择适宜的刺激时间与刺激强度,刺激时间常选用 0.2ms~0.5ms。

对于可兴奋组织细胞,除采用单刺激之外,还可采用连续刺激,此时可对刺激频率加以调节。刺激频率是指同一方波刺激的重复频率,一般在 1000 次/秒以下。刺激频率过高时,将会有一部分刺激落在组织细胞的不应期内而无反应,使刺激与生理效应不能同步。对于不同的组织细胞应选用不同的刺激频率。生理学实验中,刺激频率以不超过 100 次/秒为宜。此外,在采用连续刺激时,还可根据实验需要调节“串长”。“串长”表示以同一频率不断输出同一方波可持续的时间,即连续产生数个同一方波的时间。

电子刺激器除具备上述可调刺激参数外,还配备有其它功能。总周期是同步脉冲的周期,同步脉冲表示一次刺激的时间起点(图 1-1)。同步脉冲输送到整个实验系统中,使各实验仪器有共同的时间起点,以保持时间上的同步。在电生理实验中,刺激器的同步输出可将同步脉冲送至示波器的同步输入,而触发其一次扫描;也可将同步脉冲送至另一台刺激器,使两台刺激器之间保持特定的时间关系。从同步脉冲到刺激方波的出现,这段时间称为“延时”。调节“延时”,可使方波刺激所引起的生理反应显示在示波器荧光屏上适宜的位置,以便观察和记录。两台同步的刺激器也可通过调节各自的“延时”来改变它们的先后次序和时间间隔。这些设计为特殊的实验方案提供了便利条件。

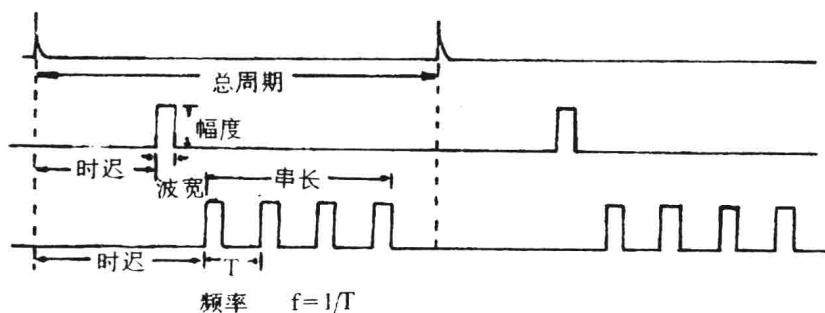


图 1-1 电刺激脉冲的波形及其参数

刺激伪迹与刺激隔离器:电生理实验中,由于刺激器输出和放大器输入具有公用接地线,使得一部分刺激电流进入放大器的输入端,从而在记录系统记录到一个刺激电流产生的波形,即刺激伪迹。为了减小刺激伪迹,常在刺激器的输出线路上接入一刺激隔离器,使刺激器的输出端与地隔离,从而切断了刺激电流从公用地线返回的可能,使刺激伪迹大大减小。

我国各高校实验室使用的电子刺激器种类繁多,型号多样,但基本结构大致相同。现以上海国泰电器器材厂生产的 JJC-2 和 JJC-4 生理实验多用仪为例加以介绍(图 1-2、图 1-3)。

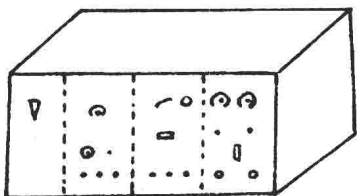


图 1-2 JJC-2 生理实验多用仪

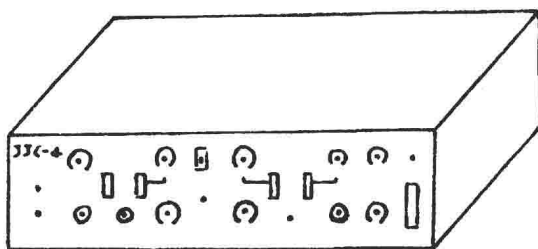


图 1-3 JJC-4 电刺激器

JJC 系列刺激器的主要用途是产生可手控的单脉冲、间距可调的双脉冲、连续脉冲及周期性的串脉冲。

(一) JJC-2 生理实验多用仪由四部分组成:电源、记时记滴器、脉冲发生器和脉冲调节器。各部分的作用分述如下:

1. 电源:经过稳压有 150V、12V、17V、-6V 和 -12V。

2. 记时记滴器:该部分的“时间”旋钮可分别产生 1、5、10、20、40 秒的时标脉冲;“记时”孔插入电磁标可进行时间标记。“受滴”孔中插入受滴棒(可用普通双极刺激电极代替),即可接受某些电解质溶液(如动物的尿液),通过“记滴”孔中插入电磁标来记录滴数。“输出”孔可将时标脉冲直接输至脉冲调节器内,产生长周期脉冲。

3. 脉冲发生器:可产生三种脉冲刺激方式。

(1) 单脉冲刺激方式,将微动开关插入“手控”孔,脉冲选择扳键置于“单”,间距开关置于“单”,每按动一次微动开关即产生一个脉冲,单脉冲刺激常用于心室肌的期外收缩实验和骨骼肌的单收缩实验。

(2) 双脉冲刺激方式,将微动开关插入“手控”孔,脉冲选择扳键置于“单”,间距开关置于“双”。每按动一次微动开关,可得到两个脉冲,两个脉冲之间的间距可在 0~15ms 内调节。双脉冲刺激常用于测定可兴奋细胞的兴奋性。

(3) 连续脉冲刺激方式,脉冲选择扳键于“复”,连续脉冲的频率由“频率”和“倍率”开关决定。若间距开关置于“单”,则产生连续单脉冲;若间距开关置于“双”,则产生连续双脉冲。连续脉冲刺激常用于神经纤维的动作电位测定。

脉冲选择扳键置于“停”,则无脉冲产生。“触发”孔可通过连线触发其它仪器,如示波器。触发时,连续脉冲为正向触发,单或双脉冲为负向触发,这是一般规律,但要根据具体情况决定。同样,刺激器也可被其它仪器所触发。脉冲发生器产生的脉冲要输至脉冲调节器中调节后才能作用于可兴奋细胞使其产生兴奋。

4. 脉冲调节器

“波宽”:在 0.1~1ms 内可调,指每个脉冲所持续的时间。

“振幅”:即刺激强度。粗调在 0~120V 内分为十档,微调连续可调。

“指标”:插入电磁标作为刺激标记用,电磁标的弹动与刺激信号输出同步。

“波形”:脉冲波形有两种,即矩形波(亦称方波)和对称微分波。

(二)JJC-4型与JJC-2型的主要不同之处在于:缺乏计时、记滴功能;具有主周期和串长;具有刺激脉冲延时功能。该仪器各旋钮的功能分述于下:

1. 脉冲选择扳键:又称功能选择键。可控制产生四种方式的电脉冲:单脉冲、连续脉冲、周期性串脉冲和任意串脉冲。

2. 串长:为一串脉冲所持续的时间,在0.01~4秒内可调。

3. 主周期:为单脉冲之间或串脉冲与串脉冲之间的时间间隔。

4. 拨盘数n:决定串脉冲的脉冲数,在1~9内可调。

5. 延时Ⅰ:从按动开关至第一个脉冲出现所需要的时间。延时Ⅱ:为n+1个脉冲中,最后一个脉冲与串脉冲的时间间隔。

6. 其它旋钮的功能见前文所述。

(三)JJC-4型刺激器的脉冲产生方式及相关操作:

1. 连续脉冲的产生 脉冲选择扳键置于“连续”,根据需要确定脉冲频率,但要注意,延时Ⅰ $\leq$ 1/频率。

2. 周期性串脉冲的产生 脉冲选择扳键置于“主周期”,主周期的长短根据实验需要而定。频率、串长与拨盘数要相互协调。如主周期确定后,串长在0.01~4秒内,则串脉冲的数目由频率决定;若串长置于“n”,则串脉冲的个数由拨盘决定,串脉冲持续时间由频率决定。使用串长时应注意,延时Ⅰ+串长+延时Ⅱ $\leq$ 主周期。

3. 任意串脉冲及单脉冲的产生 脉冲选择扳键置于“手控”,微动开关插入“手控”孔。若串长选定,则串脉冲的数目由频率决定;若串长置于“n”,则串脉冲数由拨盘决定,持续时间由频率来决定。

电子刺激器的具体使用方法和注意事项请参看仪器说明书。

二、锌铜弓

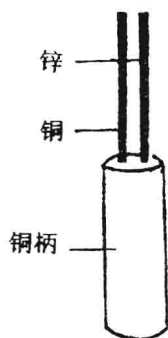


图 1-4 锌铜弓



图 1-5 常用刺激电极

锌铜弓又称 Galvani 电极,是生理学实验中检验所制备标本机能活性最常用的简易电刺激器。它是由铜和锌两种金属在一端焊接而成的(图 1-4)。由于锌铜两种金属的活泼性不同,因而接触时即可产生接触电位差,即电极电位。在与组织接触时,即可形成一电流回路。这样锌铜弓就好似一个原电池,锌为阳极,铜为阴极,两者之间所产生的电位差即可用于刺激可兴奋组织。由于神经和肌肉的兴奋阈值很低,所以仅用锌铜弓接触,即可构成刺激。因而常用于检验神经——肌肉标本的活性。

三、刺激电极

刺激电极多用金属制成,根据其性能可分为普通电极、保护电极等(图 1-5)。

普通电极和保护电极多用银丝或不锈钢丝制成,一般将两条金属丝镶嵌在有机玻璃或电木框套内,刺激端裸露,作为细胞外刺激用。保护电极的绝缘框套在刺激端弯曲成钩状,金属丝包埋其中,金属丝仅保留钩内一面裸露,以便施加刺激时,保护其周围组织免受刺激。闭锁式保护电极在刺激端可闭锁成环状,其优点在于一方面不易使电极从受刺激的神经上脱落,另一方面对于受刺激组织(尤其是深部组织)的周围组织将更为安全。

【探测系统】

探测系统主要用以探测与引导可兴奋组织细胞兴奋时产生的生理反应。具有探测与引导及换能作用的仪器种类繁多,主要包括记录电极与换能器两大类。

一、记录电极

记录电极作为生理学仪器探测系统的一部分,广泛应用于单细胞电活动及细胞群场电位的测量,包括金属微电极、乏极化电极和玻璃微电极。现将它们的结构与作用分述如下。

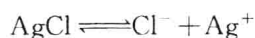
(一)金属微电极 金属微电极常用不锈钢丝、银丝、铂丝和钨丝等制作,适用于记录细胞外动作电位及突触活动,但不能用于记录直流电位差(因金属微电极与生物组织接触时能产生极化作用)。金属微电极的制作方法较为简单,取一根金属丝,直径为 0.15~0.3 毫米。然后将金属丝一端悬于热的稀硝酸溶液中被溶解掉,或将金属丝作为阳极浸入稀硝酸中通以电流溶解掉。此时须将电极上下移动,一次又一次地通过液体表面,以使电极杆变细,电极顶端被削尖,用此法可以得到直径小于 0.5 微米的尖端。然后将电极表面予以绝缘,方法是将电极全部浸入油漆中,再缓缓提起电极,提出电极之前,用一股风吹油漆的表面,因而能在尖端附近形成一层较好的绝缘体,而尖端由于表面张力不会涂上绝缘漆。最后将电极在空气中或在烘箱中干燥,干燥时一般尖端向上。

(二)乏极化电极 由于金属电极与生物组织接触后能产生极化作用,影响了生物电的测定。因而,为了避免或减小电极化作用的影响,电生理实验中通常选用乏极化电极(nonpolarizable electrode),主要有甘汞电极和银—氯化银电极。

乏极化电极的制备方法:取银丝或银片,先用乙醚或四氯化碳去除油脂,再放在 1:1 的盐酸溶液中去渍数分钟,然后用蒸馏水冲洗几次,此时的银丝或银片表面已经光洁,可以电镀。在暗室中,将已洁净的银丝或银片浸在 1:100 的盐酸溶液中作正极,以另一银丝作负极,连接直流电源,通以 40mA 的电流,30 秒钟后更换电流方向,再通电 30 秒,再换向通电,反复三次共通电 3 分钟;或者通以 100mA 的电流,经 1 分钟,即可使正极的银丝或银片上镀有一薄层氯化银(AgCl),而呈现暗灰色。取出镀好的银丝或银片放在生理盐水(0.9%NaCl)中,避光保存。

这种电极的 AgCl 镀层可使 Ag^+ 和 Cl^- 在电极和电解质之间自由地移动,以对抗电极电流

的形成。



当这种电极接正极时,将使 Cl^- 和 Ag^+ 结合生成的 AgCl 增多,但由于电极上已有大量的 AgCl 存在,所以,新生成的 AgCl 并不能明显地改变电极和周围溶液之间的电位差,因此电极电位变化很小。当电极接负极时,将使电极上的 AgCl 减少,同理,电极电位变化也不大。由此可知,电极电位稳定是银—氯化银电极的主要优点。

(三)玻璃微电极 玻璃微电极作为探测系统的一部分,广泛用于记录单细胞电活动及膜电位的测量。玻璃微电极的制备法有多种,这里只介绍基本方法。

1. 玻璃毛细管的选择与预处理 玻璃微电极是用已制备好的玻璃毛细管加热后拉制而成的。毛细管以 GG-17 或 GG-95 的硬质玻璃管为佳,因为其软化点、化学稳定性和电阻率较高,而热膨胀系数较低。毛细管的外径一般为 1—2mm,内径应近于总直径的 $2/3$ 。买来的毛细管最好进行预处理,其方法如下:(1)用清洁液(浓硝酸和浓硫酸 1:1 配制而成)浸泡毛细管 1—2 小时;(2)取出后用自来水冲洗 30 分钟;(3)放入盛有蒸馏水的烧杯中加热煮沸 10 分钟;(4)再用蒸馏水反复冲洗三次;(5)取出后放入烘箱中烘干备用。

2. 玻璃微电极的拉制 目前已广泛采用微电极拉制器制作玻璃微电极,微电极拉制器种类繁多,结构不尽一致,但拉制原理基本相同,大致可分为两大类型:垂直型和水平型。垂直型微电极拉制器的基本原理介绍如下:当玻璃毛细管在固定的位置上被可调的电热丝加热软化后,靠毛细管下端附加的重力或外加拉力,将毛细管拉成两根微电极,同时电热丝的电流被立即切断。可见,微电极的拉制主要依靠调节电热丝的电流强度以控制温度以及其下附加的重力或拉力。大多数微电极拉制器采用的拉力是由电磁铁产生的,其优点在于拉力可以调节。在毛细管未完全软化前,拉力可以调节得较小或仅依靠一定的重力,将毛细管慢慢拉长,待毛细管完全软化后,再突然增大拉力,这样可以在毛细管温度较高时再迅速下拉,因而可以拉出尖端外径小于 0.5 微米的玻璃微电极。一根完好的玻璃微电极应包括基部、肩部、锥部和端部四部分(图 1—6)。

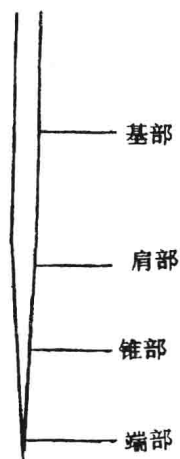


图 1—6 玻璃微电极

3. 玻璃微电极的充灌和保存 拉制好的玻璃微电极需要灌注 3M/L 的 KCl 溶液。玻璃微电极的灌注方法较多,如加热减压法、直接充灌法等。如果在所用玻璃毛细管内插入数根玻璃微管,那么采用直接充灌法灌注则极为简便,其方法是:取小注射器一只,内充 3M/LKCl 溶液,将长而细的针头或尖端较细的塑料管经微电极基部插入,直至肩部和锥部的交界处,用注射器将 KCl 溶液注入微电极,溶液靠毛细管作用而进入锥部和端部。灌注时应注意玻璃微电极内不得有气泡。直接充灌法成功与否取决于两方面,一是取决于玻璃毛细管的预处理,如预处理良好,毛细管内壁洁净,则 KCl 溶液很容易进入玻璃微电极锥部直达端部。另一方面也取决于 KCl 溶液的纯净和清洁程度,一般要求 KCl 试剂要达到分析纯,并用双蒸水配制,配制好的 KCl 溶液还需用分析滤纸加以过滤。

玻璃微电极的保存方法很多,常用玻璃微电极罐加以保存。微电极罐的构造是,在罐盖的

中央固定有一根垂直向下的竖杆,杆的下端连有一只圆盘,在圆盘的边缘有许多缺刻,每个缺刻中可插入一根玻璃微电极予以保存,并且圆盘距罐底有一定的高度。

4. 微电极阻抗的测量 在进行细胞内记录的实验中,所用微电极端部的直径是十分重要的参数。如端部直径过大,则不易插入细胞内,对细胞的膜电位及其变化不能记录;即使能插入细胞,也不能稳定地记录细胞的膜电位变化。因此,在实际应用时,必须先了解微电极端部的直径大小。实验前,可在显微镜下用测微尺直接测量端部直径的数值,但采用更多的是通过测量微电极的阻抗来间接了解电极端部直径的大小,在一般情况下,微电极的阻抗与电极端部直径呈反比关系,端部直径越小,则阻抗值就越大。因此,只要测量出微电极的阻抗即可判断出微电极端部的内径。有些型号的微电极放大器本身设计有测量微电极阻抗的线路,可按照说明在实验前或实验中随时对微电极的阻抗进行测量,使用极为方便。若不具有此种微电极放大器,可用万用电表加以测量。端部直径在 $0.5\mu\text{m}$ 左右的玻璃微电极,其阻抗值约为 $10\sim 50\text{M}\Omega$ 。记录心肌细胞电活动的微电极阻抗值达到 $15\sim 30\text{M}\Omega$ 即可。

二、换能器

换能器(传感器)是指将一种能量形式转变成另一种能量形式的装置。作为探测系统的组成部分,可将非电性质的生理现象,如机械、声、光、磁以及温度等能量形式转变为电信号。然后再将这种电信号经过前置放大器放大,显示在示波器或记录仪上。

换能器的种类繁多,如机械电换能器、压电换能器、声电换能器、光电换能器以及热电换能器等。在生理学实验中应用较多的是机械电换能器(亦称张力传感器,用于测定在体与离体组织器官的舒缩活动状况)和压电换能器(用于测量机体的各种压力变化,如血压、胸内压、肺内压、心脏内压及消化道内压等)。但在目前能供生理学研究使用的换能器种类并不多,因而常需根据实验需要,设计出符合实验要求的换能装置。

(一)压电换能器 换能器的制作原理是以惠斯登(Wheatstone)电桥为基础的(图 1-7)。图中 R_1-R_4 分别为四个电阻。在正常情况下,若 $R_1=R_2, R_3=R_4$,那么在 Y 点和 Z 点之间就不存在电位差,即为电桥平衡。如果 R_1 和 R_4 的阻值增加,而同时 R_2 和 R_3 的阻值降低,那么在 Y 点和 Z 点之间便可记录到电位差(E_0),并且此电位差与电阻的变化是成比例的。

$$E_0 = E \cdot \Delta R / R$$

在压电换能器中,惠斯登电桥的电阻常用应变片制作,应变片有电阻丝应变片和半导体

应变片两种。如果用电阻丝应变片元件代替 R_1 和 R_2 ,这就构成了电阻丝式应变片压电换能器的电桥电路。电阻丝应变片是一种力敏元件,具有压阻效应,受拉伸长时阻值变大,受压缩短时阻值变小。这种应变片的基本特性可从导线电阻公式出发加以推导。导线的直流电阻公式为:

$$R = \rho l / A$$

式中 ρ 表示电阻率; l 表示导线的长度; A 表示导线的横截面积。

对上述方程式两边取自然对数得:

$$\ln R = \ln \rho + \ln l - \ln A$$

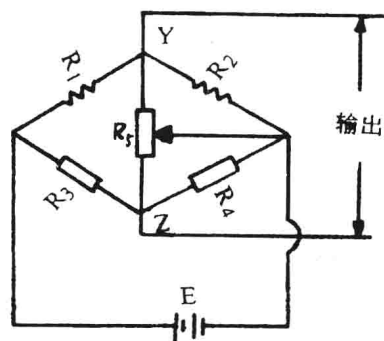


图 1-7 惠斯登电桥