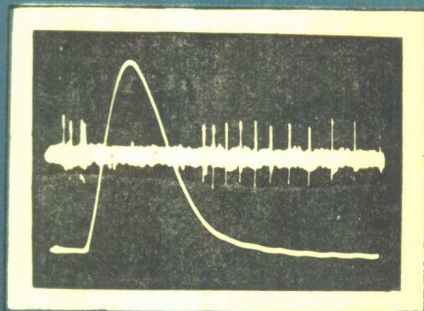


神经电生理学实验

王伯扬 姜德鸣 杨伯仪等 编著



23-37
86
991
0.1

高等教育出版社

神经电生理学实验

王伯扬 姜德鸣 杨伯仪等 编著

高等教育出版社

内 容 提 要

本书包括 44 个神经电生理学实验,从最简单的“比较可兴奋细胞的兴奋性”到应用微电极记录神经细胞电活动,由简单到复杂,包括了高等学校有关专业教学上需要的主要电生理实验内容,以及一些必要的简单实验设备的制作方法和基本仪器的使用方法。

编写的次序是按实验所需仪器的多少与复杂程度安排的,即从不需要特殊的电生理仪器开始,逐步增加使用比较复杂的仪器,这样,在没有导师直接指导的情况下,也能循序渐进地学习。

本书可供生物学、心理学、医学、农牧学等方面的高年级学生、研究生、青年教师使用。也可供有关专业科技工作者参考。

责任编辑:刘卓民

神经电生理学实验

王伯扬 姜德鸣 杨伯仪等 编著

*

高等教育出版社出版

新华书店北京发行所发行

四川省金堂新华印刷厂印装

*

开本 850×1168 1/32 印张 5.625 字数 131 000

1991年4月第1版 1991年4月第1次印刷

印数 0 001—1 100

ISBN 7-04-003237-6/Q·173

定价 2.70 元

前 言

本教材的实验次序是按实验所需的仪器复杂程度安排的，即从不需要特殊的电生理仪器开始，逐步增加使用比较复杂的仪器，循序渐进，达到能掌握使用多种仪器的实验方法的目的。我们对这样的编排，已经过两轮教学实践，结果表明，基本上能达到预期目的。我们预计，这样的安排也将有利于某些电生理实验条件较差的学校，根据经济条件，逐年添购仪器、培养教师、增加新的实验内容。

本教材中所列的每一个实验，并不代表一次实验时间内必需进行的实验内容，而只代表需要解决的一个问题。有些实验，由于需要做一些准备工作，可能要花几个单元时间，而有些实验，却可以在一个单元时间内完成几个内容。有些人在一次实验中能完成的作业，对另一些人来说，可能无法完成或需要重做。因此，必需由实验者自行作出安排。

任何一种仪器都有不同的型号，并且在不断更新。本教材是以目前较为通用者为例来说明的。我们相信，当学生掌握了基本方法之后，是不难改用新型仪器设备的。

本教材主要是由王伯扬、姜德鸣、杨伯仪编写的。张丰、项子休、宋如垓分别参加了实验 24、25、38 的编写工作。实验 37 是参考 1989 年 3 月曹银祥、顾慧珍、王彼德、颜杰合编的《SMUP-A 型生物信号处理系统，生理实验指导》（上海医科大学生理教研室的讲义）编写的。初稿完成后，又经上述同志精心校阅。全书由王伯扬统稿。由于经验不足，错误缺点难免，希望读者批评指正。

编者

1989 年于复旦大学

目 录

一 基础知识与技术训练	1
1 比较可兴奋细胞的兴奋性	1
2 以肌肉收缩为指标,检验极兴奋法则	4
3 制作简易电压校准器	5
4 了解万用表的结构原理与使用方法	8
5 了解电生理实验中可能产生的非生物电位	12
6 制作乏极化电极	17
二 应用直流数字电压表进行的实验	20
7 熟悉直流数字电压表的使用方法	20
8 测试容积导体内的电场分布	21
9 测试神经静息膜电位与膜外 K^+ 浓度的关系	23
三 应用阴极射线示波器进行的实验	27
10 熟悉阴极射线示波器的使用方法	27
11 装置、试用示波器照相机	36
12 用糖溶液间隙法测定神经静息膜电位	42
13 以神经动作电位作指标,检验极兴奋法则	45
四 应用示波器、电子刺激器进行的实验	47
14 熟悉电子刺激器的使用方法	47
15 观察离体神经干的动作电位	50
16 测试外禀电位	54
17 测定神经冲动的传导速度	55
18 绘制强度-时间曲线	57

19	测试神经冲动之后的“不应期”	59
20	观察生理电紧张现象	61
21	观察神经动作电位的“全或无”现象	64
五	应用示波器、前置放大器进行的实验	67
22	熟悉前置放大器的使用方法	67
23	记录嗅电图	72
24	观察蟾蜍皮肤感受器的传入冲动发放	74
25	观察肌梭的传入冲动发放	77
26	观察减压神经的传入冲动发放	80
27	观察膈神经的传出冲动发放	83
28	记录动物的脑电图	86
29	记录人的脑电图	89
六	应用示波器、前置放大器、电子刺激器进行的实验	93
30	记录容积导体内神经冲动产生的场电位	93
31	应用粗电极记录终板电位	95
32	记录家兔的在体眼球上的视网膜电图	100
33	记录蟾蜍的离体眼球上的视网膜电图	103
34	记录豚鼠的耳蜗电位	103
35	记录动物的自发皮层电图与皮层诱发电位	107
36	观察兔大脑皮层的直接电反应	110
七	应用示波器、前置放大器、电子刺激器、微型计算机 进行的实验	113
37	熟悉微型计算机的使用方法	113
38	记录豚鼠脑干听觉诱发电位	133
39	记录人的体感诱发电位	141
40	记录关联负变化	144
八	应用微电极进行的实验	147

41	学习微电极的制作方法.....	147
42	测试骨骼肌纤维的静息膜电位与膜外 K^+ 浓度的 关系.....	152
43	从肌细胞内记录动作电位.....	156
44	用金属微电极记录兔脑的细胞外多单位放电.....	159
附录：建设、管理电生理实验室及带教电生理实验时应 注意的一些问题.....		163

一、基础知识与技术训练

1. 比较可兴奋细胞的兴奋性

【目的】

练习剥制神经-肌肉标本的方法,初步观察可兴奋细胞的兴奋性。

【原理】

对适宜的刺激能够很容易而又迅速地作出反应的细胞,如神经细胞、肌细胞和感受器细胞等,可称为“可兴奋细胞”。当可兴奋细胞发生兴奋时,都将表现出一些生理电变化。本书将要叙述的都是反映可兴奋细胞,特别是神经细胞在静息或兴奋状态下所表现的生理电现象。这些伴随着兴奋性变化的生理电现象,在不使用适当仪器的场合下,用一般肉眼观察是很难看出它们的反应的。这是在电生理的发展史中对生物电是否存在的问题引起长期争议的主要原因。然而,当肌肉发生兴奋时,除发生电变化外,还表现出明显的收缩现象。因此,肌肉的收缩现象自古以来都用以作为兴奋现象的指标。

“兴奋性”是指某种组织能够引起兴奋的能力。这是引起兴奋的基本条件。各种动物的各种可兴奋组织的兴奋性不同,同一种动物的同一种组织,在不同的生理条件下的兴奋性也不相同。

【器材】

蛙(或蟾蜍) 2只,培养皿 3只,铜锌镊,铁盒(或铝饭盒),大头针,纱布,玻璃钩针及玻璃针,探针,滤纸,蛙板,小动物解剖器

套,氯化钠,氯化钾,氯化钙,碳酸氢钠,磷酸二氢钠,葡萄糖,蒸馏水,量筒,玻璃瓶,棉线。

【步骤】

一、配制生理盐水与任氏液。配方如下:

(一) 生理盐水(两栖类用)

氯化钠 6.5—7.0 克

加蒸馏水至 1000 毫升

(二) 任氏(Ringer)液(两栖类用)

氯化钠 6.50 克

氯化钾 0.14 克

氯化钙 0.12 克

碳酸氢钠 0.20 克

磷酸二氢钠 0.01 克

葡萄糖 2.00 克

加蒸馏水至 1000 毫升

二、取一只蛙(或蟾蜍)放入铁盒中,再放入冰箱(0—5°C左右)2—4小时,然后取出剥制神经-肌肉标本。

三、剥制神经-肌肉标本

(一) 用纱布裹住蛙体,用探针破坏蛙的脑和脊髓。

(二) 在腹部以上、两前肢以下处将皮肤剪开一圈,用左手抓住前肢,右手将下半身的皮肤撕去。用左手提起后肢(蛙体倒挂),剪开腹壁,把内脏向外挑出。在前肢的下方剪下躯体的下半部(不包括内脏),浸在任氏液中。

(三) 洗净双手及已用过的剪刀等解剖器具,用纱布擦干。

(四) 将蛙体的下半身从任氏液中取出,放在垫有滤纸的蛙板上(背向下),用任氏液润湿。在脊椎旁可看到左右两根坐骨神经走向下肢。在靠近脊椎处用棉线结扎神经,剪断向中端。提起结

扎线，轻轻分离神经至尾端后，将神经贴附在腹腔内。将蛙体翻转，使背向上。用镊子提起尾端的结缔组织，用眼科剪小心地将尾骨两侧的结缔组织剪开，直至在尾骨的位置上出现一个孔（注意：坐骨神经是从此处穿向下肢的）。提起尾骨，用粗剪刀（不可用眼科剪）将尾骨剪去。提起蛙身，用玻璃钩针从尾骨处的孔中将坐骨神经从腹腔内钩出，贴附在背侧。然后将蛙身放回到滤纸上（仍使背向上）。

（五）提起结扎神经的棉线，分离坐骨神经，小心剪去与它相连的结缔组织（切勿碰伤神经），使神经完全脱离尾骨处的孔后，贴附在蛙体上。

（六）循坐骨神经沟（在股二头肌与半膜肌之间），用玻璃针将肌肉分离，暴露坐骨神经，提起结扎线，剪去与神经干相连的结缔组织或神经分支，直至膝关节处。用大剪刀剪去膝关节以上的股骨与肌肉。

（七）分离腓肠肌。穿线结扎跟腱，在远心端剪断跟腱，提起结扎线，剪去膝关节以下的小腿部骨骼与肌肉。将制成的坐骨神经-肌肉标本浸在任氏液中备用。

四、用另一只蛙（未曾放入冰箱的）以同样方法制作2个坐骨神经-腓肠肌标本。将一个标本浸在有任氏液的培养皿中，另一个标本浸在有生理盐水的培养皿中备用。

五、用铜锌镊接触坐骨神经，或直接接触腓肠肌，观察肌肉的收缩程度，比较3个标本的兴奋性有无差异。

【注意】

一、在配制任氏液时，所用的氯化钙须先配成10%或20%的溶液后，再加入已配好的生理溶液中，这样可以避免产生不溶解的磷酸钙而造成溶液混浊。

二、配制生理溶液所用的蒸馏水要新鲜，pH 值在7.2—7.8

之间。

三、剥制标本时,避免动物的皮肤分泌物和血液沾污标本,必要时可用任氏液冲洗,但切不可用水冲洗。

四、避免金属机械触碰神经干。

五、分离肌肉时,要按肌肉层次进行,不能乱撕。

六、分离出神经干后,要将附着在神经干上的结缔组织去净。

七、在剥制标本的过程中,最好随时用任氏液润湿神经、肌肉,防止干燥。

【讨论】

为什么3个标本的兴奋性不相同?

【参考】

一、Sharpey-Schafer, E.: Experimental Physiology, Longmans, 1927, p.59.

二、日本生理学会编(王佩等译):生理学实习,1980年,人民卫生出版社,第238—240页。

2. 以肌肉收缩为指标,检验极兴奋法则

【目的】

了解刺激电流的极性与产生兴奋冲动的关系

【原理】

用强度在阈值以上的电流刺激神经,通电时兴奋发生在阴极,断电时兴奋发生在阳极,通电时的刺激作用大于断电时的刺激作用。

【器材】

蛙(或蟾蜍),小动物解剖器一套,蛙板,肌夹,支架,纱布,玻璃针(钩),培养皿,1.5伏干电池,开关,1—10千欧电位器,银丝,导线,大头针。

• 4 •

【步骤】

一、按实验 1 之步骤一至三进行，制备蛙(或蟾蜍)下半身的标本。

二、按图 1 连接干电池,开关,电位器与银丝(电极)。

三、用大头针将蛙躯干的下半部固定在蛙板上(下肢可以不固定)。

四、关断电源,使电位器置于输出最小电压位置,将银丝(电极)钩在脊椎两侧(腹腔内)的坐骨神经上。

五、相继地通、断开关,同时调节电位器,逐步增强刺激电流,观察左右两腿中的哪一侧腿先开始发生收缩。并注意是在通电时收缩还是在断电时收缩。

六、继续相继地通、断开关,并继续逐步增强刺激电流,观察何时两腿都发生收缩;通、断电流时,收缩各发生在哪一侧?

七、检验电流方向,总结通、断电流时,兴奋各发生在哪一极?哪一极的阈值较低?

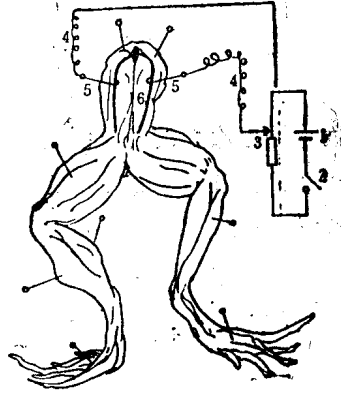


图 1 极兴奋法则的实验布置

1.干电池; 2.开关; 3.电位器;
4.导线; 5.银丝; 6.坐骨神经

3. 制作简易电压校准器

【目的】

通过简易电压校准器的制作,可以熟识欧姆定律,并练习焊接电子元件的技术。制成的电压校准器,可供今后实验中作校准电压、测定放大系统的总灵敏度或测定极性之用。

【原理】

根据欧姆定律,在电路中的电流强度与电压成正比,而与电阻成反比,即

$$I = V/R \text{ (或 } V = IR, \text{ 或 } R = V/I)$$

式中 I 表示电流, V 表示电压, R 表示电阻。在串联电路中,任何一点的电流强度都是相等的,即

$$I = I_1 = I_2 \dots = V/R$$

而串联电路中的各电阻上的电压降 (V_n) 则各不相同,各电阻上的电压降之和等于整个电路的总电压降 (V)。设整个电路的总电阻为 R , 它是由 $R_1, R_2 \dots R_n$ 串联而成的, 则

$$V_1 = IR_1$$

$$V_2 = IR_2$$

.....

$$V_n = IR_n$$

而
$$V = V_1 + V_2 + \dots + V_n$$

根据这个原理, 当一个固定电阻 (R_1) 与一个可变的电阻 (R_2) 及电源 (固定电压 V) 相串联时, 则固定电阻 R_1 两端的电压降 (V_1) 将随可变电阻 (R_2) 的阻值的变化而变化。因为

$$V = V_1 + V_2 = IR_1 + IR_2 = I(R_1 + R_2)$$

$$V_1 = IR_1$$

所以
$$\frac{V_1}{V} = \frac{I(R_1 + R_2)}{IR_1} = \frac{R_1 + R_2}{R_1}$$

则
$$V_1 = V \times \frac{R_1}{R_1 + R_2}$$

即固定电阻 R_1 两端的电压降 V_1 将随可变电阻 R_2 的阻值增大而减小。例如, 当一只 10 欧的电阻 (R_1) 与一只 3k 的电阻 (R_2) 及一只 1.5 伏的干电池相串联时, R_1 两端的电压降为

$$V_1 = 1.5V \times \frac{10}{3010} \cong 0.005V \cong 5mV;$$

当 R_2 换成 300k 时, 则 $V_1 = 1.5V \times \frac{10}{300010} \cong 0.00005V \cong 50\mu V$,
余类推。

【器材】

10 Ω 、3k、15k、30k、150k、300k 电阻各一只, 单刀五掷开关, 1.5 伏的干电池, 按钮开关, 接线柱 3 只, 小号铝饭盒(或其他适当的金属盒), 焊片若干, 焊锡若干, 松香(或焊油)若干, 电烙铁, 电线若干, 钻孔工具。

【步骤】

- 一、根据铝饭盒的大小与元件的大小, 安排各元件的位置。
- 二、在铝饭盒上钻适当大小的孔, 安置接线柱、按钮开关、多掷开关及电池等元件。
- 三、按图 2 焊接各元件。

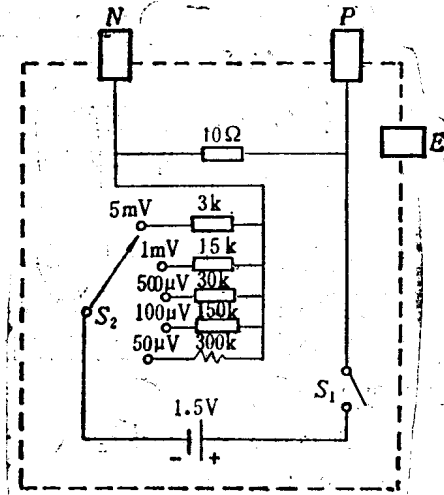


图 2 电压校准器线路

S_1 按钮开关; S_2 电压选择旋钮; N 负极接线柱; P 正极接线柱;
E 连接金属外壳的接地极

四、在“电压选择钮”(即多掷开关)旁贴上标志,标明输出的校准电压值(5mV, 1mV, 500 μ V, 100 μ V, 及 50 μ V);在输出端的接线柱旁也贴上标志,标明正极和负极。

4. 了解万用表的结构原理与使用方法

【目的】

学习万用表的结构原理与使用方法。

【原理】

万用表(万用电表)是一种多用途的电子测量仪器,在电生理实验室中,是常备的工具之一。一般的万用表可以用来测量直流电流、直流电压、交流电压与电阻值等,有的还可以用来测量交流电流、电功率、电感量、电容量和音频电平等。它是用磁电系测量机构(表头)配合测量电路而实现各种电量的测定的。以一般的万用表来说,它实际上是由多量程的直流电流表、直流电压表、整流式交流电压表和欧姆表组合而成的。这些多量程的电表合用一个表头,在表盘上有相应于测量各种电量的标度尺。人们可以根据不同的测量对象,通过转换开关,选择测量的参数与量程,使用方便。

万用表的直流电流档,实际上就是一个多量程的直流电流表。应用分流器与表头相并联,即可达到扩大测量电流范围的目的。因为并联电路中的总电流(I),等于并联在这个电路中的各支路中的电流($I_1, I_2 \dots I_n$)之和,即

$$I = I_1 + I_2 + \dots + I_n$$

而通过各支路(电阻)的电流则分别为

$$I_1 = V/R_1$$

$$I_2 = V/R_2$$

.....

$$I_n = V/R_n$$

因为各支路电阻上的电压降 (V) 是相同的, 而各支路上的电流 ($I_1 \cdots I_n$) 则与支路上的电阻 ($R_1 \cdots R_n$) 成反比。因此, 当一个内阻为 R_2 的表头与可变电阻 R_2 相并联时, 流经表头的电流是不变的, 而可以测量的总电流量(量程)将会依 R_2 的减小而扩大, 即分流电阻越小, 所扩大的电流范围越大。所以, 配合不同阻值的分流电阻, 就可以得到不同的测量范围(图 3A)。

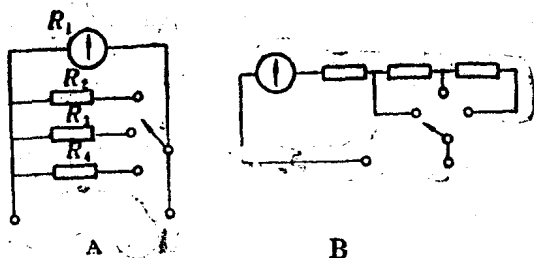


图3 多量程直流电流表(A)与多量程直流电压表(B)线路

万用表的直流电压档, 实际上就是一个多量程的直流电压表。应用附加电阻与表头相串联即可达到扩大测量电压范围的目的。因为表头指针是按电流强度而偏转的, 根据公式 $I = V/R$, 则可以根据电流 (I) 与电阻 (R) 来推算电压 (V)。当电压较大时, 可以通过增加电阻值来达到测量高电压的目的。附加的电阻越大, 扩大测量的范围也越大。所以, 配合不同阻值的附加电阻与表头相串联, 就可以得到不同的电压测量范围, 线路如图 3B。

万用表的交流电压档, 实际上是一个多量程的整流式交流电表。因为表头是直流电表, 当通过交流电时并不发生指针偏转。当表头上配合一个整流电路时, 变交流为直流就能达到测量交流电压的目的。

万用表的电阻档，实质上是一个多量程的欧姆表。用欧姆表测量电阻的简单原理线路如图 4。其中电源为固定电压 (V) 的干电池，电源与表头及固定电阻 (R) 相串联。从 a 、 b 两端可以插入被测电阻 (R_x)。当 $R_x = 0$ 时，即 a 、 b 两端短路时，表头指针有满刻度的偏转，此时电路中的电流为

$$I_0 = V / (R_C + R) = I_C$$

式中 R_C 为表头电阻， I_C 为表头的满偏转电流。当投入被测电阻 R_x 时，电路的工作电流 I 为：

$$I = V / (R_C + R + R_x)$$

可见，表头的偏转大小与被测电阻的大小是一一对应的， R_x 越大，则 I 越小，表头指针偏转也越小。当 $R_x = \infty$ 时（相当于 a 、 b 两端开路），则 $I = 0$ ，表头指针处于 0 位。

由上可知，万用表是由（含一定电阻的）表头与各种电阻相串联或并联组合而成的。当应用它来测量被测对象时，又将与被测对象形成串联或并联关系，这样，被测对象本身的电阻必然会影响测量仪表的线路，从而影响测量结果的正确性。例如：

当测量电流时，电流表是串联于被测电路的，因此，若要使电流表的插入不致过多地影响原来电路中的电流，电流表的内阻应该是越小越好。一般地说，当电流表的内阻小于被测物的总内阻的 $1/100$ 时，可以忽略电流表加入所造成的影响。

当测量电压时，电压表与被测对象的两端是并联的（图 5），因

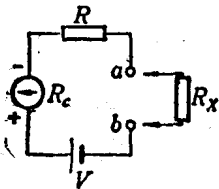


图 4 欧姆表原理线路

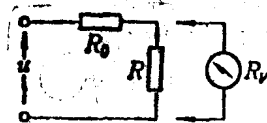


图 5 电压表的内阻对被测电压值的影响示意图