

Z47 - BADANIA WŁAŚCIWOŚCI ELEKTROFIZJOLOGICZNYCH BŁON KOMÓRKOWYCH

II Pracownia Fizyczna
Wydział Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej, Uniwersytet Jagielloński

Celem ćwiczenia jest zapoznanie się z podstawową wiedzą na temat pomiarów elektrofizjologicznych żywych komórek metodą Patch Clamp. Podczas wykonywania ćwiczenia studenci poznają mechanizmy jonowe zachodzące w komórce oraz zaobserwują niektóre z nich przy pomocy prostych pomiarów techniką Patch Clamp. Podczas przeprowadzania eksperymentu uczestnicy ćwiczenia powinni zidentyfikować występujące w komórce typy kanałów jonowych oraz zaobserwować wpływ specyficznych blokerów na ich aktywność.

Zagadnienia do przestudiowania

1. Budowa komórki roślinnej i zwierzęcej
2. Skład i funkcjonowanie błony komórkowej
3. Funkcje i rodzaje kanałów jonowych
4. Podstawy pomiarów techniką Patch Clamp
5. Istotne parametry przy pomiarach elektrofizjologicznych

Wszystkie zagadnienia będą poruszone podczas krótkich wykładów poprzedzających każdy blok ćwiczeniowy.

Zadania obliczeniowe

1. Grubość dwuwarstwy lipidowej neuronu jest równa 8nm , przenikalność elektryczna płynu wypełniającego wnętrze neuronu wynosi 3,5. Oblicz teoretyczną wartość pojemności wycinka $10\mu\text{m}$ na $10\mu\text{m}$ błony lipidowej w tej komórce
2. Korzystając z danych poprzedniego zadania, oblicz teoretyczną wartość pojemności dla całego neuronu o średnicy $30\mu\text{m}$, zakładając że ma on kształt kulisty.

Aparatura i materiały

Stanowisko pomiarowe jest pokazane na Rys. 1

1. Wzmacniacz przetwornik AC/DC
2. Jednostka główna PORT-A-PATCH
3. Pompka podciśnienia
4. Zestaw do perfuzji
5. Klatka Faradaya
6. Elektroda odniesienia(GND)

Program ćwiczenia

1. Zapoznanie się z wszystkimi elementami zestawu pomiarowego.
2. Uruchomienie oprogramowania na komputerze.
3. Zapoznanie się z funkcjonalnością poszczególnych wskaźników i przycisków dostępnych z poziomu komputera.
4. Przeprowadzenie próbnego pomiaru „na sucho” – opanowanie trybów pracy i dostępnych funkcji pompki podciśnienia.
5. Pomiar z użyciem komórek [rodzaj komórek]
 - wyznaczenie krzywej IV dla badanych komórek pomiary od hiperpolaryzacji do depolaryzacji błony (szeroki zakres pomiarów w trybie Current Clamp)
 - wykorzystanie zestawu do automatycznej perfuzji (aplikacja specyficznego blokera)

Szczegółowy opis poszczególnych etapów pomiarowych, kolejności czynności jest zawarty w materiałach dodatkowych dostarczonych przez prowadzącego.

Opracowanie wyników

Sprawozdanie po wykonaniu ćwiczenia powinno zawierać:

1. Sprawozdanie po wykonaniu ćwiczenia powinno zawierać:
2. Opis aparatury wraz z schematem
3. Informacje na temat metody Patch Clamp takie jak:
 - opis metody
 - schematy pomiarowe
 - możliwe konfiguracje pomiaru
 - informacje na temat kanałów jonowych
 - zebrane krzywe IV wraz z interpretacją



Rysunek 1: Stanowisko pomiarowe

- wyniki ze wszystkich pozostałych etapów pomiarów wraz z komentarzem

Student w sprawozdaniu, na podstawie wskazówek prowadzącego oraz dostarczonych przez niego materiałów oraz polecanej literatury, powinien zidentyfikować typy kanałów jonowych jakie jego zdaniem występują w komórkach.

Swoje wnioski powinien potwierdzić analizując dane z pomiaru przed i po podaniu specyficznego bloкера kanałów.

Literatura

- [1] Bruce Alberts, Dennis Bray, *Podstawy Biologii Komórki*, PWN 2009
- [2] Alan Longstaff, *Krótkie wykłady Neurobiologia*, PWN 2006
- [3] Wykłady i materiały udostępnione przez prowadzącego
- [4] Publikacje dostępne w internecie związane z tematyką:

- kanały jonowe (ion channels*)
- Patch Clamp
- badania elektrofizjologiczne (electrophysiology*)
- biologia komórki (cell biology*)

* w nawiasach podano terminy będące przydatne przy wyszukiwaniu anglojęzycznych publikacji przy pomocy specjalistycznych wyszukiwarek np. pubmed