

Лекція для школи-семінару

«БІОФІЗИЧНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ»

Електрофізіологія: короткий вступ для неофітів



**Інститут фізіології ім.
Богомольця НАН України**
Відділ нервово-м'язової
фізіології

Біжан Шаропов, м.н.с.

Телефон: 0660876787

Кабінет: 1107

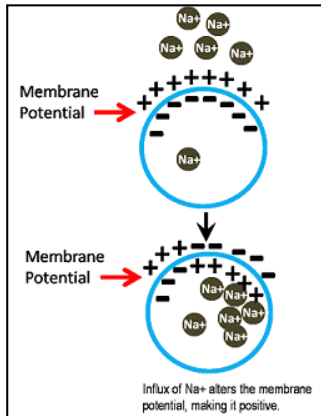


**Національний
університет Києво-
Могилянська Академія**
Факультет Природничих
наук
Кафедра біології

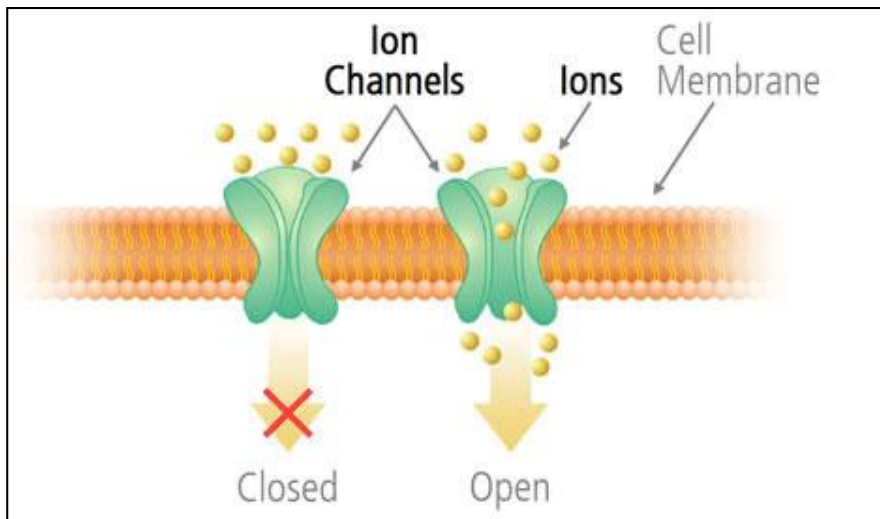
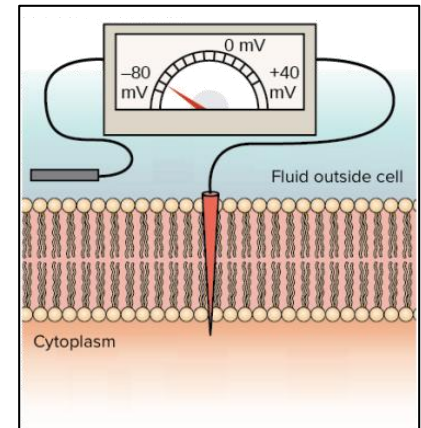
Пошта: sharopov@biph.kiev.ua

Facebook: Кажан Рашидович

Електрофізіологія: чому це важливо



На підтримку **потенціалу спокою**, зокрема на роботу Na^+/K^+ -помпи, клітина витрачає близько $\frac{1}{4}$ **своєї АТФ**

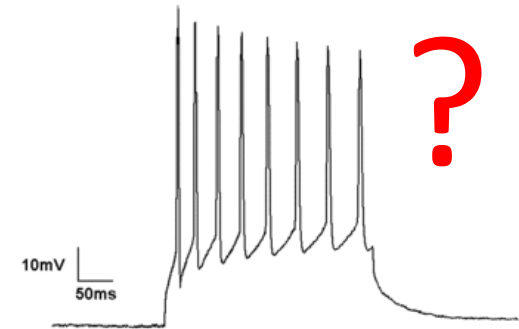
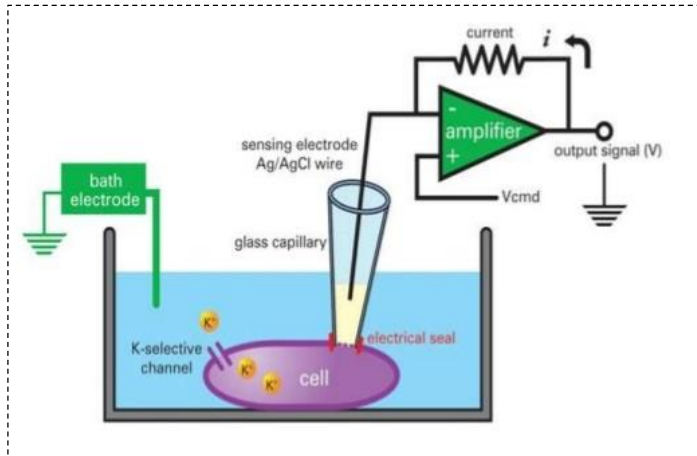


Трансmemбранні білки складають близько **30% всього протеому** еукаріотичної клітини.

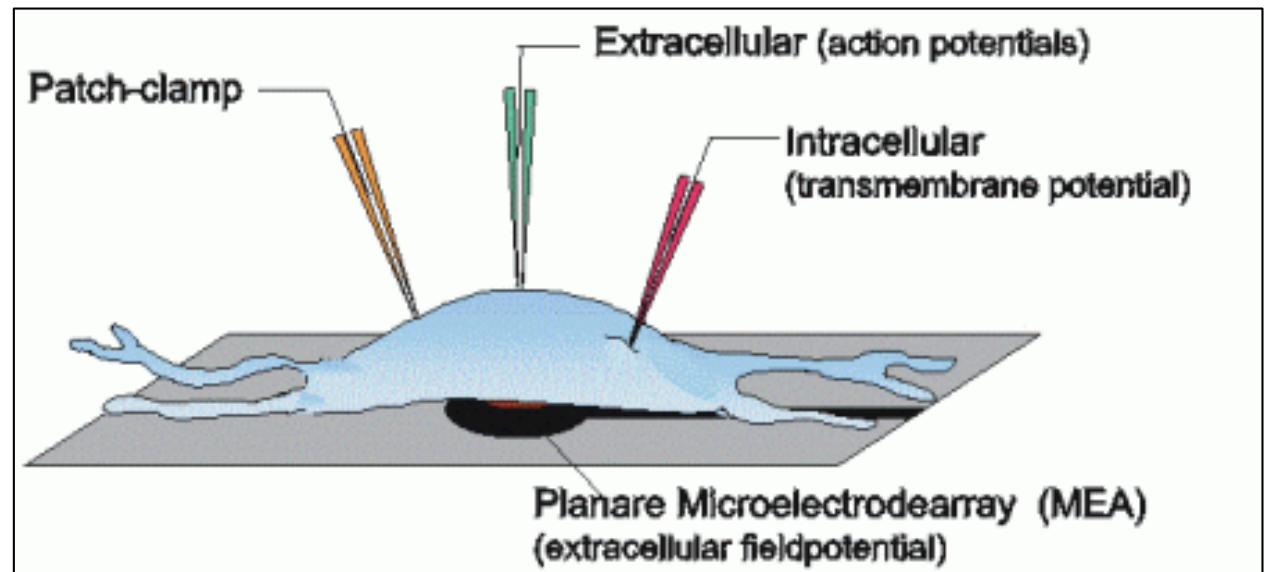
Крім того, вони становлять близько **50% мішеней всіх сучасних ліків**.

(Liszewski, 2015)

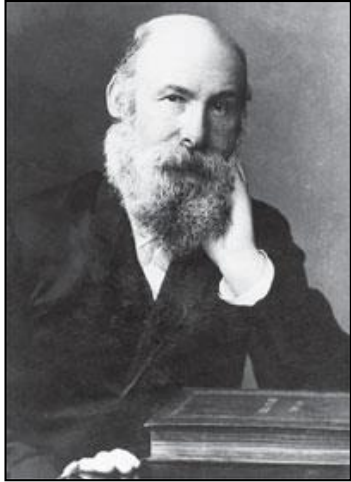
Як підійти до проблеми?



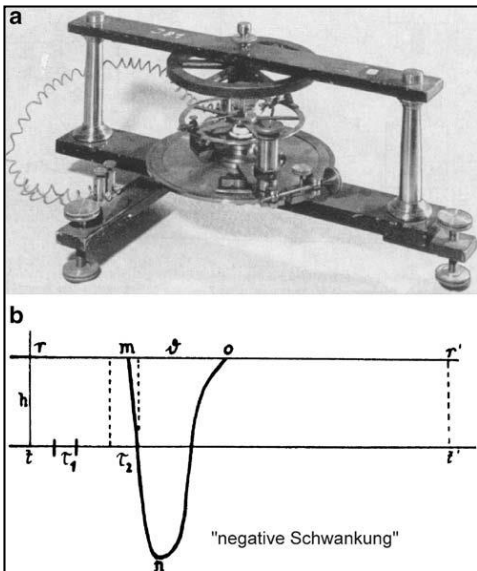
Можливі декілька
способів відведення
сигналу: зовнішнє,
внутрішнє, планарне і
петч-клемп



Позаклітинна реєстрація

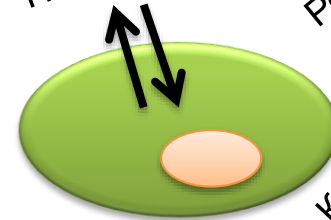


За допомогою цього підходу **Юліус Бернштейн** наприкінці XIX ст. вперше зареєстрував *сумарний потенціал дії в нерві* – за допомогою винайденого ним приладу, *реотома*



Недоліки зовнішнього відведення:

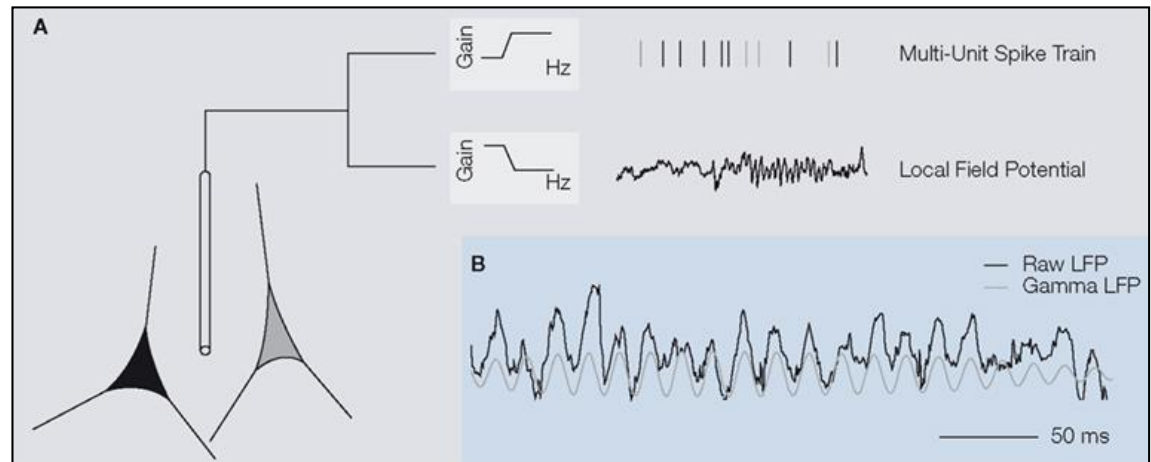
Потік іонів



Реєструвальний електрод

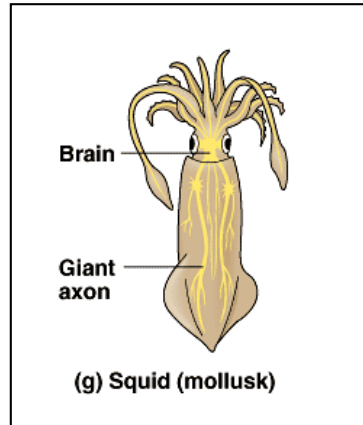
Клітина

- спостерігаємо лише “відгомін” процесу
- великий I_{leak}

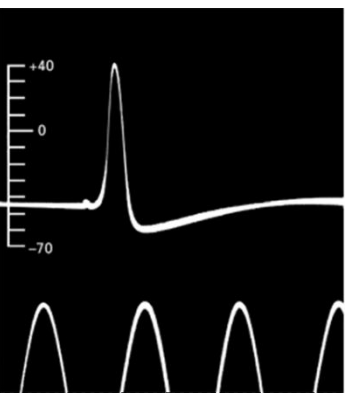
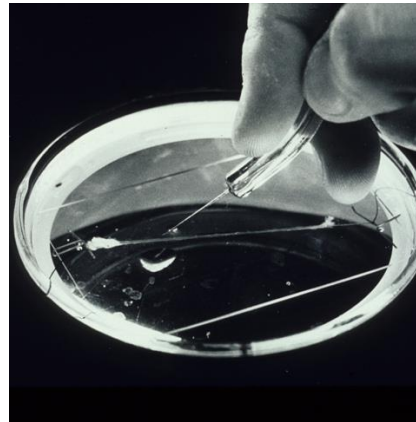


Позаклітинна реєстрація *досі* застосовується для запису **польових потенціалів**, що є свого роду “ЕЕГ на кілька клітин”

Метод фіксації потенціалу



Кальмари родини *Loligo* мають гігантські нейрони з аксонами діаметром **майже 1 мм**, що робить їх зручним об'єктом для електрофізіології.



Перший запис потенціалу дії, виконаний **Коулом** в 50-х

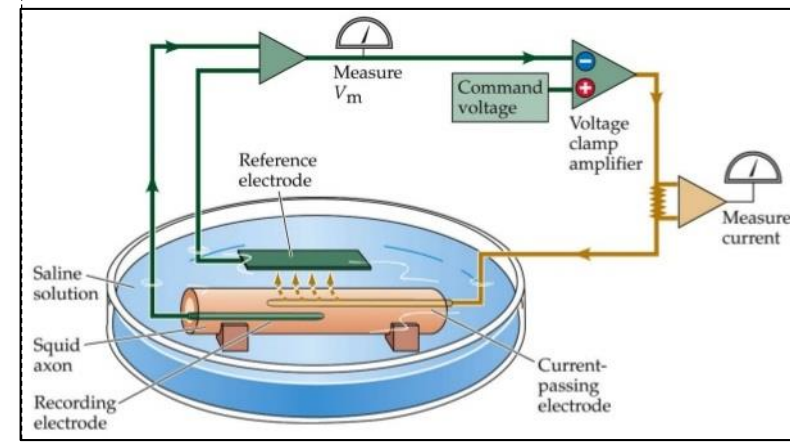
Реєстрацію електричних явищ можна вести, зафіксувавши або **струм**, або **потенціал**

Ohm's Law

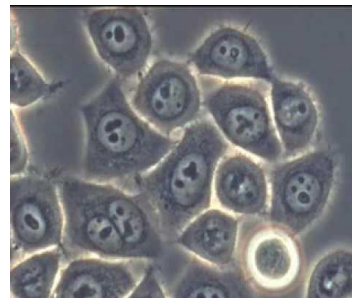
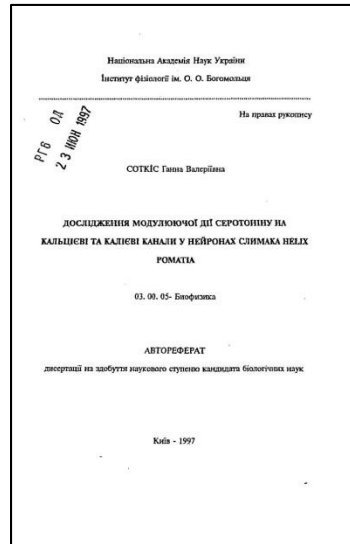
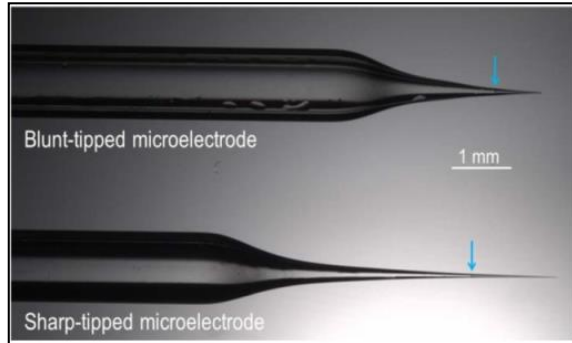
$$I = \frac{V}{R}$$

Electric current = Voltage / Resistance

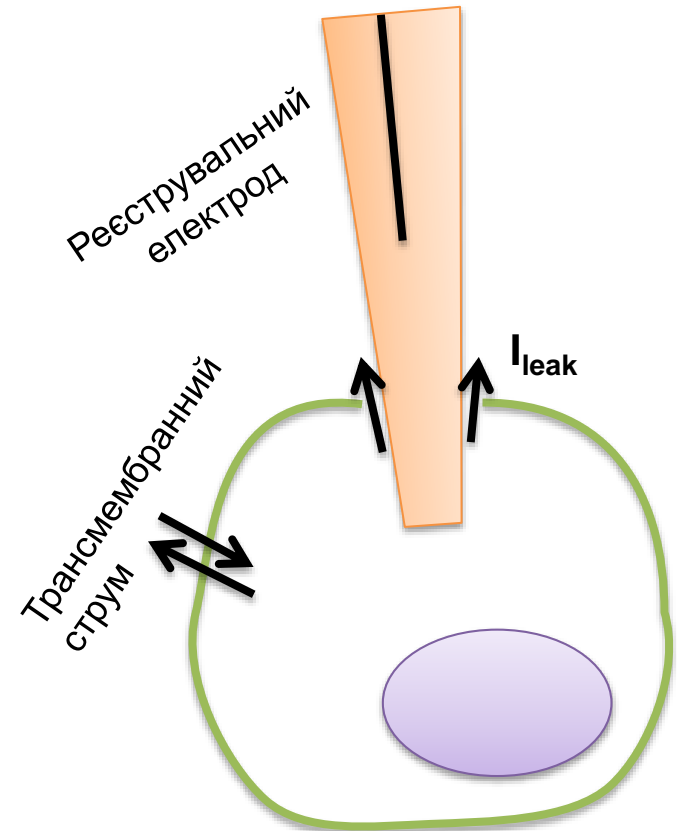
В аксоні кальмара можна було розмішувати електроди **обабіч мембрани**, до того ж **замінюючи** цитозоль штучним розчином



Внутрішньоклітинне відведення: «гострі» електроди

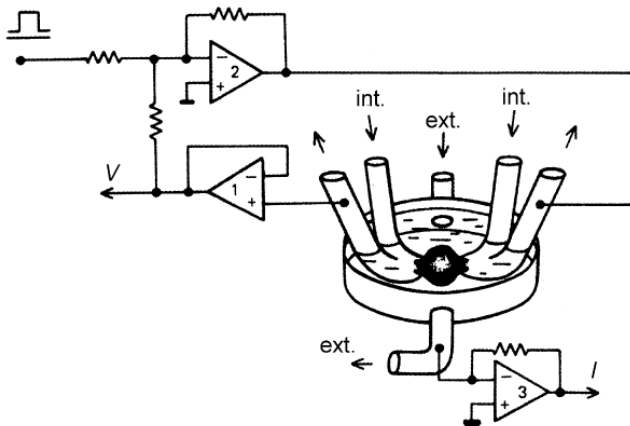
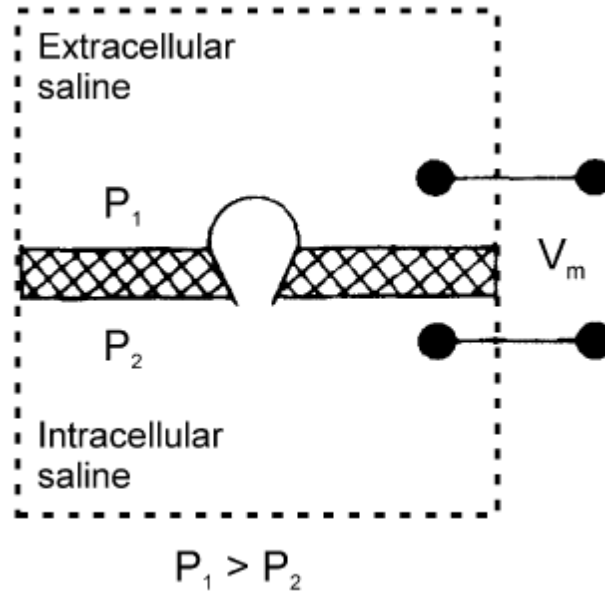
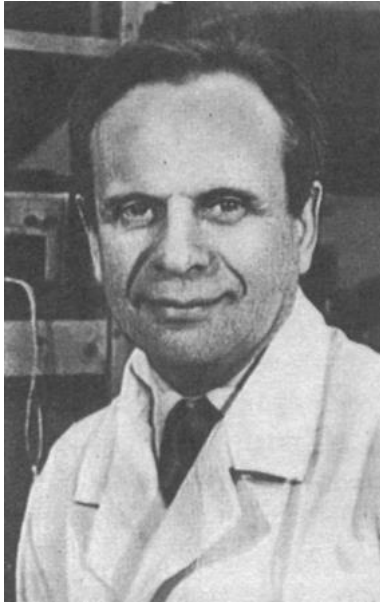


Для протикання мембрани
була розроблена техніка
гострих скляних
мікроелектродів, що
виготовлялись на **мікрокузнях**

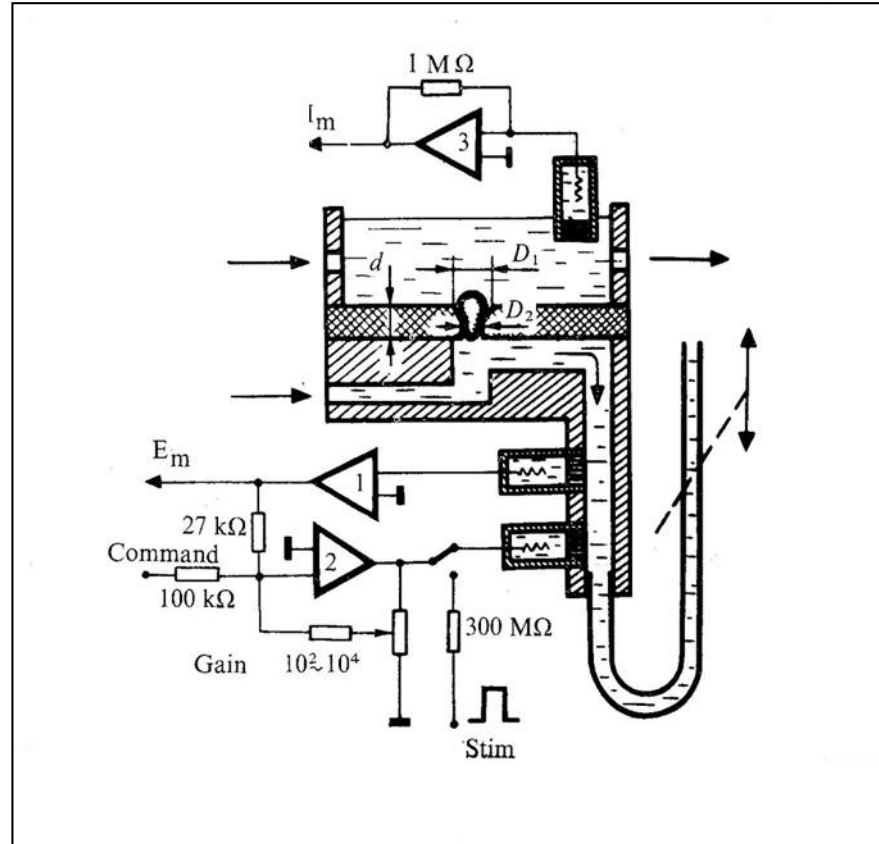
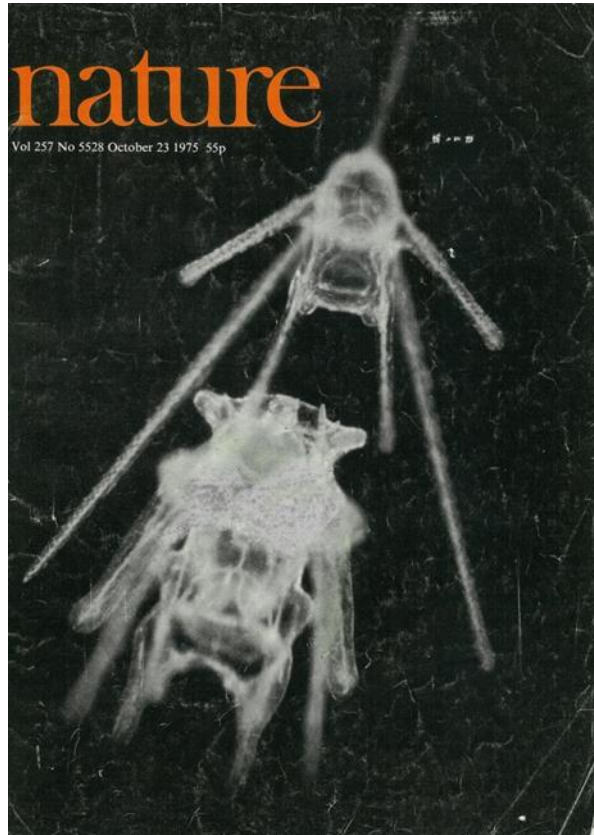


Недоліками цієї техніки все ще лишався
великий струм витічки I_{leak} та
неможливість заміни
внутрішньоклітинного середовища

Внутрішньоклітинна перфузія



Перші успіхи



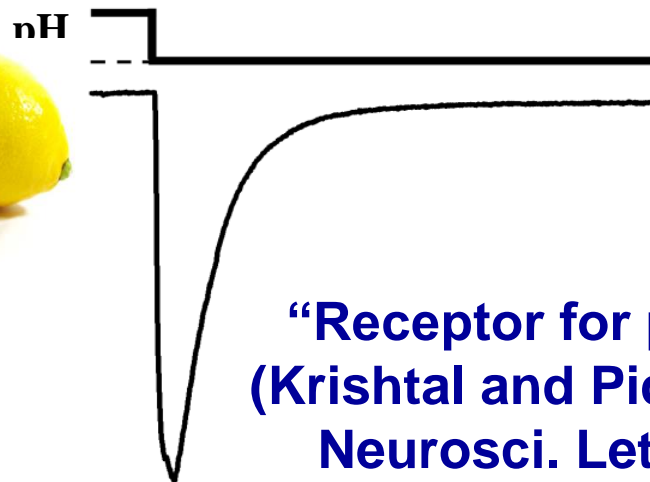
Kostyuk PG, Krishtal OA, Pidoplichko VI. Effect of internal fluoride and phosphate on membrane currents during intracellular dialysis of nerve cells. **Nature. 1975**

Відкриття ІФБ



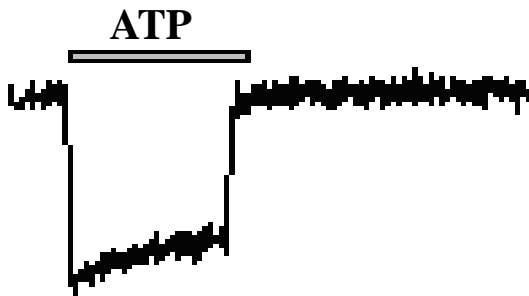
Олег Кришталъ

ASIC канали - 1981



**“Receptor for protons”
(Krishtal and Pidoplichko,
Neurosci. Lett. 1981)**

Рецептори АТФ - 1983

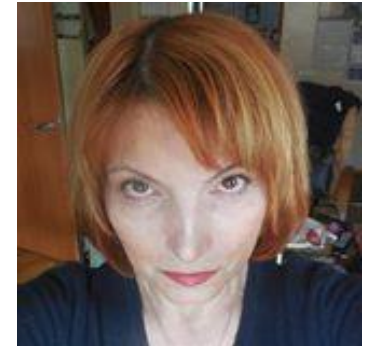


**1983 “Receptor for ATP in the membrane
of mammalian sensory neurones”
(Krishtal OA, Marchenko SM,
Pidoplichko VI, Neurosci. Lett. 1983)**

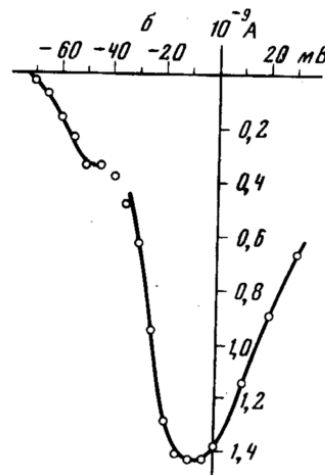
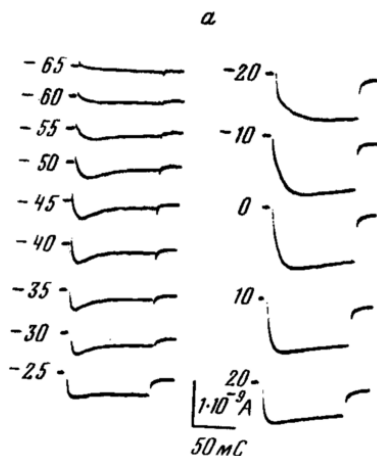


Микола Веселовський

Кальцієві канали Т-типу - 1983

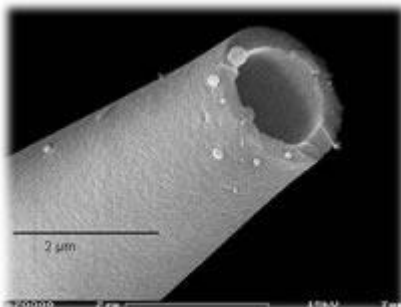


Світлана Федулова

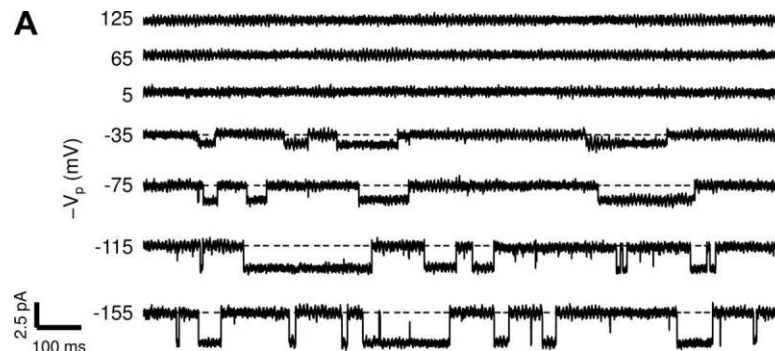
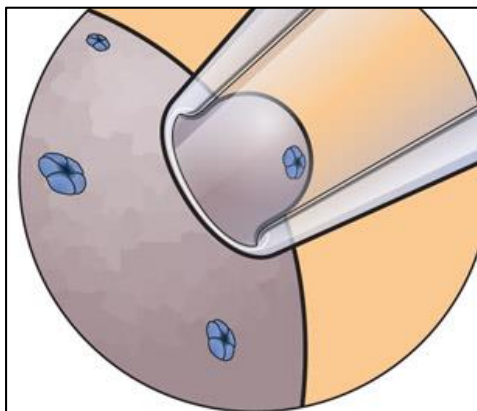


Veselovskii NS, Fedulova SA.
2 types of calcium channels
in the somatic membrane of
spinal ganglion neurons in
the rat. Dokl Akad Nauk SSSR
1983; 268:747-50 (in Russian)

Петч-клемп: реєстрація одиночного каналу

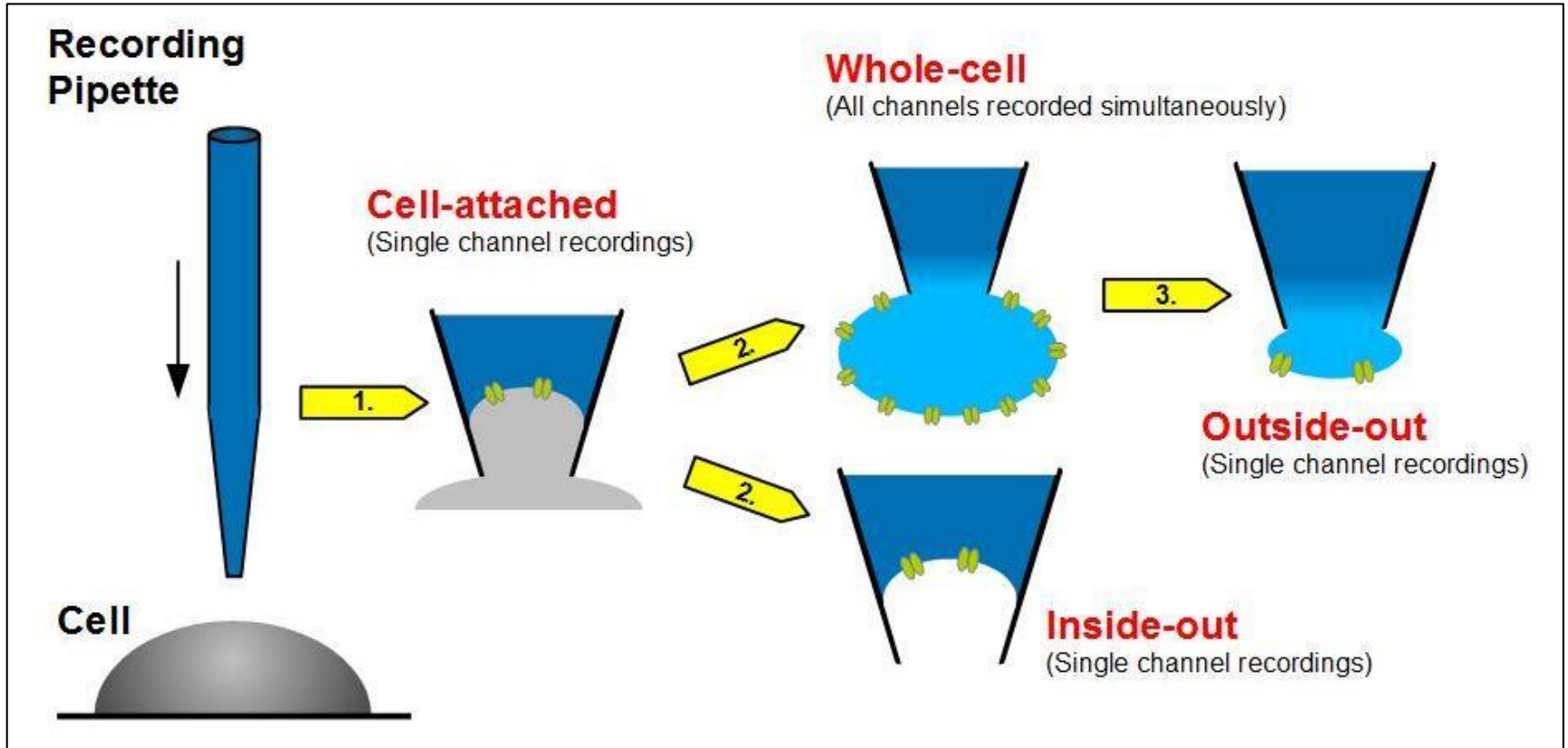


В 1980-х **Неєру і Сакману** спало на думку поєднати техніку *скляних мікроелектродів* та *всмоктування*, що практикувалось в техніці *планарного відведення*



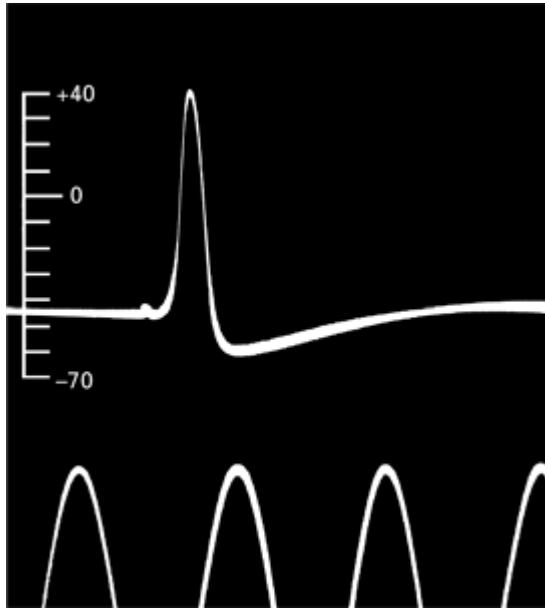
Малий шум
дозволив записати
струми через
поодинокі канали

Петч-клемп: революція

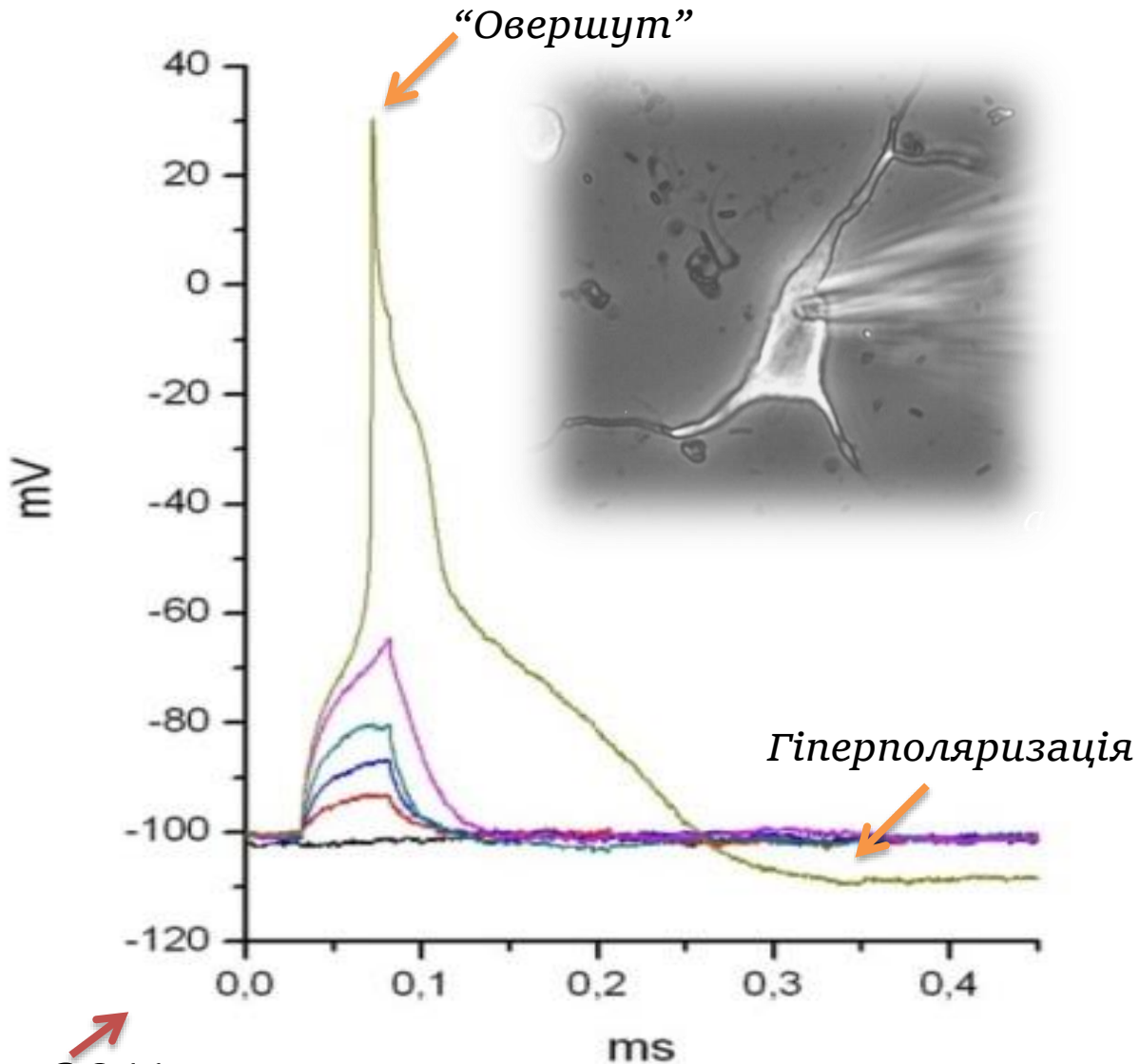


Завдяки **міцності гігаомного контакту** стало можливим пристосувати петч-клемп до *будь-якої* електрофізіологічної задачі й зробити його одним з основних “робочих коників” фізіології

Потенціал дії (ПД), або спайк



Коул, 1953 р.



Ваш покірний слуга, 2011 р.

Петч-клемп установка

