



Universität Hamburg

DER FORSCHUNG | DER LEHRE | DER BILDUNG

Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften

Fachbereich Biologie

Institut für Zoologie

Tierphysiologisches Praktikum

Dozent: Dr. Maximiliane Musterfrau

Wintersemester 2018/19

Protokoll

Das Aktionspotential

(Kommentar: Speichern Sie das Protokoll als Word-Dokument (.doc oder .docx) bzw. als Rich-Text-Format (.rtf) ab; pdf bzw. *open office* wird nicht akzeptiert. Benennen Sie das Dokument mit Ihrem Namen und dem Kursthema, damit die Dozenten das Protokoll zuordnen können. Z.B. "Hans_Wurst_Aktionspotential.doc". Schicken Sie das Protokoll an "tierphysiologie@uni-hamburg.de" und schreiben Sie UNBEDINGT ihren Namen und das Kursthema in die Betreffzeile!)

Eingereicht von:

Hamburg, den 19.03.2019

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	3
2 Material und Methoden	4
3 Ergebnisse	5
3.1 Tag I – Aktionspotentialkinetik: Rolle des Ca^{2+}	5
3.2 Tag II – Kommunikation zwischen Neuronen: Betrachtung der elektrischen Synapse	7
4 Diskussion	10
5 Literatur	11

1. Einleitung (Kommentar: Beschreiben Sie auf ca. 1 Seite, worum es geht und was die Ziele des Kurses sind. Zeitform: Präsens)

Betrachtungsobjekt dieses Praktikums war der medizinische Blutegel *Hirudo medicinalis*. Taxonomisch ordnen sich die Egel *Hirudinea* bei den *Clitellata*, als Untergruppe der *Annelida* ein (Westheide und Rieger 2013). *Hirudinea* besitzen weder Tentakel noch Parapodien. Sie bewegen sich durch die anterior und posterior gelegenen Saugnäpfe fort. Ihr Körper ist nicht in Kompartimente unterteilt (Sadava et al. 2011).

(Kommentar: Für alle Informationen, die über das Allgemeinwissen hinausgehen, MÜSSEN Quellen angegeben werden. Im Text sieht das wie folgt aus: Bei einem oder zwei Autoren in Klammern die Nachnamen und Jahreszahl der Veröffentlichung nennen, bei mehr als zwei nur den ersten und dann "et al." (lat. "und weitere"). Bsp.: "(Schmidt 2009; Müller und Meier 2010; Hartmann et al. 2000)". ALLE Quellen werden am Ende des Protokolls im Literaturverzeichnis aufgelistet.)

Der Fokus in der Elektrophysiologie liegt auf der Untersuchung von Aktionspotentialen in Nervenzellen. Aktionspotentiale, kurz auch *spikes* genannt, treten im Axon auf und sind die Informationseinheiten der Neurone (Moyes und Schulte 2008)

(Kommentar: Fremdworte (lateinisch, englisch, ...) müssen als solche kenntlich gemacht werden, entweder durch kursive Schrift oder durch Anführungszeichen. Vermeiden Sie unbedingt „denglische“ Grammatik wie z.B.“Die Neurone haben schneller gespikt ...“). Während des Ruhemembranpotentials ist intrazellulär die K^+ -Konzentration hoch und die Na^+ -Konzentration niedrig, wohingegen es sich extrazellulär andersherum verhält. Diese Ungleichverteilung der Ionen wird durch die Natrium-Kalium-Pumpe hergestellt, die unter ATP-Verbrauch Na^+ aus und K^+ in die Zelle transportiert (Moyes und Schulte 2008). Durch eine geringe Anzahl stetig geöffneter K^+ -Kanäle diffundieren ständig einige K^+ -Ionen entlang dem Konzentrationsgefälle aus der Zelle heraus, was einen Überschuss von negativer Ladung im Zellinneren bedingt. Die Zelle ist somit mit ca. -60 mV negativ geladen (Sadava et al. 2011, Lohr 2012).

Zur Auslösung eines Aktionspotentials muss zuerst das Schwellenpotential erreicht werden, welches geringfügig positiver als das Ruhemembranpotential ist (Abb. 1). (Kommentar: Jede Abbildung MUSS mindestens einmal im Text mit Querverweis erwähnt werden, wobei der erste Querverweis VOR der Abbildung stehen muss.) Sobald dieses erreicht ist, öffnen sich zeitgleich eine Vielzahl von Na^+ -Kanälen, was einen Na^+ -Einstrom bewirkt und die Zelle somit auf bis zu 30 mV depolarisiert (Bear et al. 2009). Bei Erreichen dieses Wertes werden die Na^+ -Kanäle inaktiviert und spannungsgesteuerte K^+ -Kanäle geöffnet. Durch den daraus

resultierenden K^+ -Ausstrom repolarisiert die Zelle wieder, was meist mit einem Unterschreiten des Ruhemembranpotentials einhergeht, der sogenannten Hyperpolarisation (Bear et al. 2009).

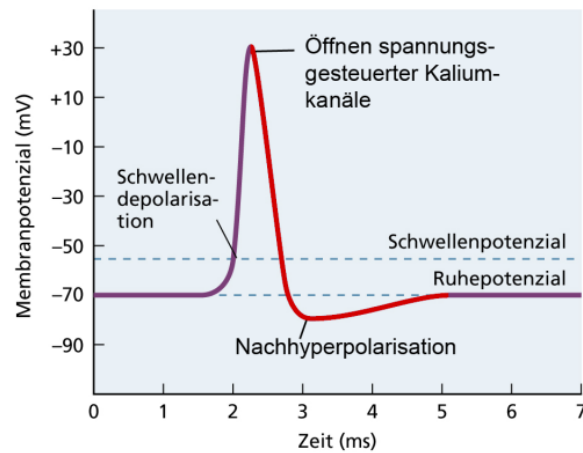


Abb. 1. Zeitlicher Verlauf eines Aktionspotentials. Bei Überschreiten des Schwel­lenpotentials öffnen alle spannungsgesteuerten Natriumkanäle, was zu einer raschen Depolarisation führt. Bei Erreichen der Spitze des Aktionspotentials inaktivieren Natriumkanäle, wohingegen spannungsgesteuerte Kaliumkanäle aktivieren, die die Repolarisation und Nachhyperpolarisation bewirken. Aus Bear et al. (2009).

(Kommentar: Abbildungen werden mit einer Legende versehen, die grundsätzlich unter der Abbildung steht und diese kurz erklärt. Nur das Wort „Aktionspotential“ oder Ähnliches reicht als Legende nicht. Die Abbildungen werden fortlaufend nummeriert.)

Ziel des Kurses ist es, Aktionspotentiale in Neuronen des Blutegels mit Hilfe von Mikroelektroden zu messen und den Einfluss von Ca^{2+} auf die Kinetik der Aktionspotentiale zu untersuchen. Im zweiten Teil des Kurses wurde die elektrische Synapse (*Gap junctions*) zwischen zwei Neuronen untersucht. (Kommentar: Die Einleitung endet mit der Formulierung der Zielsetzung bzw. der Fragestellung.)

2. Material und Methoden

Während des Praktikums wurde sich in den Abläufen am Praktikumsskript orientiert (Lohr 2012). Lediglich die Konzentration von EGTA in der Ca^{2+} -freien Versuchslösung wurde in Versuch 3.1 von 0,5 auf 1 mM erhöht.

(Kommentar: Es kann auf das Skript verwiesen werden. Änderungen gegenüber dem Skript müssen kenntlich gemacht werden. Zeitform: Vergangenheit)

3. Ergebnisse (Kommentar: Beschreiben Sie kurz die ermittelten Ergebnisse. Beginnen Sie mit 1-2 Sätzen, die das Ziel des Versuchs beschreiben. Geben Sie dann ebenfalls kurz die wichtigsten methodischen Aspekte wieder, damit klar wird, wie der Versuch durchgeführt wurde, ohne ins Skript schauen zu müssen. Aber beschränken Sie sich auf die allerwichtigsten Informationen. Besteht ein Versuch aus mehreren Teilversuchen, die sich voneinander ableiten, kann eine direkte Schlußfolgerung aus einem Teilergebnis gezogen werden, um zum nächsten Teilversuch überzuleiten. Alle darüber hinausgehenden Schlussfolgerungen gehören jedoch in die Diskussion. Zeitform: Vergangenheit. Für das gesamte Protokoll gilt: direkte Rede (ich, wir, uns) vermeiden. Stattdessen indirekte Rede ("es wurde") verwenden.

3.1 Tag I – Aktionspotentialkinetik: Rolle des Ca^{2+}

Bei der Signalübertragung spielt Ca^{2+} eine entscheidende Rolle. Sie beeinflussen die Form und die Dauer eines Aktionspotentials. Besonderen Einfluss haben sie auf die Nachhyperpolarisation durch die Beeinflussung der Ca^{2+} -abhängigen K^+ -Kanäle (Beck et al. 2001). An diesem Versuchstag sollten die Grundbegriffe der Aktionspotentialkinetik sowie die Beeinflussung dieser Parameter durch die Ca^{2+} -Konzentration betrachtet werden. Um die Auswirkungen des Ca^{2+} -Gehaltes in der Lösung bzw. in dem Präparat zu untersuchen, wurden die Parameter Ruhemembranpotential, Schwellenpotential, Amplitude, Dauer des Aktionspotentials, Negativität der Nachhyperpolarisation und Frequenz der Spontanaktionspotentiale bestimmt (Abb. 2). Für ein besseres Verständnis und für eine erleichterte Vergleichbarkeit der Ergebnisse sind in Abb. 2 die Messspuren zweier spontaner Aktionspotentiale desselben Neurons mit den unterschiedlichen Lösungen übereinander gelagert.

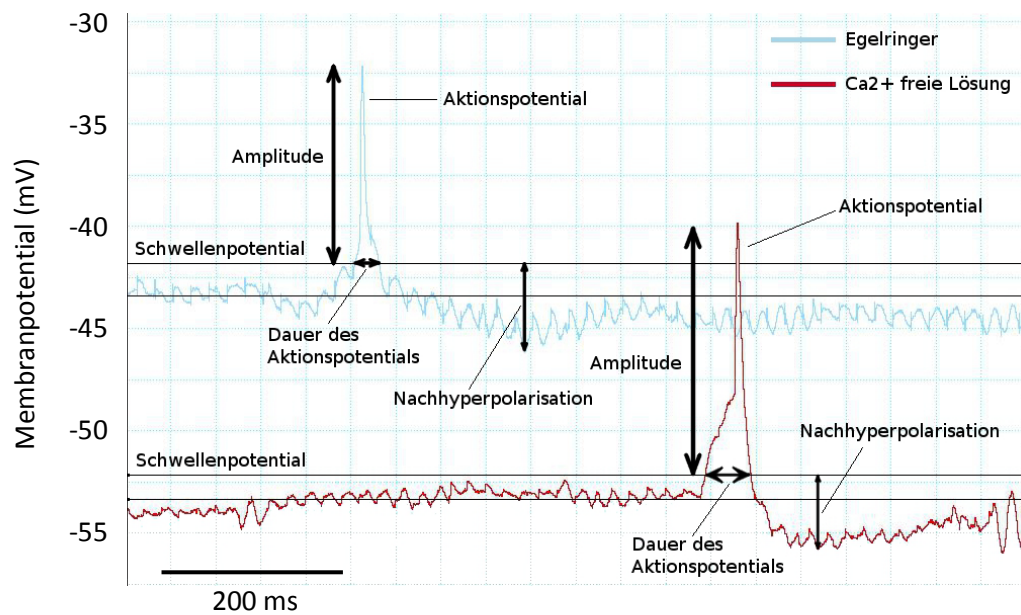


Abb. 2: Vergleich Aktionspotential in Ca²⁺-haltiger Lösung (Egelringer, blaue Kurve) mit einem Aktionspotential in Ca²⁺-freier Lösung (rote Kurve). In der Grafik ist gezeigt, wie die Parameter der Kinetik ausgewertet wurden.

(Kommentar: Wichtig ist bei allen Abbildungen, dass der Leser die Messung interpretieren kann! Voraussetzungen dafür sind lesbare Achsenbeschriftungen (ausreichende Größe) und Angabe der Einheiten! Sollte dies bei einem Screenshot nicht der Fall sein, muss die Abbildung nachträglich bearbeitet werden, z.B. Achsen oder Maßstabsbalken hinzugefügt werden.)

Die aus drei Messungen gemittelten Werte, sowohl in Ca²⁺-haltiger Lösung ("Egelringer") und in Ca²⁺-freier Lösung sind in Tab. 1 aufgeführt. Das Ruhemembranpotential änderte sich von -45 +/- 3 mV in Egelringer auf -53 +/- 6 mV (n=6) in Ca²⁺-freier Lösung. Die Schwelle zum Auslösen eines Aktionspotentials erhöhte sich von -42,5 +/- 0,7 mV auf -49,8 +/- 1,3 (n=6). Die Amplitude der Aktionspotentiale war in Egelringer mit 9,7 +/- 1,9 mV deutlich geringer als in Ca²⁺-freier Lösung mit 18,2 +/- 2,4 mV (n=6). Gleichzeitig erhöhte sich die Dauer der Aktionspotentiale von 28,2 +/- 3,9 ms auf 31,1 +/- 3,7 ms (n=6). Die Nachhyperpolarisation erhöhte sich von 3,7 +/- 0,5 mV auf -5,8 +/- 0,4 mV (n=6). Die Feuerfrequenz der Zellen verringerte sich hingegen von 0,8 +/- 0,1 Hz auf 0,3 +/- 0,1 Hz (n=6).

(Kommentar: Alle errechneten Mittelwerte müssen in Textform genannt werden, eine reine Angabe in Tabellenform oder als Graphik ist nicht zulässig. Bei der Angabe von gemittelten Werten ist die zugehörige Standardabweichung anzugeben, die Anzahl der Stichproben (Einzelmessungen) wird als n= in Klammern hintenangestellt.)

Tab. 1: Mittelwerte und Standardabweichung der Aktionspotentialkinetik von spontanen Aktionspotentialen in Lösungen mit unterschiedlicher Ca²⁺-Konzentration

Lösung	Ruhemembran-potential in [mV]	Schwellen-potential in [mV]	Amplitude in [Δ mV]	Dauer in [ms]	Nachhyper-polarisation in [Δ mV]	Frequenz in [s^{-1}]
Egelringer	-45 +/- 3	-42,5 +/- 0,7	9,7 +/- 1,9	28,2 +/- 3,9	-3,7 +/- 0,5	0,8 +/- 0,1
Ca ²⁺ -frei	-53 +/- 6	-49,8 +/- 1,3	18,2 +/- 2,4	31,1 +/- 3,7	-5,8 +/- 0,4	0,3 +/- 0,1

(Kommentar: Tabellen erhalten eine Überschrift. Abkürzungen etc. können bei Bedarf unter der Tabelle beschrieben werden. Tabellen werden ebenfalls fortlaufend und von der Abbildungsnummerierung getrennt nummeriert. Bei der Angabe von Werten überlegen, wie genau die Messmethode eigentlich ist und dementsprechend die Anzahl der Nachkommastellen angeben, also bitte kein „mittleres Ruhepotential von -45,45637 mV“.)

3.2 Tag II – Kommunikation zwischen Neuronen: Betrachtung der elektrischen Synapse

Die Kommunikation, sprich die Informationsübertragung zwischen Neuronen findet an Synapsen statt. Dabei unterscheidet man zwei Grundtypen von Synapsen. Zum einen die elektrischen Synapsen (*Gap junctions*), und zum anderen die chemischen Synapsen (Bear et al. 2009). *Gap junctions* bestehen aus direkten Zell-Zell-Verbindungen und ermöglichen einen Ionenfluss von Zelle zu Zelle, somit können Ströme direkt weitergeleitet werden (Bear et al. 2009). Zur Untersuchung der synaptischen Kommunikation wurden zwei miteinander in Verbindung stehende Neurone des Segmentganglions parallel mit zwei Messelektroden abgeleitet und deren Membranpotentiale aufgezeichnet.

Eine Stimulation der einen Zelle ruft eine verzögerte De-/Hyperpolarisation in der anderen Zelle hervor. Als Maß für die Effektivität dieser Reizweiterleitung dient der Transmissionskoeffizient (Praktikumsskript, 2012):

$$\tau = \frac{\text{Amplitude der 2. (nicht direkt hyperpolarisierten) Zelle}}{\text{Amplitude der 1. (direkt hyperpolarisierten) Zelle}}$$

Die Berechnung der Transmissionskoeffizienten für beide Stimulationsrichtungen erfolgte jeweils anhand von 16 Amplitudenwerten und der anschließenden Mittelwertbildung. Aus diesen Mittelwerten wurde τ berechnet.

Durch abwechselndes Stimulieren der beiden Neurone (erst Neuron 1 stimuliert, dann Neuron 2) wurde die Verbindung der beiden Neurone sichtbar (Abb. 3). Aus den Messspuren ist ersichtlich, dass die Stimulation in beide Richtungen weitergeleitet wird. Ebenfalls erkennbar ist, dass die Reizweiterleitung von Zelle eins nach zwei besser funktioniert, als von zwei nach eins. Die Bezeichnungen „Neuron 1“ und „Neuron 2“ wurden willkürlich gewählt. (Kommentar: Werden sowohl "Rohdaten" (z.B. Messkurven) als auch statistische Auswertungen dieser Messungen (z.B. Balkendiagramme) in Abbildungen gezeigt, werden immer ZUERST die Rohdaten und DANN die Analysen dazu abgebildet. Siehe Beispiel unten.)

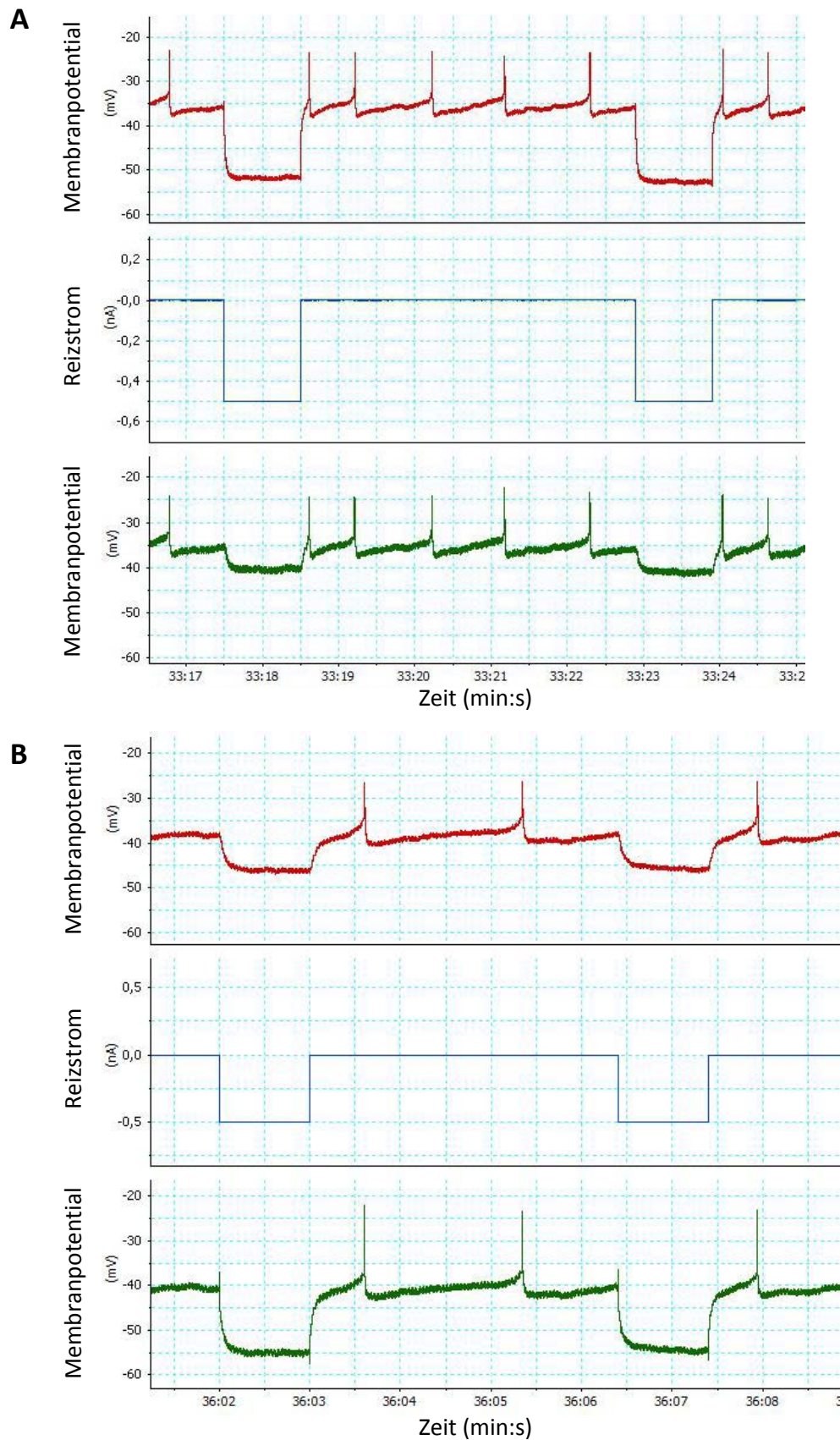


Abb. 3: Stimulationsreihen mit -0,5 nA. **A:** Direkt stimuliert wurde hier Zelle 1 (rot, oben). Indirekt hyperpolarisiert wurde Zelle 2 (grün, unten). Der Stromstärkenverlauf des Reizstromes ist blau abgebildet (Mitte). **B:** Direkt stimuliert wurde hier Zelle 2 (grün, unten).

Bei der Stimulation der ersten Zelle ergab sich ein Transmissionskoeffizient τ (Zelle 1 zu 2) von $0,85 \pm 0,33$ ($n=16$) und für die Stimulation der zweiten Zelle (Zelle 2 zu 1) von $0,75 \pm 0,54$ ($n=16$) (Abb. 4).

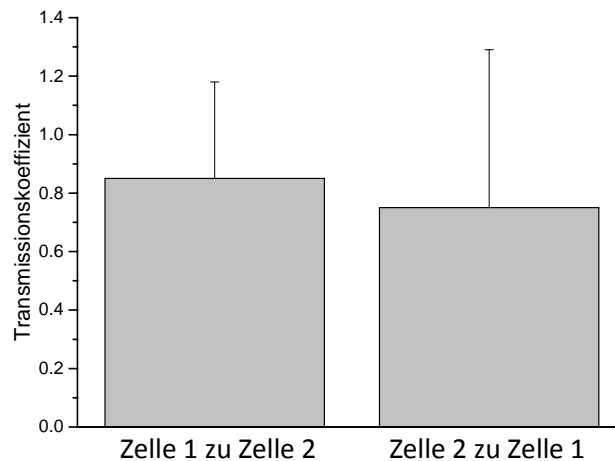


Abbildung 4: Der Transmissionskoeffizienten bei wechselnder Stimulationsrichtung. (Kommentar: Graphen sind auch Abbildungen und werden als solche bezeichnet und nummeriert, nicht etwa als "Graph1" oder "Diagramm 2" etc.)

4 Diskussion (Kommentar: Das wichtigste Ergebnis wird zu Beginn eines jeden Abschnitts der Diskussion qualitativ (d.h. ohne Wiederholung der Messwerte oder ähnlicher Details) genannt. Dann wird mit Hilfe von Literaturangaben (Zitate einfügen!) das Ergebnis interpretiert und es werden Schlussfolgerungen gezogen. Eine ausführliche Fehlerdiskussion wird nur bei methodischen Arbeiten durchgeführt, z.B. wenn eine neue Methode entwickelt wird. Zeitform: Die eigenen aktuellen Daten in **Vergangenheitsform**, Bekanntes dagegen im **Präsens**.)

Die Ergebnisse in Kapitel 3.1 zeigen, dass die Kinetik der Aktionspotentiale in Ca^{2+} -freier Lösung deutlich verändert gegenüber der von Aktionspotentialen in Egelringer ist. Nervenzellen besitzen Ca^{2+} -abhängigen K^+ -Kanäle, die maßgeblich zum Aktionspotential beitragen (Beck et al. 2001). In Ca^{2+} -freier Lösung wird der Ca^{2+} -Einstrom, der als Konsequenz der Depolarisation durch spannungsgesteuerte Ca^{2+} -Kanäle in die Zelle fließt, verhindert und die Aktivierung der Ca^{2+} -abhängigen K^+ -Kanäle bleibt aus. Dadurch wird der Kaliumstrom bei der Repolarisation gehemmt, die Dauer des Aktionspotentials sollte sich

also verlängern und die Amplitude sollte höher ausfallen. Hier entsprechen die gemessenen Ergebnisse den bereits publizierten (Beck et al. 2001). Entgegen den zu erwartenden Ergebnissen (Beck et al. 2001) fiel jedoch bei unseren Messungen die Nachhyperpolarisation in der Ca^{2+} -freien Lösung negativer aus, wofür es keinen ersichtlichen Grund gibt.

Wie bereits aus der Beschreibung der *Gap junction* hervorgeht (Bear et al. 2009) zeigen auch unsere Messwerte, dass die Reizweiterleitung an der elektrischen Synapse in beide Richtungen funktioniert. Dies steht im Unterschied zu chemischen Synapsen, die ausschließlich Signale von prä- zu postsynaptischer Membran übertragen können (Bear et al. 2009). Die unterschiedlich hohen Transmissionskoeffizienten lassen sich allein aufgrund der vorliegenden Messungen nicht endgültig auf eine spezielle Ursache zurückführen. Möglich wäre eine Rektifizierung, bei der Strom in eine Richtung besser durch die *Gap junction* geleitet wird als in umgekehrte Richtung, oder ein Messartefakt, falls der Abgleich des Elektrodenwiderstandes bei einer Messelektrode nicht vollständig erfolgte bzw. sich der Widerstand einer Elektrode während der Messung geändert hat.

5 Literatur (Kommentar: ALLE Zitate im Text MÜSSEN im Literaturverzeichnis mit vollständiger Quellenangabe erscheinen. ALLE Quellen im Literaturverzeichnis MÜSSEN an passender Stelle im Text zitiert werden. Die Quellen werden alphabetisch nach dem Nachnamen des Erstautors sortiert und zunächst die Autoren aufgelistet. Die anschließenden Informationen der Quelle (Jahreszahl der Veröffentlichung, Titel, Buch- oder Zeitschrifttitel, Auflage, Band bzw. Kapitel und Seitenzahlen) können in mehr oder weniger beliebiger Reihenfolge erscheinen, wichtig ist jedoch, dass die Reihenfolge für alle Quellenangaben einheitlich ist.)

Beck A, Lohr C, Deitmer JW (2001) Calcium transients in subcompartments of the leech Retzius neuron as induced by single action potentials. *Journal of Neurobiology* 48:1-18.

Bear MF, Connors BW, Paradiso MA (2009) *Neurowissenschaften*. 3. Auflage. Spektrum Akademischer Verlag: Heidelberg.

Lohr C (2012) *Praktikumsskript Zelluläre Neurobiologie*. Universität Hamburg. (Kommentar: Das Skript kann für Methoden zitiert werden, alle anderen Angaben müssen aus Lehrbüchern oder wissenschaftlichen Artikeln zitiert werden.)

Moyes CD, Schulte PM (2008) *Tierphysiologie*. Pearson Studium: München.

Sadava D, Hillis DM, Heller HC, Berenbaum MR (2011) Purves Biologie. 9. Auflage. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.

Westheide W, Rieger G (2013) Spezielle Zoologie. Teil 1: Einzeller und Wirbellose Tiere. 3. Auflage. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.

(Kommentar: Auf Internetquellen möglichst verzichten! Erstens können Internetquellen schnell verschwinden, so dass die Quelle nach einer gewissen Zeit nicht mehr zur Verfügung steht. Zweitens gibt es im Internet keine oder nur wenig zuverlässige Qualitätskontrollen, im Gegensatz zu wissenschaftlichen Zeitschriften und Lehrbüchern, die einem standardisierten Begutachtungsverfahren unterliegen.)

Anhang

(Kommentar: Falls große Wertemengen, Tabellen etc. anfallen, können diese als Anhang hinzugefügt werden.)

Erklärung

Hiermit bestätige ich, dass das vorliegende Protokoll von mir selbstständig verfasst wurde und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel – insbesondere keine im Quellenverzeichnis nicht benannten Internet-Quellen – benutzt habe.

Unterschrift

(Kommentar: Plagiate sind kein Kavaliersdelikt! Wenn Sie fremdes Gedankengut verwenden, müssen Sie dies kenntlich machen. Plagiate werden dem Prüfungsausschuss gemeldet, das Protokoll wird als nicht bestanden gewertet)