

Elektrophysiologie

Jürgen Rettinger
Silvia Schwarz
Wolfgang Schwarz

Elektrophysiologie

Grundlagen – Methoden – Anwendungen

Jürgen Rettinger

Multi Channel Systems MCS GmbH
Reutlingen, Deutschland

Silvia Schwarz

Shanghai Key Laboratory for Acupuncture
Mechanism and Acupoint Function
Fudan University
Shanghai, China
Shanghai Research Center for Acupuncture
and Meridians
Shanghai University of Traditional Chinese
Medicine
Shanghai, China

Wolfgang Schwarz

Institut für Biophysik
Goethe-Universität Frankfurt
Frankfurt am Main, Deutschland
Shanghai Key Laboratory for Acupuncture
Mechanism and Acupoint Function
Fudan University
Shanghai, China
Shanghai Research Center for Acupuncture
and Meridians
Shanghai University of Traditional Chinese
Medicine
Shanghai, China

ISBN 978-3-662-56661-9

<https://doi.org/10.1007/978-3-662-56662-6>

ISBN 978-3-662-56662-6 (eBook)

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Springer Spektrum

Übersetzung der englischen Ausgabe: *Electrophysiology, Basics, Modern Approaches and Applications* von Rettinger et al., erschienen bei Springer International Publishing Switzerland 2016, © Springer International Publishing Switzerland. Alle Rechte vorbehalten.

© Springer-Verlag GmbH Deutschland, ein Teil von Springer Nature 2018

Das Werk einschließlich aller seiner Teile ist urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung, die nicht ausdrücklich vom Urheberrechtsgesetz zugelassen ist, bedarf der vorherigen Zustimmung des Verlags. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Bearbeitungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung und Verarbeitung in elektronischen Systemen.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Der Verlag, die Autoren und die Herausgeber gehen davon aus, dass die Angaben und Informationen in diesem Werk zum Zeitpunkt der Veröffentlichung vollständig und korrekt sind. Weder der Verlag noch die Autoren oder die Herausgeber übernehmen, ausdrücklich oder implizit, Gewähr für den Inhalt des Werkes, etwaige Fehler oder Äußerungen. Der Verlag bleibt im Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutionsadressen neutral.

Verantwortlich im Verlag: Stephanie Preuß

Gedruckt auf säurefreiem und chlorfrei gebleichtem Papier

Springer Spektrum ist ein Imprint der eingetragenen Gesellschaft Springer-Verlag GmbH, DE und ist ein Teil von Springer Nature.

Die Anschrift der Gesellschaft ist: Heidelberger Platz 3, 14197 Berlin, Germany

Vorwort

Dieses Buch basiert auf einer früheren englischen Version von Jürgen Rettinger, Silvia Schwarz und Wolfgang Schwarz mit dem Titel *Electrophysiology: Basics, Modern Approaches and Applications*. Die gegenwärtige Fassung richtet sich wie bisher an Studenten der Biologie, Chemie und Physik mit speziellem Interesse an biophysikalischen Fragestellungen. Aufgrund der Heterogenität der angesprochenen Leser versuchen wir einige grundlegende Informationen sowohl physikalischer als auch biologischer Natur kurz anzureißen.

Jürgen Rettinger

Silvia Schwarz

Wolfgang Schwarz

Frankfurt am Main und Schanghai

Februar 2018

Über das Buch

Nach einer kurzen Einführung und einer historischen Rückblende zum Thema Elektrophysiologie (s. ► Kap. 1) sollen elektrochemische Prinzipien und Grundlagen zusammengestellt werden, die für das Verständnis dieses Themas wichtig sind (s. ► Kap. 2). Im anschließenden ► Kap. 3 werden elektrophysiologische Methoden sowie Möglichkeiten der Datenanalyse dargestellt. Dabei werden Messverfahren angesprochen, die sich von solchen am ganzen Tier, über solche an einzelnen Zellen mit Mikroelektroden bis hin zur Patch-Clamp-Technik erstrecken. In diesem Kapitel wird auch kurz auf die ionenselektiven Mikroelektroden, die Karbonfaser-Technik und die Schnüffel(*Sniffer*)-Patch-Methode eingegangen. Eine moderne Vorgehensweise in der Elektrophysiologie wird in ► Kap. 4 angesprochen. In ► Kap. 5 werden die wichtigsten elektrischen Leitfähigkeiten einer Zellmembran bezüglich ihrer charakteristischen Eigenschaften beschrieben. Die Grundlagen der Erregbarkeit, die auf der Hodgkin-Huxley-Beschreibung eines Aktionspotenzials und der synaptischen Übertragung beruhen, werden in ► Kap. 6 beschrieben. ► Kap. 7 illustriert anhand von drei Beispielen charakteristische Eigenschaften von Carriern im Vergleich zu Kanälen und zeigt auf, wie elektrophysiologische Methoden zur funktionellen Charakterisierung genutzt werden können. Abschließend wird in ► Kap. 8 exemplarisch erläutert, wie die Kombination von Elektrophysiologie, Molekularbiologie und Pharmakologie genutzt werden kann, um wichtige Erkenntnisse über Struktur, Funktion und Regulation der Membranpermeabilitäten zu gewinnen, die die Grundlage für viele zelluläre Funktionen bilden. Neben der Na^+ , K^+ -Pumpe und dem GABA-Transporter, als Beispiele für aktive Transporter, werden der purinerge Rezeptor P2X und virale Ionenkanäle als Beispiele für Ionenkanäle eingeführt.

Das Buch enthält außerdem einen Anhang (► Kap. 9); hier werden die Graphentheorie, ein nützliches Handwerkszeug zur theoretischen und quantitativen Behandlung von Reaktionsmechanismen und der Einfluss elektrischer und magnetischer Felder auf physiologische Funktionen angesprochen. Außerdem enthält der Anhang eine Anleitung für einen Laborkurs in Elektrophysiologie.

Wichtige physikalische Einheiten

Im Folgenden sind elektrische Einheiten und ihre Definitionen aufgelistet, die in der Elektrophysiologie eine wichtige Rolle spielen.

<i>Spannung U [Volt, V]:</i>	1 Volt ist definiert als die elektrische Potenzialdifferenz zwischen zwei Punkten eines Leiters, durch den der Strom von 1 Ampere fließt, wenn dabei gleichzeitig 1 Joule/Sekunde (= 1 Ws/s) verbraucht wird
<i>Widerstand R [Ohm, Ω]:</i>	Der Widerstand eines Leiters beträgt 1 Ω , wenn ein durch ihn fließender Strom vom Betrag 1 Ampere eine Spannung von 1 Volt zwischen seinen Enden erzeugt
<i>Leitfähigkeit g [Siemens, S]:</i>	Kehrwert des Widerstands R
<i>Strom I [Ampere, A]:</i>	Man betrachte zwei parallele, unendlich lange und unendlich dünne Kabel, die im Vakuum in einem Abstand von einem Meter zueinander fixiert sind. Die Stromstärke 1 Ampere ist dann als der Strom definiert, der zu einer Kraft von $2 \cdot 10^{-7}$ Newton/Kabelmeter führt
<i>Ladung Q [Coulomb, C]:</i>	1 Coulomb ist als das $6,24 \cdot 10^{18}$ -Fache der Elementarladung e ($1,6 \cdot 10^{-19}$ A s) definiert, bzw. eine Ladung von 1 C wird durch einen Leiter in 1 Sekunde transportiert, wenn durch ihn ein Strom von 1 Ampere fließt ($1 \text{ C} = 1 \text{ A s}$)
<i>Kapazität C [Farad, F]:</i>	1 Farad ist definiert als die Kapazität eines Plattenkondensators, zwischen dessen Platten eine Spannung von 1 Volt auftritt, wenn er mit einer Ladung von 1 Coulomb geladen ist
<i>Magnetische Flussdichte B [Tesla, T]:</i>	1 T ist gleich der Flächendichte des homogenen magnetischen Flusses 1 Weber (Wb), der die Fläche 1 m^2 senkrecht durchsetzt: $1 \text{ T} = 1 \text{ Wb/m}^2$

Die oben genannten Größen können in SI-Einheiten (Meter, Kilogramm, Sekunde, Ampere) ausgedrückt werden.

$$\text{Volt: } V = \frac{W}{A} = \frac{\text{kg m}^2}{\text{A s}^3}$$

$$\text{Ohm: } \Omega = \frac{V}{A} = \frac{\text{kg m}^2}{\text{A}^2 \text{s}^3}$$

$$\text{Siemens: } S = \frac{1}{\Omega} = \frac{\text{A}^2 \text{s}^3}{\text{kg m}^2}$$

$$\text{Ampere: } A = A$$

$$\text{Coulomb: } C = A \text{ s}$$

$$\text{Farad: } F = \frac{C}{V} = \frac{\text{A}^2 \text{s}^4}{\text{kg m}^2}$$

Liste der Symbole und Abkürzungen

A	Verstärkungsfaktor (OP-Verstärker), Fläche	P	Permeabilität
au	Willkürliche Einheit	Q	Ladung
a	Aktivität	r	Widerstand
B	Bandbreite	R	Allgemeine Gaskonstante
c	Konzentration	R, R_Ω	Widerstand
C	Kapazität	S	Spektraldichte
D	Diffusionskoeffizient Dielektrizitätskonstante (Kondensator)	t	Zeit
e	Elementarladung	T	Temperatur
E, V, ϕ	Elektrisches Potenzial	TEVC	Zwei-Elektroden-Voltage-Clamp (<i>Two-Electrode Voltage Clamp</i>)
f	Frequenz	U	Energie
F	Faraday-Konstante, Farad	v	Geschwindigkeit
g	Leitfähigkeit	z	Valenz
G	Gibbs'sche Energie	γ	Einzelkanalleitfähigkeit
h	Planck'sches Wirkungsquantum	δ	Quantisierungsschritt, Ladungsdichte
i	Einzelkanalstrom	ε₀	Polarisierbarkeit des Vakuums
I	Strom	η	Viskosität
J	Fluss, Stromdichte	λ	Längenkonstante
k	Boltzmann-Konstante, Ratenkonstante	μ	Chemisches Potenzial
l, a, x	Länge, Abstand, Tiefe	ρ	Spezifischer Widerstand
N_a	Avogadro-Zahl	τ	Zeitkonstante
p	Wahrscheinlichkeit, Dipolmoment		

Inhaltsverzeichnis

1	Einführung	1
1.1	Einführender Überblick	2
1.2	Geschichte der Elektrophysiologie	5
1.3	Übungsaufgaben	10
	Literatur	10
2	Theoretische Grundlagen	13
2.1	Elektrische Eigenschaften biologischer Membranen	14
2.2	Ionenverteilung an biologischen Membranen	16
2.3	Donnan-Verteilung und Nernst-Gleichung	17
2.3.1	Donnan-Verteilung	17
2.3.2	Nernst-Gleichung	18
2.4	Goldman-Hodgkin-Katz-Gleichung	19
2.5	Übungsaufgaben	24
	Literatur	24
3	Methodische Grundlagen	25
3.1	Ableitung elektrischer Signale von der Körperoberfläche	27
3.2	EKG als Beispiel	29
3.2.1	Elektrophysiologische Grundlagen	29
3.2.2	Aktivierung des Herzmuskels	32
3.3	Ableitung elektrischer Signale von Zellgewebe	33
3.3.1	Intrakardiales Elektrogramm	33
3.3.2	Ussing-Kammer	33
3.3.3	Ableitungen vom Gehirn	34
3.3.4	Ableitung extrazellulärer Feldpotenziale mit Multielektroden-Arrays	35
3.4	Ableitung elektrischer Signale von einzelnen Zellen	36
3.4.1	Ag/AgCl-Elektrode	37
3.4.2	Mikroelektrode	38
3.4.3	Ionenselektive Mikroelektroden	39
3.4.4	Karbonfaser-Technik	41
3.4.5	Grundlagen des Voltage-Clamp	44
3.4.6	Rauschen bei elektrophysiologischen Messungen	49
3.5	Anwendung der Voltage-Clamp-Technik	53
3.5.1	Verschiedene Versionen der Voltage-Clamp-Technik	53
3.5.2	Analyse von Stromfluktuationen	57
3.5.3	Analyse von transienten Ladungsbewegungen (Gating-Ströme)	59
3.6	Patch-Clamp-Technik	60
3.6.1	Versionen der Patch-Clamp-Technik (Patch-Konformationen)	61
3.6.2	Vorteile der verschiedenen Patch-Konformationen	62
3.6.3	Einzelkanalstrom und -leitfähigkeit	65
3.6.4	Sniffer-Patch	68
3.7	Übungsaufgaben	69
	Literatur	70

4	Automatisierte Elektrophysiologie	73
4.1	Automatisiertes Zwei-Elektroden-Voltage-Clamp- Verfahren	74
4.2	Automatisiertes Patch-Clamp-Verfahren	76
4.3	Übungsaufgaben	78
	Literatur	78
5	Ionenselektive Kanäle	79
5.1	Allgemeine Eigenschaften von Ionenkanälen	80
5.1.1	Selektivität von Ionenkanälen	80
5.1.2	Diskrete Bewegung von Ionen durch Poren	83
5.2	Spezielle Ionenkanäle	86
5.2.1	Na ⁺ -Kanal (Ein-Ionen-Pore)	86
5.2.2	K ⁺ -Kanal (Multi-Ionen-Pore)	87
5.2.3	Ca ²⁺ -Kanal (Multi-Ionen-Pore)	89
5.2.4	Anionenselektive Kanäle	90
5.3	Übungsaufgaben	91
	Literatur	91
6	Theorie der Erregbarkeit	93
6.1	Hodgkin-Huxley Beschreibung der Erregbarkeit	94
6.1.1	Experimentelle Grundlagen	94
6.1.2	Modellbeschreibung der Erregbarkeit nach Hodgkin-Huxley (HH)	97
6.1.3	Aktionspotenzial	103
6.2	Kontinuierliche und saltatorische Erregungsausbreitung	105
6.2.1	Elektrotonisches Potenzial	105
6.2.2	Kontinuierliche Ausbreitung eines Aktionspotenzials	108
6.2.3	Saltatorische Ausbreitung eines Aktionspotenzials	109
6.3	Entstehung und Übertragung von Aktionspotenzialen	110
6.3.1	Entstehung	110
6.3.2	Übertragung	111
6.4	Zusammenstellung der verschiedenen Potenzialtypen	112
6.4.1	Oberflächenpotenzial	112
6.5	Aktionspotenziale in Nicht-Nervenzellen	114
6.5.1	Skelettmuskel	114
6.5.2	Glatter Muskel	114
6.5.3	Herzmuskel	115
6.5.4	Pflanzenzellen	116
6.6	Übungsaufgaben	117
	Literatur	117
7	Carrier-Transport	119
7.1	Allgemeine Eigenschaften von Carriern	120
7.1.1	Unterschiede zwischen Poren und Carriern	120
7.1.2	Oozyten von <i>Xenopus</i> : ein Modellsystem	122
7.1.3	Anionenaustauscher	124
7.1.4	Natriumpumpe	126
7.1.5	Neurotransmittertransporter GAT1	129

7.2	Carrier verhalten sich wie Kanäle mit alternierenden Toren	131
7.3	Übungsaufgaben	133
	Literatur	134
8	Moderne Anwendungsbeispiele aus der Elektrophysiologie	135
8.1	Struktur-Funktionsbeziehungen von Carrier-Proteinen	136
8.1.1	Na ⁺ , K ⁺ -Pumpe	136
8.1.2	Na ⁺ -abhängiger GABA-Transporter (GAT1)	139
8.2	Struktur-Funktionsbeziehungen von Ionenkanälen	140
8.2.1	Familien der Ionenkanäle	140
8.2.2	Familie der ATP-aktivierten Ionenkanäle	142
8.2.3	Experimentelle Ergebnisse	144
8.3	Virale Ionenkanäle	148
8.3.1	3a-Protein von Coronaviren	150
8.3.2	Virale Proteineinheit (Vpu) von HIV-1	154
8.3.3	Matrixprotein 2 (M2) des Influenza-A-Virus	155
8.4	Übungsaufgaben	157
	Literatur	157
9	Anhang	159
9.1	Graphentheorie	160
9.2	Einfluss externer elektrischer und magnetischer Felder auf physiologische Funktionen	162
9.2.1	Magnetostatische Felder	163
9.2.2	Elektrostatische Felder	163
9.2.3	Elektromagnetische Felder	166
9.3	Beispiel für einen elektrophysiologischen Laborversuch: der Zwei-Elektroden-Voltage-Clamp (TEVC)	167
9.3.1	Motivation	167
9.3.2	Hintergrundwissen	168
9.3.3	Fragen, die für den Kurs beantwortet werden sollten	172
9.3.4	Versuchsaufbau und Versuchsanleitung	172
9.3.5	Experimente und Datenanalyse	174
	Literatur	179
	Serviceteil	181
	Sachverzeichnis	182

Über die Autoren

Dr. phil.nat. Jürgen Rettinger

Multi Channel Systems MCS GmbH
Reutlingen, Deutschland

Silvia Schwarz

Shanghai Key Laboratory for Acupuncture
Mechanism and Acupoint Function
Fudan-University
Shanghai, China
Shanghai Research Center for Acupuncture
and Meridians
Shanghai University of Traditional Chinese
Medicine
Shanghai, China

Prof. Dr. rer.nat. Wolfgang Schwarz

Institut für Biophysik
Goethe-Universität Frankfurt
Frankfurt am Main, Deutschland
Shanghai Key Laboratory for Acupuncture
Mechanism and Acupoint Function
Fudan-University
Shanghai, China
Shanghai Research Center for Acupuncture
and Meridians
Shanghai University of Traditional Chinese
Medicine
Shanghai, China