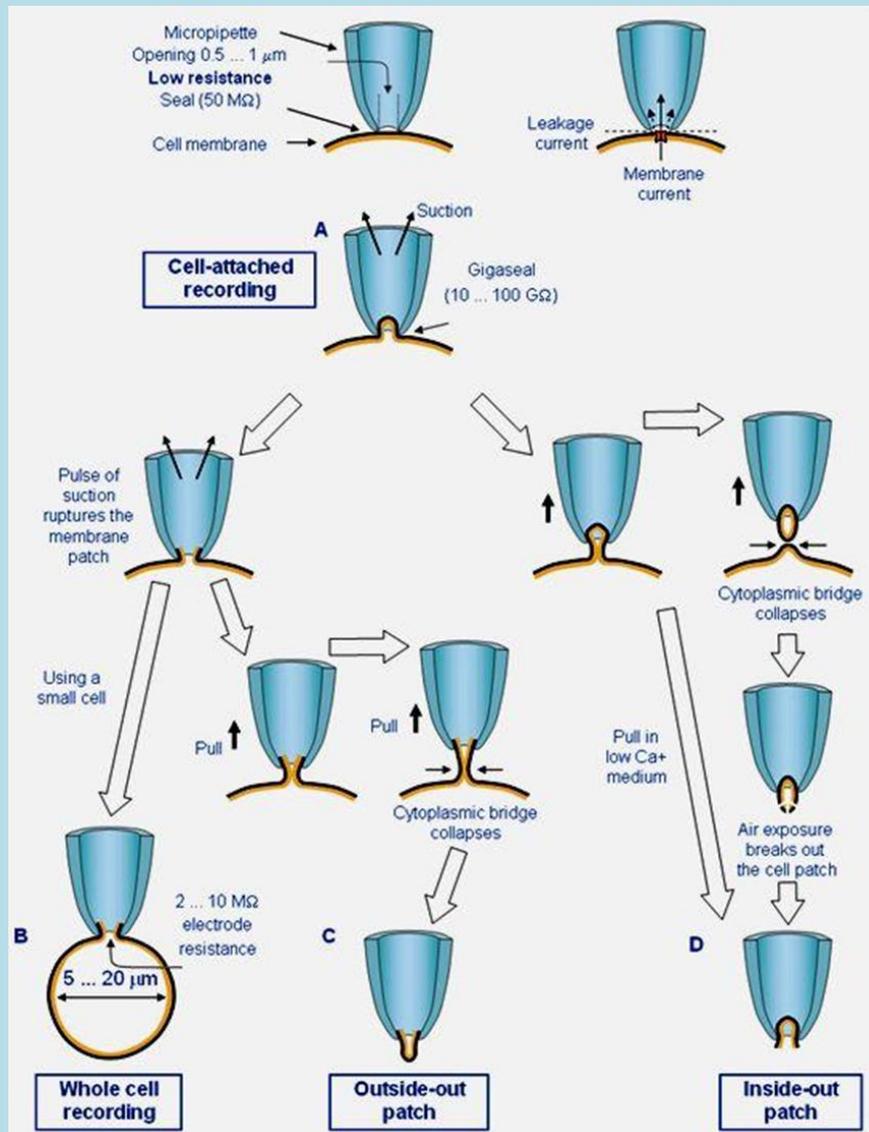
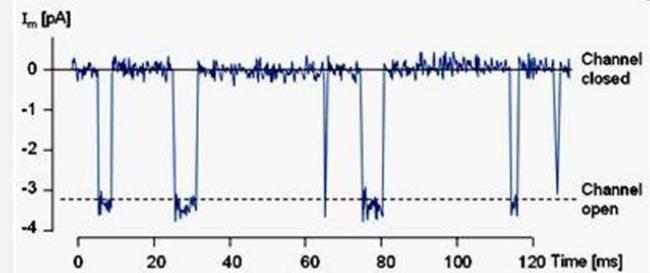


Тема 2

Методика patch-clamp



Метод PATCH-CLAMP – регистрация активности одиночных каналов



Метод пэтч-кламп, разработанный Неером и Закманом, позволяет изучать отдельные ионные каналы



Микропипетка, плотно прижатая к плазматической мембране



Кусочек (пэтч) мембраны, вытянутый из клетки

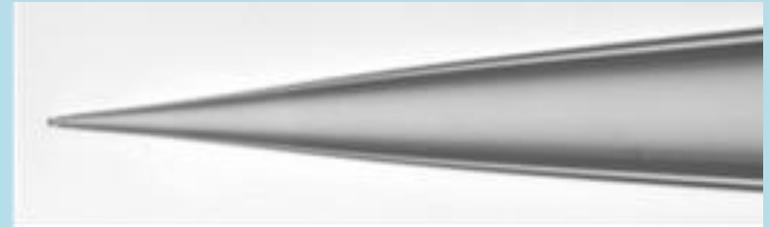
Кусочек мембраны, помещенный в водный раствор



Электронный прибор для поддержания постоянного трансмембранного потенциала (V_m) и измерения тока, идущего через мембрану



Технология метода



$$R_{seal} / (R_{seal} + R_{pip})$$

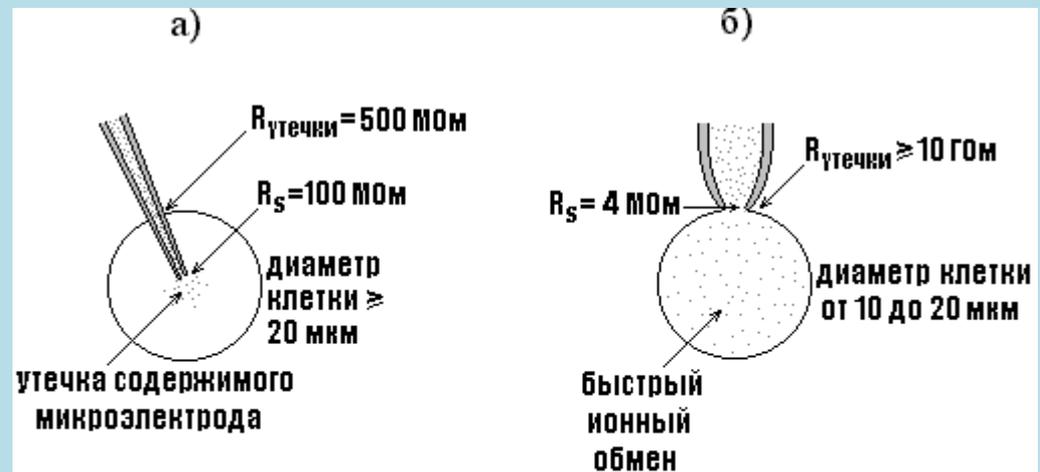
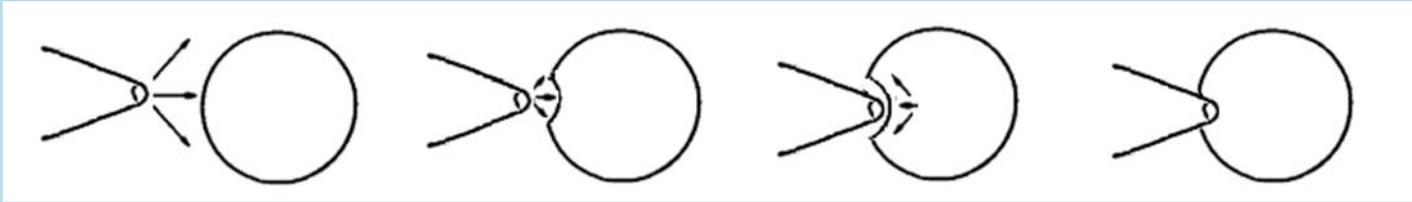


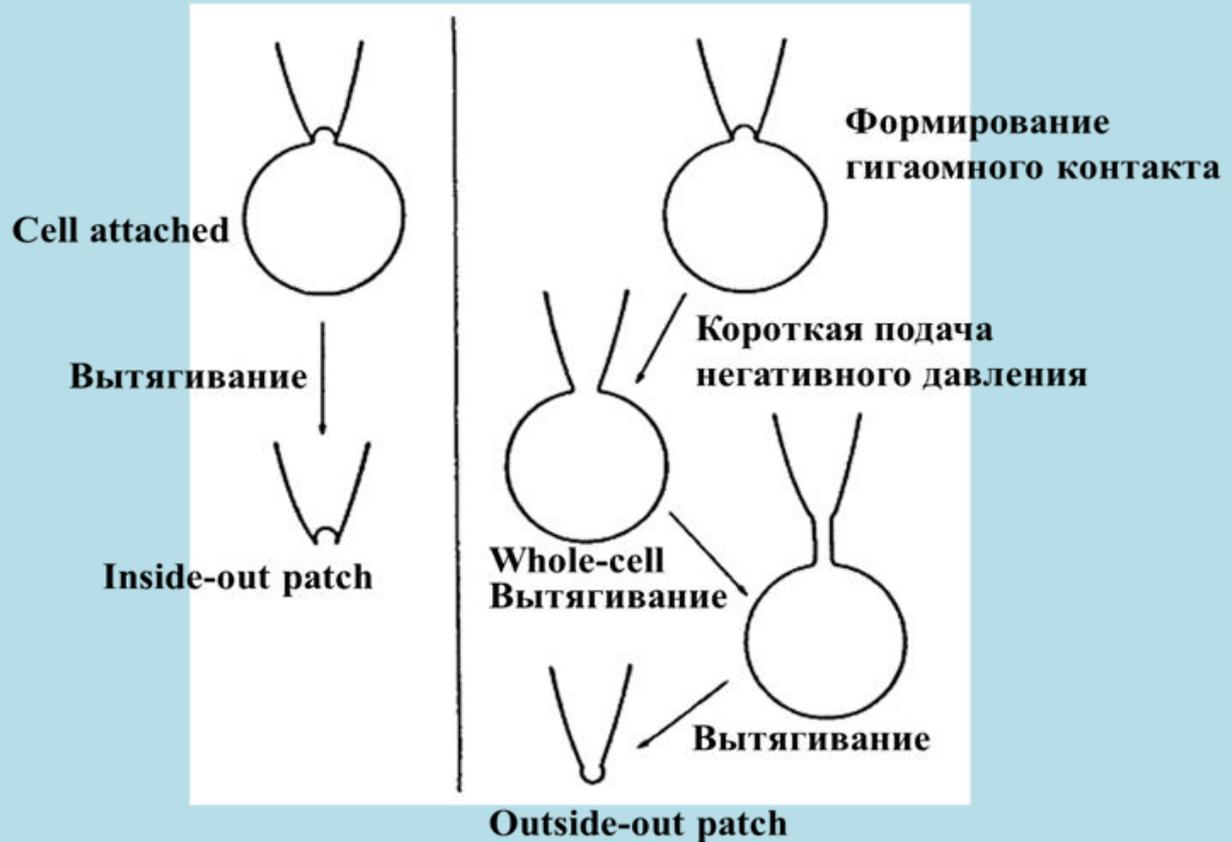
Рис.4. Сравнение методов регистрации с помощью обычного микроэлектрода (а) и при плотном контакте (б) [Марти, Неер, 1987].



Содержимое патч пипетки

Внеклеточный раствор

Внутриклеточный раствор



Приготовление микроэлектродов

- Сопротивление 5-9 Мом
- Толщина заготовки 1,5 мм
- Работа с пуллером
- Выбор стекла
- Внутрипипеточный раствор: внутри и внеклеточный.
- рН и осмолярность

Регистрация сигналов с клетки в конфигурации Whole cell

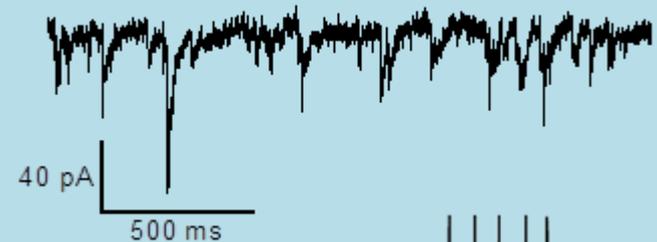
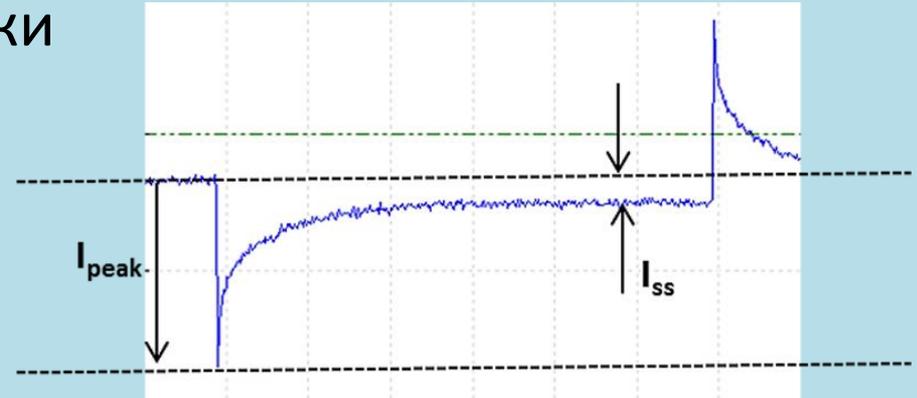
- Основные параметры клетки

$$R_s = V_{step} / I_{peak}$$

$$R_{in} = V_{step} / I_{ss} - R_s$$

$$C_m = \tau (1 / R_s + 1 / R_{in})$$

$$I = I_0 \exp(-t / \tau)$$



- Режим фиксации потенциала
- Режим фиксации тока

