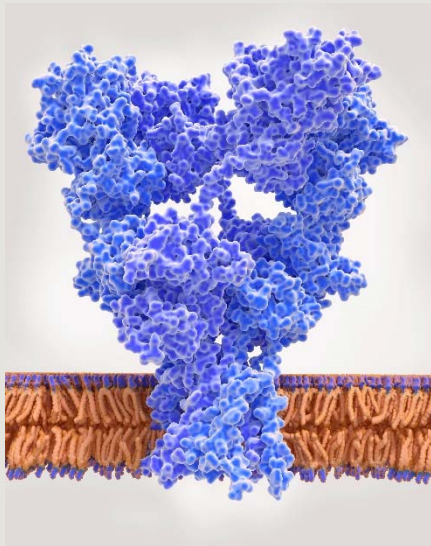


Name: _____

Datum: _____



Forschungsauftrag

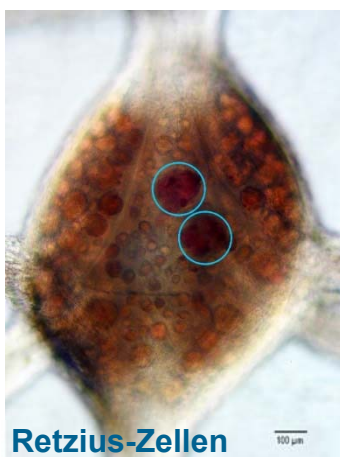
Mit der Anwendung **BrainMeasure** kannst du verschiedene elektrophysiologische Messungen durchführen. Die Experimente wurden an einem realen elektrophysiologischen Messstand (Setup) aufgezeichnet und für die Arbeit mit der Anwendung aufbereitet, sodass es sich bei den Messungen um **reale Messspuren** aus der Forschung handelt.

In diesem Modul führst du Messungen an der **Retzius-Nervenzelle im Blutegel-Ganglion** durch. Dabei untersuchst du die Funktionsweise eines **Neurotransmitter-Rezeptors** und die Wirkungsweise unterschiedlicher **Agonisten** und **Antagonisten** auf diesen. So **charakterisierst du den Rezeptor** umfassend.



ScreenShot-Funktion

Mit dem Snipping-Tool, das auf allen Windows Rechnern zu finden ist, kannst du von einem dir ausgewählten Bereich des Bildschirms einen ScreenShot anfertigen. Achte darauf, dass auch die Achsen abgebildet werden. Speichere deinen ScreenShot am besten im Ordner „Dokumente“ ab, da die Einfüge-Option des PDF-Programms standardmäßig auf diesen Ordner zugreift. Wenn du in diesem Arbeitskript einen ScreenShot einfügen sollst, klicke auf das ScreenShot-Symbol im Kasten und wähle im folgenden Menü dein angefertigtes Bild aus den Dateien aus. Das Bild wird dann automatisch eingefügt und skaliert.




Meine untersuchte Nervenzelle

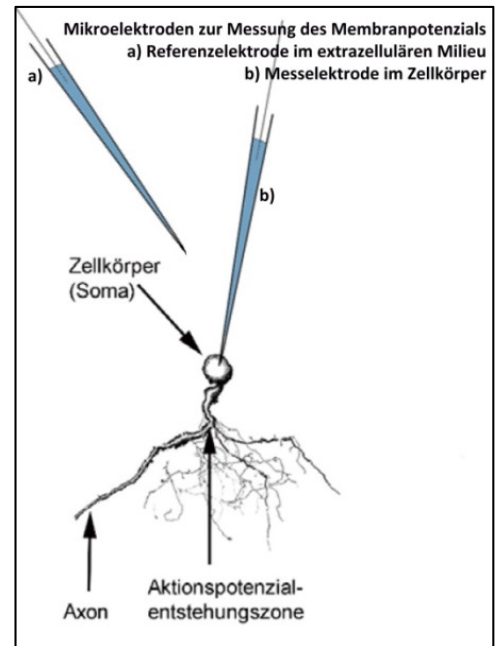
Nebenstehendes Bild zeigt dir markiert die beiden Retzius-Zellen des Blutegel-Ganglions. Alle Experimente in diesem Modul werden an einer dieser beiden Zellen durchgeführt. Die beiden paarig vorliegenden Nervenzellen unterscheiden sich nicht in ihrer Morphologie, ihren elektrophysiologischen Eigenschaften und ihrer Funktion.




Experiment 1: Messung der Aktivität unter physiologischen Bedingungen (Ruheaktivität)

Versuchsprotokoll

- I. Starte die Anwendung **BrainMeasure**, sofern du sie noch nicht geöffnet hast. Du öffnest die Anwendung über den Button „Experiment starten“ auf der Modulseite.
- II. Wähle Experiment 1 aus.
- III. Aktiviere die Mikroelektrode über den entsprechenden Button .
- IV. Stich mit der Mikroelektrode (per Mausclick) eine der beiden Retzius-Zellen im Ganglion Bild an.
- V. Beobachte die Messung und bearbeite die Fragen.



1. Um die Spur der Messung genauer auszuwerten, kannst du über den Button „Gesamtmessung“ eine statische Ansicht öffnen, in der dir verschiedene Analyse-Werkzeuge (z. B. Zoom) zur Verfügung stehen. Nutze diese Ansicht auch, um einen ScreenShot (siehe  „ScreenShot-Funktion“) anzufertigen und hier einzufügen.



ScreenShot hier einfügen!



Ruheaktivität

Bei einer intrazellulären Messung wird zunächst die Ruheaktivität der Zelle unter physiologischen Bedingungen (ohne Zugabe von Agonisten) beobachtet. Diese kann von Zelle zu Zelle unterschiedlich sein.

- a) Die Zelle weist keine Aktionspotenziale auf und das Ruhepotenzial ist weitgehend konstant.
- b) In der Zelle entstehen einzelne Aktionspotenziale. Manchmal sind erregende postsynaptische Potenziale (EPSP) zu beobachten, die jedoch keine Aktionspotenziale auslösen.
- c) In der Zelle liegt eine Spontanaktivität vor. Diese Aktivität wird durch zellinterne Mechanismen generiert. Solche Zellen werden auch „Schrittmacherzellen“ genannt. Die Aktionspotenziale werden stetig und gleichmäßig gebildet.

2. Ordne die Ruheaktivität der Retzius-Zelle einer der beschriebenen Möglichkeiten zu.

- a) b) c)

3. Ermittle den Wert des Ruhemembranpotenzials der Retzius-Zelle.

_____ mV

4. Bestimme, wie groß die Amplitude des Aktionspotenzials (wenn vorhanden) ist.

- a) _____ mV b) Keine Aktionspotenziale vorliegend

5. Bestimme die Frequenz der Aktionspotenziale (wenn vorhanden) und ob diese regelmäßig ist.

- a) Ca. _____ /Minute Regelmäßig Unregelmäßig

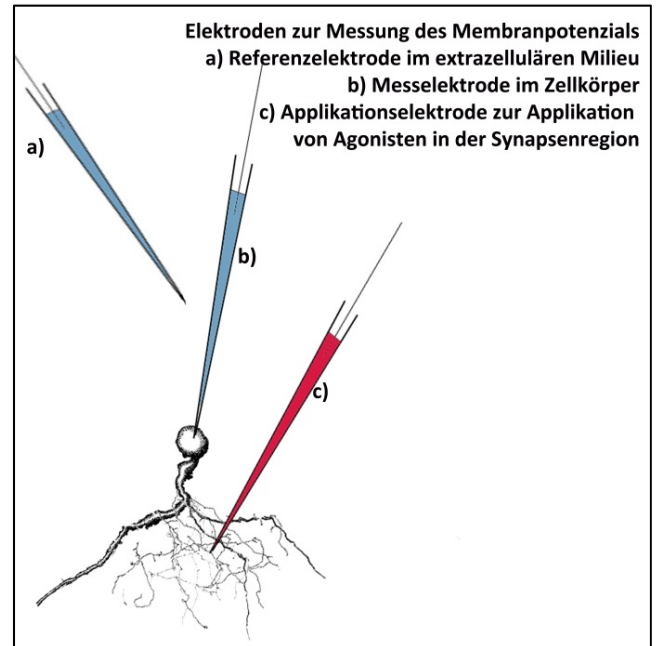
- b) Keine Aktionspotenziale vorliegend



Experiment 2: Lokale Applikation eines Agonisten (Glutamat)

Versuchsprotokoll

- I. Wähle Experiment 2 aus.
- II. Vergewissere dich, dass die Retzius-Zelle noch ausgewählt ist!
- III. Appliziere „Glutamat“ über den entsprechenden Button.
- IV. Beobachte die Messung und bearbeite die Fragen.



6. Öffne, um die Spur der Messung genauer auszuwerten, die „Gesamtmessung“. Nutze diese Ansicht auch, um einen ScreenShot anzufertigen und hier einzufügen.



ScreenShot hier einfügen!

7. Zeigt das Membranpotenzial der Zelle eine Reaktion auf den Agonisten Glutamat? Kreuze an!

Ja Nein



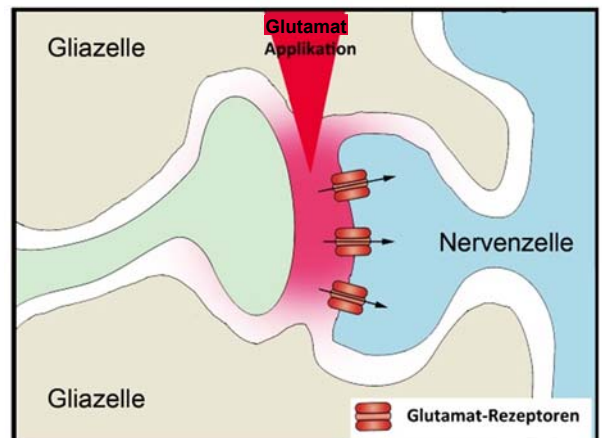
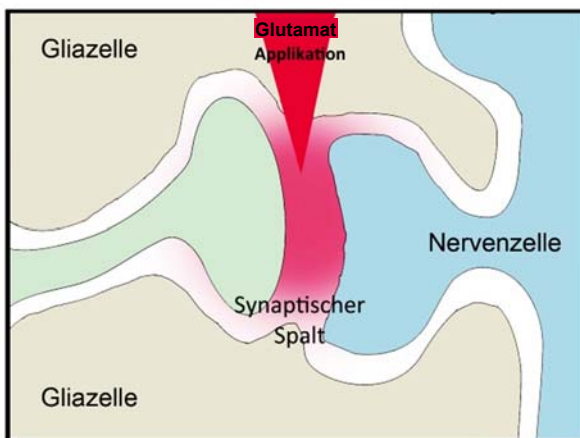
8. Welche Membranpotenzialveränderung (wenn vorhanden) liegt vor? Kreuze an!

- Keine Reaktion.
- Hyperpolarisation, die Auslösung von Aktionspotenzialen ist unterbrochen.
- Depolarisation, die Aktionspotenzialfrequenz steigt kurzzeitig.
- Depolarisation, die Aktionspotenzialfrequenz steigt bis deutlich nach Applikationsende an.

9. Beschreibe, was die Membranpotenzialveränderung (wenn vorhanden) über die funktionellen elektrophysiologischen Eigenschaften der Nervenzelle aussagt? Nimm dir die Abbildung sowie „Agonisten“ zur Hilfe und begründe deine Aussage.

💡 Agonist

Ein Agonist (griechisch: *agonistis* – der Handelnde) ist eine Substanz (Ligand), welche an einen Rezeptor binden kann und die Signaltransduktion in der dazugehörigen Zelle aktiviert. Ein Agonist imitiert also den Effekt des physiologischen, körpereigenen Neurotransmitters.



10. Gib an, welche ligandengesteuerten Ionenkanäle für diese Reaktion verantwortlich sein könnten?

- Natriumkanäle Kationenkanäle Kaliumkanäle Chloridkanäle

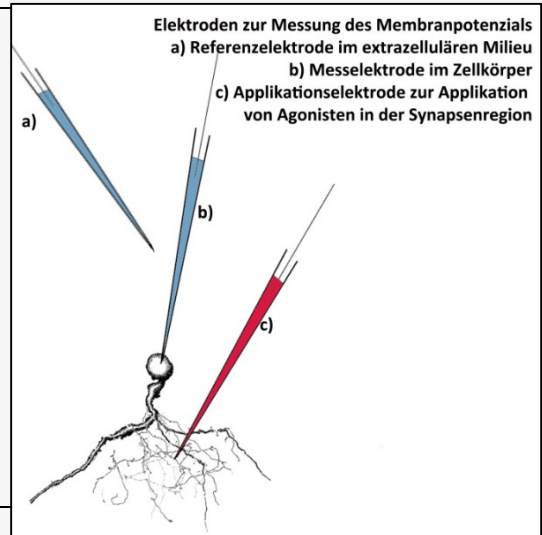
Es wurden keine ligandengesteuerten Ionenkanäle geöffnet



Experiment 3: Wirkung unterschiedlicher Agonisten auf Glutamatrezeptoren

Versuchsbeschreibung

In Experiment 2 hast du bereits untersucht, wie der physiologische Agonist Glutamat bei Retzius-Zellen das Membranpotenzial ändert und eine Vermutung über das Vorhandensein der Glutamatrezeptoren geäußert. In Experiment 3 testest du nun die Wirkung verschiedener Agonisten für Glutamatrezeptoren und vergleichst diese im Anschluss miteinander. Zur Bearbeitung der Fragen benötigst du die Grundlagen von „Agonisten“.



Versuchsprotokoll

- I. Wähle Experiment 3 aus.
- II. Vergewissere dich, dass die Retzius-Zelle noch ausgewählt ist!
- III. Appliziere „AMPA“ bzw. „Kainat“ über den entsprechenden Button.
- IV. Beobachte die Messung und bearbeite die Fragen.

Agonisten

Rezeptoren können von vollen oder partiellen Agonisten aktiviert werden.

Volle Agonisten bewirken bei Glutamatrezeptoren eine vollständige Aktivierung, die jedoch von sehr kurzer Dauer ist (linke Teilabbildung). Noch während der Applikation des Agonisten schließen die Ionenkanäle nahezu vollständig. Dieser Prozess wird Desensitivierung genannt.

(Anm.: Funktionell entspricht dies der Inaktivierung von spannungsabhängigen Na^+ -Kanälen während des Aktionspotenzials.)

Partielle Agonisten führen nicht zu einer vollständigen Aktivierung des Rezeptors, dafür ist aber die Desensitivierung nur schwach ausgeprägt. Dies führt dazu, dass die Ionenkanäle lange geöffnet sind (rechte Teilabbildung).



Wirkung voller Agonist

Wirkung partieller Agonist



11. Öffne, um die Spur der Messung genauer auszuwerten, die „Gesamtmessung“. Nutze diese Ansicht auch, um einen ScreenShot anzufertigen und hier einzufügen. Achte darauf, dass beide Messungen abgebildet sind.



ScreenShot hier einfügen!

12. Vergleiche die Wirkung der drei Agonisten (Glutamat aus Experiment 2, AMPA & Kainat) auf das Membranpotenzial von Retzius-Zellen. Werte in diesem Zusammenhang die Amplitude und Länge der Depolarisation des Membranpotenzials sowie die Amplitude der Aktionspotenziale aus.

| Agonist | Amplitude Depolarisation | Länge der Depolarisation | Amplitude Aktionspotenziale |
|-----------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| Glutamat | _____ mV | _____ s | _____ mV |
| AMPA | _____ mV | _____ s | _____ mV |
| Kainat | _____ mV | _____ s | _____ mV |

13. Entwickle auf Basis dieser Ergebnisse und mit Hilfe von „Agonisten“ eine begründete Hypothese dazu, in welche Kategorie die drei Agonisten eingeordnet werden können.

Glutamat: partieller Agonist voller Agonist Begründung: _____

AMPA: partieller Agonist voller Agonist _____

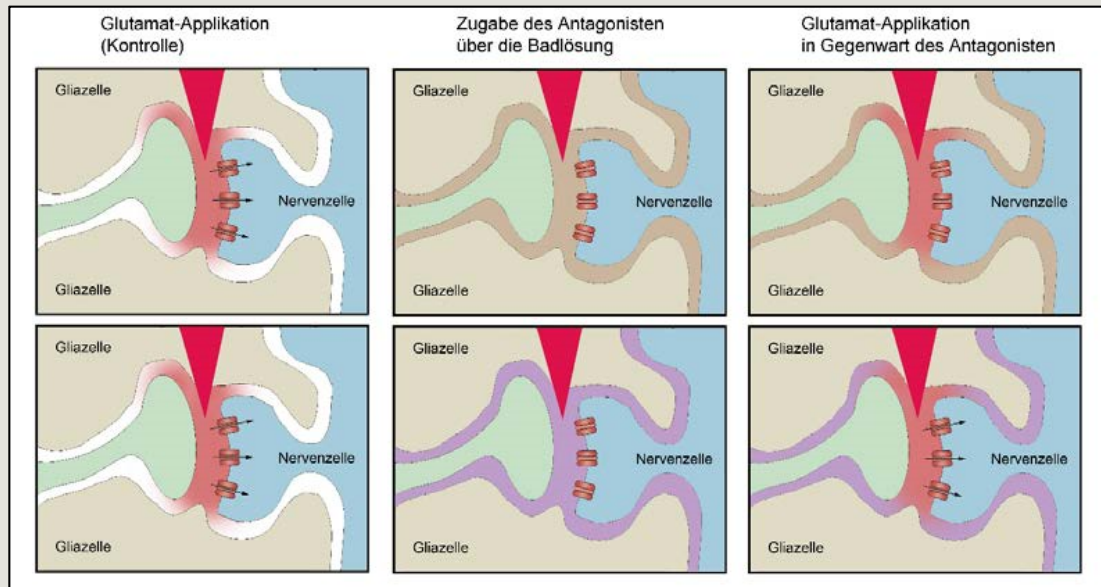
Kainat: partieller Agonist voller Agonist _____



Experiment 4: Wirkung unterschiedlicher Antagonisten auf Glutamat-Applikationen

💡 Antagonisten

Um zweifelsfrei festzustellen, ob die Membranpotenzialänderungen bei Applikation von Glutamat auf einer Aktivierung von spezifischen Glutamatrezeptoren beruhen, können selektive **Antagonisten** getestet werden.



Ein **Antagonist** (*altgriechisch: antagonistés – der Gegenhandler*) ist eine Substanz (Ligand), welche zwar an den Rezeptor bindet, jedoch nicht die Signaltransduktion auslöst, sondern zu einer **Blockade des Rezeptors** führt. Bei kompetitiven Antagonisten konkurrieren Agonist und Antagonist um die gleiche Bindungsstelle. Diese Wirkungsweise nutzen z. B. viele Medikamente.

Versuchsbeschreibung

In diesem Experiment erfolgt zur Kontrolle in regelmäßigen Abständen eine Glutamat-Applikation (linke Spalte). Die beiden zu untersuchenden Antagonisten werden währenddessen jeweils der Badlösung zugegeben und diffundieren langsam in die synaptische Region des Ganglions (mittlere Spalte). Antagonisten blockieren die Wirkung der Agonisten, wenn die Rezeptoren eine spezifische Bindestelle besitzen (obere Abb. rechte Spalte). Sind keine spezifischen Bindestellen für den Antagonisten vorhanden, wird die Wirkung von Agonisten nicht beeinflusst (untere Abb. rechte Spalte).

Versuchsprotokoll

- I. Wähle Experiment 4 aus.
- II. Vergewissere dich, dass die Retzius-Zelle noch ausgewählt ist!
- III. Starte die sich wiederholende Applikation von „Glutamat“ in Gegenwart der Agonisten „DNQX“ bzw. „Curare“ über den entsprechenden Button.
- IV. Beobachte die Messung und bearbeite die Fragen.



14. Öffne, um die Spur der Messung genauer auszuwerten, die „Gesamtmessung“. Nutze diese Ansicht auch, um einen ScreenShot anzufertigen und hier einzufügen. Achte darauf, dass beide Messungen abgebildet sind.



ScreenShot hier einfügen!

15. Gib an, ob die applizierten Antagonisten die Wirkung der sich wiederholenden Glutamat-Applikation blockieren.

DNQX: Ja Nein

Curare: Ja Nein

16. Kreuze an, welche Aussagen anhand dieser und deiner bisherigen Ergebnisse zutreffen.

DNQX ist ein spezifischer Antagonist für Glutamatrezeptoren des AMPA-Typs.

DNQX ist ein spezifischer Antagonist für Glutamatrezeptoren des Kainat-Typs.

DNQX ist ein spezifischer Antagonist für DNQX-Rezeptoren.

Curare ist ein spezifischer Agonist für Glutamatrezeptoren.

Curare ist ein spezifischer Antagonist für Glutamatrezeptoren.

Curare ist kein spezifischer Antagonist für Glutamatrezeptoren.

Curare ist ein spezifischer Antagonist für Acetylcholinrezeptoren.



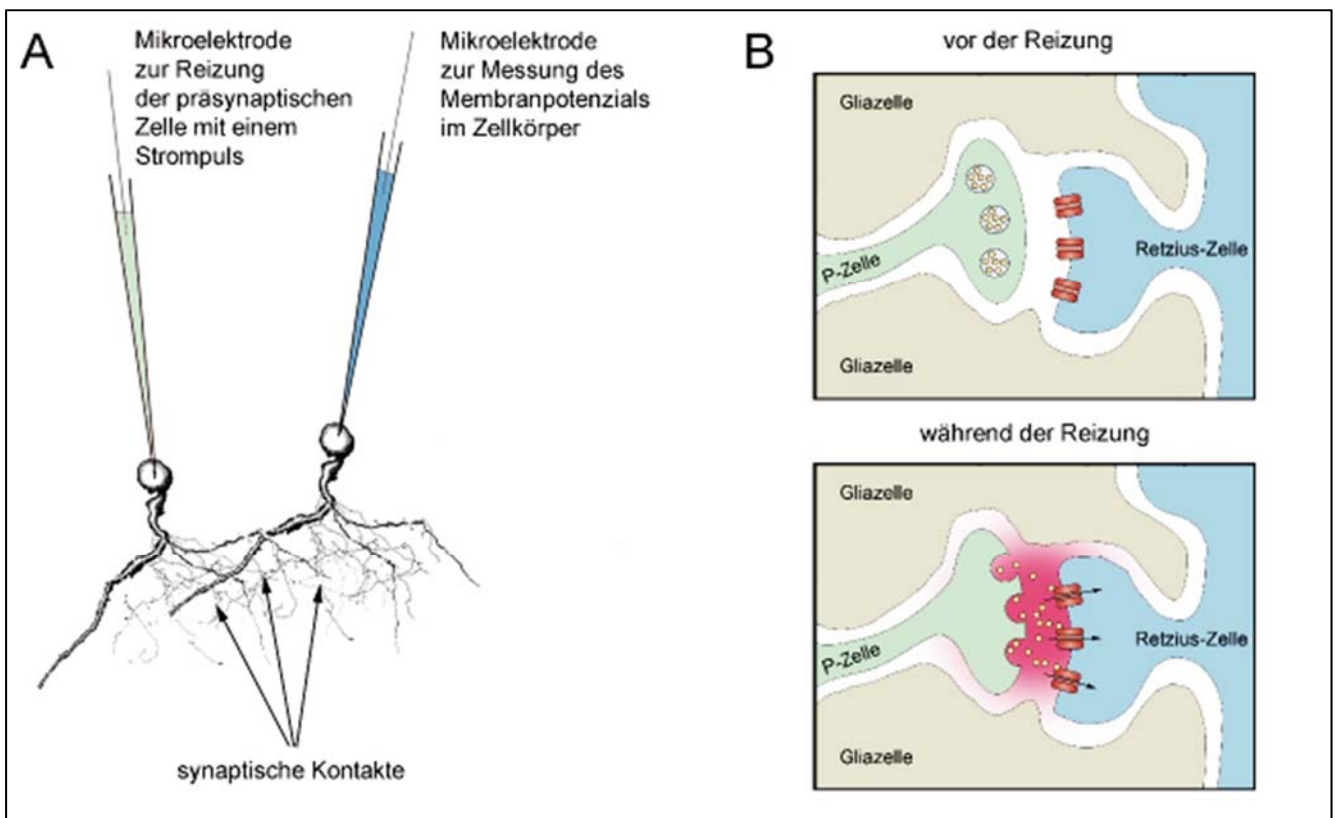
Expertenexperiment 5: Synaptische Transmission

Versuchsbeschreibung

Bisher hast du die Messungen lediglich an einer Nervenzelle durchgeführt. Die Messungen finden jedoch an einem intakten Ganglion des Blutegels statt, sodass auch die synaptischen Kontakte zwischen Nervenzellen untersucht werden können. In diesem Experiment untersuchst du mögliche synaptische Kontakte der sensorischen P-Zelle (P steht für Pressure = Druck) zur Retzius-Zelle. Hierzu depolarisierst du im Experiment die P-Zelle über einen positiven Strompuls und misst gleichzeitig das Membranpotenzial der Retzius-Zelle.

Versuchsprotokoll

- I. Wähle Experiment 5 aus.
 - II. Vergewissere dich, dass die Retzius-Zelle noch ausgewählt ist!
 - III. Stimuliere die P-Zelle mit einem Strompuls über den entsprechenden Button.
 - IV. Beobachte die Messung und bearbeite die Fragen.
- **Bitte beachte: Die Messübersicht im unteren Fenster der BrainMeasure Oberfläche wird in diesem Experiment mit der Membranpotenzialmessung der P-Zelle ersetzt.**





17. Beschreibe die Wirkung der Strominjektion auf die P-Zelle, gehe dabei auch auf den Verlauf der Membranpotenzialänderungen ein.

18. Beschreibe die Reaktion der Retzius-Zelle, gehe dabei auch auf den Verlauf der Membranpotenzialveränderung ein. Überprüfe außerdem, ob die Aktionspotenziale der P-Zelle jeweils eine postsynaptische Veränderung des Membranpotenzials in der Retzius-Zelle bewirken (monosynaptische Verbindung).


19. Bestimme anhand deiner Ergebnisse und Erkenntnisse zu den Rezeptoren der Retzius-Zelle (Experiment 2 und 3), welche Transmitter vermutlich von P-Zellen freigesetzt werden, um die entsprechende Reaktion in der Retzius-Zelle auszulösen? Kreuze an!

Kainat Acetylcholin GABA Glutamat AMPA



20. Das Ganglion des Blutegels ist ein intaktes Netzwerk von Nervenzellen, die miteinander über Synapsen verbunden sind. Neben den monosynaptischen können auch polysynaptische Verbindungen auftreten. Bei diesen wird eine Erregung über mehrere Nervenzellen hinweg übertragen, wodurch ein variables Antwortverhalten ermöglicht wird. Dieser Übertragungsweg führt zu verzögerten Reaktionszeiten in der Zielzelle.

Werte vor diesem Hintergrund deine Messung aus und stelle begründet dar, ob in diesem Fall auch eine polysynaptische Verbindung vorhanden ist.

21. Öffne, um die Spur der Messung genauer auszuwerten, die „Gesamtmessung“. Nutze diese Ansicht auch, um einen ScreenShot anzufertigen und hier einzufügen. Achte darauf, dass beide Messungen abgebildet sind. Außerdem ist es bei dieser Messung wichtig, dass du die Zeitachsen der beiden Zellen gleich skaliert lässt, um die Messungen zueinander in Bezug setzen zu können. Nutze dazu, bevor du den Screenshot abspeicherst, die Markierungswerkzeuge vom Snipping-Tool , um folgende Stellen in der Messung zu markieren:

- Monosynaptische Reaktionen der Retzius-Zelle
- Polysynaptische Reaktionen der Retzius-Zelle



ScreenShot hier einfügen!