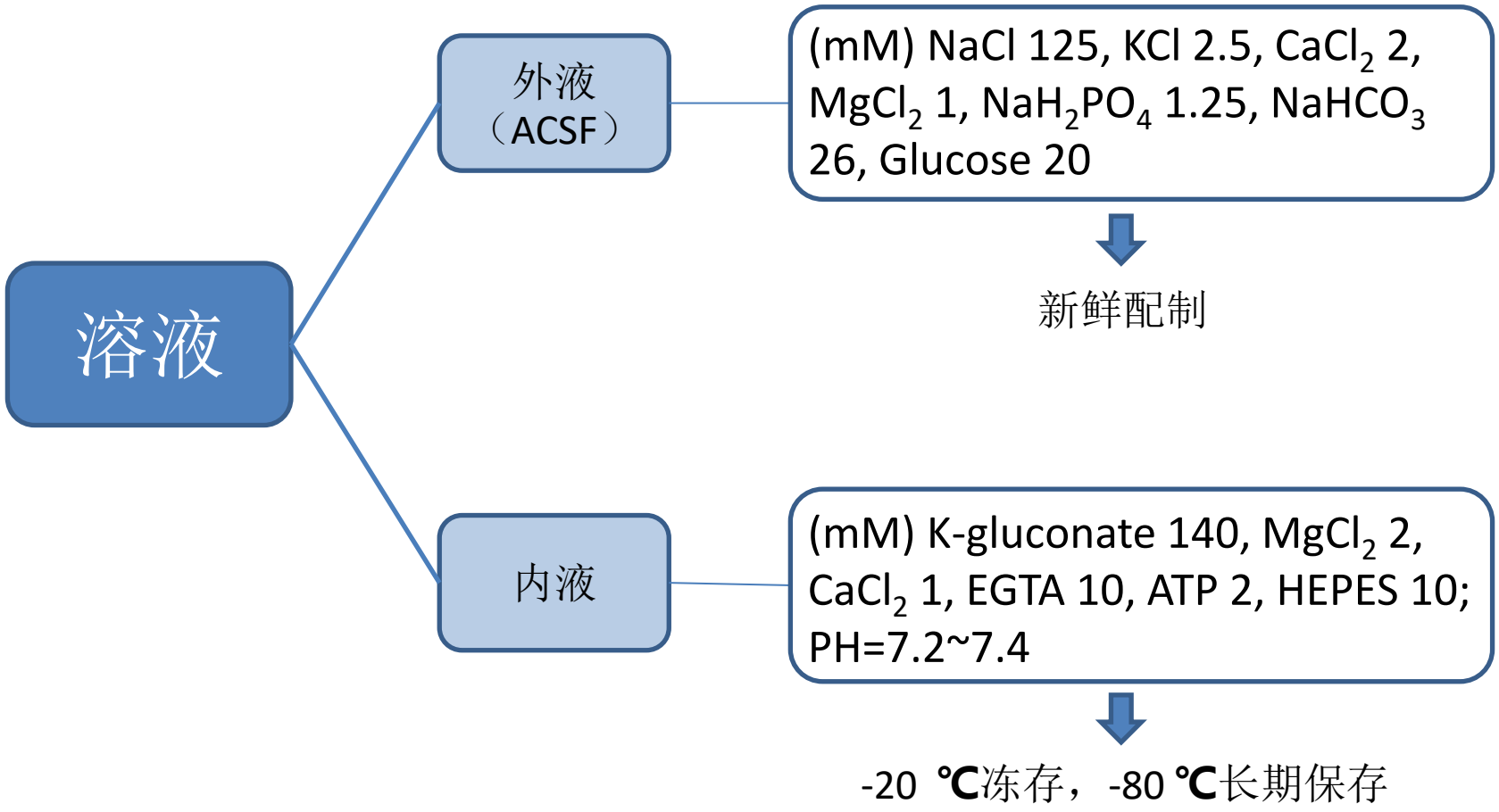
实验流程（以脑片神经元全细胞记录为例）



实验流程（以脑片神经元全细胞记录为例）

制备脑片



Leica VT1200

冰冻冷却ACSF通氧15分钟（95% O_2+5% CO_2）

↓

将95%酒精浸泡过的半片双面刀片安装到切片机刀头上进行Z轴校验

↓

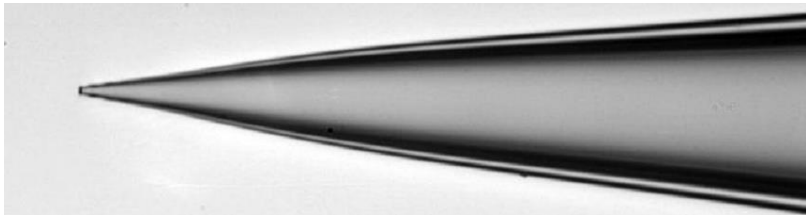
麻醉动物，迅速断头取出全脑放入冷却ACSF中3 min，于滤纸上修整所需组织块后用502粘在切片台上

↓

调整切片速度与振幅，制备300 μm左右厚度的脑片，小心放入32 ℃ACSF孵育槽中孵育1 小时后实验

实验流程（以脑片神经元全细胞记录为例）

拉制电极





Sutter P97

参数	增大	减小
HEAT	尖端直径减小 锥形增长 阻抗升高	尖端直径增大 锥形减短 阻抗降低
PULL	尖端直径减小 锥形增长	尖端直径增大 锥形减短
VEL	尖端直径减小	尖端直径减小
TIME	锥形减短	锥形增长

实验流程（以脑片神经元全细胞记录为例）

放置脑片和选取细胞

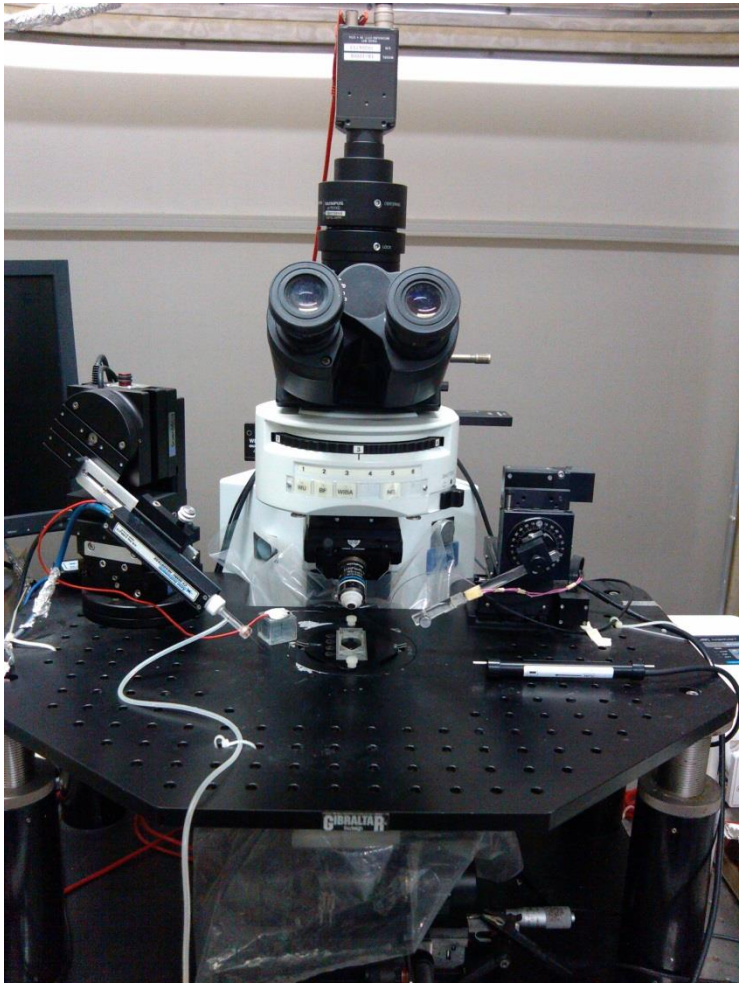
持续灌流ACSF（通混合气），速度3-4 ml/min。可使用加热器（TC-324B，Warner）维持记录浴槽内ACSF温度

↓

用吸管小心把孵育好的脑片放入记录浴槽，调整位置后用U型铂金框尼龙丝压网固定

↓

正置显微镜通过CCD摄像头连接到监视器，在低倍镜下判断所需脑区，换高倍镜观察神经元（状态好的细胞表面光滑，形体饱满，轮廓分明，折光性好）



Olympus BX51WI
DAGE-MTI IR-1000

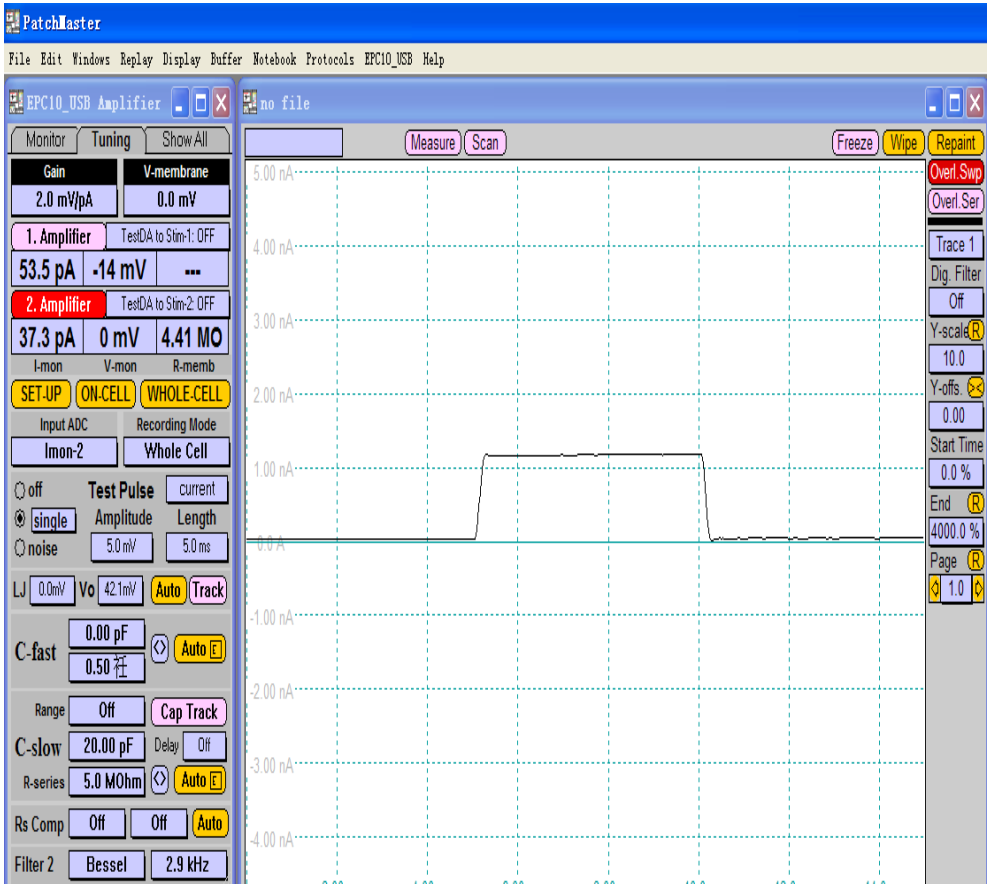
实验流程（以脑片神经元全细胞记录为例）

封接细胞

充灌电极内液，弹掉气泡，
给正压后入浴液



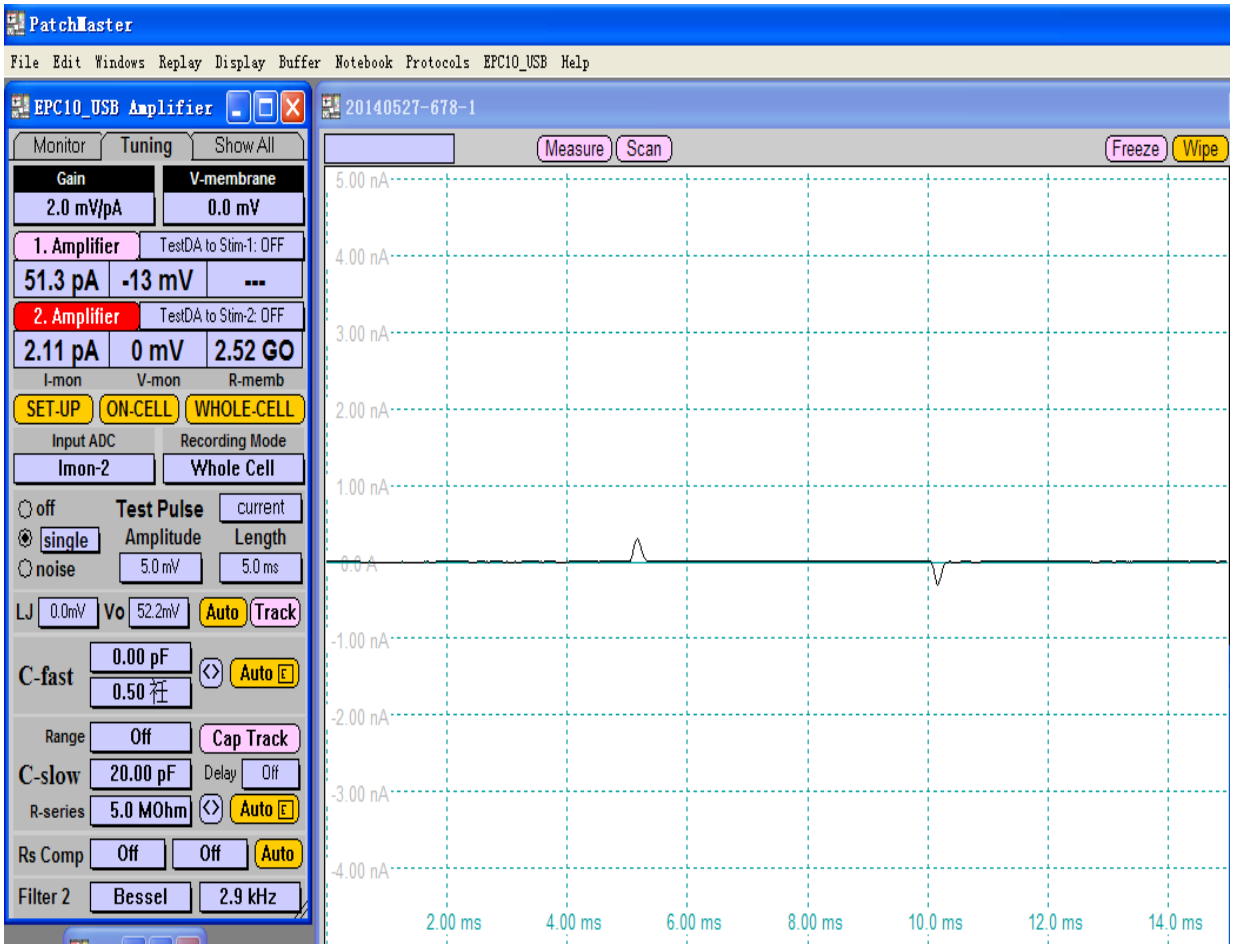
HEKA EPC10



实验流程（以脑片神经元全细胞记录为例）

封接细胞





实验流程（以脑片神经元全细胞记录为例）

补偿和破膜

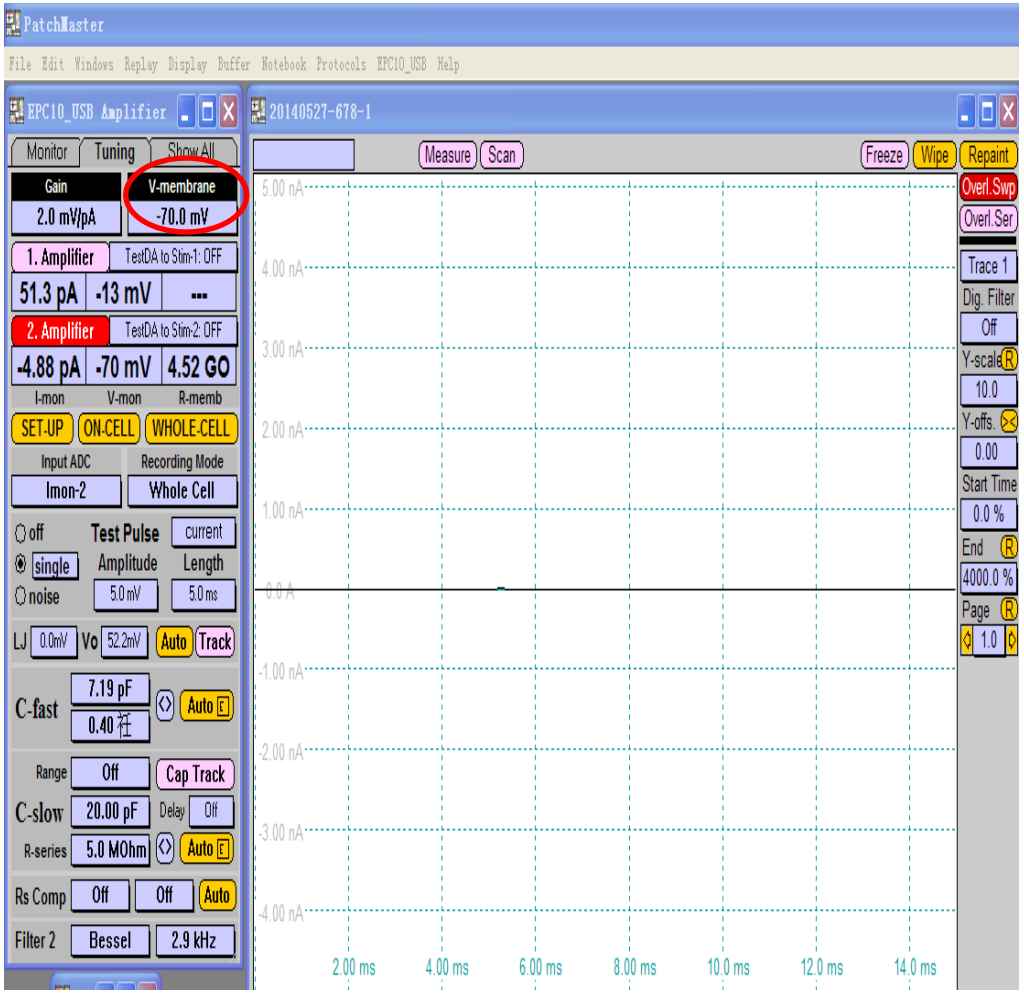
GΩ封接后先钳制到-70 mV，然后点击Cfast的Auto项，补偿电极电容

↓

用注射器或嘴吸一下，快速给负压并立即解除，破膜形成全细胞封接，出现膜充放电反应

↓

点击Cslow的Auto项补偿慢电容，RsComp时间常数设为100 μs，补偿串联电阻至70%以上，避免震荡



实验流程（以脑片神经元全细胞记录为例）

补偿和破膜

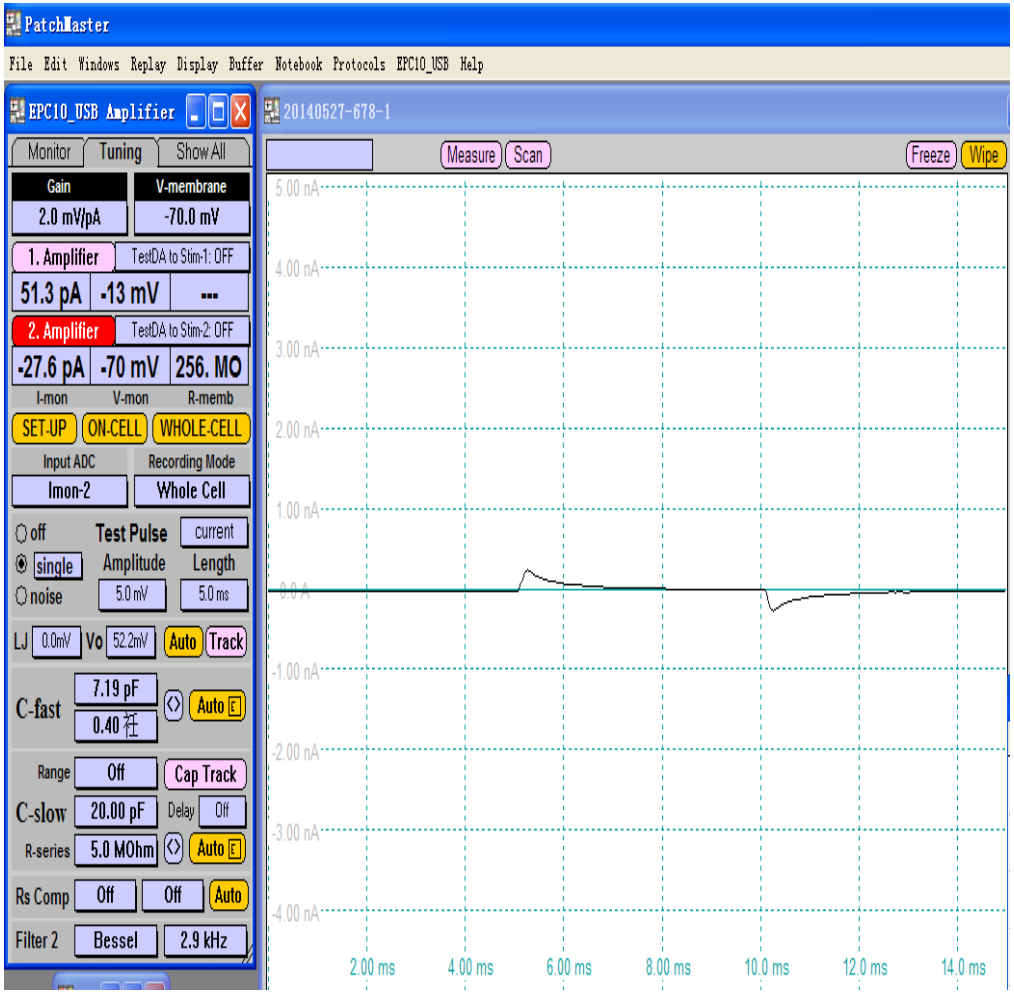
GΩ封接后先钳制到-70 mV，然后点击Cfast的Auto项，补偿电极电容

↓

用注射器或嘴吸一下，快速给负压并立即解除，破膜形成全细胞封接，出现膜充放电反应

↓

点击Cslow的Auto项补偿慢电容，RsComp时间常数设为100 μs，补偿串联电阻至70%以上，避免震荡



实验流程（以脑片神经元全细胞记录为例）

补偿和破膜

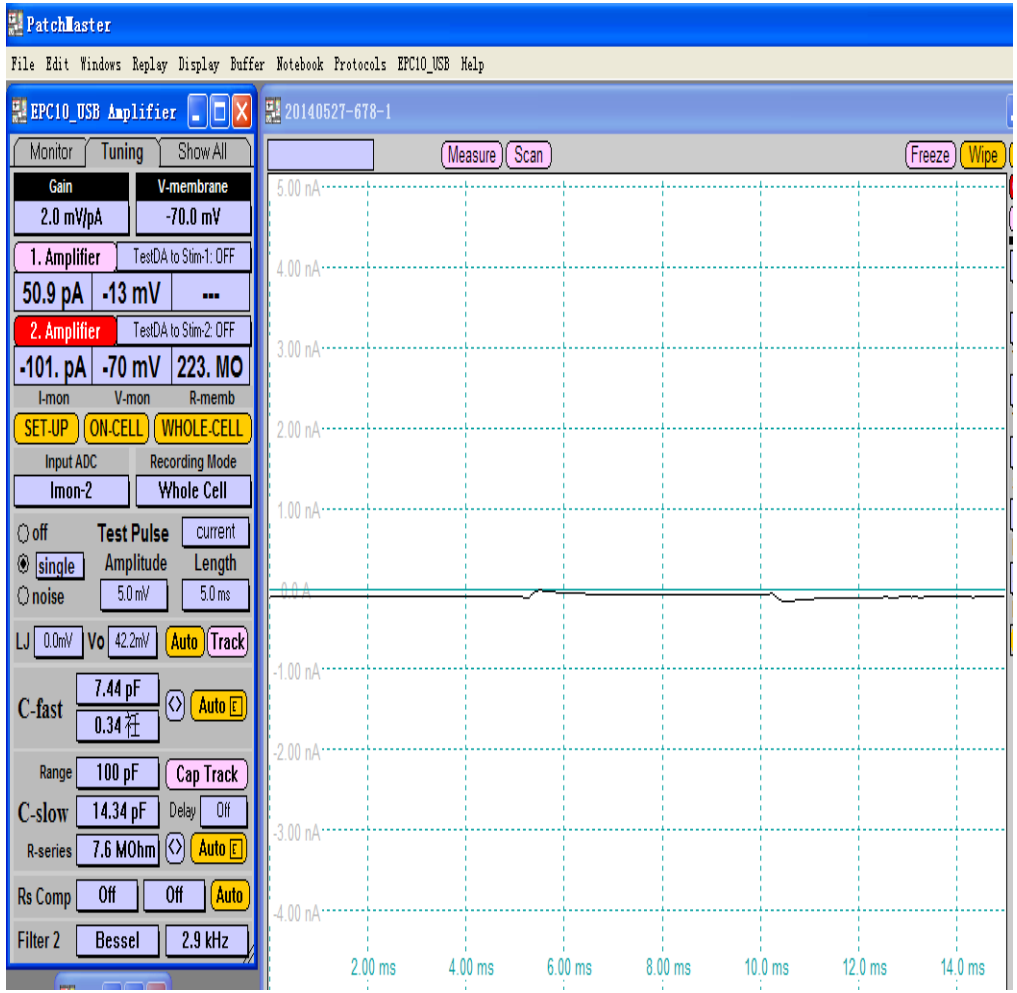
GΩ封接后先钳制到-70 mV，然后点击Cfast的Auto项，补偿电极电容

↓

用注射器或嘴吸一下，快速给负压并立即解除，破膜形成全细胞封接，出现膜充放电反应

↓

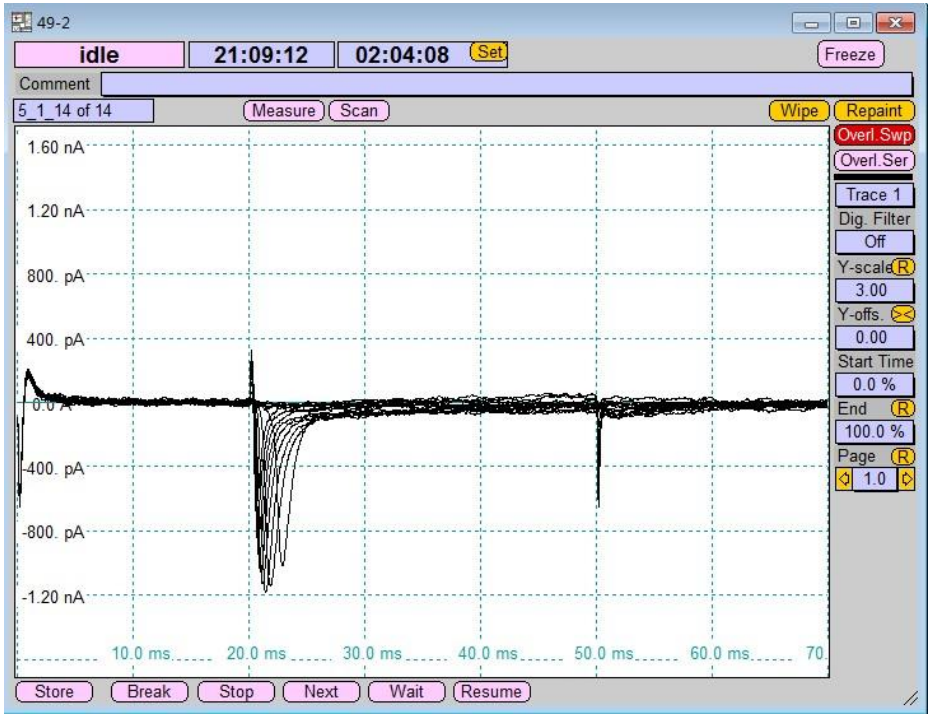
点击Cslow的Auto项补偿慢电容，RsComp时间常数设为10 μs，补偿串联电阻至70%以上，避免震荡



实验流程（以脑片神经元全细胞记录为例）

电压钳下记录电流（ Recording Mode Whole Cell ）

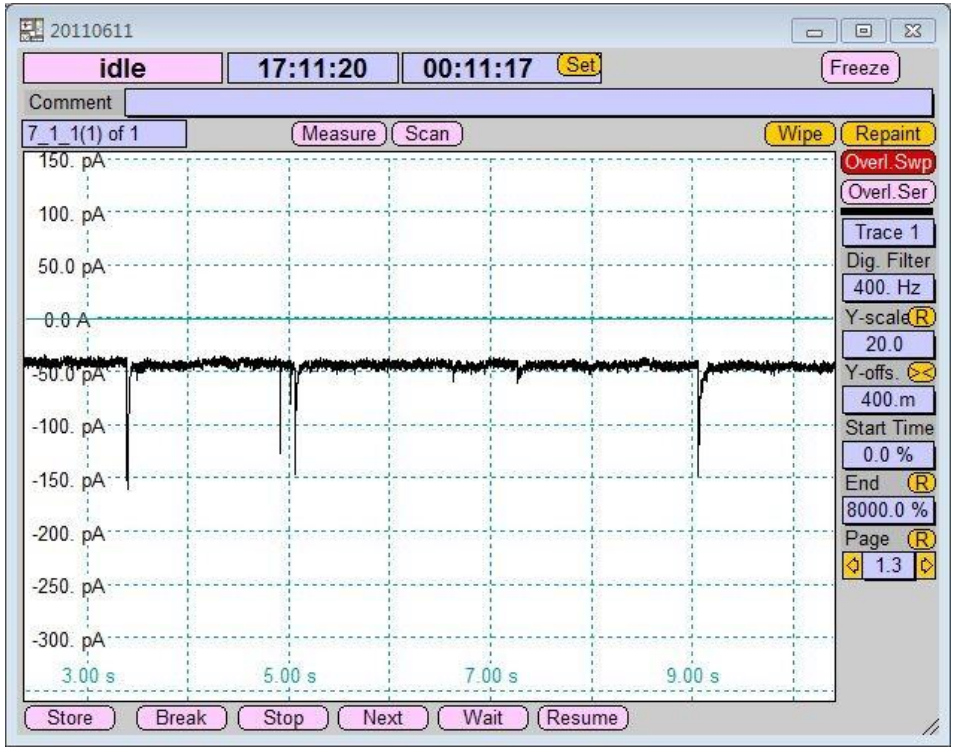
电压门控的Na^+电流



实验流程（以脑片神经元全细胞记录为例）

电压钳下记录电流（ Recording Mode Whole Cell ）

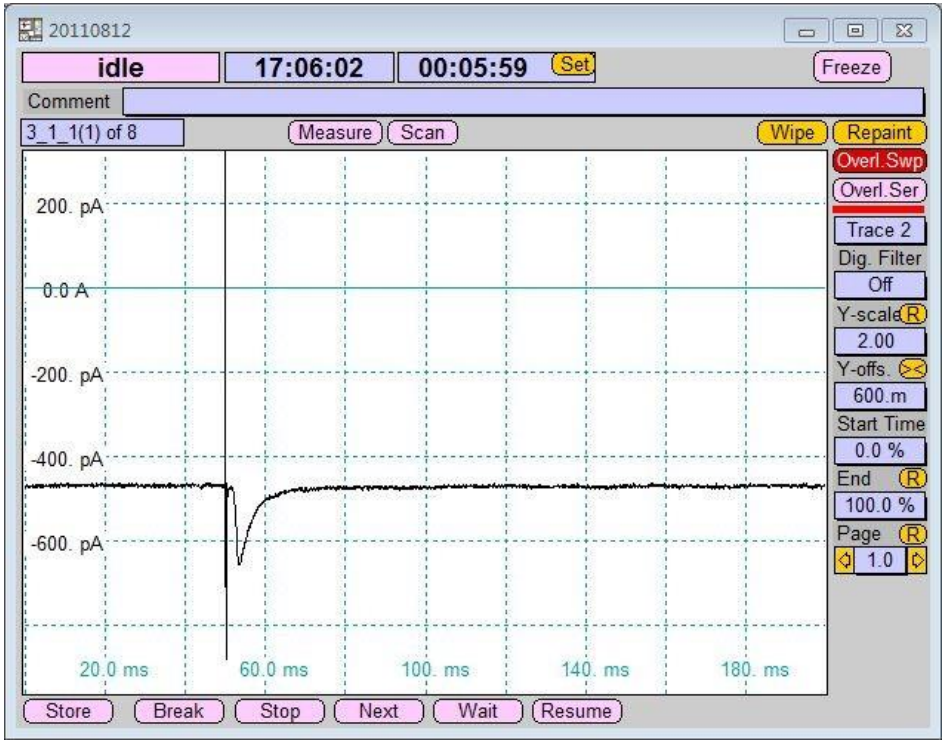
release



实验流程（以脑片神经元全细胞记录为例）

电压钳下记录电流（ Recording Mode Whole Cell ）

诱发突触后电流



实验流程（以脑片神经元全细胞记录为例）

电流钳下记录电位（ Recording Mode C-Clamp ）

动作电位（AP）

