

F 30

Markus Numberger/Andreas Draguhn

Patch-Clamp- Technik

Mit einem Geleitwort
von Bert Sakmann

Schmidtke

warzacher, D. Jackson

D. C. Darling

D. Jennings

M. Brickell

Weeks

Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg · Berlin · Oxford

Anschriften der Autoren:

Dr. Markus Numberger
Sparrstraße 3a

13353 Berlin
e-mail: 72632.720@compuserve.com

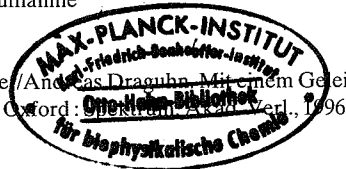
Dr. Andreas Draguhn
Institut für Physiologie der Charité
Tucholskystraße 2
10117 Berlin
e-mail: Draguhn@com.com.rz.charite.hu-berlin.de

Die Deutsche Bibliothek – CIP-Einheitsaufnahme

Numberger, Markus:

Patch-Clamp-Technik / Markus Numberger / Andreas Draguhn. Mit einem Geleitwort von Bert Sakmann. – Heidelberg ; Berlin ; Oxford : Spektrum Akademischer Verlag, 1996
(Labor im Fokus)
ISBN 3-8274-0023-6

NE: Draguhn, Andreas:



© 1996 Spektrum Akademischer Verlag GmbH Heidelberg · Berlin · Oxford

Alle Rechte, insbesondere die der Übersetzung in fremde Sprachen, sind vorbehalten. Kein Teil des Buches darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages photokopiert oder in irgendeiner anderen Form reproduziert oder in eine von Maschinen verwendbare Sprache übertragen oder übersetzt werden.

Es konnten nicht sämtliche Rechteinhaber von Abbildungen ermittelt werden. Sollte dem Verlag gegenüber der Nachweis der Rechteinhaberschaft geführt werden, wird das branchenübliche Honorar nachträglich gezahlt.

Geschützte Waren- und Gebrauchsnamen sind *nicht* besonders gekennzeichnet. Das Fehlen eines entsprechenden Hinweises berechtigt nicht zu der Annahme, daß es sich um freie Warenzeichen und Marken handelt.

Für Angaben zum Umgang mit elektronischen Geräten und entsprechende Hinweise zur Vermeidung von Unfällen können Autoren und Verlag keine Gewähr übernehmen. Derartige Angaben müssen vom Anwender im Einzelfall anhand von Informationen des Geräteherstellers auf ihre Richtigkeit überprüft werden.

Lektorat und Redaktion: Markus Pohlmann, Heidelberg
Grafiken (soweit nicht anders gekennzeichnet): Markus Numberger
Produktion: Susanne Tochtermann
Umschlaggestaltung: Zemsch' Werkstatt, München
Satz: Kühn & Weyh, Freiburg
Druck und Verarbeitung: Franz Spiegel Buch GmbH, Ulm

Inhalt

Geleitwort	IX
Vorwort	XI
Danksagung	XIII
1. Historische Grundlagen	
1.1 Bioelektrizität	1
1.2 Die Ionentheorie	2
1.3 Die Entwicklung der Patch-Clamp-Technik	4
1.4 Die Weiterentwicklung der Technik	12
Literatur	15
2. Meßplatz und Patchpipette	
2.1 Die Optik: Mikroskop und Video	19
2.1.1 Mikroskop	19
2.1.2 Videotechnik	22
2.2 Meßtisch und mechanische Komponenten	23
2.2.1 Meßtisch und Käfig	23
2.2.2 Mikromanipulator	28
2.2.3 Pipettenhalter	30
2.2.4 Meßkammern	32
2.2.5 Kammerperfusion und Applikationsverfahren	37
2.3 Elektronische Komponenten	40
2.3.1 Vorverstärker und Verstärker	40
2.3.2 Stimulationsgerät	44
2.3.3 Zwischenverstärker und Filter	45
2.4 Datenverarbeitung	46
2.4.1 Oszilloskop	46
2.4.2 Schreiber	47
2.4.3 Speichermedien	47
2.4.4 AD/DA-Wandler	49
2.4.5 Computer	50
2.4.6 Software	51
2.5 Gläser, Pipetten und Elektroden	53
2.5.1 Die Patchpipette	53
2.5.2 Pipettengläser	54

ie der Charité

m.com.rz.charite.hu-berlin.de

/ 67

INSTITUT
Mit einem Geleitwort
verl., 1996

266

Berlin · Oxford

achen, sind vorbehalten.
Verlages photokopiert
on Maschinen verwendbare

ermittelt werden.
rschaft geführt werden,

s gekennzeichnet.
u der Annahme,

entsprechende Hinweise zur
Gewähr übernehmen. Derartige
formationen des Geräte-

berger

2.5.3	Herstellung der Pipetten	57
2.5.4	Pipettenlösungen	61
2.5.5	Elektroden	63
	Literatur	65
3.	Die praktische Durchführung von Patch-Clamp-Experimenten	
3.1	Funktionsprinzip eines Patch-Clamp-Verstärkers	69
3.2	Meßanordnungen und ihre Besonderheiten	73
3.2.1	Bildung des Seal	73
3.2.2	Die Cell-attached-Konfiguration	79
3.2.3	Die Inside-out-Konfiguration	82
3.2.4	Die Whole-Cell-Konfiguration (Ganzzelleableitung)	84
3.2.5	Current-Clamp-Messungen	96
3.2.6	Die Outside-out-Konfiguration	99
3.3	Korrektur von Offset und kapazitiven Artefakten	101
3.3.1	Das Offsetpotential	101
3.3.2	Kapazitätskompensation	103
3.3.3	Kompensation des Serienwiderstandes	106
3.3.4	Nachträgliche Subtraktionsverfahren	112
3.4	Brummen, Rauschen und Filterung	114
3.4.1	Netzbrummen	114
3.4.2	Rauschen	118
3.4.3	Filterung	122
3.5	Auswertung der Daten	126
3.5.1	Einzelkanalmessungen	126
3.5.2	Ganzzellmessungen	134
	Literatur	140
4.	Spezielle Anwendungen der Patch-Clamp-Technik	
4.1	Diskontinuierliche Verstärker	143
4.2	Interne Pipettenperfusion	145
4.3	Der Makropatch	146
4.4	Der perforated Patch	149
4.5	Heterologe Expressionssysteme	152
4.5.1	<i>Xenopus</i> -Oocyten als heterologes Expressionssystem	153
4.5.2	Transfizierte Zellen	156
4.6	Patch-Clamp-Experimente an Schnittpräparaten	158
4.6.1	Die „blinde“ Methode	159

57
61
63
65

mp-Verstärkers 69
derheiten 73
73
79
82
anzzelleitung) 84
96
99
ven Artefakten 101
101
103
ndes 106
ren 112
g 114
114
118
122
126
126
134
140

n-Clamp-Technik

143
145
146
149
152
Expressionssystem 153
156
chnittpräparaten 158
159

4.6.2 Die Reinigungsmethode 160
4.6.3 Die Mischtechnik 160
4.7 Patch-Clamp-Experimente an Organellen 162
4.7.1 Mitochondrien und Chloroplasten 162
4.7.2 Intrazelluläre Membranen 163
4.7.3 Zellkerne 163
4.8 Anfärben von Zellen 163
4.9 Bildgebende Verfahren 165
4.10 Kombination der Patch-Clamp-Technik mit
molekularbiologischen Nachweismethoden 168
4.10.1 Die Transkriptionsmethode 169
4.10.2 Die RT-PCR-Methode 171
4.11 Kapazitätsmessungen 173
4.12 Elektrochemische Nachweisverfahren 176
4.13 Rauschanalyse 178
Literatur 181

Anhang

Anhang 1: Bad- und Pipettenlösungen 189
Anhang 2: Hersteller und Händler 193

Index 203