

Neurosim

Computersimulation von Nervensignalen

BIOLOGISCHER HINTERGRUND

In der **Elektrophysiologie** beschäftigt man sich mit der Messung von **elektrischen Signalen (Spannungen oder Strömen)** im Nervensystem. Anders als in metallischen Leitern, in denen elektrischer Strom ein Resultat von Elektronenbewegungen ist, sind in biologischen Systemen Ionenverschiebungen zwischen dem Inneren und Äußeren von Nervenzellen dafür verantwortlich.

DAS RUHEMEMBRANPOTENTIAL

Es befinden sich fünf Ionenarten in der inneren oder äußeren Umgebung der Zellmembran, welche für die Ausbildung des Ruhepotenzials und von Aktionspotenzialen wichtig sind:

Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- und organische Anionen (A^-)

Die Zellmembran - bestehend aus einer Doppelpospholipidschicht - ist vor allem für **Kalium-Ionen (K^+)** und (je nach Zelle) für **Chlorid-Ionen (Cl^-)** durchlässig, sehr wenig durchlässig für **Natrium-Ionen (Na^+)**, „Leckströme“ und undurchlässig für organische Anionen.

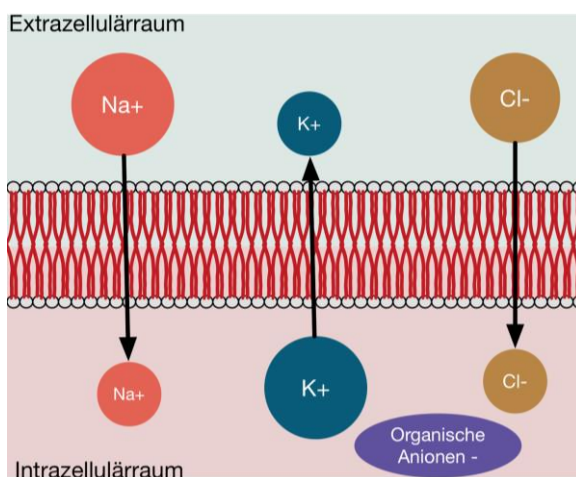


Abb. 1:

Strömungsrichtung und Konzentration der Ionen im Extra- und Intrazellulärraum

Das **Ruhemembranpotential** wird zum größten Teil von den K^+ - Ionen bestimmt. Betrachten wir im Folgenden eine Zellmembran, die nur für K^+ durchlässig ist. Teilchen wie K^+ bewegen sich zufällig, tendieren aber zu gleichmäßiger Verteilung in Lösungen (**Brownsche Molekularbewegung**). Im Intrazellulärraum von Neuronen finden wir eine sehr hohe Konzentration von K^+ und im Äußeren eine sehr

niedrige (Abb. 2). Bei geöffneten K^+ -Kanälen fließen also K^+ vermehrt aus der Zelle hinaus. Sie folgen ihrem chemischen Gradienten („**Konzentrationsgefälle**“) und streben ein Gleichgewicht an.

Fließen, die positiven geladenen K^+ aus der Zelle entstehenden elektrische Spannungsunterschiede. Geladene große Anionen, wie Peptide, können die Zellmembran nicht passieren und dies führt im Inneren der Zelle zu einem Überschuss an negativen Ladungen. **Wenn K^+ aus der Zelle strömen, wird**

der Intrazellulärraum negativer. Da es aber in den Nervenzellen „Leckströme“ an Na^+ -Ionen gibt, muss die **Natrium-Kalium-Pumpe** die Na^+ -Ionen innen gegen K^+ -Ionen von außen austauschen. Die Natrium-Kalium-Pumpe ist eine **elektrogene Pumpe**, die 3 Na^+ -Ionen gegen 2 K^+ -Ionen austauscht und deshalb eine Nettobilanz von einer **negativen Ladung** innen besitzt. Der extrazelluläre Raum hingegen wird durch die K^+ **positiver** geladen. Es wirkt nun ein elektrischer Gradient, der dem chemischen Gradienten entgegenwirkt. Es stellt sich für K^+ ein Gleichgewicht ein, bei welchem der Ein- und Ausstrom von K^+ equivalent ist („**Fließgleichgewicht**“). In diesem **elektrochemischen Gleichgewicht** sind die intra- und extrazellulären Konzentrationen von K^+ verschieden, deshalb ist eine Potenzialdifferenz messbar. Eine Nervenzelle zeigt gegenüber dem sie umgebenden Milieu ein **negatives Ruhemembranpotenzial** (meist zwischen -90 und -40 mV).

NERNST - GLEICHUNG

Dieses Fließgleichgewicht von Ionen - abhängig von ihrer Ladung und Konzentration innen und außerhalb einer Zelle - lässt sich mithilfe der **Nernst-Gleichung** beschreiben. Sie beschreibt das Gleichgewichtspotenzial (grob gesagt bei welchem Potenzial sich die Ionen im Gleichgewicht befinden d.h. keine 'Fließrichtung' besitzen) einzelner Ionen.

(Hier die vereinfachte Nernst-Gleichung für einwertige Ionen bei 20°C)

$$E_{ion} = 58mV * \log\left(\frac{c_a}{c_i}\right)$$

Betrachtet man nun die Ionen-Konzentrationen (hier am Beispiel eines Tintenfischaxons, Tab. 1) lässt sich für K^+ ein Gleichgewichtspotenzial (E_K) von -93mV errechnen. Für Na^+ ergibt sich ein Gleichgewichtspotenzial (E_{Na}) von +55mV.

Tabelle 1: Ionale Zusammensetzung des extra- und intrazellulären Milieus beim Tintenfisch-Riesenaxon

Ion	c außen [mmol]	c innen [mmol]
Natrium	460	50
Kalium	10	410
Chlorid	540	60

GOLDMANN - GLEICHUNG

Die Auswirkungen mehrerer Ionen auf das Membranpotenzial einer Nervenzelle erklärt die **Goldmann-Hodgkin-Katz Gleichung** (kurz: Goldman-Gleichung). Sie berücksichtigt Permeabilitäten und Konzentrationen multipler Ionen innen und außerhalb der Membran und führt deren Gleichgewichtspotenziale zu einem **Membranpotenzial** zusammen.

Die Abweichung des vorhandenen Membranpotenzials vom Gleichgewichtspotenzial eines Ions wird **elektromotorische Kraft (EMK)** genannt. Sie bestimmt, ob ein Ion entweder in oder aus der Zelle getrieben wird.

$$V_m = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{p_K [K^+]_o + p_{Na} [Na^+]_o + p_{Cl} [Cl^-]_i}{p_K [K^+]_i + p_{Na} [Na^+]_i + p_{Cl} [Cl^-]_o} \right)$$

HODGKIN - HUXLEY

(Für eine ausgezeichnete Erklärung empfehlen wir dieses Video; bei Google suchen "Voltage Clamp animation" erster Link: http://www.sumanasinc.com/webcontent/animations/content/voltage_clamp.html)

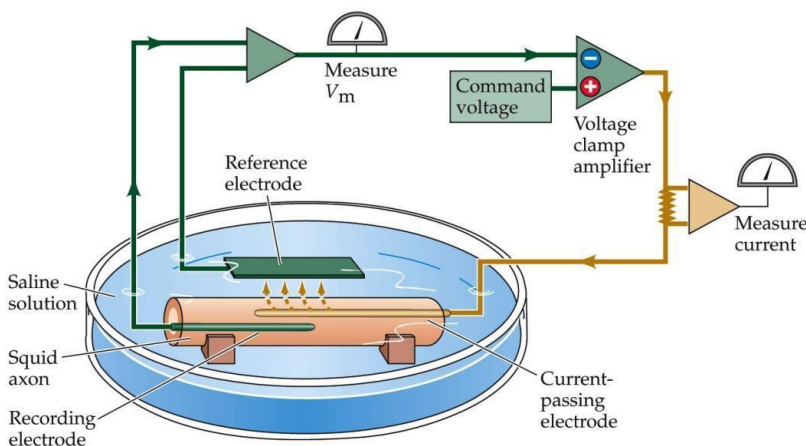


Abb. 2: Aufbau für die Voltage-clamp Methode

Die Voltage-Clamp-Technik ist eine der wichtigsten Standardmethoden der Elektrophysiologie. Mit ihrer Hilfe **können Ströme über eine Zellmembran** gemessen und so auf die fließenden Ladungsträger in Form von Ionen geschlossen werden. Die Membranspannung wird durch eine Strominjektion auf einer experimentell vorgegebenen Sollspannung gehalten (geklemmt). Die über die Potentialelektrode (recording electrode) gegenüber dem geerdeten Außenmedium (reference electrode) anliegende Membranspannung (V_m) wird am Differenzverstärker gemessen und mit einer vorgegebenen Sollspannung (command voltage) am VC-Verstärker verglichen. Abweichungen der Membranspannung von der Sollspannung führen zu einem Stromfluss (dem Klemmstrom) am Verstärkerausgang, der stark verstärkt über die Stromelektrode (current passing electrode) als Ausgleichsstrom ins Zellinnere fließt, bis das Membranpotential dem Sollwert ($V_m = V_{soll}$) angeglichen ist. Ionenströme durch die Membran, die das Membranpotential z.B. während eines Aktionspotentials verändern würden, können so indirekt über die zur Aufrechterhaltung der Sollspannung nötige Strominjektion gemessen werden.

AKTIONSPOTENZIALE

Spannungsänderungen im dendritischen Eingangsbereich einer Nervenzelle, die durch synaptische Ströme ausgelöst werden, führen auch zu Spannungsänderungen am entfernt liegenden Axonhügel. Dort befinden sich spannungsgesteuerte Ionenkanäle in hoher Dichte.

Erreicht das Membranpotential hier eine bestimmte Schwelle, öffnen sich spannungsabhängige Natriumkanäle nach dem "Alles oder Nichts"-Prinzip (Abb. 2). Einströmende positive Na^+ -Ionen depolarisieren die Membran, so dass immer mehr spannungsaktivierte Kanäle öffnen und sich dieser Prozess verstärkt ("Lawineneffekt"). Die Permeabilität der Membran für Na^+ -Ionen erhöht sich stark und nach Goldman nähert sich das Membranpotential dem Gleichgewichtspotential von Natrium (E_{Na}) an. Die spannungsabhängigen Na^+ -Kanälen sind nur eine kurze Zeit offen, sodass der Na^+ -Strom unterbunden wird (Abb. 3).

Mit einer geringen Verzögerung öffnen nun spannungsaktivierte K^+ -Kanäle. Ausströmendes K^+ bringt die Zellmembran wieder auf ein negatives Potential zurück (Repolarisation), bei welchem die K^+ -

Kanäle wieder schließen (zeitunabhängig). Solange noch nicht alle spannungsabhängigen K^+ -Kanäle wieder geschlossen sind, kann das resultierende Membranpotential sogar in eine negativere Richtung als E_{K} verschieben – es kommt für eine kurze Zeit zu einer **Hyperpolarisierung**.

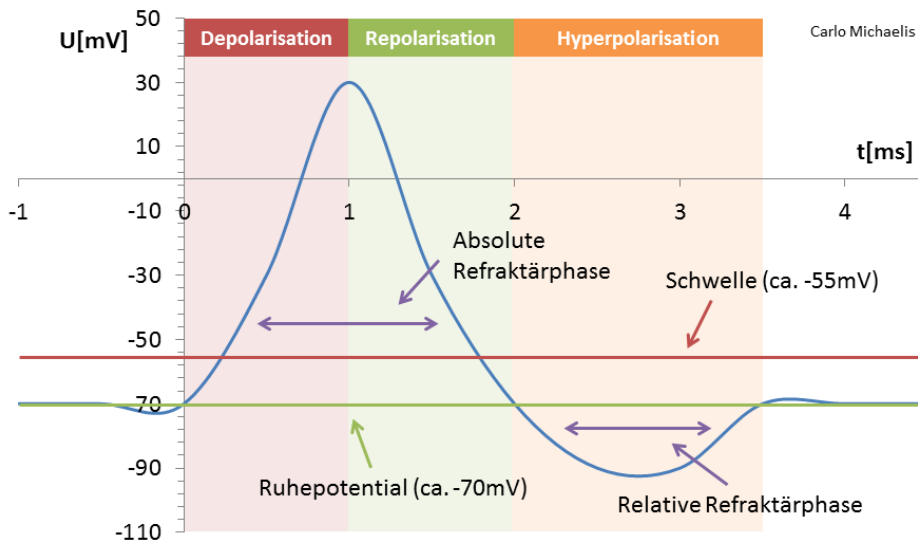


Abb. 3: Dargestellt ist der zeitliche Verlauf eines Aktionspotentials.

Die Stärke einer Erregung wird **nicht** über die Amplitude des Aktionspotentials codiert, sondern über die Aktionspotentialfrequenz. Eine sehr kurze Erregung wird u.U. nur ein einziges Aktionspotential auslösen. Langanhaltende Erregungen führen zu einer Serie von Aktionspotentialen (Salve oder "Burst" genannt), deren Frequenz direkt von der Stärke der Depolarisierung, z.B. durch einen stärkeren Reiz in Rezeptoren, abhängt (**Frequenzkodierung**). Die maximale Entladungsfrequenz ist begrenzt durch die Dauer eines einzelnen Aktionspotentials und der sich anschließenden Refraktärzeit (2 ms) und liegt meist unter 500 Hz.

REFRAKTÄRPHASE

Na^+ -Kanäle gehen vom **offenen Zustand** innerhalb einer Millisekunde in einen geschlossenen **inaktivierbaren Zustand** über. Währenddessen kommt es, wie oben beschrieben, aufgrund der ausströmenden Kaliumionen zur Repolarisation und schließlich sogar zu einer Hyperpolarisation. Das Neuron kann für diesen Zeitraum nicht erneut auf einen Reiz reagieren (da die Natriumkanäle inaktiviert sind). Man unterscheidet zwischen der **absoluten Refraktärzeit**, in der kein weiteres Aktionspotential auslösbar ist und der darauffolgenden **relativen Refraktärzeit**, in der die Schwelle zur Auslösung höher liegt und die Aktionspotentialamplitude noch nicht den höchsten Wert erreicht (Abb. 3).

Damit Na^+ -Kanäle den **geschlossen aktivierbaren Zustand** erreichen, muss die Zelle das Ruhemembranpotential wiederherstellen. Da sie sich aber noch in der Hyperpolarisationsphase befindet, muss zunächst die Natrium-Kalium-Pumpe für den Austausch von Kaliumionen und Natriumionen sorgen, um so schließlich das Ruhemembranpotential einzustellen.

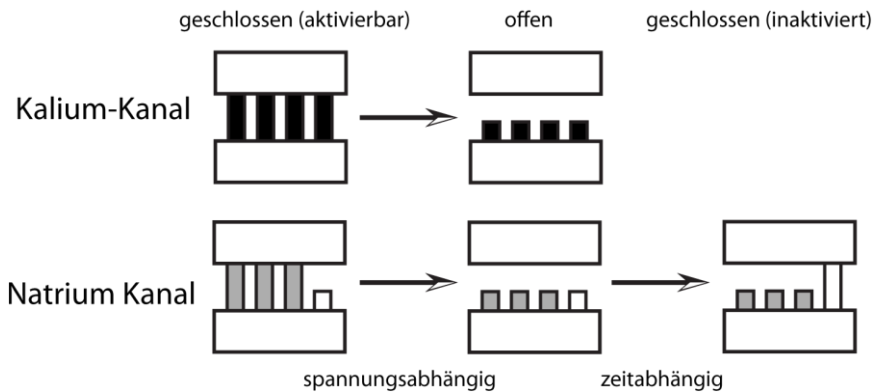


Abb. 4: Zustände des K^+ bzw. Na^+ -Kanals. K^+ -Kanäle besitzen zwei Zustände, Na^+ -Kanäle gehen bei konstanter Depolarisierung in einen dritten, inaktivierten Zustand über.

Dies beruht auf zwei Bereichen im Na^+ -Kanal, die verschiedenartig auf eine Spannungsänderung reagieren (drei m- und ein h-Tor).

Eine Depolarisierung der Membran erhöht die Offenwahrscheinlichkeit der

m-Tore. Mit einer Verzögerung schließt aber das h-Tor und nur innerhalb dieser Verzögerung ist die Pore offen für einen Na^+ -Einstrom. Die Wahrscheinlichkeit, dass sich ein h-Tor öffnet, erhöht sich erst bei Erreichen des Ruhemembranpotentials.

BEWEGUNGSWAHRNEHMUNG

Die Wahrnehmung von Bewegungen ist überlebenswichtig für alle Organismen, die sehen können und so wichtig wie das Unterscheiden von Hell und Dunkel - z.B. für die Orientierung und das Entdecken von Beute, Prädatoren oder Artgenossen.

Die Richtung einer Bewegung kann aber nicht durch nur einen einzelnen Photorezeptor codiert werden. Wenn sich ein Objekt von links nach rechts bewegt und wieder zurück, würde das Outputsignal des Photorezeptors für beide Richtungen gleich bleiben, egal, in welche Richtung sich das Objekt bewegt. Allerdings wurden

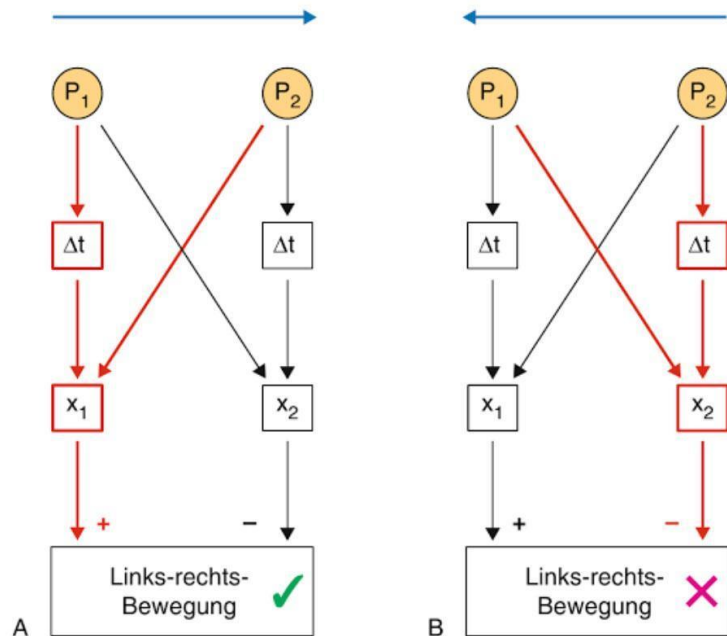


Abb. 5: Reichardt-Detektor bei Bewegung nach Links-Rechts und umgekehrt.

Neurone gefunden, die auf unterschiedliche Richtungen differenziert reagieren und damit darauf hindeuten, dass einige Synapsen später ein Verrechnungsprozess stattfindet, der die **richtungs-**

unselektive Antwort der Photorezeptoren **in eine richtungsselektive Antwort umwandelt (DS-Neurone)**. Diese DS-Interneurone wurden bis heute in fast allen Spezies gefunden, die sehen können.

Das bekannteste Prinzip der ‘Motion Detection’ ist das von den gleichnamigen Forschern entwickelte **Reichhardt - Hassenstein Modell**. Dieses Modell besteht aus zwei Untereinheiten, die symmetrisch angeordnet sind. Jede dieser Untereinheiten bildet ein System, das eine Richtung codieren kann (z.B. von links nach rechts oder von rechts nach links, siehe Abb.4). Angenommen, ein visueller Reiz (z.B. ein Auto) bewegt sich von links nach rechts, so erreicht er zunächst Neuron P1, das sein Signal über weiter an das Interneuron X1 schickt. Erreicht der visuelle Reiz Neuron P2, schickt auch dieses sein Signal (ohne Zeitverzögerung) an das Interneuron X1 weiter. Ohne einen Zeitfilter nach P1 zu schalten, würde das Signal von P1 zuerst bei x1 ankommen (weil eher detektiert) und kurz darauf das Signal von P1. Wie in Abb. 4b zu sehen, ist das Signal eines Neurons aber nicht genug, um bei x1 über den Schwellenwert zu kommen. Erst, wenn das Signal durch den Zeitfilter verzögert wird, kommen P1 und P2 zeitgleich bei x1 an und werden addiert. Das Ergebnis: Der Schwellenwert wird überschritten, das Neuron schickt den Wert an das nächste Interneuron weiter.

Dieser Vorgang wird in beiden Untereinheiten durchgeführt und das resultierende Signal gegeneinander subtrahiert, so dass man als Output eine richtungsselektive Antwort erhält. In Abb. 4 ist zu sehen, wie eine Bewegung von links nach rechts eine aktivierende Wirkung auf das Neuron hätte (rotes Plus, weil $\text{Gesamt} = 1 - 0 \Rightarrow 1$), während die umgekehrte Richtung dieses hemmt (rotes Minus, weil $\text{Gesamt} = 0 - 1 \Rightarrow -1$).

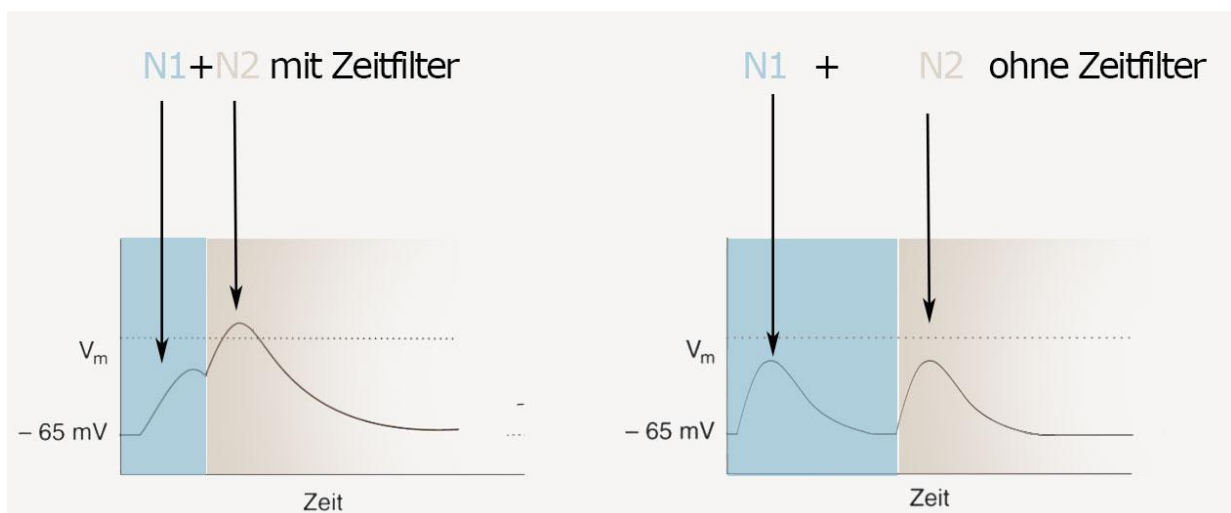


Abb.6: Links zu sehen, wie das AP in N3 aufsummiert wird, wenn N1 durch den Zeitfilter erst verzögert und damit zeitgleich mit N2 ankommt: Das AP wird aufsummiert und ist in der Lage den Schwellenwert zu überschreiten. Ein Setup ohne den Zeitfilter bei N1 würde zu dem Ergebnis rechts führen. Beide APs kommen nacheinander an und erreichen den Schwellenwert nicht, weil die Potentiale sich nicht summieren.

Abseits der Richtung der Bewegung kann über den Reichardt-Detektor auch die **Geschwindigkeit** codiert werden, da das Interneuron nur feuert, wenn **sowohl Signal 1 als auch 2 gleichzeitig dort** eintreffen. Über unterschiedlich starke zeitliche Verzögerung kann so z.B. schnell, mittel und langsam unterschieden werden. Beispielsweise erkennt Neuron 2 ein schnelles Objekt von links nach rechts und leitet die Erregung direkt an das Interneuron weiter. Damit ein Objekt als ‘schnell’ erkannt werden kann, muss Signal 1 zeitnah mit Signal 2 eintreffen – seine zeitliche Verzögerung muss dementsprechend niedriger ausfallen. Ein Detektor, der eher langsame Objekte erkennt, würde mit einer

höheren zeitlichen Verzögerung ausgestattet sein. Das heißt aber auch, dass **für jede Geschwindigkeit ein eigener Reichardt-Detektor** vorhanden sein muss (Animation zur Veranschaulichung: <https://isle.hanover.edu/Ch08Motion/Ch08ReichardtDetectors.html>).

Die Adaption solcher neuronalen Synapsen ist auch der Grund für den **Bewegungsnacheffekt**, der ausgelöst wird, wenn man seinen Blick längere Zeit auf ein sich bewegendes Objekt fixiert (**Wasserfalleffekt**) und dann auf ein unbewegtes Objekt schaut.

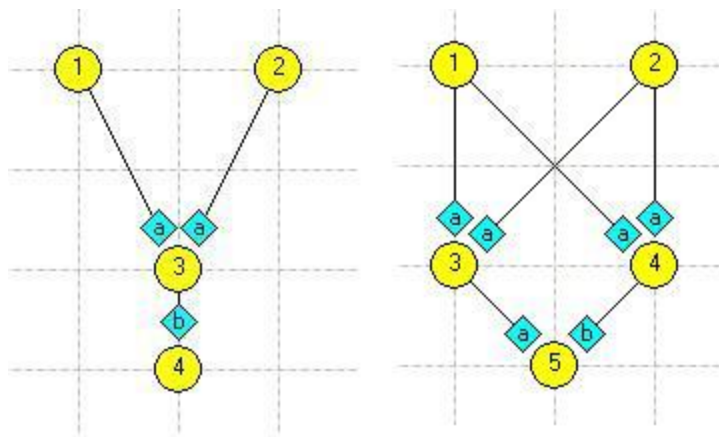


Abb. 7: Barlow-Levick-Modell links im Vergleich zum Reichardt-Hassenstein-Modell rechts. Die gelben Nummern markieren Neurone und die Stränge mit (a) erregende Synapsen und mit (b) hemmende Synapsen. Man beachte, dass Neuron 4 bei Barlow-Levick immer feuert, bis es von Neuron 3 gehemmt wird.

Das zweite bekannte Modell ist das **Barlow-Levick-Modell**. Es ist fast identisch mit dem Reichardt-Detektor, besteht aber **nur aus einer Untereinheit** desselben.

Auch hier werden zwei Reizimpulse verglichen, wovon ein Signal zeitverzögert weitergegeben wird. In Abbildung 5 ist links das Barlow-Levick-Modell im Vergleich mit dem Hassenstein-Reichardt-Modell rechts zu sehen. Im Gegensatz zu letzteren Modell besitzt das Barlow-Levick-Modell **eine bevorzugte Richtung**, bei der der Detektor (in Abb.5 Neuron 4) unverändert feuert. Bei einem Impuls in umgekehrter Richtung (**Null-Richtung**), bei der beide Signale wie beim ersten Modell zeitnah eintreffen, feuert Neuron 3 und hemmt damit den Detektor ("b" in Abb. 5). Durch die Hemmung wird das Signal in Null-Richtung identifiziert. Bei einer Bewegung in die bevorzugte Richtung, kommen die Signale zeitverzögert bei Neuron 3 an - dieses feuert demzufolge nicht an den Detektor weiter. Dessen Output bleibt unverändert.

FRAGEN ZUR ÜBERPRÜFUNG IHRES WISSENS

1. Geben Sie die Nernst-Gleichung an und erklären Sie was damit berechnet werden kann?
2. Erklären Sie weshalb das Gleichgewichtspotenzial von Kalium nahe am Ruhemembranpotenzial der Nervenzellen liegt und in welchem Zusammenhang das Gleichgewichtspotenzial von Natrium und der Peak von Aktionspotenzialen haben.
3. Welche Möglichkeiten gibt es, einzelne Ionenkanäle auszuschalten, um damit den Beitrag dieses Ionenkanals zum Aktionspotential untersuchen zu können?
4. Was bedeutet EMK und was beschreibt es?

3. Kurstag VM Neurobiologie WiSe 18/19

5. Wie verhalten sich Na^+ und K^+ in einem Voltage-Clamp Experiment, wenn ausgehend von einem Haltepotential von -70 mV eine Klemmspannung von -10 mV angelegt wird? Was ändert sich, wenn ein Haltepotential von -30 mV verwendet wird?
6. Erklären Sie das Ohm'sche Gesetz.
7. Wie wird das Reichardt-Hassenstein-Modell definiert?

EXPERIMENTELLE AUFGABEN

1. MODUL GOLDMANN

In diesem Versuch lernen Sie den Einfluss der Ionenkonzentrationen auf das Ruhemembranpotential kennen, sowie den Umgang mit der Nernst- und Goldman-Hodgkin-Katz-Gleichung.

Starten Sie das Programm **NEUROSIM**. Starten Sie das Modul **Goldman**.

- 1.1 Beschreiben Sie kurz den Versuchsaufbau mit allen Parametern (Ionenkonzentrationen, Temperatur). Fertigen Sie auch einen Screenshot an.

Anmerkung: Ein Screenshot allein reicht nicht aus, um den Versuchsaufbau zu beschreiben.

- 1.2 Die Nährlösung, in der sich die zu untersuchende Zelle befindet, enthält drei unterschiedliche Ionen in unterschiedlichen Außen- und Innenkonzentration.

Ändern Sie die K^+ -Konzentration des Außenmedium (beginnend bei 10 mM bis zu 800 mM in 50er Schritten). Notieren Sie jeweils das Gleichgewichtspotential (E_K) für K^+ und das tatsächlich resultierende Membranpotential (V_m).

- 1.3 **Nach dem Praktikum:** Tragen Sie Membranpotenzial und die Außenkonzentration von K^+ in einer Grafik (2 Graphen) mit logarithmierter x-Achse auf! (Tipp: Verwende dafür ein x,y-Streudiagramm in Excel. Die x-Achse kann dann logarithmisch skaliert werden: Rechtsklick auf die x-Achse > Achse formatieren > Häkchen bei logarithmischer Skalierung setzen)

Weshalb weicht V_m von E_K bei kleinen extrazellulären K^+ -Konzentrationen ab? (Tipp: Sehen Sie sich den Effekt kleiner und großer $[K^+]_a$ in der Goldman-Gleichung an.)

- 1.4 **Nach dem Praktikum:** Stellen Sie für folgende Ionenverteilungen und Permeabilitäten die jeweiligen Gleichgewichtspotentiale bei 20°C mit Hilfe der Nernst'schen Gleichung auf und errechnen Sie mithilfe der Goldman-Gleichung das resultierende Membranpotential!

Ion	Relative Permeabilität	Intrazelluläre Konzentration	Extrazelluläre Konzentration
K^+	1.0	124	4
Na^+	0.04	50	470
Cl^-	0.3	55	580

2. MODUL HODGKIN - HUXLEY (CURRENT CLAMP)

In diesem Versuch lernen Sie den Zusammenhang zwischen Reizströmen und der Frequenz der Aktionspotentiale. Dieser Programmteil simuliert die Generierung und die Verläufe von Aktionspotentialen. Ausgelöst werden die Aktionspotentiale durch eine direkte Strominjektion.

Laden Sie die Datei **Param2.nrs**. (File > Open > Desktop > Neurobiologie Vertiefungsmodul > NeurosimConfig > Ordner HH).

2.1 Beschreiben Sie kurz den Versuchsaufbau, inklusive aller Parameter. Fertigen Sie auch eine Abbildung an.

2.2 Stellen Sie eine Temperatur von 20°C ein. Verringern Sie die Stromamplitude des Stimulus ("Stimulation" – current clamp – amp – pulse 1) ausgehend vom Wert 50 μA , bis gerade kein Aktionspotential mehr auftritt (auf 2 Nachkommastellen genau).

Bei welcher Stromstärke wird erstmals ein Aktionspotential ausgelöst?

2.3 Erhöhen Sie nun in 10er Schritten den Stimulus. Messen und notieren Sie die Maximalspannung (in mV) beim Maximum des Aktionspotentials (mind. 5 Werte).

Tipp: Im Grafikfenster über "measure" den Cursor (Kreuz) auf den gewünschten Punkt setzen, klicken und die Werte notieren.

Erstellen Sie aus den Werten eine Tabelle mit den Spalten Stromstärke in μA , Zeit bis zum Erreichen der Maximalspannung in ms und Maximalspannung des Aktionspotentials in mV.

Weshalb entsteht das Aktionspotential bei kleinen Reizströmen später als bei hohen Strömen? Denken Sie an den "Lawineneffekt" der Öffnung der Na^+ -Kanäle.

Laden Sie nun die Datei **IFCURVE.nrs** (File > Open > Desktop > Neurobiologie Vertiefungsmodul > NeurosimConfig > Ordner HH).

2.4 Steigern Sie nun den Reizstrom bis ca. 130 μA (erst in kleinen, dann in großen Schritten) und notieren Sie die resultierende Entladungsfrequenz. (Zählen Sie dazu manuell alle Aktionspotentiale in 100 ms und rechnen Sie anschließend hoch, wie viele Aktionspotentiale in einer Sekunde auftreten) Beobachten Sie auch die Amplituden der Aktionspotentiale.

Erstellen Sie eine Tabelle und eine Grafik mit den resultierenden Frequenzen der Aktionspotenziale.

Was beobachten Sie bei stärkeren Strominjektionen hinsichtlich der Amplitude der ersten Aktionspotentiale und des Entladungsverhaltens über die gesamte Stimulusdauer? Woran kann das liegen? Bedenken Sie dabei die schwächer werdende Repolarisation bei starker Strominjektion.

3. MODUL HODGKIN - HUXLEY (VOLTAGE CLAMP)

In einem simulierten Voltage-Clamp-Experiment untersuchen wir die Aktivierung von spannungsabhängigen Na^+ und K^+ -Kanälen.

Laden Sie die Datei **PARAM4.nrs** (File > Open > Desktop > Neurobiologie Vertiefungsmodul > NeurosimConfig > Ordner HH).

3.1 Beschreiben Sie den Versuchsaufbau mit allen Parametern (Stimulus-Eigenschaften, Ionenkonzentration, Temperatur). Fertigen Sie auch eine Abbildung an.

3.2 Die Haltespannung ist auf -70 mV ("Hold") und die Klemmspannung auf $+30$ mV ("Clamp") gesetzt. Starten Sie den Spannungssprung durch "Start" und lassen Sie sich dabei den ausgelösten Gesamtstrom anzeigen.

Wie verläuft der Stromfluss in Abhängigkeit von der Zeit?

3.3 Verwenden Sie selektive Kanalblocker (TTX & TEA), um sich den K^+ -Strom bzw. den Na^+ -Strom isoliert anzuschauen. Lassen Sie sich dabei über Traces den Kalium- und Natriumstrom in verschiedenen Farben anzeigen. Speichern Sie ein Bild von beiden isolierten Strömen ab und beschreiben Sie deren Verlauf.

3.4 Testen Sie ausgehend vom Haltepotential (-100 mV) verschiedene Klemmspannungen (von -50 bis $+50$ mV in 10 mV Schritten) und bestimmen Sie jeweils den maximalen Stromfluss von Kalium- bzw. Natrium-Ionen (jeweils entsprechenden Kanalblocker verwenden)

Nach dem Praktikum: Tragen Sie die gemessenen maximalen Stromstärken I_{Na} und I_{K} in Abhängigkeit von der Klemmspannung als I-V-Kurve auf und vergleichen und diskutieren Sie kurz die Verläufe.

4. BEWEGUNGSWAHRNEHMUNG

In diesem Versuch setzen Sie sich mit neuronalen Netzwerken und den beiden Modellen der Bewegungsdetektion auseinander.

Öffnen Sie NeuroSim und wählen Sie das Modul „**Networks**“ aus. Laden Sie die Datei **Networks.nrs** (File>Open>Desktop>Neurobiologie Vertiefungsmodul>NeuroSimConfig>Networks).

3. Kurstag VM Neurobiologie WiSe 18/19

Im rechten Fenster werden neuronale Netzwerke konstruiert, im linken kann man die gemessenen Aktionspotentiale als Ergebnisse ablesen. **Um ein Neuron zu dem Netzwerk hinzuzufügen**, wählen Sie im oberen Menü **Neuron>Add** aus und linksklicken Sie auf eine Stelle im rechten Fenster, wo Sie dieses platzieren möchten. Um eine **Synapse hinzuzufügen**, wählen Sie im oberen Menü **Connexion>Add** und klicken Sie auf ein Neuron, das verbunden werden soll. Daraufhin öffnet sich ein Fenster und Sie können die Nummer der Neurone eingeben, die als Start- und Endpunkt dienen sollen.

Schauen Sie sich die Einstellungen für Pulse 1 und 2 an. Mit diesen beiden zeitverzögerten Impulsen wird ein sich von links nach rechts bewegendes Objekt simuliert.

4.1. Konstruieren Sie ein neuronales Netz (z.B. Barlow-Levick), das eine Bewegung von links nach rechts detektieren kann.

Hinweis: Um einen zeitverzögerten Filter einzubauen, rechtsklicken Sie auf die Synapse und wählen bei ‚synaptical delay‘ einen Wert aus (hier: 200ms).

Was passiert, wenn das Objekt sich stattdessen von rechts nach links bewegt? (Dazu einfach die Targetnummer von Pulse 1 und Pulse 2 austauschen, so dass der erste Impuls bei Neuron 2 auftritt und der zweite danach bei Neuron 1) Dokumentieren Sie Ihre Ergebnisse und erklären Sie diese.

4.2. Erweitern Sie Ihr Netz so, **dass es einem Reichardt-Detektor entspricht**. Beschreiben Sie die Änderungen, die sie vorgenommen haben und interpretieren Sie die Ergebnisse.

Tipp 1: Setzen Sie den Initial Threshold des letzten Neurons auf -50mV, da es ansonsten auch bei zeitgleicher Erregung kein AP aufsummieren kann.

Tipp 2: Um eine erregende Synapse zu simulieren, rechtsklicken Sie auf die **Synapse > Properties** und wählen bei „Type“: a aus. Um eine hemmende Synapse zu simulieren, wählen Sie „b“ aus.

4.3 Wann entstehen die Aktionspotenziale im Interneuron (N3+N4) (wird sofort ein AP ausgelöst? Oder erst nach mehreren Impulsen?)? Was kann man ändern, damit die APs bereits beim ersten gleichzeitigen Impuls entstehen?

(Tipp: Rechtsklick auf **Neuron > Properties** und Sie können die Eigenschaften Ihrer Neurone anpassen)

4.4 a) **Müssen die APs der beiden primären Neurone genau zeitgleich eintreffen?** Wie verändern sich die APs, wenn die beiden Signale zu versetzt im Interneuron eintreffen? Finden Sie den Schwellenwert heraus, ab dem keine Bewegung mehr detektiert wird und notieren Sie diesen.

b) **Reduzieren Sie die Impulsdauer („Dur“), bis nur noch ein AP ausgelöst wird.** Welchen Einfluss hat das auf den maximalen Zeitunterschied, die die beiden Reize auseinanderliegen dürfen?

c) Verändern Sie nun die **Reizschwelle („initial threshold“)** an N3 nach oben und nach unten. Welchen Effekt hat das?