

یا فاتح و یا قادر

آزمایشگاه جانورشناسی و فیزیولوژی

این آزمایشگاه از ۳ بخش تشکیل شده:

۱. فیزیولوژی ۱۰۰ نمره
۲. تشریح خرچنگ دراز ۵۰ نمره
۳. ایستگاه مجمع الجزایر فاتح ۵۹.۵ نمره

زمان آزمون ۲ ساعت

سلول کوچکترین بخش سازنده موجود زنده است. غشای پلاسمایی حایلی بین دنیای زنده و غیر زنده است. غشای سلولی با داشتن خواص بسیار ویژه خود عملکردی بسیار اساسی در سلول زنده ایفا می کند. این غشا موزایکی از پروتیین در بستر فسفولیپید هاست. ☺

مواد و وسایل:

۱ عدد مولتی متر دیجیتال

۱ عدد سیم سوسماری قرمز رنگ

۲ عدد سیم سوسماری سیاه رنگ

۳ عدد جابابتری

۳ عدد باتری کتابی

فالكون A B C D E

ویال Na, K, Cl

برد الکتریکی

۲ سیم دوسر لخت

تانک غشا نیمه تراوا

سمپلر ۱۰۰-۱۰۰۰

سر سمپلر ۱۰۰-۱۰۰۰

پیست آب مقطر

ظرف ویست

دستمال کاغذی

تسک پیشرو از قسمت های زیر تشکیل شده:

بخش اول: اندازه گیری پتانسیل استراحت

بخش دوم: اندازه گیری مقاومت غشا به یون های سدیم، پتاسیم، کلر و محاسبه ثابت نرست

این یون ها

بخش سوم: محاسبه و اندازه گیری ثابت زمانی و ظرفیت خازنی غشا

تمامی اعداد خواسته شده را تا دو رقم اعشار و واحد گزارش کنید
دقت کنید که برد ها با آب تماس نداشته باشد، در صورت سوختن و آسیب به برد نمره منفی در نظر گرفته می شود و برد دیگری به شما داده نخواهد شد.

بخش اول:

شبیه سازی فیزیکی روشی بسیار رایج برای درک بهتر پدیده ها در فیزیولوژی است. برای درک خواص الکترومغناطیسی غشا سلول آن را به صورت مدار های الکتریکی مدل می کنند. در اینگونه شبیه سازی ها غشا پلاسمایی به عنوان یک خازن سرتاسری در نظر گرفته می شود. پمپ های غشایی با ایجاد شیب الکترو شیمیایی در غشا به عنوان مولد در مدار غشایی عمل می کنند. غشای دو لایه ی سلول نیز با ایجاد مقاومت در برابر عبور یون های

بین درون و بیرون غشا به صورت مقاومت در مدار عمل میکند؛ باید در نظر گرفت که رسانایی غشا برای یون های مختلف به علت تعداد متفاوت کانال های نشتی یکسان نمی باشد. اما مهم ترین بخش مدار غشایی باتری ها هستند. باتری در واقع نشان دهنده شیب الکتروشیمیایی مختص هر یون می باشد. میزان اختلاف ولتاژی که این باتری ها تولید می کنند نیز در اساس برابر ثابت نرست هر یون است که با معادله زیر محاسبه می شود .

$$E_x = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[X]_o}{[X]_i}, \quad \text{Nernst Equation}$$

در این بخش شما می بایست چگونگی مدار بندی صحیح غشا را تشخیص داده و در مدار الکترونیکی داده شده پیاده نمایید.

نکته مهمی که باید در مدار بندی غشا در نظر گرفت چگونگی قرار گیری سر مثبت و منفی باتری به صورت صحیح می باشد که می توان آن را از روی بار یون و غلظت آن در دو سوی غشا تشخیص داد. باید توجه داشت که جهت جریان در مدار الکتریکی بر خلاف جهت حرکت الکترون ها در مدار است یعنی جهت جریان الکتریکی در یک مدار از قطب مثبت باتری به قطب منفی باتری است.

دقت کنید که برد ها با آب تماس نداشته باشد، در صورت سوختن و آسیب به برد نمره منفی در نظر گرفته می شود و برد دیگری به شما داده نخواهد شد.

مدار پیشروی شما شبیه سازی شده غشای سلولی است. مسیر اتصال اجزا به هم روی برد با ماژیک خط کشی شده است. این مدار دارای سه مقاومت متناسب با رسانایی غشا به سه یون Na, K, Cl می باشد که روی بُرد فیکس شده اند. یکی از این سه مقاومت از دو مقاومت دیگر متفاوت بوده و دارای مقاومت درونی کمتری است. (از روی رنگ های روی مقاومت ها می توانید دو مقاومت یکسان را تشخیص دهید). می دانیم که غشایی که این

مدار از روی آن ساخته شده دارای رسانایی برای یون ها به صورت زیر است:



غلظت های این یون ها را در خارج و داخل غشا به مثابه یک سلول طبیعی در نظر بگیرید.

همچنین این مدار دارای خازنی است که نشان دهنده خاصیت خازنی غشاست. شما باید با توجه به دانش خود جهت درست قرار دادن باتری مربوط به هر یون را تشخیص دهید. یعنی تشخیص دهید که باید کدام سر باتری به مقاومت ها و کدام سر باتری ها به هم وصل شوند.

آموزش کار با مولتی متر:

در این تسک ما از بخش ولت متر مولتی متر استفاده می کنیم. مولتی متر دارای یک درجه در وسط می باشد که قابلیت چرخیدن دارد. برای اندازه گیری ولتاژ مستقیم باید درجه روی یکی از اعداد بخش $V \text{---}$ باشد. این عدد نشان دهنده رنج اندازه گیری است که در هر بخش عدد آن به شما گفته می شود. برای اندازه گیری ولتاژ متناوب نیز باید درجه روی اعداد بخش $V \sim$ باشد. به طور مثال شکل زیر برای اندازه گیری ولتاژ متناوب در رنج 200m تنظیم شده. (دقت کنید که 200m با 200 متفاوت است)

حال سر انبری سیم سوسماری سیاه را به سیم علامت مثبت و سر انبری سیم قرمز را به سیم با علامت منفی وصل کنید. درجه مولتی متر را روی عدد $20\text{ V}==$ قرار دهید. صبر کنید تا عدد نشان داده شده تقریباً ثابت شود و عدد بدست آمده که پتانسیل استراحت غشا سلول مورد آزمایش است را گزارش کنید ۲۰ نمره



بخش دوم:

شما یک تانک در اختیار دارید که دارای خواص غشای نیمه تراوا است که به سه یون کلر سدیم و پتاسیم تراواست (رسانایی به یون های مختلف متفاوت است). ابتدا باید با استفاده از مواد داده شده محلول های لازم را ساخته درون تانک ریخته و سپس یک مدار روی آن سوار کنید و با استفاده از مولتی متر جریان عبوری از آن را اندازه بگیرید. در ادامه شما باید با استفاده از جریان و ولتاژ؛ رسانایی غشا به هر یک از یون ها را به دست آورید.

روش کار:

محلول سازی:

با توجه به جدول زیر محلول هایی را درون تانک درست کرده و جریان را با توجه به روش زیر اندازه گیری نمایید.

*** بعد از پایان کار با هریک از محلول ها آن را دور بریزید و تانک را با آب مقطر به خوبی بشوید.

فالكون A	فالكون B	فالكون C	فالكون D	فالكون E	ويال Na	ويال K	ويال Cl	
4.75 ml	6.25ml	4ml	0	0	۲قطره		۲قطره	محلول 1
0.75ml	0	0	8.75ml	5.5ml		۲قطره	۲قطره	محلول 2
0	0	0.75ml	6ml	8.25ml	۲قطره	۲قطره		محلول ۳

نکته: محتویات موجود در ویال ها که با نام یون ها علامت گذاری شده است بلاک کننده کانال های غشای نیمه تراوا به آن یون می باشند.

اندازه گیری جریان عبوری:

یکی از سیم سیاه های سوسماری را به خروجی COM مولتی متر وصل کرده و سیم قرمز سوسماری را به خروجی mA وصل کنید. یکی از باتری ها (فرقی نمی کند کدام باتری) را به جاباتری وصل کرده و سیم قرمز جاباتری را به سر انبری سیم سوسماری قرمز متصل به مولتی متر وصل کنید. یک سیم سوسماری سیاه دیگر برداشته و سر سیم سیاه جاباتری را به دور سر غیر انبری آن بپیچانید. دو تکه سیم آبی در اختیار شما قرار دارد که آن را به سر انبری های آزاد سیم سوسماری ها وصل کنید. درجه مولتی متر را روی 200mA تنظیم نمایید.

حال باید دو سر آزاد مدار ساخته شده (دو سیم آزاد متصل به انبری ها) را درون تانک قرار داده اولین عدد نمایش داده شده در مولتی متر را ثبت کرده و به سرعت دو سر سیم را خارج نماید (سعی کنید مدت زمان قرار گیری سیم در تانک حداقل ممکن باشد). سر دو سیم را به گونه ای که سایر بخش های مدار خیس نشود با آب مقطر کمی بشوید و با دستمال خشک کنید این روند را ۱۰ بار برای هر محللول تکرار کرده و اعداد را در جداول زیر وارد نمایید. ۳ نمره

محلول 1	محلول 2	محلول 3

حال میانه (median) اعداد بالا را در جدول زیر وارد کنید. ۱۸ نمره

محلول ۱	محلول ۲	محلول ۳

در نهایت رسانایی غشا نیمه تراوا را به یون های زیر بدست آورید. (ولتاژ باتری: 9V)

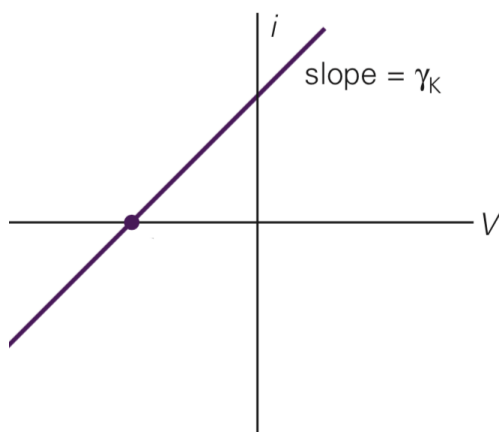
g_{Cl}	g_K	g_{Na}

اکنون با استفاده از دانش خود و اطلاعات داده شده در ذیل باید ثابت نرست یون های سدیم پتاسیم و کلر را حساب کنید.

در غشای سلول در حال استراحت جریانی وجود ندارد در واقع هنگامی که غشا را به صورت مدار مدل میکنند تنها لحظاتی بسیار کوتاه بعد از اتصال باتری ها در مدار جریان ایجاد می شود و پس از آن جمع جبری جریان ها به صفر خواهد رسید و در این لحظه است که ما به پتانسیل استراحت غشا می رسم.

$$I_K + I_{Na} + I_{Cl} = 0$$

یک از نمودار های کاربردی در هنگام مدل سازی های فیزیکی؛ نمودار جریان عبوری از یک کانال به ولتاژ برای یک یون است. اگر شیب شیمیایی یون نیز در این نمودار در نظر گرفته شود دیگر تابع ما از نقطه (0,0) نخواهد گذشت بلکه دارای عرض از مبدا و طول از مبدایی به غیر از صفر خواهند شد. برای مثال این نمودار برای یون پتاسیم می تواند به این صورت باشد:



فرض کنید شما با استفاده از دو بخش پیشین توانسته اید اعداد زیر را برای ولتاژ استراحت و رسانایی را برای سه نوع مختلف غشا اندازه گیری کرده اید. در این آزمایش ها محلول درون و بیرون غشا ثابت بوده است.

g_{Na}	g_K	g_{Cl}	V_m
2	1	1	18.75
3	0.8	3	9.705882
2	4	1	30

حال با استفاده از اطلاعات داده شده ثابت نرست را برای هر سه یون پتاسیم، کلر و سدیم محاسبه کنید. ۱۵ نمره

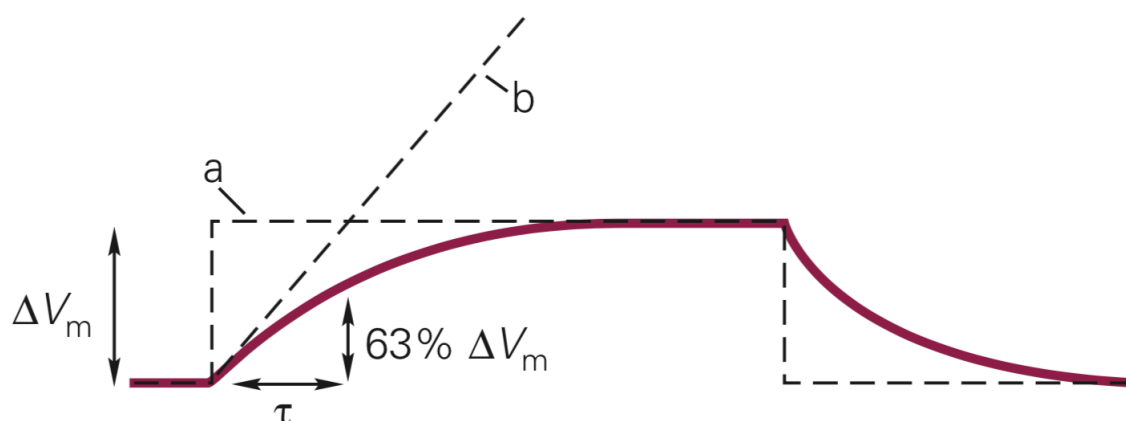
E_{Cl}	E_K	E_{Na}

معادله ای که برای بدست آوردن این ثابت ها استفاده کرده اید را در زیر بنویسید (معادله باید شامل هر سه فاکتور E, g و V_m برای یون ها مختلف باشد. ۴ نمره

بخش سوم:

در این بخش شما باید ثابت زمانی غشا یا τ را اندازه گیری کنید. غشای سلولی دارای خواص خازنی است. برای درک بهتر چگونگی تاثیر این خواص خازنی بر عملکرد غشا باید از مدل مداری آن استفاده کرد. در مدار بخش اول که مشابه یک غشا است پس از اتصال باتری ها مدت زمانی طول می کشد تا باتری ها ابتدا خازن را شارژ کنند

و سپس یک اختلاف پتانسیل ثابت در غشا ایجاد کنند. در واقع تا ایجاد یک پتانسیل ثابت در دو سوی مدار یک delay زمانی وجود دارد. همین اتفاق نیز در هنگام جدا کردن باتری ها تکرار می شود به این صورت که پس از جدا کردن تمامی باتری ها مدت زمانی طول می کشد تا پتانسیل عمل دو سر مدار به صفر برسد.



روش کار:

مداری که در بخش اول سر هم کردید را دوباره ببندید. باتری ها را متصل کنید تا ولتاژ نشان داده شده تقریباً ثابت شود. سپس باتری ها را جدا کرده و بلافاصله بعد از جدا شدن آخرین باتری کرنومتر را استارت زده و در بازه های ۵ ثانیه ای ولتاژ نشان داده شده را بخوانید و قدر مطلق آن را در جدول زیر وارد کنید. ۱۲ نمره

ولتاژ	ثانیه
	5
	10
	15
	20
	25
	30

	35
	40
	45
	50
	55
	60

معادله این نمودار به این صورت است:

$$V_t = V_0 \cdot e^{-t/\tau}$$

ابتدا معادله خط بالا را خطی کرده، سپس معادله خط و r^2 آن را با رگرسیون از داده های بالا بدست آورده و بنویسید. ۶ نمره

از روی معادله به دست آمده بالا τ محاسبه نمایید. ۴ نمره

$$\tau =$$

همانطور که گفته شد دلیل ابتدایی ایجاد این تاخیر در صفر شدن ولتاژ ظرفیت خازنی غشاست. پس رابطه ای بین ثابت زمانی غشا و ظرفیت خازنی غشا (C) وجود دارد. این معادله به شکل زیر می باشد:

$$\tau_m = R_m C_m$$

R_m و C_m در این معادله در واقع مقاومت ویژه و ظرفیت خازنی ویژه غشاست که مقاومت

و ظرفیت خازنی در واحد مساحت است. اگر فرض کنیم که شعاع آکسون مورد بررسی $2\mu\text{m}$ و طول آن $10\mu\text{m}$ و مقاومت غشا $2.6\text{ m}\Omega$ باشد ظرفیت خازنی غشا را محاسبه کنید: ۵ نمره

$$C_m =$$

با توجه به معادله $c = k \frac{A}{d}$ فاصله بین دو صفحه خازنی غشا (d) را محاسبه کنید. ۲ نمره

$$k = 10 \frac{F \cdot m}{m^2}$$

آیا این آکسون میلینه است؟ ۲ نمره

#سوال

در چهار شکل زیر نمودار ولتاژ به جریان چهار کانال رکتیفایر زیر را رسم کنید. ۶ نمره

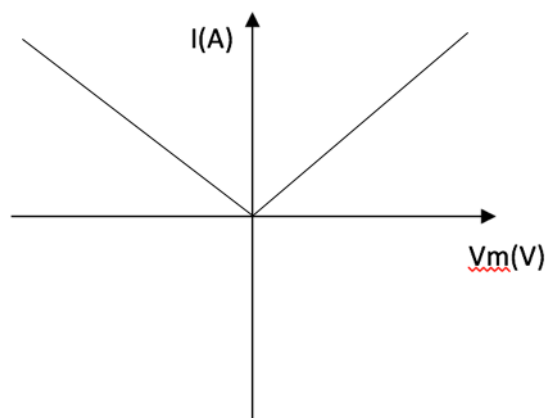
۱. inward rectifier برای یون مثبت

۲. inward rectifier برای یون منفی

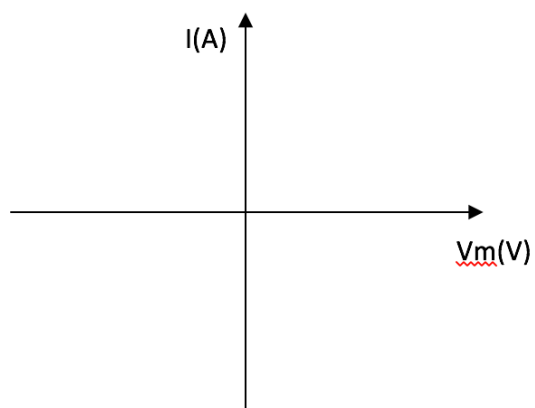
۳. outward rectifier برای یون مثبت

۴. outward rectifier برای یون منفی

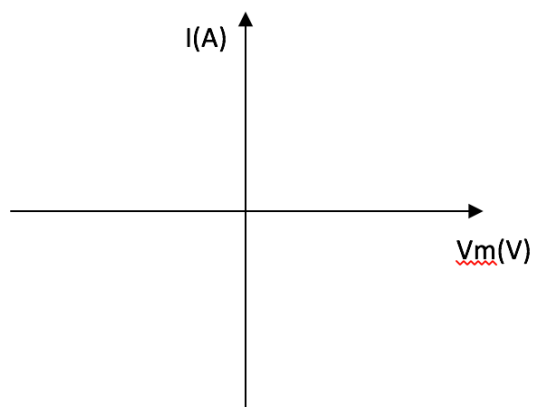
دقت کنید که نمودارها را با دو خط صافی که از یک لولا به هم وصل شده اند بکشید. این لولا روی محور ایکس ها باشد مانند شکل زیر باشد.



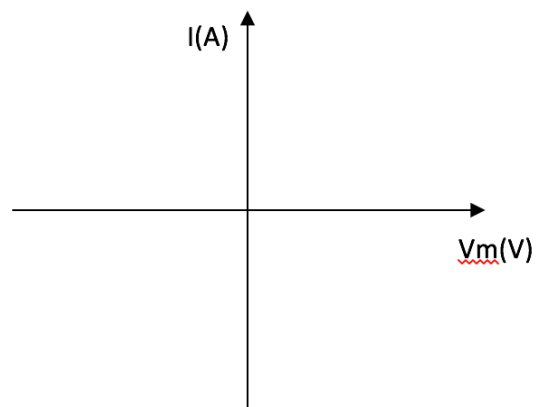
.۱



.۲



.۳



.۴

