

体感皮层神经元放电间隔的均值与变异系数的相关分析

曹 阳 陈培熹

(中山医科大学生理学教研室, 广州)

放电间隔 (inter-spike interval, ISI) 均值与平均放电率互为倒数^[1], 反映放电的平均统计特性, 但前者可用变异系数 (coefficient of variance, CV) 或方差等反映样本变异程度, 所含信息量较后者更多。分析 ISI 均值及其 CV 将有助于了解中枢神经机制。根据 ISI 的概率密度函数分布特性, 可将 ISI 分为长间隔和短间隔^[2]。曾报道长间隔与短间隔的统计性质不同^[3,4], 但两者未精确分离, 未能深入研究。本文利用微型计算机可精确分离长、短间隔, 并进一步分析两者的统计性质及其相互关系。

实验方法和结果记录如前文所述^[2]。对于有 N 个 ISI 的放电串, 总间隔 X_{Ti} 、长间隔 X_{Lj} 、短间隔 X_{Sk} 的关系为

$$\sum_{i=1}^N X_{Ti} = \sum_{j=1}^O X_{Lj} + \sum_{k=1}^P X_{Sk} \quad (1)$$

其中 O 为长间隔数, P 为短间隔数, $N = O + P$ 。定义小于 X_{th} 的 ISI (X_{Ti} , $i = 1, 2, \dots, N$) 为短间隔, 其余为长间隔, X_{th} 为服从指数样分布的短间隔的 99.9% 的分布长度^[2], 本文取 $X_{th} = 80\text{ms}$ 。对 (1) 式中三项和可以分别计算均值 (相应为总间隔均值 M_T 、长间隔均值 M_L 、短间隔均值 M_S)

$$M = \frac{1}{m} \sum X \quad (2)$$

例如 $M_T = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N X_{Ti}$ 。考虑方差或标准差受间隔均值影响, 使用 CV 作为 ISI 变异程度的指标

$$CV = \frac{\sqrt{\frac{\sum X^2 - M^2}{m-1}}}{M} \quad (3)$$

同样, 可求出总间隔变异系数 CV_T 、长间隔变异系数 CV_L 、短间隔变异系数 CV_S 。

在猫体感皮层记录了 34 个神经元放电, 自发活动明显, 对外周刺激有明显时锁反应, 进行间隔均值与变异系数的线性相关与回归分析, 结果如下:

一、自发放电间隔的均值与变异系数

1. M_T 与 CV_T 无显著相关性 ($P > 0.05$), 反映

ISI 变异程度不随 M_T 变化而变化, 即 ISI 分布的弥散程度与其均值无关;

2. M_L 与 CV_L 有高度显著性正相关 ($P < 0.001$), 反映长间隔的变异程度随 M_L 增加而增加, 即长间隔分布的弥散程度与 M_L 成正比;

3. M_S 与 CV_S 有高度显著性负相关 ($P < 0.001$), 反映短间隔的变异程度随 M_S 增加而减小, 即短间隔分布的弥散程度与 M_S 成反比;

4. 均值之间 M_T 与 M_L 呈高度正相关 ($P < 0.001$), M_T 与 M_S 呈弱负相关, 但无显著意义 ($P > 0.05$), 反映 M_T 主要受 M_L 影响; M_L 与 M_S 呈高度负相关 ($P < 0.001$), 反映长短间隔有相互影响。

结合 ISI 概率密度函数分布特征^[2], M_L 较大时长间隔从近似正态分布转为较弥散分布, 可能是 CV_L 增大的原因; M_S 较大时短间隔从指数样分布转为 gamma 或正态分布, 可能是 CV_S 变小的原因; 而 M_T 与 CV_T 无关可能是前两者相抵消所致。可见长间隔和短间隔的均值与 CV 关系亦可能反映了不同的神经机制, 因此, 目前常规只用平均放电率或间隔均值作为衡量细胞兴奋水平及其变化的指标是不够全面的, 应同时分别观察长间隔和短间隔, 才能更准确了解其统计特征。

M_T 与 M_L 呈正相关, 而 M_T 与 M_S 仅有微弱负相关, 提示 M_T 主要受长间隔影响, M_L 比 M_T 更能反映细胞兴奋水平。 M_L 与 M_S 呈负相关, 提示两者相互影响, 在细胞兴奋水平较高时短间隔变大。

二、外周刺激对 ISI 均值和 CV 相关的影响

外周刺激时, M_T 与 CV_T 无显著相关 ($P > 0.05$), M_L 与 CV_L 呈正相关 ($P < 0.05$), M_S 与 CV_S 呈负相关 ($P < 0.005$), 均类似自发活动时。 M_T 与 M_L 、 M_T 与 M_S 、 M_L 与 M_S 三者亦类似自发活动时 (分别为 $P < 0.001$ 、 $P > 0.05$ 、 $P < 0.001$)。

外周刺激时尽管 ISI 分布特性有显著变化^[2], 但上述间隔特性仍接近自发活动, 提示受此类刺激影响

(下转第 481 页)

3. 材料处理(按图1程序)

4. 电泳方法 按 O' Farrell (1975)^[1] 方法略加改动。玻璃管选用 16cm 长、内径 2.5mm 的玻璃管(可用 1ml 的吸量管制备)。聚焦预电泳过程为 200V 15 分钟、300V 30 分钟、400V 30 分钟,上样后聚焦时间为 400V 16 小时、600V 1 小时。第二向 SDS-PAGE 电泳采用 13—15% 的分离胶、浓缩胶 4.5%、凝胶厚度 1mm。200V 6 小时或 75V 过夜(约 13—14 小时)。

5. 凝胶的染色 我们用考马斯亮兰 R-250 和银

染都得到了很好的结果。银染程序为:将胶于 50% 甲醇中过夜,在银氨溶液中振荡 30 分钟,双蒸水洗 3 次,每次 1 分钟,在显影液(100ml 0.005% 柠檬酸 + 50 μ l 38% 甲醛)中显影 10 分钟左右,5% 醋酸水溶液停影,50% 甲醇固定。

结果与讨论

1. 样品的制备是做好双向电泳的关键一步,根据不同的目的(如分析水溶性蛋白、醇溶性蛋白、全蛋白等),可用不同的方法。但以下二方面非常重要:(1) 要保证欲分析的蛋白质溶解完全;(2) 应尽量去除各种干扰电泳结果的因素。

植物组织中对双向电泳影响最大的就是一些植物色素、酚类及酚氧化成的醌等,它们对等电聚焦过程中 pH 梯度的形成有较大影响,因而得不到满意的电泳效果(如图 2a)。我们所用的两种制样程序基本上可以去除它们的影响,因而得到了满意的电泳结果(如图 2b)。

2. 双向电泳中常见的干扰、干扰原因及解决办法(如表 1)。

表 1 常见的干扰、干扰原因及解决办法

干 扰	原 因	解决方法
横向干扰	1. 样品离心不够、含不溶性颗粒太多	1. 增加离心
	2. 聚焦时间不够	2. 延长聚焦时间
	3. 两性电解质浓度过低,或使用存放过久的两性电解质	3. 加大两性电解质的浓度
竖向干扰	1. IEF 胶柱平衡不够	1. 延长平衡时间
	2. 第二向胶不均匀	2. 改变做胶条件如聚合剂、温度等
图谱中点的分布偏上或偏下	第二向胶浓度过高或过低	改变分离胶浓度或使用梯度胶

参 考 文 献

- [1] O' Farrell, P. H.: *J. Biol. Chem.*, 1975, 250, 4007.
 - [2] C. Damerval et al.: *Electrophoresis*, 1986, 7, 52.
- [本文于 1988 年 9 月 10 日收到]

参 考 文 献

- [1] Moore GP et al.: *Ann. Rev. Physiol.*, 1966, 28, 493.
 - [2] 曹阳等:《生物物理学报》, 1989, 5, 119.
 - [3] Johnson DH et al.: *Biophys. J.*, 1976, 16, 719.
 - [4] Yamamoto M et al.: *J. Neurophysiol.*, 1983, 49, 1182.
- [本文于 1988 年 10 月 12 日收到]

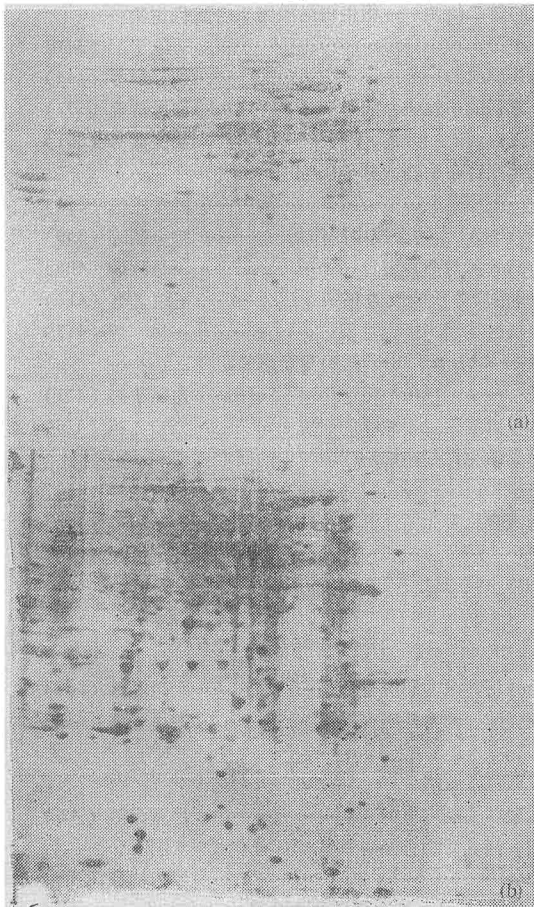


图 2 小麦芽水溶性蛋白的双向电泳图谱
(a) 用以前方法制备的样品
(b) 用本文所述改进方法制备的样品

(上接第 478 页)

较小,即均值与 CV 的关系相对恒定。

结果表明,体感皮层神经元 ISI 均值与 CV 关系复杂,分离研究长间隔和短间隔能揭示 ISI 内在性质,提示两者可能反映不同的神经机制并相互影响,外周刺激影响较小。