

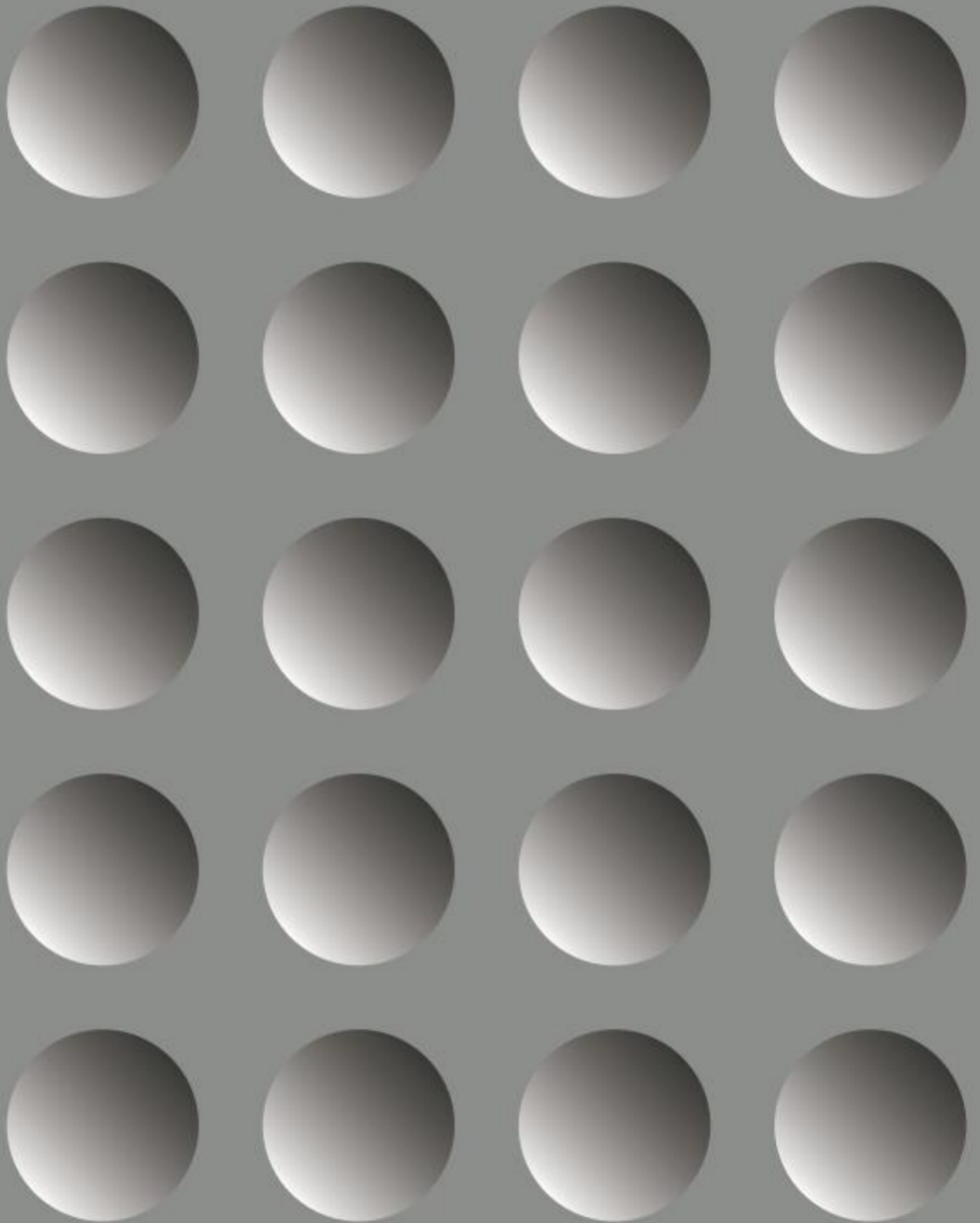


**multichannel\***  
**systems**

An Affiliate of Harvard Bioscience, Inc.

全自动爪蟾卵母细胞电压钳筛选系统

**robo\*cyte2**





# 产品简介

## 让爪蟾卵母细胞电压钳记录自动化！

在药物研发领域中，非洲爪蟾卵母细胞（*Xenopus oocytes*）被广泛用作离子通道、转运蛋白和受体的表达和靶点药物电生理信号的测试系统。爪蟾卵母细胞直径较大（直径约1-1.2mm），胞体结实，可以大量获取且易于处理；然而，手动电生理记录的低通量特性阻碍了其用于药物靶点二次功能筛选的进程。

Multi Channel System (MCS) 在20年前就推出了第一个面向市场的爪蟾卵母细胞全自动筛选系统—Roboocyte。2011年，Roboocyte2升级系统诞生了。Roboocyte2是高度集成化的爪蟾卵母细胞全自动高通量电生理筛选系统，可用于卵母细胞表达体系中配体门控和电压门控离子通道、电转运蛋白等方向的研究，并为其提供全自动、一体化的解决方案。该实验过程中的多项任务均能通过一个机器人完成。

Roboocyte2全自动爪蟾卵母细胞双电极电压钳 (TEVC) 记录将开启药物研发的新篇章！

- 能够在更低的成本下完成更高通量的药物筛选实验；
- 实验的通用条件可以标准化，极大的提高了实验的可重复性；
- 科研人员能够从繁琐的重复性工作中解放出来，专注于实验设计和数据分析；
- Roboocyte2可以在无监督的情况下进行夜间操作。允许工作人员在一个工作日结束时开始一个新的实验，并在第二天早上分析结果。

Roboocyte2不仅是为那些爪蟾卵母细胞表达系统的电生理专家而设计的全自动实验平台，它的出现更是为了鼓励和帮助更多对该领域感兴趣的实验人员能够快速掌握并运用这项令人兴奋的药物研发新技术！

### 产品特点

- 能够应用于电压门控和配体门控离子通道、电转运体相关研究的爪蟾卵母细胞TEVC电生理记录
- 记录全过程可实现全程自动化和灵活的编程设计
- 支持自动细胞清洗
- 支持自动给药

### 产品优势

- 可连续24h长时间无监督操作
- 一键运行，全程自动化
- 操作简便
- 节约成本
- 与手动记录相比，极大的减少了实验时间
- 96孔板高通量记录，高效完成药物筛选工作





# 硬件系统

## 智能、集成化、操作简便的实验平台！

Robocyte2紧凑而实用的设计为您节省了实验工作台上的空间。它能与标准的实验室设备兼容，可以很容易地集成到您的工作环境中。软件控制取代了设备上的所有旋钮。Robocyte2简单易用，操作无需特殊的实验技能或其他设备。

记录使用一次性标准96孔板，将取得的卵母细胞在几分钟内分配到96孔板的各个孔内，细胞会迅速沉降在锥形底中，并在数小时后贴壁。操作完成后，实验人员可以很方便地将卵母细胞在培养箱和Robocyte2设备之间来回取用，无需再次重新更换卵母细胞培养板。

装载的96孔板机械平台由直线电机驱动，可在磁性钢板上方的压缩空气垫上平稳、无噪声地移动，机械分辨率为20 $\mu\text{m}$ 。除了需要按时清洗钢板之外，整个系统无需任何其他维护。

垂直移动的Z轴机械臂专为要求极高的运行速度和移动精度而设计，可用于夹持TEVC探头移动并精确定位细胞。Z轴机械臂以20 $\mu\text{m}$ 的分辨率移动，位置和速度均由软件控制。快速的距离、速度调整反应能力确保了对卵母细胞的精确破膜。我们建议使用MCS公司提供的专用测量探头，实验人员可以把自己拉制的玻璃电极、灌注管路和银丝固定在测量探头的安装支架上。

新的“ClampAmpC”高性能放大器是由MCS硬件专家专门为双电极电压钳记录设计和制造的。专用的TEVC探头能够快速地进行信号采集。Robocyte2工具包包括进行爪蟾卵母细胞电压钳记录所需要的所有配件，能够帮助您快速的展开研究，它包括一台高性能计算机，TEVC探头，灌注管路，Roboflow液体处理系统和其他附件。

### 硬件系统特点：

- 可一次最多连续记录96个卵母细胞，无需人为干预
- 不需要特殊的专业技能和设备
- 可直接在标准96孔板上处理卵母细胞
- 无需额外维护
- 高性能TEVC放大器
- 支持Roboflow液体处理系统或 Gilson 液体处理系统(可选)

## 硬件系统细节介绍



### 灵活、自动化的TEVC记录

一旦点击开始，Roboocyte2将会自动地对所有96个卵母细胞(或选定的卵母细胞)进行记录，无需人为监督。每个卵母细胞的记录程序可以根据您的要求灵活设计。实验人员可以基于卵母细胞的实际电信号反应预设参考阈值用于触发记录（反应依赖性记录）。该系统可以通过自动控制来识别活性差的卵母细胞并跳过不必要的记录。这意味着我们能够实现有效通量的最大化和化合物使用的最小化。拜耳公司实验室的Roboocyte实验结果表明，一个各项指标良好的卵母细胞，使用Roboocyte进行实验可以应用多达60种化合物进行记录（每种化合物均设置一个阳性对照药物匹配）。因此在理论上，在科研人员干预之前，你可以使用Roboocyte在单个96孔板上测试几百种化合物。所测试的化合物的数量不受Roboocyte2系统本身的限制——它只取决于化合物的性质和细胞的活性。Roboocyte2革命性的提高了卵母细胞电压钳药物筛选的实验通量！

### 集成式TEVC探头

全自动电压钳系统的微电极TEVC探头能够快速、精确、温和、甚至多次地刺入卵母细胞，并能最大限度地减少细胞损伤。TEVC探头整合了双玻璃微电极和灌流输入/输出管路，在使用KCl溶液填充玻璃电极之后，实验人员只需将TEVC探头与z轴机械臂和其他灌流管路相连，一切即可准备就绪。探头可以过夜保存，并且能够重复使用几天。

灌注输入管路可以与Roboflow夹管阀门液体灌流系统或Gilson GX-271外置液体处理器相连。在这两种情况下，蠕动泵将细胞外液/化合物溶液输送到卵母细胞周围对其进行灌注，并通过输出管路将多余液体通过负压送至废液缸。探头的精密设计保证了液体稳定无脉冲的流动。

## ClampAmpC数字放大器

Roboocyte2全自动爪蟾卵母细胞电压钳筛选平台中集成了紧凑而高性能的数字放大器。它可以在电流钳或电压钳模式下工作，并使用了一种基于PI的负反馈技术。ClampAmpC记录电流高达 $\pm 107\mu\text{A}$ ，分辨率为 $1\text{nA}$ 。它完全由电脑控制，能够快速钳制像爪蟾卵母细胞这样的大型细胞，放大器的典型上升时间可低于 $1\text{ms}$ 。Roboocyte2软件还具有自动检查电极阻抗和自动优化钳制条件等功能。



## 液晶显示屏

该系统集成的LCD液晶显示屏可以显示实验过程中所有相关参数，如电极电压偏移，电极阻抗或破膜后的细胞膜电位等。



## Roboflow 液体灌流系统

Roboflow液体灌流系统简单易用，非常适合快速地药物测试、剂量反应曲线分析和小剂量筛选。Roboflow配备了12通道夹管阀门泵和2个蠕动泵，可完全由Roboocyte2软件控制。高精度的蠕动泵代替了传统的重力给药，因此能够帮助科研人员在记录过程中进行药物流速的控制:灌流速率可在 $0.01-10\text{ml}/\text{min}$ 之间调节。对于要求更高的课题任务，如更高高通量的化合物筛选，Roboocyte2还可以与目前已经在市场是广泛应用的Gilson GX-271液体处理系统配合使用。



## 全自动化合物给药方案

尽管灌流过程通常是连续的，但在电信号记录过程中您也可以暂停灌流以用于节省化合物。96孔板的每个孔体积较小，因而 $5\text{ml}/\text{min}$ 的流速足以保证以最少的化合物进行更快速、有效的给药实验。科研人员可以很容易地在软件中自定义“自动化药物节省”方案，例如，在每次待测化合物给药之前插入自动测试卵母细胞的活性的程序。

如果您使用集成的12通道Roboflow液体灌流系统或外部配合Gilson GX-271液体处理器，所有灌流方法和过程都能够由Roboocyte2软件实验自动化控制。







# Robocyte2软件

## 灵活、智能的解决方案

卵母细胞破膜、化合物给药、TEVC记录以及在线分析均可在计算机控制下自动完成。Robocyte2的主要特点和主要优势就是全自动化。研究人员在实验开始前进行方案设计并定义所有参数。只需单击鼠标就可以启动运行。Robocyte2能够自动控制记录和清洗96孔板中所有的卵母细胞。因此，实验可以24小时无监督地进行。

Robocyte2的操作软件采用图形化的用户操作界面，能非常快速和简单的被应用到日常实验工作中。自动化软件控制代替了设备上复杂的旋钮，可自定义的“反应依赖性”记录和控制程序取代了人为监督的工作。

Robocyte2是如何在如此高要求的电压钳任务中实现全自动化操作？

它是通过类java语言编写的各项命令脚本程序实现的。基本测试程序和标准实验程序均由MCS提供。但每个用户也可以使用软件包含的语言编辑器编写自己的脚本，它可以包含所有的实验过程和实验参数的设置。一旦将编写得当的程序加载到软件中，实验人员只需单击Start按钮即可启动Robocyte2执行，而无需人为干预。

Robocyte2的Java脚本语言包含了实验过程中所有重要的命令和函数，这使得Robocyte2功能强大，能够执行精密的操作，但又避免了繁琐的步骤。软件功能结构和命令名的设计非常直观易懂，实验人员不需要任何编程技能，只需要能对概念和整个实验过程有一个基本的理解，就足以快速掌握和利用脚本的全部功能。

为了快速测试，我们还专门提供了方便的手动模式。您可以在Robocyte上手动控制所有操作和参数，除此之外，该系统将全自动运行。

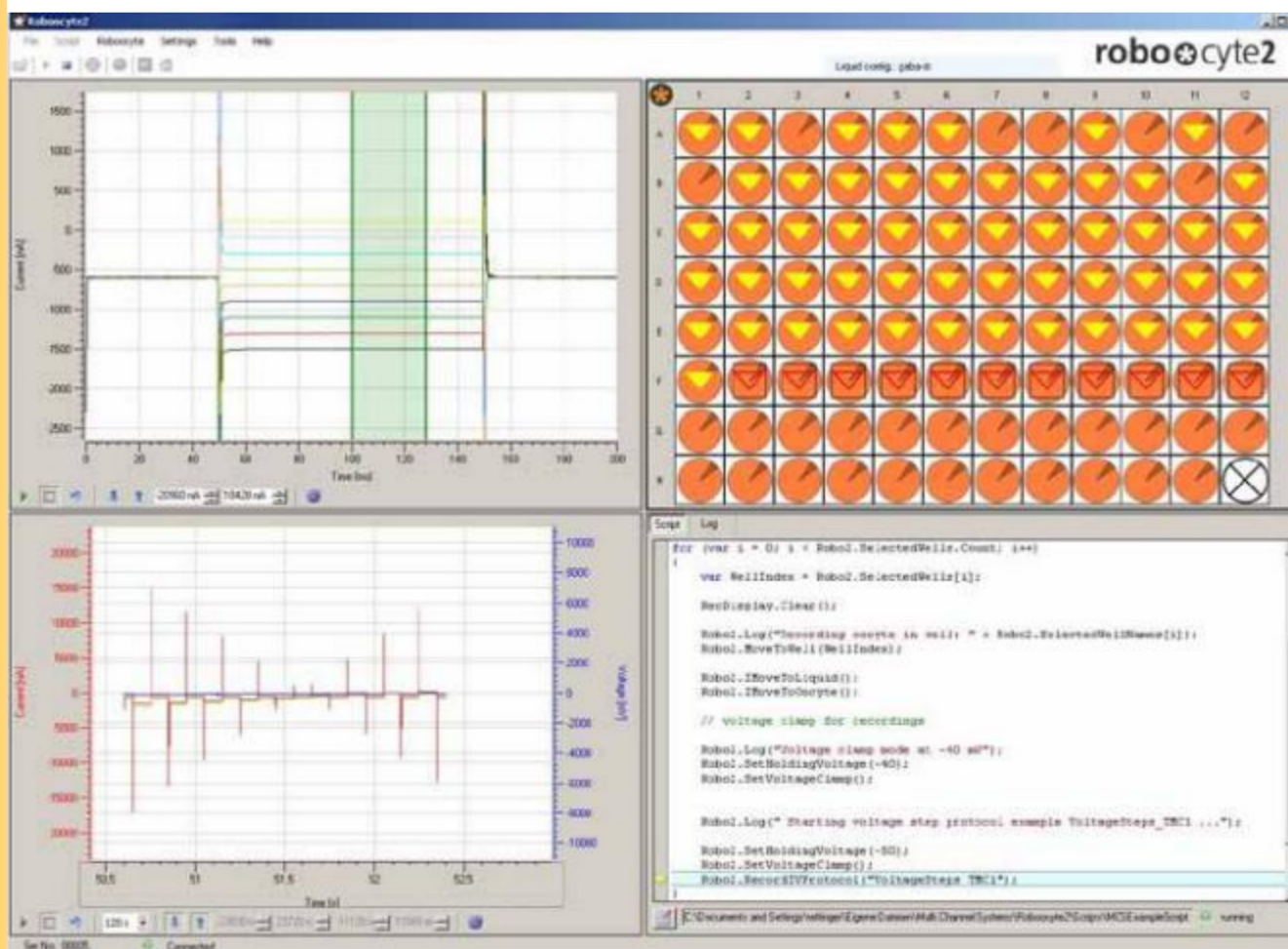
### 软件自动化功能：

- 双电极电压钳电生理记录
- 卵母细胞破膜
- 高通量化合物筛选
- 生成剂量-效应曲线
- 半自动化计算EC/IC50值
- 执行灌流程序
- 反应依赖性记录能够节省实验时间和化合物用量

### 优势

- 全自动化模式节省了大量的人力、物力和时间，加载Java脚本后，通过鼠标可一键开启全部记录过程
- 灵活和强大的功能:能够针对各种应用场景设置多种记录程序和方案，并且能完全控制实验过程中的所有参数。

## 软件系统细节介绍



### 人性化的软件界面

Roboocyte2软件使用图形式的用户界面，直观易懂，允许实验人员进行动作操控、卵母细胞电压钳信号记录和数据评估。孔板视图可以对卵母细胞的当前状态进行总览。只需单击视图中的虚拟孔位，就能够轻松的选择全部或特定的卵母细胞进行记录。Roboocyte2还提供了一个非常直观的手动模式来帮助您在实验前快速测试设置的实验参数是否正确。手动模式也能够帮助新用户获得初始经验，而无需直接从设置详细精密的实验方案开始。

总的来说，Roboocyte2软件功能灵活强大，能够进行直流偏移校正，电极阻抗检查，卵母细胞破膜，化合物给药，以及手动和自动控制下的卵母细胞电流钳和电压钳的实验和操作。

### 数据处理

记录和控制窗口能够在整个测试过程中在线显示数据结果，对96个卵母细胞的信号进行自动采集和实时分析。化合物信息和分析结果将自动存储在Microsoft Access兼容的数据库文件中，该文件能够创建报告、管理大量化合物信息和评估实验结果，这将为行业验证数据库的建立提供便利；或者，您也可以将数据导出为ASCII格式并使用其他第三方软件进行数据分析。

## 可灵活设置的记录实验程序

Roboocyte2软件允许用户自定义设计参数并生成脚本程序。记录开始前，实验人员可以在出现的对话框中对所有参数进行修改。例如，您可轻松更改阶跃步长序列中的钳制电压。使用预定义的记录程序保证了快速的参数设置、可重复性高，避免了人为处理产生的误差。

## 手动控制模式

用户可以在手动控制模式下测试实验程序并演练快速的TEVC记录。只需点击“手动模式”对话框，输入卵母细胞所在的孔位位置编号，将TEVC探针移动到选定的卵母细胞上，通过细胞膜电位判断并控制电极刺入细胞。手动切换电流钳和电压钳记录模式并开启阶跃电压实验程序、通过点击化合物对应的按钮进行给药。

## 使用Roboocyte2+ Software进行数据分析

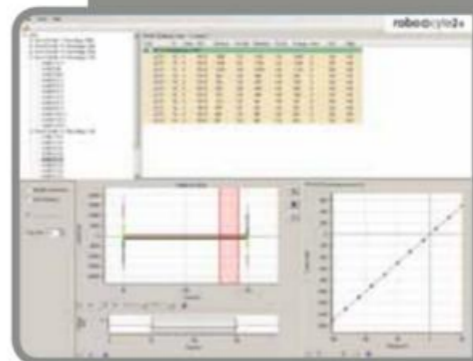
加载数据文件后，记录的信号能够在Roboocyte2+软件中进行重演和分析。数据的最大值、最小值、平均值以及曲线下面积等分析值，可直接在结果窗口中查看；IV曲线和剂量效应曲线可根据相应的记录结果和化合物信息经计算生成；通过曲线拟合功能可计算出该化合物对应EC50及IC50值，记录数据能够导出为ASCII文本格式以用于后续的第三方分析。右图显示了阶跃电压下在模型细胞上记录得到的电流-电压曲线。

## 可编辑的程序脚本

Roboocyte2是用类java的脚本语言编写，它允许对所有预想的实验步骤实现完全的自动化；并能在卵母细胞上使用“无限”数量的化合物，记录其在刺激条件下正确的电信号反应。

实验人员可在“卵母细胞电活动反应依赖性”实验程序和控制序列中自定义相关参数的阈值。典型的控制过程包括电极阻抗检查，膜电位和漏电流检测，通道表达检测，可逆性检测，通道或转运蛋白的激动机制检测等等。Roboocyte2具有跳过对失活细胞记录的功能（即未通过活性检测的卵母细胞），从而节省了化合物，并阻止了实验程序的进一步延迟。实验人员可以灵活的对每个卵母细胞设置独立的记录方案，并根据您的需要将其整合到整体的控制过程中，以节约时间和成本。

Roboocyte2软件包含通用应用的实验脚本模板，而MCS专业的支持团队可以帮助您编写专门针对本课题应用的程序脚本。



## 免费软件更新和支持

我们渴望能不断满足客户需求并更新产品，因此Roboocyte2软件的开发是持续进行的，欢迎您提出宝贵的建议，我们会定期将全新的功能添加到软件中。您可以从MCS的官方网站中免费获取软件更新的安装包。

Roboocyte2软件提供全面详细的使用手册，交互式的HTML帮助界面，以及友好、专业的支持团队，能够全面助力您的科研和药物研发工作！



# 技术参数

## Roboocyte2 平台

- 规格尺寸: 320 mm x 320 mm x 310mm (W x D x H)
- 重量: 23.2 kg
- 电源:  
电压范围: 100 to 240 VAC  
频率: 47 to 63 Hz
- 供给气压:  
减压阀输入端口: 4~8 bar  
Roboocyte2: 3.2 bar

## ClampAmpC 放大器

### 通用参数:

- 全新设计的集成化数字TEVC放大器
- 包含前置放大器
- 由计算机控制、全自动化操作
- 附有2个独立参比电极的浴槽膜片钳电路
- 采样率: 1 Hz - 20 kHz
- 信号分辨率: 16 bit
- 推荐电极阻抗范围: 100 k $\Omega$  to 1 M $\Omega$

### 电流电极输出:

- 电流输出范围: - 107  $\mu$ A ~ +107  $\mu$ A
- 有效电流分辨率: 1 nA
- 顺应电压范围: - 100 V ~ +100 V

### 电压电极输入:

- 电压输入范围: -500 mV ~ +500 mV
- 电压分辨率: 0.125 mV
- 钳制电压设定值范围:  
-500 mV ~ +500 mV
- 钳制电压设定值分辨率: 1 mV

### 放大器增益设置:

- 比例增益: 0 - 6700 nA/mV
- 积分增益: 0 - 8000 1/s

## 性能与通量

- 可配合一次性标准96孔板操作
- 定位精确度: 20  $\mu$ m (x/y/z 三轴)

## 灌流系统

- 12通道夹管阀门Roboflow灌流系统: 配备2个蠕动泵, 流量调节范围: 0.1-10ml/min
- 能够与Gilson GX-271相兼容
- 以上两种系统均可由Roboocyte2软件完全控制并实现自动化操作
- 应用化合物的数量仅受卵母细胞的活性和状态限制

## 软件

- 通过脚本程序实现全自动化的设备控制和运行
- 通过USB 2.0与Roboocyte2相连接
- 数据可导出为ASCII格式文件
- 化合物信息和分析结果自动存储在Microsoft Access 2010 数据库文件中 (但不包含Microsoft Access 软件)

## 附件包

- 预装有软件的计算机及LCD显示屏
- 体式显微镜
- TEVC 探头



# 应用举例

## GABA<sub>A</sub> 受体

### 背景简介

$\gamma$ -氨基丁酸(GABA)是哺乳动物中枢神经系统主要的抑制性神经递质。GABA A型受体是由一系列亚单位异构体组装而成的五聚体氯离子通道，这些亚单位异构体能够显著影响该受体亚型的药理特性。

GABA A受体是很多重要临床药物的作用靶点，如抗焦虑药、抗惊厥药、麻醉剂、镇静剂、肌肉松弛剂、巴比妥酸盐和苯二氮卓类药物等。

### 信号

GABA受体经诱导产生的电流能够在-60 mV的钳制点位下记录。一般来说，GABA的给药时间在10-30s之间，以最大程度地减少通道蛋白的脱敏，同时也能确保在较低浓度的GABA作用下发生饱和反应。GABA诱导产生的电流在给药2.5s后达到最大值，洗脱后20 s内可再次回到基线。本次实验在约40%的卵母细胞中成功记录到了GABA受体产生的电流(最小电流幅值为500nA)。

右图显示了在不同浓度GABA(0.1 $\mu$ M, 0.3 $\mu$ M, 1 $\mu$ M, 3 $\mu$ M, 10 $\mu$ M, 100 $\mu$ M, 1 mM)给药后，受体经诱导产生的电流曲线叠加图。

### 剂量反应曲线分析

以在1mM GABA刺激下记录获得的最大电流为基准对其他浓度的结果进行标准化，经计算可得，全自动TEVC测定的大鼠GABA A型受体 R亚型 $\alpha 1$   $\beta 2$ 亚基的EC50值为3.7 $\mu$ M，与传统TEVC记录所得的EC50值相当。

### 荷包牡丹碱(Bicuculline)对GABA<sub>A</sub>受体活性的抑制作用

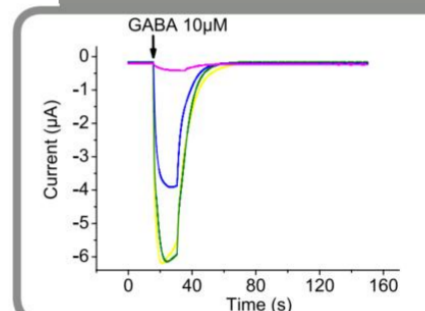
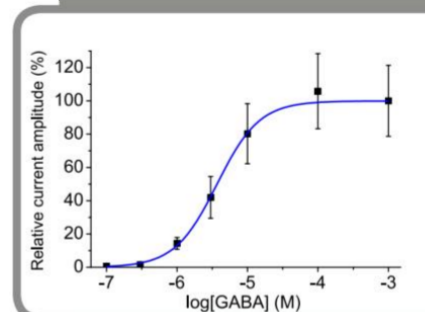
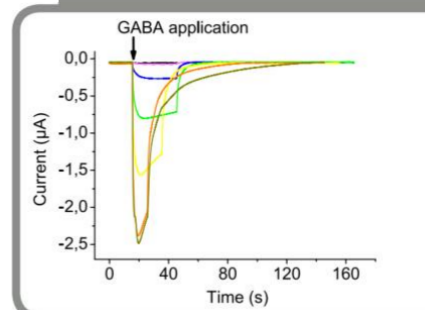
右图展示了荷包牡丹碱对GABA诱导受体产生电流的剂量依赖性抑制作用。不同浓度的荷包牡丹碱持续给药，2 min后给予10 $\mu$ M GABA刺激；所有浓度化合物均在同一个卵母细胞上进行连续的全自动测试。在每次GABA给药之后，下一个浓度测试之前，均进行2-5分钟的洗脱。

(Pehl, U., Leisgen, C., Gampe, K. and Günther, E. (2004). „Automated Higher-Throughput Compound Screening on Ion Channel Targets Based on the *Xenopus laevis* Oocyte Expression System. " Assay Drug Dev Technol 2(5): 515-524.)

### 研究目的

GABA A型受体R亚型 $\alpha 1$ 和 $\beta 2$ 亚基的cDNA在非洲爪蟾卵母细胞中共注射2-7天后表达，并在卵母细胞膜上形成功能性的氯离子通道复合物。

本实验的研究目的是分析该离子通道复合物的药理特性：通过全自动双电极电压钳方法探讨GABA受体激活或抑制的化合物剂量依赖性反应。



# 应用举例

## hERG 钾离子通道电流

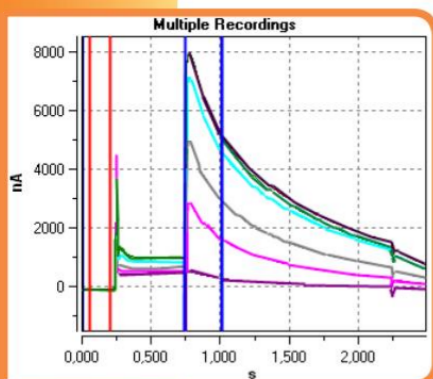
### 背景简介

钾离子通道对心肌细胞动作电位复极化（使细胞膜恢复到静息电位状态）具有重要作用。人源ether-à-go-go相关基因(hERG)能够编码钾离子通道蛋白组装孔隙结构的亚基，该通道能介导快速激活延迟整流K<sup>+</sup>电流(I<sub>Kr</sub>)。药物阻断钾离子通道会导致其动作电位的延长。

### 研究目的

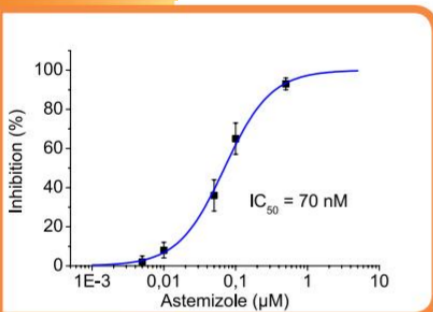
药物引起的长Q-T间期综合征(LQTS)和尖端扭转型心律失常目前是一个亟待解决的公众健康问题。hERG通道的抑制被认为是威胁心脏安全的一个重要因素。在过去几年中，部分药物由于存在导致LQTS的不良心脏副作用风险而退出市场。

因此，制药行业倾向于在早期药物分析阶段筛查候选药物对心脏动作电位的不良副作用。本实验采用Roboocyte进行全自动的电生理药物筛选，以表征候选化合物对hERG离子电流的影响。



### hERG 钾离子通道电流的记录

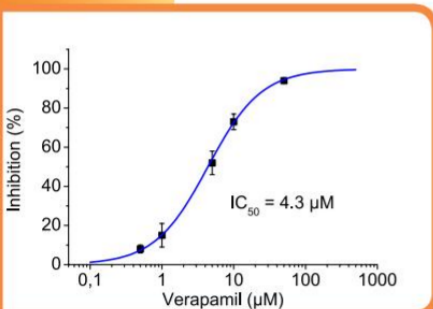
左图显示了使用Roboocyte2爪蟾卵母细胞全自动电压钳筛选系统对hERG钾离子通道电流记录的叠加分析窗口。本次实验中，爪蟾卵母细胞被钳制在-90 mV，外源表达的hERG通道在0 mV（250ms-750ms）被去极化激活，并得到稳定的通道电流。由于去失活的速率比失活速率快，当电压回到-85 mV时（750ms-2,250ms），有许多通道还没有从打开状态进入关闭状态，因此会产生较大的外向尾电流。hERG通道可以在递增浓度的阿司咪唑（5、10、50、100和500 nM）作用下被抑制。



### 阿司咪唑 (Astemizole) 对hERG外向尾电流的抑制作用

阿司咪唑是一种抗组胺药，可有效缓解过敏症状。由于心脏安全问题，该药现已从美国市场撤回。

阿司咪唑通过抑制hERG K<sup>+</sup>通道进而阻断I<sub>Kr</sub>电流。通过Roboocyte2全自动电压钳实验测量计算得到的IC<sub>50</sub>值为0.069 µM（左图），与使用手动膜片钳测量发表的数据几乎相同。



### 维拉帕米 (Verapamil) 对hERG外向尾电流的抑制作用

苯烷基胺维拉帕米可用于心血管类疾病的治疗，如心绞痛、高血压和室上性心动过速等。

使用Roboocyte2全自动电压钳实验测量计算得到IC<sub>50</sub>值为4.3 µM（左图），与使用手动膜片钳测量发表的数据（3.8 µM）相当。

# 应用举例

## Na/K-ATP酶转运蛋白

### 背景简介

Na/K-ATP酶是一种细胞中普遍存在且极其重要的细胞膜蛋白，在每个转运周期中，它利用1个ATP分子水解产生的能量进行Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>的主动运输，以逆浓度梯度的方式，向细胞内转运2个K<sup>+</sup>，并同时向细胞外泵出3个Na<sup>+</sup>。

该转运蛋白具有多种功能，它包括，通过维持细胞膜内外Na<sup>+</sup>和K<sup>+</sup>的浓度差以稳定细胞的膜电位和兴奋性；耦合Na<sup>+</sup>电流驱动次级主动转运系统；是细胞代谢率的重要决定因素，细胞中30-70%的ATP都在该转运蛋白中水解。

此外，Na/K-ATP酶也是强心苷的药物作用受体，因其正性肌力效应而广泛应用于慢性心功能不全的治疗；Na/K-ATP酶也是内源性乌苯苷类化合物的生理性受体。

### 爪蟾卵母细胞中转运蛋白的表达

向爪蟾卵母细胞中注射编码人源Na/K-ATPase亚基的cDNA，右图结果显示表达α/human β1 Na/K-ATPase转运蛋白的卵母细胞其Na<sup>+</sup>泵电流是未注射cDNA卵母细胞（只表达内源性Na/K-ATPase）的1.7倍；表达human α1/β1 Na/K-ATPase转运蛋白的卵母细胞其Na<sup>+</sup>泵电流是未注射cDNA卵母细胞的7.1倍，这与手动膜片钳已发表的数据一致。因此，在本实验中，我们能够通过电生理特性显著区分非洲爪蟾和人源Na/k-ATP酶的功能反应。

### 乌苯苷（Ouabain）对内源性Na/K-ATPase的抑制作用

右图结果显示了乌苯苷对内源性Na/K-ATPase的抑制作用。对未注射人源编码Na/K-ATPase的卵母细胞给予乌苯苷100μM，暴露时间2min，能够显著抑制由10mM K<sup>+</sup>诱导该转运蛋白产生的电流。在此过程中，由于Roboocyte数码TEVC放大器的出色表现，使我们能够精确的追踪到只有50 nA的内源性转运蛋白的电流差。

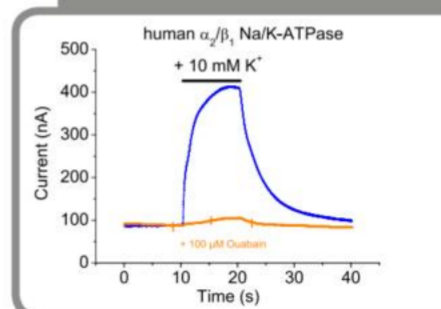
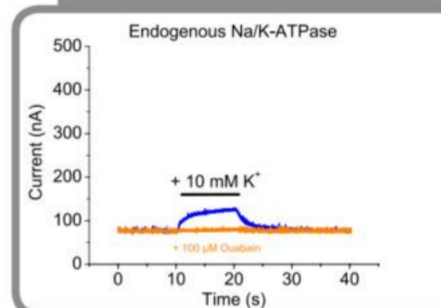
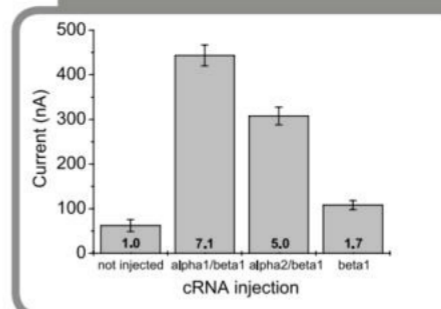
### 乌苯苷（Ouabain）对人源Na/K-ATPase的抑制作用

右图结果显示了乌苯苷对人源α2/β1 Na/K-ATPase的抑制作用。对表达人源Na/K-ATPase的卵母细胞给予乌苯苷100μM，暴露时间2min，同样能够非常显著的抑制由10mM K<sup>+</sup>诱导产生的电流。

### 研究目的

本实验将四种不同亚型的人源Na/K-ATP转运蛋白表达在非洲爪蟾卵母细胞的细胞膜上，并使用Roboocyte全自动电压钳筛选系统对其进行电生理记录。由于爪蟾卵母细胞本身也表达内源性的Na/K-ATPase，因此首先我们通过Na<sup>+</sup>泵电流的大小对外源性表达Na/K-ATPase的细胞和未注射外源cDNA的细胞进行了功能对照。

随后通过对细胞给予不同的化合物刺激来揭示其对Na<sup>+</sup>泵转运蛋白活性的潜在影响。本次实验中，使用Na/K-ATPase的抑制剂乌苯苷分别对表达人源α2/β1 Na/K-ATPase 和内源性Na/K-ATPase卵母细胞的电生理特性进行分析研究。





# 部分参考文献

Alijevic O, McHugh D, Rufener L, Mazurov A, Hoeng J, Peitsch M (2020) An electrophysiological characterization of naturally occurring tobacco alkaloids and their action on human alpha4beta2 and alpha7 nicotinic acetylcholine receptors. *Phytochemistry* 170:112187.

Brams M, Govaerts C, Kambara K, Price KL, Spurny R, Gharpure A, Pardon E, Evans GL, Bertrand D, Lummis SCR, Hibbs RE, Steyaert J, Ulens C (2020) Modulation of the *Erwinia* ligand-gated ion channel (ELIC) and the 5-HT3 receptor via a common vestibule site. *Elife* 9:e51511.

Zeng SL, Sudlow LC, Berezin MY (2020) Using *Xenopus* oocytes in neurological disease drug discovery. *Expert Opin Drug Discov* 15:39-52.

Barth D, Fronius M (2019) Shear force modulates the activity of acid-sensing ion channels at low pH or in the presence of non-proton ligands. *Sci Rep* 9:6781.

Cameron JM, Maljevic S, Nair U, Aung YH, Cogne B, Bezieau S, Blair E, Isidor B, Zweier C, Reis A, Koenig MK, Maarup T, Sarco D, Afenjar A, Huq A, Kukolich M, Billette de Villemeur T, Nava C, Heron B, Petrou S, Berkovic SF (2019) Encephalopathies with KCNC1 variants: genotype-phenotype-functional correlations. *Ann Clin Transl Neurol* 6:1263-1272.

Darbani B, Stovicek V, van der Hoek SA, Borodina I (2019) Engineering energetically efficient transport of dicarboxylic acids in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 116:19415-19420.

Foo CS, Jobichen C, Hassan-Puttaswamy V, Dekan Z, Tae HS, Bertrand D, Adams DJ, Alewood PF, Sivaraman J, Nirathanan S, Kini RM (2019) Fulditoxin, representing a new class of dimeric snake toxins, defines novel pharmacology at nicotinic acetylcholine receptors. *Br J Pharmacol*.

Otte M, Schweinitz A, Lelle M, Thon S, Enke U, Yuksel S, Schmauder R, Bonus M, Gohlke H, Benndorf K (2019) Novel Fluorescent Cyclic Nucleotide Derivatives to Study CNG and HCN Channel Function. *Biophys J*.

Park JH, Koko M, Hedrich U, Hermann A, Cremer K, Haberlandt E, Grimm M, Alhaddad B, Beck-Wödl S, Harrer M, Karall D, Kingelhofer L, Tzschach A, C. Matthies L, M. Strom T, Ringelstein E, Sturm M, Engels H, Wolff M, Haack T (2019) KCNC1-related disorders: new de novo variants expand the phenotypic spectrum.

Distributed by:



哈佛生物

地址: 上海市长宁区江苏路121号中西大厦8C室

联系电话: (+86) 21 6226 0239

公司网址: <http://www.harvardbioscience.com.cn>

电子邮件: [APAC\\_sales@harvardbioscience.com](mailto:APAC_sales@harvardbioscience.com)



© 2023

Multi Channel Systems MCS GmbH