



KERNFORSCHUNGSANLAGE JÜLICH GmbH

Institut für Neurobiologie

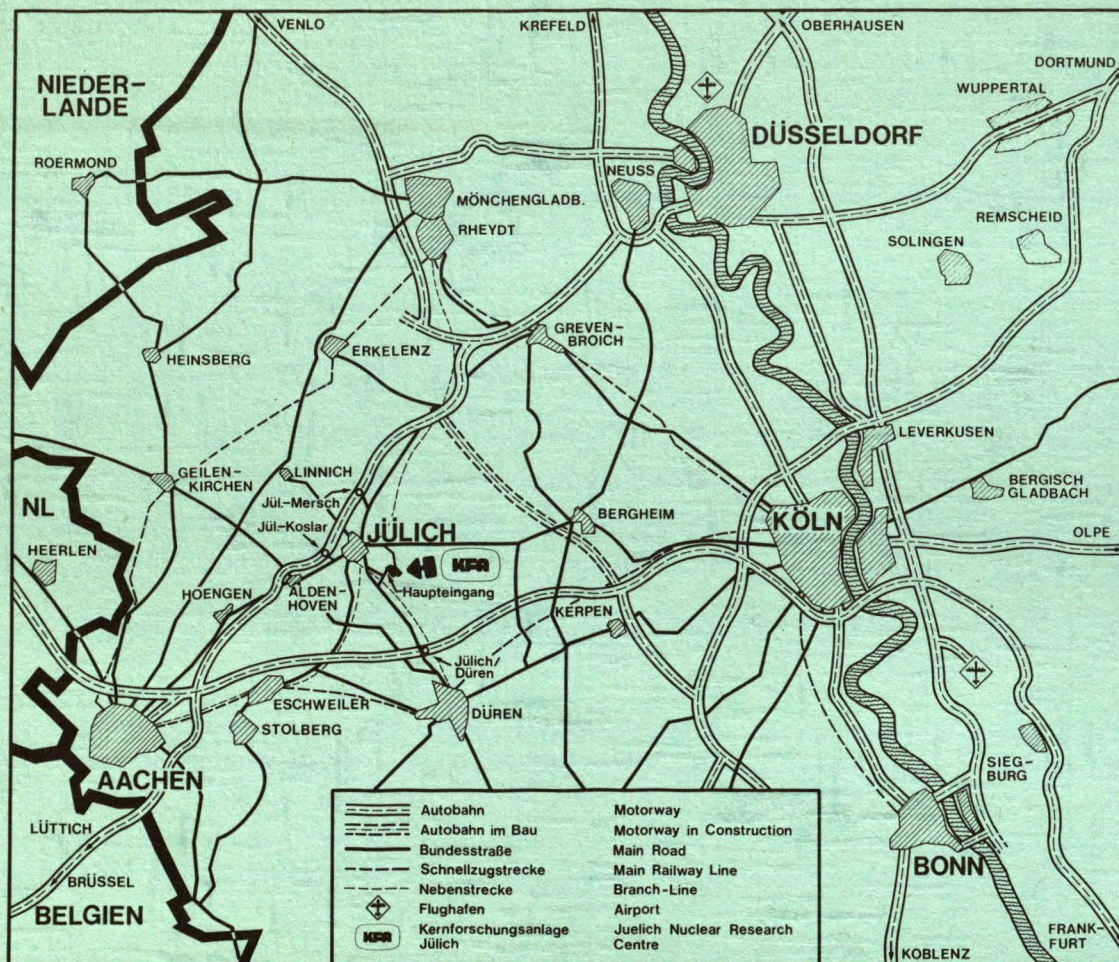
**Messung der Hell - Dunkel - Adaptation und
ihre Beeinflussung durch die extrazelluläre
Calciumkonzentration**

**Elektrophysiologische Messungen am Ventralnerv
Photorezeptor von Limulus polyphemus**

von

I. Claßen-Linke

**Jül - 1778
März 1982
ISSN 0366-0885**



Als Manuskript gedruckt

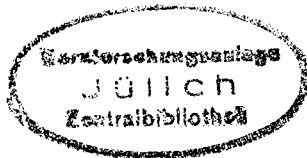
Berichte der Kernforschungsanlage Jülich – Nr. 1778

Institut für Neurobiologie Jül – 1778

Zu beziehen durch: ZENTRALBIBLIOTHEK der Kernforschungsanlage Jülich GmbH

Postfach 1913 · D-5170 Jülich (Bundesrepublik Deutschland)

Telefon: 024 61/610 · Telex 833 556 kfa d



**Messung der Hell - Dunkel - Adaptation und
ihre Beeinflussung durch die extrazelluläre
Calciumkonzentration**

**Elektrophysiologische Messungen am Ventralnerv
Photorezeptor von Limulus polyphemus**

von

I. Claßen-Linke

D 82 (Diss. T. H. Aachen)

Ref. 162739
ZUSCHICKEN

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Summary	IV
Abkürzungen und Definitionen	VIII
<u>1. Einleitung</u>	1
<u>2. Material und Methoden</u>	8
2.1 Versuchsobjekt	8
2.1.1 Morphologie des Ventralnerv Photorezeptors von Limulus polyphemus	8
2.1.2 Präparation	10
2.2 Versuchsapparatur	10
2.2.1 Versuchsaufbau	10
2.2.2 Optischer Teil	11
2.2.2.1 Beleuchtungseinrichtung I	12
2.2.2.2 Beleuchtungseinrichtung II	12
2.2.2.3 Lichtmessung	14
2.2.3 Elektrophysiologische Meßanordnung	15
2.2.3.1 Extrazelluläre Messung mit der Saugelektrode	15
2.2.3.2 Intrazelluläre Messung mit der Mikroelektrode	15
2.2.4 Aufzeichnungsteil	15
2.2.5 Versuchsablaufsteuerung	15
2.2.6 Durchströmung, Kühlung und Temperaturmessung	16
2.2.7 Versuchsgefäß und Gegenelektrode	16
2.2.8 Elektrodenhalterung	18
2.2.8.1 Elektrodenhalterung für die Mikroelektrode	18
2.2.8.2 Elektrodenhalterung für die Saugelektrode	18
2.2.9 Herstellen der Glaselektroden	19
2.2.9.1 Herstellen der Mikroelektroden	19
2.2.9.2 Herstellen der Saugelektroden	19
2.2.10 Saugelektrodenteknik	21

<u>3.</u>	<u>Versuchsdurchführung</u>	22
3.1	Versuchsbedingungen	22
3.1.1	Lösungen	22
3.1.2	Reizprogramm	22
3.2	Auswertung der Versuche, Meßgrößen und Statistik	26
<u>4.</u>	<u>Versuchsergebnisse und Diskussion der Versuchsergebnisse</u>	31
4.1	Messungen zum Dunkeladaptationsverlauf	31
4.1.1	Constant-stimulus-Kurve	31
4.1.2	Criterion-response-Kurve	37
4.2 \	Dunkeladaptationsverlauf bei Veränderung der extra- zellulären Calciumkonzentration	45
4.2.1	Erniedrigung der extrazellulären Calciumkonzentration	45
4.2.2	Erhöhung der extrazellulären Calciumkonzentration	47
4.3	Beeinflussung des Dunkeladaptationsverlaufs durch regenerative Prozesse	51
4.3.1	Constant-stimulus-Kurve	51
4.3.2	Criterion-response-Kurve	58
4.4	Veränderung der Potentialform der criterion-response im Verlauf der Dunkeladaptation	60
4.5	Zerlegung der Potentiale in Komponenten	63
4.6	Messungen mit der Saugelektrode	69
4.7	Voltage-clamp-Messung	75
<u>5.</u>	<u>Diskussion und Literaturvergleich</u>	78
5.1	Constant-stimulus-Kurve	78
5.2	Criterion-response-Kurve	78
5.3	Der Einfluß der extrazellulären Calciumkonzentration auf den Dunkeladaptationsverlauf	80
5.4	Korrelation zwischen dem Übergang der beiden Adaptationsprozesse und dem Auftreten zweier Komponenten	83
5.5	Bumps	85
5.6	Hyperpolarisation nach starker Helladaptation und die Wirkung der elektrogenen Pumpe	86

5.7	Die Spannungsabhängigkeit der gemessenen Potentiale und das Auftreten von Spikes	87
5.8	Lokalisationseffekte bei der extrazellulären Messung mit der Saugelektrode	89
5.9	Abschließende Bemerkungen und Ausblick	90
6.	<u>Zusammenfassung</u>	92
7.	<u>Anhang</u>	96
8.	<u>Literaturverzeichnis</u>	100

Light and dark adaptation and the influence of extracellular Ca^{2+} -concentration.

Electrophysiological measurements on the ventral nerve photoreceptor of *Limulus polyphemus*

Summary

Method: A set-up for intra- and extracellular electrophysiological measurements on the *Limulus* ventral nerve photoreceptor was built up.

A suction electrode method was developed to record the extracellular currents of a single photoreceptor cell at different membrane areas. Simultaneously the voltage response (receptor potential) could be measured intracellularly.

- 1) The time course of dark adaptation following light adaptation by a bright 1 or 5 s illumination ($4,4 \cdot 10^{16}$ photons $\cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ at 543 nm) was measured by two different methods:
 - a) constant-stimulus-curves were determined by measuring the amplitude of the intracellularly recorded receptor potential in response to test stimuli of constant intensity and duration in dependence on the dark adaptation time.
 - b) criterion-response-curves were determined by measuring the sensitivity increase in dependence on the dark adaptation time by determining the light intensity necessary to evoke a criterion response amplitude of the receptor potential.

The experimental data for the dark adaptation time t_{DA} and the light intensity I were fitted by two exponential functions

$$I = \alpha \cdot I_0 \cdot e^{\frac{-t_{DA}}{\tau}}$$

and by two power functions

$$I = a \cdot I_0 \cdot t_{DA}^{-b}, \text{ respectively.}$$

The better fit - that means the higher r^2 -values (correlation coefficient) could be obtained by the power functions (fig. 18).

- 2) The time course of dark adaptation was characterized by two different phases, a fast and a slow one. The first rather fast increase of sensitivity after light adaptation ($\tau_1 = 5,5$ s; $s_{\bar{x}} = \pm 0,6$ s, $n = 16$) was followed by a second slower phase ($\tau_2 = 287$ s; $s_{\bar{x}} = \pm 44$ s, $n = 16$). In the double logarithmic plot two different slopes could be determined. The exponent $\underline{b}_1$ characterizing the first slope was 3,5 ($s_{\bar{x}} = \pm 0,4$; $n = 16$) in the average and $\underline{b}_2$ characterizing the second slope was 1,0 ($s_{\bar{x}} = \pm 0,1$; $n = 13$) in the average.
- 3) The influence of the extracellular Ca^{2+} -concentration on the dark adaptation process was investigated. Only the first phase of dark adaptation was strongly dependent on the changed extracellular Ca^{2+} -concentration - in accordance with the Ca^{2+} -hypothesis (Lisman and Brown, 1972) - while the second phase of dark adaptation was nearly Ca^{2+} -independent (s. Tab. II). According to this effect the coefficients $\underline{b}$ and $\underline{a}$ of the power function were changed:
The exponent $\underline{b}_1$ was decreased to 1,7 ($s_{\bar{x}} = \pm 0,5$; $n = 6$) when the external Ca^{2+} -concentration was lowered from 10 mmol/l to 250 μ mol/l (see for example fig. 22);
 $\underline{b}_1$ was increased to 4,7 ($s_{\bar{x}} = \pm 0,5$; $n = 3$) raising the extracellular Ca^{2+} -concentration to 40 mmol/l (see for

example fig. 24).

The factor a characterizing the sensitivity for $t_{DA} = 1$ s varies greatly from experiment to experiment; a_1 is decreased - corresponding to a greater sensitivity - to about 5 % in the average by lowering the extracellular Ca^{2+} -concentration and strongly increased by a factor of 70 by raising the extracellular Ca^{2+} -concentration.

Interpretation: Calcium can only control the sensitivity of the cell when the intracellular concentration of Ca^{2+} -ions exceeds a certain threshold.

This is only true in the first relatively light-adapted phase (strong light intensity, short dark adaptation time). In the second relatively dark-adapted phase (weak light intensity, long dark adaptation time) other mechanisms such as the metabolism of the cell or action of enzymes control the sensitivity of the photoreceptor cell.

- 4) The two adaptation processes are correlated to the appearance of the two components C_1 and C_2 of the receptor potential, which are influenced differently by the state of adaptation.

In some experiments the two components are clearly separated and appear at the transition of the first to the second phase of adaptation (fig. 33). In those experiments, in which the single components could not be detected, the two components could be recognized by a break in the slope of the time-to-peak (t_{max}) curve and latency time (t_{lat}) curve (fig. 35).

The light-induced membrane current (under voltage clamp conditions) in response to light stimuli which evoke voltage responses of criterion amplitude depends on dark adaptation and light intensity. In the first phase of adaptation the light induced current is smaller than in the second phase although the voltage response is always constant. This effect again indicates the appearance of the two components C_1 and C_2 which alternatively fulfil the criterion amplitude.

A contribution of voltage-dependent channels for C_1 cannot be excluded and needs further investigations.

- 5) Spike-like, regenerative signals were observed during the depolarization following the hyperpolarization which was caused by the strong light adaptation. These signals are evoked by activation of voltage-dependent channels (probably Na^+ - Ca^{2+} -channels, s. O'Day and Lisman, 1980), that means they can be triggered without light by a change in membrane voltage (fig. 41).

A similar dependence of changed extracellular calcium concentration on the dark adaptation process could also be observed in those cells with regenerative events (see fig. 30).

- 6) Using the suction electrode, localization effects were investigated. Positive or negative signals could be recorded depending on the position of the suction electrode on the photoreceptor. This effect indicates that there are different membrane areas with different electrical properties.

A negative signal representing a Na^+ -inward current can be measured presumably by recording from the light sensitive microvillar areas; on the contrary by recording from other membrane areas a positive signal can be measured which represents a K^+ -outward current.

Predominantly the spike-like response has the opposite polarity than the receptor potential (fig. 38c); that means: the spikes and receptor potentials are generated in different areas.

The components C_1 and C_2 which were also recorded extracellularly had always the same polarity (fig. 38d); this indicates that these potentials are generated in the same membrane areas.

Abkürzungen und Definitionen

I_o	maximale Reizlichtintensität bei Filter 0
I	jeweilige Reizlichtintensität, die um einen Faktor relativ zu I_o vermindert wird ($\frac{I}{I_o} = \frac{1}{2^F}$)
F	Filter
t_{DA}	Dunkeladaptationszeit
PMP	Membranpotential vor dem Lichtreiz (= Dunkelpotential)
h_{max}	maximale Amplitude des Rezeptorpotentials
U_{HA}	maximale Amplitude des durch den helladaptierenden Lichtreiz ausgelösten Rezeptorpotentials
U_{CR}	vorgegebene Amplitudenhöhe einer sog. criterion-response
t_{max}	Gipfelzeit (= Zeit von Reizbeginn bis zum Erreichen der maximalen Amplitude)
t_{lat}	Latenzzeit (= Zeit von Reizbeginn bis zum Anstieg des Rezeptorpotentials)
PS	physiologische Salzlösung
CS-Kurve	constant-stimulus-Kurve
CR-Kurve	criterion-response Kurve
Empfindlichkeit	Reziprokwert der Lichtintensität, die eine vorgegebene Amplitudenhöhe der sog. criterion-response auslöst
Helladaptation	Prozeß, der die Empfindlichkeit während eines Lichtreizes herabsetzt
Dunkeladaptation	Prozeß, der nach Beendigung eines Lichtreizes einsetzt und zur Wiederherstellung der Empfindlichkeit führt

helladaptierter Zustand	erniedrigte Empfindlichkeit der Photorezeptorzelle durch erfolgte Helladaptation
dunkeladaptierter Zustand	annähernd maximale Empfindlichkeit der Photorezeptorzelle durch lange Dunkeladaptationszeit
Spike	in Analogie zur Alles-oder-Nichts Erregung einer Nervenzelle (Aktionspotential) synonym gebrauchte Bezeichnung für eine schnelle Komponente, die Alles-oder-Nichts Charakter aufweist
Schwelle	kritische Membrandepolarisation, bei der ein Spike ausgelöst wird
regenerativer Prozeß	ein sich selbst verstärkender Prozeß, der bei Überschreiten der Schwellenbedingung einsetzt und zu einer Spike-Auslösung führt
regenerative Signale	durch einen regenerativen Prozeß ausgelöste Signale
Aktivierung	vorübergehende Erhöhung der Leitfähigkeit für bestimmte Ionen durch Öffnen spannungsabhängiger Kanäle; hier - wie beim Na^+ -System an der Nervenzelle - durch Depolarisation
Inaktivierung	Erniedrigung der Leitfähigkeit bei Andauern der Depolarisation; durch einen längeren hyperpolarisierenden Vorimpuls kann die Inaktivierung wieder aufgehoben werden (s. Inaktivierungskurve, Stämpfli, 1974)

1. Einleitung

Lichtsinnesezellen - auch Photorezeptoren genannt - stellen Empfänger und Verstärker zugleich dar; sie setzen auftreffende Lichtquanten in elektrische Signale um, die vom Nervensystem verarbeitet werden können. Mit Hilfe von Rezeptoren erhält der Organismus Information über seine Umwelt. Deswegen ist es wichtig, daß Rezeptorsysteme zweckmäßig sind. Sie spiegeln durch ihr allmähliches Entsprechen an die Naturgesetze wiederum deren Gesetzlichkeit wieder (Lorenz, 1973). In dem Sinne kann die Evolution als ein erkenntnisgewinnender Prozeß verstanden werden (Vollmer, 1980).

Die Adaptation, deren Untersuchung Gegenstand dieser Arbeit ist, ermöglicht eine Anpassung des Rezeptors an unterschiedliche Reizstärken. Sie tritt bei vielen Organismen auf, und zwar schon bei Formen einfachster Organisation, z. B. an Sporangiothecae von *Phycomyces* (Delbrück und Reichardt, 1957) und an Bakterien (Koshland, 1980). Sowohl die Rezeption wie auch die Adaptation haben biologischen Überlebenswert. Während die Rezeption Aufschluß über absolute Reizhöhen gibt, erfolgt über die Adaptation die 'Feineinstellung' innerhalb eines Intensitätsbereichs.

Bei Photorezeptoren steht am Anfang der Kausalkette der Reiz-Erregungsumsetzung die Photonenabsorption durch das membran-gebundene Chromoprotein Rhodopsin, das sich bei Invertebraten in der stark gefalteten Mikrovillimembran befindet; am Ende der Reaktionskette steht das Spannungssignal der Membran - das Rezeptor- oder Generatorpotential - das durch vorübergehende ionenselektive Änderung der Membranleitfähigkeit zustande kommt (s. Abb. 1). Der ein Rezeptorpotential begleitende Energieumsatz ist erheblich größer als die von der Zelle aufgenommene Reizenergie (bis zu einem Faktor von 10^6). Die dafür benötigte Energie wird vom Stoffwechsel der Zelle geliefert (Stieve, 1976 und 1977a). Ein einziges Photon kann zur Auslösung einer Membrandepolarisation (Elementarerregung = Bump) führen (Fuortes und Yeandle, 1964), wobei nach Stieve (1977), Wong (1978) und Brown und Coles (1979) ein Bump im

dunkeladaptierten Zustand der Zelle das Öffnen von $10^3 - 10^4$ Lichtkanälen (Lichtkanal = Ionenkanal mit Präferenz für Na^+ -Ionen) repräsentiert. Das Verstärkungsverhältnis wird jedoch bei Helladaptation graduell verändert, so daß pro Bump weniger Kanäle geöffnet werden (Stieve, 1980; Wong, 1978, maximal; 1 Lichtkanal pro Bump). Über den Verstärkungsmechanismus wie über die Kopplung der Sehfarbstoffreaktionen mit der Leitfähigkeitsänderung der Membran herrschen noch weitgehend Unklarheit. Ihre Untersuchung steht z. Zt. im Mittelpunkt der wissenschaftlichen Forschung. Der Beitrag, der dazu von der Elektrophysiologie geliefert werden kann, wird vielfach an Photorezeptorzellen von Inverte-

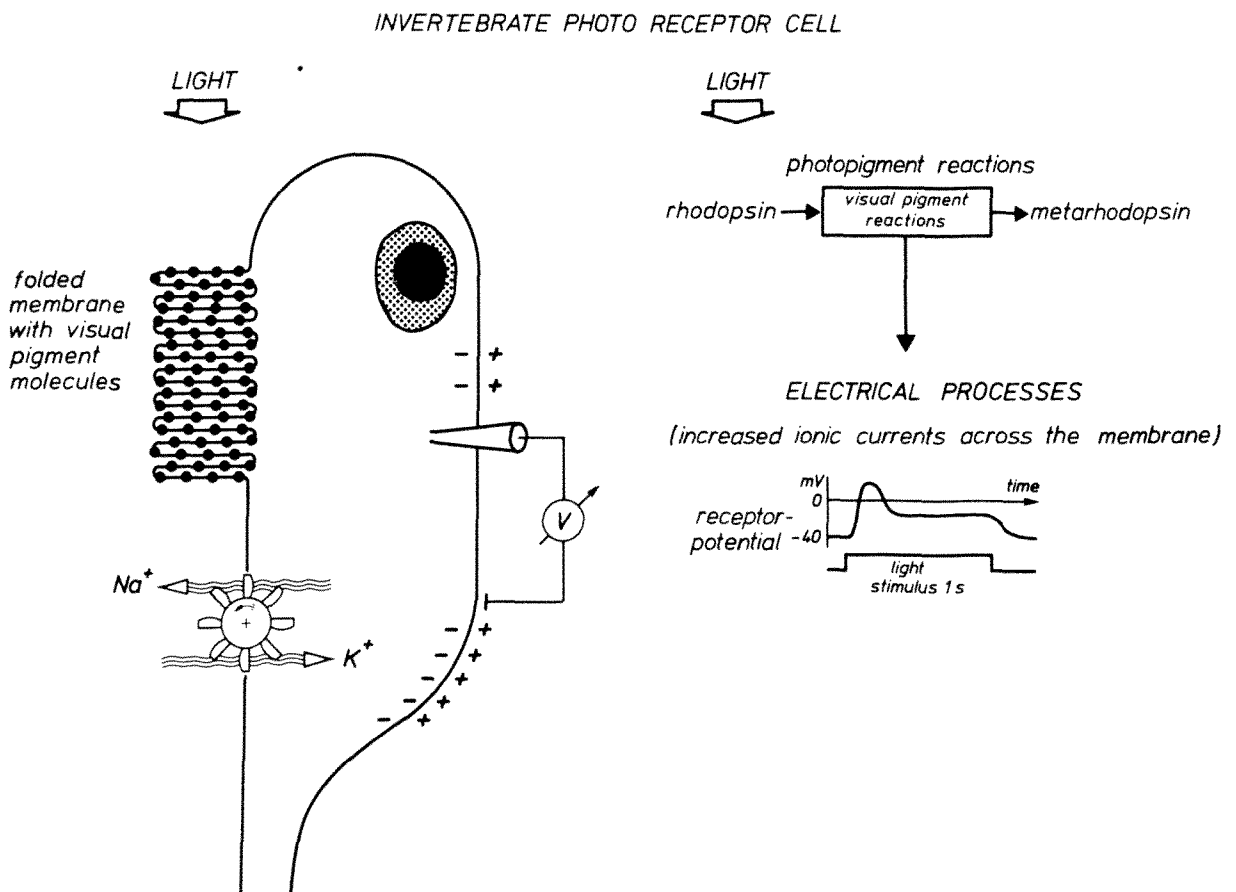


Abb. 1

Funktionsschema der Lichtsinneszelle eines Invertebraten. Der Sehfarbstoff Rhodopsin ist in der Mikrovillimembran enthalten. Das Symbol für die Pumpe zeigt aktive Ionentransportmechanismen an. (Stieve, 1981)

braten gewonnen, da sie sich wegen ihrer relativen Größe im Vergleich zu den kleineren Vertebratenlichtsinneszellen besser für elektrophysiologische Versuche eignen.

Das gilt insbesondere für die Anwendung der Voltage-clamp-Methode (s. Hodgkin und Huxley, 1952), bei der zwei Elektroden in die Zelle eingestochen werden; die Membranspannung kann hierbei über einen negativen Rückkopplungskreis konstant gehalten werden - der dafür benötigte Kompensationsstrom wird als direktes Maß für die Ionenströme durch die Membran gemessen.

Die hier beschriebenen Versuche wurden am Ventralnerv Photorezeptor des Pfeilschwanzkrebses *Limulus polyphemus* durchgeführt; dieser Photorezeptor stellt wegen seiner Größe und guten Zugänglichkeit ein bevorzugtes Objekt dar. Im folgenden sollen speziell die Eigenschaften dieser Lichtsinneszellen beschrieben werden, die aber - trotz ihres etwas abweichenden Aufbaus (s. Kap. 2.1.1) - allgemeine Eigenschaften der Invertebraten Photorezeptoren widerspiegeln (Überblick und Vergleich zwischen Vertebraten- und Invertebraten-Photorezeptoren, s. Stieve, 1977b).

Das Membranpotential im Dunkeln - auch Dunkelpotential genannt - entspricht einer Potentialdifferenz von -40 bis -60 mV über der Membran (innen gegen außen) und liegt damit in der Nähe des K^+ -Diffusionspotentials. Es ist etwas kleiner als das nach Nernst berechnete reine K^+ -Gleichgewichtspotential (für

$[K^+]_i : [K^+]_a = 20 \text{ bis } 30 \Rightarrow E_K = -75 \text{ bis } -85 \text{ mV}$). Dies ist ein Hinweis dafür, daß die Membran im Dunkeln auch für andere Ionen als K^+ -Ionen (z. B. Na^+ und Cl^-) permeabel ist, obwohl K^+ -Ionen die einzigen Ionen sind, die einen starken Effekt auf das Membranpotential im Dunkeln haben (Millecchia und Mauro, 1969). Bei Belichtung erfolgt im wesentlichen eine Permeabilitätserhöhung für Na^+ -Ionen (Millecchia und Mauro, 1969, Brown, und Mote, 1974); die Membran ist aber auch für K^+ - und Ca^{2+} -Ionen permeabel (Stieve, 1977c).

Der vorübergehende Einstrom von Na^+ -Ionen verursacht eine Depolarisation von maximal etwa +10 bis +30 mV. Dieser Wert liegt unterhalb des nach Nernst berechneten reinen Na^+ -Gleich-

gewichtspotentials (für $[Na^+]_i : [Na^+]_a = 1 : 10 \rightarrow E_{Na} = +65 \text{ mV}$), so daß eine Beteiligung von K^+ - und Ca^{2+} -Ionen am lichtinduzierten Strom berücksichtigt werden muß.

Die relative, spezifische Ionenpermeabilität P für die sog. 'Dunkelkanäle' liegt nach H.M. Brown (1976) (durch Messungen der intrazellulären Ionenaktivitäten mit ionenselektiven Mikroelektroden am Balanus ermittelt) bei $P_{Na} : P_K = 0,04$ (s. auch Stieve, 1977c). Für die sog. 'Lichtkanäle' liegt die relative spezifische Ionenpermeabilität nach Brown und Mote (1974, aus Änderungen des Umkehrpotentials an Limulus berechnet) bei $P_{Na} : P_K = 2$.

In Voltage-clamp-Versuchen (Millecchia und Mauro, 1969) konnte eine Nichtlinearität der Strom-Spannungs-Kennlinie sowohl für den Dunkelstrom wie auch für den lichtinduzierten Strom gemessen werden. Dies ist ein Hinweis dafür, daß zusätzlich spannungsabhängige Kanäle angenommen werden müssen. Es gibt spannungsabhängige Na^+ - Ca^{2+} -Kanäle, die durch Depolarisation aktiviert werden und die Depolarisation wiederum vergrößern (O'Day und Lisman, 1980), und spannungsabhängige K^+ -Kanäle (Pepose und Lisman, 1978), die die Repolarisation, also den Abfall des Rezeptorpotentials, beschleunigen.

Ca^{2+} -Ionen spielen eine bedeutende Rolle beim Transduktionsprozeß und übernehmen verschiedene Aufgaben (Stieve, 1981). Neben einem spannungsabhängigen Ca^{2+} -Einstrom (O'Day und Lisman, 1980) wird ein Ca^{2+}/Na^+ -Antagonismus an der äußeren Zellmembran beobachtet, der das Öffnen und Schließen der Lichtkanäle kontrolliert (Stieve und Bruns, 1978, Stieve und Pflaum, 1978b). Der wesentliche Einfluß von Ca^{2+} -Ionen liegt aber in der Einstellung der Empfindlichkeit der Lichtsinneszelle und wirkt damit direkt auf (oder über) die Adaptationsmechanismen, die ebenfalls den Empfindlichkeitsbereich der Zelle verstellen. Aus Versuchen von Lisman und Brown (1972) und Fein und Charlton (1977a, b) durch Injektion von Na^+ - und Ca^{2+} -Ionen ließ sich folgende Hypothese ableiten:

Die Erhöhung der intrazellulären Na^+ -Konzentration - wie sie auch lichtinduziert erfolgt (s.o.) - führt zu einem Anstieg der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration, die wiederum die

Ursache für die Desensitivierung der Photorezeptorzelle bei Helladaptation darstellt. Von Brown und Blinks (1974)-mit Hilfe des Ca^{2+} -Indikators Aequorin - und von J.E. Brown, et al., (1977) und Maaz und Stieve (1980)-mit Hilfe des Ca^{2+} -Indikators Arsenazo III konnte ein lichtinduzierter Anstieg der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration registriert werden. Bei Erniedrigung der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration durch Injektion des Ca^{2+} -Puffers EGTA (Lisman und Brown, 1975), wurden hingegen die Effekte der Dunkeladaptation imitiert.

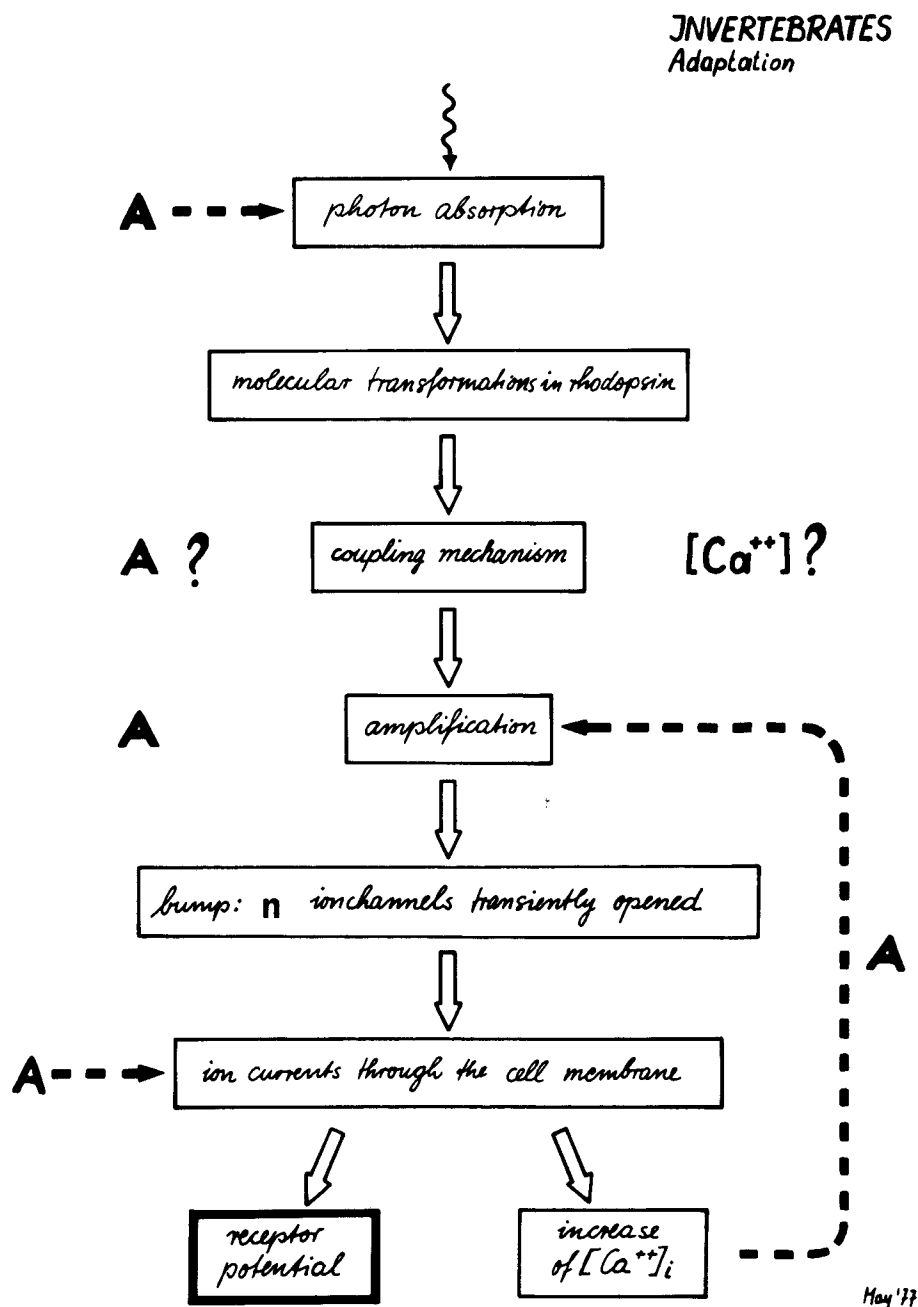


Abb. 2

Kausalkette der Reiz-Erregungsumsetzung im Photorezeptor eines Invertebraten. Mit A sind die Schritte bezeichnet, bei denen sich Adaptationseffekte auswirken könnten. (Stieve, 1977b)

Durch Hell- und Dunkeladaptation wird die Empfindlichkeit der Zelle verändert, indem vermutlich der Verstärkungsfaktor verkleinert bzw. vergrößert wird. Durch diese Fähigkeit zur Hell- bzw. Dunkeladaptation (über einen Bereich von mindestens 3 Zehnerpotenzen beim Ventralnerv-Photorezeptor von Limulus) erfolgt eine optimale Anpassung des Empfindlichkeitsbereichs an die jeweils herrschenden Lichtverhältnisse. Da die Adaptation durch Ca^{2+} -Ionen gesteuert wird (s.o.) und die Adaptation wiederum den Verstärkungsmechanismus beeinflusst, ist es naheliegend, daß Ca^{2+} -Ionen eine bedeutende Rolle bei den Vorgängen zwischen Reaktionen des Rhodopsins und der Rezeptorpotentialauslösung spielen (s. Abb. 2).

Die Untersuchung des Adaptationsverhaltens der Lichtsinneszelle und der Einfluß der extrazellulären Ca^{2+} -Konzentration auf diese Vorgänge ist Gegenstand dieser Arbeit. Als Adaptation wird der Vorgang der Empfindlichkeitsänderung der Zelle bezeichnet. Um Aussagen über die Adaptation treffen zu können, muß daher die Empfindlichkeit der Zelle, definiert als Reziprokwert der Reizlichtintensität, die zur Auslösung einer vorgegebenen Amplitude benötigt wird, gemessen werden. Es wurden daher sog. criterion-response-Kurven ermittelt (s. Kap. 4.1.2). Vielfach werden stattdessen sog. constant-stimulus-Kurven gemessen, da sie experimentell einfacher zu ermitteln sind. Sie sind jedoch nicht so aussagekräftig wie eine criterion-response-Kurve, da die Amplitudenerhöhung nur in einem relativ kurzen Zeitintervall linear ist und der Anstieg der Amplitudenerhöhung sich mit der Reizlichtintensität ändert. Die Methode der I_{50} -Messung, d.h. Messung der Reizlichtintensität I_{50} , die Halbsättigung der Lichtantwort hervorruft als Maß für die Empfindlichkeit, ist aus den gleichen Gründen wie die constant-stimulus-Kurven-Messung nicht so exakt wie die Methode der criterion-response-Kurven-Ermittlung. Die Adaptationsmessungen knüpfen an die von Benolken (1962) durchgeführten Untersuchungen an der Retinulazelle des Limulus Lateralis an unter Verwendung der Methode der constant-stimulus- und criterion-response-Kurven-Messung. Methodisch handelt es sich um eine

elektrophysiologische Arbeit, in der intra- und extrazellulär das Spannungssignal der Photorezeptorzelle als Antwort auf den jeweiligen Lichtreiz gemessen wurde.

Ziel der Arbeit war, den genauen Zeitverlauf der Empfindlichkeitsänderung und damit des Dunkeladaptationsverlaufs in Abhängigkeit von der extrazellulären Ca^{2+} -Konzentration zu bestimmen. Als einzige Methode, die exakte Aussagen über den Dunkeladaptationsverlauf quantitativ liefert, wurde hierfür die Methode der criterion-response-Kurven-Messung gewählt.

Da die bisher durchgeführten Versuche nur qualitative Aussagen lieferten, wurde geprüft, ob die Ca^{2+} -Hypothese (Lisman und Brown, 1972) die Dunkeladaptation ausreichend beschreibt und auch noch für lange Zeiten nach der Helladaptation zutreffend ist. Das Ziel der Versuche war letztlich, den Kenntnisstand über die Wirkung des Verstärkungsmechanismus zu erweitern.

2. Material und Methoden

2.1 Versuchsobjekt

Die elektrophysiologischen Versuche wurden an dem Ventralnerv Photorezeptor des Pfeilschwanzkrebses *Limulus polyphemus* L.

(St.: Arthropoda
U.St.: Chelicerata
Kl.: Merostomata
O.: Xiphosura)

durchgeführt. *Limulus* - mit 60 cm Länge der größte Chelicerat - kommt an der atlantischen Küste Nordamerikas vor und gilt als "lebendes Fossil", da er seit der Jurazeit (vor ca. 175 Mio. Jahren) nahezu unverändert ist.

Wegen seiner großen lateralen Komplexaugen ist *Limulus* seit langem ein bevorzugtes Versuchsobjekt in der Sinnesphysiologie; von Hartline z. B. wurden schon zwischen 1932 und 1949 grundlegende Erkenntnisse über den Sehprozeß durch Versuche an den Ommatidien von *Limulus* gewonnen. Neben den Lateral Augen und den medianen Ocelli besitzt *Limulus* zusätzlich interne Rezeptorzellen, die lichtempfindlich reagieren. Diese sogenannten Ventralaugen sind bei den *Limulus*-Larven noch gut ausgebildete paarige Strukturen, die von Pigmentzellen umgeben und von einer relativ transparenten Cuticula bedeckt sind. Beim Wachstum der Tiere verändern sich die Ventralaugen derart, daß sie schließlich - durch Auseinanderwachsen von Protocerebrum und Lichtsinneszellen - aus zwei Nervenbündeln bestehen, auf denen die Photorezeptorzellen einzeln verteilt liegen. Eine Anhäufung der Zellen befindet sich am Ende des Nerven unter einer verdickten Stelle der Cuticula, die sich in der Larve direkt über dem Protocerebrum befindet (Clark, 1969).

2.1.1 Morphologie des Ventralnerv Photorezeptors von *Limulus polyphemus*

Die Feinstruktur einer einzelnen Photorezeptorzelle ist von Clark et al., 1969 ausführlich untersucht und beschrieben worden. Abb. 3 zeigt eine Ventralnerv Photorezeptorzelle schematisch. Der ellipsoidale Zellkörper von 100 bis maximal 200 µm Länge

und 50 - 75 μm Breite geht in ein Axon von 10 - 20 μm Durchmesser über. Charakteristisch ist die stark gefaltete Mikrovillimembran, die zu einer beträchtlichen Oberflächenvergrößerung führt. Wird die Größe der Zelloberfläche aufgrund der äußeren Abmessungen der Zelle rein geometrisch ermittelt (etwa $3\text{-}5 \cdot 10^4 \mu\text{m}^2$, vgl. Brown und Coles, 1979 und Millecchia und Mauro, 1969) und mit der aus Kapazitätsmessungen errechneten Oberfläche von etwa $4 \cdot 10^5 \mu\text{m}^2$ (s. Brown und Coles, 1979) verglichen, so ergibt sich für die Vergrößerung der effektiven Oberfläche ein Faktor von 8 - 13.

Diese Daten decken sich mit der Annahme von Fein und Charlton, 1977, daß der Oberflächenanteil, der von Mikrovillimembranen aufgebaut wird, 90 % der gesamten Oberfläche ausmacht. Die ganze Zelle ist von einer oder mehreren Gliazellschichten umhüllt; Fortsätze der Gliazellen reichen bis tief in die Photorezeptor-

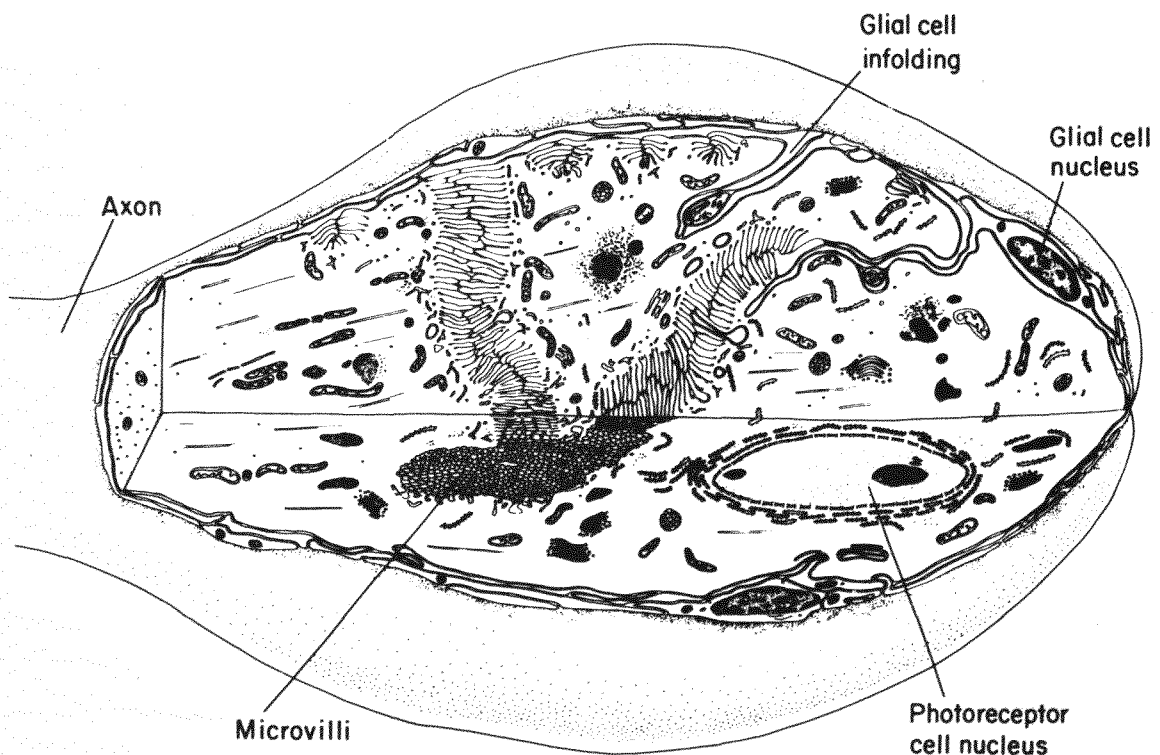


DIAGRAM OF A VENTRAL PHOTORECEPTOR CELL

by Allen W. Clark

Abb. 3

Schematische Darstellung einer einzelnen Ventralnerv-Photorezeptorzelle von *Limulus polyphemus*. (Clark et al., 1969)

zelle hinein und scheinen eine enge Verbindung mit Mikrovillimembranen einzugehen (Clark, 1969).

Vorzüge des Limulus Photorezeptors für die elektrophysiologische Messung sind seine Größe, seine isolierte Anordnung, das Fehlen von Schirmpigment und seine gute Zugänglichkeit.

2.1.2 Präparation

Die aus Nordamerika gelieferten Limuli mit durchschnittlicher Carapaxbreite von 16 - 18 cm werden in künstlichem Seewasser bei 15° C gehalten. Zur Präparation wird der Bereich zwischen zweitem und drittem Beinpaar und einer warzenartigen Struktur oberhalb der Cheliceren herausgeschnitten. Die Nerven, die vom Vorhirn bis zu der warzenartigen Struktur verlaufen, werden vorsichtig unter einem Stereomikroskop von der Ventralseite her freigelegt. Der gesamte Schlundring, also auch Vorhirn und Sehnerven, sind bei Limulus von Blutgefäßen umhüllt. Ohne den Ventralnerv zu verletzen, wird das Blutgefäß mit Dumont-Pinzetten wie ein Strumpf vom Nerven abgezogen. Unmittelbar vor dem Versuch wird der Nerv 45 s bei Zimmertemperatur in 0,5 %iger Pronaselösung (Serva) inkubiert, um die umgebende Bindegewebsschicht und einen Teil der Gliazellen abzuverdauen, die das Einstechen mit Mikroelektroden behindern. Der Nerv wird auf einer Sylgardscheibe (vgl. Kap. 2.2.7) im Versuchsgefäß festgesteckt und mit Platin-Krampen so befestigt, daß er auch bei Lösungswechsel seine Lage nicht verändern kann.

2.2 Versuchsaapparatur

Es wurde eine Versuchsaapparatur entwickelt, mit der gleichzeitig extrazelluläre Messungen mit einer Saugelektrode und intrazelluläre Messungen mit einer Mikroelektrode durchgeführt werden konnten (s. Abb. 4).

2.2.1 Versuchsaufbau

Der Versuchstisch, eine schwere Stahlplatte, die schwingungsgedämpft und erschütterungsfrei aufgehängt ist, befindet sich in einem lichtdichten Faraday-Käfig. Auf diesem Versuchstisch

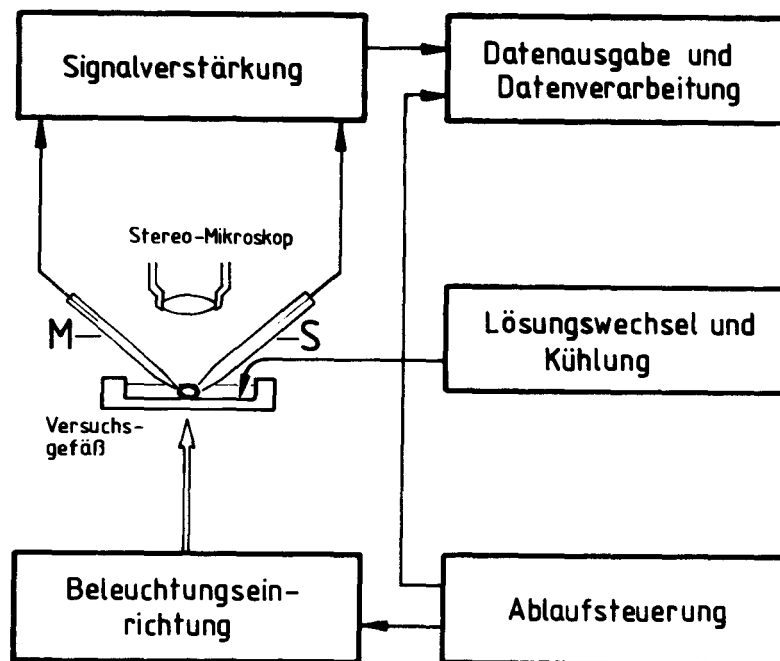


Abb. 4

Schema der Meßanordnung

M = Mikroelektrode, S = Saugelektrode

befinden sich:

- der Kreutztisch mit einer Halterung für das Versuchsgefäß,
- darüber schwenkbar ein langbrennweitiges Stereomikroskop (Zeiss) mit maximal 80-facher Vergrößerung (Okular: 20-fach, Objektiv: 0,6- bis 4-fach),
- seitlich vom Kreutztisch je ein Mikromanipulator mit Elektrodenhalterung.

Für die Saugelektrode wird ein umgebauter Mikromanipulator (Leitz) verwendet; für die Mikroelektrode ein Mikromanipulator (Brinkmann) mit Motorantrieb (6 mm-Bereich in x- und y-Richtung).

2.2.2 Optischer Teil

Die beiden Beleuchtungseinrichtungen I und II sind in Abb. 5 schematisch dargestellt.

2.2.2.1 Beleuchtungseinrichtung I (Adaptationsstrahlengang)

Im Adaptationsstrahlengang dient als Reizlichtquelle eine Xenon-Höchstdrucklampe (XBO 15C W, Osram), die in einem Lampenhaus justierbar montiert ist. Das Licht wird auf das Ende eines doppelarmigen 1 m langen Lichtleiters (Volpi, Einzelarm: 4,3 mm Ø, Stammleitung: 6 mm Ø, 3-fach gemischt) fokussiert. Das Lichtleiterende befindet sich in einer Halterung unmittelbar unter dem Versuchsgefäß. Zwischen Xenon-Brenner und Lichtleiter sind ein Wärmereflexionsfilter, ein Klappfiltersatz mit Neutralglasfiltern zur Abschwächung der Lichtintensität jeweils um den Faktor 2^F (für $F = 0, 1, 2, 3 \dots$), ein monochromatisches Interferenzfilter (max. Transmission bei 543 nm, Halbwertsbreite: 50 nm, mindestens 40 % Transmission) und ein elektromechanischer Compurverschluß angebracht. Der Compurverschluß wird über eine "Compurautomatik" (Eigenbau KFA/ZEL) angesteuert und verfügt über Öffnungszeiten zwischen 10 ms und 40 s. Über ein Relais werden Triggerpulse an den Schreiber, das Monitor-Oszilloskop und den PCM-Verstärker (s. Kap. 2.2.3) gegeben, um die Öffnungszeit des Compurverschlusses zu markieren.

2.2.2.2 Beleuchtungseinrichtung II (Reizstrahlengang)

Im Reizstrahlengang befindet sich ein elektronisches Blitzgerät (Metz, Mecablitz 60 CT 1). Der Reflektor ist durch ein Gehäuse abgeschirmt, so daß das Licht nur durch eine Lochblende auf das Filterrad fällt und dort über eine Sammellinse auf die Lichteintrittsöffnung des doppelarmigen Lichtleiters fokussiert wird. Das Filterrad (Eigenbau, INB) ist mit 19 Neutralglasfiltern bestückt, die jeweils eine Lichtabschwächung um den Faktor 2^F bewirken (für $F = 0, 1, 2, 3 \dots$). Das Filterrad ist motorgetrieben und wird extern angesteuert; die jeweiligen

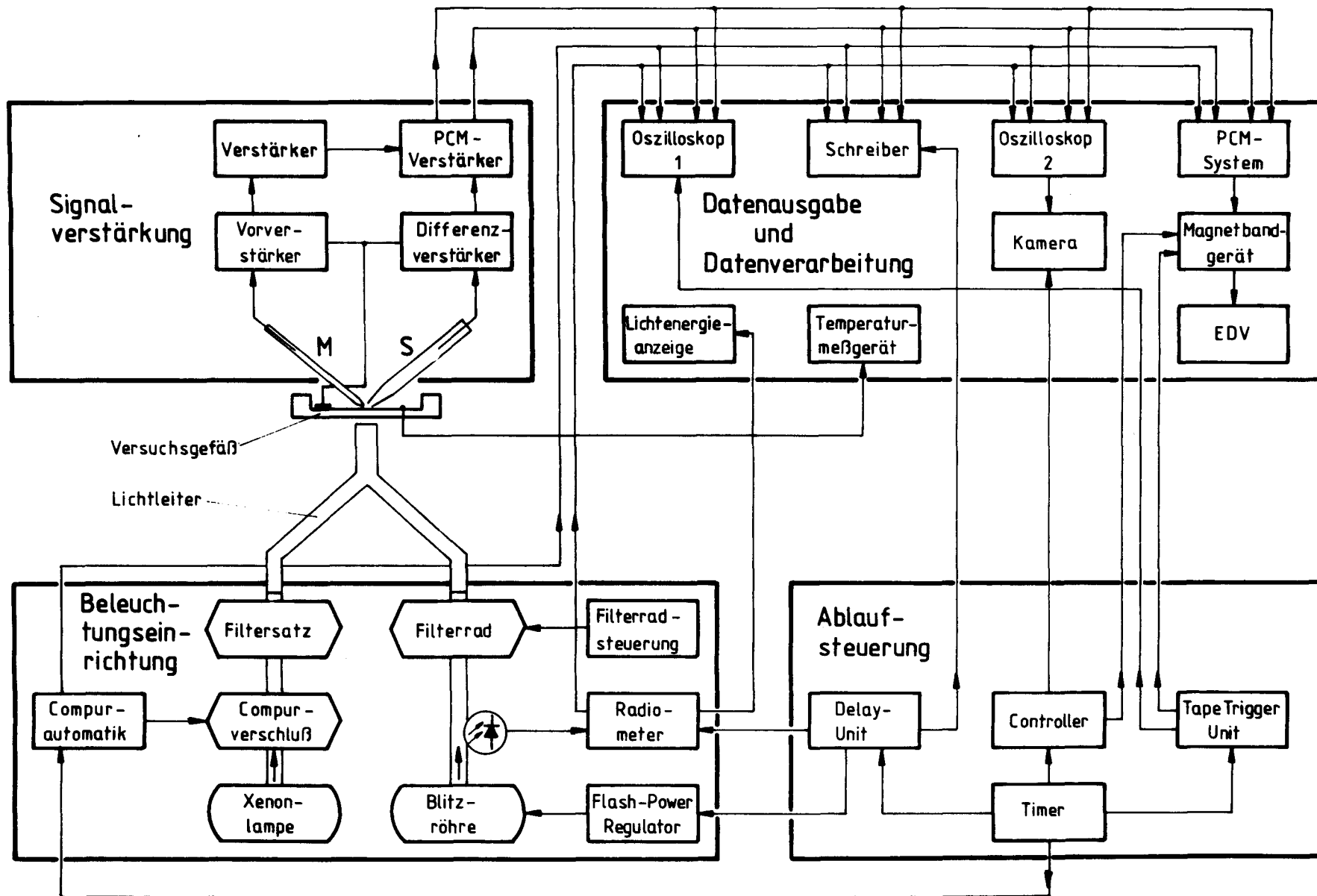
Abb. 5 (s. S. 13)

Blockschaltbild der Versuchsanordnung und ihre Verschaltung.

M = Mikroelektrode, S = Saugelektrode.

In jedem Strahlengang befindet sich ein Interferenzfilter ($\lambda_{\text{max}} = 543 \text{ nm}$).

Kühlung und Durchströmung, s. Text.



Filter können vorgewählt werden; diejenigen Filter, die sich im Strahlengang befinden, werden digital angezeigt. Zwischen Sammel- linse und Lichtleiter ist - wie in Beleuchtungseinrichtung I - ein Interferenzfilter mit einem Transmissionsmaximum bei 543 nm angebracht. Die Lichtintensität wird über eine Photodiode (OSD 5), die sich vor den Filtern im Filterrad befindet, also vor der Abschwächung mit Neutralglasfiltern, gemessen und über ein Radiometer (Eigenbau, INB) registriert. Diese Messung dient zur Kontrolle der Konstanz der Lichtblitzintensität. Die Abweichung betrug maximal $\pm 2 \%$.

2.2.2.3 Lichtmessung

Die Lichtenergiemessung erfolgte mit einem 40 A Opto-Meter von United Detector Technology (UDT), die Messung der Lichtleistungs- dichte mit einem '101 A Model' von UDT mit einem OSD1-1 Eichkopf (silicon diffused photodiode). Mit dem 40 A Opto-Meter von UDT konnte die Energie des Lichtblitzes [in μWs] bestimmt werden; mit dem 101 A Model von UDT die Leistungsdichte am Ort des Präparates [in mW/cm^2]. Bei beiden Messungen wurde stets hinter dem Interferenzfilter am Ausgang des Lichtleiters gemessen - mit dem OSD1-1 Eichkopf auch im Versuchsgefäß (d.h. unter Berück- sichtigung der Absorption von Plexiglas und Sylgard). Mit dem 40 A-Opto-Meter wurde das Radiometer geeicht, so daß jederzeit während des Versuchs die abgelesenen Werte der Radiometeranzeige in μWs bestimmt werden konnten.

Lichtenergie der Xenon-Lampe im Adaptationsstrahlengang:

50 μWs bei einer Belichtungszeit von 10 ms

Lichtleistungsdichte:

$16 \frac{\text{mW}}{\text{cm}^2}$, das entspricht einer eingestrahnten Photonenmenge von $4,4 \cdot 10^{16}$ Photonen $\cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ($\lambda = 543 \text{ nm}$).

Lichtenergie der Blitz-Lampe im Reizstrahlengang:

9 μWs in 300 μs

Lichtleistungsdichte:

$177 \frac{\text{mW}}{\text{cm}^2}$, das entspricht einer Photonenzahl von $4,8 \cdot 10^{17}$ Photonen $\cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ($\lambda = 543 \text{ nm}$).

Bei einer Helladaptation maximaler Intensität von 5 s Dauer werden $2,2 \cdot 10^{17}$ Photonen $\cdot \text{cm}^{-2}$ ($\lambda = 543 \text{ nm}$) eingestrahlt,

bei einem Testblitz mit der Blitz-Lampe bei voller Intensität hingegen nur $1,4 \cdot 10^{14}$ Photonen $\cdot \text{cm}^{-2}$ ($\lambda = 543 \text{ nm}$).

2.2.3 Elektrophysiologische Meßanordnung

2.2.3.1 Extrazelluläre Messung mit der Saugelektrode

Da extrazellulär nur kleine Potentiale (maximal 1-2 mV) gemessen werden konnten, wurde ein Differenzverstärker (Ortec 4660) mit maximal 1000-facher Verstärkung eingesetzt; die Frequenzbandbegrenzung wurde auf 0,1 - 100 Hz eingestellt. Der Verstärker war AC-gekoppelt.

2.2.3.2 Intrazelluläre Messung mit der Mikroelektrode

Das intrazelluläre Meßsignal wurde über Vorverstärker, Programmierstufe und PCM-Verstärker (alle Geräte Eigenbau, INB) verstärkt. Über die Programmierstufe kann der Widerstand der Elektrode durch Messen des Spannungsabfalls nach Strominjektion von 1nA bestimmt werden. Die Frequenzbandbegrenzung betrug 1 KHz. Der Verstärker war DC-gekoppelt.

2.2.4 Aufzeichnungsteil

Die Aufzeichnung der Signale erfolgte über einen Thermo-Schnellschreiber (Gould, Frequenzbandbegrenzung DC, 100 Hz, 3 dB) ein Monitor-Oszilloskop (Tektronix 502 A) mit automatischer Kamera (Recordine) ein Speicher-Zweistrahls-Oszilloskop (Tektronix) zur optischen Kontrolle und ein Magnetbandgerät (Akai), auf das die Daten über ein PCM-System digital abgespeichert werden können. Die Signale, die auf Band aufgenommen sind, können über eine Datenverarbeitungsanlage (PDP 11) direkt nach Meßgrößen (s. Kap. 3.2) ausgewertet und die einzelnen Rezeptorpotentiale aufgezeichnet werden.

2.2.5 Versuchsablaufsteuerung

Das zentrale Steuergerät stellt der Timer (Eigenbau, INB) dar. Er steuert den Controller an, der die Kamera auslöst und die Magnetbandaufzeichnung startet; gleichzeitig triggert er extern das Speicher-Oszilloskop. Darüber hinaus liefert der Timer Pulse zur Ansteuerung der Compur-Automatik für die Xenon-Lampe

bzw. zur Auslösung der Blitzlampe über die Delay-Unit. Wird die Delay-Unit angesteuert, so läuft der Schreiber an und erhält über das Radiometer die Markierung für den Lichtreiz; das Radiometer triggert gleichzeitig mit "Licht an" das Monitor-Oszilloskop. (Verschaltung siehe Blockschaltbild 5).

2.2.6 Durchströmung, Kühlung und Temperaturmessung

Die verschiedenen Lösungen, mit denen der Ventralnerv im Versuchsgefäß überspült wird, befinden sich in Vorratsflaschen oberhalb des Versuchstisches. Über ein VA-Ventil (4-Wege-Hahn) kann die jeweilige Lösung eingestellt werden. Die Durchflußmenge betrug 1 ml/min; sie wird über eine Desaga-Schlauchpumpe geregelt. Die Kühlung der einströmenden Lösung erfolgt über ein Peltierelement. Über den Peltierregler (Eigenbau KFA, ZEL) kann die gewünschte Temperatur eingestellt werden; sie wird über einen Thermistor, der sich in der temperierten Lösung kurz vor dem Einlauf ins Versuchsgefäß befindet, gemessen und über ein Temperaturmeßgerät (Eigenbau, INB) mit digitaler Anzeige registriert.

2.2.7 Versuchsgefäß und Gegenelektrode

Das Versuchsgefäß besteht aus einem rechteckigen Plexiglasblock (5 cm x 5 cm), der an die Aussparung des Kreutztisches angepaßt ist. In der Mitte des Plexiglasblocks befindet sich die eigentliche ovale Versuchskammer (3,5 cm x 1 cm; 0,5 cm tief), in die auf einer Sylgardscheibe der Nerv festgesteckt wird. Um elektrische Störungen bei der Durchströmung zu verhindern, tropft die einströmende Lösung über ein ausgezogenes Glasröhrchen in eine Nebenkammer, die in Verbindung mit der Hauptkammer steht. Die Lösung wird nach Durchströmen des Versuchsgefäßes über eine Schlauchpumpe abgesaugt. Die Absaugung erfolgt, sobald der Flüssigkeitsspiegel eine senkrecht zum Versuchskammerboden angebrachte VA-Kanüle erreicht. Die Gegenelektrode, eine gesinterte Ag-AgCl Elektrode (WP Instruments) befindet sich in einem separaten mit 0,5 molarer KCl-Lösung gefüllten Plexiglasblock und wird an den Vorverstärker angeschlossen. Über eine KCl-Agar-Brücke steht sie mit der Meßkammer in Ver-

bindung. Die KCl-Agar-Verbindung verhindert Störungen an der Gegenelektrode bei Änderung der Ionenzusammensetzung in der Badlösung. In Abb. 6 ist das Versuchsgefäß mit Gegenelektrode schematisch wiedergegeben.

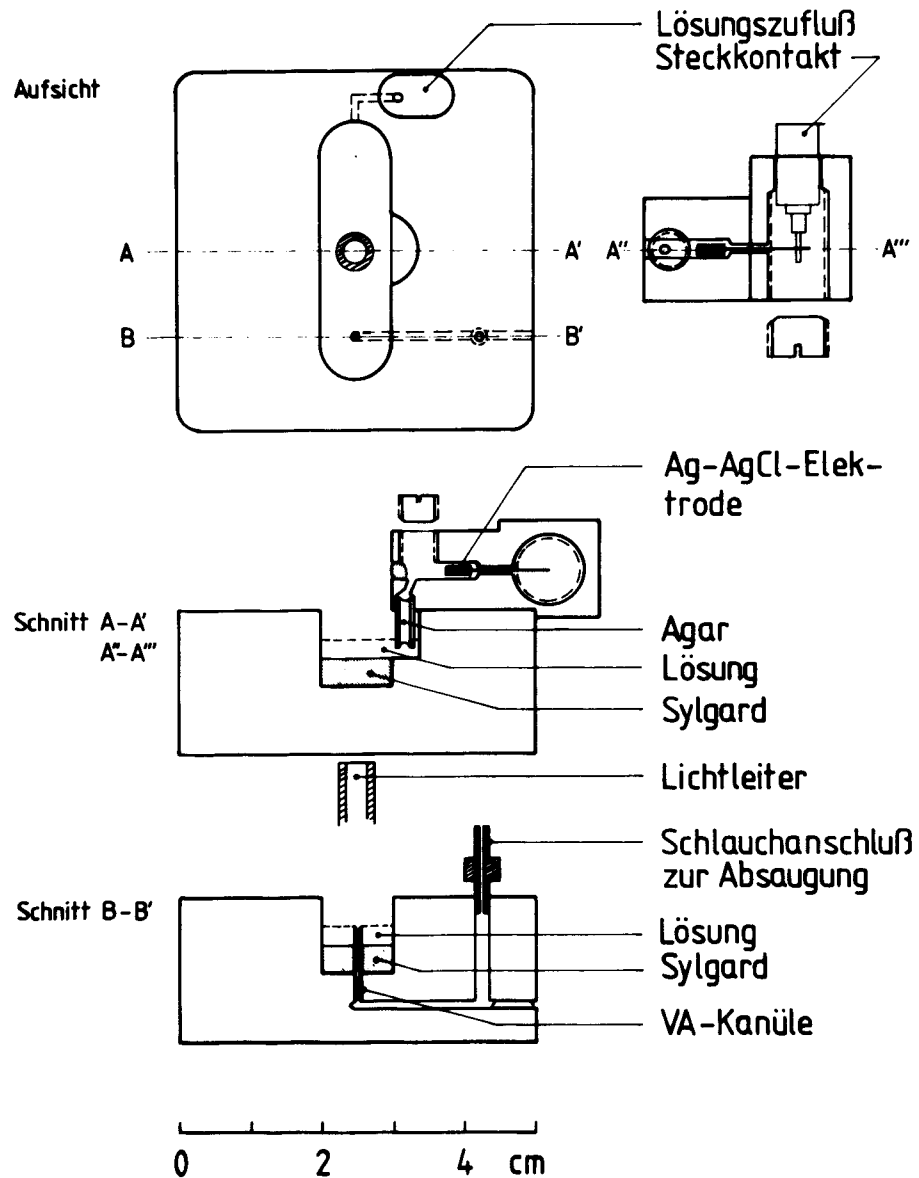


Abb. 6

Aufsicht bzw. Schnitte durch das Versuchsgefäß mit Gegenelektrode.

2.2.8 Elektrodenhalterung

2.2.8.1 Elektrodenhalterung für die Mikroelektrode

Der aus Plexiglas gefertigte Elektrodenhalter (Abb. 7) sitzt direkt an der Vorstufe des Verstärkers. Der chlorierte Silberdraht wird in die mit 0,5 molarer KCl-Lösung gefüllte Mikroelektrode eingeführt; über einen Augatstecker erfolgt der Anschluß an die Vorstufe.

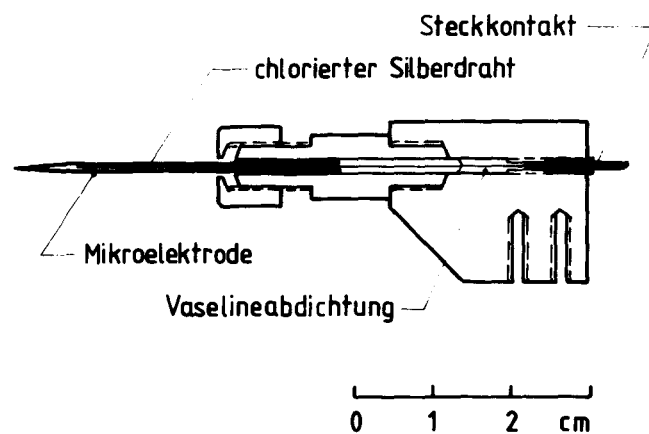


Abb. 7

Elektrodenhalterung für die Mikroelektrode.

2.2.8.2 Elektrodenhalterung für die Saugelektrode

Es wurde eine Elektrodenhalterung entwickelt, die folgenden Ansprüchen genügen mußte:

- möglichst kleines Innenvolumen
- Durchströmungsvorrichtung, also Zulauf und Absaugung
- gute elektrische Abschirmung der Ag-AgCl-Elektrode
- Abdichtung aller zu- und abführenden Anschlüsse, damit der angelegte Unterdruck konstant gehalten werden konnte.

Darüber hinaus sollte eine Möglichkeit zum Austausch der Lösung in der Saugelektrode auch während des Versuchs geschaffen werden. In Abb. 8 ist die Saugelektrodenhalterung schematisch wiedergegeben.

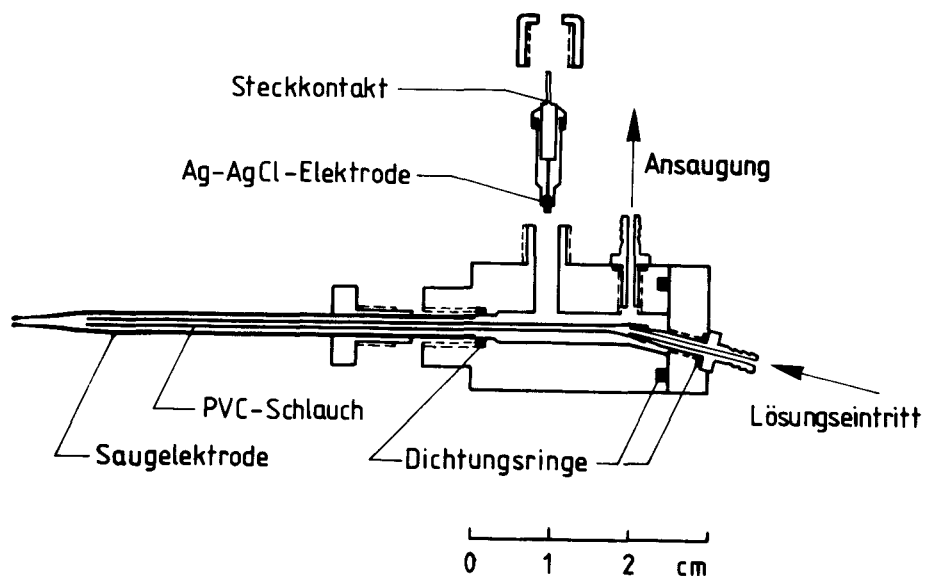


Abb. 8

Elektrodenhalterung für die Saugелеktrode.

2.2.9 Herstellen der Glaselektroden

2.2.9.1 Herstellen der Mikroelektroden

Für die Mikroelektroden wurden sogenannte Theta-Borosilikatglasröhrchen (θ -förmiger Querschnitt durch eine interne Trennwand) von 1,6 mm $\varnothing$ verwandt. Ihr Vorteil besteht darin, daß sie sich durch Kapillarwirkung problemloser füllen lassen. Mit einem konventionellen Horizontalpuller (Industrial Science, Associates, INC, NY) wurden die Glasröhrchen gezogen. Die Temperatur der Platinwendel bzw. die Zugkraft des Pullers wurden so eingestellt, daß die Elektrodenwiderstände - bei Füllung der Glaselektrode mit 0,5 molarer KCl-Lösung - zwischen 10 und 30 M Ω lagen.

2.2.9.2 Herstellen der Saugелеktroden

Die Saugелеktroden wurden aus Borosilikatglas von 3 mm $\varnothing$ gefertigt. Um Elektroden mit definiertem Innendurchmesser von 10 - 20 μ m und einer Wanddicke von etwa 5 - 10 μ m zu erhalten, wurde eine sogenannte "microforge" aufgebaut - in Anlehnung an die von Neher und Sakmann verwandte Anordnung zur Herstellung

von Patch-Elektroden für die Einzelkanalableitung (s. Neher, Sakmann, 1978). Die "microforge" (s. Abb. 9) besteht aus einer umgebauten Mikromanipulations-Anordnung (Leitz). Sie besitzt 2 Mikromanipulatoren zur unabhängigen Bewegung des Glasrohrlings und des Platindrahtes. Die Manipulation geschieht unter optischer Kontrolle mit Hilfe eines Horizontalmikroskops mit langbrennweitigem Objektiv. Zum Schmelzen und Brechen der vorgezogenen Glaspipette werden unterschiedlich dicke Platindrähte verwandt. Zum leichteren Auswechseln der Platindrähte wurden über Steckkontakte austauschbare Halterungen gebaut. Das Herstellen der Saugelektrode erfolgte in mehreren Schritten: 1) Mit einem normalen Vertikalpuller (David Kopf Instruments) werden die Glasröhrchen 2-stufig zu Rohlingen vorgezogen, wobei darauf zu achten ist, daß die Spitze relativ kurz

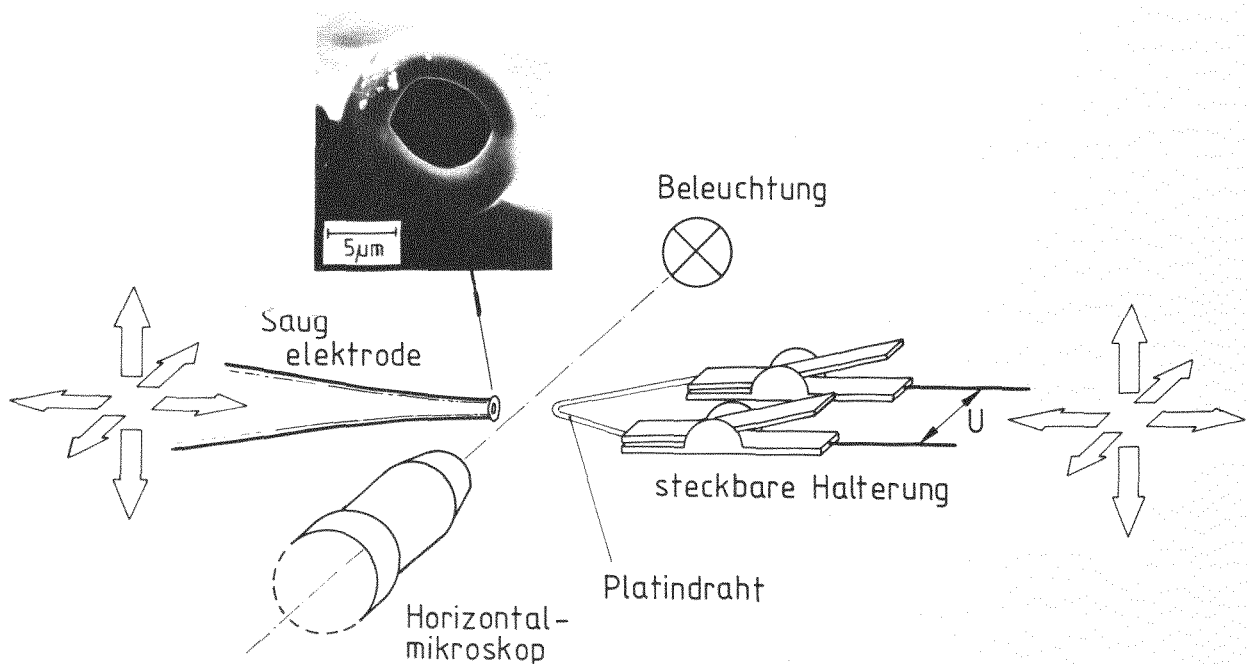


Abb. 9

Schematische Darstellung der mit zwei (in allen 3 Koordinatenrichtungen beweglichen) Mikromanipulatoren ausgerüsteten Anordnung zum Brechen und Schmelzen der Saugelektrode. U = regulierbare Spannungsquelle zum Erhitzen des Platindrahtes.

Im Einsatz ist eine rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der Saug-elektrodenöffnung zu sehen.

ist und somit ein stumpfer Kegel entsteht.

- 2) In der "microforge" wird der V-förmig gebogene Pt-draht durch Anlegen einer Spannung zum Glühen gebracht und mit einem Glastropfen versehen. Der Glasrohling wird an der vorgesehenen Bruchkante kurz angeschmolzen; durch Ausschalten des Stromes zieht sich der Pt-draht schlagartig zusammen und die Glaselektrode bricht relativ glatt an der vorgesehenen Stelle ab.
- 3) Um die Ränder der Glaselektrode abzurunden und zu verdicken, wird die Elektrode mit einem glühenden Pt-draht rundgeschmolzen, und zwar solange, bis Wanddicke und Innendurchmesser die gewünschten Werte erreicht haben und die Öffnung glatt ist.
- 4) Zum Hydrophobisieren der Glaswand wird die fertige Elektrode mit einem "Glue" - einer Verbindung, die aus 40 % Parafilm und 60 % Paraffinöl unter Erhitzen hergestellt wird - bestrichen. Er läßt sich gleichmäßig über die Elektrode verteilen, indem der Glue durch Erhitzen - in einer glühenden Pt-draht-Wendel - flüssig gemacht wird.

2.2.10 Saugelektrodenteknik

Die Saugelektrode wurde in die Saugelektrodenhalterung eingesetzt und der Widerstand der Elektrode in der Lösung über Strominjektion von 1 nA - über einen Sinusgenerator ($f < 100$ Hz) - bestimmt.

Die Saugelektroden, die mit 0,5 molarer KCl-Lösung gefüllt waren, wiesen je nach Innendurchmesser Widerstände zwischen 100 - 500 K Ω auf. Durch Ansaugen der Photorezeptorzelle wurde der Widerstand in den meisten Fällen verdoppelt.

Der leichte Unterdruck an der Saugelektrode wurde über eine Öldruckpumpe (Leybold) erzeugt und über ein VA-Feinventil reguliert. Zur Kontrolle des Unterdrucks wurde ein mit Wasser gefülltes U-Rohr-Manometer benutzt. Der Unterdruck wurde zwischen 200 - 400 mm Wassersäule eingestellt und während des Versuchs konstant gehalten.

3. Versuchsdurchführung

Die intrazellulären Versuche sowie die extrazellulären Messungen mit der Saugelektrode wurden an der oben beschriebenen Versuchsanordnung durchgeführt. Zum Einstich bzw. zur Ansaugung wurden möglichst isoliert liegende Photorezeptorzellen ausgewählt, um eine Beeinflussung der Messung durch eine Nachbarzelle auszuschließen.

3.1 Versuchsbedingungen

3.1.1 Lösungen

Die physiologische Salzlösung (PS) entsprach in ihrer ionalen Zusammensetzung der von Stieve und Bruns verwendeten Standardlösung (s. Tab. I). Bei Erniedrigung der extrazellulären Ca^{2+} -Konzentration auf $250 \mu\text{mol/l}$ (low Ca^{2+}) wurde die NaCl-Konzentration entsprechend erhöht, um den gleichen osmotischen Druck wie in der PS zu erhalten. Bei Erhöhung der extrazellulären Ca^{2+} -Konzentration auf 40 mmol/l (high Ca^{2+}) wurde die PS durch Zufügen von Saccharose osmotisch an die high Ca^{2+} -Lösung angepaßt (s. Tab. I).

Zur Herstellung der Lösungen wurden KCl, CaCl_2 , MgCl_2 und MgSO_4 jeweils aus Stammlösungen abpipettiert; die erforderliche Menge Hepes wurde aus Haltbarkeitsgründen eingefroren und nach dem Auftauen zur Lösung zugegeben. Der pH-Wert wurde mit HCl auf 7,5 eingestellt.

Die Temperatur der Lösung, mit der der Ventralnerv im Versuchsgefäß überspült wurde, wurde bei den meisten Versuchen über den Peltierregler (s. Kap. 2.2.6) auf 15°C eingestellt (s. Tab. II).

3.1.2 Reizprogramm

Die Zelle wurde auf ein konstantes Helladaptationsniveau gebracht, indem alle 2 min ein helladaptierender Xenon-Lichtreiz von 5 s Dauer (entspricht: $2,2 \cdot 10^{17} \text{ Photonen} \cdot \text{cm}^{-2}$ bei $\lambda = 543 \text{ nm}$) ausgelöst wurde (in manchen Versuchen - s. Tab. II - auch Lichtreiz von 1 s Dauer). In variablem Abstand zur Helladaptation (HA) wurde mit je einem kurzen Testblitz von etwa $300 \mu\text{s}$ (entspricht: $1,4 \cdot 10^{14} \text{ Photonen} \cdot \text{cm}^{-2}$ bei $\lambda = 543 \text{ nm}$, bei voller Intensität) gereizt, bis eine vorher festgelegte Amplitudenhöhe (U_{CR}) als Antwort auf den Lichtreiz ausgelöst werden konnte

Tab. I

Zusammensetzung der Versuchslösungen im mmol/l

	PS	low Ca ²⁺	PS(Saccharose)	high Ca ²⁺ (40 mmol/l)	PS(Saccharose)	high Ca ²⁺ (100 mmol/l)
NaCl	480,8	495,4	480,8	480,8	435,0	435,0
NaOH (2N)	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
KCl	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
CaCl ₂	10,0	0,25	10,0	40,0	10,0	100,0
MgCl ₂	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0
MgSO ₄	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0
Hepes	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Saccharose	--	--	90,0	--	270,0	--

pH: 7,5

mit HCl eingestellt

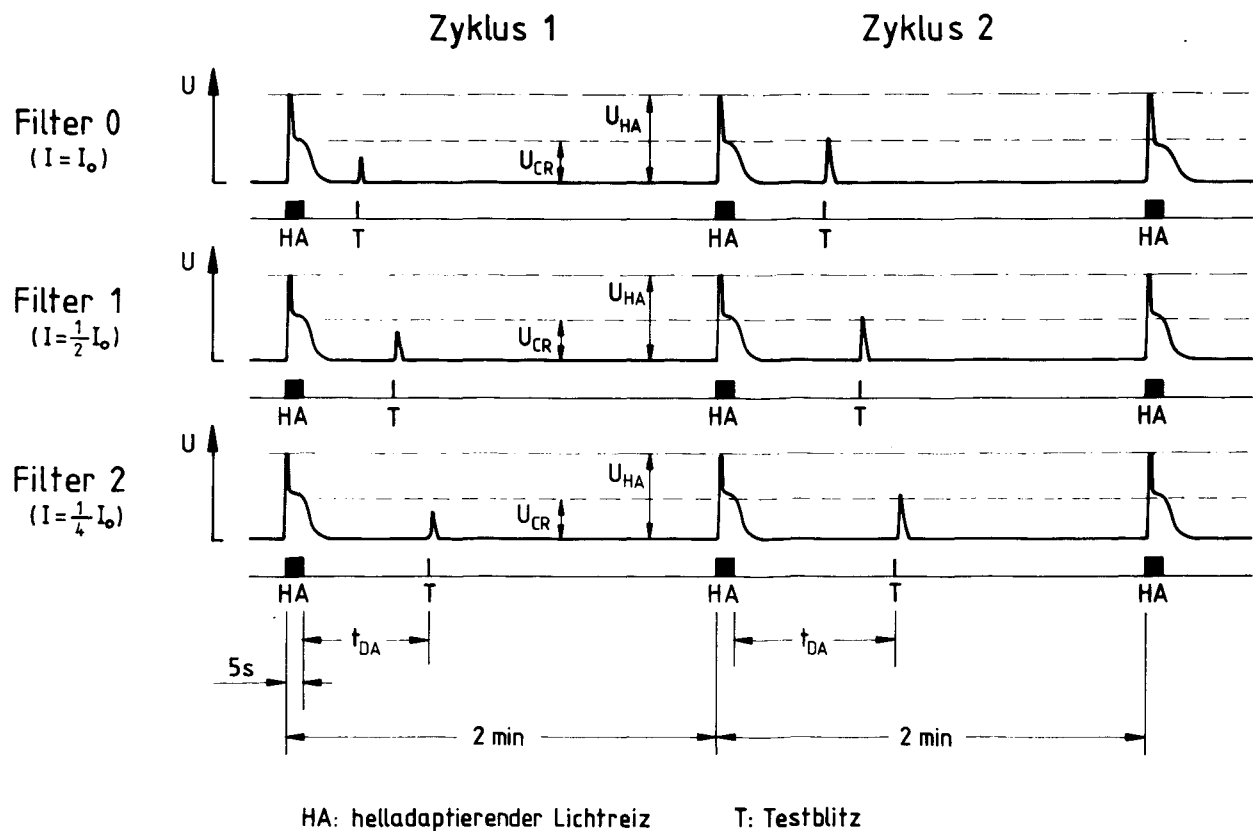


Abb. 10

Schematische Darstellung des Reizprogramms für die ersten 3 Filter;

jeweils obere Zeile: Potentialregistrierung

jeweils untere Zeile: Reizlicht.

Länge des helladaptierenden Lichtreizes HA: 5 s

Länge des Testblitzes T: $\approx 300 \mu s$

$\underline{U_{HA}}$ - Amplitude der durch Helladaptation ausgelösten Reizantwort

$\underline{U_{CR}}$ - vorgegebene Amplitudenhöhe einer sog. "criterion-response", die durch den Testblitz ausgelöst werden soll

$\underline{t_{DA}}$ - Zeit der Dunkeladaptation, gemessen von Lichtreizende der Helladaptation bis zum Testblitz.

Zwischen zwei aufeinanderfolgenden Helladaptationsreizen (ein Zyklus) liegen 2 min; nach Erreichen des vorgegebenen U_{CR} für Filter 0 (s. obere Zeile) wird die Lichtintensität I auf $\frac{1}{2} I_0$ (s. mittlere Zeile), $\frac{1}{4} I_0$ (s. untere Zeile) usw. erniedrigt. Es werden bei jeder Lichtintensität so viele Zyklen durchgeführt, bis eine Reizamplitude $\geq U_{CR}$ erreicht wird.

(s. Abb. 10). Meist wurde hierfür die Hälfte des durch Helladaptation ausgelösten Rezeptorpotentials gewählt ($U_{CR} \approx \frac{U_{HA}}{2}$).

Nacheinander wurde die Intensität des Testblitzes durch Filter um den Faktor 2^F (für F (Filter) = 0,1,2,3,...) abgeschwächt und die Zeit gemessen, die zur Auslösung der vorgegebenen Reizantwort U_{CR} nötig war.

Bei sehr geringen Lichtintensitäten wurden längere Dunkeladaptationszeiten t_{DA} als 2 min - der Abstand des Helladaptationszyklus - benötigt, um die gewünschte Reizantwort zu erhalten. In diesen Fällen wurde jede Minute nach Helladaptation der sehr schwache Testblitz, der in seiner helladaptierenden Wirkung vernachlässigt werden kann, ausgelöst, bis die entsprechende Amplitudenhöhe erreicht war (s. Abb. 11). Da die Zelle danach sehr stark dunkeladaptiert war, wurde durch eine Periode nur mit Helladaptationsreizen (ca. 10 min) im normalen Zyklusabstand - also alle 2 min - die Zelle wieder auf den gleichen Adaptationszustand wie vor der langen Dunkeladaptation gebracht (s. Abb. 11).

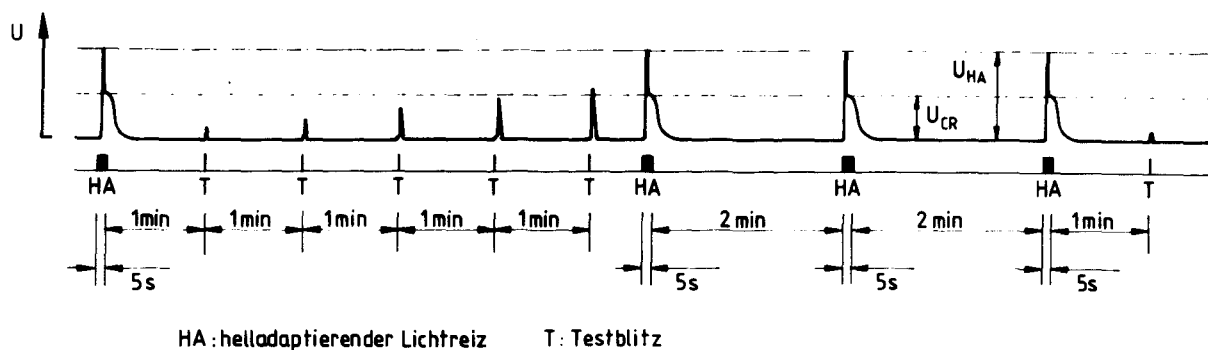


Abb. 11

Schematische Darstellung des Reizprogramms für Dunkeladaptationszeiten $t_{DA} > 2$ min bei schwachen Reizlichtintensitäten. Jede Minute nach Lichtreizende der Helladaptation HA wird ein Testblitz T (dessen helladaptierende Wirkung vernachlässigbar gering ist) ausgelöst. Nach Erreichen des vorgegebenen U_{CR} für ein bestimmtes $\frac{I}{I_0} = \frac{1}{2^F}$ (F = Filter) wird durch eine Folge von Helladaptationsreizen alle 2 min der Adaptationszustand wieder hergestellt, in dem sich die Zelle vor der langen Dunkeladaptation befand.

3.2 Auswertung der Versuche, Meßgrößen und Statistik

Folgende Meßwerte waren für die Auswertung von Bedeutung:

- $h_{\max}$ - maximale Amplitude des Rezeptorpotentials
- $t_{\max}$ - Zeit von Reizbeginn bis zum Erreichen der maximalen Amplitude
- t_{lat} - Zeit von Reizbeginn bis zum Anstieg des Rezeptorpotentials
- t_{DA} - Dunkeladaptationszeit, Zeit vom Ende des helladaptierenden Lichtreizes bis zum Testblitz.

Innerhalb kurzer Intervalle erfolgte die Erhöhung der Rezeptorpotentialamplitude linear mit der Dunkeladaptationszeit (s. constant-stimulus-Kurve, Abb. 15). Der genaue Zeitwert für die vorgegebene criterion-response-Höhe (U_{CR}) konnte so, wenn sie nicht exakt erreicht oder leicht überschritten wurde, auch graphisch oder mit Hilfe linearer Regression durch Inter- bzw. Extrapolation ermittelt werden. Es wurde ein Programm für einen Tischrechner erstellt, mit dessen Hilfe der Wert berechnet wurde. Die beiden Parameter Lichtintensität und Dunkeladaptationszeit für die vorgegebene criterion-response-Höhe U_{CR} wurden halb- und doppeltlogarithmisch gegeneinander aufgetragen.

Exponentialfunktionen der Form
$$I = \alpha \cdot I_0 \cdot e^{-\frac{t_{\text{DA}}}{\tau}}$$

bzw. Potenzfunktionen der Form

$$I = a \cdot I_0 \cdot t_{\text{DA}}^{-b}$$

wurden mit Hilfe der Regressionsanalyse an die Meßwerte angepaßt. Die Potenz- und Exponentialfunktionsanpassung erfolgte nach dem Prinzip der kleinsten Abweichungsquadrate (Sachs, 1978).

Als Maß für die Stärke des stochastischen Zusammenhangs kann die Größe r^2 , das sog. Bestimmtheitsmaß, herangezogen werden. Mit wachsendem r^2 wird der stochastische Zusammenhang zweier Größen erhöht; für $r^2 = 1$ besteht zwischen zwei Meßgrößen ein echter funktionaler Zusammenhang. Sowohl bei der halb- wie auch bei der doppeltlogarithmischen Auftragung der

Meßpunkte war ein Kurvenverlauf mit zwei unterschiedlichen Steigungen zu erkennen. Da die Anpassung an die Potenzfunktion höhere r^2 -Werte ergab (s. Kap. 4.1.2), orientierte sich die Abgrenzung der beiden Steigungen und damit die Auswahl der Meßpunkte - auch für die Exponentialfunktion - an dieser Regressionsanalyse. Das war insofern sinnvoll, da nur bei gleicher Meßwertanzahl das Bestimmtheitsmaß Rückschlüsse auf die Güte der Anpassung zuläßt. Die Anpassung für die Exponentialfunktion wurde dadurch in ganz wenigen Fällen schlechter. Eine Verbesserung konnte lediglich durch Wegnahme eines Meßpunktes erfolgen. Mit abnehmender Anzahl Meßwertpaare aber nimmt der Vertrauensbereich für die Regression und damit auch die Schwankungsbreite zu. Angaben zum Vertrauensbereich der Regressionsanalyse finden sich in Anhang 1. In Abb. 12 sind Exponential- und Potenzfunktion schematisch gegenübergestellt und die Bedeutung der Regressionskoeffizienten erläutert.

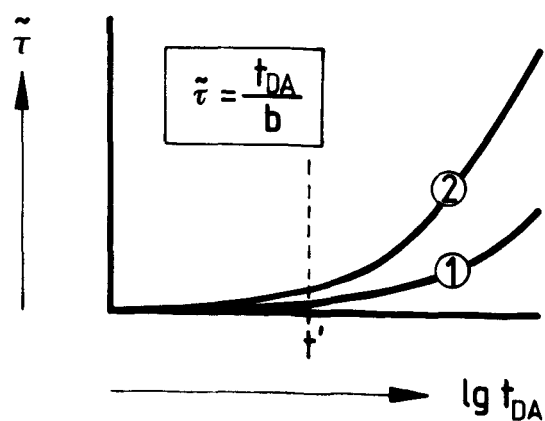
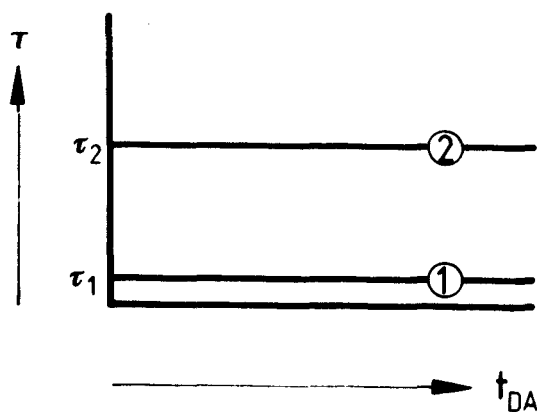
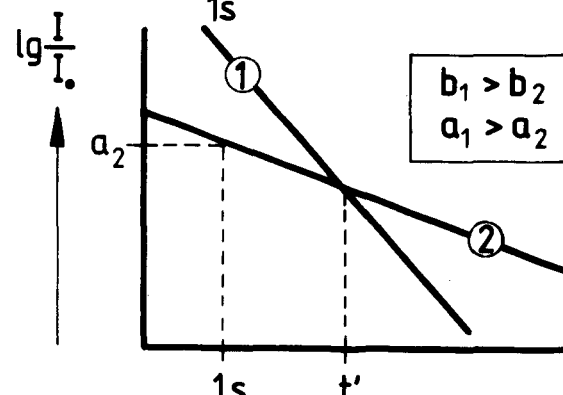
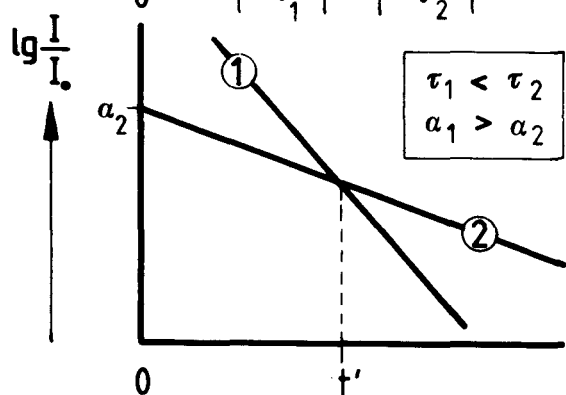
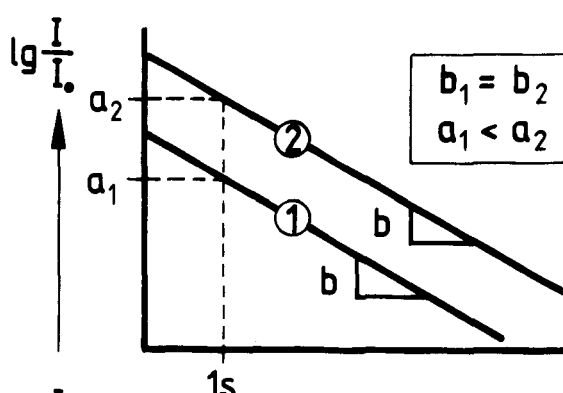
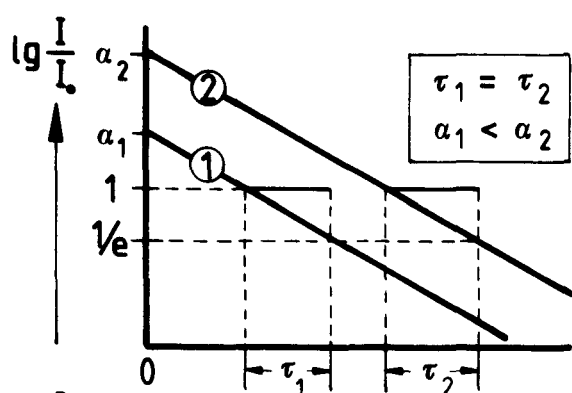
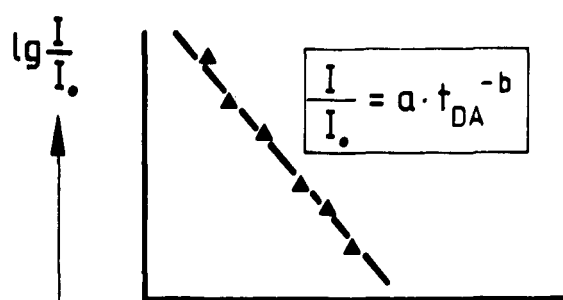
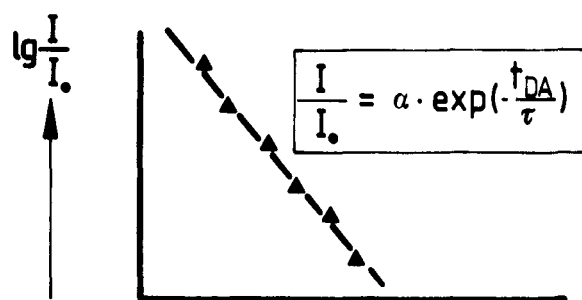


Abb. 12 (s. S. 28)

Schematische Gegenüberstellung einer Exponential- und Potenzfunktionsanpassung an die Meßwerte.

Exponentialfunktion	Potenzfunktion
<u>obere Reihe:</u> Eine Exponentialfunktion der Form $\frac{I}{I_0} = \alpha \cdot \exp\left(-\frac{t_{DA}}{\tau}\right)$ wurde nach dem Prinzip der kleinsten Abweichungsquadrate an die Meßpunkte angepaßt.	<u>obere Reihe:</u> Eine Potenzfunktion der Form $\frac{I}{I_0} = a \cdot t_{DA}^{-b}$ wurde nach dem Prinzip der kleinsten Abweichungsquadrate an die Meßpunkte angepaßt.
<u>zweite Reihe:</u> Die Zeitkonstante τ ist ein Maß für die Geschwindigkeit der Empfindlichkeitszunahme der Photorezeptorzelle nach Helladaptation. τ entspricht der Zeit, um die die t_{DA} verlängert werden muß, damit bei Erniedrigung der Lichtintensität I um den Faktor $\frac{1}{e} = 0,37$ die gleiche Amplitudenhöhe der Reizantwort ausgelöst werden kann. Kleines τ besagt, daß die Geschwindigkeit der Empfindlichkeitszunahme nach Helladaptation groß ist. Der Regressionskoeffizient α ist der Wert von $\frac{I}{I_0}$ an der Stelle $t_{DA} = 0$ am Ende der Helladaptation. α ist ein Maß für den Ausgangswert der Empfindlichkeit der Zelle. In der halblogarithmischen Darstellung weisen parallele Geraden gleiches τ auf. Bei mehreren Geraden mit gleichem τ zeigt die Gerade mit kleinerem α (s. Gerade ①) stets eine höhere Empfindlichkeit der Zelle an.	<u>zweite Reihe:</u> Der Regressionskoeffizient b ist identisch mit der Steigung der Geraden im doppeltlogarithmischen Maßstab. Auf gleiche Zeitintervalle bezogen ist er ein Maß für die Geschwindigkeit der Empfindlichkeitszunahme der Photorezeptorzelle nach Helladaptation: großes b besagt, daß die Geschwindigkeit der Empfindlichkeitszunahme nach Helladaptation für ein vorgegebenes t_{DA} hoch ist. Der Regressionskoeffizient a ist der Wert von $\frac{I}{I_0}$ an der Stelle $t_{DA} = 1$ s. a ist ein Maß für die Empfindlichkeit der Zelle nach 1 s. In der doppeltlogarithmischen Darstellung weisen parallele Geraden gleiches b auf. Bei mehreren Geraden mit gleichem b zeigt die Gerade mit kleinerem a (s. Gerade ①) stets eine höhere Empfindlichkeit der Zelle an.

dritte Reihe:

Ist $\tau_1 < \tau_2$, aber $\alpha_1 > \alpha_2$,
so gilt:

für $t_{DA} < t'$ (Schnittpunkt der
Geraden) weist die durch Gerade ②
charakterisierte Zelle eine
höhere Empfindlichkeit auf, für
 $t_{DA} > t'$ ist die durch Gerade ①
charakterisierte Zelle empfind-
licher.

Eine Aussage über die Geschwin-
digkeit der Empfindlichkeits-
änderung läßt nur die Größe
 τ zu (s. untere Reihe)

untere Reihe:

Die beiden eingezeichneten Werte
 τ_1 und τ_2 beziehen sich auf die
darüberliegende Abbildung der
dritten Reihe. Obwohl sich die
Empfindlichkeit der Zelle ändert,
ist die Geschwindigkeit der
Empfindlichkeitszunahme über den
ganzen Bereich konstant und für
die durch Gerade ① charak-
terisierte Zelle größer als für
die durch Gerade ② charak-
terisierte Zelle.

dritte Reihe:

Ist $b_1 > b_2$ und $a_1 > a_2$, so gilt:
für $t_{DA} < t'$ (Schnittpunkt der
Geraden) weist die durch Gerade ②
charakterisierte Zelle eine höhere
Empfindlichkeit auf, für $t_{DA} > t'$
ist die durch Gerade ①
charakterisierte Zelle empfindlicher.

untere Reihe:

Um im Falle der Potenzfunktionsan-
passung einen Vergleichswert für das
 τ der Exponentialfunktion zu er-
halten, wurde $\tilde{\tau}$ definiert als

$d_{t_{DA}} / d(-\ln \frac{I}{I_0})$ (d. h. $\tilde{\tau}$ ist die Zeit,

um die t_{DA} zu verlängern ist, wenn I
um den Faktor $\frac{1}{e}$ reduziert wird).

Differentiation liefert $\tilde{\tau} = \frac{t_{DA}}{b}$

das bedeutet $\tilde{\tau}$ ist nicht nur durch b
festgelegt, sondern auch noch abhängig
von der Dunkeladaptationszeit t_{DA} bzw.
von der Lichtintensität $\frac{I}{I_0}$, da $t_{DA} =$
 $f(\frac{I}{I_0})$. Bei doppeltlogarithmischer Auf-

tragung erhält man also ein Ge-
schwindigkeitsmaß $\tilde{\tau}$, das proportional
zu t_{DA} zunimmt. In Analogie zur
Exponentialfunktionsanpassung weist
auch hier die Gerade ① für gleiche
 t_{DA} durchweg das kleinere $\tilde{\tau}$ auf.

4. Versuchsergebnisse und Diskussion der Versuchsergebnisse

4.1 Messungen zum Dunkeladaptationsverlauf

Die Versuchsparameter und Meßergebnisse der Versuche, die zur Messung des Dunkeladaptationsverlaufs durchgeführt wurden, sind in Tab. II zusammengefaßt. Der Mittelwert von allen Versuchen des in PS gemessenen Membranpotentials im Dunkeln PMP (= pre-stimulus membrane potential) lag bei -47 mV ($s_{\bar{x}} = \pm 3,3$ mV; $n = 16$); die Amplitude des Rezeptorpotentials - ausgelöst durch den Helladaptationsreiz - im Mittel bei $U_{HA} = + 67$ mV ($s_{\bar{x}} = \pm 3,2$ mV; $n = 16$). Die vorgegebene criterion-response-Höhe (U_{CR}) wurde - von wenigen Ausnahmen abgesehen - als $\frac{U_{HA}}{2}$ des durch Helladaptation ausgelösten Rezeptorpotentials gewählt (s. Tab. II).

4.1.1 Constant-stimulus-Kurve

Mit 'constant-stimulus-Kurve' wird in Anlehnung an Benolken (1962) eine Dunkeladaptationskurve verstanden, bei der die Vergrößerung der Reizantwort auf Lichtblitze konstanter Intensität (I) in Abhängigkeit vom Auslösezeitpunkt nach der Helladaptation (t_{DA}) gemessen wird.

Die constant-stimulus-Kurvenschar wurde für verschiedene konstante Lichtintensitäten gemessen (s. Abb. 14), und zwar für jede Lichtintensität I , für die auch eine bestimmte vorgegebene Amplitudenhöhe ermittelt wurde. Abb. 14 und 15 zeigen typische constant-stimulus-Kurven (CS-Kurve) in PS für zwei verschiedene Versuche. In Abb. 14 ist die CS-Kurve halb-logarithmisch (h_{max} gegen $\log t_{DA}$) dargestellt, in Abb. 15 sind die Werte für h_{max} und t_{DA} linear aufgetragen. Bei hohen Lichtintensitäten ist der Anstieg der CS-Kurven sehr viel steiler als bei schwachen Lichtintensitäten. Zudem nimmt der Abstand zwischen den einzelnen CS-Kurven mit steigender Lichtintensität ab. In Versuch C1 002A (Abb. 15) wurde ab Filter 5 jede Minute ein Testreiz schwacher Lichtintensität gegeben (vgl. Schema, Abb. 11). An der langsamen, etwas unregelmäßig verlaufenden, Erhöhung der Amplitude in Abhängigkeit von der Dunkeladaptationszeit ist zu erkennen, daß sich

Lösung	Versuchs-Nr.		Helladaptation		HA-response			$I = \alpha_1 \cdot I_0 \cdot e^{-\frac{t_{DA}}{\tau_1}}$		$I = \alpha_2 \cdot I_0 \cdot e^{-\frac{t_{DA}}{\tau_2}}$		$I = \alpha_1 \cdot I_0 \cdot t_{DA}^{-b_1}$		$I = \alpha_2 \cdot I_0 \cdot t_{DA}^{-b_2}$		Übergang Fkt. 1 → Fkt. 2		
		T	Filter	Dauer	PMP	U _{HA}	U _{CR}	α_1	τ_1	α_2	τ_2	a_1	b_1	a_2	b_2	$t_{DA} (F=0)$	Filter	t
		°C		s	mV	mV	mV		s		s					s		s
PS	LI1	21	2	1	-60	78	37	13,1	3,55	0,02	232	$3,08 \cdot 10^4$	4,48	0,56	0,94	10	5-6	22-39
	C1001A	15,5	0	5	-45	57	25	0,67	7,64	0,03	268	4,36	1,57	15,94	1,34	3	5-6	27-163
	LI3	12	0	5	-50	67	32	6,93	7,68	0,06	444	$4,37 \cdot 10^3$	3,04	42,01	1,28	16	3-4	32-151
	LI5	21	0	1	-20	53	24	8,60	7,51	0,02	310	$2,36 \cdot 10^5$	4,23	1,91	1,10	20	5-6	45-80
	LI7	15	0	5	-42	65	30	1,84	8,39	0,05	386	$1,78 \cdot 10^2$	2,40	$1,71 \cdot 10^2$	1,55	10	4-5	31-262
	LI8	15	0	5	-51	77	36	4,83	3,37	0,02	542	$6,97 \cdot 10^2$	3,52	0,56	0,74	7	5-6	18-128
	C1002A	22,7 15	0	5	-40 -20	60 50	30	1,57 3,33	5,42 7,54	0,04 0,04	211 339	18,01 $9,61 \cdot 10^2$	1,97 2,84	8,65 78,02	1,27 1,51	4,7 12,1	4-5 4-5	19-72 32-175
	C1003A	15,8	0	5	-40	50	20	5,60	5,46	0,03	433	$5,81 \cdot 10^4$	4,33	0,98	0,84	13	4-5	25-55
	C1005A	15	0	5	-43	55	20	2,20	7,84	0,01	304	$7,90 \cdot 10^2$	2,91	0,53	0,92	10	5-6	29-43
	LI4 *	17	0	1	-50	63	10	2,02	3,89	0,005	134	$2,99 \cdot 10^2$	3,43	0,018	(0,47)	5	7-8	20-27
	LI6 *	15	0	5	-58 -50	81 66	38	1,80 11,34	7,25 1,23	0,01 0,003	96 110	$2,84 \cdot 10^3$ $6,9 \cdot 10^3$	3,50 6,25	0,11 0,025	(0,84) 0,75	9 6,2 F=3	7-8 7-8	35-51 9-15
	LI2 *	21	2	1	-56	72	40	24,31	1,03	0,004	46	$4,3 \cdot 10^3$	6,20	0,039	0,98	4,7 F=2	8-9	12-19
	C1004A *	15	0	5	-59	78	38	2,38	2,63*	0,01	658	$1,96 \cdot 10^2$	3,73	0,36	0,82	5	7-8	16-230
	C1006A *	15	0	5	-64	95	50	0,07	7,25*	0,04	83*	0,67	1,67	$4,67 \cdot 10^7$	4,29*	4 F=4	8-9	23-280
low Ca ²⁺ (250 µmol/l)	LI3	12	0	5	-50	67	32	2,58	9,50	---	---	38,78	1,62	---	---	10	---	---
	LI5	21	0	1	-16	51	24	1,16	5,90	0,01	285	36,02	2,34	2,61	1,18	5,5	5-6	24,90
	LI7	15	0	5	-54	80	30	0,77	630	---	---	44,66	0,84	---	---	98	---	---
	LI8	15	0	5	-30	66	36	0,95	98	0,35	263	3,8	0,55	$1,18 \cdot 10^3$	1,67	11	2-3	136-267
	LI2 *	21	2	1	-68	74	70	0,53	2,24	0,003	43	32,77	3,76	0,041	1,00	5,4 F=4	8-9	12-19
	C1002A *	15	0	5	-38	78	30	1,13	16,89*	0,03	579*	8,14	1,14	3,35	1,00	7	3-4	39-156
	C1005A	15	0	5	-61	74	20	8,94	5,92	0,02	489	$5,57 \cdot 10^4$	4,08	0,54	0,83	15	5-6	36-75
high Ca ²⁺ (40 mmol/l)	C1004A *	15	0	5	-28	51	38	15,1	3,88	0,04	217*	$3,15 \cdot 10^4$	4,28	0,75	0,80	13	4-5	21-49
	C1006A *	15	0	5	-75	104	50	3,14	3,23*	0,02	92*	$1,93 \cdot 10^5$	5,77	$5,68 \cdot 10^5$	3,59*	14 F=4	8-9	23-220
100 mmol/l Ca ²⁺	C1003A	15,8	0	5	-26	30	20	1,75	303	---	---	$2,52 \cdot 10^2$	1,07	---	---	168		

*regenerativ

Tabelle II (s. S. 32)

Zusammenfassung der Versuchsparameter und Meßergebnisse der Versuche, die zur Messung des Dunkeladaptationsverlaufs durchgeführt wurden.

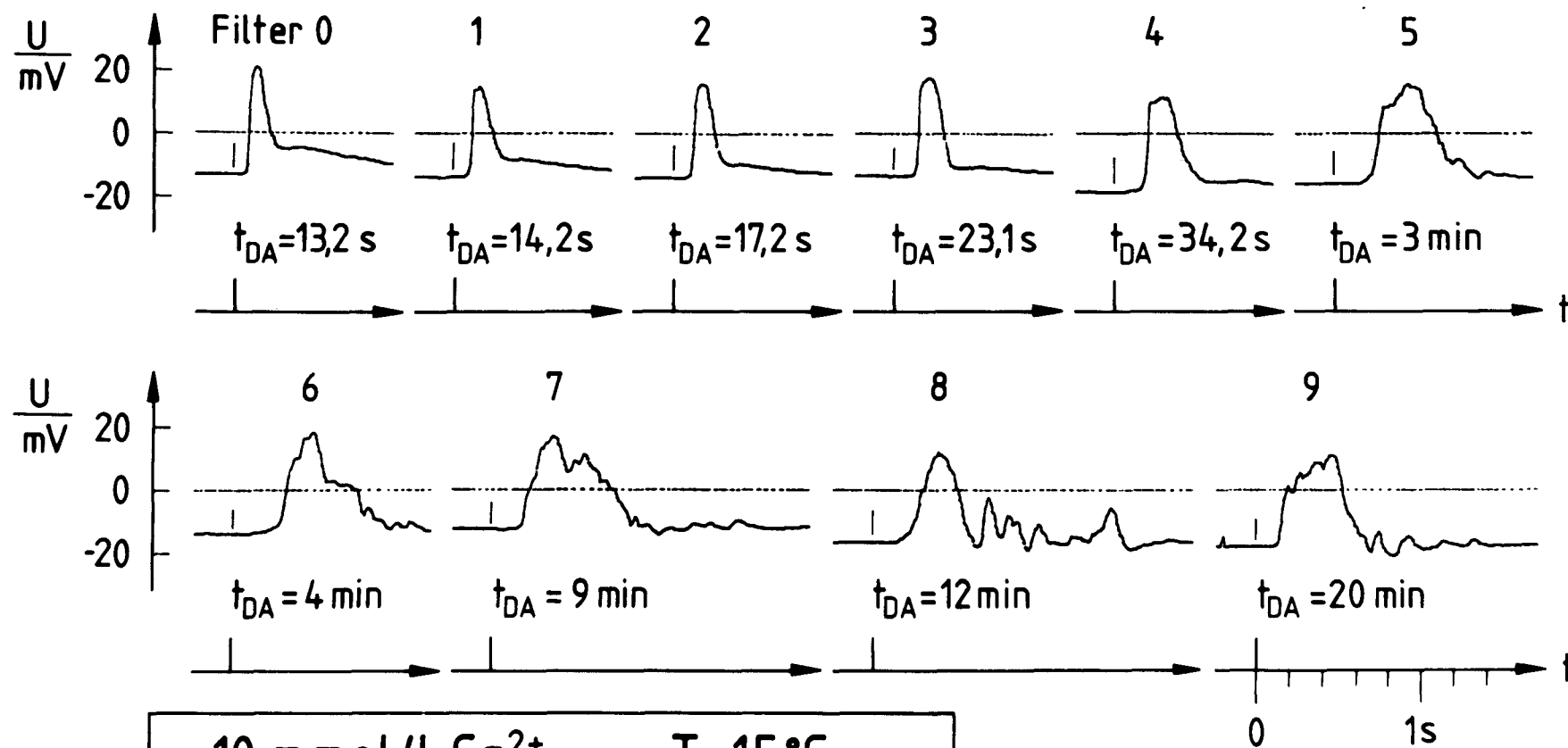
Auflistung der α und τ -Werte für die Exponentialfunktionsanpassung und der Regressionskoeffizienten a und b für die Potenzfunktionsanpassung.

PMP	Membranpotential vor dem Lichtreiz
U_{HA}	maximale Amplitude des durch den helladaptierenden Lichtreiz ausgelösten Rezeptorpotentials
U_{CR}	vorgegebene Amplitudenhöhe der criterion-response
t_{DA} (F=0)	Dunkeladaptationszeit, die zur Auslösung der vorgegebenen criterion-response Höhe bei der stärksten Reizlichtintensität (F=0; Ausnahme F=3 und F=2 in LI2 und F=4 in Cl006A) benötigt wurde.

In den letzten beiden Spalten ist für den Übergang von Funktion 1 zu Funktion 2 (Potenzfunktionsanpassung) der Filter als Angabe für die Reizlichtintensität ($\frac{I}{I_0} = \frac{1}{2^F}$; F = Filter) und die Dunkeladaptationszeit angegeben.

In Versuch LI3 und LI7 in low Ca^{2+} konnte nur für starke Reizlichtintensitäten die vorgegebene criterion-response ermittelt werden; Versuch LI8 und LI2 können aufgrund einer starken Empfindlichkeitsänderung der Zelle (LI8 - elektronische Störung, LI2 - starke Regenerativität) nur bedingt mit der Vorperiode in PS verglichen werden.

hier die Potentiale bereits aus deutlich auflösbaren Einzelereignissen (sog. Bumps) aufaddieren (s. Abb.13), deren Häufigkeit und Höhe statistisch verteilt ist. Im gleichen Versuch Cl 002A wurden in PS Adaptationsmessungen bei zwei unterschiedlichen Temperaturen hintereinander durchgeführt, und zwar die erste Messung bei 23° C, die zweite bei 15° C. Wie aus Abb. 15 ersichtlich sind bei erniedrigter Temperatur die constant-stimulus-Kurven für alle Lichtintensitäten zu längeren Dunkeladaptationszeiten verschoben. Bei allen CS-Kurven trat - meist im Bereich von Filter 5 ($\frac{I}{I_0} = \frac{1}{2^5}$) - ein deutlicher Sprung in der Dunkeladaptationszeit auf. Der Übergangsbereich zwischen kurzen und langen



10 mmol/l Ca^{2+}

$T = 15^\circ\text{C}$

$U_{CR} = 30 \text{ mV}$

Abb. 13 (s. S. 34)

Potentialform der Reizantworten, die annähernd das gleiche Amplitudenkriterium erfüllten, aber bei unterschiedlichen Lichtintensitäten und Dunkeladaptationszeiten ausgelöst wurden. Versuch Cl002A, PS (10 mmol/l Ca^{2+}), 15°C .

Die Potentiale stammen aus dem Versuch Cl002A, der in Abb. 15 als constant-stimulus-Kurve, in Abb. 17 und 18 als criterion-response-Kurve dargestellt ist.

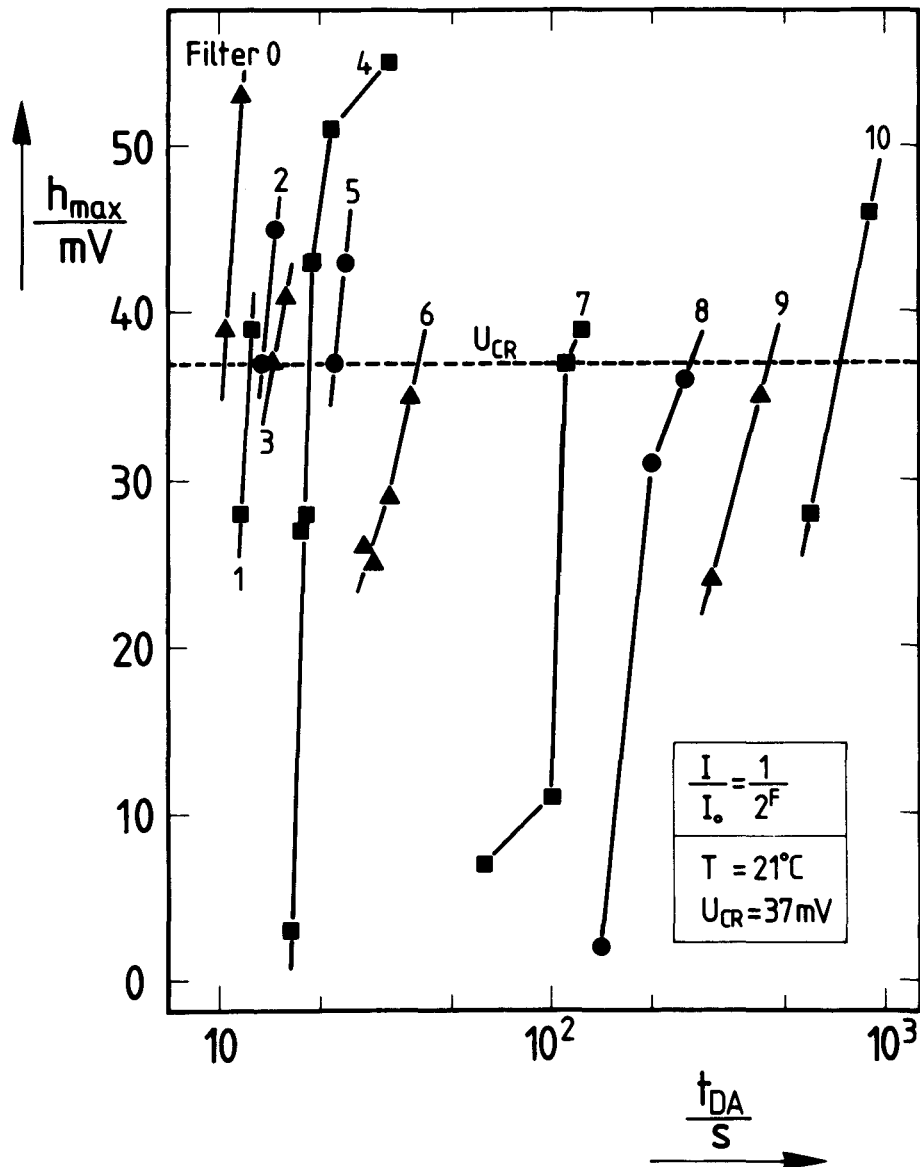


Abb. 14

Constant-stimulus-Kurven-Schar in PS (10 mmol/l Ca^{2+}); Versuch LI1.

Erhöhung der Amplitude $h_{\max}$ in Abhängigkeit von der Dunkeladaptationszeit t_{DA} für 11 verschiedene Lichtintensitäten

$$\left(\frac{I}{I_0} = \frac{1}{2^F} \quad \text{für } F = 0 - 10\right)$$

Die gestrichelte Linie bei 37 mV kennzeichnet die vorgegebene Amplitudenhöhe U_{CR} .

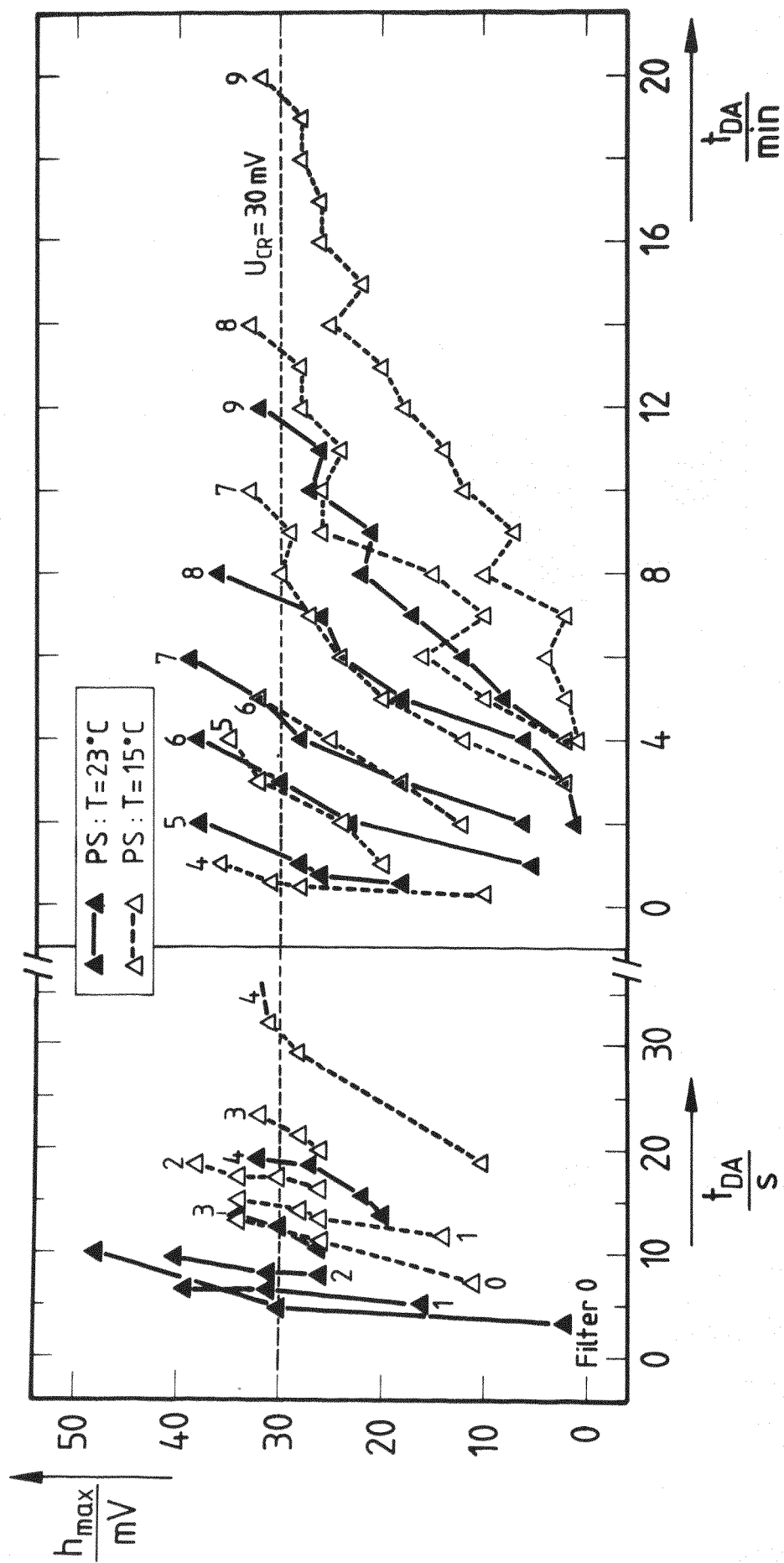


Abb. 15 (s. S. 36)

Constant-stimulus-Kurven-Schar in PS (10 mmol/ Ca^{2+}) bei 23°C bzw. 15°C ; Versuch C1002A.

Erhöhung der Amplitude $h_{\max}$ in Abhängigkeit von der Dunkeladaptationszeit t_{DA} . Die Nummerierung an den constant-stimulus-Kurven entspricht den Filternummern

$$\left(\frac{I}{I_0}\right)^F = \frac{1}{2^F} \quad \text{für } F = 0, 1, 2, 3, \dots$$

t_{DA} ist in zwei unterschiedlichen Maßstäben angegeben; die constant-stimulus-Kurve für $F = 4$, $T = 15^{\circ}\text{C}$ ist sowohl im ersten Teil der Abbildung (Zeitachse in [s]) wie auch im zweiten Teil der Abbildung (Zeitachse in [min]) wiedergegeben, um den Übergangsbereich zwischen dem schnellen und langsamen Adaptationsprozeß zu zeigen.

t_{DA} ist in Tab. II angegeben. Für die in Abb. 14 und 15 gezeigten CS-Kurven liegt er zwischen Filter 5 und 6 bzw. Filter 4 und 5.

4.1.2 Criterion-response-Kurve

Zur exakteren Bestimmung des Dunkeladaptationsverlaufs wurde eine zweite Methode gewählt, für die die Ermittlung der constant-stimulus-Kurve ein Hilfsmittel darstellte. Bei der Aufnahme einer criterion-response-Kurve wird die Zunahme der Empfindlichkeit (Empfindlichkeit definiert als der Reziprokwert der Lichtintensität, die zur Auslösung einer vorher bestimmten Amplitudenhöhe benötigt wird) in Abhängigkeit von der Dunkeladaptationszeit gemessen (vgl. Benolken, 1962; Fein und DeVoe, 1973). In den hier beschriebenen Versuchen wurden die criterion-response-Kurven so ermittelt, daß für verschiedene Reizlichtintensitäten I jeweils die Zeit nach Helladaptation gemessen wurde, die für die Auslösung eines bestimmten criterion-response-Wertes nötig war (s. Kap. 3.1.2). Die vorgegebene kritische Amplitudenhöhe ($U_{\text{CR}} \approx \frac{U_{\text{HA}}}{2}$) des nach Helladaptation ausgelösten Rezeptorpotentials (s. Tab. II) - ließ sich durch Verlängerung der Dunkeladaptationszeit bis zu einer Abschwächung der Licht-

An der so aufgetragenen Meßwertschar kann man zwei unterschiedliche Steigungen erkennen. Sie repräsentieren zwei verschiedenen schnelle Adaptationsprozesse: bei hohen Lichtintensitäten des Testreizes ist die Zunahme der Empfindlichkeit der Zelle - sichtbar am Erreichen der criterion-response-Amplitude - sehr schnell, bei niedrigen Lichtintensitäten deutlich langsamer.

Zwei Exponentialfunktionen der Form

$$I = \alpha \cdot I_0 \cdot e^{\frac{-t_{DA}}{\tau}}$$

wurden an die Meßwertschar angepaßt.

In Tab. II sind die berechneten Werte (s. Kap. 3.2) für den Faktor α (ein Maß für die Empfindlichkeit der Zelle für $t_{DA} = 0$) und die Zeitkonstante τ (ein Maß für die Geschwindigkeit der Empfindlichkeitszunahme nach Helladaptation) der beiden unterschiedlichen Steigungen aufgelistet (vgl. Schema Abb. 12). Die Mittelwerte für α und τ der in PS durchgeführten Versuche sind in Tab. III wiedergegeben. Die in Abb. 16 gezeigte CR-Kurve (Versuch LI1) wies ein τ_1 von 3,6 s und ein τ_2 von 232 s auf. In dem Versuch C1 002A (s. Abb. 17), in dem bei der gleichen Photorezeptorzelle eine CR-Kurve bei 23° C und 15° C durchgeführt wurde, stieg - bei erniedrigter Temperatur - τ_1 um den Faktor 1,4 und τ_2 um den Faktor 1,6 (s. Tab. II). Wie aus Tab. III zu entnehmen ist, wird die Geschwindigkeit der zweiten Steigung - charakterisiert durch τ_2 - stärker durch Temperaturerniedrigung beeinflusst als τ_1 . Da die Zeitkonstanten - vor allem für die zweite Steigung - sehr stark variieren (auch innerhalb einer Steigung von Filter- zu Filterabstufung zeigen sich starke Änderungen), und die Trennung zwischen den beiden Steigungen nicht immer deutlich zu erkennen ist, wurde geprüft, ob Potenzfunktionen sich besser an die Meßwerte anpassen lassen. Die Güte einer Anpassung kann mit Hilfe des Bestimmtheitsmaßes r^2 beurteilt werden. Für $r^2 = 1$ ist die Anpassung optimal (s. Angewandte Statistik, Sachs, 1978). Die r^2 -Werte sind in Abb. 18 für die Potenzfunktion und die Exponentialfunktion gegeneinander aufgetragen. Für die

	α_1	α_2	τ_1	τ_2
PS T = 12 - 23° C	5,7 ± 1,6 (n = 16)	0,024 ± 0,004 (n = 16)	5,5 ± 0,6s (n = 16)	287 ± 44s (n = 16)
PS T = 12 - 17° C	3,6 ± 0,9 (n = 7)	0,030 ± 0,006 (n = 8)	6,9 ± 0,7s (n = 7)	422 ± 46s (n = 8)
PS T = 21 - 23° C	7,8 ± 3,4 (n = 3)	0,026 ± 0,007 (n = 3)	5,5 ± 1,1s (n = 3)	251 ± 30s (n = 3)
low Ca ²⁺ T = 12-21° C	1,2 ± 0,3 (n = 6)	0,098 ± 0,084 (n = 4)	127 ± 102s (n = 6)	293 ± 110s (n = 4)
high Ca ²⁺ T = 15° C	9,1 ± 3,5 (n = 3)	0,027 ± 0,007 (n = 3)	4,3 ± 0,8s (n = 3)	266 ± 117s (n = 3)
<u>regenerative Versuche:</u>				
PS T = 15 - 17° C	1,6 ± 0,5 (n = 4)	0,018 ± 0,011 (n = 3)	5,3 ± 1,2s (n = 4)	104 ± 15s (n = 3)
PS T = 21° C	11,3 24,3	0,003 0,004	1,2s 1,0s	110s 46s

Tabelle III

Angabe des Mittelwertes und des mittleren Fehlers des Mittelwertes für die aus der Exponentialfunktionsanpassung erhaltenen Werte für α und die Zeitkonstante τ .

Exponentialfunktionsanpassung wiesen nur 7 von 42 ermittelten Werten (für $n \geq 4$) ein $r^2 \geq 0,95$ (s. schraffierter Bereich) auf. Für die Potenzfunktionsanpassung dagegen lagen die Werte in 33 von 42 Fällen (für $n \geq 4$) bei einem $r^2 \geq 0,95$.

Da eine bessere Anpassung der Potenzfunktion an die Meßwerte möglich war und damit auch der Vertrauensbereich der Regressionsgeraden für diese Anpassung schärfer definiert war (s. Anhang 1), wurde im folgenden die doppeltlogarithmische

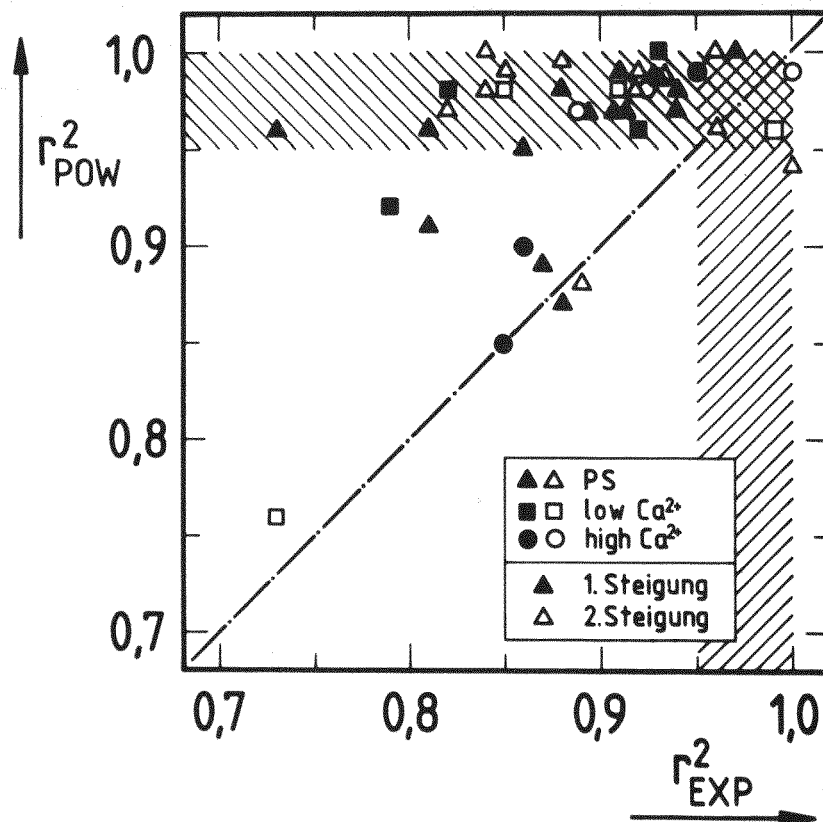


Abb. 18

Auftragung der für die Anpassung an eine Potenzfunktion (POW) und an eine Exponentialfunktion (EXP) ermittelten Werte für das Bestimmtheitsmaß r^2 .

Die Zahl der Meßwertpaare für die Regressionsanalyse lag zwischen 4 und 9. Der gestrichelte Bereich kennzeichnet r^2 -Werte $\geq 0,95$, d. h. den Bereich mit befriedigender Anpassung. Es zeigte sich keine signifikante Verbesserung oder Verschlechterung der Anpassung in Abhängigkeit von der Ca^{2+} -Konzentration bzw. 1. und 2. Steigung.

Anpassung zur graphischen Darstellung und Interpretation gewählt. Ein weiterer Vorzug der log-log-Darstellung lag in der besser sichtbaren Trennung zwischen den beiden Steigungen und der nahezu äquidistanten Auftragung der Meßwerte, auch für die Zeitachse. In Abb. 19 und 20 sind die beiden Versuche LI1 und C1002A, die in Abb. 16 und 17 als Exponentialfunktionen dargestellt wurden, doppeltlogarithmisch, d.h. als Funktionen der Form

$$I = a \cdot I_0 \cdot t_{DA}^{-b}$$

abgebildet. Bei einer derartigen Auftragung sind zwei deut-

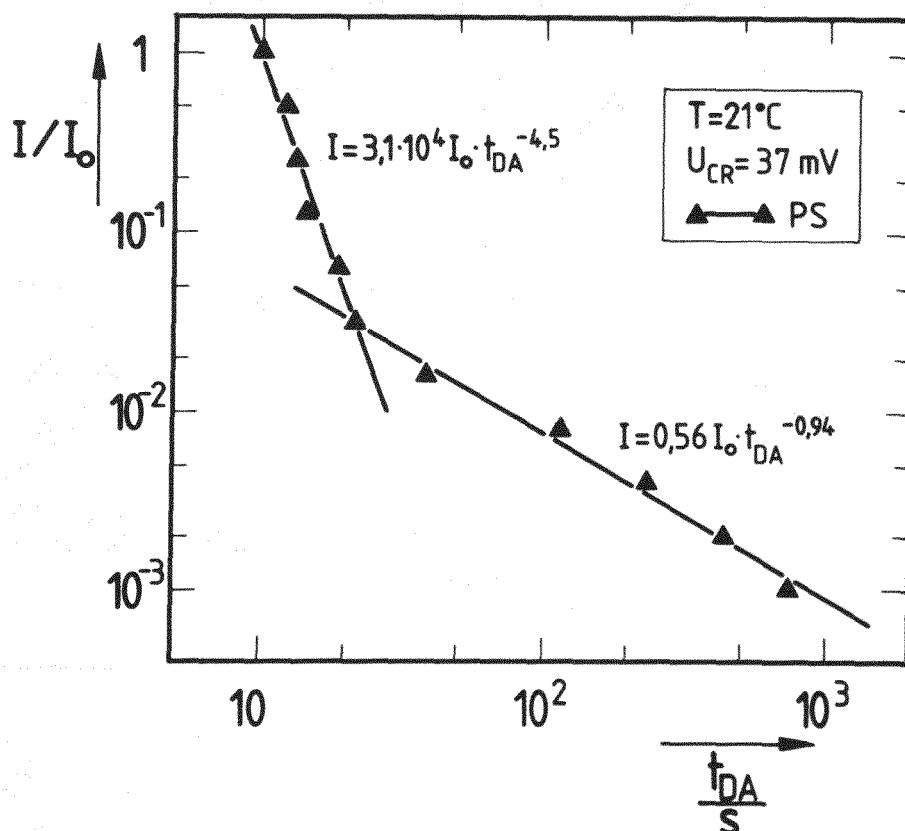


Abb. 19

Criterion-response-Kurve in PS (10 mmol/l Ca^{2+}); Versuch LI1.

Für die in Abb. 16 in halblogarithmischer Darstellung aufgetragenen Meßwertpaare wurde hier der Logarithmus der Lichtintensität $\frac{I}{I_0}$ gegen den Logarithmus der Dunkeladaptationszeit t_{DA} aufgetragen.

Die Potenzfunktion wurde nach dem Prinzip der kleinsten Abweichungsquadrate an die Meßpunkte angepaßt. Das Bestimmtheitsmaß für die erste Potenzfunktion ist $r^2 = 0,97$, für die zweite Potenzfunktion ist $r^2 = 0,99$ (vgl. Anhang 1).

lich gegeneinander abgrenzbare Steigungen zu erkennen, von denen die erste sehr viel steiler verläuft und einen größeren negativen Exponenten $\underline{b}$ aufweist. Aufschluß über den Vertrauensbereich der ermittelten Werte gibt Anhang 1. Im Mittel betrug $\underline{b}_1 = 3,5$ ($s_{\bar{x}} = \pm 0,4$; $n = 16$) für die erste Steigung in PS. Die zweite Gerade hingegen wies (von geringen Abweichungen bei den regenerativen Versuchen abgesehen, s. Kap. 4.3) in PS einen Exponenten $\underline{b}_2 = 1,0$ ($s_{\bar{x}} = \pm 0,1$; $n = 13$) auf.

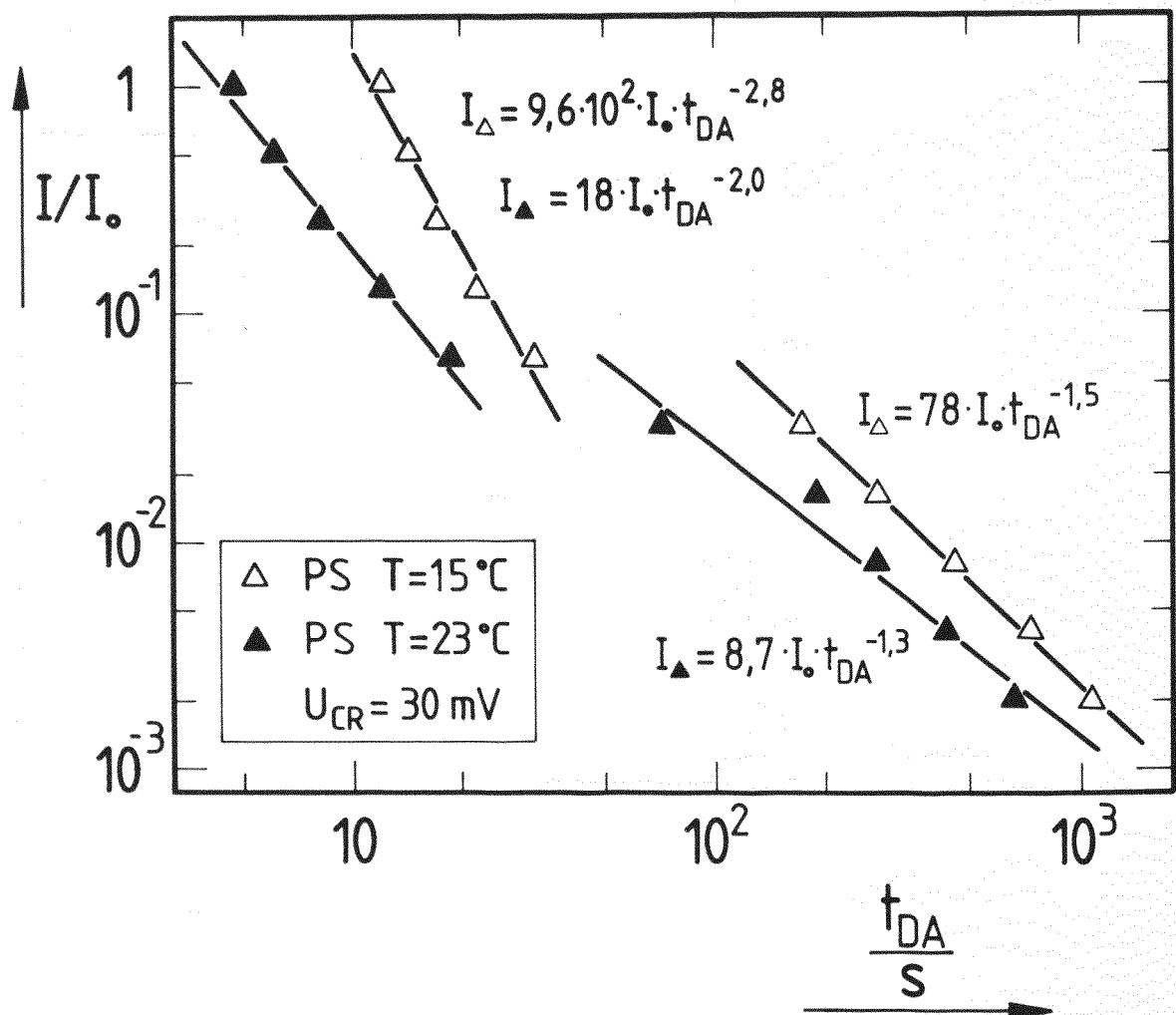


Abb. 20

Criterion-response-Kurve in PS (10 mmol/l Ca^{2+}); Versuch C1002A.

Der Logarithmus der Lichtintensität $\frac{I}{I_0}$ ist wie in Abb. 19 gegen den

Logarithmus der Dunkeladaptationszeit t_{DA} aufgetragen. Die Meßwertpaare entsprechen denjenigen, die in Abb. 17 in halblogarithmischem Maßstab aufgetragen sind.

4.2 Dunkeladaptationsverlauf bei Veränderung der extrazellulären Calciumkonzentration

4.2.1 Erniedrigung der extrazellulären Calciumkonzentration

In 6 Versuchen wurde nach Messung einer criterion-response-Kurve in PS die extrazelluläre Calciumkonzentration $[Ca^{2+}]_{ex}$ von 10 mmol/l auf 250 μ mol/l (low Ca^{2+}) erniedrigt und der Einfluß des reduzierten $[Ca^{2+}]_{ex}$ auf die Dunkeladaptation untersucht. Von einem Versuch dieser Serie (LI5) sind exemplarisch eine constant-stimulus-Kurve (Abb. 21) und eine criterion-response-Kurve (Abb. 22) wiedergegeben. In low Ca^{2+} zeigt die Zelle nach Ende der HA eine höhere Empfindlichkeit, sichtbar an den kürzeren Dunkeladaptationszeiten, die bei gleicher Lichtintensität wie in PS zur Auslösung einer bestimmten Amplitudenhöhe nötig sind (s. Abb. 21). In Abb. 22, in der die Werte für die criterion-response-Amplitude doppelt-logarithmisch aufgetragen sind, ist deutlich zu erkennen, daß die erste Steigung gegenüber der in PS zu kürzeren Dunkeladaptationszeiten verschoben ist und flacher verläuft, während die zweite Steigung etwas steiler ist. Entsprechend verhalten sich die Exponenten $\underline{b}$:

$$\begin{array}{ll} \text{PS} & - \underline{b}_1 = 4,2 \quad , \quad \underline{b}_2 = 1,1 \\ \text{low } Ca^{2+} & - \underline{b}_1 = 2,3 \quad , \quad \underline{b}_2 = 1,2 \end{array}$$

Die übrigen Versuche in low Ca^{2+} zeigen die gleiche Tendenz wie Versuch LI5 (s. Tab. II).

Der Exponent $\underline{b}_1$ wurde im Mittel auf 1,7 ($s_{\bar{x}} = \pm 0,5$; $n = 6$) erniedrigt; der Exponent der zweiten Steigung $\underline{b}_2$ änderte sich nicht signifikant und lag im Mittel bei 1,2 ($s_{\bar{x}} = \pm 0,2$; $n = 4$). Prozentual ausgedrückt wurde der Exponent $\underline{b}_1$ in low Ca^{2+} im Mittel auf 43,3 % ($s_{\bar{x}} = \pm 6,8$ %; $n = 6$) reduziert und der Exponent $\underline{b}_2$ auf 125 % ($s_{\bar{x}} = \pm 34,7$ %; $n = 4$) erhöht - jeweils bezogen auf $\underline{b}$ der vorhergegangenen CR-Messung in PS. Der Faktor $\underline{a}_1$ wurde wesentlich kleiner in low Ca^{2+} - im Mittel auf 4,7 % ($s_{\bar{x}} = 4,1$ %; $n = 6$) des Wertes in PS reduziert - und zeigt hiermit die Empfindlichkeitszunahme der Photorezeptorzelle in low Ca^{2+} für den Ausgangswert der ersten Steigung an. Die Veränderung von $\underline{a}_2$ ist nicht signifikant (s. Tab. II).

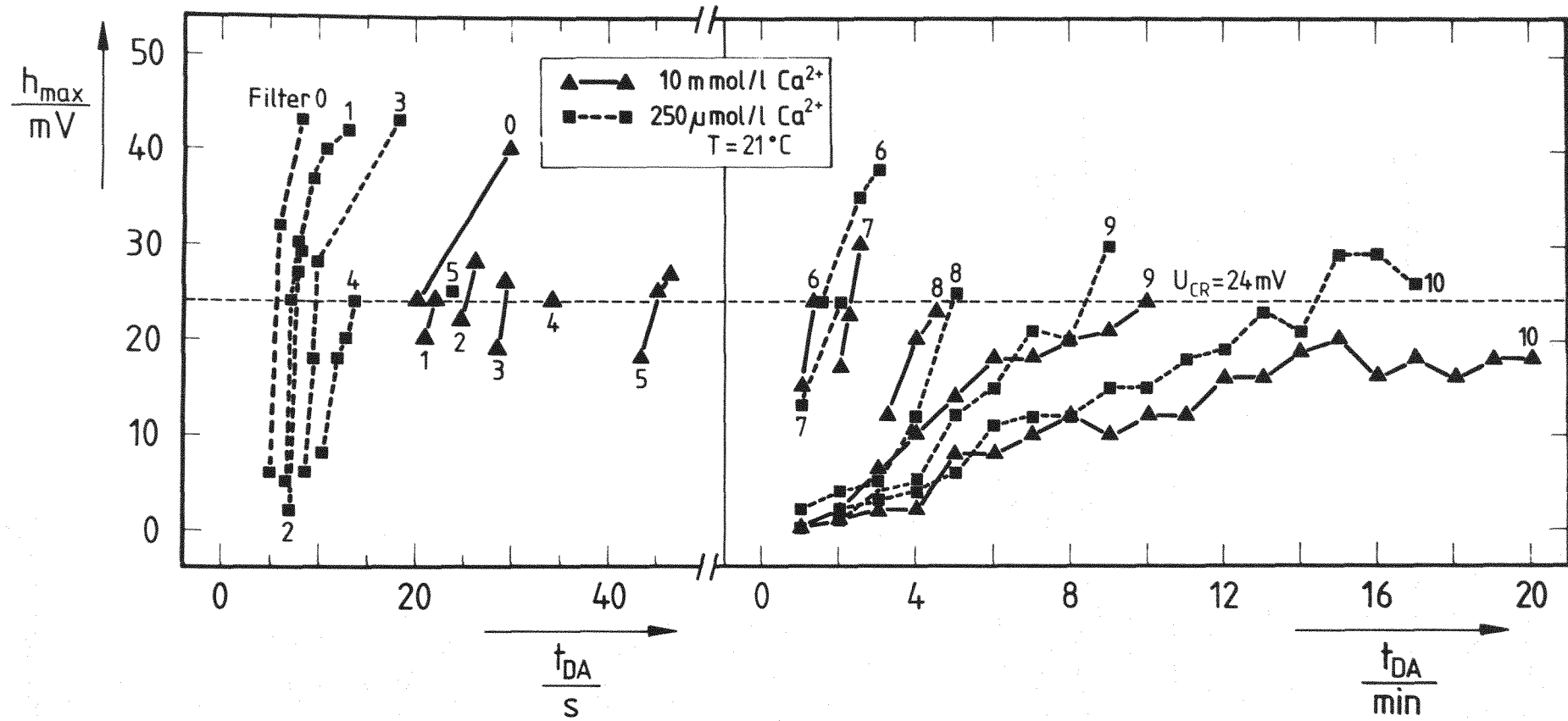


Abb. 21

Constant-stimulus-Kurven-Schar in PS (10 mmol/l Ca^{2+}) und in low Ca^{2+} (250 $\mu\text{mol/l}$ Ca^{2+}); Versuch LI5.

Erhöhung der Amplitude $h_{\max}$ in Abhängigkeit von der Dunkeladaptationszeit t_{DA} .

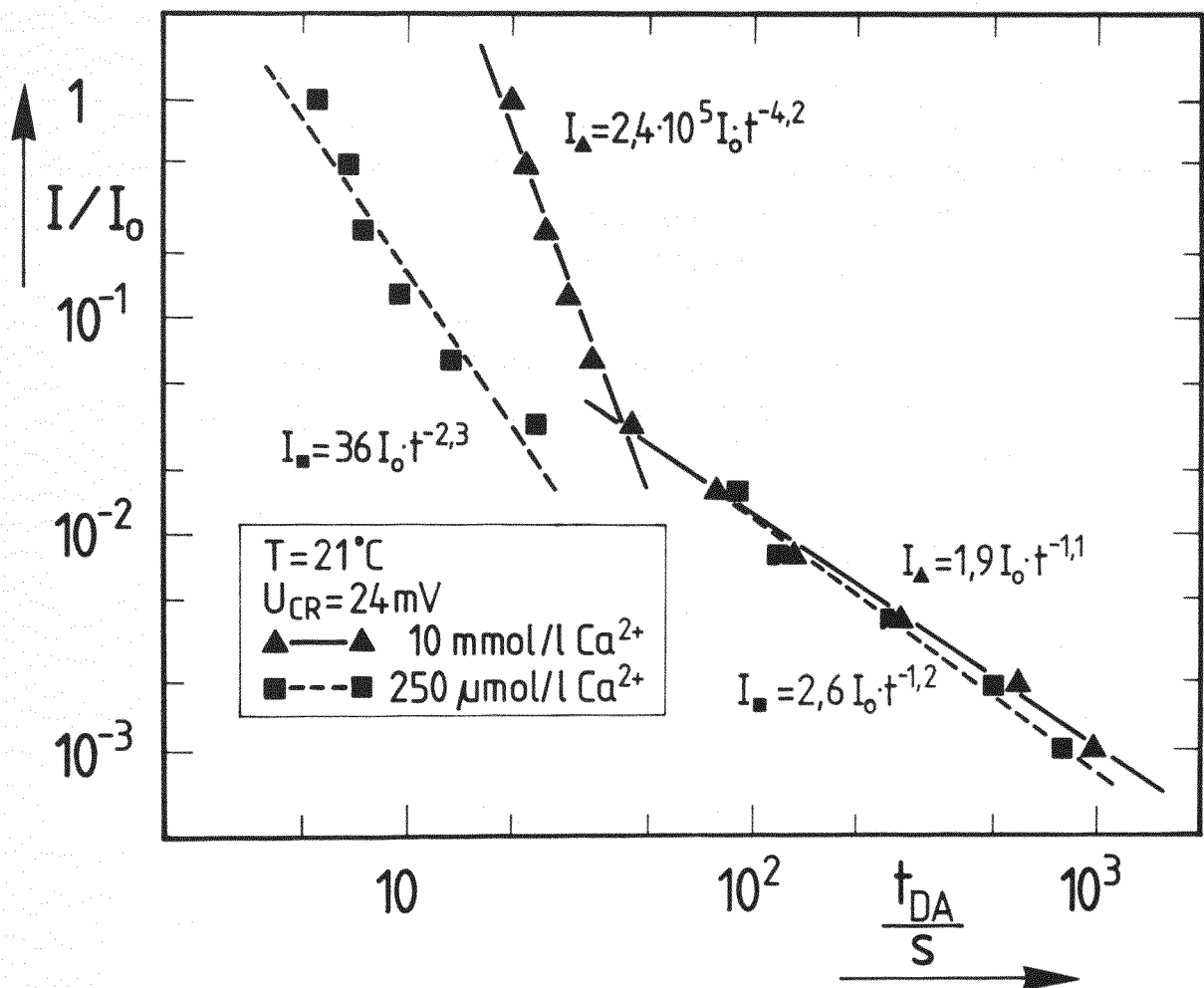


Abb. 22

Criterion-response-Kurve in PS (10 mmol/l Ca^{2+}) und in low Ca^{2+} (250 μ mol/l Ca^{2+}); Versuch LI5.

Der Logarithmus der Lichtintensität $\frac{I}{I_0}$ ist gegen den Logarithmus der Dunkeladaptationszeit t_{DA} für eine criterion-response U_{CR} von 24 mV aufgetragen.

4.2.2 Erhöhung der extrazellulären Calciumkonzentration

In 3 Versuchen wurde nach Durchführung einer criterion-response-Messung in PS die Calciumkonzentration von 10 mmol/l auf 40 mmol/l (high Ca^{2+}) erhöht. Eine stärkere Erhöhung der extrazellulären Calciumkonzentration auf 100 mmol/l (Versuch C1003A) erwies sich als unzweckmäßig, da bei so stark erhöhter Calciumkonzentration die Photorezeptorzelle im Laufe des langen Adaptationsversuchs unerregbar wurde.

Abb. 23 und 24 geben von dem Versuch C1005A exemplarisch die constant-stimulus-Kurve und die criterion-response-Kurve wieder. Im Gegensatz zu den low Ca^{2+} -Versuchen (s. Kap. 4.2.1) zeigt die Photorezeptorzelle in high Ca^{2+} nach Ende der HA eine höhere Empfindlichkeit als in PS, sichtbar an der Verschiebung zu längeren Dunkeladaptationszeiten, die für die Auslösung einer bestimmten Amplitudenhöhe benötigt werden (s. Abb. 23). Bei der doppeltlogarithmischen Auftragung (s. Abb. 24) verläuft die erste Gerade steiler als in PS, während die zweite Gerade geringfügig flacher ist. Die Exponenten $\underline{b}$ ändern sich entsprechend:

$$\begin{array}{lcl} \text{PS} & - & \underline{b}_1 = 2,9 \quad , \quad \underline{b}_2 = 0,92 \\ \text{high } \text{Ca}^{2+} & - & \underline{b}_1 = 4,1 \quad , \quad \underline{b}_2 = 0,83 \end{array}$$

Die gleiche Tendenz ist auch an den übrigen in high Ca^{2+} durchgeführten Versuchen festzustellen (s. Tab. II).

Der Exponent $\underline{b}_1$ wird in high Ca^{2+} im Mittel auf 4,7 ($s_{\bar{x}} = \pm 0,5$; $n = 3$) erhöht. Relativ zum Vergleichswert $\underline{b}_1$ in PS, der in der vorhergegangenen CR-Messung ermittelt wurde, wird $\underline{b}_1$ in high Ca^{2+} für C1005A auf 140 %
für C1004A auf 115 % und
für C1006A, der "regenerativ" war (s. Kap. 4.3) auf 346 % erhöht.

Der Exponent $\underline{b}_2$ zeigt - ähnlich wie in den Versuchen mit low Ca^{2+} - keine signifikante Änderung und liegt

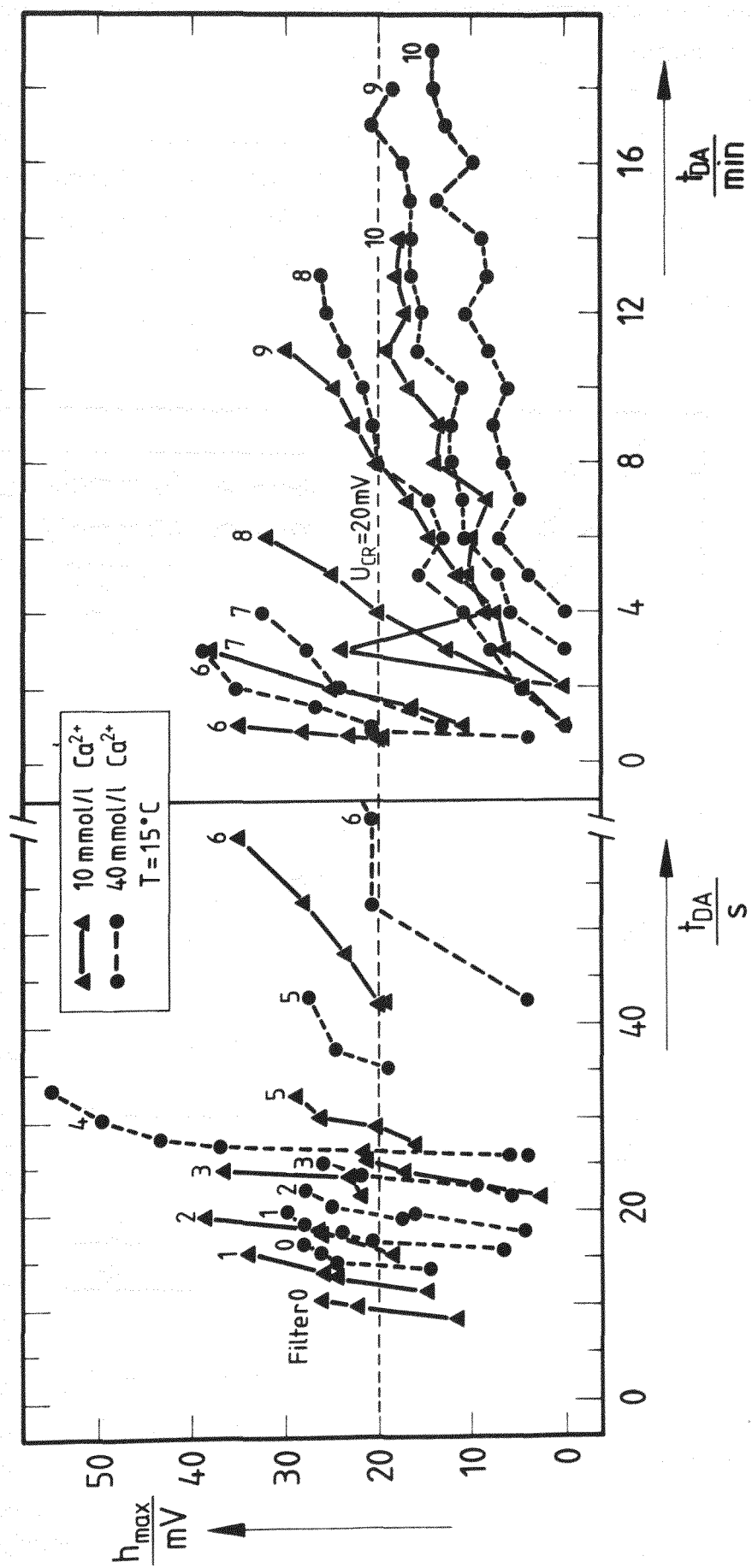
für C1005A bei 0,83
für C1004A bei 0,80
für C1006A hingegen bei 3,59,

was aber mit der auftretenden Regenerativität der Potentiale

Abb. 23 (s. S. 49)

Constant-stimulus-Kurven-Schar in PS (10 mmol/l Ca^{2+}) und in high Ca^{2+} (40 mmol/l Ca^{2+}); Versuch C1005A.

Erhöhung der Amplitude $h_{\max}$ in Abhängigkeit von der Dunkeladaptationszeit t_{DA} . Die constant-stimulus-Kurven sind für Filter 6 sowohl im ersten Teil der Abbildung (Zeitachse in [s]) wie auch im zweiten Teil der Abbildung (Zeitachse in [min]) wiedergegeben. Bei Filter 10 wurde in PS für $t_{\text{DA}} = 3$ min ein Spike ausgelöst, der jedoch für die Auswertung unberücksichtigt blieb.



dieses Versuches zusammenhängt (s. Kap. 4.3). Auf den jeweiligen Wert in PS bezogen liegt $\underline{b}_2$ im Mittel bei 90,5 % ($s_{\bar{X}} = \pm 4,0 \%$; $n = 3$).

Der Faktor $\underline{a}_1$ wird deutlich (etwa 70-fach) größer in high Ca^{2+} - und zeigt somit die Empfindlichkeitsabnahme der Photorezeptorzelle für den Ausgangswert der ersten Steigung an, während die Veränderung von $\underline{a}_2$ (bis auf den regenerativen Versuch C1006A) vernachlässigbar ist (s. Tab. II):

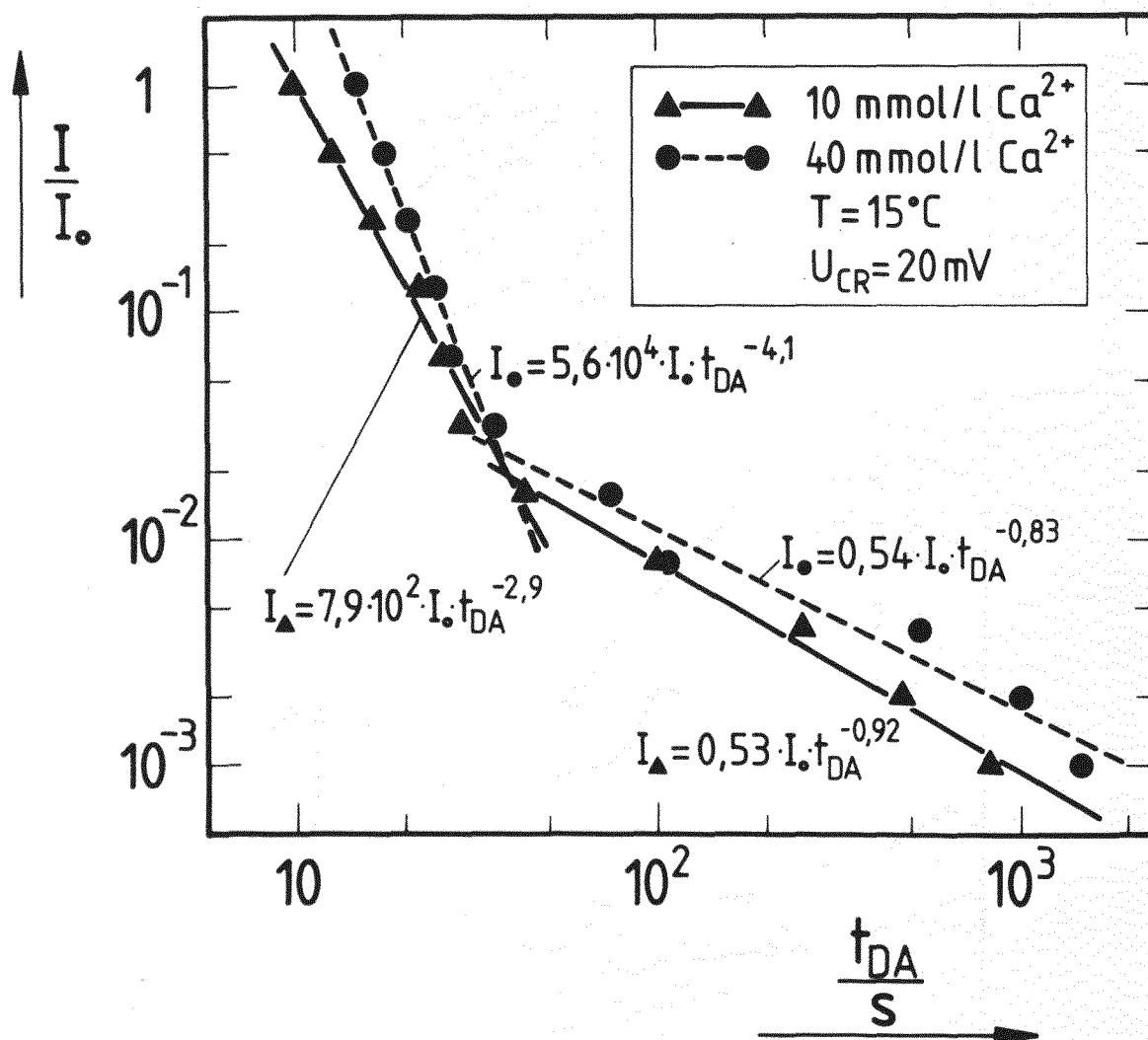


Abb. 24

Criterion-response-Kurve in PS (10 mmol/l Ca^{2+}) und in high Ca^{2+} (40 mmol/l Ca^{2+}); Versuch C1005A.

Der Logarithmus der Lichtintensität $\frac{I}{I_0}$ ist gegen den Logarithmus der Dunkel-

adaptationszeit t_{DA} für eine criterion-response U_{CR} von 20 mV aufgetragen.

4.3 Beeinflussung des Dunkeladaptationsverlaufs durch regenerative Prozesse

Unter bestimmten Voraussetzungen treten auch am Limulus Photo-rezeptor - neben den für Rezeptoren üblichen graduierten Generatorpotentialen - regenerativ erzeugte, spike-ähnliche Potentiale auf, die vermutlich durch die Generatorpotentiale ausgelöst werden und mit den Spikes an Nervenzellen vergleichbar sind (s. Hodgkin und Huxley, 1952). "Regenerative" Signale (s. Definitionen) wurden in folgenden Versuchen (s. Tab. II) beobachtet:

- LI4 in PS
- LI 6 in PS
- LI 2 in PS und in low Ca^{2+}
- C1002A nur in low Ca^{2+}
- C1004A in PS und in high Ca^{2+} (nur bei bestimmten Lichtintensitäten)
- C1006A in PS und in high Ca^{2+} .

Bedingungen für das Auftreten von Spikes waren:

- großes PMP von -40 bis -60 mV
- starke Hyperpolarisation nach Helladaptation
- Depolarisation während der Dunkeladaptation.

Wie in Kap. 5 ausführlicher dargelegt, werden im Bereich des PMP von -60 mV spannungsabhängige Kanäle aktiviert (Begriff: Aktivierung, s. Definitionen, S. VIII), die bei anschließender Depolarisation - z. B. durch Licht oder durch Strominjektion ($>+5$ nA) (s. Millecchia, 1969) - bei Erreichen einer bestimmten Membranspannung (=Schwelle, s. Definitionen) zum selbstverstärkenden Anstieg eines Spikes führen.

Langanhaltende Depolarisation führt wiederum zur Inaktivierung. In Abb. 25 sind exemplarisch einige typische Spikes aus dem "regenerativen" Versuch C1006A wiedergegeben.

4.3.1 Constant-stimulus-Kurve

In den Versuchen, in denen regenerative Prozesse auftraten, erhöhte sich die Amplitude der Reizantwort in Abhängigkeit von der Dunkeladaptationszeit in einem Bereich unterhalb der Schwelle (≈ 10 bis 15 mV) langsam, um dann schlagartig einen sehr viel größeren Wert anzunehmen und einen Spike auszulösen.

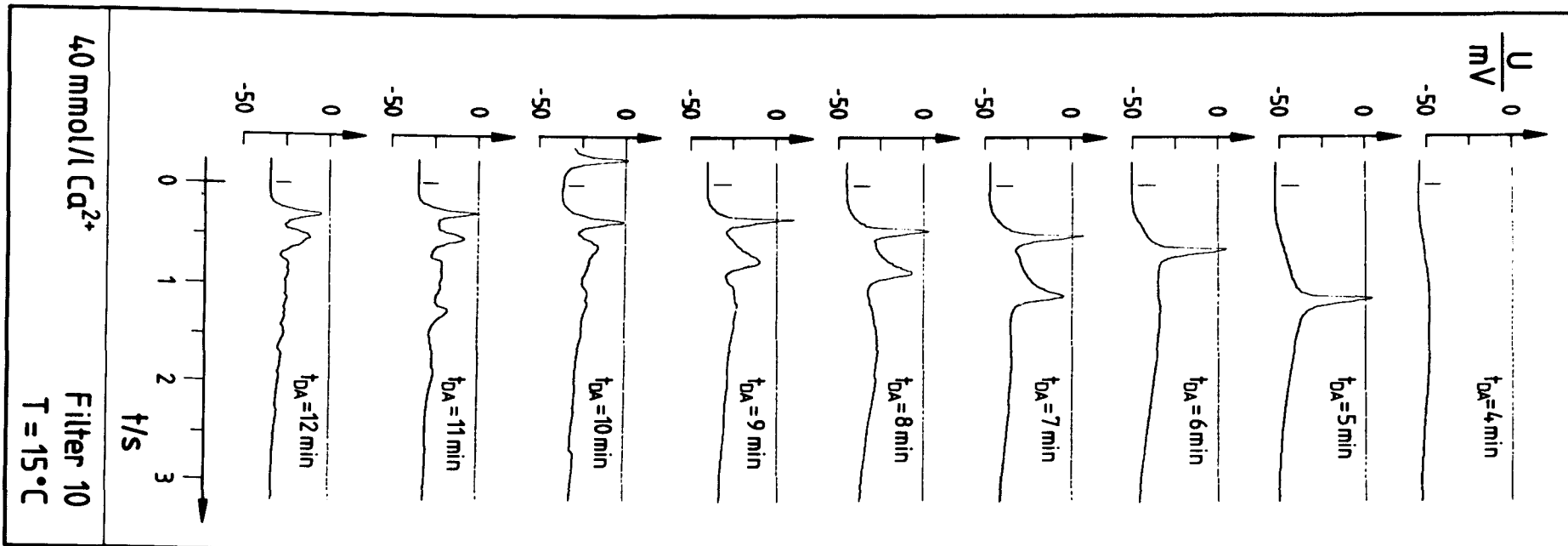


Abb. 25

Spikes aus dem "regenerativen" Versuch Cl006A. Jede Minute wurde die Photorezeptorzelle durch einen Lichtblitz mit einer Lichtintensität von $\frac{I}{I_0} = \frac{1}{2^{10}}$ gereizt.

Bei zunehmender Dunkeladaptationszeit wird das Dunkelpotential positiver ($-50 \text{ mV} \rightarrow -30 \text{ mV}$) und die Latenzzeit zur Auslösung der Spikes verkürzt.

Das spontane Auftreten von Spikes ohne Licht ist bei $t_{\text{DA}} = 10 \text{ min}$ zu sehen; hier wird ein Spike vor dem Lichtreiz sichtbar. Bei stärkerer Depolarisation des Ruhepotentials tritt eine Inaktivierung des Prozesses ein.

Das wird an der Verkleinerung der Spikehöhe bei $t_{\text{DA}} = 11$ und 12 min deutlich.

In Abb. 26 ist eine typische CS-Kurve für einen "regenerativen" Versuch in PS (Versuch C1006A) mit dem vor jedem Lichtreiz gemessenen Dunkelpotential (PMP) aufgetragen. Während sich bei starken Lichtintensitäten und dementsprechend kurzen Dunkeladaptationszeiten (< 2 min) das Ruhepotential nicht stark ändert, erfolgt bei langen Dunkeladaptationszeiten (> 2 min) eine kontinuierliche, langsame Depolarisation, die schließlich zur Inaktivierung des spannungsabhängigen Prozesses führt.

In Abb. 27 ist die CS-Kurve von Versuch C1002A gezeigt. Die Zelle wurde erst nach Lösungswechsel von PS zu low Ca^{2+} durch die auftretende starke Hyperpolarisation regenerativ.

In dieser Abbildung wird das vorübergehende Auftreten der Regenerativität deutlich. Für geringere Lichtintensitäten als

$$\frac{I}{I_0} = \frac{1}{2^a}$$

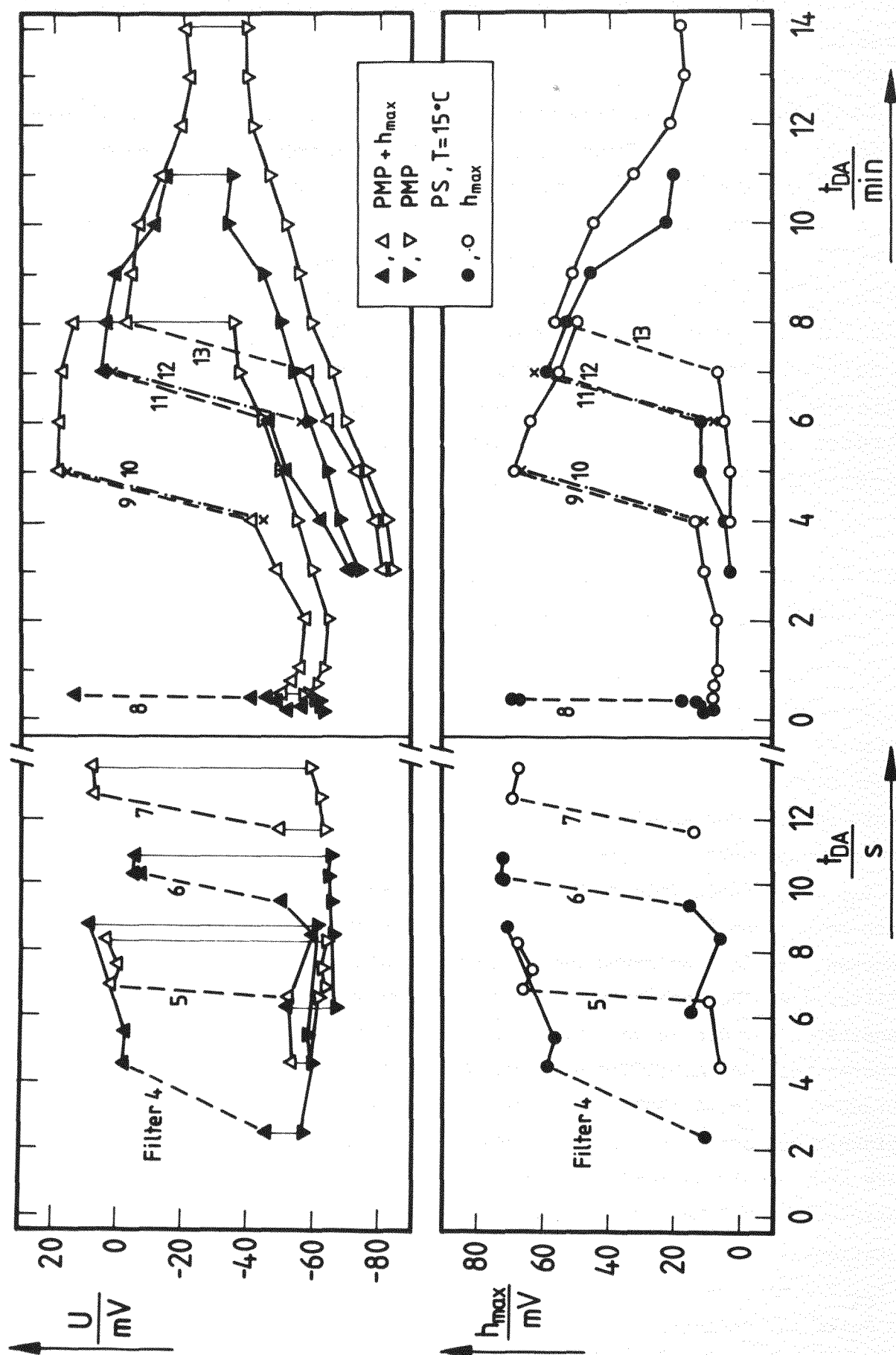
weist die Zelle wieder nicht-regeneratives Verhalten auf, da durch die lange Dunkeladaptationszeit das PMP über den für

Abb. 26 (s. S. 54)

Constant-stimulus-Kurven-Schar in PS ($10 \text{ mmol/l Ca}^{2+}$); "regenerativer" Versuch C1006A.

Im unteren Teil der Abbildung ist die Erhöhung der Amplitude h_{max} - als Differenz zum Dunkelpotential - in Abhängigkeit von der Dunkeladaptationszeit t_{DA} aufgetragen (wie z. B. auch in Abb. 15). Die gestrichelten Linien zeigen den Sprung in der Amplitudenhöhe an, der bei "regenerativen" Versuchen auftrat. (Aufgrund der hohen Empfindlichkeit der Zelle konnte erst ab Filter 4 ein Helladaptationseffekt gemessen werden; für höhere Lichtintensitäten war die Antwort bereits in der Sättigung.)

Im oberen Teil der Abbildung sind die Vergrößerung der absoluten Höhe des Membranpotentials $\blacktriangle$ ($\text{PMP} + h_{\text{max}}$) und des Dunkelpotentials $\blacktriangledown$ (PMP) in Abhängigkeit von der Dunkeladaptationszeit t_{DA} aufgetragen (Zeitachse wie untere Abbildung). Während sich das durch die Helladaptation hyperpolarisierte PMP $\blacktriangledown$ bei relativ hohen Lichtintensitäten und kurzen Dunkeladaptationszeiten [s] nicht stark ändert, depolarisiert die Zelle langsam bei $t_{\text{DA}} > 2$ min, und die Amplitude h_{max} wird immer kleiner bis schließlich kein Spike (s. Definitionen, S.VIII) mehr ausgelöst werden kann, da die für die Spike-Auslösung verantwortlichen Kanäle inaktiviert sind.



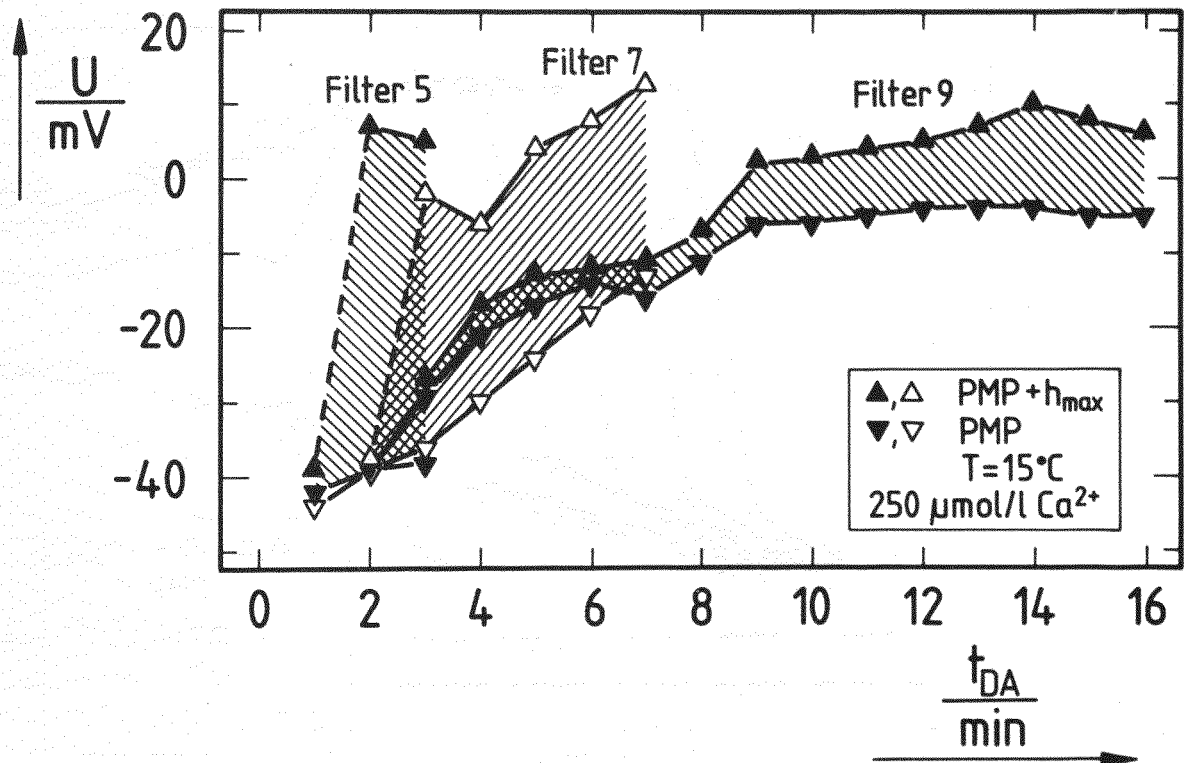


Abb. 27

Constant-stimulus-Kurven bei 3 verschiedenen Lichtintensitäten in low Ca^{2+} ($250 \mu mol/l Ca^{2+}$); Versuch C1002A.

Die Vergrößerung der absoluten Höhe des Membranpotentials ▲ ($PMP + h_{max}$) und das Dunkelpotential ▼ (PMP) sind in Abhängigkeit von der Dunkeladaptationszeit t_{DA} aufgetragen. Die schraffierten Bereiche kennzeichnen die Amplitudenhöhe h_{max} . Bei einem PMP positiver als ≈ -30 mV ist kein Spike mehr auslösbar (s. Filter 9).

Spikes an der Ventralnerv-Photorezeptorzelle aktivierbaren Bereich hinaus auf etwa -30 mV depolarisierte (vgl. Inaktivierungskurve an der Nervenmembran, Stämpfli, 1974).

Die CS-Kurven sind in low Ca^{2+} , verglichen mit den in PS ermittelten CS-Kurven (obwohl die Zelle in PS noch nicht "regenerativ" war) zu kürzeren Dunkeladaptationszeiten - vor allem für die erste schnelle Adaptationsphase - verschoben. In low Ca^{2+} zeigt die Zelle somit wiederum (s. Kap. 4.2.1) - auch bei Auftreten von regenerativen Prozessen - nach Ende der HA eine höhere Empfindlichkeit. In dem Versuch C1006A war die Zelle sowohl in PS wie auch in high Ca^{2+} stets "regenerativ".

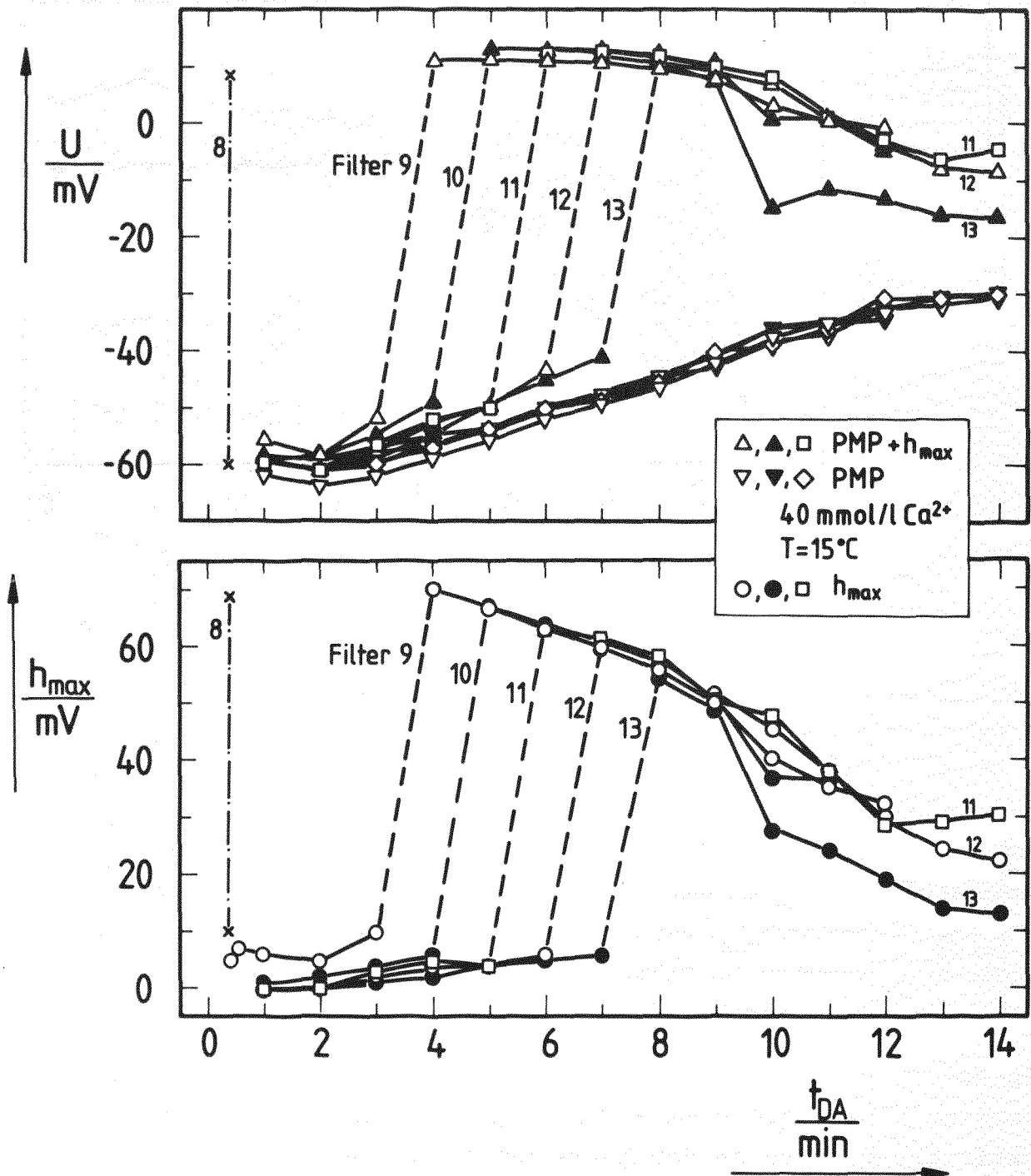


Abb. 28

Constant-stimulus-Kurven bei 6 verschiedenen Lichtintensitäten in high Ca^{2+} (40 mmol/l Ca^{2+}); Versuch C1006A.

Im unteren Teil der Abbildung ist wie in Abb. 26 die Erhöhung der Amplitude h_{max} - als Differenz zum Dunkelpotential - in Abhängigkeit von der Dunkeladaptationszeit t_{DA} aufgetragen. Die gestrichelten Linien zeigen den Sprung in der Amplitudenhöhe an.

Im oberen Teil der Abbildung sind wie in Abb. 26 die Vergrößerung der

absoluten Höhe des Membranpotentials $\blacktriangle$ (PMP + $h_{\max}$) und das Dunkelpotential $\blacktriangledown$ (PMP) in Abhängigkeit von der Dunkeladaptationszeit t_{DA} aufgetragen (Zeitachse wie untere Abbildung). Bei $t_{DA} > 2$ min wird das Ruhepotential durch langsame Depolarisation positiver; bei einem PMP von ≈ -30 mV sind keine Spikes mehr auslösbar. Filter 8 stellt den Übergangswert zwischen schneller und langsamer Adaptation dar (vgl. Abb. 26 und Abb. 30).

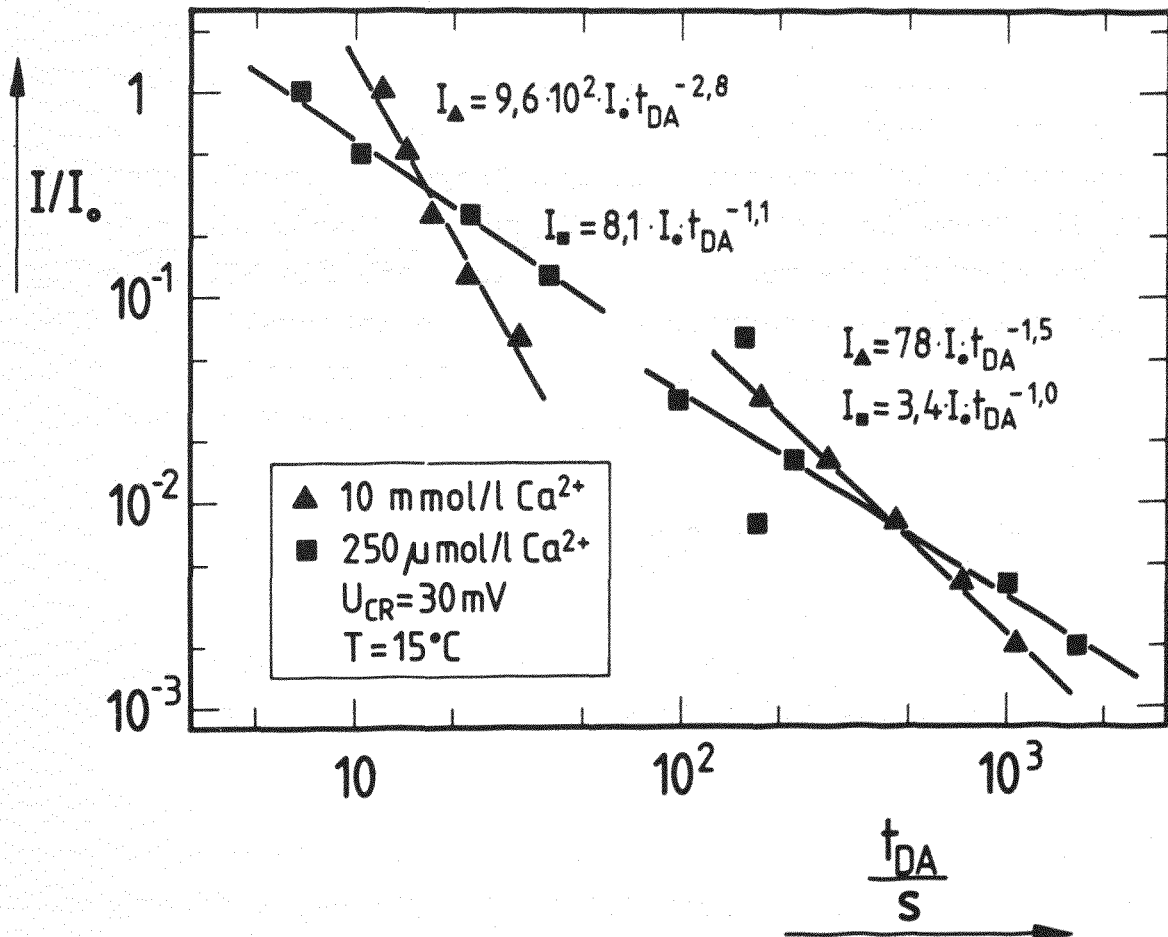


Abb. 29

Criterion-response-Kurve in PS (10 mmol/l Ca^{2+}) und in low Ca^{2+} (250 $\mu\text{mol/l}$ Ca^{2+}); Versuch C1002A.

Der Logarithmus der Lichtintensität $\frac{I}{I_0}$ ist gegen den Logarithmus der

Dunkeladaptationszeit t_{DA} für eine criterion-response von 30 mV aufgetragen. Die Zelle zeigte nur in low Ca^{2+} vorübergehend regeneratives Verhalten (Werte für $F = 8$ und $F = 9$ wurden extrapoliert). Durch die vorübergehend auftretenden regenerativen Antworten streuten die Meßwerte; das Bestimmtheitsmaß r^2 lag für die Anpassung an eine Potenzfunktion für die zweite Steigung in low Ca^{2+} nur bei $r^2 = 0,76$.

In high Ca^{2+} (Abb. 28) sind die CS-Kurven für die erste Adaptationsphase, verglichen mit den CS-Kurven in PS, zu längeren Dunkeladaptationszeiten verschoben wie bei den nicht-"regenerativen" Versuchen (s. Kap. 4.2.2). Die zweite Adaptationsphase dagegen war von der in PS ermittelten kaum unterscheidbar.

4.3.2 Criterion-response-Kurve

Für die Versuche, in denen regenerative Prozesse auftraten, wurde für die Ermittlung der Dunkeladaptationszeit zwischen dem jeweils ersten Wert unter- und oberhalb des Sprungs in der Amplitudenhöhe interpoliert. Bei den "regenerativen" Versuchen stellt die Schwelle (+10 bis +15 mV) zur Auslösung eines Spikes somit das eigentliche response-Kriterium dar. Die Wahl der U_{CR} -Höhe ist demzufolge innerhalb eines weiten Intervalls für die Charakteristik des Dunkeladaptationsverlaufs relativ unkritisch, d. h. die Steigung $\underline{b}$ ist praktisch nicht von der Wahl des U_{CR} abhängig:

1. Steigung - $\underline{b}_1 = 1,3 - 1,9$
2. Steigung - $\underline{b}_2 = 3,9 - 4,6.$

In Anhang 2 ist die geringe Schwankung des Exponenten $\underline{b}$, der für unterschiedliche U_{CR} (10 - 80 mV) berechnet wurde, graphisch dargestellt.

In Abb. 30 ist die criterion-response Kurve für den regenerativen Versuch C1006A für ein $U_{\text{CR}} = 50 \text{ mV} \approx \frac{U_{\text{HA}}}{2}$ wiedergegeben. Wenn auch eine gewisse Variabilität durch die PMP-Verschiebung und damit Spike-Auslösung bei niedrigen Lichtintensitäten und langen Dunkeladaptationszeiten auftritt (s. Abb. 27), so sind doch eindeutig - auch bei den "regenerativen" Versuchen - zwei voneinander getrennte Adaptationsverläufe zu erkennen.

Bei allen "regenerativen" Versuchen tritt der Sprung zwischen den beiden unterschiedlichen Adaptationsprozessen erst im Bereich der Filter 7,8 und 9 auf. Die Ursache hierfür kann darin liegen, daß die Schwelle bei dem sehr niedrigen Wert von +10 bis 15 mV das eigentliche response-Kriterium darstellt.

In Versuch C1006A (s. Abb. 30) ist der Exponent der zweiten Steigung

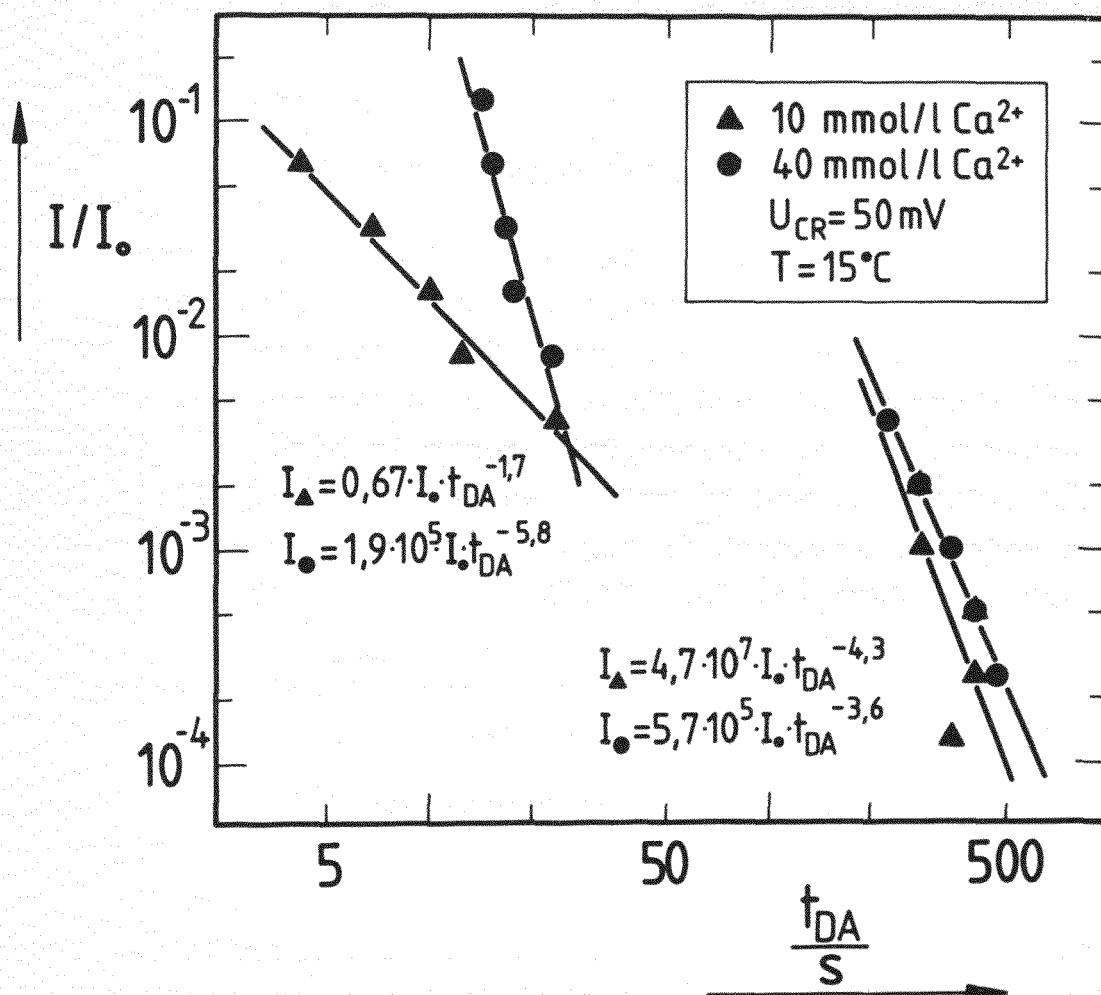


Abb. 30

Criterion-response-Kurve in PS (10 mmol/l Ca^{2+}) und in high Ca^{2+} (40 mmol/l Ca^{2+}); "regenerativer" Versuch C1006A.

Der Logarithmus der Lichtintensität $\frac{I}{I_0}$ ist für eine criterion response $U_{\text{CR}} = 50 \text{ mV}$ gegen den Logarithmus der Dunkeladaptationszeit t_{DA} aufgetragen.

Für die Ermittlung der Dunkeladaptationszeit wurde zwischen dem jeweils ersten Wert unter- und oberhalb des Sprungs interpoliert (vgl. Abb. 26 und Anhang 2).

$\underline{b}_2 = 4,3$ (statt $\underline{b}_2 \approx 1$, wie in den übrigen Versuchen) und korreliert mit einer sehr kurzen Zeitkonstante $\tau_2 = 83 \text{ s}$. Die Zeitkonstante τ ist - vor allem für die zweite Steigung - bei den "regenerativen" Versuchen wesentlich kleiner als bei

den nicht-"regenerativen" Versuchen:

nicht-"regenerativ" $\tau_1 = 6,9 \text{ s}$ $\tau_2 = 422 \text{ s}$

"regenerativ" $\tau_1 = 5,3 \text{ s}$ $\tau_2 = 104 \text{ s}$

$T \approx 15^\circ \text{ C}$ (vgl. Tab. III).

In low Ca^{2+} und in high Ca^{2+} zeigten die Versuche, in denen regenerative Prozesse auftraten, qualitativ die gleichen Effekte wie die Versuche ohne regenerative Potentiale, d. h. in low Ca^{2+} (Versuch LI2 und C1002A) wurden die Regressionskoeffizienten $\underline{a}_1$ und $\underline{b}_1$ kleiner, wohingegen in high Ca^{2+} (Versuch C1004A und C1006A) $\underline{a}_1$ und $\underline{b}_1$ größer wurden (s. Tab. II); $\underline{a}_2$ und $\underline{b}_2$ wurden weder in low noch in high Ca^{2+} gegenüber den Werten in PS stark verändert (s. Tab. II, Abb. 29 und 30).

4.4 Veränderung der Potentialform der criterion-response im Verlauf der Dunkeladaptation

Das Kriterium für eine criterion-response stellte die Amplitudenhöhe U_{CR} dar, die innerhalb eines Zyklus (s. Reizprogramm, Kap. 3.1.2) erreicht werden sollte. Die Form der Potentiale, deren Höhe das vorgegebene Kriterium erfüllte, änderte sich während der Messungen zum Dunkeladaptationsverlauf wesentlich, und zwar zeigten die Potentiale bei langen Dunkeladaptationszeiten und geringen Lichtintensitäten einen langsameren Anstieg und Abfall, also eine Verbreiterung des Potentials (s. Abb. 31); bei sehr langem t_{DA} wurde die Gipfelzeit t_{max} wieder verkürzt (s. Abb. 35).

In low Ca^{2+} ($250 \mu\text{mol/l Ca}^{2+}$) wurde die Potentialform - auch schon bei kürzerem t_{DA} und höheren Lichtintensitäten - stärker verbreitert als in PS; in high Ca^{2+} ($40 \text{ mmol/l Ca}^{2+}$) wurde sie leicht verkürzt (s. Abb. 32).

Das durch den helladaptierenden langen Lichtreiz von 5 s ausgelöste Rezeptorpotential wies in low Ca^{2+} einen langsameren und in high Ca^{2+} einen schnelleren Abfall vom sog. Transient zum Plateau auf (s. Millecchia und Mauro, 1969).

Bei sehr langen Dunkeladaptationszeiten und schwachen Reizlichtintensitäten sind deutlich Einzelereignisse erkennbar, die sich zum resultierenden Potential aufsummieren (s. Abb. 13 und 31).

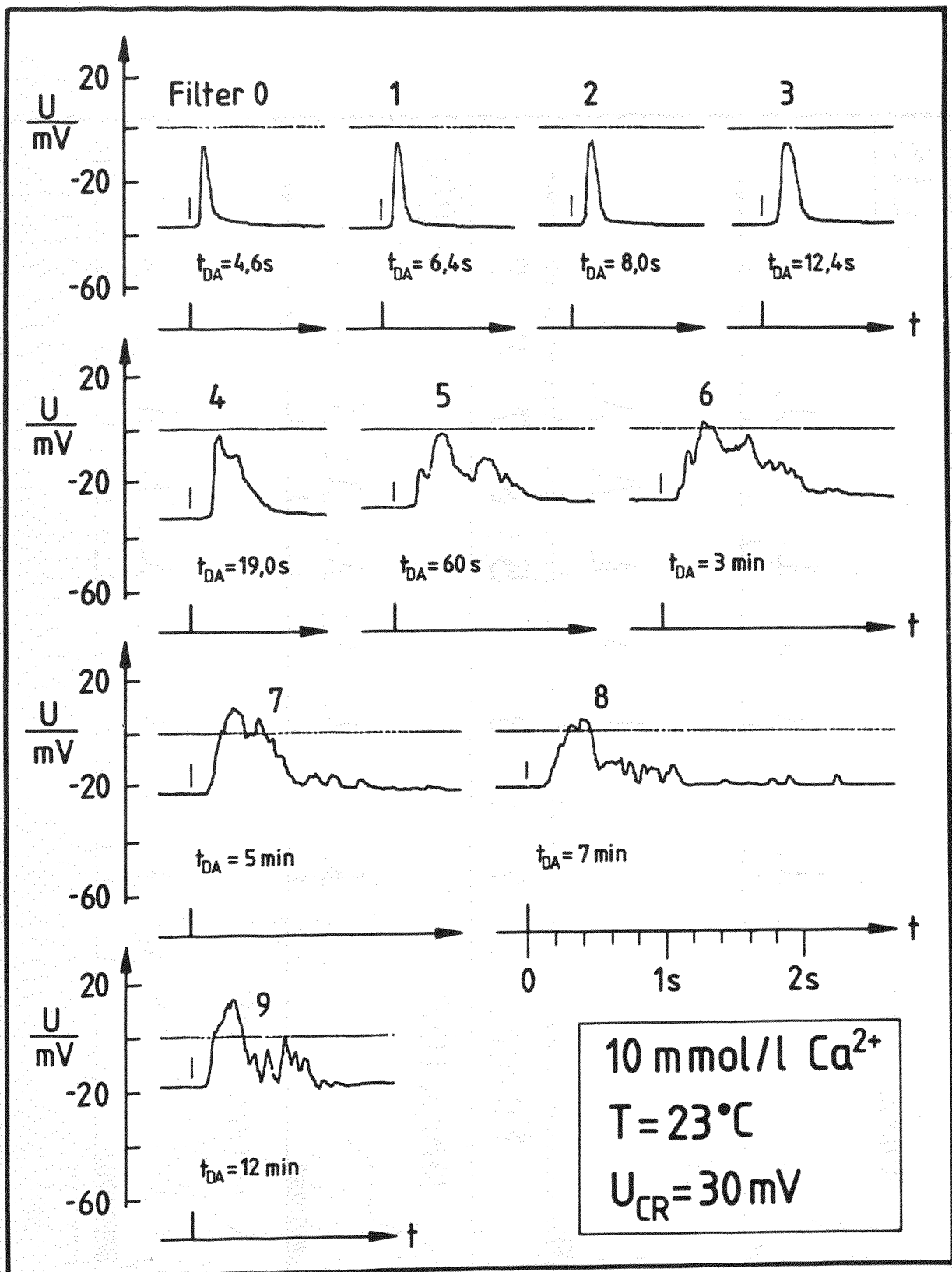


Abb. 31

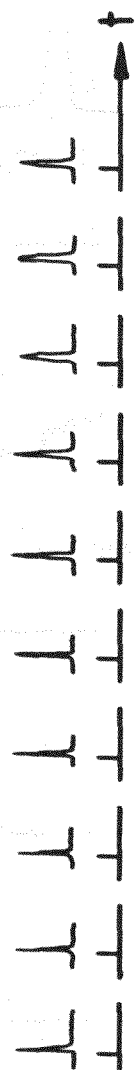
Potentialformen der Reizantworten, die bei unterschiedlichen Lichtintensitäten und Dunkeladaptationszeiten ausgelöst wurden und annähernd das Kriterium der gleichen Amplitudenhöhe erfüllten, am Beispiel des Versuchs C1002A.

Die Aufzeichnung der Potentiale erfolgte mit Hilfe eines Schreibers, der an den Computer angeschlossen war, anhand der durch das PCM-System digitalisierten Werte.

L15

$h_{\max}/mV$ 40 0

10 mmol/l Ca^{2+}



$h_{\max}/mV$ 40 0

250 μ mol/l Ca^{2+}

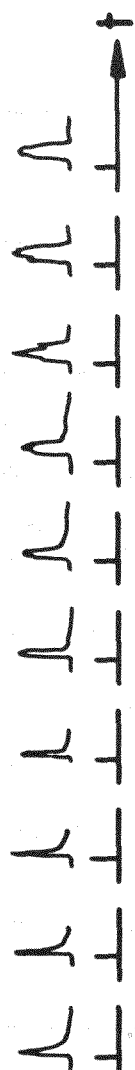


Filter: 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9

C1005A

$h_{\max}/mV$ 40 0

10 mmol/l Ca^{2+}



$h_{\max}/mV$ 40 0

40 mmol/l Ca^{2+}



5s

Abb. 32 (s. S. 62)

Potentialformen in PS und in veränderter extrazellulärer Calciumkonzentration, die die annähernd gleiche vorgegebene Amplitudenhöhe aufwiesen, am Beispiel des Versuchs LI5 und ClO05A.

In jeder Reihe ist zu Anfang das durch den helladaptierenden Lichtreiz ausgelöste Rezeptorpotential abgebildet, das vor Ermittlung des U_{CR} für Filter O gemessen wurde.

* regeneratives Potential

4.5 Zerlegung der Potentiale in Komponenten

Die bei höherer zeitlicher Auflösung registrierten Potentiale (s. Abb. 33) ließen in manchen Versuchen zwei Komponenten C_1 und C_2 erkennen, die an der Übergangsstelle zwischen erster und zweiter Adaptationsphase den Wechsel zwischen der ersten und zweiten Komponente zeigten. In Abb. 33 sind die beiden Komponenten deutlich zu erkennen. Die Höhe der Komponenten hängt neben der Reizlichtintensität vom Dunkeladaptationszustand ab. So hat im relativ helladaptierten Zustand (Abb. 33 oben; 24,6s nach HA-Ende) die erste Komponente die höchste Amplitude ($C_1 = 21$ mV), während die zweite Komponente noch sehr viel kleiner ist ($C_2 = 11$ mV). Nach etwas längerer Dunkeladaptationszeit (27,8 s) ist C_1 nur unbedeutend größer geworden ($C_1 = 22$ mV), während C_2 stark angestiegen ist ($C_2 = 23$ mV). Im relativ dunkeladaptierten Zustand schließlich (s. Abb. 33 unten; nach 30,2 s) überragt C_2 die erste Komponente C_1 ($C_1 = 23$ mV; $C_2 = 33$ mV).

Wie bei Maaz et al. (1981) beschrieben, handelt es sich hier um zwei durch Licht ausgelöste Komponenten, die unterschiedlich vom Adaptationszustand beeinflußt werden.

C_1 bestimmt die Potentialhöhe im relativ helladaptierten Zustand C_2 im dunkeladaptierten Zustand (vgl. dazu Abb. 34).

Für den Verlauf der Dunkeladaptation, der zwei unterschiedlich schnelle Prozesse zeigt, bietet das Auftreten der Komponenten eine Erklärung an:

Steigung 1 - die schnelle Adaptationsphase - wird im wesentlichen durch das Dunkeladaptationsverhalten und die Geschwindigkeit der Empfindlichkeitszunahme der ersten Komponente C_1

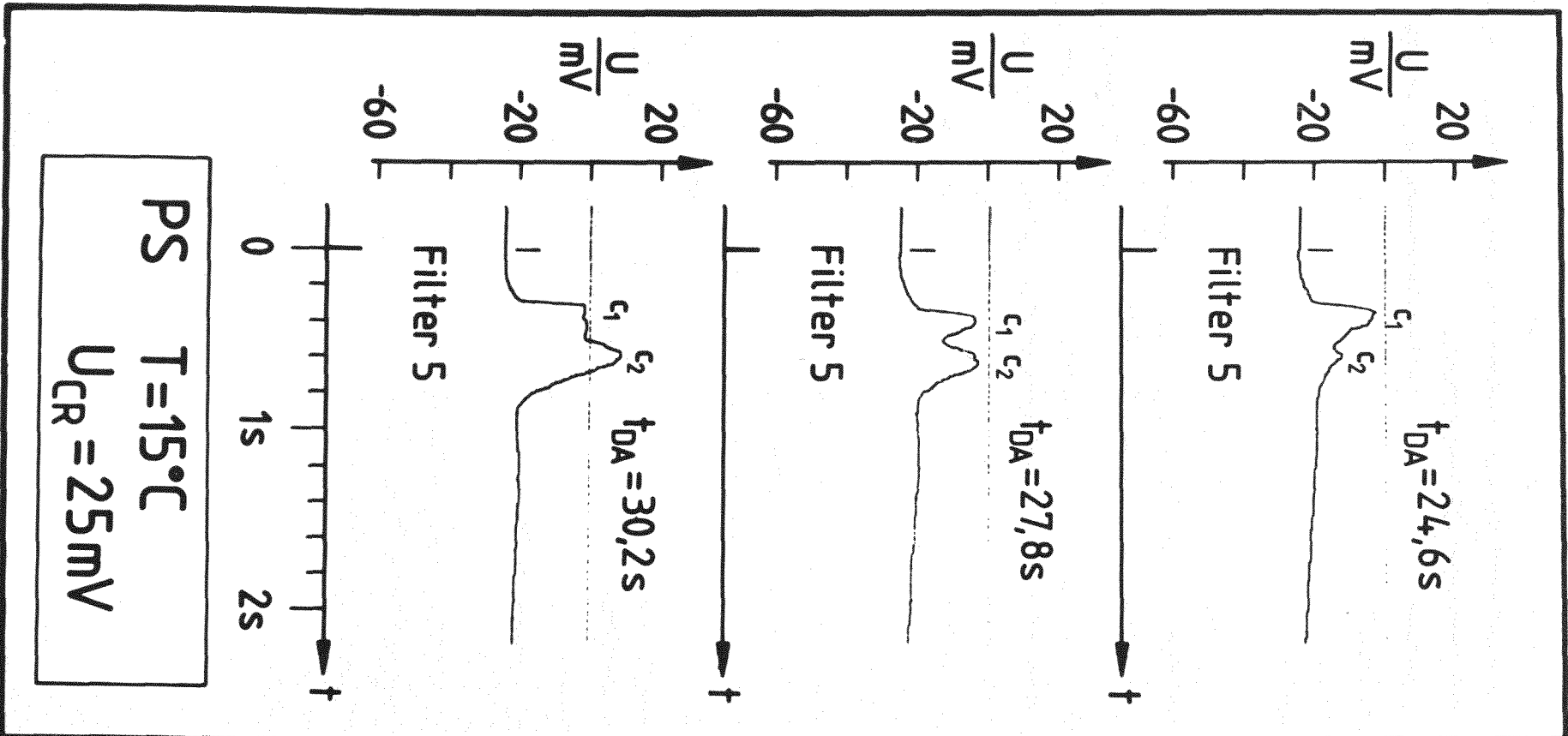


Abb. 33

Komponenten c_1 und c_2 , die bei der gleichen Lichtintensität (Filter 5; s. constant-stimulus-Kurven), aber zu unterschiedlichen Zeiten nach Ende der Helladaptation ausgelöst wurden. Versuch C1001A.

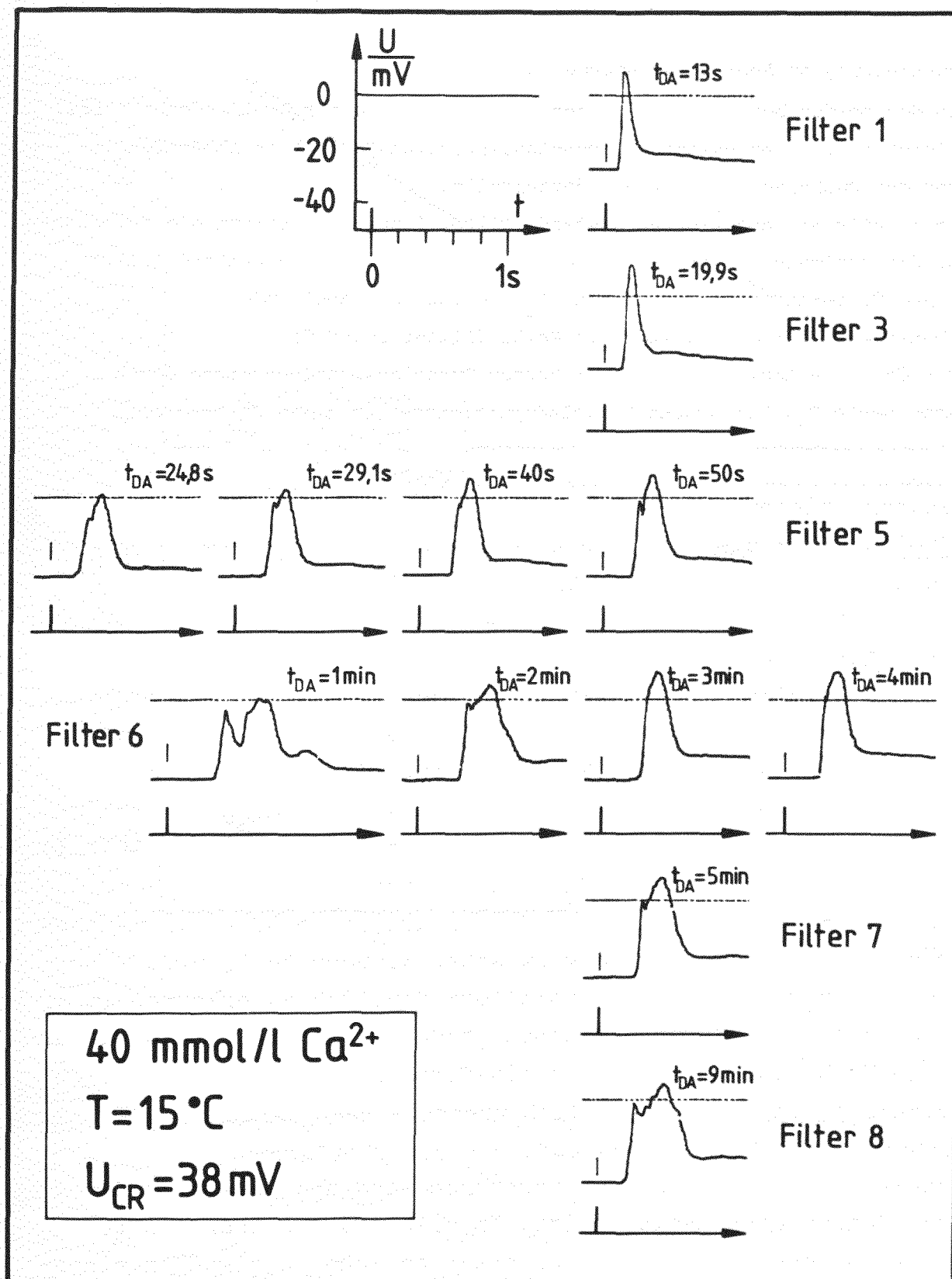


Abb. 34

Potentialformen am Beispiel des Versuchs C1004A für verschiedene Reizantworten. In senkrechter Folge sind Potentiale dargestellt, die das Kriterium $U_{CR} = 38\text{ mV}$ annähernd erfüllten. Die Lichtintensität nimmt von oben nach unten ab (Filter 0-8), entsprechend nimmt die Dunkeladaptationszeit von oben nach unten zu.

(Fortsetzung zu Abbildungslegende 34)

In den beiden horizontalen Reihen ist die Zunahme der Amplitudenhöhe bei gleicher Lichtintensität (s. constant-stimulus-Kurven) in Abhängigkeit von der Dunkeladaptationszeit dargestellt.

Im relativ helladaptierten Zustand (Filter 1 und 3) bestimmt die Komponente C_1 die maximale Amplitude, im relativ dunkeladaptierten Zustand (Filter 5 bis 8) bestimmt die Komponente C_2 die maximale Amplitude.

Ebenso gilt für die horizontale Reihe (Filter 5 und 6):

die maximale Amplitude wird bei kurzen Dunkeladaptationszeiten durch Komponente C_1 , bei großen Dunkeladaptationszeiten durch C_2 bestimmt.

charakterisiert.

Steigung 2 - die langsame Adaptation - wird im Gegensatz dazu durch das Dunkeladaptationsverhalten von Komponente C_2 bestimmt.

Im relativ helladaptierten Zustand (d.h. für kurze t_{DA} und starke Reizlichtintensität I), wie er für die Ermittlung der Meßpunkte der ersten Steigung besteht, wird C_2 weitgehend unterdrückt und spielt für die Ermittlung der kritischen Amplitudenhöhe keine Rolle. Im relativ dunkeladaptierten Zustand (d.h. für große t_{DA} und schwache Reizlichtintensität I) wird C_1 im Gegensatz zu C_2 nicht weiter erhöht.

In diesem Fall erreicht nur C_2 die kritische Höhe. In manchen Versuchen ist der Übergang zwischen Komponente C_1 und Komponente C_2 in der Potentialform deutlich zu erkennen (z.B. in Abb. 33), in anderen Versuchen wiederum (s. Abb. 31) wird nur eine Verbreiterung der Potentialform (Komponenten vermutlich maskiert) sichtbar. Letztlich treten - nach langem t_{DA} - mehrere Einzelereignisse auf, die als Überlagerung vieler einzelner Bumps zu verstehen sind und deren Zuordnung zu Komponenten unsicher ist. In allen Fällen aber konnte eine Beziehung der beiden unterschiedlichen Steigungen einerseits mit den beiden unterschiedlichen Kurvenverläufen von t_{max} und t_{lat} andererseits - gemessen in Abhängigkeit von der Dunkeladaptationszeit für die jeweilige criterion-response - beobachtet werden. Wie in Abb. 35 gezeigt, ist der Steigungsknick in der Dunkeladaptationskurve, der nach der Komponenten-

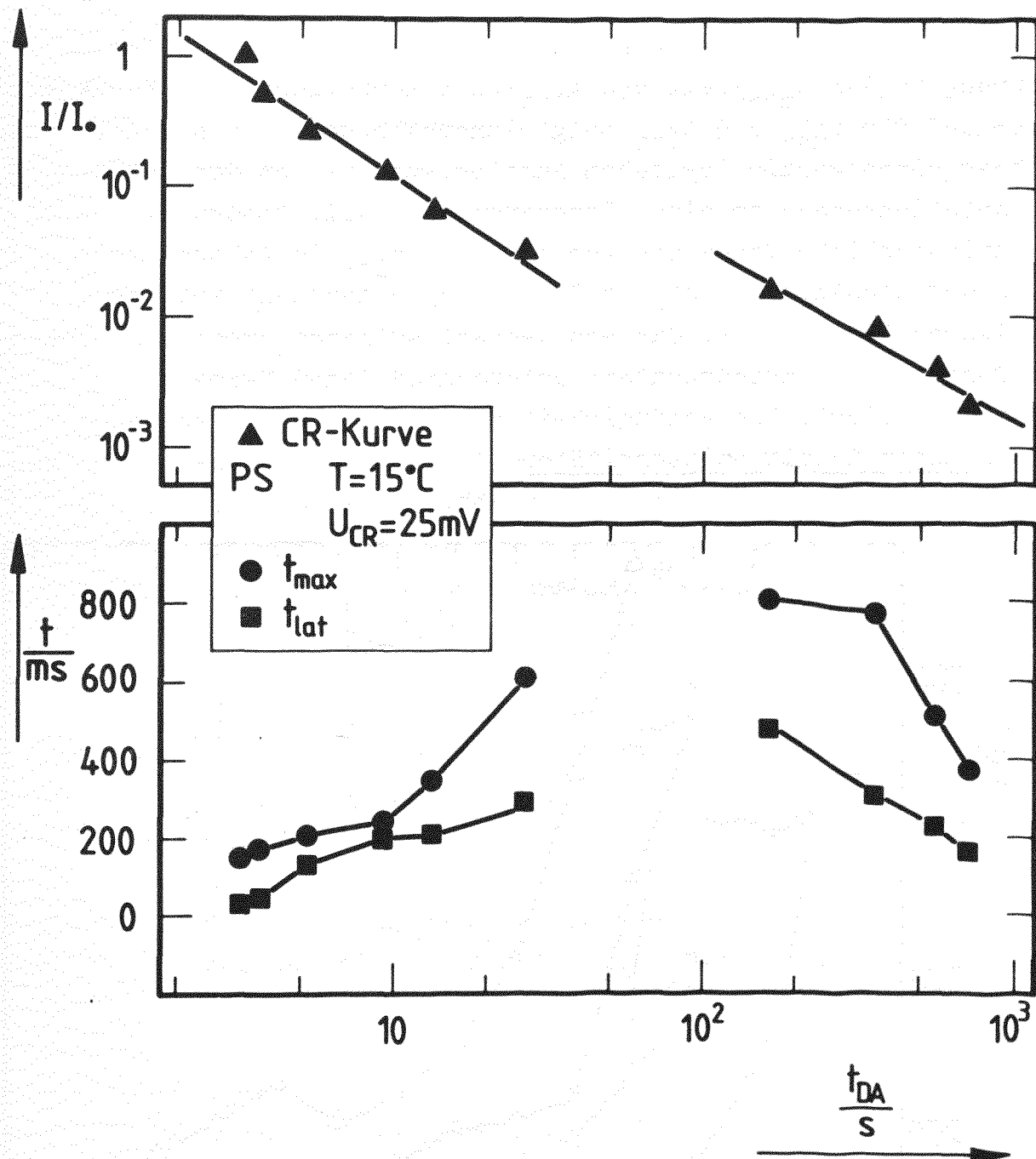


Abb. 35

Korrelation der Steigungen einer criterion-response-Kurve - im oberen Teil der Abbildung - mit den Zeiten t_{max} und t_{lat} - im unteren Teil der Abbildung - anhand des Versuchs C1001A (vgl. Abb. 33).

Die Zeiten t_{max} (Zeit bis zum Erreichen des Amplitudenmaximums, vorgegebene criterion response $U_{CR} = 25 \text{ mV}$) und t_{lat} (Zeit vom Reizbeginn bis zum Anstieg der criterion-response) nehmen mit t_{DA} und verminderter Lichtintensität im Verlauf der ersten Steigung kontinuierlich zu; im Bereich der zweiten Steigung werden beide Größen bei abnehmender Lichtintensität wieder kleiner.

Die beiden voneinander verschiedenen Kurvenverläufe korrelieren jeweils mit den beiden Komponenten C_1 und C_2 .

hypothese durch den Wechsel von C_1 zu C_2 erfolgt, mit dem Sprung in der $t_{\max}$ -Zeit und t_{lat} -Zeit korreliert. Der Kurvenverlauf für $t_{\max}$ und t_{lat} zeigt innerhalb der ersten Adaptationsphase einen kontinuierlichen Anstieg, von Beginn der zweiten Adaptationsphase an einen langsamen Abfall. Dieses diskontinuierliche Verhalten von $t_{\max}$ und t_{lat} in Abhängigkeit von der Lichtintensität und Dunkeladaptationszeit ist ein weiteres Indiz dafür, daß ein Wechsel zwischen zwei Komponenten erfolgt, deren Erzeugung ein unterschiedlicher Mechanismus zugrunde liegt. Die Abhängigkeit der t_{lat} -Zeit bei schwachen konstanten Reizlichtintensitäten (constant-stimulus-Kurven) von der Dunkeladaptationszeit ist in Abb. 36 wiedergegeben. Die

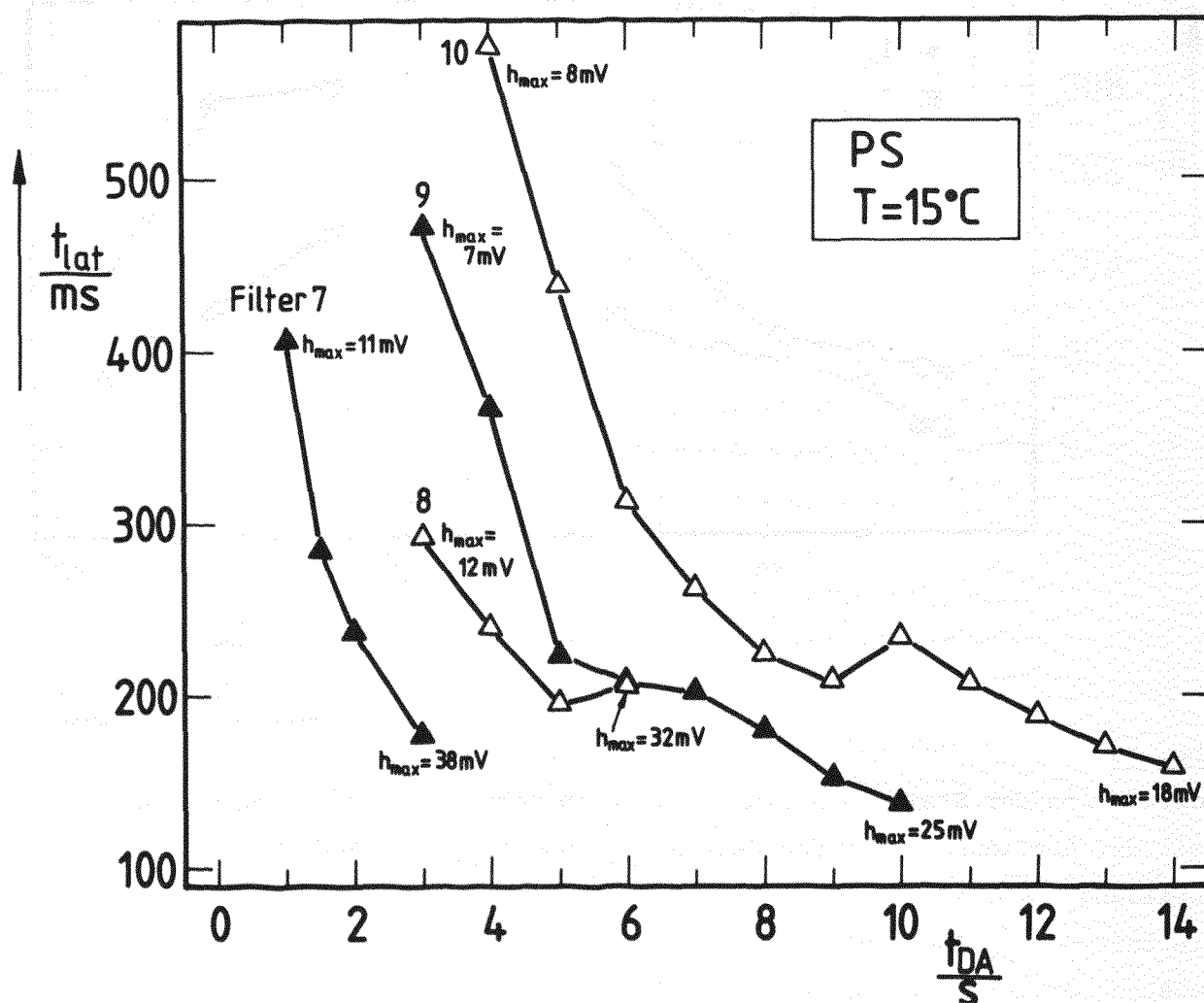


Abb. 36

Abnahme der Latenzzeit t_{lat} bei zunehmender Dunkeladaptationszeit t_{DA} für vier verschiedene constant-stimulus-Kurven am Beispiel des Versuchs C1005A.

Die Amplitudenhöhen $h_{\max}$ nehmen mit der Dunkeladaptationszeit zu; jeweils erster und letzter Wert für $h_{\max}$ ist angegeben.

Latenzzeit wurde bei zunehmender Dunkeladaptation verkürzt, gleichzeitig mit der Erhöhung der Amplitude $h_{\max}$. Dies steht im Gegensatz zu dem von Millecchia und Mauro (1969) und Brown und Lisman (1975) beschriebenen Effekt, daß eine dunkel-adaptierte Zelle ein größeres t_{lat} als eine helladaptierte Zelle aufweist.

Bei hohen konstanten Lichtintensitäten hingegen war die Latenzzeit stärker von der Höhe des Lichtreizes abhängig und änderte sich nicht wesentlich bei zunehmender Dunkeladaptationszeit.

4.6 Messungen mit der Saugelektrode

Mit der Saugelektrode wurden 10 Versuche durchgeführt - teilweise gleichzeitig mit intrazellulärer Messung - in denen die Veränderung der Potentialform bei unterschiedlichen Lichtintensitäten untersucht wurde. Bei dieser Methode wurden bestimmte Bereiche der Photorezeptorzelle mit Hilfe der Saug-elektrode, die einen Innendurchmesser von 10 - 20 μm aufwies, angesaugt. Die elektrophysiologische Ableitung erfolgte durch Messung der extrazellulären Ströme, die als Spannungsabfall über dem Shuntwiderstand (s. Schema, Abb. 37) sichtbar werden. Exakt fällt die Spannung über dem Innenwiderstand des Meßverstärkers und dem hierzu parallel liegenden Shuntwiderstand ab. Solange aber der Innenwiderstand des Meßverstärkers ($R_i = 100 \text{ M}\Omega$) wesentlich größer ist als der Shuntwiderstand ($R_{\text{Sh}} = 0,2-1 \text{ M}\Omega$) kann er bei dieser Betrachtung vernachlässigt werden.

Bei der üblichen extrazellulären Meßmethode, bei der über zwei extrazellulär angebrachte Elektroden das elektrische Feld während des Erregungsablaufs in einer Zelle oder einem Zellverband abgegriffen wird (s. z. B. Creutzfeld und Probst, 1974 und Richter, 1979), ist der Membranwiderstand wesentlich größer als der Shuntwiderstand (vgl. ERG-Messungen, Stieve, Bruns und Gaube, 1978 und Stieve und Claßen-Linke, 1980). Durch Isolierung mit Saccharose (s. sucrose-gap-Methode, Stämpfli, 1954 und Julian et al., 1962) oder mit Hilfe der Saugelektrodenteknik (Lee, Akaike und Brown, 1978) jedoch kann der Shuntwiderstand bei manchen biologischen Präparaten über den Wert des Membranwiderstands erhöht werden. Eine gute Abdichtung zwischen angesaugter Membran und der hydrophobisierten Glaswand der Saug-

pipette ist nur bei Zellen möglich, die eine glatte Oberfläche aufweisen. Am Limulus-Photorezeptor konnte - genauso wie am Aplysia-Neuron (s. Lee, Akaike und Brown, 1980) wegen der starken Membraneinfaltungen und der kompletten Gliabedeckung - keine gute Abdichtung erzielt werden. Dagegen ist es bei Zellen mit einer glatten Oberfläche z. B. an "myoballs"

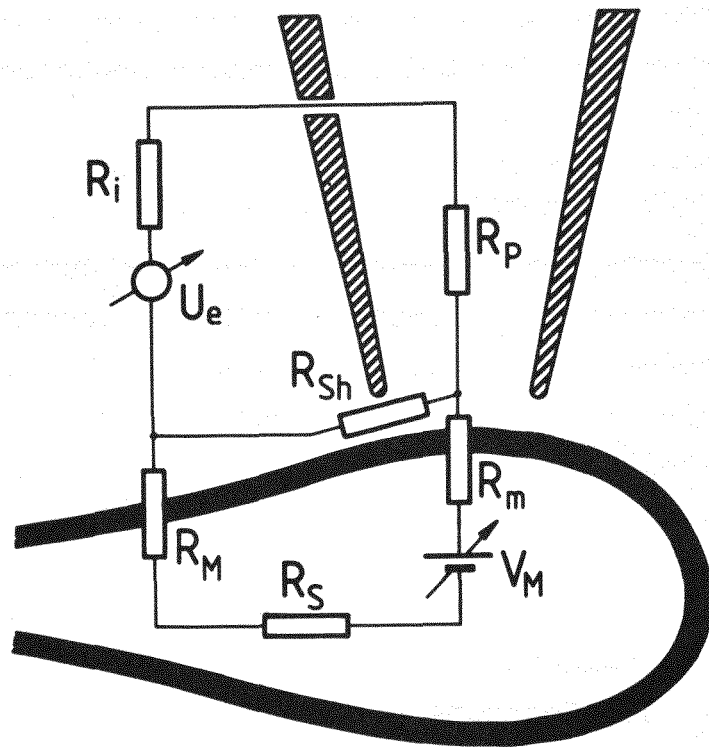


Abb. 37

Schematische Darstellung der Widerstandsverhältnisse bei extrazellulärer Ableitung mit Hilfe der Saugpipette am Ventralnerv-Photorezeptor.

R_M = Eingangswiderstand der Membran (2-5 M Ω)

V_M = Membranspannung

R_S = Serienwiderstand (7-24 K Ω)

R_m = Widerstand des angesaugten Membranbereichs $\frac{R_{spez}}{\text{Fläche}} = 1 - 5 \text{ G}\Omega$
($R_{spez} = \text{Oberfläche der Zelle} \times R_M$)

R_{Sh} = Shuntwiderstand (0,2-1 M Ω)

R_p = Widerstand der Saugpipette (100-500 K Ω)

R_i = Innenwiderstand des Meßverstärkers (100 M Ω)

U_e = registrierte Spannung

Aufgrund der vorliegenden Widerstandsverhältnisse konnte nur etwa 1/20 bis 1/50 der tatsächlichen Membranspannung V_M als U_e gemessen werden.

(Horn und Brodwick, 1980), *Helix aspersa*-Neuronen und einzelnen Herzmuskelzellen (s. Lee, Akaike und Brown, 1980) möglich, durch eine gute Abdichtung den Shuntwiderstand entsprechend, d.h. auf 100-200 M Ω (= 10 x R_M), zu erhöhen.

In den hier durchgeführten Versuchen wurde infolge der Spannungsteilung zwischen Membran- und Shuntwiderstand etwa 1/20 - 1/50 des tatsächlichen Spannungsabfalls gemessen (s. Abb. 37 und 38). Es wurden sowohl positive wie auch negative Signale registriert (vgl. Abb. 38). Auch an ein und derselben Photorezeptorzelle konnten in Abhängigkeit von der Position der Saugelektrode auf der Zelle entweder positive oder negative Signale gemessen werden. Es wurde überprüft, ob die Photorezeptorzelle eine Polarität aufwies, die das Auftreten positiver und negativer Signale in Abhängigkeit von der Position der Saugelektrode erklären würde.

In 22 von 31 Ableitungen wurden negative Signale und in 9 Fällen positive Potentiale gemessen. Die Ableitung erfolgte bei den 22 negativ gemessenen Signalen in 14 Fällen an einer Stelle des Photorezeptors, die proximal zum Axon lag, in 2 Fällen in der Zellmitte und in 6 Fällen distal. Bei den 9 positiv gemessenen Signalen, wurde in 6 Fällen von der distalen, in 3 Fällen von der proximalen (Axon) Seite her abgeleitet. Eine Signifikanz für die Polarität der Photorezeptorzelle konnte anhand dieser Messungen nicht aufgezeigt werden.

Ein negatives Signal entspricht bei der extrazellulären Meßmethode einem Einwärtsstrom von positiven Ionen unter der Saugelektrode; ein positives Potential einem Auswärtsstrom positiver Ionen unter der Saugelektrode. Bei Belichtung erfolgt am Limulus-Ventralnerv-Photorezeptor ein Na⁺-Einwärtsstrom (s. Millecchia und Mauro, 1969) durch die sog. 'Lichtkanäle', die sich vermutlich dort befinden, wo auch das Rhodopsin eingelagert ist, nämlich in der Mikrovillimembran. Das Auftreten positiver und negativer Signale kann folgendermaßen erklärt werden:

- es werden dann mit der Saugelektrode negative Potentiale gemessen - die einem Na⁺-Einwärtsstrom entsprechen - wenn mit der Saugelektrode über dem lichtempfindlichen Mikrovilli-

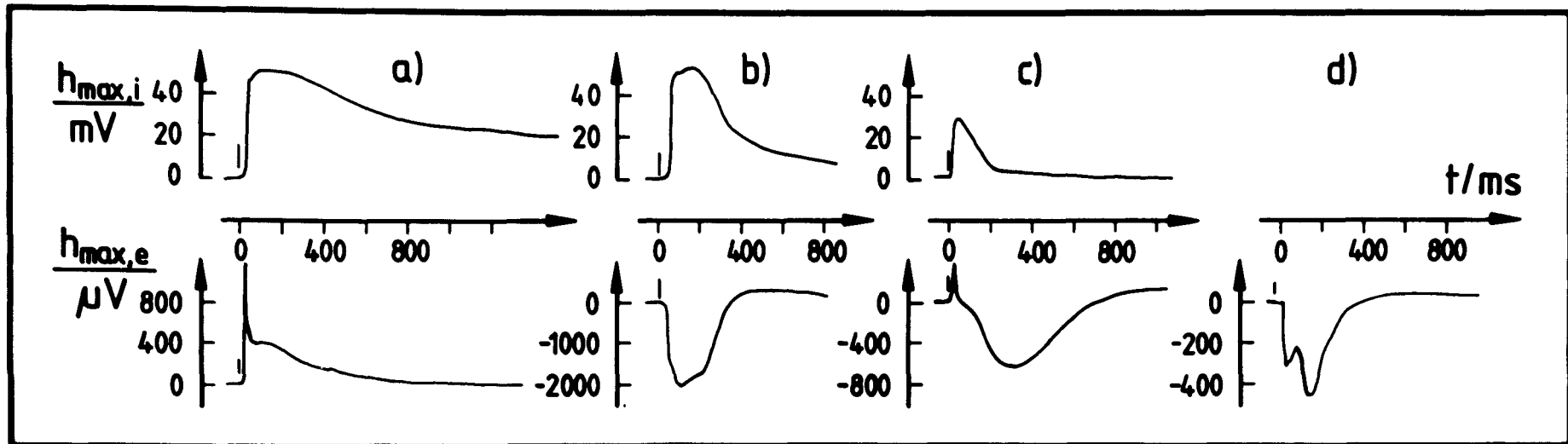


Abb. 38

Extrazellulär registrierte Potentialformen ($h_{\max, e}$), aus unterschiedlichen Versuchen. In a) b) und c) wurde simultan das intrazelluläre Potential ($h_{\max, i}$) an der gleichen Zelle gemessen.

bereich, an dem vermutlich der Na^+ -Einwärtsstrom erfolgt, abgeleitet wird.

- bei Ableitung über andere Bereiche, die im wesentlichen sog. 'Dunkelkanäle' - also K^+ -Kanäle - besitzen, dagegen werden positive Potentiale gemessen, die einem K^+ -Auswärtsstrom entsprechen.

Im Gegensatz zu den hier durchgeführten Lokalisationsbeobachtungen konnten Bacigalupo, Stern und Lisman (1981) - nach Behandlung der Zelle mit Pronase und Entfernung der Gliahülle mit Hilfe einer Saugelektrode - Hinweise dafür finden, daß sich die Photorezeptorzelle in 2 Teile gliedert:

- proximal zum Axon ist sie strukturiert
- distal zum Axon ist sie glatt.

Am strukturierten proximalen Teil der Zelle konnten sie extrazellulär im wesentlichen Auswärtsströme, im distalen Teil der Zelle sowohl Auswärts- wie Einwärtsströme messen.

In Abb. 38 sind typische extrazellulär registrierte Potentialformen wiedergegeben. Bei starken Reizlichtintensitäten konnte ein Spike gemessen werden, der meist als positives Signal registriert wurde - auch dann, wenn ein negatives langsames Potential folgte (Abb. 38c). Extrazellulär konnten auch die Komponenten C_1 und C_2 gemessen werden; sie waren in keinem Fall entgegengesetzt gepolt (s. Abb. 38d). Dies ist ein Hinweis dafür, daß die Komponenten vermutlich nicht an unterschiedlichen Membranbereichen erzeugt werden, im Gegensatz zum Spike, der anders als das Rezeptorpotential gepolt sein kann und vermutlich an einem anderen Membranbereich erzeugt wird.

In Abb. 39 ist eine Intensitätsreihe wiedergegeben, die intrazellulär und extrazellulär gleichzeitig gemessen wurde. Jede Minute wurde ein Testblitz gegeben, der fortlaufend in der Intensität um die Hälfte reduziert wurde. Der Spike verschwindet bei abnehmender Lichtintensität und ist bei starken Lichtintensitäten sowohl in der intrazellulären wie extrazellulären Messung sichtbar. Ab Filter 9 (in Abb. 39) treten intra- und extrazelluläre Komponenten auf, die bei der extrazellulären Registrierung stärker getrennt sind; das gleiche gilt für die bei Filter 11 aus Bumps zusammengesetzte Antwort.

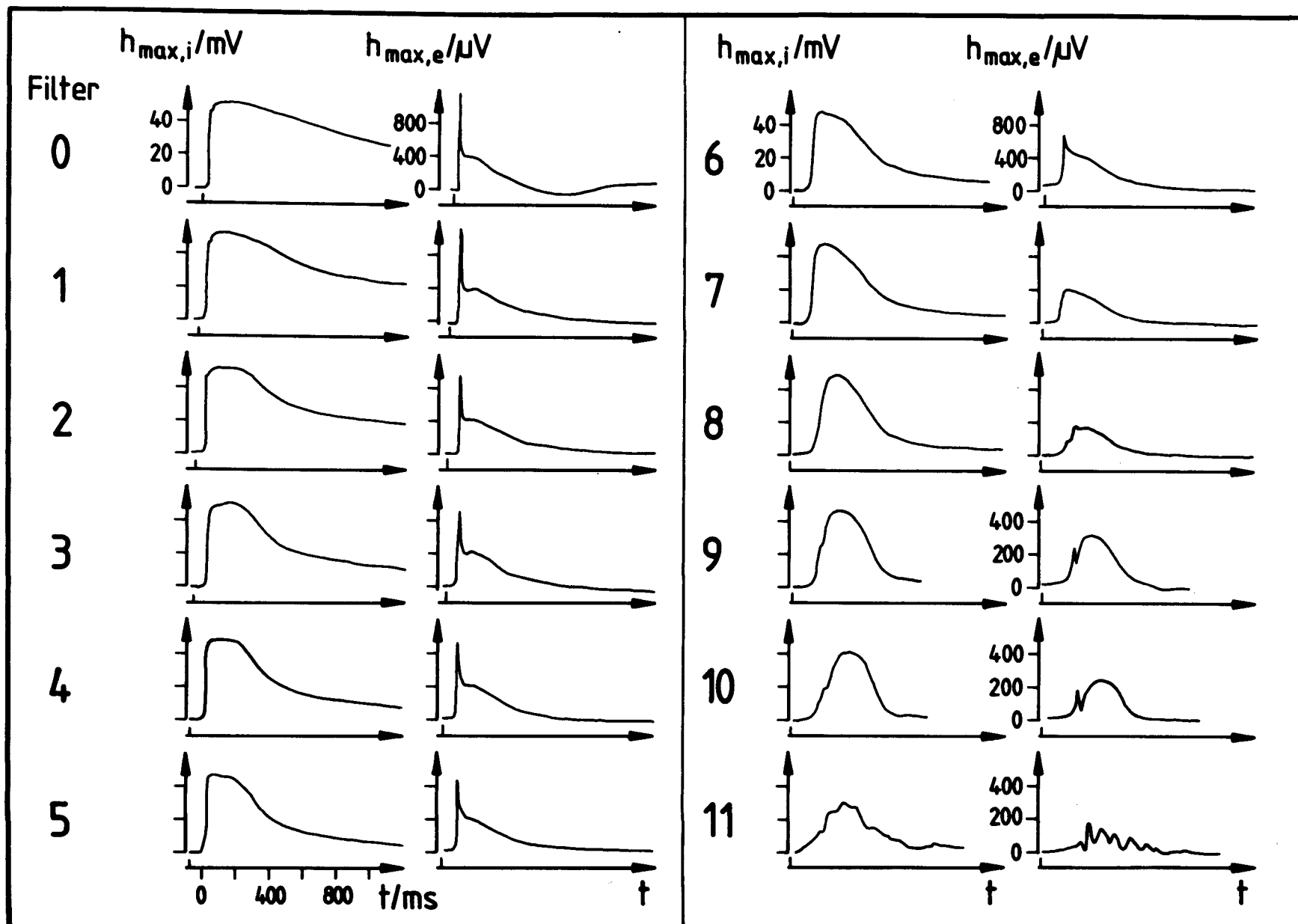


Abb. 39 (s. S. 74)

Intensitätsreihe intra- und extrazellulär gemessen.

$h_{\max, i}$ = Amplitudenhöhe des intrazellulär gemessenen Potentials

$h_{\max, e}$ = Amplitudenhöhe des extrazellulär gemessenen Potentials

Es wurde jede Minute ein Lichtblitz gegeben, der von Filter 0 bis Filter 11 jeweils um die Hälfte reduziert wurde. (Ab Filter 9 ist die Verstärkung für das extrazellulär registrierte Potential um den Faktor 2 erhöht).

4.7 Voltage-clamp-Messung

An einer Voltage-clamp-Apparatur wurden Strommessungen für verschiedene Lichtintensitäten und Dunkeladaptationszeiten bei konstanter Membranspannung durchgeführt, um die Abhängigkeit der Amplitudenhöhe von spannungsabhängigen Prozessen zu bestimmen. Es wurde eine criterion-response-Kurve an der freien Zelle - wie in Kap 3.1.2 beschrieben - aufgenommen. Zusätzlich wurde die Zelle - nach Ermittlung der beiden Parameter Reizlichtintensität I und Dunkeladaptationszeit t_{DA} für die vorgegebene criterion-response-Höhe - auf eine feste Membranspannung geklemmt (10 mV negativer als das Ruhepotential zum Aktivieren spannungsabhängiger Kanäle) und der Strom bei gleichem t_{DA} und I , wie für die Auslösung der U_{CR} , gemessen. Das Maximum und die Halbwertsbreite des lichtinduzierten Stroms wurde bei langem t_{DA} und geringen Lichtintensitäten größer, obwohl die Spannungsantwort, die an der freien Zelle bei gleicher Dunkeladaptationszeit und Reizlichtintensität gemessen wurde, dem Kriterium entsprechend die konstante Höhe U_{CR} aufwies. Für ein $U_{CR} = 46$ mV an der freien Zelle wurden für hohe Lichtintensitäten (bis Filter 4) Strommaxima von etwa 40 nA gemessen, für niedrige Lichtintensitäten (Filter 5-8) Strommaxima von etwa 80 nA (s. Abb. 40). Die zwei unterschiedlich hohen Strommaxima, für die an der freien Zelle gemessene gleiche Amplitudenhöhe U_{CR} , weisen wieder auf das Auftreten zweier Komponenten hin, die jeweils alternativ das Kriterium

der vorgegebenen Amplitudenhöhe erfüllen. Auch von Maaz et al., (1981) wurde für die zweite Komponente ein etwa 2-fach höherer Strom gemessen als es vom Verhältnis der Amplitudenhöhen der beiden Komponenten an der freien Zelle (1 : 1,2) zu erwarten war.

An der voltage-clamp-Apparatur konnten nach Vorhyperpolarisation auf -80 mV und anschließendem Zurückgehen auf die freie Zelle durch den schnellen Spannungssprung Spikes ausgelöst werden (s. Abb. 41). Hiermit konnte gezeigt werden, daß die Spikes rein spannungsabhängig - also auch ohne Licht - auslösbar sind.

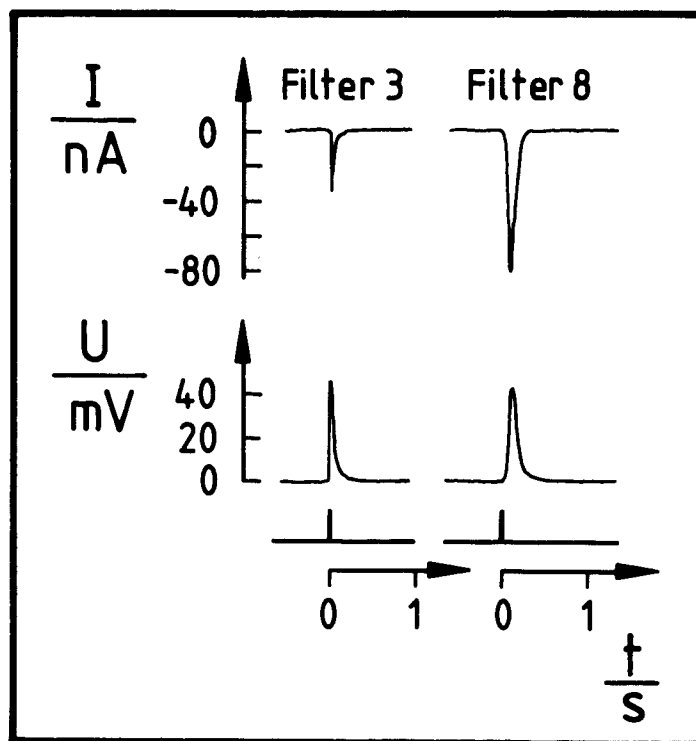


Abb. 40

Vergleich der bei unterschiedlichen Reizlichtintensitäten ausgelösten criterion-response in der freien Zelle, die annähernd gleiche Amplitudenhöhen U_{CR} aufwies, mit den unter den gleichen Bedingungen (d.h. gleiches t_{DA} und gleiche Reizlichtintensität I) gemessenen lichtinduzierten Strömen im voltage-clamp.

Geklemmte Membranspannung:

-60 mV (etwa 10 mV negativer als das Membranpotential im Dunkeln)

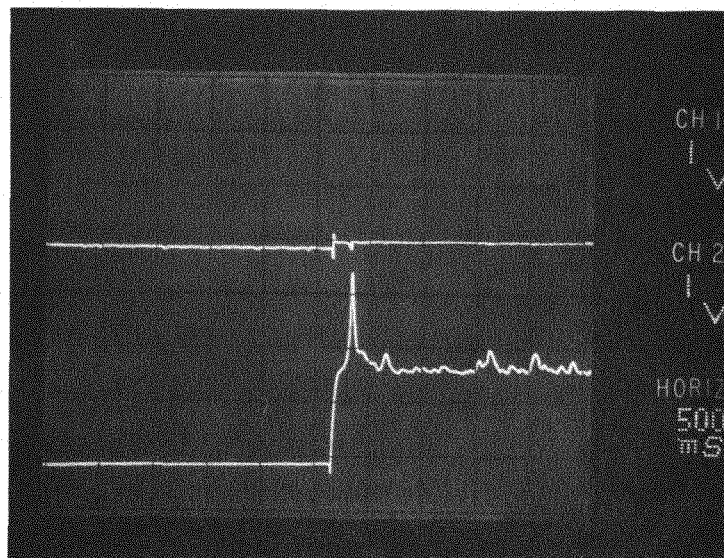


Abb. 41

Spikeauslösung ohne Licht durch einen Spannungssprung von -80 mV (= geklemmte Membranspannung) auf -50 mV (= Membranpotential der ungeklemmten Zelle im Dunkeln).

5. Diskussion und Literaturvergleich

5.1 Constant-stimulus-Kurve

Die Vergrößerung der Amplitudenhöhe in Abhängigkeit von der Dunkeladaptationszeit zeigt - für jeweils eine konstante Reizlichtintensität - unterhalb der Sättigung lineares Verhalten (vgl. constant-stimulus-Kurve, Abb. 15). Bei Versuchen, in denen regenerative Prozesse auftraten, ist in Abhängigkeit von der Dunkeladaptationszeit eine Diskontinuität in der Vergrößerung der Amplitudenhöhe zu erkennen - die Amplitudenerhöhung ist nicht linear, sondern erfolgt sprunghaft (s. Abb. 26). Ein vergleichbarer Effekt wurde von Benolken (1965) am Limulus Lateralauge gemessen. Die Diskontinuität in der Amplitudenhöhe hängt damit zusammen, daß bei Erreichen einer bestimmten Membranspannung ein Spike ausgelöst wird (s. Kap. 5.7). Die Steilheit der constant-stimulus-Kurven bei nichtregenerativen Versuchen wird durch die Höhe der Reizlichtintensität bestimmt und charakterisiert die Geschwindigkeit der Amplitudenerhöhung bei Dunkeladaptation; sie ist für hohe Reizlichtintensitäten (s. Abb. 15) am größten. Zwischen den jeweils in low und high Ca^{2+} ermittelten constant-stimulus-Kurvenscharen (s. Kap. 4.2) konnte im Vergleich zu denjenigen in PS kein Unterschied in der Steilheit und damit in der Geschwindigkeit der Amplitudenerhöhung bei Dunkeladaptation beobachtet werden.

5.2 Criterion-response-Kurve

Um die Empfindlichkeitsänderung der Photorezeptorzelle bei Dunkeladaptation exakter zu bestimmen, wurde nicht die Amplitudenhöhe als Funktion der Zeit gemessen, sondern die Lichtintensität, die zur Auslösung einer vorgegebenen Amplitudenhöhe benötigt wurde in Abhängigkeit von der Dunkeladaptationszeit als Maß für die Empfindlichkeit der Lichtsinneszelle. Die gleiche Methode einer criterion-response Messung wird z. B. auch bei Aufnahme der spektralen Empfindlichkeit verwandt (s. Armington, 1974). Von Benolken (1962) wurden am Limulus Lateralauge sog. constant-response-Kurven gemessen (diese Bezeichnung wurde hier nicht übernommen, da nur die Amplitudenhöhe konstant

war, aber keineswegs die Form der Potentiale (s. Abb. 31)). Nach Benolken nimmt die Empfindlichkeit einer einzelnen Retinulazelle des Limulus LateralAuges als monotone Funktion der Zeit zu, im Gegensatz z. B. zum Adaptationsverhalten am ganzen Vertebratenauge (ERG-Messung), bei dem eine Diskontinuität beim Übergang vom photopischen Rezeptorsystem (Tagessehen; Zapfen) zum skotopischen (Dämmerungssehen; Stäbchen) auftritt. Für relativ kurze Dunkeladaptationszeiten (bis 160 s) wurde der Zeitverlauf der Dunkeladaptation von Eckert (1979) nach Daten von Benolken (1962) als exponentieller Abfall gedeutet, der mit dem Abbau der intrazellulären Calciumkonzentration korreliert. Von Fein und De Voe (1973) wurden criterion-response-Messungen am Limulus Ventralnerv-Photorezeptor mit einer vorgegebenen Amplitudenhöhe von 4 mV als Kriterium durchgeführt, um die Beziehung des photochemischen Zyklus zur Dunkeladaptation zu untersuchen. Der Dunkeladaptationsverlauf wurde als Summe zweier Exponentialfunktionen interpretiert (Zeitkonstanten: $\tau_1 = 20$ s; $\tau_2 = 270$ s). Sowohl Benolken als auch Fein und De Voe finden keine Veränderung des Dunkeladaptationsverlaufs in Abhängigkeit von der Höhe der criterion-response. In den hier beschriebenen Versuchen konnte ebenfalls kein Effekt auf den Dunkeladaptationsverlauf durch die Wahl von U_{CR} festgestellt werden. Um die Aufnahme der criterion-response Kurve deutlich von dem Bereich, in dem spontane Bumps im Dunkeln auftreten, abzutrennen, wurde die criterion-response Höhe U_{CR} als $\frac{U_{HA}}{2}$ gewählt, was etwa der Halbsättigung der Lichtantwort entsprach. Durch die Wahl eines relativ großen Amplitudenwertes für U_{CR} konnten deutlich Komponenten aufgelöst werden, deren Auftreten in Korrelation mit den zwei unterschiedlich schnellen Adaptationsprozessen steht (s. Kap. 5.4). In allen hier gemessenen Dunkeladaptationskurven konnten zwei Adaptationsprozesse unterschieden werden, die für die relativ schlechte Anpassung an zwei Exponentialfunktionen * im Mittel eine Zeitkonstante von: $\tau_1 = 5,5$ s und $\tau_2 = 287$ s

*Das sog. Peeling-off-Verfahren, das zur Trennung von zwei sich überlagernden Exponentialfunktionen benutzt wird, wurde hier nicht angewandt, da es additive Prozesse voraussetzt.

lieferten (s. Kap. 4.1.2). Für die Anpassung an zwei Potenzfunktionen wiesen die Dunkeladaptationskurven im Mittel einen Regressionskoeffizienten $\underline{b}$ als Maß für die Steigung von $\underline{b}_1 = 3,5$ und $\underline{b}_2 = 1,0$ auf. Eine Erklärung für die bessere Anpassung durch zwei Potenzfunktionen als durch zwei Exponentialfunktionen liegt zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht vor. Prinzipiell drückt eine Potenzfunktion einen komplizierten Zusammenhang der Meßwerte aus (wie z. B. Kooperativität von Prozessen, s. Hill-Diagramm, Adam, Läuger, Stark, 1977) im Gegensatz zu Exponentialfunktionen, die Reaktionen 1. Ordnung charakterisieren, wie z. B. radioaktiven Zerfall oder thermischen Zerfall chemischer Verbindungen. Die Tatsache, daß sich der Dunkeladaptationsverlauf nicht befriedigend an Exponentialfunktionen anpassen läßt (s. Abb. 18), ist ein Hinweis dafür, daß ein so komplexer Prozeß wie die Adaptation, die eine Kontrollwirkung auf den Verstärkungsmechanismus ausübt und eine Feinstregulierung der Empfindlichkeit über einen weiten Bereich ermöglicht, nur über einen aufwendigeren mathematischen Formalismus beschrieben werden kann.

5.3 Der Einfluß der extrazellulären Calciumkonzentration auf den Dunkeladaptationsverlauf

Qualitativ änderte sich das Bild einer criterion-response-Kurve mit zwei unterschiedlichen Phasen bei Änderung der extrazellulären Ca^{2+} -Konzentration nicht. Quantitativ hingegen wurde sowohl bei Erniedrigung wie auch Erhöhung der extrazellulären Ca^{2+} -Konzentration der erste schnelle Adaptationsprozeß beeinflusst, während der langsame Adaptationsprozeß nur geringfügig verändert wurde. In low Ca^{2+} war eindeutig eine Erhöhung der Empfindlichkeit der Photorezeptorzelle zu erkennen, sichtbar als Verschiebung zu kürzeren Dunkeladaptationszeiten (in der Exponentialfunktion charakterisiert durch $\alpha = \frac{I}{I_0}$ ($t_{\text{DA}} = 0$); in der Potenzfunktion charakterisiert durch $a = \frac{I}{I_0}$ ($t_{\text{DA}} = 1$); vgl. Abb. 12, sowie Tab. II und III). In high Ca^{2+} dagegen konnte eine Erniedrigung der Empfind-

lichkeit beobachtet werden. Während deutlich zwei verschiedene Zeitkonstanten in der Exponentialfunktionsanpassung und zwei unterschiedliche Steigungen in der Potenzfunktionsanpassung für die 1. und 2. Phase des Dunkeladaptationsverlaufs abzulesen sind, ist es schwierig, über die Geschwindigkeitsänderung bei veränderter extrazellulärer Ca^{2+} -Konzentration eine Aussage zu treffen:

- zwar wird τ_1 im Mittel für die erste Regressionsgerade in low Ca^{2+} größer und in high Ca^{2+} kleiner, während τ_2 im Mittel nicht signifikant verändert wird (s. Tab. III), doch ist der mittlere Fehler des Mittelwertes $s_{\bar{x}}$ relativ groß und die Anpassung an die Exponentialfunktion nicht zufriedenstellend.
- Zwar wird der Exponent b , der die Steigung der Regressionsgeraden im doppeltlogarithmischen Maßstab ausdrückt, in low Ca^{2+} im Mittel auf 1,7 erniedrigt (gegenüber dem Mittelwert in PS von 3,5) und in high Ca^{2+} auf 4,7 erhöht (s. Kap. 4.2), aber eine eindeutige Aussage über die Geschwindigkeitsänderung läßt nur die Größe $\tilde{\tau}$ zu ($\tilde{\tau} = \frac{b}{t_{\text{DA}}}$; vgl. schematische Gegenüberstellung, Abb. 12).
 $\tilde{\tau}$ liefert auf gleiche Zeitintervalle bezogen mit τ vergleichbare Werte.

Von Stieve und Hanani (1976) wurde am Flußkrebis *Astacus* eine constant-stimulus-Kurve in PS und in low Ca^{2+} gemessen. Die Ergebnisse zeigten eine Verschiebung der in low Ca^{2+} gemessenen Kurve zu kürzeren Dunkeladaptationszeiten - übereinstimmend mit den hier durchgeführten Versuchen.

Das gleiche Ergebnis wurde für die am *Limulus* Ventralnerv-Photorezeptor in low Ca^{2+} gemessene constant-stimulus-Kurve (Stieve, Bruns, Pflaum und Gaube, 1978) ermittelt. Die Interpretation, daß der Dunkeladaptationsprozeß demnach in low Ca^{2+} schneller als in PS verläuft, bezieht sich nur auf die Verschiebung der beiden Kurven (hier durch a oder α charakterisiert), die die Empfindlichkeit der Zelle kennzeichnet. Eine Aussage über die Geschwindigkeitsänderung des Dunkeladaptationsverlaufs erlauben diese Versuche nicht und widersprechen insofern auch nicht den hier gemessenen Effekten.

Hypothese:

Calciumionen, die bei intrazellulärer Erhöhung (Lisman und Brown, 1972, 1975b) die Empfindlichkeit der Photorezeptorzelle herabsetzen, beeinflussen nur den ersten Teil des Dunkeladaptationsverlaufs, in dem die Photorezeptorzelle sich durch die kurzen Dunkeladaptationszeiten und hohen Reizlichtintensitäten in einem relativ helladaptierten Zustand befindet.

Ca^{2+} -Ionen werden nach dem Lisman-Brown-Mechanismus (1972) licht-induziert intrazellulär erhöht (s. auch Nachweis der intrazellulären Ca^{2+} -Erhöhung durch Arsenazo III-Messungen, Brown und Blinks, 1974; J.E. Brown et al., 1977; Maaz und Stieve, 1980). Über die Erhöhung der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration setzt die sog. Lichtadaptation, d.h. Desensitivierung der Lichtsinneszelle ein.

Der zweite Adaptationsmechanismus wird von Ca^{2+} -Ionen nur geringfügig beeinflusst, da im relativ dunkeladaptierten Zustand - wie er für den zweiten Teil des Dunkeladaptationsverlaufs besteht - durch die geringen Reizlichtintensitäten die intrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration nicht signifikant erhöht und dadurch die Photorezeptorzelle nicht desensiviert wird.

Das Ergebnis, daß ein Ca^{2+} -Einfluß im wesentlichen bei der ersten schnellen Adaptationsphase festzustellen ist, liefert eine Erklärung für die Versuche von Stieve et al. (1977), Stieve und Pflaum (1978a) und Stieve und Bruns (1980).

Bei Messung der Intensitätskennlinien für zwei verschiedene Adaptationszustände nämlich ist die Empfindlichkeit (gemessen als Reizlichtintensität I_{50} , die Halbsättigung der Lichtantwort hervorruft) des dunkeladaptierten Photorezeptors praktisch nicht von der extrazellulären Ca^{2+} -Konzentration abhängig. Das Ausmaß der lichtadaptationsbedingten Empfindlichkeitsabnahme jedoch ist stark von der extrazellulären Ca^{2+} -Konzentration beeinflusst.

In Übereinstimmung mit diesem Ergebnis stehen auch die Versuche von Nagy und Stieve (1981): bei Messung der Zunahme der Rezeptorpotentialhöhe nach helladaptierender Belichtung und gleichzeitiger Messung der Änderung der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration mit dem Ca^{2+} -Indikator Arsenazo III sind zwei Phasen der Amplitudenerhöhung während des Dunkeladaptationsverlaufs zu erkennen. Nur die erste Dunkeladaptationsphase korreliert mit der Abnahme der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration,

d.h. nur in der ersten Phase wird über Ca^{2+} -Ionen die Empfindlichkeitserhöhung kontrolliert.

Aufgrund der Feststellung, daß der Prozeß der Helladaptation grundsätzlich verschieden von dem der Dunkeladaptation ist, folgerten Fein und DeVoe (1973), daß Ca^{2+} -Ionen diese beiden Prozesse unterschiedlich beeinflussen müßten. Dies wird durch die hier beschriebenen Versuche voll bestätigt.

5.4 Korrelation zwischen dem Übergang der beiden Adaptationsprozesse und dem Auftreten zweier Komponenten

Beim Übergang vom schnellen zum langsamen Adaptationsprozeß war eine deutliche Veränderung der Potentialform der criterion-response zu erkennen (s. Abb. 34), und zwar wurden die Gipfelzeiten $t_{\max}$ und die Halbwertsbreite des Potentials größer. Ein vergleichbarer Effekt zeigte sich bei der voltage-clamp-Messung für den Stromverlauf. In einigen Versuchen konnte ein Wechsel zwischen zwei Komponenten C_1 und C_2 (s. Abb. 33) direkt beobachtet werden. Wenn dieser Komponentenwechsel auch nicht in allen Versuchen deutlich zu erkennen war, so deutet doch die Unstetigkeit in der $t_{\max}$ und t_{lat} -Kurve (s. Abb. 35), - die beim Übergang von der schnellen zur langsamen Adaptationsphase in allen Versuchen beobachtet werden konnte - darauf hin, daß ein Komponentenwechsel auch in den übrigen Versuchen erfolgt, nur nicht immer erkennbar an einem Potential in Erscheinung tritt. Fein und DeVoe (1973) konnten ebenfalls eine Verlängerung der Latenzzeit für die criterion-response, die im dunkeladaptierten Zustand ermittelt wurde, feststellen. Fuortes und Hodgkin (1964) ermittelten hingegen am Limulus Lateralauge im dunkel- und helladaptierten Zustand für eine criterion-response den gleichen zeitlichen Potentialverlauf.

Wie schon in Kap. 4.5 angedeutet, lassen die Ergebnisse folgende Schlüsse zu:

Die beiden unterschiedlich schnellen Dunkeladaptationsphasen spiegeln das Verhalten der beiden Potentialkomponenten C_1 und C_2 wieder, deren Auftreten durch unterschiedliche Empfindlichkeit nach Helladaptation und unterschiedliche Fähigkeit zur Dunkeladaptation bestimmt wird. Nur die erste Komponente C_1 wird

in ihrer Höhe unmittelbar durch die intrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration gesteuert. Die zweite Komponente C_2 wird, da im dunkeladaptierten Zustand ermittelt, in ihrer Höhe nicht mehr durch die relativ geringe intrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration beeinflusst. Der zeitliche Potentialverlauf der Komponente aber wird verlängert - sichtbar an der Verbreiterung des Potentials. Eine extrazellulär erniedrigte Ca^{2+} -Konzentration hat auf die Potentialform einen vergleichbaren Effekt (s. Abb. 32).

Das Auftreten von Komponenten im Rezeptorpotential ist von verschiedenen Autoren an unterschiedlichen Objekten beschrieben worden (am *Limulus Lateralauge* von Wulff und Müller (1973), an *Hermisenda crassicornis* von Detwiler (1976), an *Sepiolo atlantica* von Clark und Duncan (1978), an *Astacus leptodactylus* von Stieve und Claßen-Linke (1980) und am *Limulus Ventralnerv-Photorezeptor* von Millecchia und Mauro (1969), Wulff und Fahy (1979) und Maaz, Nagy, Stieve und Klomfaß (1981)).

Eine mögliche Erklärung für das Auftreten zweier Komponenten mit unterschiedlichem Adaptationsverhalten ist die Annahme zweier verschiedener Lichtkanäle mit unterschiedlicher Ionen-selektivität. Dieser Erklärung folgen Wulff und Fahy (1979), die einen Unterschied im Umkehrpotential C_1 ($\approx +20$ mV) und C_2 ($\approx +10$ mV) feststellten (als Polaritätsumkehr des Potentials im Current-clamp gemessen).

Dagegen wurde von Maaz, Nagy, Stieve und Klomfaß (1981) im Voltage-clamp für beide Komponenten ein annähernd gleiches Umkehrpotential ermittelt, was im Gegensatz zu Wulff und Fahy (1979) auf die gleiche Ionenselektivität für die licht-aktivierten Ionenkanäle beider Komponenten hinweist. Ebenso konnten Millecchia und Mauro (1969b) keinen Unterschied im Umkehrpotential für die bei langen Lichtreizen auftretenden zwei Phasen - den Transient und das Plateau - feststellen. Durch Ionensubstitutionsexperimente unter Voltage-clamp Bedingungen konnten sie nachweisen, daß der lichtinduzierte Strom im wesentlichen auf einem Na^+ -Einstrom beruht. Von O'Day und Lisman (1980) wurde ein zusätzlicher Na^+ - Ca^{2+} -Einstrom beschrieben, der durch Depolarisation nach einem Lichtreiz spannungsabhängig ausgelöst wird. Vermutlich hängt dieser Einstrom mit der Spikeer-

zeugung zusammen. Nach Wulff und Fahy (1979) wird die Komponente C_1 (auch als initial spike-like component bezeichnet) durch einen Na^+ - Ca^{2+} -Einstrom, die Komponente C_2 hingegen vorwiegend durch einen Na^+ -Einstrom erzeugt. Aus ihrer Beschreibung ist nicht eindeutig zu entnehmen, ob es sich bei der Komponente C_1 um eine spikeähnliche, rein spannungsabhängige Komponente handelt. Es ist fraglich, ob sie mit der hier als C_1 bezeichneten spannungsunabhängigen Komponente - da auch unter Voltage-clamp-Bedingungen im Strom gemessen (s. Maaz, Nagy, Stieve und Kломfaß (1981) - gleichzusetzen ist.

Eine andere Erklärungsmöglichkeit für das Auftreten von Komponenten, die aufgrund der hier durchgeführten Versuche und der Untersuchungen von Maaz et al. (1981) plausibler erscheint, ist die Annahme von lichtaktivierten Ionenkanälen gleicher Ionenselektivität, die nur unterschiedlich angesteuert werden, je nach Höhe der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration. Die intrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration könnte demnach unter Verstellung der Empfindlichkeit die Anzahl und Synchronisation der durch einen Lichtreiz geöffneten Kanäle bestimmen. Von einer bestimmten intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration an (Schwelleneffekt) würde ein anderer Verstärkungsmechanismus einsetzen.

5.5 Bumps

Als 'Bumps', 'slow potential fluctuations' oder 'discrete waves' werden die Elementarerregungen der Membran bezeichnet, die bei niedrigen Lichtintensitäten beobachtet werden. In den hier durchgeführten Versuchen traten sie nach langen Dunkeladaptationszeiten spontan auf. Die bei geringen Reizlichtintensitäten ausgelöste criterion-response ließ einzelne Bumps erkennen (s. Abb. 13), die sich zum resultierenden Potential aufsummierten.

Bumps werden nach Fuortes und O'Bryan (1972) durch einzelne Photonen ausgelöst. Bei stärkerer Belichtung überlagern sich die Bumps, wobei Dauer und Höhe der Einzelereignisse abnehmen, (s. adapting bump model, Dodge, Knight und Toyoda, 1968) und formen schließlich den typischen Verlauf eines Rezeptorpotentials.

Bumps variieren in ihrer Größe, abhängig vom Adaptationszustand, d.h. bei leichter Erhöhung der Lichtintensität werden sie

graduell vergrößert, bei stärkerer Belichtung wird die Bump-höhe reduziert. Das Auftreten zweier unterschiedlich großer Bumptypen wurde von Adolph (1964) am *Limulus* Lateralauge und von Yeandle und Spiegler (1973) und Behbehani und Srebro (1974) am *Limulus* Ventralauge beschrieben. Von Behbehani und Srebro (1974) konnten große und kleine Bumps im geclampton und ungeclampton Zustand der Zelle gemessen werden; kleine Bumps ($U \approx 2$ mV; $I \approx 0,5 - 1$ nA) traten nach Behbehani und Srebro (1974) in Übereinstimmung mit Yeandle und Spiegler (1973) öfter spontan auf, große Bumps ($U \approx 25$ mV; $I \approx 4-5$ nA) häufiger nach Lichtreiz. Von Bayer und Barlow (1978) konnten dagegen nur im ungeclampton Zustand der Zelle zwei Arten von Bumps gemessen werden - ein Hinweis für 'regenerative' Bumps - die durch Aktivierung spannungsabhängiger Kanäle erzeugt werden. Da aber Behbehani und Srebro (1974) sowohl im Strom wie auch in der Spannung zwei unterschiedliche Bumpgrößenverteilungen messen konnten, ist das Auftreten großer Bumps nicht allein spannungsabhängig. Die beiden verschiedenen Bumptypen können die Grundlage für das Auftreten der ebenfalls nicht spannungsabhängigen Rezeptorpotentialkomponenten bilden. Bei den Rezeptorpotentialkomponenten wurde die erste Komponente C_1 hinsichtlich ihrer Höhe stärker durch die extrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration beeinflusst. C_1 trat bevorzugt im relativ helladaptierten Zustand der Zelle auf. Auch bei den Bumps konnte eine besonders starke Beeinflussung durch die extrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration im relativ helladaptierten Zustand der Zelle festgestellt werden (s. Stieve und Bruns, 1980).

5.6 Hyperpolarisation nach starker Helladaptation und die Wirkung der elektrogenen Pumpe

Nach den starken helladaptierenden Lichtreizen trat vorübergehend eine Hyperpolarisation auf, die entweder durch eine vorübergehende Permeabilitätserhöhung für K^+ -Ionen oder, was wahrscheinlicher ist, durch die Tätigkeit einer elektrogenen Ionenpumpe (s. Koike, Brown und Hagiwara, 1971; Stieve, 1965; Wulff, Stieve und Fahy, 1975; Brown und Lisman, 1972) bewirkt wird. Die elektrogene Ionenpumpe wird durch hohe intrazelluläre Na^+ -Konzentration (s. Thomas, 1972) angeregt (z. B. als Folge eines starken Lichtreizes oder häufiger Reizung). Das

Dunkelpotential wird dadurch negativer, daß die elektrogene Ionenpumpe mehr Na^+ -Ionen von innen nach außen als K^+ -Ionen von außen nach innen transportiert (Kopplungsverhältnis $3 \text{ Na}^+ : 2 \text{ K}^+$, s. Thomas, 1972). Die extrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration scheint einen Einfluß auf die elektrogene Ionenpumpe zu haben, und zwar konnte bei Erhöhung der extrazellulären Ca^{2+} -Konzentration auf 40 mmol/l eine Depolarisation des Dunkelpotentials - relativ zu PS - und eine stärkere Hyperpolarisation - relativ zu PS - in low Ca^{2+} (250 $\mu\text{mol/l}$) festgestellt werden. Das ist in guter Übereinstimmung mit der Annahme, daß die Na^+ -Pumpe auf einer Transport-ATPase beruht, die von Na^+ -, K^+ - und Mg^{2+} -Ionen aktiviert, von Ca^{2+} -Ionen jedoch blockiert wird (vgl. Baker, 1972; Powis und Wattus, 1981). Möglicherweise wirkt die veränderte extrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration auch auf die negative äußere Oberflächenladung der Membran wie von Hille, Woodhull und Shapiro (1975) und Lüttgau und Glitsch (1976) für die Nervenmembran beschrieben. Durch Veränderung der Oberflächenladung der Membran könnte auch wiederum das Membranpotential beeinflusst werden, wie von Eckert und Brehm (1979) an Paramecium gezeigt wurde.

5.7 Die Spannungsabhängigkeit der gemessenen Potentiale und das Auftreten von Spikes

Neben spannungsabhängigen K^+ -Kanälen (Millecchia und Mauro, 1969; Pepose und Lisman, 1978), deren Aktivierung die Ursache für den Abfall des Potentials bilden und die durch Licht moduliert werden können (s. Leonard und Lisman, 1981), gibt es spannungsabhängige Na^+ - Ca^{2+} -Kanäle am Ventralnerv Photorezeptor (O'Day und Lisman, 1980). Der Spike wird - vermutlich unter Aktivierung des Na^+ - Ca^{2+} -Kanals - durch die nach einem starken Lichtreiz folgende Depolarisation ausgelöst. Er kann aber auch nach starker Hyperpolarisation mit einer sich daran anschließenden Depolarisation - durch einen schwachen Lichtreiz ausgelöst werden, wenn dieser gerade die Schwelle für eine genügend hohe Membranspannung erreicht (s. Kap. 4.3). Das Auftreten von sog. Spikes oder regenerativen Prozessen am Limulus Ventralnerv-Photorezeptor wurde von Millecchia und Mauro (1969), Lisman und Brown (1971), Pepose und Lisman (1978), Wulff und Fahy (1979) und Maaz (1979) beschrieben. Übereinstimmend mit den hier beschriebenen Versuchen treten Spikes spannungsgetriggert auf und können durch eine depolarisierende Spannungsänderung

nach vorausgegangener Hyperpolarisation auch ohne Licht spontan ausgelöst werden.

Der Auslösung der Spikes liegt ein anderer Membranmechanismus zugrunde, der das Zeitverhalten der Dunkeladaptation vor allem in der zweiten Phase beeinflusst. Das zeigt sich in den kleineren τ_2 -Werten für die Exponentialfunktionsanpassung (vgl. Tab. III) und den größeren b_2 -Werten für den die Steigung charakterisierenden Exponenten in der Potenzfunktionsanpassung. Das Auftreten von Komponenten ist nicht spannungsabhängig, da auch bei verschiedenen Clamp-Spannungen im Strom zwei Komponenten meßbar wären (s. Maaz et al., 1981). Das Strom-Spannungsverhalten der beiden Komponenten ist jedoch stark voneinander verschieden:

C_1 ändert sich zwischen -100 mV und 0 mV Clamp-Spannung nur geringfügig ($\approx$ -10 nA),

C_2 ändert sich zwischen -100 mV und 0 mV Clamp-Spannung sehr stark (von -260 nA $\longrightarrow$ -50 nA).

Hierbei muß jedoch berücksichtigt werden, daß die beiden Komponenten C_1 und C_2 nicht zum gleichen Zeitpunkt meßbar sind (vgl. Maaz et al., 1981). Der hier durchgeführte Voltage-clamp-Versuch deutet darauf hin, daß den beiden unterschiedlichen Komponenten auch ein unterschiedlich großer Strom zugrunde liegt. Bei gleicher criterion-response-Höhe in der Spannung wurde ein etwa doppelt so großer Strom im dunkeladaptierten Zustand der Zelle gemessen. An der Erzeugung der Amplitudenhöhe von C_1 kann eine Beteiligung spannungsabhängiger Ströme nicht ausgeschlossen werden. C_1 ist aber keine spike-ähnliche Komponente, da der Spike wieder ein völlig anderes Verhalten zeigt (s. Diskontinuität in der constant-stimulus-Kurve, Abb. 26).

Die Bedeutung spannungsabhängiger Leitfähigkeiten könnte darin liegen, die Antwort auf schwache Lichtreize zu verstärken und die Antwort auf starke Lichtreize zu erniedrigen (s. O'Day und Lisman, 1981).

Das Phänomen der 'Facilitation', d.h. die Erhöhung der Empfindlichkeit nach Belichtung (Hanani und Hillman, 1976 und Stieve und Pflaum, 1978a) könnte ebenfalls auf spannungsabhängigen Prozessen beruhen. Der Spike scheint keine Bedeutung für die Fortleitung zu haben; nach Behrens und Fahy, 1981 konnten nur langsame fortgeleitete Potentiale am optischen Nerv festgestellt werden.

5.8 Lokalisationseffekte bei der extrazellulären Messung mit der Saugelektrode

Mit der extrazellulären Saugelektrodenmethode wurden sowohl positive wie negative Potentiale gemessen, je nach Position der Saugelektrode auf dem Photorezeptor. Bei positiven und negativen Signalen wurde häufig eine schnelle, meist positive Anfangskomponente - der Spike - gemessen, der vermutlich an einer anderen Stelle als die Lichtantwort erzeugt wird. (Nach Millecchia und Mauro (1969) konnten in manchen Zellen durch Strom-Injektion Spikes erzeugt werden, ohne daß ein Rezeptorpotential auf Licht auslösbar war.)

In den Ommatidien von *Apis mellifica* (s. Naka und Eguchi, 1962; Baumann, 1968) und im Laterallauge von *Limulus* (s. Tomita, 1956, 1957) wurden Spikes extrazellulär ebenfalls als positive Signale registriert, während das Rezeptorpotential extrazellulär als negatives Signal gemessen wurde. An diesen Retinulazellen wird der Spike an einer anderen Stelle als das Rezeptorpotential ausgelöst. Im Vergleich zum *Limulus* Ventralnerv Photorezeptor muß aber der andere morphologische Aufbau berücksichtigt werden.

Extrazelluläre Potentiale unterschiedlicher Polarität wurden am *Limulus* Ventralnerv Photorezeptor von Bacigalupo, Stern und Lisman (1981) (vgl. Kap. 4.6), aber auch von Fein und Charlton (1975) beobachtet.

Durch lokale Belichtung konnten Fein und Charlton einerseits ein negatives Signal (entsprechend einem Einwärtsstrom positiver Ionen) bei Belichtung des angesaugten Bereichs messen, andererseits ein positives Signal (entsprechend einem Auswärtsstrom positiver Ionen) bei Belichtung einer Region außerhalb der Saugelektrode. Sie konnten somit den Nachweis lokaler Membranströme erbringen, die auch hier registriert werden konnten.

Komponenten, die extrazellulär gemessen wurden, wiesen gleiche Polarität auf; dies bedeutet, daß sie vermutlich in gleichen Membranbereichen erzeugt werden.

5.9 Abschließende Bemerkungen und Ausblick

Durch spektroskopische Messungen (Fein und Cone, 1973) und Messungen des early receptor potential (= ERP) (s. Fein und DeVoe, 1973, Hillman et al., 1973; Lisman und Sheline, 1976) konnte festgestellt werden, daß der photochemische Zyklus, d.h. der lichtinduzierte Übergang von Rhodopsin zum thermostabilen Zustand des Metarhodopsins, im Limulus Ventralnerv Photorezeptor so schnell abläuft, daß er keinen direkten Einfluß auf den sehr viel langsameren Dunkeladaptationsverlauf nehmen kann.

(Zeitverlauf der ERP-Amplitudenerhöhung nach einem starken Lichtreiz - $\tau = 70-100$ ms nach Fein und DeVoe (1973) und Hillman et al. (1973);

Zeitverlauf der Empfindlichkeitszunahme für eine criterion-response - $\tau_1 = 5,5$ s ($s_{\bar{x}} = \pm 0,6$ s) nach den hier durchgeführten Versuchen für die erste Adaptationsphase ermittelt).

Durch genaue Messung des Zeitverlaufs der Empfindlichkeitszunahme der Photorezeptorzelle im Laufe der Dunkeladaptation konnten eindeutig zwei unterschiedlich schnelle Adaptationsprozesse beobachtet werden.

Diese beiden Adaptationsprozesse korrelieren mit dem Auftreten zweier Komponenten C_1 und C_2 , die unterschiedliches Adaptationsverhalten zeigen (s. auch Maaz, Nagy, Stieve und Klomfaß, 1981) und ebenfalls bei der Strommessung im Voltage-clamp nachgewiesen werden konnten.

Nur der erste schnelle Adaptationsprozeß zeigt - der Ca^{2+} -Hypothese (Lisman und Brown, 1972) entsprechend - eine starke Abhängigkeit von der veränderten extrazellulären Ca^{2+} -Konzentration, während der zweite langsame Adaptationsprozeß davon relativ unbeeinflusst bleibt.

Die Komponente C_1 , die vorwiegend im helladaptierten Zustand auftritt, korreliert mit der ersten Dunkeladaptationsphase, in der die criterion-response mit relativ starkem Reizlicht und entsprechend kurzer Dunkeladaptationszeit ausgelöst wurde.

Die Komponente C_2 korreliert mit der zweiten Adaptationsphase, in der sich die Zelle durch schwaches Reizlicht und lange Dunkeladaptationszeiten in einem relativ dunkeladaptierten Zustand befindet.

Auf die Existenz vermutlich zweier unterschiedlicher Rezeptor-mechanismen wurde von Kaplan und Barlow (1975) nach extrazellulären Messungen am optischen Nerv des Limulus Lateralauges in situ hingewiesen. Ein Mechanismus wurde für niedrige Lichtintensitäten, ein zweiter für hohe Lichtintensitäten beobachtet. Auch Lisman und Brown (1971) beschreiben zwei unterschiedliche lichtinduzierte Prozesse.

Im Gegensatz zum Vertebratenauge, bei dem zur Empfindlichkeitseinstellung über einen weiten Bereich zwei Rezeptortypen - die Stäbchen und Zapfen - dienen, erfolgt die Empfindlichkeitseinstellung am Limulus Ventralnerv Photorezeptor mit zwei unterschiedlichen Mechanismen an ein und derselben Zelle. Ob sich diese Ergebnisse auch auf andere Lichtsinneszellen übertragen lassen, muß weiter untersucht werden.

Eine mögliche Erklärung für die beiden unterschiedlichen Adaptationsmechanismen ist die, daß von einer bestimmten intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration an (Schwelleneffekt) ein anderer Verstärkungsmechanismus einsetzt. Für den zweiten, langsamen Dunkeladaptationsprozeß, in dem die Empfindlichkeit annähernd proportional mit t_{DA} zunimmt ($\frac{1}{I} \sim t_{\text{DA}}$) und auf den Ca^{2+} -Ionen keinen starken Einfluß haben, können stoffwechselabhängige Prozesse, vielleicht auch die Wirkung (zyklischer) Nukleotide angenommen werden. Zur Klärung dieses Sachverhalts sind weitere Untersuchungen nötig, ebenso wie zur Klärung der Spannungsabhängigkeit weitere Voltage-clamp-Versuche durchgeführt werden müssen.

6. Zusammenfassung

- 1) Zur intra- und extrazellulären elektrophysiologischen Messung am Limulus Ventralnerv Photorezeptor wurde eine Versuchsanordnung aufgebaut. Es wurde eine Saugelektroden-technik entwickelt, mit deren Hilfe von verschiedenen Membranbereichen an einzelnen Photorezeptorzellen extrazelluläre Ströme abgeleitet werden konnten - bei gleichzeitiger intrazellulärer Messung der Spannungsantwort.
- 2) Der Zeitverlauf der Dunkeladaptation nach starker Helladaptation von 1 oder 5 s Dauer ($4,4 \cdot 10^{16}$ Photonen $\cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ bei $\lambda = 543 \text{ nm}$) wurde mit zwei verschiedenen Methoden ermittelt:
 - a) Messung der Vergrößerung der Amplitudenhöhe in Abhängigkeit von der Dunkeladaptationszeit für verschiedene konstante Reizlichtintensitäten durch Aufnahme sog. constant-stimulus-Kurven.
 - b) Messung der Empfindlichkeitszunahme in Abhängigkeit von der Dunkeladaptationszeit durch Bestimmung der Reizlichtintensität, die zur Auslösung einer vorgegebenen Amplitudenhöhe U_{CR} (= criterion-response) benötigt wird, durch Aufnahme einer sog. criterion-response-Kurve.

Exponentialfunktionen der Form

$$I = \alpha \cdot I_0 \cdot e^{\frac{-t_{DA}}{\tau}}$$

bzw. Potenzfunktionen der Form

$$I = a \cdot I_0 \cdot t_{DA}^{-b}$$

wurden mit Hilfe der Regressionsanalyse an die Meßwerte angepaßt. Die Anpassung durch zwei Potenzfunktionen lieferte höhere r^2 -Werte, so daß sie als der bessere mathematische Formalismus zur Beschreibung angesehen wurde (Abb. 18, Abb. 1/2 im Anhang).

- 3) Es konnten deutlich zwei unterschiedliche Steigungen für die Potenzfunktionsanpassung im doppeltlogarithmischen Maßstab - charakterisiert durch den Exponenten b - festgestellt werden (s. Tab. II). Im Mittel betrug $b_1 = 3,5$

($s_{\bar{x}} = \pm 0,4$; $n = 16$) für die erste angepaßte Gerade und $\underline{b}_2 = 1,0$ ($s_{\bar{x}} = \pm 0,1$; $n = 13$) für die zweite Gerade.

Im Falle der Exponentialfunktionsanpassung konnten zwei unterschiedliche Zeitkonstanten ermittelt werden. τ_1 betrug im Mittel 5,5 s ($s_{\bar{x}} = \pm 0,6$ s; $n = 16$), τ_2 hingegen 287 s ($s_{\bar{x}} = \pm 44$ s; $n = 16$).

Der Dunkeladaptationsverlauf zeigte somit eindeutig zwei unterschiedlich schnelle Adaptationsprozesse.

- 4) Der Einfluß der extrazellulären Ca^{2+} -Konzentration auf den Adaptationsverlauf wurde untersucht. Nur der erste schnelle Adaptationsprozeß zeigte - der Ca^{2+} -Hypothese (Lisman und Brown, 1972) entsprechend - eine starke Abhängigkeit von der veränderten extrazellulären Ca^{2+} -Konzentration, während der zweite langsame Adaptationsprozeß davon relativ unbeeinflusst blieb (s. Tab. II). Dies äußerte sich in der Änderung der Regressionskoeffizienten für die Potenzfunktionsanpassung $\underline{b}$ und $\underline{a}$ in der ersten Dunkeladaptationsphase. Der Exponent $\underline{b}_1$, als Maß für die Steigung der Geraden, wurde - bei Erniedrigung der extrazellulären Ca^{2+} -Konzentration von 10 mmol/l auf 250 $\mu\text{mol/l}$ - auf 1,7 ($s_{\bar{x}} = \pm 0,5$; $n = 6$) erniedrigt. Bei Erhöhung der extrazellulären Ca^{2+} -Konzentration auf 40 mmol/l wurde der Exponent $\underline{b}_1$ auf 4,7 ($s_{\bar{x}} = \pm 0,5$; $n = 3$) erhöht. Der Faktor $\underline{a}$, der die Empfindlichkeit der Zelle für $t_{\text{DA}} = 1$ s charakterisiert, variierte von Zelle zu Zelle stark. $\underline{a}_1$ wird in low Ca^{2+} auf etwa 5 % (im Mittel) erniedrigt und kennzeichnet damit eine deutliche Empfindlichkeitszunahme der Photorezeptorzelle für die erste Steigung. In high Ca^{2+} wurde der Faktor $\underline{a}_1$ etwa 70-fach größer als in PS und zeigte somit eine Empfindlichkeitsabnahme an. Die Ergebnisse unter Veränderung der extrazellulären Ca^{2+} -Konzentration können folgendermaßen erklärt werden: Nur in der ersten relativ helladaptierten Phase (hohe Reizlichtintensität I, kurze Dunkeladaptationszeit t_{DA}) des Dunkeladaptationsverlaufs wird die intrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration durch die Reizlichtintensität so stark erhöht, daß sie die Empfindlichkeit der Lichtsinneszelle kontrollieren kann; in der zweiten relativ dunkel-

adaptierten Phase (geringe Reizlichtintensität I , langes t_{DA}) des Dunkeladaptationsverlaufs bestimmen vermutlich andere Mechanismen, wie der Stoffwechsel der Zelle oder möglicherweise auch (zyklische) Nukleotide, die Empfindlichkeit der Lichtsinneszelle.

- 5) Die beiden Adaptationsprozesse konnten mit dem Auftreten zweier Rezeptorpotentialkomponenten C_1 und C_2 , die unterschiedliches Adaptationsverhalten zeigten, korreliert werden.

In einigen Versuchen wurde beim Übergang der schnellen zur langsamen Adaptationsphase ein deutlicher Wechsel von Komponente C_1 zu Komponente C_2 als die kritische Potentialhöhe bestimmende Komponente sichtbar (s. Abb. 33). In den Versuchen, in denen dieser Wechsel nicht so deutlich innerhalb eines Rezeptorpotentialverlaufs zu erkennen war, konnte aber aus der sprunghaften Vergrößerung der Gipfelzeit t_{max} und der Latenzzeit t_{lat} der Schluß gezogen werden, daß beim Übergang von der schnellen zur langsamen Adaptationsphase ebenfalls ein Komponentenwechsel erfolgte.

- 6) Spike-ähnliche, regenerative Signale traten bei starker Hyperpolarisation nach einem helladaptierenden Lichtreiz und der darauf folgenden Depolarisation im Laufe der Dunkeladaptation auf (s. Abb. 25). Es handelt sich hierbei um Signale, die durch Aktivierung spannungsabhängiger Kanäle (vermutlich Na^+ - Ca^{2+} -Kanäle, s. O'Day und Lisman, 1980) auch durch einen Spannungssprung ohne Licht auslösbar sind (s. Abb. 41).

Bei Auftreten regenerativer Signale konnten gleiche Effekte auf die Dunkeladaptationskurve durch Änderung der extrazellulären Ca^{2+} -Konzentration festgestellt werden. Die Geschwindigkeit vor allem des zweiten Adaptationsprozesses wurde durch Auftreten regenerativer Signale stark erhöht ($\tau_2 = 104 \pm 15$ s; $n = 3$).

- 7) Mit Hilfe der Saugelektrode wurden Lokalisationseffekte untersucht. Es wurden sowohl positive wie negative Signale registriert, je nach Position der Saugelektrode auf dem Photorezeptor. Dies ist ein Hinweis dafür, daß Membranbereiche mit unterschiedlichen Eigenschaften existieren. Vermutlich wird dann ein negatives Signal - einem Na^+ -Einwärtsstrom entsprechend - gemessen, wenn über die lichtempfindlichen Mikrovillibereiche abgeleitet wird; ein positives Signal wird dann gemessen, wenn der Auswärtsstrom überwiegt, d.h. wenn über Bereiche abgeleitet wird, in denen kein Na^+ -Einwärtsstrom erfolgt. Der Spike wurde meist mit einer dem Rezeptorpotential entgegengesetzten Polarität gemessen (s. Abb. 38c), so daß auf unterschiedliche Bereiche für die Erzeugung von Spikes und Rezeptorpotentialen geschlossen werden kann. Die Rezeptorpotentialkomponenten C_1 und C_2 , die auch extrazellulär gemessen wurden, wiesen hingegen stets die gleiche Polarität auf (s. Abb. 38d), was für die Auslösung an gleichen Membranbereichen spricht.
- 8) Mit Hilfe der Voltage-clamp-Messung zeigte sich, daß den beiden unterschiedlichen Rezeptorpotentialkomponenten auch unterschiedlich große Ströme zugrunde liegen ($C_1 : I \approx 40 \text{ nA}$; $C_2 : I \approx 80 \text{ nA}$).

7. Anhang

Anhang 1

Als ein Maß für die Signifikanz einer Kurvenanpassung an die Meßwerte wird der Vertrauensbereich herangezogen. Der Vertrauensbereich einer Regressionsgeraden* ist nach Sachs (Angewandte Statistik, 1978) gegeben durch:

$$\hat{y} \pm \sqrt{2F} \cdot s_{\hat{y}}$$

Darin bedeuten:

- $\hat{y}$ - der aus der Geradengleichung $y = \alpha + \beta x$ geschätzte Mittelwert an der Stelle x
- F - ein Verteilungsfaktor, der in der F-Verteilung nach R.A. Fisher tabellarisch erfaßt ist
- $s_{\hat{y}}$ - die Standardabweichung für einen geschätzten Mittelwert y an der Stelle x

* Sowohl die Exponentialfunktionsanpassung wie auch die Potenzfunktionsanpassung kann durch Transformation in eine lineare Regression überführt werden.

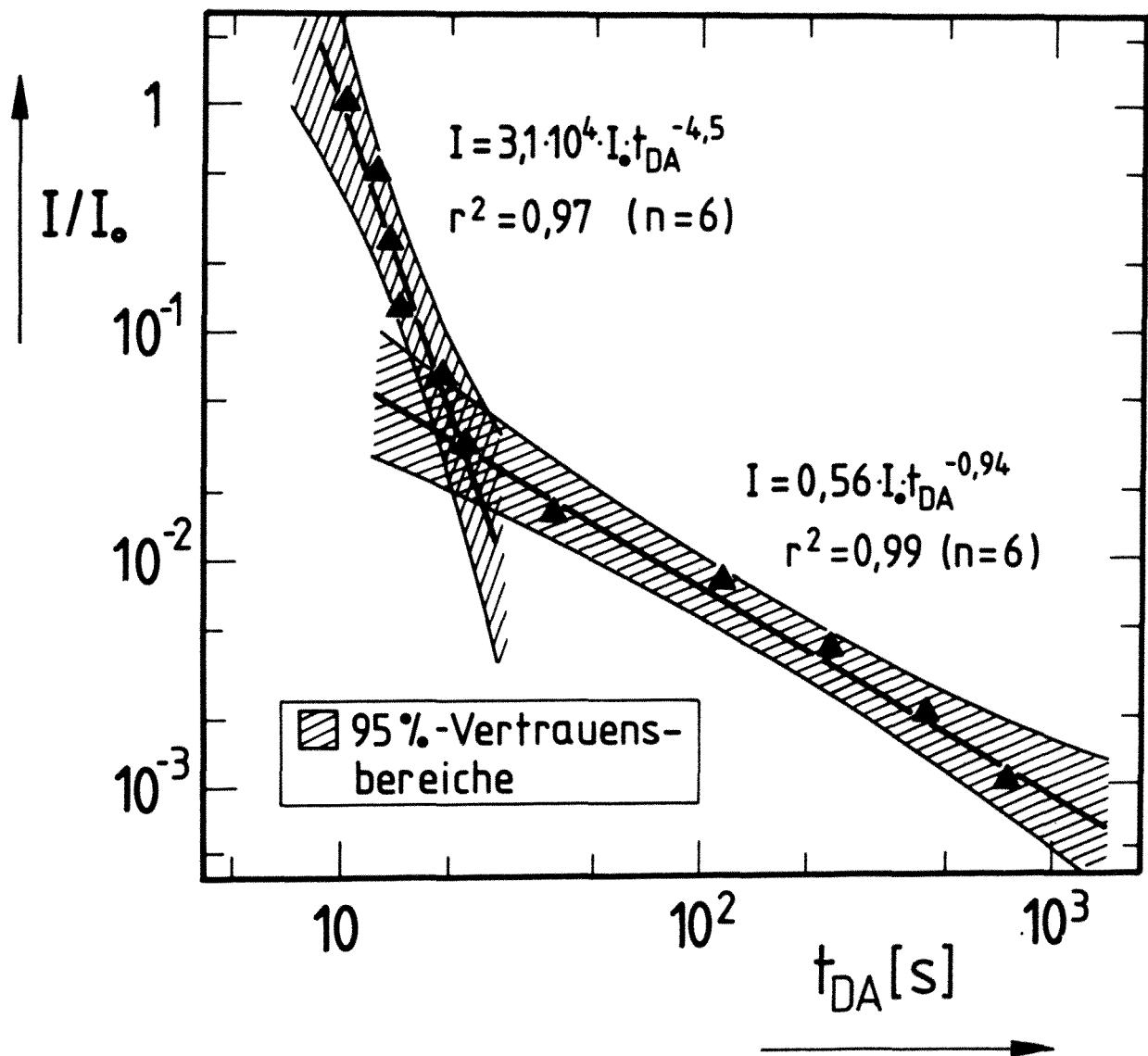


Abb. 1/1

Gleiche Darstellung wie in Abb. 19 mit zusätzlicher Angabe des 95 % - Vertrauensbereiches.

Wie in Abb. 19 sind die Meßwertpaare für die criterion-response Kurve doppellogarithmisch aufgetragen. Bei der Anpassung der beiden Regressionsgeraden wurden jeweils 6 Meßwertpaare berücksichtigt - es ergaben sich relativ hohe Werte für das Bestimmtheitsmaß r^2 .

Die beiden schraffierten Bereiche stellen die 95 % - Vertrauensbereiche nach $\hat{y} \pm \sqrt{2F} \cdot s_{\hat{y}}$ für die beiden Regressionsgeraden dar.

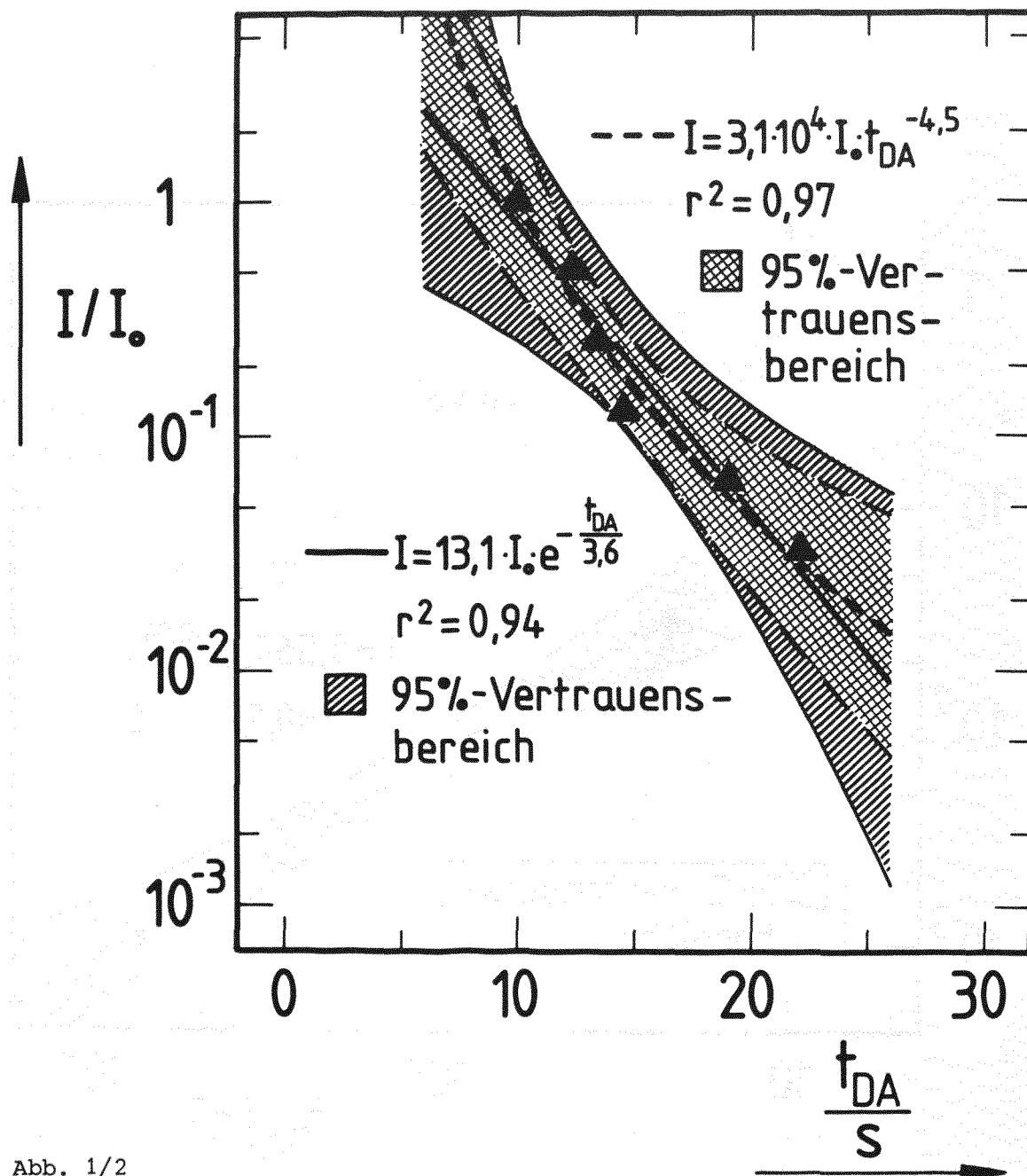


Abb. 1/2

In halblogarithmischer Darstellung sind hier die Meßwertpaare der ersten Steigung aus Abb. 1/1 aufgetragen.

Die durchgezogene Linie zeigt die berechnete Regressionsgerade für die Anpassung einer Exponentialfunktion an die Meßpunkte. Der schraffierte Bereich stellt den 95 % - Vertrauensbereich für diese Anpassung dar.

Um diese Form der Anpassung mit der Potenzfunktionsanpassung aus Abb. 1/1 vergleichen zu können, wurde die entsprechende Ausgleichsgerade mit ihrem 95 % - Vertrauensbereich in den hier gewählten halblogarithmischen Maßstab übertragen.

Deutlich zu erkennen sind die wesentlich engeren Vertrauensgrenzen für die Potenzfunktionsanpassung, was gleichzeitig durch den höheren r^2 -Wert ausgedrückt wird.

Als qualitatives Maß für die Ausdehnung der Vertrauensgrenzen kann somit das Bestimmtheitsmaß r^2 herangezogen werden - eine gleiche Anzahl von Meßwertpaaren n vorausgesetzt.

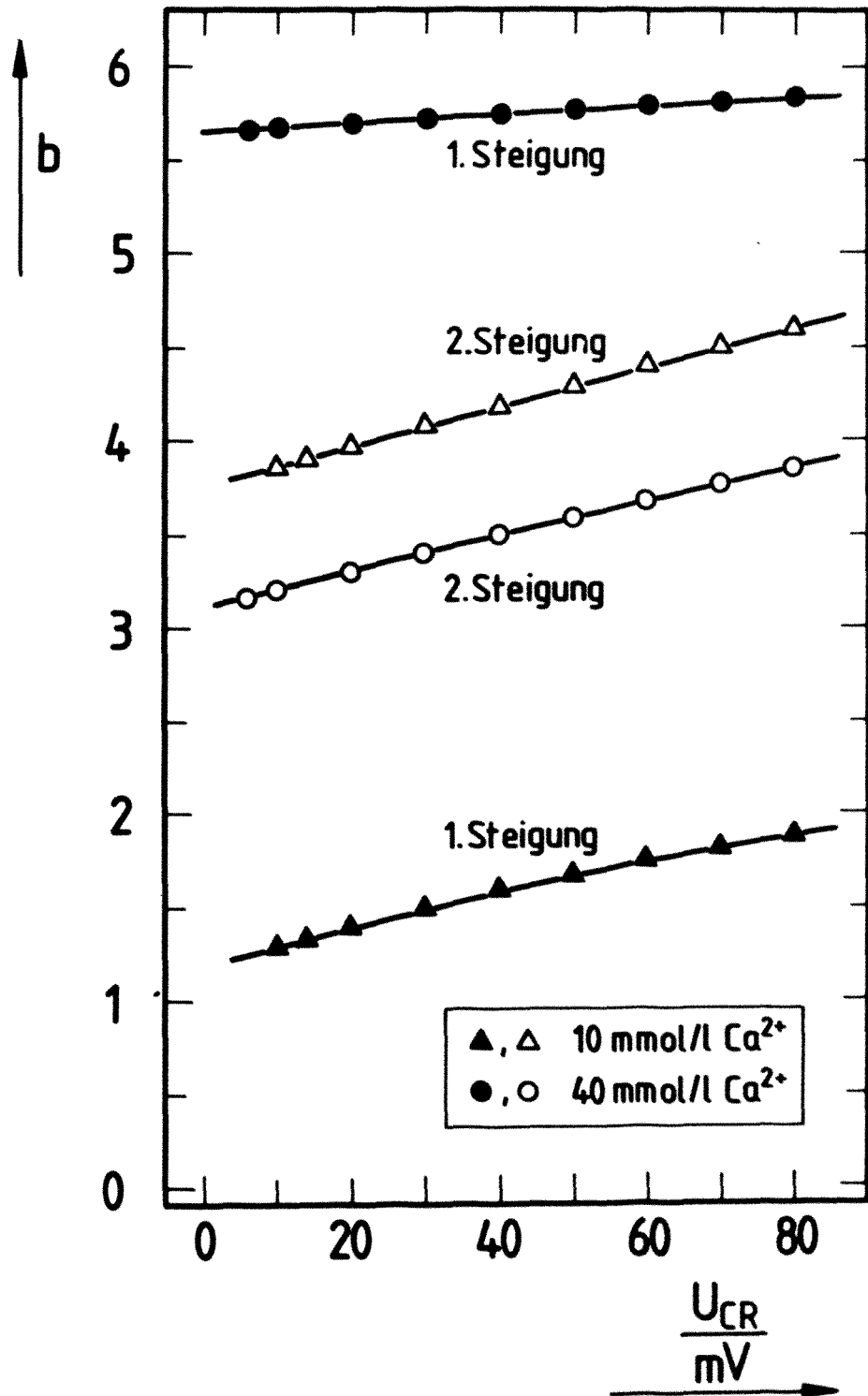


Abb. 2/1

Abhängigkeit des negativen Exponenten $\underline{b}$ von der Wahl des U_{CR} für den "regenerativen" Versuch Cl006A (PS und high Ca^{2+}).

Die eingezeichneten Punkte wurden durch Extrapolation zwischen dem jeweils ersten Wert unter- und oberhalb des Sprungs für criterion-response-Amplituden zwischen 10 und 80 mV ermittelt. Trotz der großen Variationsbreite in der criterion-response-Höhe wurden die $\underline{b}$ -Werte nur geringfügig beeinflusst (vgl. Abb. 30).

8. Literaturverzeichnis

- Adam, G., Läuger, P., Stark, G., 1977
Physikalische Chemie und Biophysik
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York
- Adolph, A., 1964
Spontaneous slow potential fluctuations in the Limulus photoreceptor
J. gen. Physiol. 48, 297-322
- Armington, J.C., 1974
The electroretinogram
Academic Press, New York, San Francisco, London
- Bacigalupo, J., Stern, J., Lisman, J.E., 1981
Structural and functional specialization of Limulus ventral photoreceptor membrane. aus: Abstract-Buch
Annual Spring Meeting, ARVO, Sarasota
- Baker, P.F., 1972
Transport and metabolism of calcium ions in nerve
Prog. Biophys. Mol. Biol. 24, 177-223
- Baumann, F., 1968
Slow and spike potentials recorded from retinula cells of the honeybee drone in response to light
J. gen. Physiol. 52, 855-875
- Bayer, D.S. und Barlow, R. Jr., 1978
Physiological properties of photoreceptor cells in an organe culture medium
J. gen. Physiol. 72, 539-563
- Behbehani, M. und Srebro, R., 1974
Discrete waves and phototransduction in voltage-clamped ventral photoreceptors
J. gen. Physiol. 64, 186-200
- Behrens, M.E. und Fahy, J.L., 1981
Slow potentials in nonspiking optic nerve fibers in the peripheral visual system of Limulus
J. comp. Physiol. 141, 239-247

- Benolken, R.M., 1962
Effects of light- and dark-adaptation processes on the generator potential of the Limulus eye
Vision Res. 2, 103-124
- Benolken, R.M., 1965
Regenerative transducing properties of a graded visual response
Cold Spring Harb. Symp. quant. Biol. XXX, 445-450
- Brown, H.M., 1976
Intracellular Na^+ , K^+ and Cl^- activities in Balanus photoreceptors
J. gen. Physiol. 68, 281-296
- Brown, J.E. und Blinks, J.R., 1974
Changes in intracellular free calcium concentration during illumination of invertebrate photoreceptors (detection with aequorin)
J. gen. Physiol. 64, 643-665
- Brown, J.E., Brown, P.K. und Pinto, L.H., 1977
Detection of light-induced changes of intracellular ionized calcium concentration in Limulus ventral photoreceptors using Arsenazo III
J. Physiol. 267, 299-320
- Brown, J.E. und Coles, J.A., 1979
Saturation of the response to light in Limulus ventral photoreceptor
J. Physiol. (London) 296, 373-392
- Brown, J.E. und Lisman, J.E., 1972
An electrogenic sodium pump in Limulus ventral photoreceptor cells
J. gen. Physiol. 59, 720-733
- Brown, J.E. und Lisman, J.E., 1975
Intracellular Ca modulates sensitivity and time scale in Limulus ventral nerve photoreceptor
Nature, 258, 252-254

- Brown, J.E. und Mote, M.I., 1974
 Ionic dependence of reversal voltage of the light response
 in Limulus ventral photoreceptors
 J. gen. Physiol. 63, 337-350
- Clark, R.B. und Duncan, G., 1978
 Two components of extracellularly-recorded photoreceptor
 potentials in the cephalopod retina: Differential effects
 of Na^+ , K^+ und Ca^{++}
 Biophys. Struct. Mech. 4, 263-300
- Clark, A.W., Millecchia, R. und Mauro, A., 1969
 The ventral photoreceptor cells of Limulus
 I. The microanatomy
 J. gen. Physiol. 54, 289-309
- Creutzfeld, O.D. und Probst, W., 1974
 Neurophysiologische Technik
 In: Physiologie des Menschen, Bd. 10
 (Gauer, Kramer, Jung, Hrsg.)
 München, Berlin, Wien: Urban und Schwarzenberg, 2. Aufl.
- Delbrück, M. und Reichardt, W., 1957
 System analysis for the light growth reactions of
 Phycomyces
 Society for the study of development and growth. Cellular
 mechanisms in differentiation and growth. Proceedings of
 the 14th symp., Amherst, 15. - 18. 6. 1955
 Princeton, N.J.: Princeton Univ. Pr. 1957
- Detwiler, P.B., 1976
 Multiple light-evoked conductance changes in the photo-
 receptors of Hermissenda crassicornis
 J. Physiol. 256, 691-708
- Dodge, F.A., Knight, B.W. und Toyoda, J., 1968
 Voltage noise in Limulus visual cells
 Science, 160, 88-90
- Eckert, M., 1979
 Modelle für den Sehvorgang wirbelloser Tiere
 Dissertation, Universität Bayreuth

- Eckert, R. und Brehm, P., 1979
 Ionic mechanisms of excitation in Paramecium
 Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 8, 353-383
- Fein, A. und Charlton, J.S., 1975
 Local membrane current in Limulus photoreceptors
 Nature, 258, 250-252
- Fein, A. und Charlton, J.S., 1977a
 Enhancement and phototransduction in the ventral eye
 of Limulus
 J. gen. Physiol. 69, 553-569
- Fein, A. und Charlton, J.S., 1977b
 A quantitative comparison of the effects of intracellular
 calcium injection and light adaptation on the photo-
 response of Limulus ventral photoreceptors
 J. gen. Physiol. 70, 591-600
- Fein, A. und Charlton, J.S., 1977c
 Increased intracellular sodium mimics some but not all
 aspects of photoreceptor adaptation in the ventral eye
 of Limulus
 J. gen. Physiol. 70, 601-620
- Fein, A. und Cone, R.A., 1973
 Limulus rhodopsin: rapid return of transient inter-
 mediates to the thermally stable state
 Science, 182, 495-497
- Fein, A. und DeVoe, R.D., 1973
 Adaptation in the ventral eye of Limulus is functionally
 independent of the photochemical cycle, membrane
 potential, and membrane resistance
 J. gen. Physiol. 61, 273-289
- Fuortes, M.G.F. und Hodgkin, A.F., 1964
 Changes in time scale and sensitivity in the ommatidia
 of Limulus
 J. Physiol. (London), 172, 239-263

- Fuortes, M.G.F. und O'Bryan, P.M., 1972
 Responses to single photons
 In: Fuortes, M.G.F. (ed.)
 Physiology of photoreceptor organs
 Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 321-338
 (Handbook of sensory physiology, vol. 7, part. 2)
- Fuortes, M.G.F. und Yeandle, S., 1964
 Probability of occurrence of discrete potential waves in
 the eye of Limulus
 J. gen. Physiol. 47, 443-463
- Hanani, M. und Hillman, P., 1976
 Adaptation and facilitation in the barnacle photoreceptor
 J. gen. Physiol. 67, 235-249
- Hartline, H.K., 1968
 Visual receptors and retinal interaction.
 Nobel-Vorlesung S. 242-259
 in: Les Prix Nobel 1967
 Kgl. Boktryk, Stockholm
- Hille, B., Woodhull, A.M. und Shapiro, B.I., 1975
 Negative surface charge near sodium channels of nerve:
 divalent ions, monovalent ions, and pH
 Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. 270, 301-318
- Hillman, P., Dodge, F.A., Hochstein, S., Knight, B.W. und
 Minke, B., 1973
 Rapid dark recovery of the invertebrate early receptor
 potential
 J. gen. Physiol. 62, 77-86
- Hodgkin, A.L. und Huxley, A.F., 1952
 A quantitative description of membrane current and its
 application to conduction and excitation in nerve
 J. Physiol. (London) 117, 500-544
- Hodgkin, A.L., Huxley, A.F. und Katz, B., 1952
 Measurement of current-voltage relations in the membrane
 of the giant axon of Loligo
 J. Physiol. 116, 424-448

- Horn, R. und Brodwick, M.S., 1980
Acetylcholine - induced current in perfused rat myoballs
J. gen. Physiol. 75, 297-321
- Julian, F.J., Moore, J.W. und Goldman, D.E., 1962
Membrane potentials of the lobster giant axon obtained
by use of the sucrose-gap technique
J. gen. Physiol. 45, 1195-1216
- Kaplan, E. und Barlow, R.B. Jr., 1975
Properties of visual cells in the lateral eye of Limulus
in situ
Extracellular recordings
J. gen. Physiol. 66, 303-326
- Koike, H., Brown, H.M. und Hagiwara, S., 1971
Hyperpolarisation of a barnacle photoreceptor membrane
following illumination
J. gen. Physiol. 57, 723-737
- Koshland, D.E. Jr., 1980
Biochemistry of sensing and adaptation
Trends Biochem. Sci. 5 (11), 297-302
- Lee, K.S., Akaike, N. und Brown, A.M., 1978
Properties of internally perfused, voltage-clamped,
isolated nerve cell bodies
J. gen. Physiol. 71 (5), 489-508
- Lee, K.S., Akaike, N. und Brown, A.M., 1980
The suction pipette method for internal perfusion and
voltage clamp of small excitable cells
J. Neuroscience Methods 2, 51-78
- Leonhard, R.J. und Lisman, J.E., 1981
Light modulates the voltage-dependent potassium channels
in Limulus ventral photoreceptors
Science, 212, 1273-1275
- Lisman, J.E. und Brown, J.E., 1971
Two light-induced processes in the photoreceptor cells of
Limulus ventral eye
J. gen. Physiol. 58, 544-561

- Lisman, J.E. und Brown, J.E., 1972
The effects of intracellular iontophoretic injection of calcium and sodium ions on the light response of Limulus ventral photoreceptors
J. gen. Physiol. 59, 701-719
- Lisman, J.E. und Brown, J.E., 1975
Effects of intracellular injection of calcium buffers on light adaptation in Limulus ventral photoreceptors
J. gen. Physiol. 66, 489-506
- Lisman, J.E. und Sheline, Y., 1976
Analysis of the rhodopsin cycle in Limulus ventral photoreceptors using the early receptor potential
J. gen. Physiol. 68, 487-501
- Lorenz, K., 1973
Die Rückseite des Spiegels. Versuch einer Naturgeschichte menschlichen Erkennens.
Piper, München-Zürich
- Lüttgau, H.Ch. und Glitsch, H.G., 1976
Membrane physiology of nerve and muscle fibres
Fortschritte der Zoologie, 24, 1
Fischer-Verlag, Stuttgart, New York
- Maaz, G., 1979
Simultane Messung von lichtinduzierten Membranpotential-änderungen und Calciumkonzentrationsänderungen in einzelnen Lichtsinneszellen.
Elektrophysiologische und mikrophotometrische Messungen am Ventralnerv Photorezeptor von Limulus polyphemus
Dissertation, RWTH Aachen
- Maaz, G., Nagy, K., Stieve, H. und Klomfaß, J., 1981
The electrical light response of the Limulus ventral nerve photoreceptor, a superposition of distinct components-observable by variation of the state of light adaptation
J. comp. Physiol. 141, 303-310

- Maaz, G. und Stieve, H., 1980
The correlation of the receptor potential with the light induced transient increase in intracellular calcium concentration measured by absorption change of Arsenazo III injected into Limulus ventral nerve photoreceptor cell
Biophys. Struct. Mech., 6, 191-208
- Millecchia, R., 1969
The ventral photoreceptor cells of Limulus: An electrophysiological study
Thesis, Rockefeller University, New York, N.Y.
- Millecchia, R. und Mauro, A., 1969a
The ventral photoreceptor cells of Limulus.
II. The basic photoresponse
J. gen. Physiol. 54, 310-330
- Millecchia, R. und Mauro, A., 1969b
The ventral photoreceptor cells of Limulus.
III. A voltage-clamp study
J. gen. Physiol. 54, 331-351
- Nagy, K. und Stieve, H., 1981
The dark adaptation and the intracellular free calcium in Limulus photoreceptors
(in Vorbereitung)
- Naka, K. und Eguchi, E., 1962
Spike potentials recorded from the insect photoreceptor
J. gen. Physiol. 45, 663-680
- Neher, E., Sakmann, B. und Steinbach, J.H., 1978
The extracellular patch clamp: a method for resolving currents through individual open channels in biological membranes
Pflügers Arch. 375, 219-228
- O'Day, P.M. und Lisman, J.E., 1980
Activation of a voltage-dependent calcium conductance by depolarization produces light-adaptation in Limulus ventral photoreceptors
aus: Abstract-Buch
Annual Spring Meeting, ARVO, Orlando

- O'Day, P.M. und Lisman, J.E., 1981
The influence of voltage-dependent conductances on the
receptor potential in Limulus ventral photoreceptors
Aus: Abstract Buch. Annual Spring Meeting, ARVO, Sarasota
- Pepose, J.S. und Lisman, J.E., 1978
Voltage sensitive potassium channels in Limulus ventral
photoreceptors
J. gen. Physiol. 71, 101-120
- Powis, D.A. und Wattus, G.D., 1981
The stimulatory effect of calcium on Na, K-ATPase of
nervous tissue
FEBS Lett. 126 (2), 285-288
- Richter, K., 1979
Allgemeine Elektrophysiologie
Fischer-Verlag, Stuttgart, New York
- Sachs, L., 1978
Angewandte Statistik.
Statistische Methoden und ihre Anwendungen, 5. Aufl.
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York
- Stämpfli, R., 1954
A new method for measuring membrane potentials with
external electrodes
Experientia (Basel) 10, 508-512
- Stämpfli, R., 1974
Allgemeine Erregungsphysiologie der Nervenzellmembran
In: Physiologie des Menschen, Bd. 10
(Gauer, Kramer, Jung, Hrsg.)
München-Berlin-Wien: Urban und Schwarzenberg
- Stieve, H., 1965
Interpretation of the generator potential in terms of
ionic processes
Cold Spring Harb. Symp. quant. Biol. XXX, 451-456

- Stieve, H., 1976
 Photorezeption und ihre molekularen Grundlagen
 Bericht der Kernforschungsanlage Jülich, Jül-1313
- Stieve, H., 1977a
 Photorezeption und ihre molekularen Grundlagen. Biophysik.
 Ein Lehrbuch
 Herausgegeben von W. Hoppe, W. Lohmann, H. Markl, H. Ziegler.
 Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York
- Stieve, H., 1977b
 Thoughts on the comparative biology of photosensory
 function
 Verh. Dtsch. Zool. Ges. 1-25, Gustav Fischer Verlag,
 Stuttgart
- Stieve, H., 1977c
 On the mechanism of conductance control of the arthropod
 visual cell membrane
 Biophys. Struct. Mech., 3, 145-151
- Stieve, H., 1981
 Roles of calcium in visual transduction in invertebrates
 in: Sense Organs (ed. M.S. Laverack, D.J. Cosens),
 Blackie and Son Ltd., Glasgow and London, 163-185
- Stieve, H. und Bruns, M., 1978
 Extracellular calcium, magnesium and sodium ion competition
 in the conductance control of the photosensory membrane
 of Limulus ventral nerve photoreceptor
 Z. Naturforsch. 33c, 574-579
- Stieve, H. und Bruns, M., 1980a
 Dependence of bump rate and bump size in Limulus ventral
 nerve photoreceptor on light adaptation and calcium
 concentration
 Biophys. Struct. Mech., 6, 271-285
- Stieve, H. und Bruns, M., 1980b
 Die Empfindlichkeitsänderung des ventralen Photorezeptors
 von Limulus bei Helladaptation in Abhängigkeit von der
 extrazellulären Ca^{2+} -Konzentration
 Verh. Dtsch. Zool. Ges., 369, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart

- Stieve, H., Bruns, M., Pflaum, M. und Gaube, H., 1978
The effect of lowering the extracellular calcium concentration on the light response of dark- and light - adapted ventral nerve photoreceptors of Limulus
Interner Bericht, KFA-INB-IB-1/78
- Stieve, H. und Claßen-Linke, I., 1980
The effect of changed extracellular calcium and sodium concentration on the electroretinogram of the crayfish retina
Z. Naturforsch., 35c, 308-318
- Stieve, H. und Hanani, M., 1976
Light and dark adaptation of crayfish visual cells depending on extracellular calcium concentration
Z. Naturforsch., 31c, 324-327
- Stieve, H. und Pflaum, M., 1978a
The response height versus stimulus intensity curve of the ventral nerve photoreceptor of Limulus depending on adaptation and external calcium concentration
Vision Res., 18, 747-749
- Stieve, H. und Pflaum, M., 1978b
Lowering the ratio of extracellular calcium to sodium mimics the effect of light on the photosensory membrane of Limulus ventral nerve photoreceptor
Vision Res., 18, 883-885
- Thomas, R.C., 1972
Electrogenic sodium pump in nerve and muscle cells
Physiological Reviews
The American Physiological Society
Vol. 52, No. 3
- Tomita, T., 1956
The nature of action potentials in the lateral eye of the horseshoe crab as revealed by simultaneous intra- and extracellular recording
Japan, J. Physiol. 6 (4), 327-340

- Tomita, T., 1957
Peripheral mechanism of nervous activity in lateral eye
of horseshoe crab
J. Neurophysiol. 20, 245-254
- Vollmer, G., 1980
Evolutionäre Erkenntnistheorie
Hirzel, Stuttgart, 2. Aufl.
- Wong, F., 1978
Nature of light-induced conductance changes in ventral
photoreceptors of Limulus
Nature, 276, 76-79
- Wulff, V.J. und Fahy, J.L., 1979
Influence of calcium on the Limulus photoreceptor
potential
Brain Res. Bull. 4, 809-818
- Wulff, V.J. und Mueller, W.J., 1973
On the origin of the receptor potential in the lateral
eye of Limulus
Vision Res., 13, 661-671
- Wulff, V.J., Stieve, H. und Fahy, J.L., 1975
Dark adaptation and sodium pump activity in Limulus
lateral eye retinular cells
Vision Res., 15, 759-765
- Yeandle, S. und Spiegler, J.B., 1973
Light-evoked and spontaneous discrete waves in the
ventral nerve photoreceptor
J. gen. Physiol. 61, 552-571

