

# 无轴突视网膜间神经元重复峰的产生机制

Mark S. Cembrowski,<sup>1\*</sup> Stephen M. Logan,<sup>3</sup> Miao Tian,<sup>3</sup> Li Jia,<sup>5</sup> Wei Li,<sup>5</sup> William L. Kath,<sup>1,2</sup>  
Hermann Rieke,<sup>1</sup> Joshua H. Singer<sup>3,4</sup>

1 工程科学与应用数学系

2 西北大学神经生物学教研室, 埃文斯顿, IL60208, 美国

3 眼科学系

4 西北大学生理学系, 芝加哥 60611, 美国

5 国家卫生研究院视网膜神经生理学研究室, 马里兰州贝塞斯达 20892, 美国

\*通信: cembrowski@u.northwestern.edu

DOI 10.1016/j.celrep.2011.12.006

## 概要

几种视网膜中间神经元表现出峰发放, 但缺乏轴突。一个这样的神经元是 AII 无轴突细胞, 在细胞体上记录的尖刺表现出小振幅( $< 10\text{mV}$ )和宽时间进程( $>5\text{ ms}$ )。在这里, 我们使用电生理记录和计算分析来检查这种非典型刺突的机制。我们发现, 体细胞尖峰很可能代表了在单一的、电强直的远端树突房室中开始的大型、短暂的动作电位样事件。在同一房室中, 脉冲经历缓慢调制, 可能是通过 M-型 K 电导。与该隔室相关的结构是一个从初级树突延伸出来的薄的神经突: 局部应用 TTX 或切除该神经突可以消除刺突。因此, AII 无轴突的生理比从形态学描述和体细胞记录中预期的要复杂得多; 特别是, AII 拥有一个单一的树枝状结构来控制它的放电模式。

## 介绍

在哺乳动物视网膜中, AII 无轴突细胞将杆驱动的突触输入从杆双极细胞分配到视网膜神经节细胞 ON 和 OFF。通常被称为杆状大腺细胞(Strettoi 等人, 1992), 最近的研究表明, AII 也在锥介导的视觉中起作用(Manookin 等人, 2008; Münch 等人, 2009)。因为 AII 在产生视网膜输出的大部分平行通路中同时在视杆和中介视觉中工作, 理解 AII 对理解视网膜内部的信号至关重要。

全神经元是一种非常规神经元: 它没有轴突, 只有一个体细胞和一棵复杂的树突树(Strettoi 等人, 1992; 冢本等人, 2001; Veruki 等人, 2010)。一项理论研究表明, 小尺寸的全钛(< 端到端距离 100 微米)使其电紧张紧凑(Vardi 和 Smith, 1996)。事实上, 最近的实验证据表明, 各年代树突出现作为一个处理单元: rod-driven 突触输入生成同步输出的开关通路尽管这些输出的位点在物理上独立的部分树突树(墨菲和里克, 2006, 2008; Strettoi 等人, 1992; Tian 等, 2010)。然而, AIIs 的一些峰放电特征与 AIIs 的电强光致密性不一致。AIIs 本身的峰放电速率很高(高达数百赫兹), 身体记录的峰放电很小( $<10\text{ mV}$ ), 很宽( $>5\text{ ms}$ ),

并且能够叠加(Boos 等人, 1993; Tamalu 和 Watanabe, 2007; Tian 等, 2010; Veruki 和 Hartveit, 2002a, 2002b)。目前还不清楚这种非典型的尖峰波形是如何在致密(即等电位)神经元中产生的, 因为体细胞记录中重叠的尖峰通常与多个电独立的树突位置的尖峰产生有关(Oesch 等人, 2005)。然而, AIIs 中存在多个刺突起始位点的说法与最近的观察结果不一致, 即 Na 通道在 AIIs 中的表达集中在单个树突过程中(Wu 等人, 2011)。

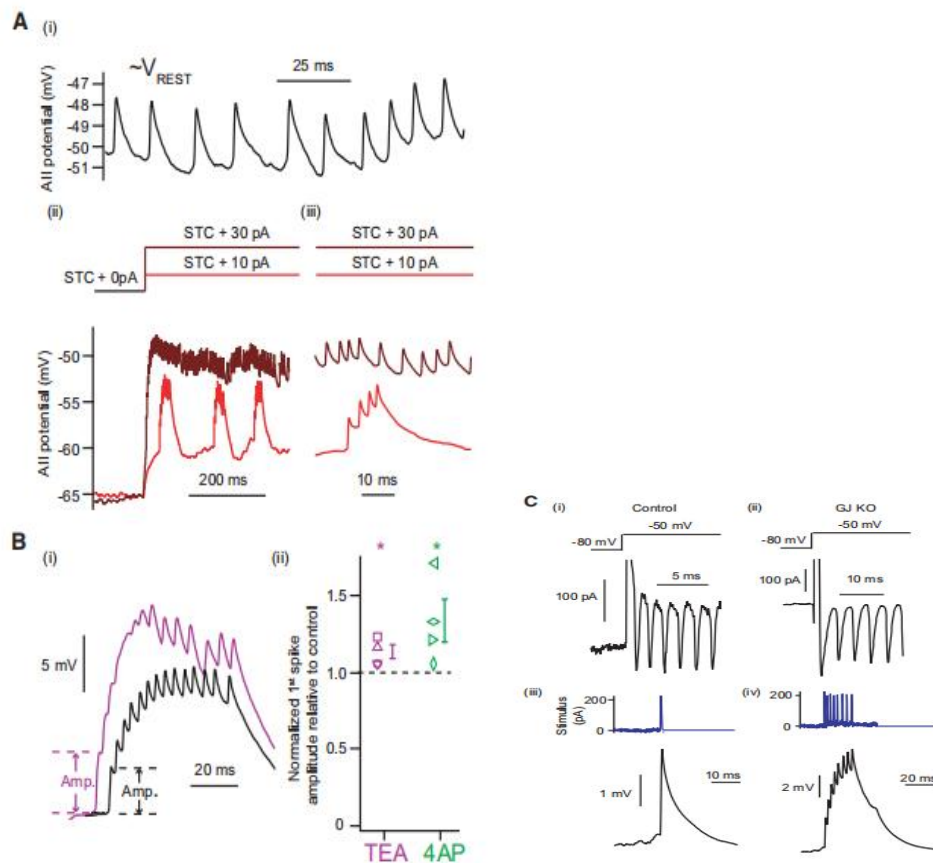


图 1: 体感记录的全区棘突似乎反映了远端起始(A) (i)自发发生的静止棘突表现出小振幅和定型波形。(ii) STC 超极化后, 小电流阶跃引起了叠加的峰放电簇放电。较大的电流台阶引发了滋补放电。(iii)簇放电和滋补尖峰的扩展观点。(B) (i) TEA 抑制了植株的恢复, 适度增加了初穗高。(2) TEA 和 4AP 使穗高显著但小幅增加(TEA: 相对对照  $114 \pm 4\%$ ; 4AP:  $133 \pm 14\%$ 相对于对照组; 每种情况  $n = 4$  个细胞;  $p < 0.05$ ; 误差条表示 SEM)。(C)在电压箝位结构中, 从-80 到-50 mV 的超阈值步骤诱发了野生型(i)和缝隙连接敲除(ii)小鼠 AIIs 中再生的、定型的内向事件。在野生型 AII 中, 在 TTX 存在的情况下, 注入单个内向事件作为去极化电流, 引发了类似于控制条件下的峰放电的波形(iii)。在 TTX 中注入一系列再生事件, 引发了类似于簇放电波形的叠加峰放电(iv)。

在这里, 我们将电生理记录与计算分析相结合, 以阐明 AII 的非常规解剖和电生理特征。我们发现 AII 膜不是等电位的, 也不是从多个树突位置出现的尖峰。相反, 棘突似乎起源于单一的、电强直的远端部位, 这表明 AII 有一个像传统轴

突起始节一样的树突房室。在这个位置，与 m - K 型电导一致的缓慢负反馈机制调制尖峰。我们的结果澄清并扩展了之前对 AII 的分析(Wu 等人, 2011), 并阐明了哺乳动物视网膜中最常见的抑制性中间神经元的意外电紧张结构(Jeon 等人, 1998; Strettoi 和 Masland, 1996): 全脑区(AII)的尖峰起源于其复杂的树突乔木发出的单个神经突, 在体细胞观察到非常规放电模式是由电紧张远端传统 Na 和 K 电导的相互作用控制的。

## 结果

### *AII*s 表现出小幅度的强音和簇放电力

我们首先在适应光的视网膜中记录了 AII 的峰放电。与以前的研究不一致的是, 小穗表现出刻板的波形, 在超极化后缺乏(Boos 等人, 1993; Tian 等, 2010; Veruki and Hartveit, 2002a, 2002b; Wu 等, 2011; 图 1 ai)。此外, 当超极化到阈值( $V_{thres}$  约 60 mV; 通过在中注入超极化直流阈值电流或-30 到-80 pA 的“STC”), 小去极化引起簇放电(图 1Aii,iii)。在簇放电期间, 高频尖峰叠加。当 STC 上施加更大的电流步骤时, 簇放电行为被消除, AII 呈强音上升。

因此, AII 既可以表现为瞬态放电, 也可以表现为脉冲放电, 且放电方式与电压有关。这一发现提供了一个有用的。

### 电导不强烈限制穗高

为了开始理解 AII 的电结构, 我们首先提出了一个简单的问题: 为什么 AII 的身体记录峰放电相对于那些经典神经元小?小尖峰可能反映了电压门控 Na 电导介导的快速 K 电导衰减去极化(Scott 等人, 2007)。这一方案是合理的, 因为 AII 中的 K 电流显示出显著的 A-型成分(Boos 等人, 1993; Tian 等, 2010)。然而, 用 TEA 或 4-AP 阻断 A-K 型电导, 只会在爆炸中产生初始尖峰高度的微小增加(图 1B; 请参阅实验程序了解为什么使用初始峰)。

作为一种替代方法, 刺突可以通过形态阻塞点或漏突在一个或多个与体细胞电强电隔离的树突室中启动。因此, 在体细胞上记录的小刺突可能代表较大的、树突起始的刺突的衰减版本。

在这里, 我们为这一断言提供了实验证据: 在电压箝位中, 躯体保持电位从 -80 mV 到 -50 mV 的一个步骤引发了再生的、*ttx* 敏感的内向动作电流( $n = 4$ , 图 1Ci)。为了排除 AII 之间电耦合导致电压控制不良的可能性, 我们记录 Cx36-/-mouse 中 AII 之间相同的未箝位动作电流, 其中 AII 之间的电耦合不存在( $n = 4/4$ , 图 1Cii; 迪恩斯等人, 2002)。因此, 我们得出结论, 在全细胞内的大多数电压门控 Na 通道必须位于一个(或多个)电紧张位点远端细胞体。

为了研究这些 Na 电流是否是小穗的来源, 在有 TTX 存在的情况下, 通过记录移液管注入记录的 TTX 敏感动作电流。单个动作电流波形引起类似于小穗的电压响应(图 1Ciii), 而注入一系列动作电流引起类似于簇放电的叠加尖峰(图 1Civ)。这些结果表明, 在电压钳中观察到的动作电流是在电流钳的尖峰下, 因此,

即使当体电压保持固定时，尖峰也会发生。

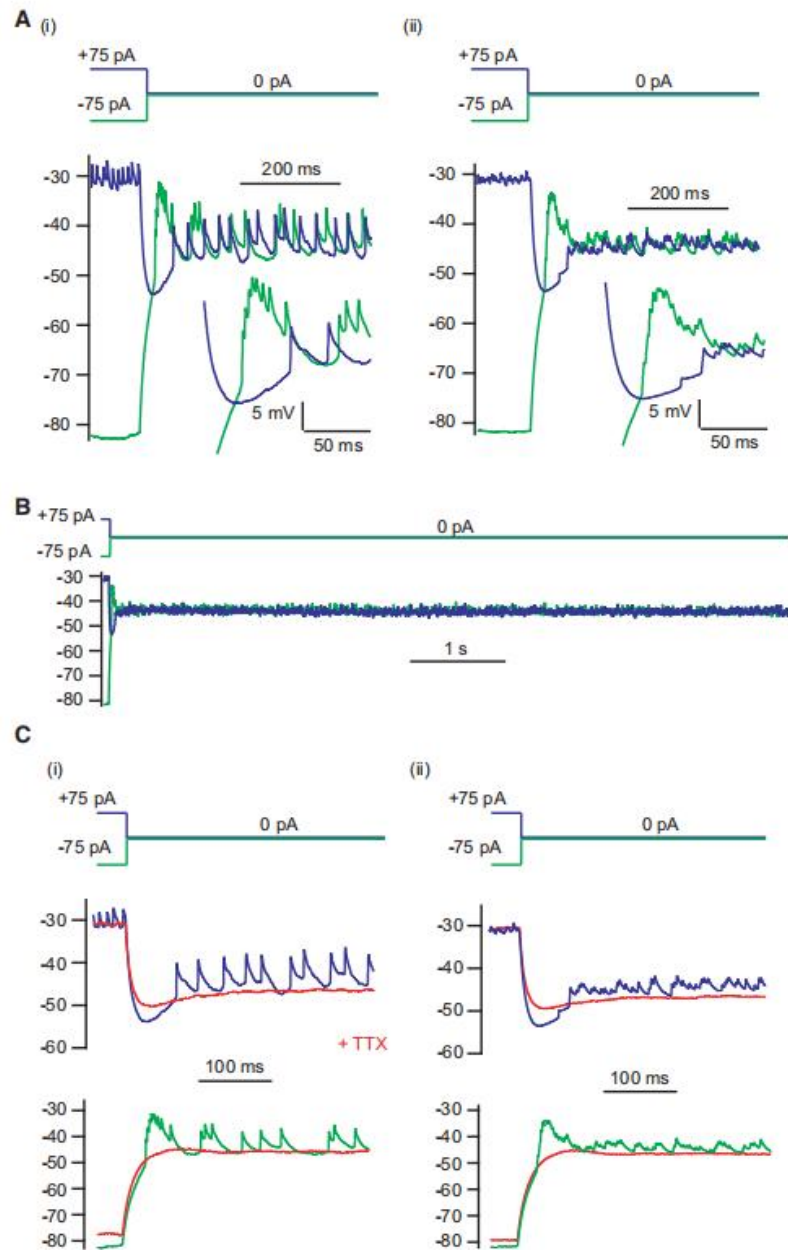


图 2: 慢调制是双向的, 表现为一个时间尺度, 并且是远端。(A)对单个试验(i)和整个试验(ii)的平均值, 在+ 75pA(蓝色)或 -75pA(绿色)电流注入后, 全图的复极化显示。分别响应表现为瞬态后超极化和后去极化, 时间过程相似。(B)较长时间窗口的响应没有显示任何进一步的适应(所描述的平均响应)。(C) TTX(红色)在两个协议中强烈减少电流偏移后的瞬态行为。显示了个体试验(i)和平均响应(ii)。

### 峰放电在单一时间尺度上双向调制

一般来说, 内在簇放电需要由较慢电导的负反馈调制的再生尖峰(Izhikevich, 2007)。为了开始描述 AII 中运行的慢电导, 首先我们评估了它的活跃电压范围。我们考虑了两种可能的情况。第一, 慢电导可能需要超极化才能起作用, 这可能

解释了为什么细胞会在超极化后簇放电(图 1Aii,iii)。第二,慢电导也可能在更多的去极化电位中活跃,因此双向调制尖峰;特别是,由于电导的缓慢适应,从去极化返回应该抑制放电。

为了区分这两种情况,我们检查了大的超极化或去极化电流注射后在电流偏移下的后电位。在所有被测试的 AIIs 中( $n = 6/6$ ),观察到瞬时双向调制:在超极化返回后诱发快速叠加的脉冲(去极化后),而去极化后脉冲被瞬时抑制(去极化后)(图 2Ai, 单次试验;图 2all, 平均响应)。重要的是,这些后去极化和后超极化在持续时间上是可比较的:这一发现表明,单个电导可能是这两种特性的基础。最后,它们的时间尺度与阈值附近自发的再生簇放电相似(图 1Aii)。

对于先前协议中的一个单元子集( $n = 3/6$ ),我们通过跟踪电流偏移后 7 s 的电压响应来寻找更长的时间尺度上的额外适应。对于所有检测过的细胞(三组中的三组),我们没有发现有其他适应的证据(图 2B)。

### 慢调制发生在躯体远端

相对于躯体,慢电导的位置在哪里?如果位于接近体细胞的电紧张电位(因此控制由体细胞电压控制),应用 TTX 应消除尖峰,但不能消除潜在的缓慢后电位。或者,如果慢电导位于远端(例如,接近再生电导),TTX 可能通过阻塞驱动慢调制的大局部电压尖峰对后电位产生很大影响。

我们发现,用 TTX 阻断 Na 通道强烈地减少了瞬时去极化后和超极化后(示例踪迹,图 2Ci;平均响应,图 2Cii)。这一发现支持了我们的断言,即慢电导位于体细胞的远端,并可能在刺突起始位点发现。

TTX 阻断了后去极化和后超极化,这一事实再次与这两种效应一致,可能归因于单个电导。然而,由于这些发现只是间接地支持了这一断言,我们接下来寻求直接识别导致这两种现象的单一电导。

### 慢电导表现为 M - K 型电导

AIIs 中的慢电导调制簇放电类似于 M 型 K 电导,原因有三。一是在峰阈附近活跃,并双向调制峰;二是后电位的时间尺度与其它体系的 M 型电流动力学相似;三,后电位之后没有发生进一步的适应,这与 M 通道的非失活性质一致(Adams 等人, 1982a; Robbins 等人, 1992 年)。因此,我们对 M 型 K 电导与 Na 电导相互作用产生爆破行为的假设进行了检验。我们用 M 型 K 通道拮抗剂盐酸 linopirdine (LP; 30 mM) (Aiken 等人, 1995; Schnee 和 Brown, 1998), 并观察了对簇放电持续时间的影响:如果 M 型 K 电导对终止簇放电至关重要,LP 应增加簇放电持续时间。

LP 存在时,诱发簇放电的持续时间延长( $n = 7$ )。在 7 个 AIIs 中,有 3 个 AIIs 的峰放电/簇放电增加,并维持簇放电(对照 vs LP 峰放电/簇放电:  $3.9 \pm 1.1$  v s  $15.3 \pm 3.0$ ;  $n = 3$ ;  $p < 0.05$ ; 图 3A 和 3B)。在 7 个 AIIs 中的其余 4 个,簇放

电完全被消除，细胞在去极化后只出现强直尖峰(图 3C)。LP 在脉冲内没有影响峰放电的高度，表明它没有在任何明显的程度上阻碍 a - K 型电导(网上可获得的图 S1G)。

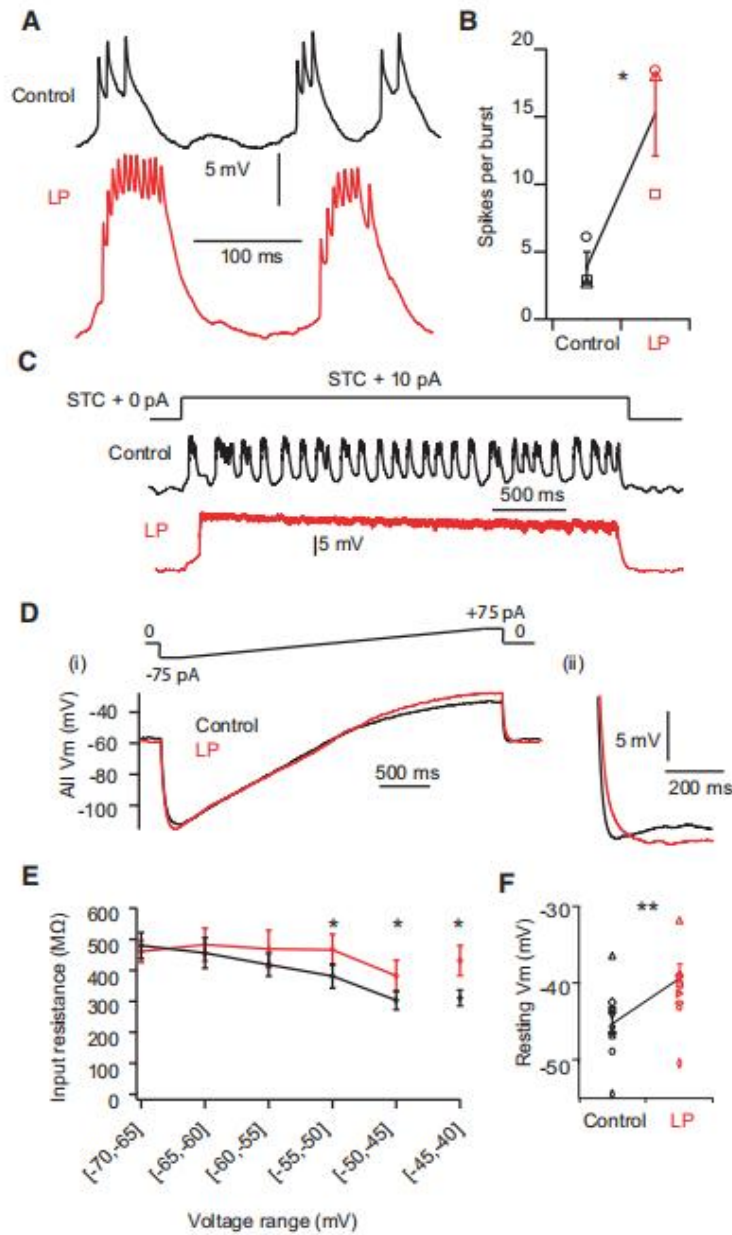


图 3。药物操作的结果与 M 型 K 电导(A)的调节一致，LP 增加了所有部位的尖刺/簇放电。(B) 未显示完全丧失簇放电模式的细胞的汇总数据(对照组 vs LP 峰放电/簇放电:  $3.9 \pm 1.1$  vs  $15.3 \pm 3.0$ ;  $n = 3$ ;  $p < 0.05$ ); (C) 一个全 All 的示例痕迹，爆破被取消(总共  $n = 4$ )。 (D) 在 TTX 存在时，一个全 All 在 2 秒内从 -75 上升到 +75 pA(黑色)，施加 LP 后(红色)。在电流偏移(ii)之后，在 LP 存在的情况下，小的后超极化被消除。(E) 在控制和 LP 中，将斜坡响应划分为 5 mV 电压区间后，输入电阻的总结(见实验程序; 电压间隔 -55 mV 以下,  $p > 0.05$ ; 否则  $p < 0.05$ ; 10 个单元中只有 5 个单元的控制和 LP 电压至少达到 -40 mV, [-45 mV, -40 mV] 数据点表示来自该单元子集的数据; 其他时间间隔  $N = 10$ )。 (F) 加入 LP 后静息电位变化概况(对照:  $-45.2 \pm 1.5$  mV, LP:  $-39.2 \pm 2.0$  mV;  $n = 10$ ;  $p < 0.01$ )。所有误差条表示 SEM。参见图 S1。

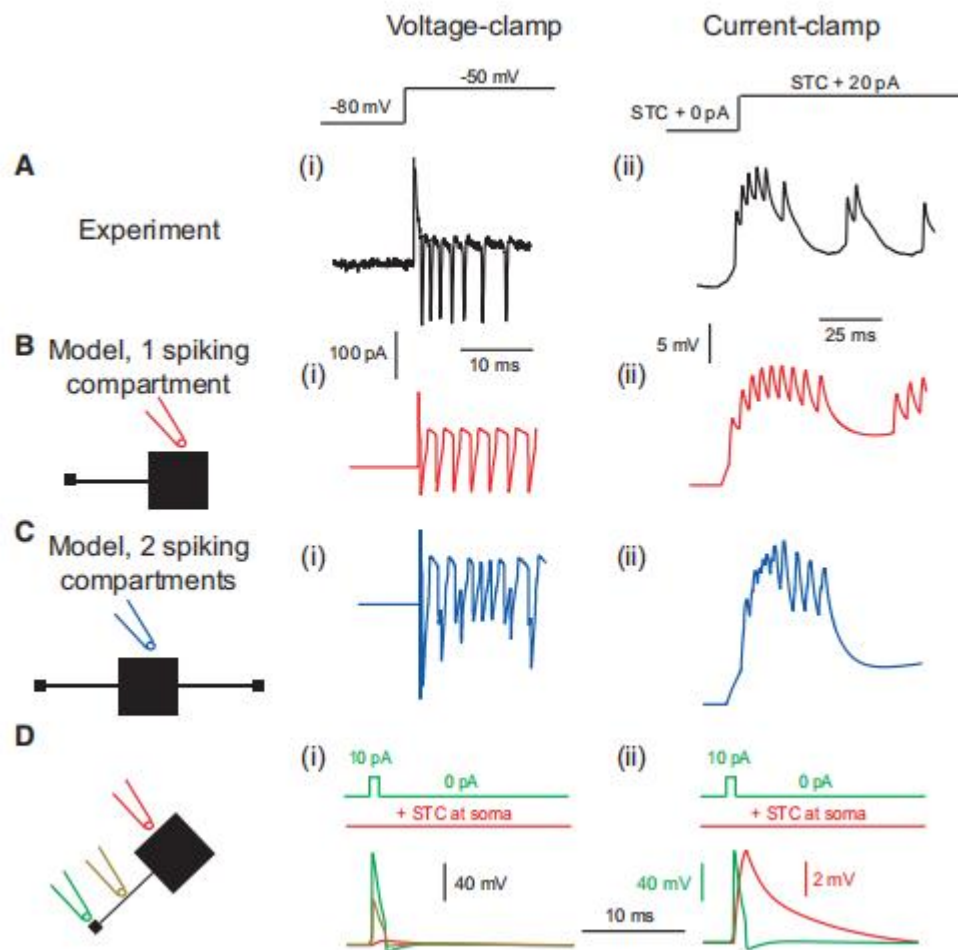


图 4: 计算模型捕获性能的实验观察到飙升只有当存在一个起始点(A)实验记录动作电流(i)和(ii)。(B)模型与一个起始点(见表 S1)复制实验行为在两个电压——(i)和 current-clamp (ii)。(C)和两个模型起始位点产生的模拟体细胞记录是无序的, 与实验结果不一致。(D)在起始位点施加 1 ms, 10 pA 的电流脉冲可以诱发单一的树枝状突刺, 而在体细胞注入 STC 则可以阻止其产生。如图所示(i), 以及相对于起始位点的躯体反应的扩展视图, 以说明随时间进程的变化(ii)。

另外, 我们研究了 LP 如何通过向记录的 ai 注入电流梯度来影响输入电阻和静息膜电位。这些记录是在 TTX 存在的情况下进行的, 以防止峰放电的变化干扰这些测量。LP 去极化 AIIs, 并在去极化电位为 55 mV 时增加  $R_n$ (图 3Di)。对于电流偏移后超极化明显的记录(十个 aii 中有六个), LP 要么降低了它们的振幅( $n = 2/6$ ), 要么完全消除了它们( $n = 4/6$ )(图 3Dii)。这些结果与 LP 阻断 M 型 K 电导是一致的。

使用  $Ba^{2+}$  (250 mM) 阻断 M 型 K 电导得到了定性相同的结果(Adams 等人, 1982b; Kotani 等, 2000; 图 S1A-S1C 和 S1G), 以及高亲和力拮抗剂 XE-991 (10 mM) (Wang 等人, 1998; Zaczek 等人, 1998; 数字 S1D-SG)。此外, 我们消除了其他非 M 型 K 电导(电压门控 Ca 通道、持久 Na chan 通道、HCN 通道和

Ca 门控通道；图 S1H 和 S1I)。因此，这些发现表明，尖峰经历缓慢调制从 M 型 K 电导完全。

### *尖峰只在一个单独的房室中产生*

先前的结果表明，刺突是通过远端细胞体的电紧张电位产生的，但没有说明独立刺突起始位点的数量。因此，我们采用了全成分的分区模型(受之前实验的限制；参见实验程序和表 S1)，以检查一个或多个远端起始位点的活性如何反映在体细胞反应中。对模型 AII 进行相同的注入电流和实验施加的电压步骤(图 4A)，并对模拟和记录的响应进行比较。

具有单一起始点的模型模拟响应再现了实验中看到的尖峰特征(图 4B)：电压步骤引发重复的、刻板的动作电流，电流注入引发重叠尖峰的簇放电，尖峰间间隔显示出明显的难处理性质。然而，具有两个起始位点的模型未能再现实验数据(图 4C)。具体地说，动作电流与尖峰表现出随意叠加，尖峰之间的不应期被消除。加入额外的尖峰区(>2)导致模型的预测进一步偏离实验响应。因此，这些模拟证明了单一的，远端刺突起始位点的存在。

### *模型捕捉并阐明实验记录*

在验证了一个起始位点的简单 AII 模型可以捕捉到 AII 刺突的基本性质后，我们通过模拟图 1-3 的实验，证实了该模型的稳健性，并利用该模型对这些结果进行了机理分析。

首先，我们发现模型 AII 在峰阈值附近表现出带有叠加峰的簇放电，而强直峰出现在更高的电位中(图 5A，参见图 1A)。簇放电由快速放电引起，逐渐被缓慢 K 电导的吸收所淹没；当缓慢的 K 电导不能完全抑制尖峰时，在更多的去极化电位下发生强直放电(图 S2A S2D)。

其次，模拟 K 通道的拮抗作用概括了实验结果(图 5B，cf.图 1B)。模拟 2mM TEA (Tian 等人，2010)，A- K 型电导降低 75%后，初始穗高略有增加。此外，这种 A - K 减少还产生了与实验中看到的类似的扰动簇放电波形；这种体细胞反应代表了恢复受损后的滤波起始点电压(图 S2E 和 S2F)。相反，降低或完全消除慢 K 电导并不会改变初始峰放电高度(参见图 S1)。

第三，AII 模型捕获了瞬态 ttx 敏感后电位(图 5C，cf.图 2)，这是由于在 AII 的长去极化/超极化过程中观察到的快速 Na 和缓慢 K 通道之间的动力学差异。从超极化返回后，Na 电导的激活速度比 K 电导的激活速度快，因而发生后去极化；由于慢 K 电导在去极化返回后缓慢失活，所以发生后超极化。

第四，模型捕获了 LP-、XE-和 ba 诱导的簇放电延长(图 5D，cf. 3；图 S1)。在缓慢 K 密度的中间降低时，簇放电延长但仍然终止；对于较大的密度降低，猝发模式完全被消除，模型 AII 只显示出强直尖峰。对这种转变进行更深入的分析发现，随着慢 K 密度的增加，模型出现了亚临界 Hopf 分岔，而当慢 K 密度随后下降时，模型出现了迟滞(数据未显示)(Izhikevich, 2007)。



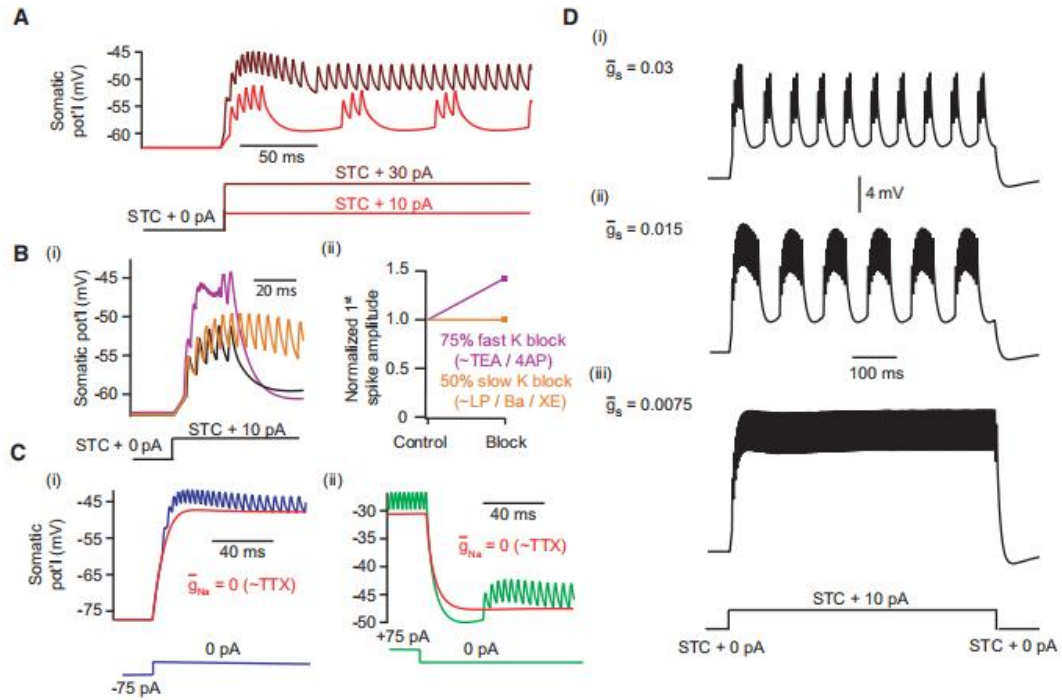


图 5: 单起始位点模型捕捉了所有行为的许多特征(A) STC 后, 小电流(10 pA)和大电流(30 pA)的体反应分别表现为簇放电和强直放电。参见图 S2A-S2D。(B)模拟 K 通道降低后的体电压轨迹, 模拟 TEA/4AP 和 LP/Ba/XE 施加对体电压的影响。结果显示, 对照(黑色), 快速 a 型 K 密度降低 75%(紫色, 初始穗高相对于对照 143%), 慢速 K 密度降低 50%(金色, 初始穗高相对于对照 100%)。参见图 S2E 和图 S2F。(C)说明了大退极化(i)或超极化(ii)电流偏移后的体电压。模型中存在后超极化和后去极化, 并通过消除 Na 通道大大减少(红色)。(D)降低慢 K 密度会延长全模型的簇放电模式。

### 单一远端起始位点的实验证据

我们的单起始位点神经元模型较好地再现了实验数据, 因此我们试图通过实验验证该起始位点的存在。我们通过三种方式做到了这一点。

第一, 我们将 TTX 局部应用于用荧光示踪剂填充记录 AII 后可见的个别神经突(见实验步骤)。我们的目标是一个单独的突起, 它看起来与树突乔木不同; 在某些情况下, 可以观察到这个神经突从初级树突的起点向外延伸一段距离(图 6 Ai, 箭头; 也见 Wu 等人, 2011)。TTX (50 nM)局部应用于这些神经突的远端, 抑制或完全消除了在体侧记录的刺突(图 6Aiv)。相反, 应用 TTX 树突树的其他部分, 包括房室尽可能远末端 10-20 毫米, 明显有较弱的影响(图 6ii-iv)。特别是, 在每一个单元测试, 最强的抑制飙升之后应用 TTX 远端终点站。值得注意的是, 在某些情况下, 该端在物理上与神经元的其余部分分离良好(例如, 图 6Ai), 这可能会使 TTX 暴露在绝大多数 AII 膜上的可能性最小化。

第二, 我们移除了目标神经突的远端部分, 以证明它的存在是刺突起始所必需的: 当用含有荧光示踪剂的体细胞记录吸管记录刺突时, 观察到的神经突被吸入第二支吸管并与细胞分离。切除神经突远端部分后, 钉刺完全消除(图 6Bi; n

= 7)。重要的是，尽管峰放电斜坡电流通常会导致去极化，比之前的  $V_{thres}$  高 20 mV(图 S3)。

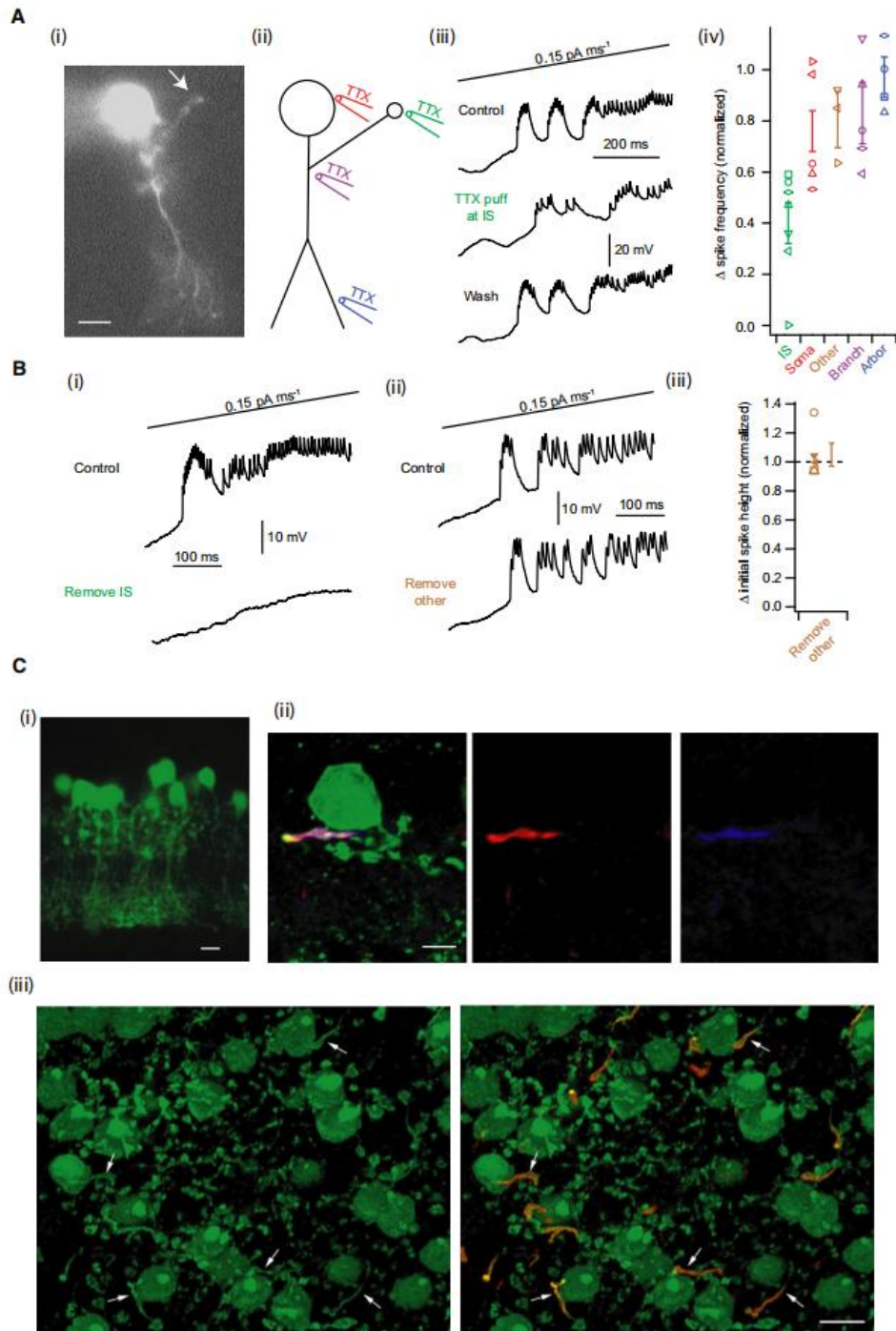


图 6: 单个远端起始位点(a) TTX 应用于可视化假定起始位点的直接实验证据(i, 标尺= 5 $\mu$ m; (iv)局部应用 TTX 后归一化尖峰频率降低的总结(见实验程序)(起始位点 IS:  $0.40 \pm 0.08$ , n = 7; Soma:  $0.76 \pm 0.12$ , n = 5; 其他:  $0.80 \pm 0.10$ , n = 3; 支路:  $0.83 \pm 0.11$ , n = 5; Arbor:  $0.97 \pm 0.08$ , n = 4; 误差条表示 SEM)。

这种峰放电的损失可能不是由于细胞健康的恶化。在先前方案的细胞子集中 ( $n = 2$ ), 在移除假定的起始位点之前, 我们能够在不影响刺突的情况下切除额外的神经突(填充符号, 图 6Biii)。此外, 在一个单独的单元格组(概述符号, 图 6Bii,iii;  $N = 3$ ), 去除非起始位点的神经突起并不影响刺突。因此, 切除单个和特定的神经突远端部分足以消除全区棘突。

第三, 如果在向细胞体被动传播之前, 刺突确实是在 AII 形态的一个单一位点开始的, 那么可以预期 Na 通道的表达也将集中在一个单一位点。因此, 我们使用免疫组化技术检测了 Na 通道和 Na 通道结合蛋白 ankyrin-G 在 AII 视网膜上的定位, AII 在 Fbxo32 启动子控制下表达 GFP (Gong 等人, 2003; Siegert 等人, 2009; 图 6Ci) 与 GFP、ankyrin-G 和 Na 通道抗体孵育(见实验步骤)。在横切面中, 我们发现抗 Na 通道和抗原- G 抗体标记被共定位, 并局限于电生理学研究的单个神经突(图 6Cii)。我们在视网膜整体支架上更详细地研究了这些过程: 表达 *gfp* 的神经突起显示出锚蛋白- G 的表达, 明显地从个体 AII 的近端部分延伸(图 6Ciii; 注意, 抗 na 通道抗体没有用于整体安装实验, 因为它比抗锚蛋白- G 抗体产生更多的非特异性(背景)信号。这些结果与最近的一份报告(Wu 等人, 2011)一致, 并支持了我们的电生理学 and 计算证据, 证明单, 远端位点下的刺突。

### 一个形态逼真的模型再现实验结果

在描述了构成刺突起始点的树突隔室之后, 我们认为有必要将我们的研究扩展到三隔室模型之外, 并验证具有真实形态的模型能够捕捉到实验结果。填充并成像(见实验步骤和表 S2), 显示长电缆不对称地从主枝晶分叉(图 7A; 箭头: 推定起始位点)。基于该成像 AII 的形态逼真模型产生了与三个室室 AII 产生的衰减相似的起始位点和体细胞之间的衰减(图 7B 和 7C; cf. 图 4 d)。此外, 形态逼真的模型产生了实验和简单模型中看到的双重射击模式(图 7D; 参见图 1 和 5A)。

重要的是, 这个详细的模型表明, 在细胞体、小叶附属物和树状树突处衰减的程度非常相似(图 7C)。因此, 在考虑刺突动力学时, 将形态复杂的全层结构简化为简单的三室模型是合理的。此外, 这一发现表明, 在 AII 接触 ON 和 OFF 双极锥细胞的物理分离位置(分别通过电突触和化学突触), 峰放电高度是相似的。

## 讨论

在本研究中, 我们证明了在无轴突全胞大突细胞的体细胞中记录的小穗代表了在单一的、电紧张电位远端起始位点产生的大事件。在这个远端树突位置, 电压门控 Na 电导似乎与缓慢的 M 型 K 电导共域。在这个位置产生的刺突类似于动作电位, 当它们传播到体细胞并被记录下来时, 它们会被过滤。一个形态逼真的模型表明, 在复杂的树突乔木的尖峰波形类似于在体细胞。AII 表现出一种意想不到的有趣的电紧张结构: 尽管它的尺寸很小, 但它包含一个电子远端树突隔室, 由于存在的钠和钾电导的相互作用, 它作为一个整体调节神经元的电行为。

### 所有武器的双重射击模式

由于 M 型 K 电导的调制，全钛呈现出两种发射模式：在阈值附近簇放电和在更多去极化电位下的 tonic 发射。因此，Na 通道介导的输入放大可能会随全细胞静息电位的变化而变化，正如之前所证明的(Tian 等人， 2010)。

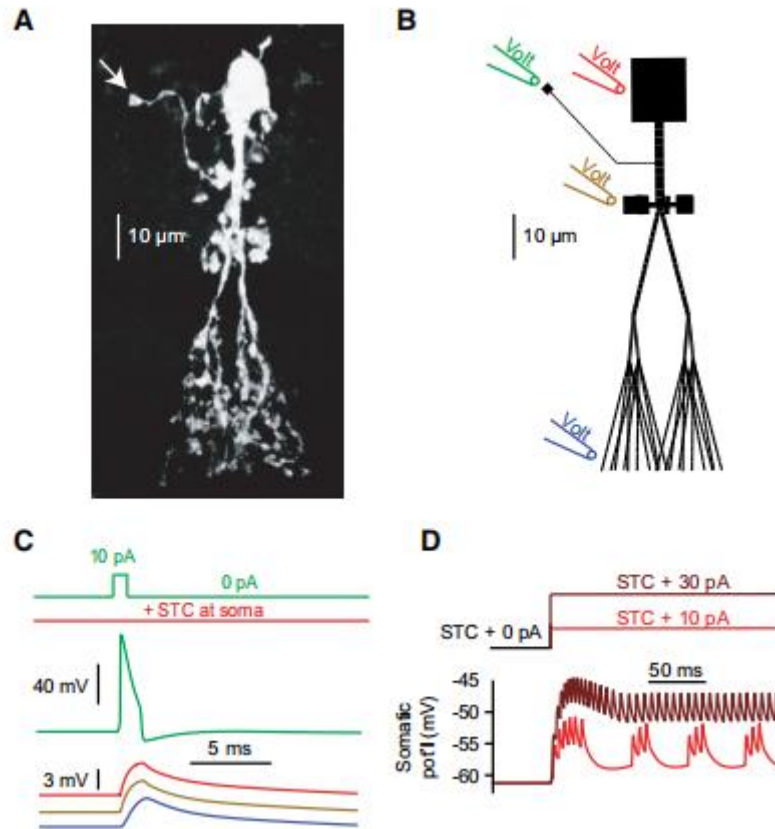


图 7: 形态学详细模型的行为与简化的三室模型相似，并捕获实验响应(A)一个个体的共聚焦图像。有一根长而不分叉的电缆，有一个假定的起始位点(箭头)。(B)形态详细的模型 AII(见表 S2)，说明了各自的记录位置。(C)通过在起始位点施加 1 ms, 10 pA 的电流脉冲，在详细的全细胞中诱发单个树枝状突刺，否则通过在体细胞注入 STC 来阻止其放电(参见图 4D)。在向初生枝晶方向扩展的过程中，长穗显著衰减。然而，到达这个神经突后，在胞体、小叶附属物和远端树突乔木处的电压响应是相似的。(D)详细的形态模型同时表现为脉冲放电和强直放电。

AII 在体内的静息膜电位尚不清楚。来自体外实验的 AII 静息电位报告差异很大，并没有显示出对任何物种或视网膜适应状态的明显依赖：-65 mV(暗适应鼠，Pang 等人， 2004)， -59 mV(光适应鼠，Boos 等人， 1993)， -50 mV(光适应鼠，Tian 等人， 2010)， -46 mV(暗适应鼠，Dunn 等人， 2006)， -37 mV(暗适应鼠，Tamalu and Watanabe, 2007)。虽然产生这种变化的原因尚不清楚，但值得注意的是，这些静息电位跨越了一个电压范围，在这个电压范围内两种放电模式都可以发生。因此，可以合理地预期 AII 可能在生理环境中利用两者。

AII 的静息膜电位似乎取决于耦合 on 锥双极(CBs)的电压。有研究表明, L-AP4 通过折磨杆状双极子(RBs)和 ON CBs 的代谢谷氨酸受体使其超极化, 在 AII 中也产生大的(15-20 mV)超极化(Tamalu 和 Watanabe, 2007)。当来自 RBs 的传输被阻断时, 我们也发现了类似的结果(数据未显示), 这表明间隙连接耦合 ON CBs 中的突触活动可以塑造 AII 静息电位。这种安排可能提供了一种方法, 通过这种方法, ON CBs 的活动可以调节 AII 的兴奋性; 特别地, 超极化的 ON CBs 可以使 AII 在黑暗中倾向于簇放电, 而去极化的 ON CBs 可能会在明亮的场景中诱导滋补峰。

簇放电也可能作为一种机制来增强对间隙连接耦合细胞的驱动。AII 中的单个尖峰被间隙连接严重过滤, 因此在偶联细胞之间传播很差(Veruki 和 Hartveit, 2002a, 2002b)。通常在簇放电波形中看到的叠加尖峰, 可以通过产生时间相对较宽的放大响应, 提供一种绕过这种滤波的方法。通过这种方式, 发射的模式(脉冲和强直性脉冲)可能是通过间隙连接传递钠介导事件的重要决定因素。这可能提供了一种调节 AII 感受大小的方法, 补充了 AII 间隙连接本身固有的可塑性(Bloomfield and Volgyi, 2004; Veruki 等人, 2008 年)。

#### *单一起始位点与已发表的观察结果一致*

最近一项对 AII 中钠通道表达的研究表明, 这些神经元中的钠通道主要集中在一个单一过程中(Wu 等人, 2011; 另见图 6)。在这里, 我们不仅证明了这一过程作为一个脉冲起始位点, 而且它的电生理特征控制着在全脑区观察到的令人惊讶的复杂放电模式。

我们发现, 突刺的起始位点是电紧张电位从整个神经元中分离出来的, 这与各种关于 AII 功能的研究相一致。具体来说, 在 AII 电突触的研究中, 观察到耦合神经元之间的突刺的被动传递(Veruki and Hartveit, 2002a, 2002b)。这一结果表明, 在远端树突乔木中发现的间隙连接附近不会产生尖刺(Strettoi 等人, 1992; Tsukamoto 等人, 2001)。此外, 我们的形态现实模型预测了突刺在乔木上的被动传播(图 7C)。

此外, TTX 对 AII 输出到 on 和 OFF 通路(分别通过间隙连接和抑制性甘氨酸能突触)的时间具有同等作用, 这也证明了分离出了脉冲产生机制(Tian 等人, 2010)。由于间隙连接主要位于远端树突上, 甘氨酸能突触前终端位于近端小叶附件(Habermann 等人, 2003; Strettoi 等人, 1992; Tsukamoto 等人, 2001), 很可能活性峰放电不会发生在这些位点或在这些位点之间。

最后, AII 的胞体可以被排除为突刺起始的位置, 因为从胞体中切除的有核斑块中没有发现 Na 电流(Tian 等人, 2010)。然而, 钠通道可能位于胞体和近端树突附近(Tamalu 和 Watanabe, 2007)。鉴定出一个从 AII 的初级树突分支而来的单薄的神经突作为突刺起始位点(图 6A 和 7A), 满足了 Na 通道在空间上靠近 AII 体细胞, 同时保持电强直与细胞其他部分隔离的要求。

## 对电路处理的影响

AII 是一种多功能神经元,在视杆和视锥介导的视觉中都发挥着重要作用(Deans 等, 2002; Field 等, 2009; Manookin 等人, 2008; Münch 等人, 2009; Volgyi 等人, 2004)。AII 的非传统电紧张结构是如何在这些不同的通路中促进加工的?基于我们在一个独特的全 AII 过程中发现了一个孤立的功能峰区,我们很自然地会问这个过程是否有它自己的专用输入或输出。这种有策略地放置的输入可以控制细胞的放电,从而调节分布在树突其余部分的其他输入的处理。同时,由于直接耦合到刺突,特殊工艺的输出可能具有与整个树突其余部分完全不同的特性。

尽管这些尚未建立输入和输出功能,解剖使用免疫组织化学(吴 et al., 2011)和 EM(安德森 et al., 2011)表明,他们可能存在(但看到范疣 et al., 2005 年,未能定位神经突触泡标记 Na-channel 密集的过程类似于这些的)。此外,在记录中,微弱的 RB 输入在控制条件下可靠地诱发了放电,但在 TTX 应用后几乎没有产生躯体反应(Tian 等人, 2010 年的图 5)。这一发现提示某些 RB 输入是电紧张电位接近突波起始位点,并提出了一个有趣的可能性,即突波可能优先放大暗位输入。因此,一个重要的目标是确定是否确实存在电紧张电位接近 AII 起始位点的功能性突触接触,如果是,它与什么类型的细胞建立连接。这将提供实质性的见解,以全面的贡献,以视网膜电路执行的视觉处理。

## 结论

值得注意的是,除了全细胞外,另外两类大泡细胞也显示出非紧密性。这两种细胞利用了这种电紧张结构的不同优势。在星突细胞中,单个的神经突作为独立的电单元产生方向选择性的树突钙信号(Euler 等人, 2002)。在 A17 细胞中,一系列的树突静脉曲张被纤细的突起隔开,彼此独立运作,在最小化布线成本的同时并行处理信号(Grimes 等人, 2010)。因此,在已知的三个最大的无瘤细胞种群中(Strettoi 和 Masland, 1996),所有的细胞都表现出非紧张性。

## 实验程序

### 组织制备与电生理实验

视网膜切片(200 微米厚)取自成年(P28-56)适应光的 C57BL/6 野生型和 Cx36 敲除(Deans 等人, 2001)小鼠的视网膜,如前面所述(Tian 等人, 2010)。Cx36 敲除小鼠的输入电阻更高( $R_n = 1.6 \pm 0.6 \text{ G}\Omega$ ;  $n = 6$ )与野生型小鼠( $R_n 400 \pm 500 \text{ M}\Omega$ ; 图 3E),与 Cx36 敲除小鼠的缝隙连接被破坏一致。西北大学动物保护与使用委员会批准了所有涉及动物使用的程序。

如前所述(Tian 等人, 2010),在接近生理温度(34°C)的条件下,用人工脑脊液对 AIIs 进行电流和电压箝位记录(见溶液组成的扩展实验程序)。化学突触传递被药理学阻断(见扩展实验程序)。接入电阻一般为 25 M $\Omega$ ;没有使用补偿,也没有校正结电位。

在局部应用 TTX 的实验中，我们通过一个小移液管(针尖直径  $< 1$  毫米；尖端阻力  $12 \text{ MU}$ )填充 HEPES 缓冲的 ACSF (40 mM HEPES 取代  $\text{NaH}_2\text{CO}_3$ )，并定位在结构 visu 附近，由身体记录吸管中的 Alexa 示迹液的外荧光照明。含 TTX 的溶液通过嘴施加温和的压力喷射出来：我们发现这种方法比使用 Picospritzer 这样的机械设备更容易在切片内产生空间受限的 TTX 丸。我们首先针对的是不对称分布于全 i 初级树突周围的静脉曲张，这些静脉曲张似乎经常通过未分叉的神经突与初级树突相连(例如，图 6Ai，箭头)。当这些神经突可以清晰地显示时，TTX 应用程序对其 sup 显著或完全减少了体感记录的峰放电。在一些记录中，没有不对称的神经突突出为明确的候选起始位点，可能是因为其中一个被其他结构掩盖了。当这种情况发生时，多个隔层会连续成为目标，直到确定一个对 ttx 敏感的隔层。在这种情况下，只有一个位点表现出很强的 TTX 敏感性；其他候选站点包括在分析中，并在图 6Aiv 中标注为“other”。在这个图中，峰放电频率被计算为  $\bar{f}$ ，即在初始峰放电之后的 300 ms 时间窗口内的平均峰放电率(3-4 次试验的平均值)。

为了从刺突神经元上切除假定的起始位点，在目标神经突被看到(如上所示)后，将远端端用温和的吸力(用嘴吸)吸入充满 hepes 缓冲 ACSF 的移液管(如上所示)。一旦移液管的远端进入到移液管中，然后轻轻地将移液管从记录的细胞上拉开，观察这一过程与记录的细胞分离。

使用 IGOR Pro (Wavemetrics)和 Microsoft Excel (Microsoft)进行分析。配对双尾 t 检验用于比较配对数据集，显著性接受为  $p < 0.05$ 。数据以平均扫描电镜(SEM)的形式呈现，一些图形还包括表示单个单元格的符号。

### 分析记录

通过对电流箝位记录的导数施加一个阈值来检测峰放电，并将脉冲识别为一组连续 20 ms 的峰放电。由于簇放电性突增倾向于表现为突增间期  $\approx 8 \text{ ms}$ ，突增间期一般为  $\approx 40 \text{ ms}$ (例如，图 1Aii)，选择 20 ms 的窗口可以将簇放电期和静止期分开。单个峰放电的振幅表现出某种程度上依赖于簇放电的时间；因此，在研究 K 通道拮抗剂对穗高的影响时(图 1B；图 S1)，我们将我们的分析限制在爆炸中的第一个尖峰。初始峰放电高度定义为簇放电事件中第一个峰放电和第二个峰放电之间在时间窗口内的最大电压差(图 1Bi 中有代表性的簇放电事件)。

### 计算模型

所有数值模拟均使用计算软件 NEURON (Hines and Carnevale, 1997)，采用可变时间步长(CVODE)方法进行。

三室形态由以下组成：一个大的圆柱体(体)连接到一根细电缆(电缆)，末端是静脉曲张(起始部位)。采用大的体细胞模型来表示胞体和树状树突的电等效。取缆和起爆部位来代表长神经突和末端静脉曲张，它们的长度和直径是通过共聚焦成像(LSM 510；卡尔·蔡司)，一个全是 Alexa 594 的人。如图 4 所示，为了便

于说明, 将电缆和起爆点放大。将电缆设为无源, 将霍奇金-赫胥黎式有源电导添加到峻麻和起爆位点。在两个部分中都插入了一个不完全失活的 a 型电导, 其参数受电压箝位记录的限制(Tian 等人, 2010)。起始位点含有额外的快速 Na 和缓慢的非失活 K 电导。对于包含两个尖刺室的模拟, 包括第二个相同的电缆和起爆点, 并连接到体细胞。关于使用程式化形态的模拟的全面细节, 参见扩展实验程序和表 S1。

为了模拟形态逼真的全胞体, 我们复制了一个充满荧光示踪剂的全胞体(具体测量见扩展实验程序和表 S2)。在三室模型中, 主动电导被插入起始点, 而相关的电缆是被动的。机体也被认为是被动的, 正如实验证明的那样(Tian 等人, 2010)。A-type K 在剩余的结构中均匀分布, 其密度采用三室模型。所有与有源和无源电导相关的参数都与三室模型中使用的参数相同。详情请参阅扩展实验程序。

### 免疫组织化学

视网膜从 GENSAT 项目产生的 Fbxo32-GFP 小鼠中分离(Gong 等人, 2003; Siebert 等人, 2009 年)。冷冻精子(FVB 背景)来自 NIH 突变小鼠区域资源中心(MMRC), c57bl/6 小鼠的卵子体外受精和受精卵植入 c57bl/6 雌性小鼠的卵子由美国西北大学转基因和靶向突变实验室进行。小鼠被培育为  $\delta$ ; 在 c57bl/6 背景下 5 代后进行实验。

在氧合的 Ames 培养基中分离后视网膜感觉在多聚甲醛固定 15 分钟在 0.1 PBS(4%), 然后洗在标准溶液(0.1 米钠磷酸盐缓冲剂加 0.5% Triton x - 100 和 0.1% NaN<sub>3</sub> [pH 值 7.4])和阻塞在标准溶液+ 4%驴血清和鼠标在鼠标(M.O.M)阻断剂(向量实验室, mkb - 2213)。然后将视网膜与一抗包括鸡抗 GFP 抗体(1: 100, Aves Labs, GFP-1020)、小鼠抗 Ankyrin G 抗体(1: 100, Santa Cruz Biotechnology, sc-12719)和兔抗 Pan Nav 抗体(1: 50, Alomone, ASC-003)在 4°C 孵育 5 天。二抗(Alexa 488 偶联驴抗鸡抗体、cy3 偶联驴抗鼠抗体和 cy5 偶联驴抗兔抗体)在 4°C 下过夜。

视网膜也嵌入 5%琼脂糖中, 在振动切片上切成 150mm 切片, 并使用上述的一抗(4°C 过夜)和二抗(室温 1 小时)染色。

图像由 LSM-510 共聚焦显微镜(蔡司)采集, 蔡司 Zen 和 Photoshop 软件处理。

### 补充信息

补充信息包括三张图, 两张表和扩展的实验程序, 可以在 doi: 10 上找到这篇文章。1016 / j.celrep.2011.12.006。

### 授权信息

这是一篇根据知识共享署名-非商业-禁止衍生作品 3.0 非移植许可条款发布的开放获取文章(CC-BY-NC-ND; <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3>。



0 / legalcode)。

## 致谢

这项工作得到了 EY017836 给 j.h.s., NIH-CRCNS EY021372 给 j.h.s., W. L.K 和 h.r.的支持, NSF 研究生研究奖学金给 M.S.C, 防止失明研究(RPB)给西北大学眼科的无限制拨款, 和 NEI 内部研究项目的 w. l。J.H.S.是 RPB 色素性视网膜炎的特别学者。我们非常感谢 D. Paul 博士提供 Cx36 淘汰小鼠。我们感谢 T. Jarsky 博士的许多有益的讨论, J. Demb 博士对手稿草稿的评论, 以及 V.J. Dudley 的技术援助。

收稿日期: 2011 年 11 月 22 日

修订日期: 2011 年 12 月 14 日

接受日期: 2011 年 12 月 21 日

在线发布: 2012 年 2 月 9 日

## 参考文献

- Adams, P.R., Brown, D.A., and Constanti, A. (1982a). M-currents and other potassium currents in bullfrog sympathetic neurones. *J. Physiol.* 330, 537–572.
- Adams, P.R., Brown, D.A., and Constanti, A. (1982b). Pharmacological inhibition of the M-current. *J. Physiol.* 332, 223–262.
- Aiken, S.P., Lampe, B.J., Murphy, P.A., and Brown, B.S. (1995). Reduction of spike frequency adaptation and blockade of M-current in rat CA1 pyramidal neurones by linopirdine (DuP 996), a neurotransmitter release enhancer. *Br. J. Pharmacol.* 115, 1163–1168.
- Anderson, J.R., Jones, B.W., Watt, C.B., Shaw, M.V., Yang, J.H., Demill, D., Lauritzen, J.S., Lin, Y., Rapp, K.D., Mastrorade, D., et al (2011). Exploring the retinal connectome. *Mol. Vis.* 17, 355–379.
- Bloomfield, S.A., and Volgyi, B. (2004). Function and plasticity of homologous coupling between AII amacrine cells. *Vision Res.* 44, 3297–3306.
- Boos, R., Schneider, H., and Wässle, H. (1993). Voltage- and transmitter-gated currents of all-amacrine cells in a slice preparation of the rat retina. *J. Neurosci.* 13, 2874–2888.
- Deans, M.R., Gibson, J.R., Sellitto, C., Connors, B.W., and Paul, D.L. (2001). Synchronous activity of inhibitory networks in neocortex requires electrical synapses containing connexin36. *Neuron* 31, 477–485.
- Deans, M.R., Volgyi, B., Goodenough, D.A., Bloomfield, S.A., and Paul, D.L. (2002). Connexin36 is essential for transmission of rod-mediated visual signals in the mammalian retina. *Neuron* 36, 703–712.
- Dunn, F.A., Doan, T., Sampath, A.P., and Rieke, F. (2006). Controlling the gain of rod-mediated signals in the Mammalian retina. *J. Neurosci.* 26, 3959–3970.
- Euler, T., Detwiler, P.B., and Denk, W. (2002). Directionally selective calcium signals in dendrites of starburst amacrine cells. *Nature* 418, 845–852.
- Field, G.D., Greschner, M., Gauthier, J.L., Rangel, C., Shlens, J., Sher, A., Marshak, D.W., Litke, A.M., and Chichilnisky, E.J. (2009). High-sensitivity rod photoreceptor input to the blue-yellow color opponent pathway in macaque retina. *Nat. Neurosci.* 12, 1159–1164.
- Gong, S., Zheng, C., Doughty, M.L., Losos, K., Didkovsky, N., Schambra, U.B., Nowak, N.J., Joyner, A., Leblanc, G., Hatten, M.E., and Heintz, N. (2003). A gene expression atlas of the central nervous system based on bacterial artificial chromosomes. *Nature* 425, 917–925.
- Grimes, W.N., Zhang, J., Graydon, C.W., Kachar, B., and Diamond, J.S. (2010). Retinal parallel processors: more than 100 independent microcircuits operate within a single interneuron. *Neuron* 65, 873–885.
- Habermann, C.J., O'Brien, B.J., Wässle, H., and Protti, D.A. (2003). AII amacrine cells express L-type calcium channels at their output synapses. *J. Neurosci.* 23, 6904–6913.
- Hines, M.L., and Carnevale, N.T. (1997). The NEURON simulation environment. *Neural Comput.* 9, 1179–1209.
- Izhikevich, E.M. (2007). *Dynamical systems in neuroscience: the geometry of excitability and bursting* (Cambridge, MA: MIT Press).
- Jeon, C.J., Strettoi, E., and Masland, R.H. (1998). The major cell populations of the mouse retina. *J. Neurosci.* 18, 8936–8946.

Kotani, S., Hirasawa, T., Suzuki, T., Sato, K., Sakakibara, M., and Tokimasa, T. (2000). Mechanisms underlying the M-current block by barium in bullfrog sympathetic neurons. *Neurosci. Lett.* 285, 1–4.

Manookin, M.B., Beaudoin, D.L., Ernst, Z.R., Flagel, L.J., and Demb, J.B. (2008). Disinhibition combines with excitation to extend the operating range of the OFF visual pathway in daylight. *J. Neurosci.* 28, 4136–4150.

Munich, T.A., da Silveira, R.A., Siegart, S., Viney, T.J., Awatramani, G.B., and Roska, B. (2009). Approach sensitivity in the retina processed by a multifunctional neural circuit. *Nat. Neurosci.* 12, 1308–1316.

Murphy, G.J., and Rieke, F. (2006). Network variability limits stimulus-evoked spike timing precision in retinal ganglion cells. *Neuron* 52, 511–524.

Murphy, G.J., and Rieke, F. (2008). Signals and noise in an inhibitory interneuron diverge to control activity in nearby retinal ganglion cells. *Nat. Neurosci.* 11, 318–326.

Oesch, N., Euler, T., and Taylor, W.R. (2005). Direction-selective dendritic action potentials in rabbit retina. *Neuron* 47, 739–750.

Pang, J.J., Gao, F., and Wu, S.M. (2004). Light-evoked current responses in rod bipolar cells, cone depolarizing bipolar cells and AII amacrine cells in dark-adapted mouse retina. *J. Physiol.* 558, 897–912.

Robbins, J., Trouslard, J., Marsh, S.J., and Brown, D.A. (1992). Kinetic and pharmacological properties of the M-current in rodent neuroblastoma x glioma hybrid cells. *J. Physiol.* 451, 159–185.

Schnee, M.E., and Brown, B.S. (1998). Selectivity of linopirdine (DuP 996), a neurotransmitter release enhancer, in blocking voltage-dependent and calcium-activated potassium currents in hippocampal neurons. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 286, 709–717.

Scott, L.L., Hage, T.A., and Golding, N.L. (2007). Weak action potential back propagation is associated with high-frequency axonal firing capability in principal neurons of the gerbil medial superior olive. *J. Physiol.* 583, 647–661.

Siegert, S., Scherf, B.G., Del Punta, K., Didkovsky, N., Heintz, N., and Roska, B. (2009). Genetic address book for retinal cell types. *Nat. Neurosci.* 12, 1197–1204.

Strettoi, E., and Masland, R.H. (1996). The number of unidentified amacrine cells in the mammalian retina. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 14906–14911.

Strettoi, E., Raviola, E., and Dacheux, R.F. (1992). Synaptic connections of the narrow-field, bistratified rod amacrine cell (AII) in the rabbit retina. *J. Comp. Neurol.* 325, 152–168.

Tamalu, F., and Watanabe, S. (2007). Glutamatergic input is coded by spike frequency at the soma and proximal dendrite of AII amacrine cells in the mouse retina. *Eur. J. Neurosci.* 25, 3243–3252.

Tian, M., Jarsky, T., Murphy, G.J., Rieke, F., and Singer, J.H. (2010). Voltage gated Na channels in AII amacrine cells accelerate scotopic light responses mediated by the rod bipolar cell pathway. *J. Neurosci.* 30, 4650–4659.

Tsukamoto, Y., Morigiwa, K., Ueda, M., and Sterling, P. (2001). Microcircuits for night vision in mouse retina. *J. Neurosci.* 21, 8616–8623.

Van Wart, A., Boiko, T., Trimmer, J.S., and Matthews, G. (2005). Novel clustering of sodium channel Na(v)1.1 with ankyrin-G and neurofascin at discrete sites in the inner plexiform layer of the retina. *Mol. Cell. Neurosci.* 28, 661–673.

- Vardi, N., and Smith, R.G. (1996). The AII amacrine network: coupling can increase correlated activity. *Vision Res.* 36, 3743–3757.
- Veruki, M.L., and Hartveit, E. (2002a). AII (Rod) amacrine cells form a network of electrically coupled interneurons in the mammalian retina. *Neuron* 33, 935–946.
- Veruki, M.L., and Hartveit, E. (2002b). Electrical synapses mediate signal transmission in the rod pathway of the mammalian retina. *J. Neurosci.* 22, 10558–10566.
- Veruki, M.L., Olstedal, L., and Hartveit, E. (2008). Electrical synapses between AII amacrine cells: dynamic range and functional consequences of variation in junctional conductance. *J. Neurophysiol.* 100, 3305–3322.
- Veruki, M.L., Olstedal, L., and Hartveit, E. (2010). Electrical coupling and passive membrane properties of AII amacrine cells. *J. Neurophysiol.* 103, 1456–1466.
- Völgyi, B., Deans, M.R., Paul, D.L., and Bloomfield, S.A. (2004). Convergence and segregation of the multiple rod pathways in mammalian retina. *J. Neurosci.* 24, 11182–11192.
- Wang, H.S., Pan, Z., Shi, W., Brown, B.S., Wymore, R.S., Cohen, I.S., Dixon, J.E., and McKinnon, D. (1998). KCNQ2 and KCNQ3 potassium channel subunits: molecular correlates of the M-channel. *Science* 282, 1890–1893.
- Wu, C., Ivanova, E., Cui, J., Lu, Q., and Pan, Z.H. (2011). Action potential generation at an axon initial segment-like process in the axonless retinal AII amacrine cell. *J. Neurosci.* 31, 14654–14659.
- Zaczek, R., Chorvat, R.J., Saye, J.A., Pierdomenico, M.E., Maciag, C.M., Logue, A.R., Fisher, B.N., Rominger, D.H., and Earl, R.A. (1998). Two new potent neurotransmitter release enhancers, 10,10-bis(4-pyridinylmethyl)-9(10H)-anthracenone and 10,10-bis(2-fluoro-4-pyridinylmethyl)-9(10H)-anthracenone: comparison to linopirdine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 285, 724–730.