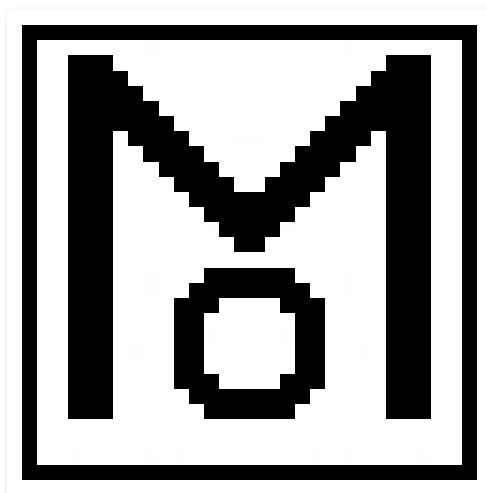


MED64 Mobius チュートリアル



目 次

第 1 章 イントロダクション

1.1. MED64 Mobius とは？	1
1.2. 使用上の注意	5
1.2.1. 全般	5
1.2.2. Acquire MED64R2 Data w/Stim	5
1.2.3. Replay Raw Data File	5
1.2.4. Extract Spikes / Extract Long Spikes	6
1.2.5. Filter Raw Data	6
1.2.6. Compute Measure Averages	6
1.3. アクティベーション	6
1.4. Mobius を起動する	6
1.4.1. Mobius Editor を使ってユーザーに固有のワークフローを作成する	7
1.4.2. ワークフローを実行する	10
1.4.3. テンプレートを利用する	10

第 2 章 fEPSP (field excitatory postsynaptic potential) の記録

2.1. 急性海馬切片を用いた fEPSP の記録	12
2.1.1. Single_pulse_recording の概要	12
2.1.2. Acquire MED64R2 Data w/Stim の概要	13
2.1.3. ワークフローを実行する	14
2.1.4. 実験を始める前に	15
2.1.5. 単一パルス刺激により誘発される fEPSP を記録する	15
2.2. 長期増強 (long term potentiation; LTP) の誘導	17
2.2.1. 刺激部位 (エクスペリメンタルパスウェイとコントロールパスウェイ) を決める	17
2.2.2. 両パスウェイの I/O カーブ (刺激反応曲線) を求め、適切な刺激強度を求める	17
2.2.3. LTP 記録用ワークフローの条件を設定する	18
2.2.4. θ バースト刺激用ワークフローの条件を設定する	19
2.2.5. LTP を誘導する	20
2.3. 薬効評価試への応用	20
2.4. 記録データの再生とオフライン解析	22
2.4.1. データを再生する	23
2.4.2. Single_pulse_analysis の概要	24
2.4.3. fEPSP を解析する	24
2.4.4. フェーズごとに平均値を算出する	26
2.4.5. データを出力する	27
2.4.5.1. 生データを出力する	27
2.4.5.2. 測度のタイムチャートを出力する	27
2.4.5.3. 平均値のチャートを出力する	28

第 3 章 スパイクソーター

3.1. スパイク (自発的活動) の記録	28
3.1.1. 取り込み条件の設定	29
3.1.2. ワークフローを実行する	30
3.1.3. 実験を始める前に	30

3.1.4. オンライン解析をせずに記録する	30
3.1.4.1. Spontaneous_recording の概要	30
3.1.4.2. オンライン解析をせずにスパイク (自発活動) を記録する	31
3.1.5. スパイク検出をしながら記録、発火頻度を測定する	32
3.1.5.1. Spike_recording、Spike_recording_filter の概要	32
3.1.5.2. オンラインでスパイク検出、発火頻度の解析をしながら記録する	33
3.1.6. オンラインでスパイクをクラスタリングしながら記録する	34
3.1.6.1. Spike_recording_cluster、Spike_recording_filter_cluster の概要	35
3.1.6.2. オンラインでスパイクをクラスタリングしながら記録する	35
3.2. 薬効評価試への応用	36
3.3. 記録データの再生とオフライン解析	39
3.3.1. データを再生する	39
3.3.2. スパイクの発火頻度を解析する	40
3.3.3. データを出力する	43
3.3.3.1. 生データを出力する	43
3.3.3.2. スパイクの波形とその検出時間を出力する	43
3.3.3.3. 発火頻度のデータを出力する	44
3.3.3.4. 平均値のチャートを出力する	44
3.3.4. フェーズごとに発火頻度の平均値を算出する	45
3.3.5. スパイクの分類 (クラスタリング)	46
3.3.5.1. フィルターを選択	47
3.3.5.2. 閾値を設定する	48
3.3.5.3. クラスタリングの条件を設定する	48
3.3.5.4. スパイクに関連した測度のチャートを表示する	49
3.3.5.5. スパイクの発火頻度を算出する	50
3.3.5.6. ワークフローをモニターボタンで再開し、クラスタリングや解析の条件を確定する	50
3.3.5.7. データを出力する	50

第4章 心筋電場電位の記録

4.1. 自発的な心筋電場電位の記録	52
4.1.1. 記録用ワークフローテンプレートの概要	52
4.1.1.1. QT_recording の概要	53
4.1.1.2. Beat_recording の概要	54
4.1.1.3. Simple_recording の概要	55
4.1.1.4. テンプレートを開く	55
4.1.2. 取り込み条件の設定	56
4.1.3. ワークフローを実行する	56
4.1.4. 実験を始める前に	56
4.1.5. 自発的な心筋電場電位を記録する	57
4.1.5.1. オンライン解析を行わずに記録をする	57
4.1.5.2. オンライン解析を行いながら記録をする	58
4.2. 薬効評価試への応用	58
4.3. 記録データの再生とオフライン解析	59
4.3.1. データを再生する	59
4.3.2. 解析用ワークフローテンプレートの概要	60
4.3.2.1. QT_analysis の概要	60
4.3.2.2. Beat_frequency_analysis の概要	62
4.3.2.3. Export_for_propagation_analysis_spontaneous の概要	63

4.3.3. FPD (電場電位波形の時間間隔) 延長を解析する	64
4.3.4. 拍動数を解析する	68
4.3.5. ドーズレスポンスカーブを作成する	69
4.3.5.1. 予めフェーズバーを挿入した解析用ワークフローでドーズレスポンスカーブを作成する	69
4.3.5.2. ワークフローテンプレート QT_analysis を利用してドーズレスポンスカーブを作成する	70
4.3.6. 二次元興奮伝播図を作成する	71
4.3.7. データを出力する	73
4.3.7.1. 生データを出力する	73
4.3.7.2. 測度のタイムチャートを出力する	73
4.3.7.3. 拍動数のタイムチャートを出力する	74
4.3.7.4. 拍動間隔のタイムチャートを出力する	74
4.3.7.5. 平均値のタイムチャートを出力する	75
4.4. ペーシングによる心筋電場電位の記録	75
4.4.1. Pacing_recording の概要	75
4.4.2. 取り込み条件と刺激条件の設定	76
4.4.3. ワークフローを実行する	77
4.4.4. 実験を始める前に	78
4.4.5. ペーシングをしながら心筋電場電位を記録する	78
4.5. ペーシングされた心筋電場電位データの再生と解析	78
4.5.1. データを再生する	78
4.5.2. データを解析する	80
4.5.2.1. Pacing_analysis の概要	80
4.5.2.2. ペーシングされた心筋電場電位の波形解析	80
4.5.2.3. 測度のタイムチャートを出力する	82
4.5.2.4. 二次元興奮伝播図の作成	82

第1章 イン트로ダクション

1.1. MED64 Mobius とは？

MED64 Mobius は MED64 システムのために開発された記録・解析用ソフトウェアです。このソフトウェアにより、MED プローブ上の 64 電極からの細胞外電位波形を取り込み、オンライン又はオフラインでの解析を行うことができます。Mobius の機能はさまざまな“モジュール”の組み合わせにより構成されています。Mobius Editor を使ってモジュールを組み合わせることで、個々のユーザーの実験プロトコルに合わせた“ワークフロー”（以下、個別ワークフロー名を緑字表記します）を作成し、電位波形の取り込みや解析を行うことができます。またワークフローの既存テンプレートを使って標準的なプロトコルの実験をすぐに始めたり、それらを編集してユーザーに固有のワークフローを作成することができます。

このチュートリアルは、初めて Mobius を使用するユーザーの皆様はその機能を活用して頂くことを目的としております。より詳細な内容につきましてはオンラインヘルプをご参照ください。

Mobius に含まれる全てのモジュールとその概要を以下の表に示します。ご購入いただきましたパッケージに含まれるモジュールをご確認ください。

Mobius パッケージ

1. Basic (MED-MS64MR10)
2. EP (MED-MS64MR11)
3. Spike Sorter (MED-MS64MR12)
4. Spike Sorter with stim (MED-MS64MR13)
5. Pro (MED-MS64MR14)
6. QT (MED-MS64MR21)
7. QT with Stim (MED-MS64MR22)
8. Extended (MED-MS64MR02)

Mobius 追加パッケージ (対象ユーザー)

1. MED-MS64MM01
2. MED-MS64MM02
3. MED-MS64MM03
4. MED-MS64MM04
5. MED-MS64MM05
6. MED-MS64MM06
7. MED-MS64MM07
8. MED-MS64MM08
8. MED-MS64MM09
8. MED-MS64MM10
8. MED-MS64MM11
8. MED-MS64MM12

モジュール名	モジュールの概要
Acquire MED64R2 Data	自発活動電位波形の取り込み。
Acquire MED64R2 Data w/Stim	電気刺激の設定・印加とそれに伴い誘発される電位波形の取り込み。
Replay Raw Data File	取り込み済みデータを再生する。
Display All Channels	64 チャンネルからの電位波形を表示する。
Display Single Channel	選択したチャンネルからの電位波形のみを表示する。
Export Raw Data	生データをバイナリ形式又は ASCII 形式で出力する。
Extract EP Measures	誘発電位波形を取り込み、波形の振幅やスロープ等を算出しタイムチャートにする。
Save Measures Data	Extract EP Measures、Extract Spike Measures から得られたデータを CSV 形式で出力する。
Compute Measure Averages	全てのフェーズにわたり平均値と標準偏差を算出しチャートにする。
Save Measure Averages	Compute Measure Averages から得られたデータを CSV 形式で出力する。
Extract Spikes	閾値を越えたスパイクを検出し取り込む。
Cluster Spikes	検出されたスパイクをクラスター分けする。
Compute Spike Freqs	スパイクの発火頻度をタイムチャートにする。
Display Spike Measures	スパイクの検出経過、検出されたスパイクの波形、発火頻度のタイムチャートを表示する。
Save Spikes	検出されたスパイク及びタイムスタンプ (検出時間) のデータを CSV 形式で出力する。
Save Spike Freqs	スパイクの発火頻度のデータを CSV 形式で出力する。
Extract Long Spikes	閾値を越えたロングスパイク (スパイク幅 50 ms 以上) を検出し取り込む。
Display Extracted Spikes	スパイクの検出経過、検出されたスパイクの波形を表示する。
Compute Beats per Minute	心拍数を算出する。
Display Beats per Minute	算出された心拍数をタイムチャートにする。
Save Beats per minute	算出された心拍数のデータを CSV 形式で出力する。
Compute Interspike Intervals	連続したスパイク間の時間間隔 (ISI) を算出する。
Display Interspike Intervals	算出されたスパイク間の時間間隔をタイムチャートにする。
Save Interspike Intervals	算出されたスパイク間の時間間隔データを CSV 形式で出力する。
Extract Spike Measures	検出されたスパイクの振幅やスロープ等を算出してタイムチャートにする。
Display Results Table	Extract EP Measures、Extract Spike Measures、Compute Measure Averages から得られたデータを表示する。
Filter Spike Data	取り込まれたスパイク波形をフィルター処理する。
Filter Raw Data	生データをフィルター処理する。

モジュール名 / パッケージ	Basic	EP	Spike Sorter	Spike sorter w/stim	Pro	QT	QT w/stim	Extende d
Acquire MED64R2 Data	●	●	●	●	●	●	●	●
Acquire MED64R2 Data w/Stim		●		●	●		●	●
Replay Raw Data File	●	●	●	●	●	●	●	●
Display All Channels	●	●	●	●	●	●	●	●
Display Single Channel	●	●	●	●	●	●	●	●
Export Raw Data	●	●	●	●	●	●	●	●
Extract EP Measures		●			●		●	●
Save Measures Data		●			●	●	●	●
Compute Measure Averages		●	●	●	●	●	●	●
Save Measure Averages		●	●	●	●	●	●	●
Extract Spikes			●	●	●			●
Cluster Spikes			●	●	●			●
Compute Spike Freqs			●	●	●			●
Display Spike Measures			●	●	●			●
Save Spikes			●	●	●	●	●	●
Save Spike Freqs			●	●	●			●
Extract Long Spikes						●	●	●
Display Extracted Spikes						●	●	●
Compute Beats per Minute						●	●	●
Display Beats per Minute						●	●	●
Save Beats per minute						●	●	●
Compute Interspike Intervals						●	●	●
Display Interspike Intervals						●	●	●
Save Interspike Intervals						●	●	●
Extract Spike Measures						●	●	●
Display Results Table						●	●	●
Filter Spike Data						●	●	●
Filter Raw Data					●	●	●	●

モジュール名 / パッケージ	MM 01	MM 02	MM 03	MM 04	MM 05	MM 06	MM 07	MM 08	MM 09	MM 10	MM 11	MM 12
Acquire MED64R2 Data	●											
Acquire MED64R2 Data w/Stim		●				●						
Replay Raw Data File												
Display All Channels												
Display Single Channel												
Export Raw Data												
Extract EP Measures			●			●			●		●	
Save Measures Data			●					●	●			
Compute Measure Averages			●	●				●				
Save Measure Averages			●	●				●				
Extract Spikes				●						●		
Cluster Spikes				●						●		
Compute Spike Freqs				●						●		
Display Spike Measures				●						●		
Save Spikes				●						●		
Save Spike Freqs				●						●		
Extract Long Spikes							●	●	●			
Display Extracted Spikes							●	●	●			
Compute Beats per Minute							●	●	●			
Display Beats per Minute							●	●	●			
Save Beats per minute							●	●	●			
Compute Interspike Intervals							●	●	●			●
Display Interspike Intervals							●	●	●			●
Save Interspike Intervals							●	●	●			●
Extract Spike Measures							●	●	●			
Display Results Table							●	●	●			
Filter Spike Data							●	●	●			
Filter Raw Data					●							

1.2. 使用上の注意

Mobius を使ってデータを記録する際には、以下の点に配慮してください。

1.2.1. 全般

- Mobius によりデータをハードディスクドライブに保存する場合、ハードディスクドライブに 50%以上の空き容量があることをご確認ください。64 チャンネル全てから 1 時間のデータ記録を行いますと、データのファイルサイズは 9.216GB になります。
- Windows の OS がインストールされたディスク（通常は C ドライブ）ではなく、別のディスクにデータを保存するようにしてください。特に 1) トレース時間を 30 分以上に設定した場合や、2) トレース時間を 5 分間、トレース回数を 12 回以上に設定する等、安定した長期間の記録を行う際には重要です。
- ワークフローを開いた後、モニターボタンもしくは記録ボタンで初めて実行する際には、数秒間のキャリブレーションが行われます。同時に開かれた複数のワークフローを瞬時に切り替えて記録を続ける際には、予めワークフローをモニターボタンで実行し、キャリブレーションを行うようにしてください。

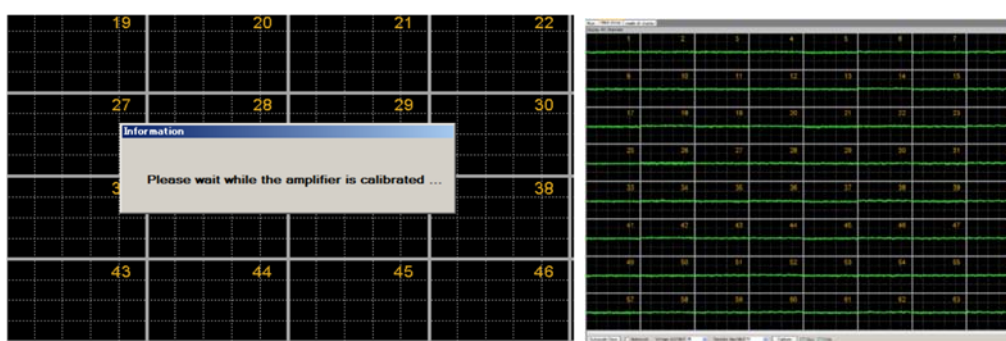


図 1.2.1: キャリブレーション (左) 後、ベースライン (右) が表示された画面。

- 刺激が印加されるチャンネルは信号の取り込みが制限（ミュート）されますが、直後に Acquire MEDR2 Data で構成されるワークフローを実行した場合、信号の取り込みが制限されたままになる場合があります。ステミュレーターのチェックを一時的に外してワークフローを 1 度だけ実行して（刺激の“空打ち”をする）ミュートを解除するか、Acquire MEDR2 Data で構成されるワークフローをいったん閉じてから再度開くことで、強制的にキャリブレーションを行ってください。



図 1.2.2: 刺激が印加され、信号の取り込みがミュートされた 26ch (左)。
ステミュレーターのチェックを外して“空打ち”を行う (右)。

- ディスプレイの解像度が 1920x1080 の場合、[コントロールパネル] - [すべてのコントロールパネル項目] - [ディスプレイ] から、文字サイズを 100%に設定してください。

1.2.2. Acquire MED64R2 Data w/Stim

- MED64.A64HE1 (ヘッドアップ) の正面パネル STIMULUS CURRENT レバーを x2 に設定しますと、刺激強度の出力は 2 倍になります。
- 任意に構成できる双極性パルス刺激の最大数は 21 です（詳細は p. 15 をご参照ください）。

1.2.3. Replay Raw Data File

ファイルサイズの大きなデータを選択した場合、取り込み準備に数分間かかることがあります（例えば 10GB のデータは 1 分以上かかります）。

1.2.4. Extract Spikes / Extract Long Spikes

これらのモジュールを使うとコンピューターに重い負荷がかかります。解析可能な数以上のスパイクを検出すると、Mobius が強制終了するおそれがあります。閾値を越えるスパイクをチャンネル全てから 1 度に検出する場合等には負荷が重くなりますので、データを記録する際には以下の点に配慮してください。

- 実験プロトコルに慣れるまで、これらのモジュールをオンラインで使わないようにしてください。
- Trace duration は 10 分以下に設定し、データの解析処理が（先行する実時間の）データの取り込み処理に追従できるように Trace duration の時間を設定してください。
- 神経組織からスパイクを記録する際には、低周波ノイズを記録しないようにローカットフィルターの設定を 100 Hz にしてください。
- データとして不要なチャンネルについては、電位波形を取り込まないように設定してください。

1.2.5. Filter Raw Data

Mobius は記録波形を 500 ms のデータブロックで取り込むようになっています。このデータブロックの終端でベースラインが 0 レベルからずれていると、フィルター処理後にデータブロックの終端で小さなスパイク状のノイズが発生します。このノイズの発生を防ぐには以下のような対応をお取りください。

- 神経組織からスパイクを記録する際には、ローカットフィルターの設定を 100 Hz にしてください。
- 心筋組織等の活動波形のような低周波信号（波長 100 ms 以上）を記録する際には、Filter Raw Data を使わないようにしてください。代わりに Filter Spike Data を使用して、検出された拍動信号等のロングスパイクをフィルター処理してください。

1.2.6. Compute Measure Averages

このモジュールは必然的に解析モジュール群の最後に位置付けられるため、データの解析処理が（先行する実時間の）データの取り込み処理から大幅に遅れる原因となる可能性があります。そのため、このモジュールを記録用ワークフローに含めることはお奨めできません。記録用ワークフローに含める場合は、以下の点に配慮してください。

- Trace duration を 10 分以下に設定してください。
- データとして不要なチャンネルについては、電位波形を取り込まないように設定してください。

1.3. アクティベーション

Mobius は Key ファイルによりアクティブ化する必要があります。

- デスクトップ上のどこかに Key ファイルを保存します。
- Mobius を起動し、[Help] から [Activation] を選択します。
- 表示されたウィンドウの Keys file 欄右のボタンをクリックし、Key ファイルを読み込みます。
- [OK] をクリックしてアクティブ化します。



図 1.3: Mobius をアクティブ化する。

1.4. Mobius を起動する

Mobius アイコンをダブルクリックして Mobius を起動すると、空白のウィンドウが表示されます。Mobius でデータの記録や解析を行うには、ワークフローを作成して実行しなければなりません。ワークフローの作成には 2 通りの方法があります。

- Mobius Editor を使ってワークフローを作成します。
- 既存のワークフローをテンプレートから選択して利用します。

この節では Mobius Editor を使ってワークフローを作成する方法を紹介します。

1.4.1. Mobius Editor を使ってユーザー固有のワークフローを作成する

この項では Mobius Editor でユーザー固有のワークフローを作成し、Mobius を実行する方法を紹介します。

(1) Mobius を起動します。[Workflow] - [New] から [Blank] を選択し、Mobius Editor ウィンドウを表示します。

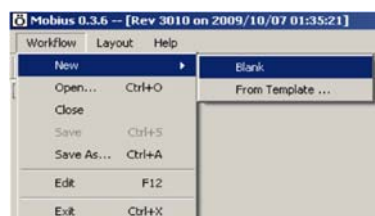


図 1.4.1: Mobius Editor を開く。

(2) ウィンドウ上部右枠 (Available task panels 欄) に選択可能なモジュールが表示されます。各モジュールをクリックすると下部 (Task panel description 欄) に詳細な説明が表示されます。

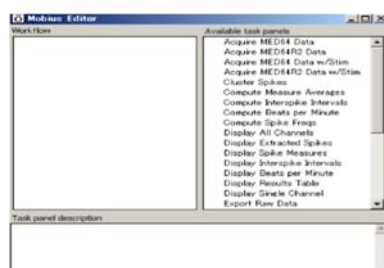


図 1.4.2: Mobius Editor。

ウィンドウ上部左枠 (Workflow 欄) にモジュールを挿入し、各モジュール間の従属関係を構成することでワークフローを作成します。Available task panels 欄のモジュール名をダブルクリックすると Workflow 欄にモジュールが挿入され、背後の [Main] タブウィンドウ (タブ) にそのモジュールに固有のタスクパネルが現れます。データを記録するには、Acquire MED64R2 Data か Acquire MED64R2 Data w/Stim のどちらかのモジュールを最初にダブルクリックします。記録したデータを再生・解析する場合は Replay Raw Data File を最初に選択した後、表示や解析のためのモジュールを選択します。

注: Acquire MED64 Data 及び Acquire MED64 Data w/Stim は SU-MED640 (MED64 インテグレートッドシステム) 専用のモジュールです。MED64-A64MD1 では使用できません。

図 1.4.3 に作成したデータ記録用ワークフロー (上部左) とそのエディット画面 (上部右)、ワークフローの構成 (下部) を示します。

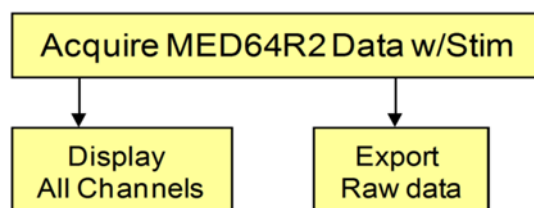
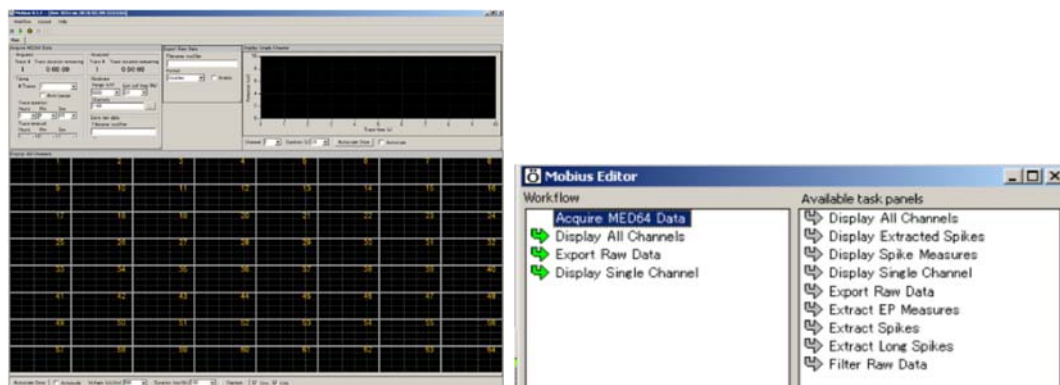


図 1.4.3: データ記録用に作成したワークフローの一例。ワークフローを構成するモジュールのリスト (Mobius Editor ウィンドウ内左枠)。

(3) モジュール名の左側に表示される矢印の意味は以下の通りです。



Workflow 欄から選択したモジュールに接続できるモジュールです (図 1.4. 3 では Acquire MED64 Data に接続できるモジュールとして、Available task panels 欄の各モジュールに表示されています)。この矢印の付いたモジュールをダブルクリックすると、Workflow 欄から選択したモジュールの下位に挿入・接続されます。



Workflow 欄から選択したモジュールの後に処理され、その入力を受けるモジュールです (図 1.4. 3 では Acquire MED64 Data から入力を受けるモジュールとして、Workflow 欄の 3 つのモジュールに表示されています)。



Workflow 欄から選択したモジュールの前に処理され、その出力を与えるモジュールです (図 1.4. 5 では Extract EP Measures に出力を与えるモジュールとして、Acquire MED64 Data に表示されています)。



選択した赤字モジュールの処理に必要な不可欠な出力を与えるモジュールです。ダブルクリックすると選択した赤字モジュールの前に挿入もしくは接続されます。

・赤字モジュール

そのモジュールの処理に必要な不可欠な出力を与えるモジュールが接続されていません。赤字モジュールをクリックして選択し、出力を与えるモジュール (前述の灰色の下矢印) を表示させた後、そのモジュールをダブルクリックして挿入もしくは接続してください。または赤字モジュールを右クリックして [Delete] を選択し、Workflow 欄から削除してください。

(4) 1 つのタブに全てのタスクパネルがおさまらない場合は、[Layout] から [Add Tab] を選択し、名前を入力して新しいタブを作ります (図 1.4.4)。

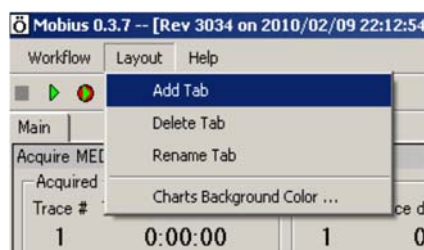


図 1.4.4: 新しいタブを作る。

(5) 新しいタブにタスクパネルを設置する場合は、1) 新しいタブを作り、2) Mobius Editor を開いてモジュールを挿入します。実験中はこれらのタブを自由に切り替えることができます。図 1.4.5 は新しいタブ上に解析及びデータ出力用のモジュールを追加した画面です。

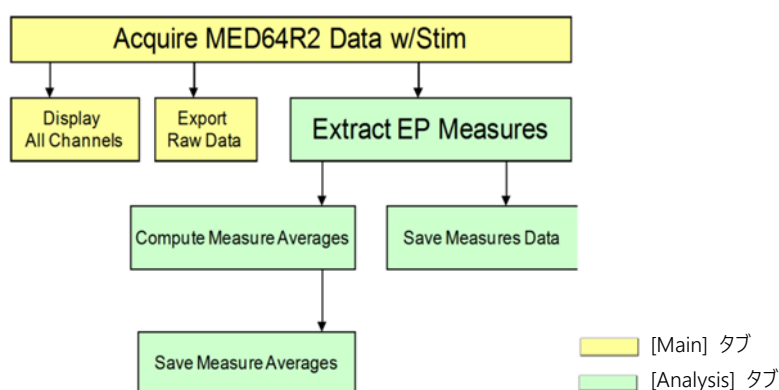
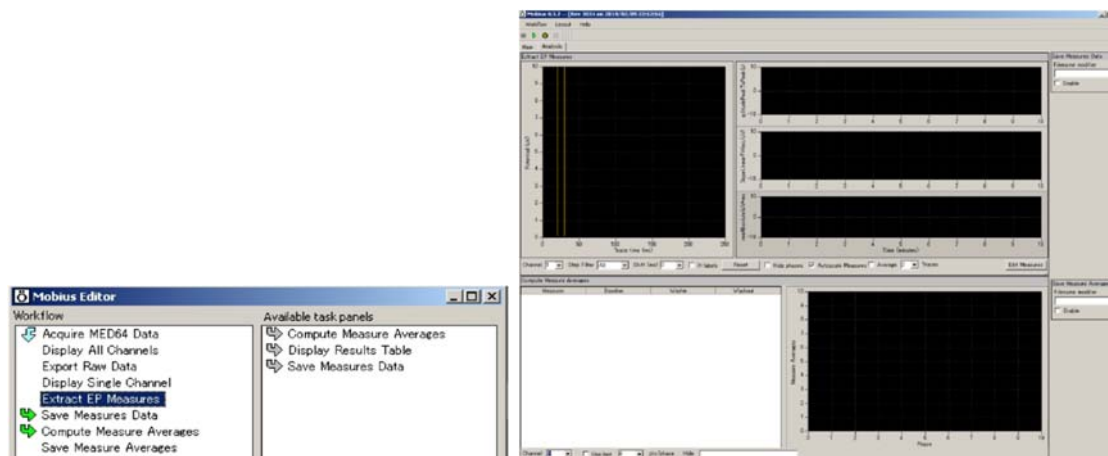


図 1.4.5: 作成したワークフローの一例。新しいタブ (Analysis) を作り、解析及びデータ出力用モジュールを追加した。下段にその構成を示す。

(6) [Workflow] から [Save As] を選択して、ワークフローを別名で保存します (図 1.4.6)。



図 1.4.6

注 1: データファイル (.modat) はワークフローファイル (.moflo) が保存されているフォルダーに自動生成されます。

注 2: 測度を算出する解析用モジュールを含むワークフローを使ってデータの記録を行うと、解析用ワークフロー (後述) も同一のフォルダーに自動生成されます。

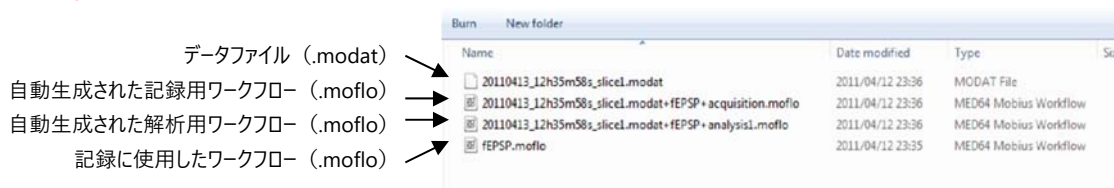


図 1.4.7: データを記録すると同一フォルダーに生成されるデータファイル及びワークフロー。

1.4.2. ワークフローを実行する

(1) ワークフローは [Workflow] から [Open] を選択することで開きます (図 1.4.8)。

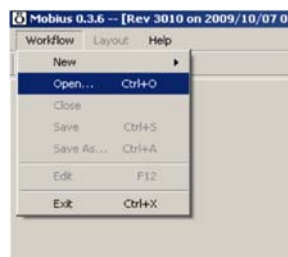


図 1.4.8

(2) ワークフローは操作ボタンで実行、停止します (図 1.4.9)。

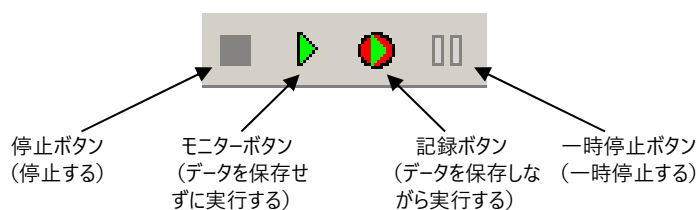


図 1.4.9

1.4.3. テンプレートを利用する

既存のワークフローテンプレートを利用しますと、データの記録や再生、解析が簡単に行えます。テンプレートを利用してすぐに実験を始めたり、お好みのワークフローに修正することもできます。このチュートリアルでは、テンプレートを利用して実験する方法を紹介していきます。

- (1) [Workflow] - [New] から [From Templates] を選択し、テンプレートを開きます。
- (2) 実験用ワークフローとしてそのままテンプレートを別名で保存します。
- (3) テンプレートを修正する場合は、[Workflow] から [Edit] を選択して Mobius Editor を開きます。

フォルダー		テンプレート
Basic_recording		Noise_check
		Spontaneous_recording
		Evoked_potential
EPs	EP_recording	Single_pulse_recording
		Paired_pulse_recording
		Theta_burst
		LTD_conditioning
		I.O_curve
	EP_analysis	Single_pulse_analysis
		Paired_pulse_analysis
Spikes	Spontaneous_recording	Spike_recording
		Spike_recording_cluster
		Spike_recording_filter
		Spike_recording_filter_cluster
	Spike_recording_and_stimulation	SpikeRecording_stim
		SpikeRecording_stim_cluster
		SpikeRecording_stim_filter_cluster
	Spike_analysis	Spike_frequency_analysis
		Spike_frequency_analysis_filter
		Spike_sorting
		Spike_sorting_filter
QT	Spontaneous_recording	Beat_recording
		QT_recording
		Simple_recording
	Spontaneous_analysis	Beat_frequency_analysis
		QT_analysis
		Export_for_propagation_analysis_spontaneous
	Pacing_recording	Pacing_recording
	Pacing_analysis	Pacing_analysis

図 1.4.10: ワークフローテンプレートの一覧。

第 2 章 fEPSP (field excitatory postsynaptic potential) の記録

この章では既存のワークフローテンプレートを利用して fEPSP (興奮性シナプス後集合電位により生じる細胞外の電場電位) を記録し、解析する方法を紹介します。紹介する内容は以下の通りです。

- 2.1. 急性海馬切片を用いた fEPSP の記録
- 2.2. 長期増強 (long term potentiation; LTP) の誘導
- 2.3. 薬効評価試験への応用
- 2.4. 記録データの再生とオフライン解析

2.1. 急性海馬切片を用いた fEPSP の記録

この節では **Single_pulse_recording** を利用して fEPSP の振幅や傾きを解析します。

- (1) [Workflow] - [New] - [From Template] からディスプレイサイズに合わせて [64MD1_1280x1024] もしくは [64MD1_1920x1080] を選択します。
- (2) [EPs] から [EP_recording] を選択し、**Single_pulse_recording** を開きます。

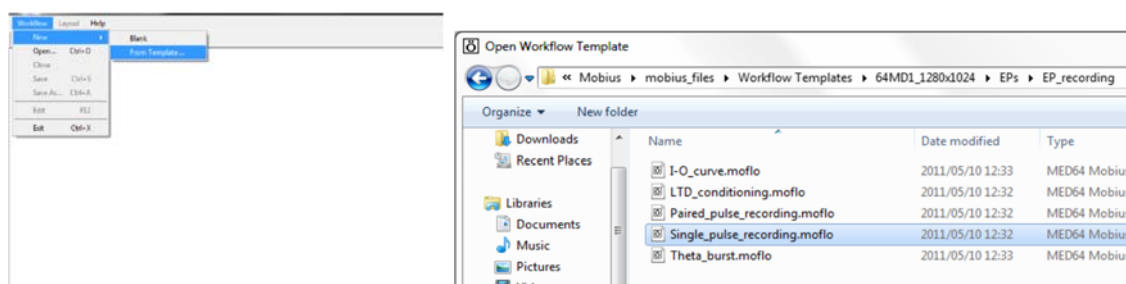


図 2.1.1: ワークフローテンプレートを開く。

2.1.1. **Single_pulse_recording** の概要

Single_pulse_recording は [Main] と [EPSP Measures] の 2 つのタブから構成され、さらにそれらはいくつかのモジュールから構成されています。

タブウィンドウ名	含まれるモジュール
Main	Acquire MED64R2 Data w/Stim / Display All channels / Export Raw Data
EPSP measures	Extract EP Measures (×2) / Save Measures Data (×2)

Acquire MED64R2 Data w/Stim により誘発されて取り込まれた信号は、Extract EP Measures に出力されます。そこで振幅や傾き等さまざまな測度を算出して、タイムチャートにプロットできます。生データはバイナリデータもしくは ASCII ファイル (テキストファイル) として出力でき、タイムチャートは CSV 形式の ASCII ファイルとして出力できます。

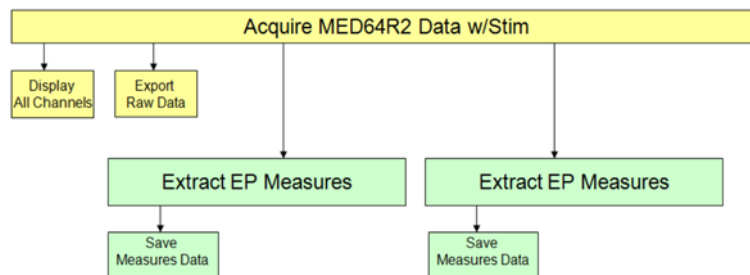


図 2.1.2: Single_pulse_recording のモジュール構成。

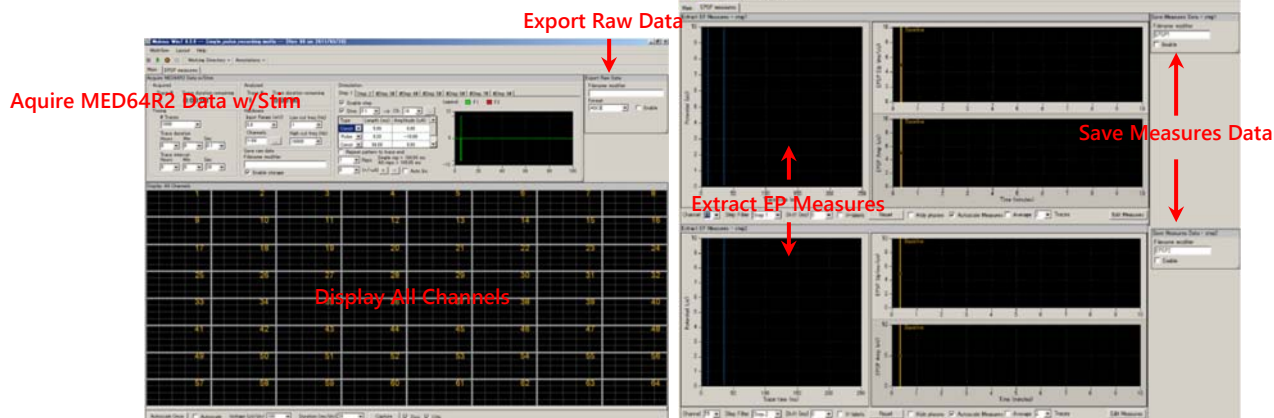


図 2.1.3: [Main] タブ (左) と [EPSP measures] タブ (右)。

2.1.2. Acquire MED64R2 Data w/Stim の概要

このモジュールを使ってデータの取り込み条件及び刺激条件を設定します。

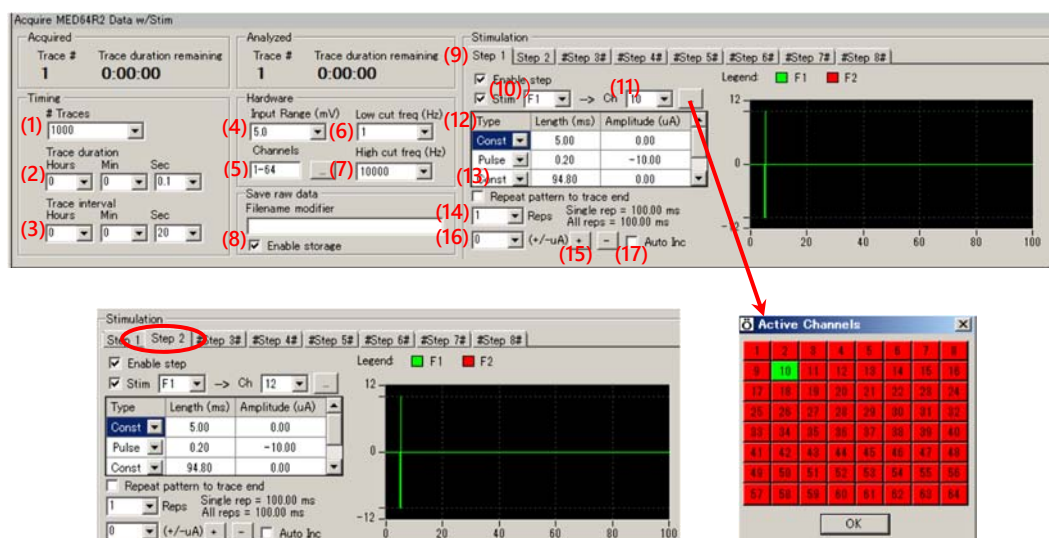


図 2.1.4: Acquire MED64 Data w/Stim のタスクパネル。

Acquire MED64R2 Data w/Stim の設定 (データ取り込み)

- (1) トレース (挿引) 回数。
- (2) トレースの取り込み (記録) 時間。
- (3) 各トレース間間隔。
- (4) 最大許容入力。2.3 mV、2.9 mV、5.0 mV、12.5 mV、25 mV から選択します。fEPSP の記録では、通常 5 mV に設定します。
- (5) 取り込みチャンネルの設定。右のボックスをクリックするとチャンネルセレクタが表示されます。緑色にマークされたボタン (チャンネル) の信号が取り込まれます。
- (6) ハイパスフィルター (0.1、1.0、10、100 Hz) の設定。1 に設定した場合、1 Hz 以下の信号は遮断されます。fEPSP の記録では、通常 1 に設定します。

- (7) ローパスフィルター (1000、2500、5000、7500、10000 Hz) の設定。5000 に設定した場合、5000 Hz 以上の信号は遮断されます。fEPSP の記録では、通常 5000 以上に設定します。
- (8) [Enable storage] にチェックを入れると、ワークフローを記録ボタンで実行した場合に生データが自動保存されます。出力ファイル名は Filename modifier 欄で編集できます。

Acquire MED64R2 Data w/Stim の設定 (刺激)

- それぞれの Step タブは独立しており、Step ごとに異なる刺激条件を設定できます。[Step enabled] にチェックを入れると、Step の数字順に (例えば全ての Step にチェックを入れると、Step 1、Step 2、...Step 8、Step 1...といったように) 設定したトレース間隔で刺激を印加できます。
- (9) [Step enabled] にチェックを入れた Step は、その設定を変更できます。初期設定では Step 1 及び 2 が変更でき、Step 3～8 は変更できません (Step 名の両脇に#)。従って、初期設定では Step 1 と 2 で設定した刺激を 20 秒間隔で交互に印加することになります。
- (10) 使用するスティミュレーターを選択します。Stim の左のボックスにチェックを入れることで、プルダウンメニューで表示される F1 もしくは F2、またはその両方のスティミュレーターを有効にします。初期設定では Step 1 及び Step 2 ともに F1 スティミュレーターが有効であり、20 秒間隔で交互の Step から刺激が印加されます。同時に刺激を印加できるのは、全 64 チャンネルのうち、2 チャンネルになります。
- (11) 刺激を印加するチャンネルを選択します。プルダウンメニューもしくは右のボックスをクリックして表示されるチャンネルセレクトにより、チャンネルを選択します。刺激するチャンネルはワークフローの実行中でも変更できますが、変更が反映されるのは 2 トレース後の取り込みからになります。
- (12) 刺激パターンは [Const] もしくは [Pulse] を組み合わせ、その時間間隔と振幅を入力することで設定します。図 2.1.5 に具体例を示します。
- MED64.A64HE1 (ヘッドアンプ) の正面パネル STIMULUS CURRENT レバーを x2 に設定しますと、刺激強度の出力は 2 倍になります。
 - Mobius で設定可能な最大刺激強度は 100 μ A です。STIMULUS CURRENT レバーを x2 に設定しますと、刺激強度は 200 μ A になります。
 - [Const] と [Pulse] の組み合わせにより、1 つの Step 上で任意に構成できる双極性パルス刺激の最大数は 21 です。

注 1: 小数点以下の刺激電流値は設定できません。最少刺激電流値は 1 μ A です。

注 2: MED64 システムによりデータを取り込む場合には、刺激パターンの [Ramp] は使用せず、二相性のパルス刺激のみをご使用ください。

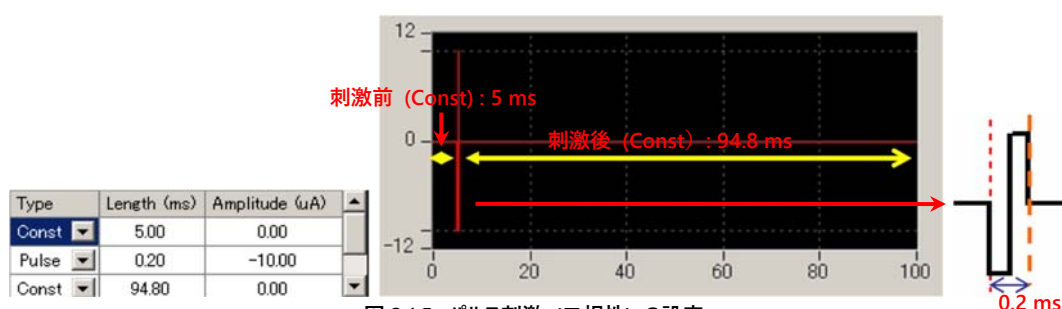


図 2.1.5: パルス刺激 (二相性) の設定。

- (13) [Repeat pattern to trace end] にチェックを入れると、トレース時間の終端まで設定した刺激が繰り返されます。LTD 誘発刺激の設定等にご使用ください。
- (14) 刺激パターンを何回繰り返すか設定します。LTP 誘発刺激等、複数のパルス刺激を設定するときに用います。
- (15) [+] をクリックする度に左のボックス内で指定した数値ずつ、[Pulse] の振幅が増加します。例えば 2 に設定した場合、1 度のクリックで振幅は 10 μ A から 12 μ A に増加します。複数のパルス刺激全ての振幅を 1 度のクリックで変更できるため、 θ バースト刺激等の振幅を増加するとき等に使用します。また同様に [-] をクリックすると振幅を減少できます。
- (16) (13) をご参照ください。
- (17) [Auto Inc] にチェックを入れると、トレースの度に自動的に振幅が左のボックス (16) で設定した数値分だけ増加します。I/O カーブを求める時に使います。詳細は p. 19「2.2.2. 両パスウェイの I/O カーブ (刺激反応曲線) を求め、適切な刺激強度を決める」をご参照ください。

Single_pulse_recording を初期設定で実行しますと、F1 (Step 1 で設定) と F2 (Step 2 で設定) から 20 秒間隔で交互に刺激が印加されます。

2.1.3. ワークフローを実行する

ワークフローは下図に示す操作ボタンで実行、停止します (図 2.1.6)。

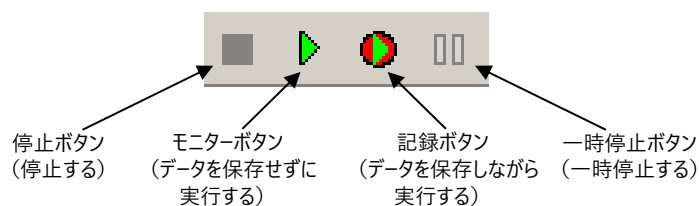


図 2.1.6: 操作ボタン。

2.1.4. 実験を始める前に

ワークフローを開いた後、モニターボタンもしくは記録ボタンで初めて実行する際には、数秒間のキャリブレーションが行われます。同時に開かれた複数のワークフローを瞬時に切り替えて記録を続ける際には、予めワークフローをモニターボタンで実行し、キャリブレーションを行うようにしてください。

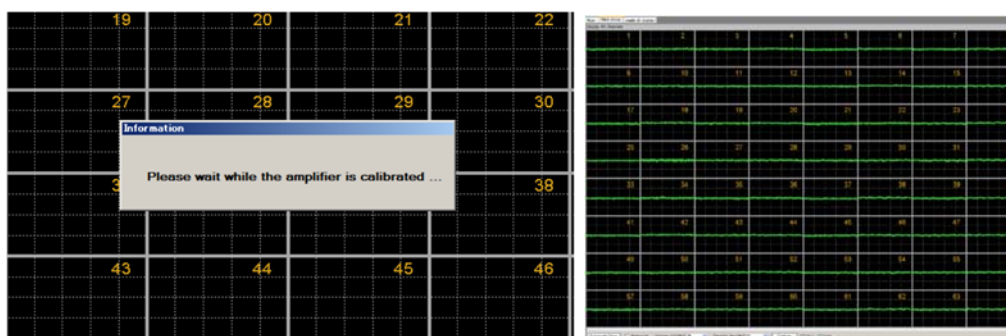


図 2.1.7: キャリブレーション (左) 後、ベースライン (右) が表示された画面。

2.1.5. 単一パルス刺激により誘発される fEPSP を記録する

次に単一パルス刺激の条件を設定し、fEPSP を記録します。Single_pulse_recording は、初期設定では Step 1 と Step 2 が有効です。Step 2 を無効にし、Step 1 のみから刺激を与えるようにします。

- (1) [Step 2] タブをクリックし、[Step enabled] のチェックを外します。
- (2) Step 2 の両脇に#がマークされたのを確認します。#はそのステップが無効であることを意味します (図 2.1.8 参照)。
- (3) [Step 1] タブを選択し、条件を設定します。

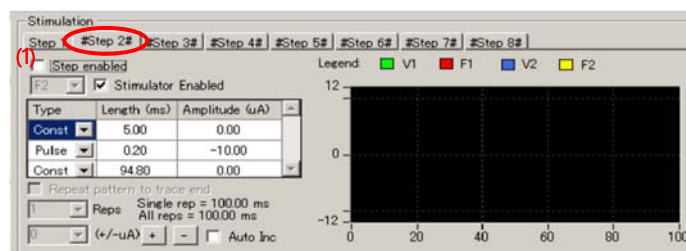


図 2.1.8: Step 2 を無効にする。

Step 1 は初期設定では F1 スティミュレーターのみが有効です。1 つの Step 内で 2 箇所同時に刺激を行う場合は、F2 スティミュレーターも有効にします。また F1 スティミュレーターではなく、F2 スティミュレーターを使う場合は、以下の (4) ~ (5) の手順で変更します。

- (4) F1 の [Stimulator Enabled] からチェックを外します。
- (5) プルダウンして F2 を選択し、[Stimulator Enabled] にチェックを入れると、F1 の代わりに F2 スティミュレーターが有効になります (図 2.1.9)。

F1 のチェックを外し、プルダウンして
F2 にチェックを入れる。

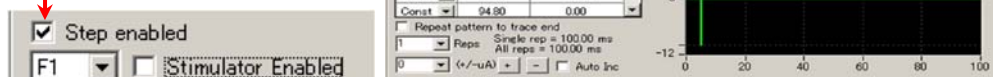


図 2.1.9: 有効なスティミュレーターを F1 から F2 に変更する。

- (6) MED64.A64HE1 (ヘッドアンブ) の正面パネル STIMULUS CURRENT レバーが NORMAL に設定されていることを確認します。STIMULUS CURRENT レバーを x2 に設定しますと、刺激強度の出力は 2 倍になります。
- (7) ワークフローをモニターボタン (データを保存しない) で実行します。64 チャンネル出力波形を見ながら、最適な刺激部位をチャンネルセレクトで選択しながら決定します。刺激強度を変える際にはワークフローを一時停止、もしくは停止します。刺激するチャンネルはワークフローの実行中でも変更できますが、変更が反映されるのは 2 トレース後の取り込みからになります。
- (8) 刺激を印加するチャンネル及び刺激強度を決定した後、オンラインでの解析条件を設定するため、[EPSP measures] タブを選択します。

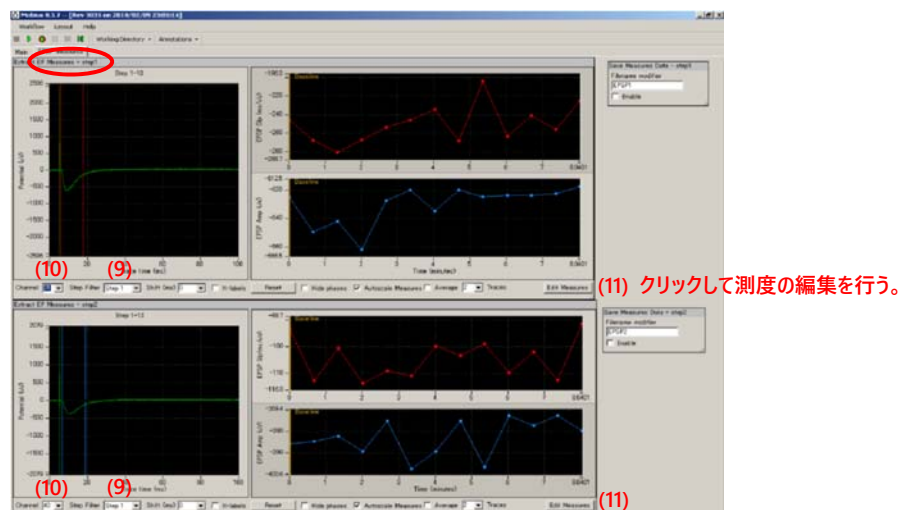


図 2.1.10: EPSP の測度を設定する。

- (9) [Step Filter] をどちらも Step 1 に設定します。
- (10) [Channel] を誘発電位をモニターするチャンネルに設定します。なお、データ取り込み中であっても、スクロールもしくは直接数字を入力することで表示チャンネルは変更できます。
- (11) 初期設定では Sloope1040LinerFit (赤カーソル) 及び AmplitudeMinimum (青カーソル) が測度として設定されています。測度を変更する場合は、ワークフローを停止しなければなりません。
 - 1) [Edit Measures] をクリックし、Measure Type 欄をプルダウンして算出する測度を選択します (Custom Name 欄に直接入力することで名前を変更できます)。
 - 2) [Add Measures] をクリックし、必要な測度を追加します。
 - 3) Custom Name 欄を右クリックし、不要な測度を削除します。
 - 4) [Hide] をクリックし、ウィンドウを閉じます。

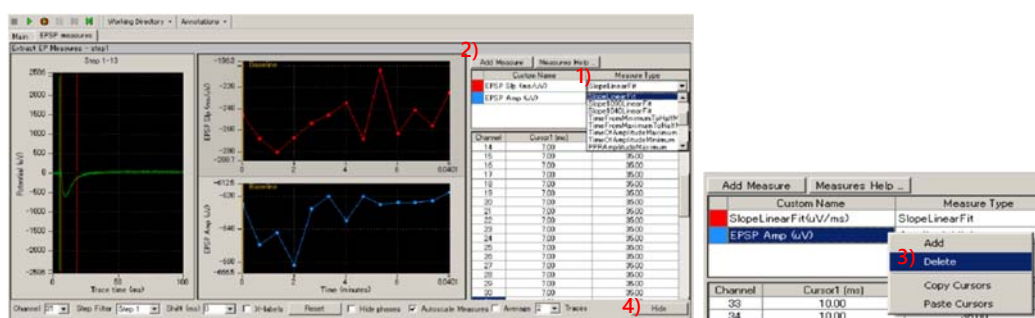


図 2.1.11: 測度を編集する。

- (12) チャート上のカーソルバーをドラッグ & ドロップして算出範囲を設定します。詳細は p. 28「2.4.3. fEPSP を解析する」をご参照ください。波形の表示範囲は、以下のいずれかの手順で変更します。なお、チャート上のどこかで右クリックし [Zooming and Panning Help] を選択すると、操作方法の詳細を確認できます。
 - a. Shift を押しながらクリックもしくは右クリックします。
 - b. チャートの最大値と最小値をクリックし、直接入力して表示範囲を変更します。
 - c. チャート上のどこかでダブルクリックし、自動調節します。

(13) [Main] タブ上 Save raw data の [Enable strage] にチェックが入っていることを確認します。出力ファイル名は Filename modifier 欄で編集できます。

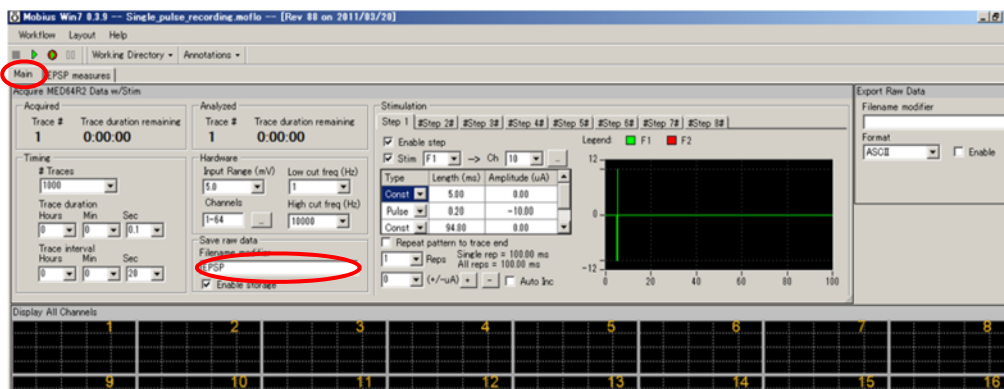


図 2.1.12: 単一チャンネル刺激用に修正した Single_pulse_recording。Step 2 は無効であり、F1 スティミュレーターは Step 1 のみ有効である。

(14) [Workflow] から [Save As] を選択し、記録用ワークフローとして名前をつけて保存します。

(15) ワークフローを記録ボタンで実行します。

注 1: ワークフローを保存せずに記録ボタンで実行すると、ワークフローの保存を促すウィンドウが表示されます。

注 2: 記録を停止するとデータファイル (.modat) 及び、各タスクパネルの設定が保存された記録用ワークフロー (+acquisition.moflo) が自動生成され、記録用ワークフローと同一のフォルダーに保存されます。また、ワークフローに測度を算出するモジュールが含まれる場合、Acquire MED64R2 Data もしくは Acquire MED64R2 Data w/Stim が Replay Raw Data File に置き換えられた解析用ワークフロー (+analysis.moflo) も自動生成され、記録用ワークフローと同一のフォルダーに保存されます (図 2.1.14 参照)。

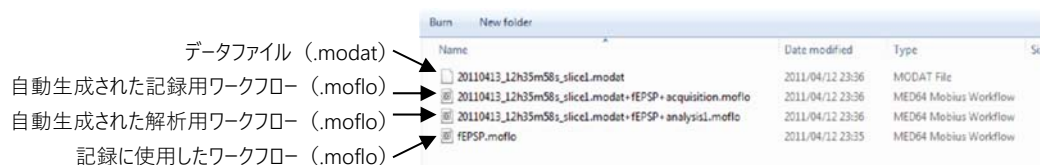


図 2.1.14: データを記録すると同一フォルダーに生成されるデータファイル及びワークフロー。

2.2. 長期増強 (long term potentiation; LTP) の誘導

この節では LTP を誘導する方法を紹介します。これから紹介する方法では、ベースラインを記録した後に、別のワークフローを使って θ パースト刺激を与えて LTP を誘導し、記録します。以下に手順を示します。

- 2.2.1. 刺激部位 (エクスペリメンタルパスウェイとコントロールパスウェイ) を決める。
- 2.2.2. 両パスウェイの I/O カーブ (刺激反応曲線) を求め、適切な刺激強度を決める。
- 2.2.3. LTP 記録用ワークフローの条件を設定する。
- 2.2.4. θ パースト刺激用ワークフローの条件を設定する。
- 2.2.5. LTP を誘導する。

2.2.1. 刺激部位 (エクスペリメンタルパスウェイとコントロールパスウェイ) を決める

Single_pulse_recording を開きます。エクスペリメンタルパスウェイ (experimental pathway: θ パースト刺激を与える部位) 及びコントロールパスウェイ (control pathway: θ パースト刺激を与えない部位) にする 2 つのチャンネルを決めます。ワークフローをモニターボタンで実行し、その他の 62 チャンネルから取り込まれる誘発電位をオンラインでモニターします (p. 16「2.1.5. 単一パルス刺激により誘発される fEPSP を記録する」をご参照ください)。

2.2.2. 両パスウェイの I/O カーブ (刺激反応曲線) を求め、適切な刺激強度を決める

次に fEPSP を記録するための刺激電流強度 (振幅) を決めます。刺激強度 (入力) に対する反応 (出力) として誘発電位 (波形) の振幅ピー

ク値や傾きを算出し、最大反応の 30% 値又は 50% 値を誘発する刺激強度を決めます。エクスペリメンタルパスウェイ及びコントロールパスウェイの両方で I/O カーブを求めます。

- (1) I-O_curve を開きます。初期設定では [Auto Inc] にチェックが入り、5 μA に設定されています。これは 1) 電流刺激が 10 μA で始まり、2) 1 トレースごとに (1 度刺激を与えるごとに) 自動的に 3) 5 μA ずつ刺激強度を増加する (すなわち 10、15、20・・・、105 μA) ことを意味します。切片の状態 (誘発電位) に合わせて条件を変えます。

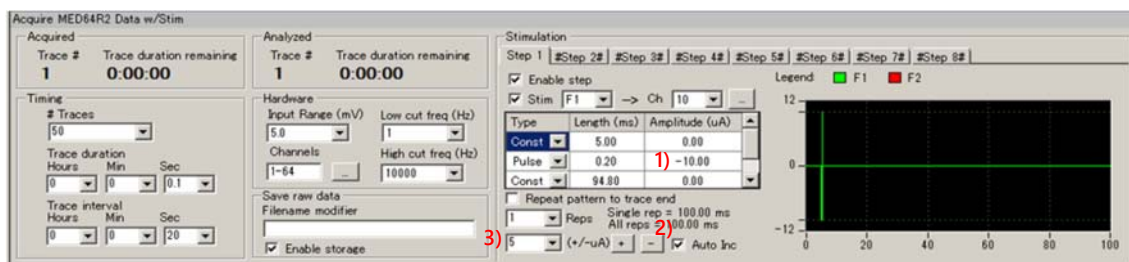


図 2.2.1: I-O_curve のタスクパネル。

- (2) [EPSP measures] タブを選択します。必要に応じて測度を変え、カーソルバーの位置を決めます (p. 28「2.4. 3. fEPSP を解析する」をご参照ください)。オンラインで誘発電位をモニターする (条件設定の参考にする) 特定の 1 チャンネルを選択します。
- (3) I-O_curve を (テンプレートを上書きしないように) 別名で保存します。ワークフローを記録ボタンで実行します (保存しない場合はモニターボタンをクリックします)。
- (4) 最大反応の 30% 値を誘発する刺激強度を決めます。下図は刺激強度が 5 μA で始まり、1 トレースごとに 5 μA ずつ刺激強度を増加した際の結果です。反応は 12 トレース目 (60 μA) で飽和し、その振幅は約 -1900 μV です。-1900 μV の 30% 値は -633 μV 、50% 値は -950 μV であるため、刺激強度をそれぞれ 20 μA 、25 μA と決めます。

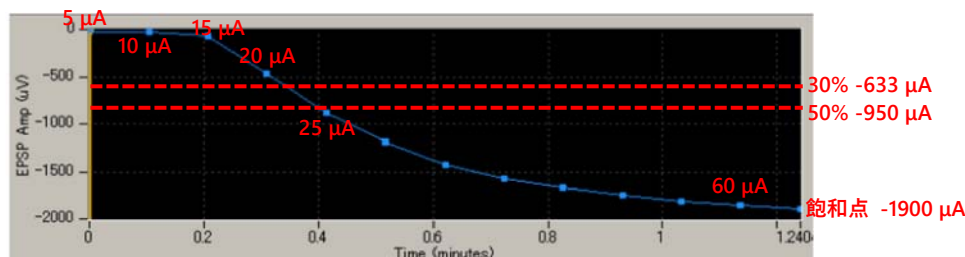


図 2.2.2: 適切な刺激強度を求める。

- (5) 両パスウェイごとに適切な刺激強度を決めます。なお、Step 2 を有効にすれば、両パスウェイから交互に刺激を与えられます。この場合、両 Step において刺激強度は 5 μA ずつ増加します。
- (6) ワークフローを閉じます。

2.2.3. LTP 記録用ワークフローの条件を設定する

この節では Single_pulse_recording を元に LTP 記録用ワークフローを作成し、ベースラインと LTP を記録します。ベースラインを記録した後に、別のワークフローを使って θ バースト刺激を与えて LTP を誘導し、再び LTP 記録用ワークフローに戻って誘導した LTP を記録します。

- (1) Single_pulse_recording を開き、記録する条件等を設定します。この項では例としてベースライン記録後に θ バースト刺激を与えるエクスペリメンタルパスウェイを Step 1 (F1) とし、Step 2 (F1) はコントロールパスウェイとします。

- 1) 長時間記録する場合は、# Trace 欄にて十分なトレース回数に設定します。例えば 300 回に設定すると、記録時間は約 100 分間となります (20 秒 $\times$ 300 回)。
- 2) Step 1 を選択し、エクスペリメンタルパスウェイの刺激チャンネルを選択し、刺激強度を I/O カーブから決めた強度に変えます。図 2.2.3 の例では 30ch、20 μA です。F2 にはチェックを入れないでください。
- 3) Step 2 を選択し、コントロールパスウェイの刺激チャンネルを選択し、刺激強度を I/O カーブから決めた強度に変えます。図 2.2.3 の例では 32ch、25 μA です。F2 にはチェックを入れないでください。
- 4) Step 3～8 ままでが無効であることを確認します。

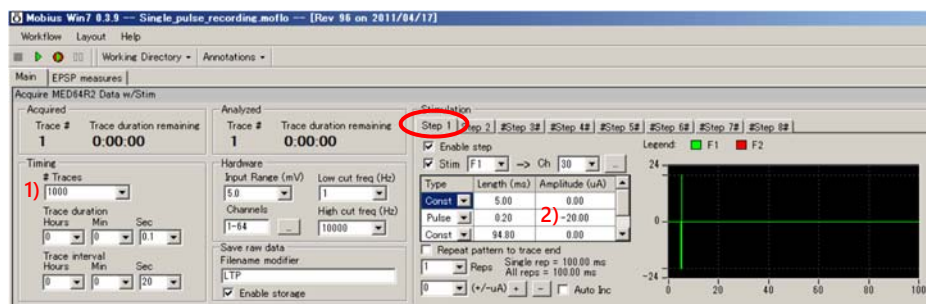


図 2.2.3: LTP 記録のための条件を設定する。

(2) [EPSP measures] タブを開き、オンライン解析の条件を設定します。

- 1) 誘発電位をオンラインでモニターするチャンネルを表示します。
- 2) 必要に応じて測度を変えます (初期設定では Slope1040LinearFit と AmplitudeMinimum が設定されています)。
- 3) ワークフローをモニターボタンで実行して数トレースの誘発電位をモニターした後、算出範囲をカーソルバーで指定します (詳細は p.28「2.4.3. fEPSP を解析する」をご参照ください)。

(3) LTP 記録用ワークフローとしていったん別名で保存し、そのまま開いておきます。

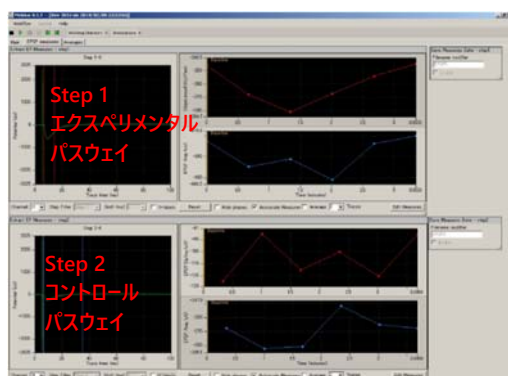


図 2.2.4: LTP 記録用ワークフロー。

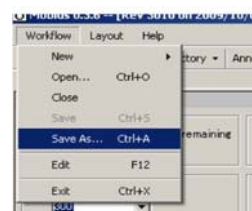


図 2.2.5

2.2.4. θ バースト刺激用ワークフローの条件を設定する

紹介する実験プロトコルでは、ベースラインを記録した後にエクスペリメンタルパルスウェイを θ バースト刺激するため、LTP 記録用ワークフローだけでなく、θ バースト刺激用ワークフローも作成しなければなりません。そこでテンプレートを元にして、θ バースト刺激用ワークフローを作成します。

- (1) Theta_burst を開きます。
- (2) 刺激するチャンネルをエクスペリメンタルパルスウェイと同様のチャンネルにします。また、F2 が無効であることを確認します。
- (3) エクスペリメンタルパルスウェイの [Pulse] の振幅を I/O カーブから決めた数値に設定します。[+] もしくは [-] で振幅を変えます。例えば、-10 μ A から -20 μ A にするには 1) 10 と設定し、2) [+] を 1 度クリックして、4 つ全ての [Pulse] を -20 μ A にします。直接入力で変更する場合は、4 つの [Pulse] 全てを変更しなければなりません。
- (4) Step 2～8 が無効であることを確認します。
- (5) ワークフローをこのまま実行すると、数秒間のキャリブレーションの後に刺激が印加されます。ワークフローを瞬時に切り替えて実験を続ける場合は、予め刺激の“空打ち”を行って、キャリブレーションを行っておきます (p. 4 参照)。
- (6) θ バースト刺激用ワークフローとしていったん保存し、そのまま開いておきます。

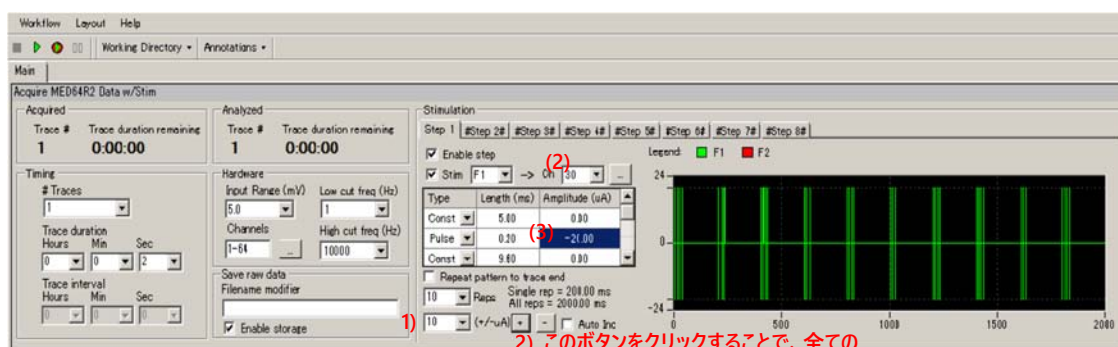


図 2.2.6: θ バースト刺激を設定する。

2.2.5. LTP を誘導する

2つのワークフロー（LTP記録用、 θ バースト刺激用）を開いた状態で、記録を始めます。

- (1) LTP 記録用ワークフローのタイトルバーをクリックしてアクティブにし、[Enable storage] にチェックが入っていることを確認します。記録ボタンで記録を始めます。
- (2) ベースラインを記録した後、一時停止ボタンで一時停止します。
注: 停止ボタンで停止しないでください。取り込みが終了し、ベースラインと LTP を同一のデータファイルに保存できなくなります。
- (3) θ バースト刺激用ワークフローのタイトルバーをクリックしてアクティブにします。モニターボタンをクリックして θ バースト刺激を与えます (θ バースト刺激のデータを保存する場合は記録ボタンをクリックします)。
- (4) θ バースト刺激が終了したら LTP 記録用ワークフローに戻り、記録ボタンで記録を再開します。

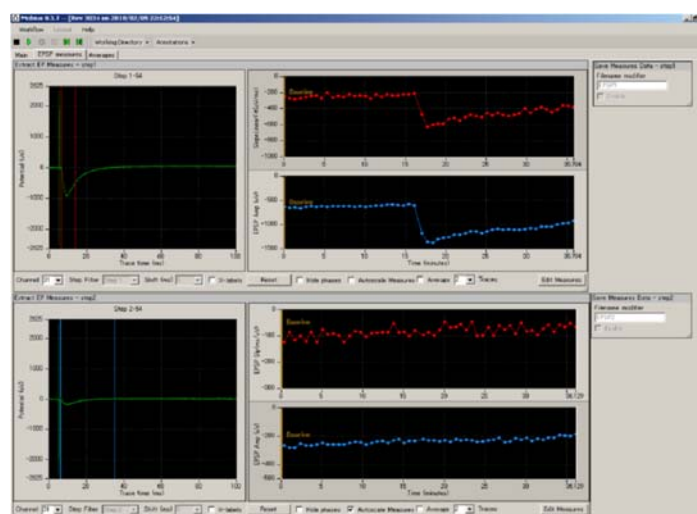


図 2.2.7: 誘導された LTP (上段)。ベースライン刺激に対する反応 (誘発電位) が増強している。

2.3. 薬効評価試験への応用

Compute Measure Averages により、測度の平均値と標準偏差をフェーズ（後述）ごとに算出できます。これにより、ドーズレスポンスカーブ（用量反応曲線）を求めたり、薬物投与前後（フェーズ間）の結果を比較することが簡単にできます。この節では Compute Measure Averages を使ってドーズレスポンスカーブを求める方法を紹介しします。このモジュールは必然的に解析モジュール群の最後に位置付けられるため、データの解析処理が（先行する実時間の）データの取り込み処理から大幅に遅れる原因となる可能性があり、最悪の場合 Mobius を強制終了させる原因となります。そのため、このモジュールを記録用ワークフローに含めることはお奨めしません。この節で紹介する解析方法をオフラインで行うよう推奨いたします。強制終了を防止する対策として、オンラインではこのモジュールを使用せず（記録用ワークフローには含めず）、フェーズバーのみを挿入しながらデータを記録する方法があります。その場合、以下の 1〜3 は省略して、4 から始めてください。

- (1) Single pulse recording を開きます。

(2) テンプレートに Compute Measure Averages と Save Measure Averages を追加します。

- 1) 新しいタブを作ります。[Layout] から [Add Tab] を選択し、タブに名前をつけます (図 2.3.1)。
- 2) 新しいタブ上で Mobius Editor を開きます。



図 2.3.1: 新しいタブを作る。

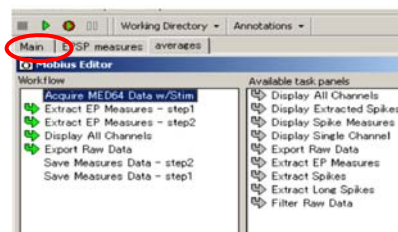


図 2.3.2: 新しいタブ上で Mobius Editor を開く。

3) Workflow 欄の Extract EP Measures - step1 を選択し、Available task panels 欄から Compute Measure Averages をダブルクリックします。Compute Measure Averages が Workflow 欄に挿入され、Extract EP Measures - step1 の下位に接続されます。新しいタブにはこのモジュールのタスクパネルが現れます。

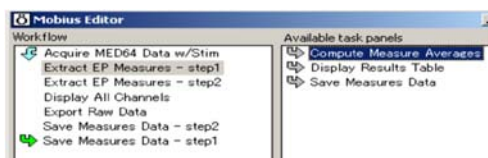


図 2.3.3

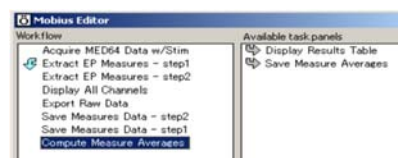


図 2.3.4

4) Workflow 欄の Compute Measure Averages を選択し、Available task panels 欄から Save Measure Averages をダブルクリックして Compute Measure Averages の下位に接続します。

以上により、Extract EP Measures - step1 ([EPSP measure] タブの上部に示される) の平均値と標準偏差が算出されます。Step 2 でも算出する場合は Extract EP Measures - step2 の下位に同様にモジュールを接続します。

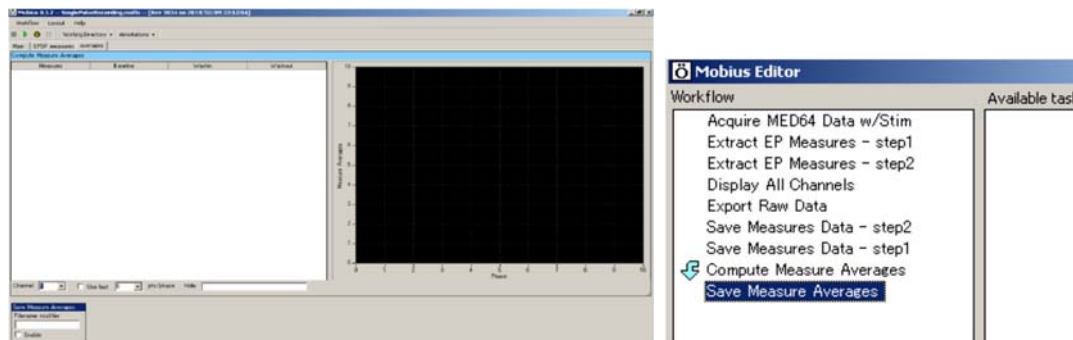


図 2.3.5: Compute Measure Averages 及び Save Measure Averages のタスクパネル (左) 。
新しいワークフローのモジュールリスト (右) 。

(3) [EPSP measure] タブを開き、測度を選択してカーソルバーの位置を決めます (詳細は p. 28「2.4.3. fEPSP を解析する」をご参照ください)。

(4) ワークフローを別名で保存します。

(5) ワークフローを記録ボタンで実行します。第 1 フェーズ (Baseline) は時間 0 から始まります。第 1 フェーズ (Baseline) を終了させる際には一時停止します。[Annotators] から [Add New phase] をクリックし、第 2 フェーズの名前をつけます (dose 1、図 2.3. 6)。

(6) [OK] をクリックすると、タイムチャート上に入力した名前と黄色のバー (フェーズバー) が現れます (図 2.3. 7)。

(7) ワークフローを記録ボタンで再開します。

注 1: 停止ボタンで停止しないでください。停止させた場合、実験を終了させることになり、新しいフェーズを追加できません。

注 2: タイムチャートの時間は一時停止中も経過します。



図 2.3.6: 新しいフェーズを追加する。

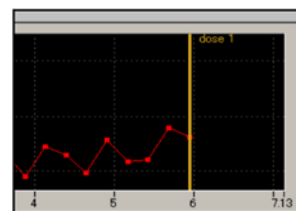


図 2.3.7: 挿入されたフェーズバー。

- (8) 第 2 フェーズ (dose 1) を終了させる際には一時停止し、再び [Annotators] から [Add New Phase] をクリックします。
- (9) 第 3 フェーズの名前を入力します (dose 2)。[OK] をクリックすると、タイムチャート上に入力した名前とフェーズバーが現れます。
- (10) ワークフローを記録ボタンで再開します。以降、同様の手順でフェーズを追加していきます。
- (11) Compute Measure Averages のタスクパネルに各フェーズの平均値の表及びタイムチャートが表示されます (図 2.3.8)。挿入したフェーズバーはドラッグ＆ドロップで移動させることができ、オフライン解析時にも利用できます。フェーズバーを移動させてから記録データを再生すると、フェーズバーの新しい位置に基づいて平均値と標準偏差が算出されます。

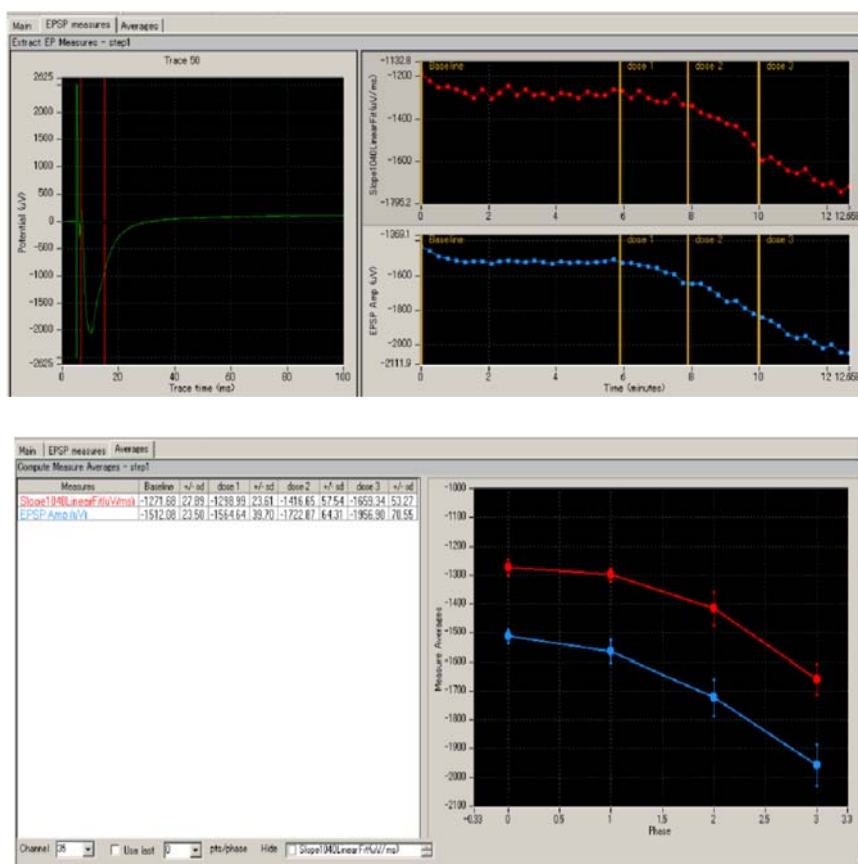


図 2.3.8: Computed Measure Averages のタスクパネル。

Compute Measure Averages の設定

- a. Channel: 表示するチャンネルを選択します。記録中は変更できません。
- b. Use last: チェックを入れると指定したトレースから平均値と標準偏差が算出されます。例えば 10 と設定した場合、各フェーズの直近 10 トレースから平均値と標準偏差が算出されます (オフライン解析等にご活用ください)。
- c. Hide: チェックを入れた測度は平均値が算出されません。
- d. タイムチャート: ダブルクリックするか、X 軸、Y 軸の最大値もしくは最小値を変えることで、表示範囲を変更できます。

2.4. 記録データの再生とオフライン解析

記録したデータファイル (.modat) は Replay Raw Data Files で再生し、Extract EP Measures で解析できます。データを再生、解析するには、解析用ワークフローを作らなければなりません、既存のワークフローテンプレート [Single_pulse_analysis](#) を利用すれば fEPSP のデータを簡単に再生、解析できます。また、測度を算出するモジュールを含む記録用ワークフロー ([Single_pulse_recording](#) 等) でデータを記録すると、同一フォルダー内に Acquire MED64R2 Data もしくは Acquire MED64R2 Data w/Stim が Replay Raw Data File に置き換えられた解析用ワークフロー (+analysis.moflo) が自動生成されます。それを利用するのも簡単です。

2.4.1. データを再生する

- (1) [Workflow] - [New] - [From Template] からディスプレイサイズに合わせて [64MD1_1280x1024] もしくは [64MD1_1920x1080] を選択します。[EPs] - [EP Analysis] から [Single_pulse_analysis](#) を開きます。

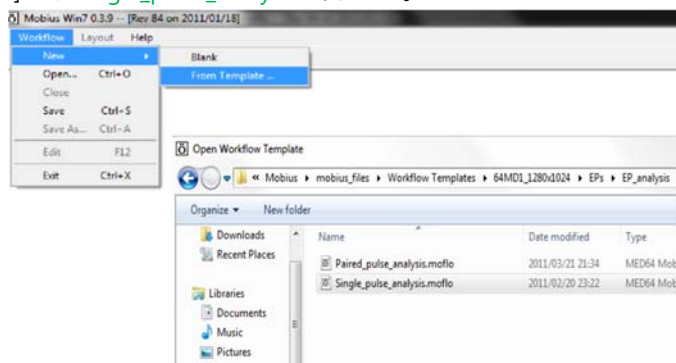


図 2.4.1: 解析用のワークフローテンプレートを開く。

- (2) 記録したデータファイル (.modat) を読み込むには、Filename 欄右のボックスをクリックしてファイルを選択します。
- (3) モニターボタンで実行すると、記録したデータが再生されます。記録ボタンで実行する場合、Export Raw Data が有効になっていると (Enable にチェックが入っている) データの再生と書き出しが行われます。

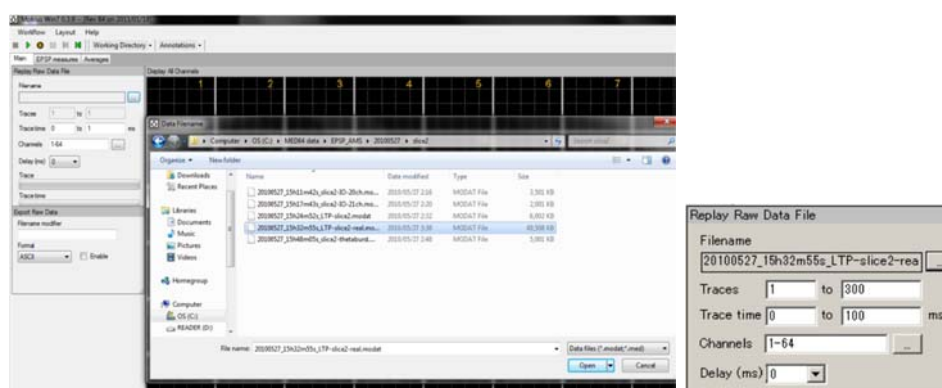


図 2.4.2: データファイルを取り込む。ファイルの名前が表示されてから再生できる。

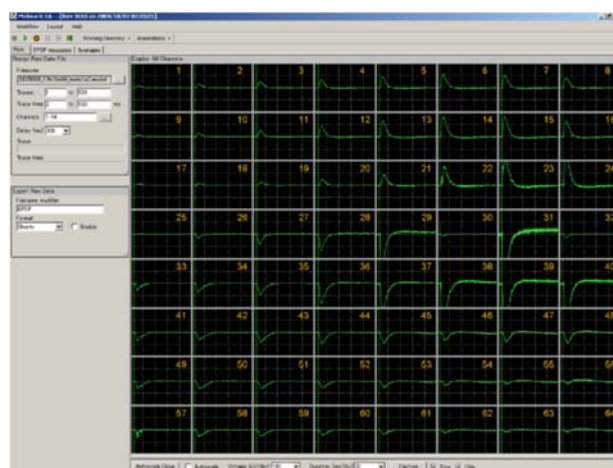


図 2.4.3: 再生した fEPSP のデータ。

Replay Raw Data Files の設定

- Traces: 再生するトレースを選択します。
- Trace time: 再生するトレースの時間範囲を設定します。
- Channels: 再生するチャンネルを選択します。Filename 欄右のボックスをクリックすると、チャンネルセレクトが現れます。緑色にマークされたチャンネルのデータが再生されます。
- Delay: 0 以上の値を設定すると、再生するトレース間に遅延が挿入されます。再生処理を遅延させ、解析処理を追従させるのに利用できます。

2.4.2. Single_pulse_analysis の概要

Single_pulse_analysis は [Main]、[EPSP Measures] 及び [Averages] の 3 つのタブに設置された以下のモジュールから構成されています。

タブウィンドウ名	含まれるモジュール
Main	Replay Raw Data File / Display All channels / Export Raw Data
EPSP measures	Extract EP Measures (×2) / Save Measures Data (×2)
Averages	Compute Measure Averages / Save Measure Averages

再生されたデータは Extract EP measures に出力されます。そこで振幅や傾き等の測度が算出され、タイムチャートにプロットされます。フェーズバーを挿入すると、フェーズごとに測度の平均値が算出され、チャートに表示されます。生データはバイナリデータもしくは CSV 形式の ASCII ファイルとして出力できます。測度と平均値のチャートは CSV 形式の ASCII ファイルとして保存できます。

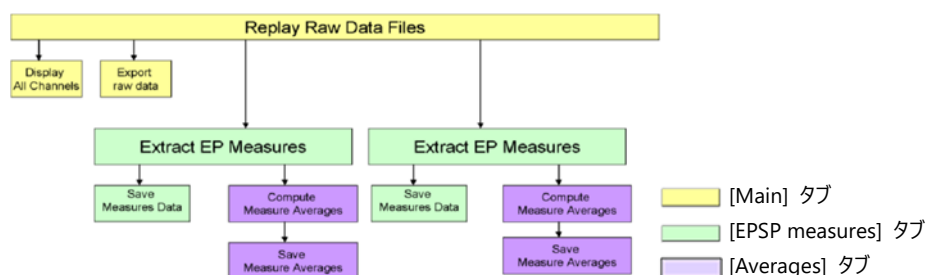


図 2.4.4: Single_pulse_analysis のモジュール構成。

2.4.3. fEPSP を解析する

Extract EP Measures により誘発電位の測度 (振幅や傾き) を算出できます。

- 生データのタイムチャートには誘発電位の波形が表示されます。測度のタイムチャートをクリックして、算出範囲を設定するカーソルバーを表示させます。カーソルバーをドラッグ＆ドロップで移動させ、測度の算出範囲を設定します。なお、ズームインするには、
 - Shift を押しながらクリックします。
 - X 軸 (時間)、Y 軸 (振幅) の表示範囲を変えます。最大値もしくは最小値をダブルクリックし、直接数値を入力します (図 2.4. 6)。
 - タイムチャート外でダブルクリックすると初期表示範囲に戻ります。

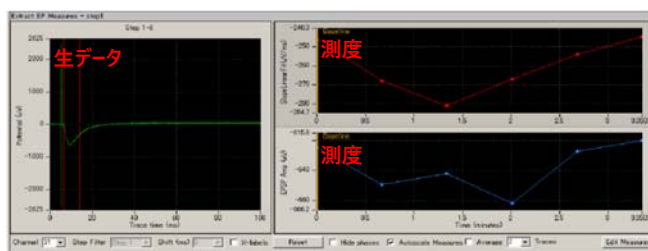


図 2.4.5: Extract EP Measures のタスクパネル。



図 2.4.6

- カーソルバーの位置は、右クリックから [Copy Cursors] を選択することで、特定のチャンネルもしくは全てのチャンネルに適用できます。



図 2.4.7

- (3) 測度のタイムチャートには算出した測度がプロットされます。X 軸、Y 軸の最大値もしくは最小値を直接ダブルクリックし、数値を直接入力することで表示範囲を変更できます。

Extract EP Measures の設定

- a. Channel: 表示するチャンネルを選択します。再生中も変更できます。ボックスを右クリックして [Select] を選択すると、チャンネルセレクトウインドウが現れ、再生するチャンネルを選択できます (図 2.4.8)。MED64-Quad II システムをご使用の場合、プローブごとのチャンネル選択にご利用ください。

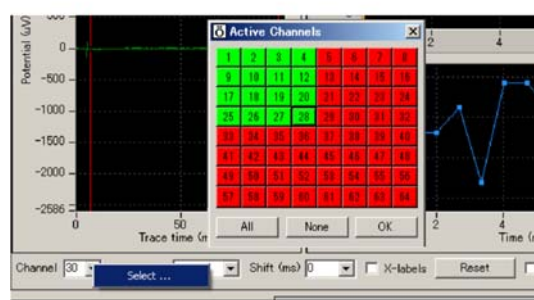


図 2.4.8

- b. Step Filter: 誘発電位を解析する Step を選択します。初期設定では上部チャートは Step 1 に、下部チャートは Step 2 に設定されています。

Single_pulse_recording で LTP を記録していれば、設定を変更することなくデータを解析できます。

注: Conductor (別売ソフトウェア) のデータを解析するには、ALL を選択しなければなりません。

- c. Shift (ms): ペアパルス刺激の解析に使います。0 より大きな値を設定すると 2 発目のパルス刺激に対する 1) カーソルバー、2) 測度のタイムチャートが現れます。
- d. Labels: チェックを入れるとカーソルバー位置の時間がチャートに表示されます。
- e. Reset: クリックすると移動したカーソルバーを初期位置に戻します。
- f. Hide phases: チェックを入れるとフェーズバー (測度のタイムチャートに文字とともに表示される黄色のバー) を非表示にできます。
- g. Autoscale Measures: チェックを入れるとタイムチャートの表示範囲が自動調節されます。チェックを外すと X 軸、Y 軸の最大値もしくは最小値を直接入力することで表示範囲を変更できます。
- h. Averages: チェックを入れると測度の移動平均値を算出し、タイムチャートにプロットします。
- i. Edit Measures: 算出する測度を編集できます。測度の定義や詳細は [Measures Help] から確認できます。
- 1) 初期設定の測度を変えるには [Measure Type] から選択します。
 - 2) 選択した測度の名前を編集するには Custom Name 欄をダブルクリックして直接入力します。
 - 3) 測度を追加するには [Add Measure] をクリックします。
 - 4) 不要な測度は名前の上で右クリックして削除します。
 - 5) [Hide] をクリックすると Edit Measures 欄が閉じます。

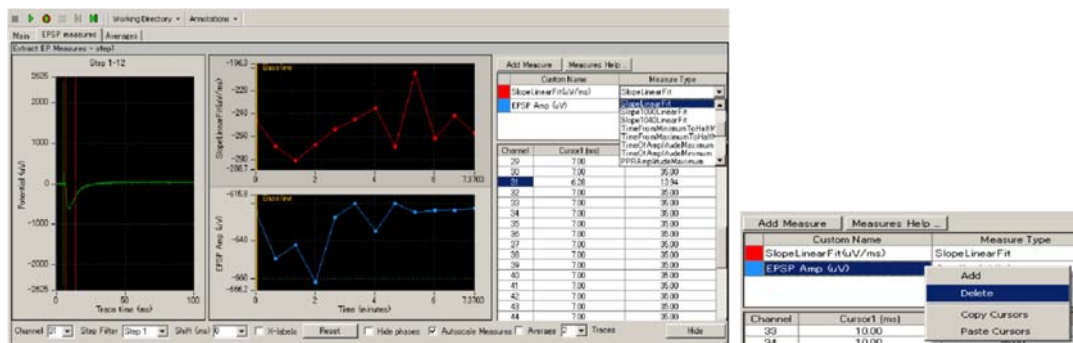


図 2.4.9

- (4) [Save Measure Data] にチェックを入れてワークフローを記録ボタンで実行すると、設定した解析条件による測度のタイムチャートを、CSV 形式の ASCII ファイルとして出力できます。Single_pulse_analysis の初期設定では、Step 1 及び Step 2 のタイムチャートを異なるファイルに出力できるようになっています。出力するチャンネルは Channel ボックスを右クリックして現れるチャンネルセレクトで選ぶことができます。緑色にマークしたチャンネルのチャートを出力できます (p. 29 をご参照ください)。

2.4.4. フェーズごとに平均値を算出する

Single_pulse_analysis は Compute Measure Averages を含んでおり、設定した測度についてフェーズごとの平均値と標準偏差を算出し、グラフを作成できます。ドーズレスポンスカーブを求めたり、ベースラインと LTP 誘導後といったフェーズ間の測度を比較するのに利用できます。この項では、このモジュールを利用してドーズレスポンスカーブを求める方法を紹介します。

- (1) [EPSP Measures] タブを選択し、モニターボタンでデータを再生します。第 1 フェーズは 0 から始まります。
- (2) 第 1 フェーズ (Baseline) が終了したら、一時停止ボタンで一時停止します。[Annotators] から [Add New Phase] を選択します (図 2.4.10)。
- (3) 第 2 フェーズの名前を入力します (dose 1) 。[OK] をクリックすると、測度のタイムチャート上に名前と共にフェーズバーが挿入されます (図 2.4.11) 。
注: ワークフローを停止ボタンで停止すると再生が終了し、フェーズバーを挿入できなくなります。
- (4) ワークフローをモニターボタンで再開します。
- (5) 第 2 フェーズ (dose 1) が終了したら、ワークフローを一時停止し、再び [Annotators] から [Add New Phase] を選択します。
- (6) 第 3 フェーズの名前を入力します (dose 2) 。[OK] をクリックすると、測度のタイムチャート上に名前と共にフェーズバーが挿入されます。
- (7) ワークフローをモニターボタンで再開します。以下、同様の手順でフェーズバーを挿入し、最後まで再生します。
- (8) 各フェーズの数値とチャートは Compute Measure Averages パネル上で確認できます (図 2.4.12)。
- (9) フェーズバーはドラッグ & ドロップで移動できます。フェーズバーを移動した後、データを再生するとフェーズバーの新しい位置に基づいて平均値と標準偏差が算出されます。
- (10) フェーズバーの位置を確定したら、ユーザーに固有の解析用ワークフローとして保存します。
- (11) 平均値のチャートを CSV 形式で保存するには、Save Measure Averages パネルにチェックを入れ、ワークフローを記録ボタンで実行します。

Compute Measure Averages の設定

- a. Channel: 表示するチャンネルを選択します。再生中 (取り込み中) は変更できません。
- b. Use last: チェックを入れると、指定したトレースから平均値と標準偏差が算出されます。例えば 10 と設定した場合、各フェーズの直近 10 トレースから平均値と標準偏差が算出されます。
- c. Hide: チェックを入れた測度は平均値が算出されません。
- d. チャート: X 軸、Y 軸の最大値もしくは最小値を変更することで表示範囲を変更できます。

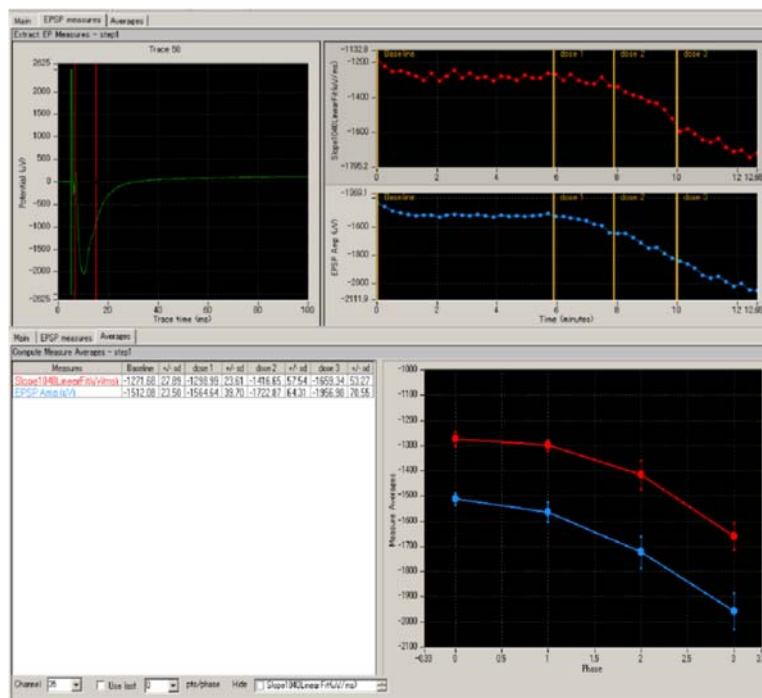


図 2.4.12: フェーズバーが挿入された Extract EP Measure パネル (上) と Compute Measure Averages パネル上の表及びチャート。

2.4.5. データを出力する

Mobius にはデータの出力のためのモジュールがあります。例えば fEPSP を記録、解析する場合には、

- 2.4.5.1. 生データ (波形) 、
- 2.4.5.2. 測度のタイムチャート、
- 2.4.5.3. 平均値のチャート

について、各々の出力用モジュールを有効にして記録ボタンで実行することで、全て出力できます。

2.4.5.1. 生データを出力する

Export Raw Data を使います。生データは 1) Binary shorts (2 バイトの整数値) 2) Binary double (8 バイトの浮動小数点) 3) CSV 形式の ASCII ファイルとして出力できます。出力するチャンネルは Replay Raw Data File のチャンネルセクタで選択します。

File Format Version	20071201				
Session Start Time	2007/9/05 17:15:56 +09				
time_mns	ch1_mV	ch2_mV	ch3_mV	ch4_mV	ch5_mV
0	0	-0.00244148	-0.00366222	0	-0.00488296
0.05	0.00122074	-0.00366222	-0.00366222	-0.00244148	-0.0061037
0.1	0.00366222	-0.00366222	-0.00366222	-0.00244148	-0.00366222
0.15	0	-0.00122074	0	0.00122074	-0.00244148
0.2	0.00122074	0.00122074	-0.00244148	-0.00122074	-0.00244148
0.25	-0.00244148	-0.00488296	-0.00244148	-0.00366222	-0.00122074
0.3	0.00122074	-0.00122074	0.00122074	-0.00122074	-0.00122074
0.35	-0.00244148	-0.00122074	-0.00366222	-0.00244148	-0.00488296
0.4	-0.00122074	0	-0.00366222	0.00244148	-0.00244148
0.45	-0.00488296	-0.00244148	-0.00244148	-0.00244148	-0.0061037
0.5	0	-0.00122074	-0.00488296	-0.00122074	-0.00488296
0.55	-0.00122074	0.00122074	-0.00122074	0.00122074	-0.00244148
0.6	-0.00122074	-0.00244148	-0.00244148	0.00244148	-0.00122074
0.65	0	-0.00366222	-0.00366222	-0.00122074	-0.00488296
0.7	0.00244148	0	-0.00122074	0.00244148	0
0.75	0	-0.00122074	-0.00366222	-0.00244148	-0.00488296

図 2.4.13: ASCII ファイルとして出力した生データ (波形) を Excel で表示した一例。

2.4.5.2. 測度のタイムチャートを出力する

Save Measures Data を使います。測度のタイムチャートは CSV 形式の ASCII ファイルとして出力できます。出力するチャンネルは Extract EP Measures でチャンネルセクタにより選択します (チャンネルセクタを右クリックします、p. 29 参照)。

File Format Version	20080210			
Recording Date	2007/9/05 17:15:56 +09			
STIMULATION PARADIGM 1				
EPSP Slp (ms/uV)				
Trace#	Phase	Time (s)	ch1	ch2
Step1-1	Baseline	0	-1.337	-2.041
Step1-2		40.219	-1.011	-1.638
Step1-3		80.422	-1.428	-2.305
Step1-4		120.625	-1.06	-1.424
Step1-5		160.813	-1.276	-1.552
Step1-6		201.016	-1.116	-1.752
Step1-7		241.219	-0.966	-1.614
Step1-8		281.422	3.999	-1.436
Step1-9		321.625	-0.948	-1.595
Step1-10		361.813	-0.962	-1.716
EPSP Amp (uV)				
Trace#	Phase	Time (s)	ch1	ch2
Step1-1	Baseline	0	-8.545	-6.104
Step1-2		40.219	-6.104	-7.324
Step1-3		80.422	-7.324	-6.104
Step1-4		120.625	-6.104	-7.324
Step1-5		160.813	-7.324	-6.104
Step1-6		201.016	-8.545	-7.324

図 2.4.14: Excel と互換性のある CSV 形式で出力した測度のタイムチャートの一例。Step 1 の SlopeLinearFit 及び MinimumAmplitude のチャートを出力した。

2.4.5.3. 平均値のチャートを出力する

Save Measure Averages を使います。平均値と標準偏差の値は CSV 形式の ASCII ファイルとして出力できます。

File Format Version:	20090613				
Recording Date:	2007/7/13 06:44:04 +09				
Slope1040LinearFit(uV/ms)					
Phase	ch1	+/-sd	ch2	+/-sd	ch3
Baseline	32.528	5.996	-10.402	50.352	-63.225
dose 1	32.239	9.716	-28.377	55.214	-61.097
dose2	39.948	11.97	-63.761	39.029	-62.029
dose 3	48.442	5.472	-78.628	1.577	-65.594
EPSP Amp (uV)					
Phase	ch1	+/-sd	ch2	+/-sd	ch3
Baseline	-60.092	3.841	-246.416	5.54	-264.615

図 2.4.15: Excel と互換性のある CSV 形式で出力した測度のタイムチャートの一例。

第 3 章 スパイクソーター

この章では、既存のワークフローテンプレートを利用して、培養神経細胞や脳組織切片からスパイク状の電位（自発発火）を記録し、解析する方法を紹介します。紹介する内容は以下の通りです。

- 3.1. スパイク（自発的活動）の記録
- 3.2. 薬効評価試験への応用
- 3.3. 記録データの再生とオフライン解析

3.1. スパイク（自発的活動）の記録

スパイクの記録には、5 つのワークフローテンプレートを利用できます。ワークフローテンプレートを開くには、[Workflow] - [New] - [From Template] からディスプレイサイズに合わせて [64MD1_1280x1024] もしくは [64MD1_1920x1080] を選択し（図 3.1.1）、利用するテンプレートを選択して、[OK] をクリックします。

a. [Basic_recording] フォルダ内

Spontaneous_recording: オンライン解析をせずに自発的活動を記録。

b. [Spikes] - [Spontaneous Recording] フォルダ内

Spike_recording: スパイク検出をしながら記録、発火頻度の解析。

Spike_recording_filter: 2 にフィルタリング機能を追加。

Spike_recording_cluster: スパイク検出、分類をしながら記録、発火頻度の解析。

Spike_recording_filter_cluster: 4 にフィルタリング機能を追加。

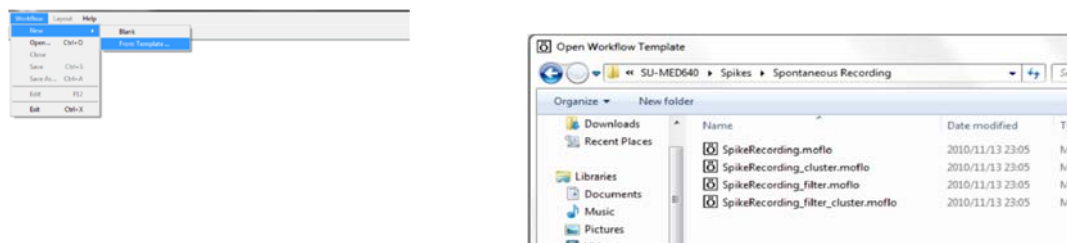


図 3.1.1

注: スパイク検出及びそのクラスター分け（クラスタリング）は、スムーズな解析ができなくなるほど多数のスパイクが検出された場合、Mobius のデータ処理を遅くさせ、強制終了させる原因となる可能性があります。多数のスパイク状ノイズや振動によるベースラインのゆらぎが原因となり、全てのチャンネルから閾値を越えるスパイクを 1 度に検出する場合に起こる可能性があります。まずはスパイク検出やクラスタリングをオンラインで行わずに記録をし（Spontaneous_recording を利用し）、被検試料や MED64 システムでの実験に慣れてから、オンラインでのスパイク検出を行うよう推奨いたします。スパイク検出、クラスタリング及びフィルタリングを行いながら記録をする場合は、p. 4「1.2. 使用上の注意」の内容を配慮してください。

3.1.1. 取り込み条件の設定

記録用のワークフローテンプレート全てに Acquire MED64 Dada が含まれており、信号の取り込み条件を設定できます。

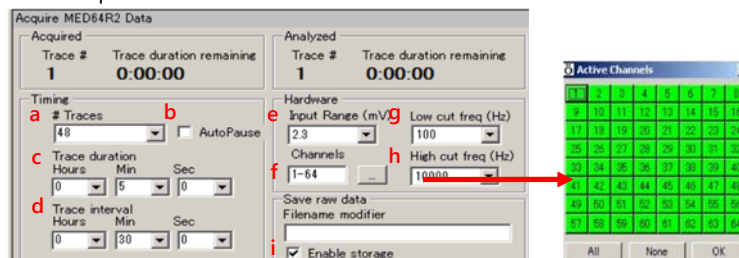


図 3.1.2: Acquire MED64R2 Data のタスクパネル。

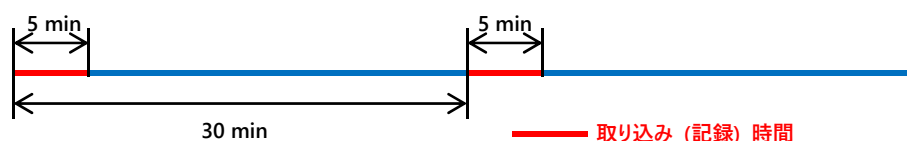
a. トレース（挿引）回数。

b. チェックを入れると、各トレースの取り込み後にワークフローが自動的に一時停止されます。

c. トレースの取り込み（記録）時間。

d. 各トレース間間隔（トレース開始時点から次のトレースの開始時点までの間隔）。

注: 初期設定では下図に示すように 30 分ごとに 5 分間のデータ取り込みが行われ、それが 48 回（トレース）繰り返されます。つまり、この設定によるデータ取り込みは 24 時間行われることになります。



e. 最大許容入力。2.3 mV、2.9 mV、5.0 mV、12.5 mV、25 mV から選択します。スパイクの記録では、通常 2.3 mV に設定します。

f. 取り込みチャンネルの設定。右のボックスをクリックするとチャンネルセレクトが表示されます。緑色にマークされたボタン（チャンネル）の信号が取り込まれます。

g. ハイパスフィルター（0.1、1.0、10、100 Hz）の設定。1 に設定した場合、1 Hz 以下の信号は遮断されます。スパイクの記録では、通常 100 に設定します。

- h. ローパスフィルター (1000、2500、5000、7500、10000 Hz) の設定。5000 に設定した場合、5000 Hz 以上の信号は遮断されます。スパイクの記録では、通常 10000 に設定します。
- i. [Enable storage] にチェックを入れると、ワークフローを記録ボタンで実行した場合に生データが自動保存されます。出力ファイル名は Filename modifier 欄で編集できます。

3.1.2. ワークフローを実行する

ワークフローは下図に示す操作ボタンで開始、停止します。

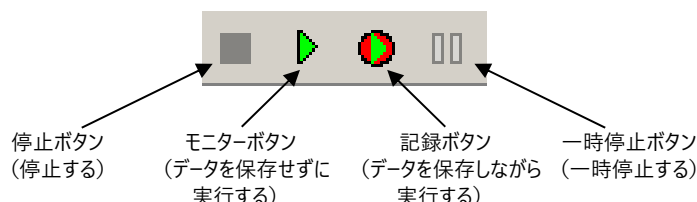


図 3.1.3: 操作ボタン。

3.1.3. 実験を始める前に

ワークフローを開いた後、モニターボタンもしくは記録ボタンで初めて実行する際には、数秒間のキャリブレーションが行われます。同時に開かれた複数のワークフローを瞬時に切り替えて記録を続ける際には、予めワークフローをモニターボタンで実行し、キャリブレーションを行うようにしてください。コンピューターを起動してから初めて Extract Spikes を含むワークフローを実行する際には、スパイク検出が行われないように Extract Spikes パネルの [Disable] にチェックを入れて、ワークフローを実行してください (大きく揺れるベースラインをスパイク波形として認識し過剰検出する可能性があります)。

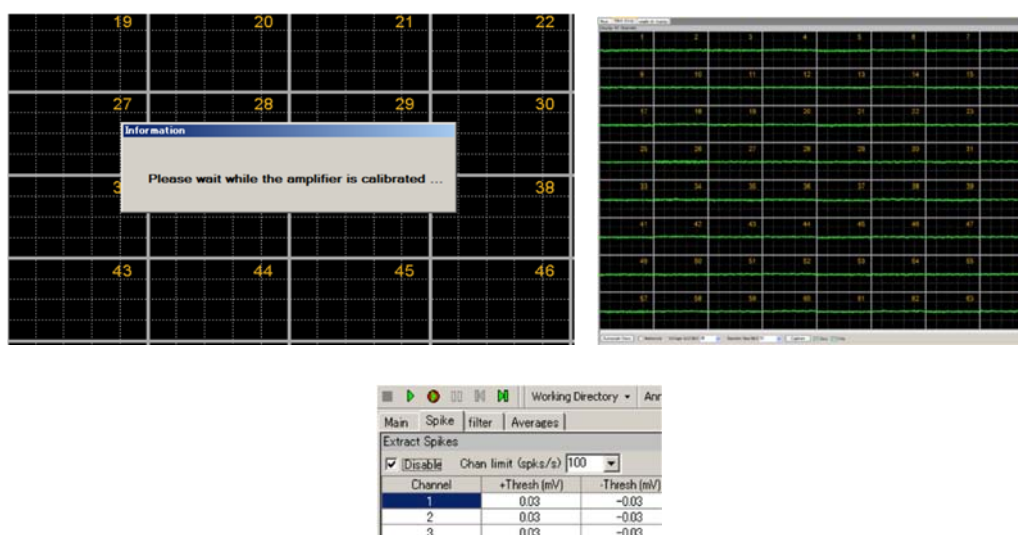


図 3.1.4: キャリブレーション (左) 後、ベースライン (右) が表示された画面。スパイク検出を行わないよう Disable にチェックを入れる (下)。

3.1.4. オンライン解析をせずに記録する -Spontaneous_recording の利用-

3.1.4.1. Spontaneous_recording の概要

既存のワークフローテンプレート **Spontaneous_recording** は、[Main] と [Monitor] の 2 つのタブに設置された以下のモジュールから構成されています。

タブウィンドウ名	含まれるモジュール
Main	Acquire MED64R2 Data / Display All Channels / Export Raw Data
Monitor	Display Single Channel

このテンプレートにより取り込まれた信号は、64 チャンネルもしくは選択したチャンネルに表示されます。信号はバイナリデータもしくは CSV 形式の ASCII ファイルとして出力できます。

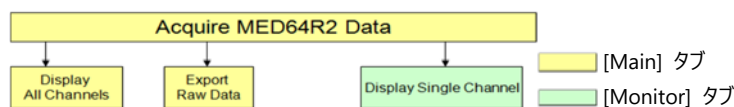


図 3.1.5: Spontaneous_recording のモジュール構成。

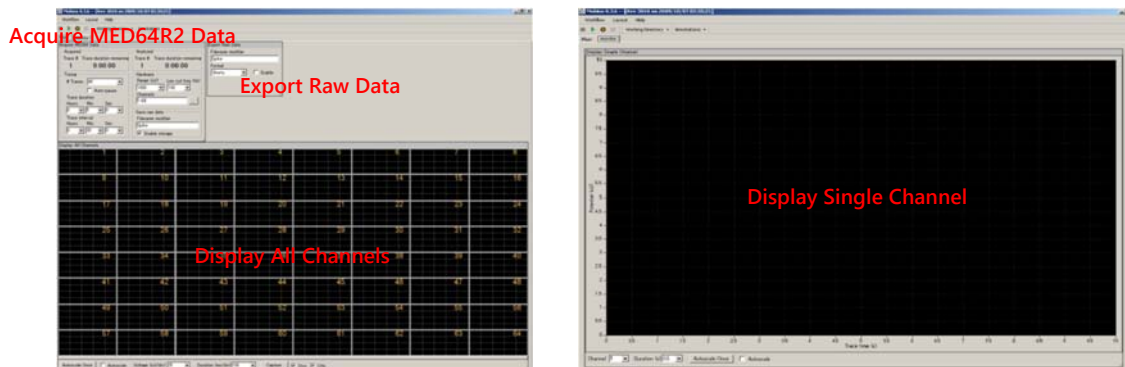


図 3.1.6: Spontaneous_recording を構成するモジュールのタスクパネル。

3.1.4.2. オンライン解析をせずにスパイク（自発的活動）を記録する

オンラインでのスパイク検出は、スムーズな解析ができなくなるほど多数のスパイクが検出された場合、Mobius のデータ処理を遅くさせ、強制終了させる原因となる可能性があります。そのため、Mobius に慣れるまで、既存のワークフローテンプレート Spontaneous_recording を利用してデータを記録するよう推奨いたします。データを保存した後からでも、オフラインでのスパイク検出ができるためです。

- (1) Spontaneous_recording を開きます。
- (2) Acquire MED64R2 Data の設定を変更します (p. 35「3.1.1. 取り込み条件の設定」参照)。
- (3) Export Raw Data の Enable にチェックが入っていないことを確認します。安定した記録を行うためにも、データの出力はオフラインで行うようにします。
- (4) Acquire MED64R2 Data の Save raw data にチェックが入っていることを確認します。
- (5) ユーザーに固有の記録用ワークフローとして別名で保存します。
- (6) ワークフローを記録ボタンで実行します。

注 1: [Workflow] から [Save as] を選択します (図 3.1.7) 。ワークフローは moflo 形式のファイルとして保存されます。

注 2: データファイル (modat 形式) は記録用ワークフローと同一のフォルダーに保存されます。

注 3: [Monitor] タブで特定のチャンネルをモニターできますが、記録中でもチャンネルは変更できます。



図 3.1.7

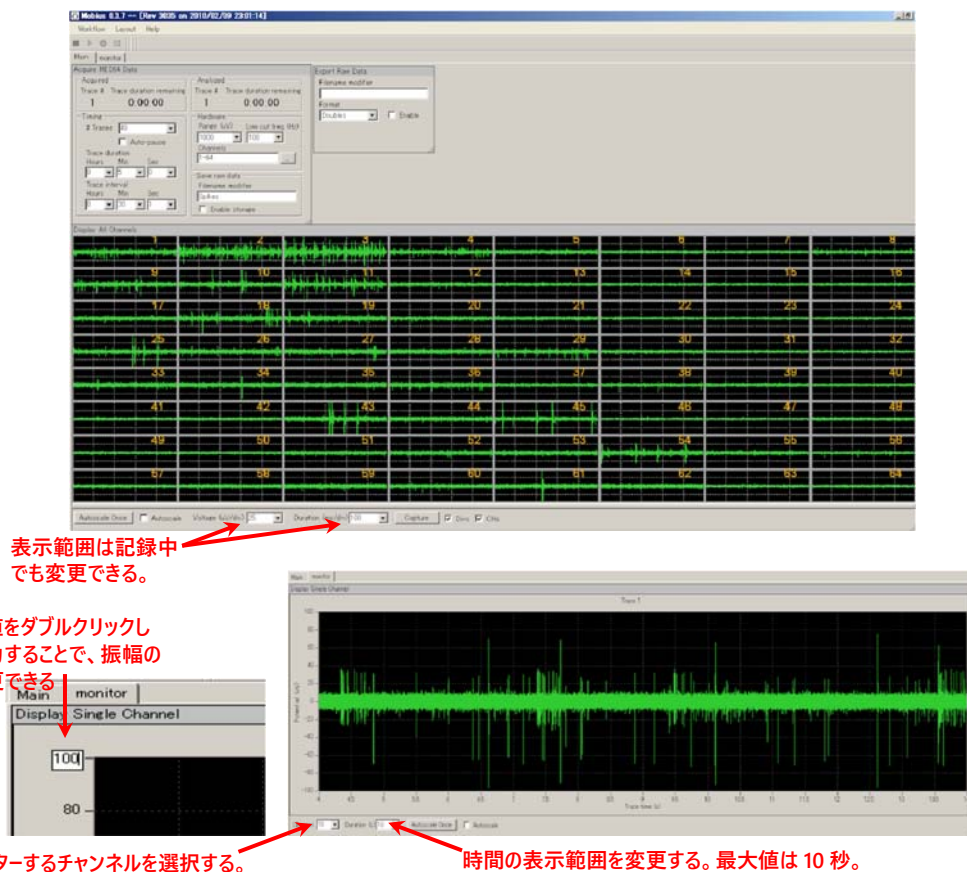


図 3.1.8: Spontaneous_recording によるデータの取り込み。[Main] タブ (上) と [Monitor] タブ (下)。

3.1.5. スパイク検出をしながら記録、発火頻度を解析する -Spike_recording、Spike_recording_filter の利用-

3.1.5.1. Spike_recording、Spike_recording_filter の概要

Spike_recording、Spike_recording_filter は [Main]、[Spike] 及び [Filter] の3つのタブに設置された以下のモジュールから構成されます。

タブウィンドウ名	含まれるモジュール
Main	Acquire MED64R2 Data / Display All Channels / Export Raw Data
Spike	Extract Spikes / Compute Spike Freqs / Save Spikes / Save Spike Freqs / Display Spike Measures
Filter 注	Filter Raw Data (×2) / Display Single Channel (×2)

注: Spike_recording に [Filter] タブは含まれていません。

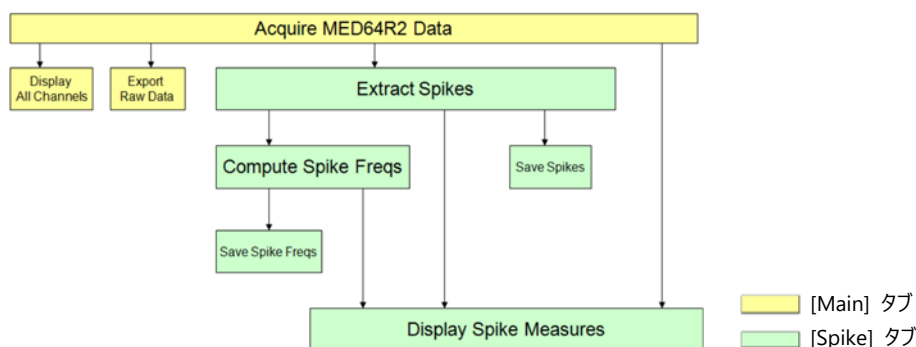


図 3.1.9: Spike_recording のモジュール構成。

このテンプレートでは設定した閾値を越えるスパイクを検出し、記録しながらその発火頻度を算出して、タイムチャートにプロットできます。また生データの波形だけではなく、Display Spike Measures により 1) スパイクの検出経過、2) 検出されたスパイクの波形、3) スパイクの発火頻度をモニターできます。Spike_recording_filter では、[Filter] タブに2つの Filter Raw Data が挿入されています。このテンプレートでは信号が Extract

Spikes に入力される前に、ユーザーが設定したフィルターによるフィルタリング（フィルター処理）が行われます（図 3.1.10 参照）。[Filter] タブの Display Single Channel は、上部が未処理の波形を、下部がフィルター処理後の波形を表示します（図 3.1.11 参照）。

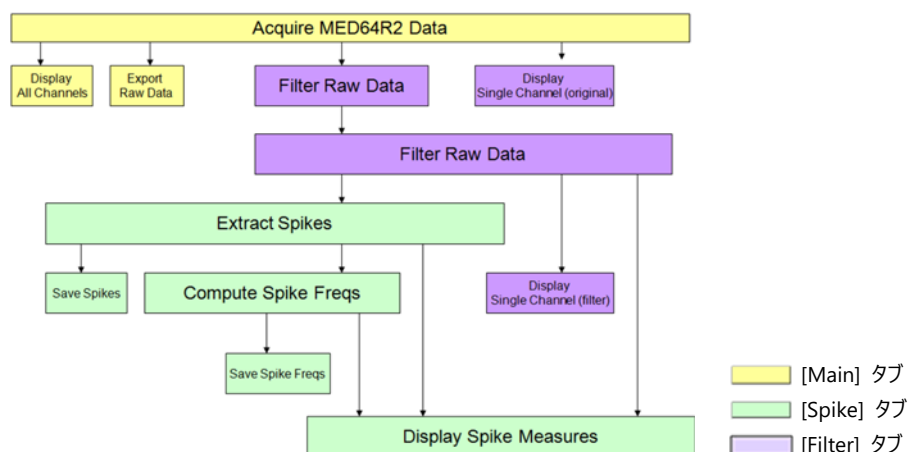


図 3.1.10: Spike_recording_filter のモジュール構成。

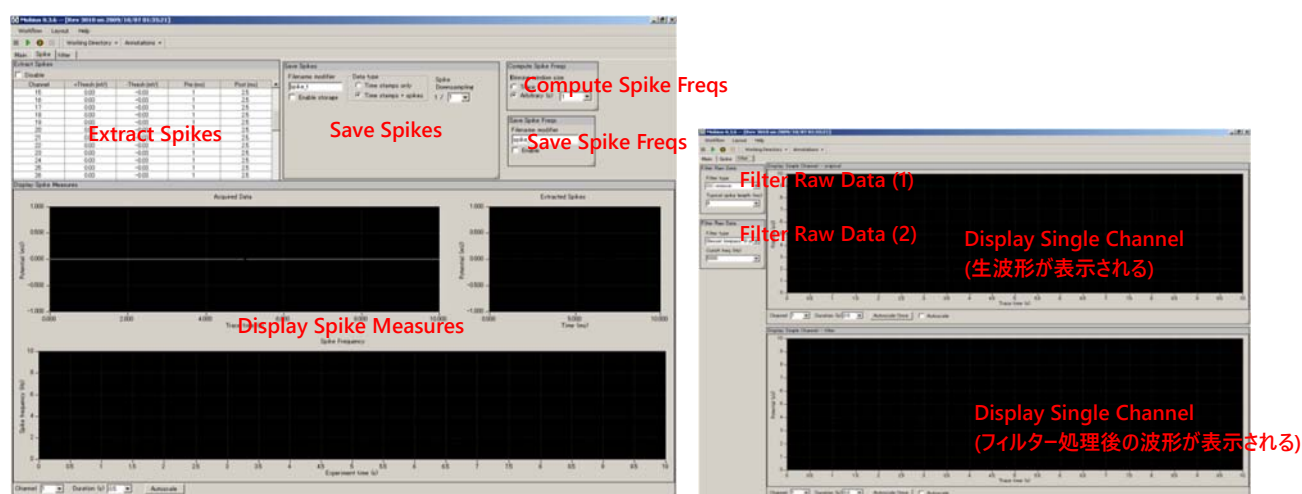


図 3.1.11: Spike_recording_filter の [Spike] タブ（前頁）と [Filter] タブ上のタスクパネル。

3.1.5.2. オンラインでスパイク検出、発火頻度の解析をしながら記録する

Extract Spikes は、スムーズな解析ができなくなるほど多数のスパイクが検出された場合、Mobius のデータ処理を遅くさせ、強制終了させる原因となる可能性があります（p. 35「注意」参照）。データの記録時にこのモジュールを使用する際には、強制終了を避けるために以下の点にご確認ください。

- 注 1: ローカットフィルターの設定を 100 Hz にしてください（低周波ノイズが原因で、Mobius が強制終了する可能性があります）。
- 注 2: データを記録する際には、Export Raw Data や Save Spike Freqs 等の出力モジュールを無効にしてください。安定した記録を行うためにも、オフラインでのスパイク検出をお奨めします。
- 注 3: Trace duration は 10 分以下に設定し、データの解析処理が（先行する実時間の）データの取り込み処理に追従できるように Trace interval の時間をご設定ください。特に日、週、月にわたる長期間の記録を行う際には、Trace interval を長くするようにしてください。
- 注 4: データ取り込みチャンネルをできるだけ少なくしてください。

- (1) Spike_recording もしくは Spike_recording_filter を開きます。
- (2) Acquire MED64R2 Data パネルで記録条件を設定します（p. 35「3.1.1. 取り込み条件の設定」をご参照ください）。
- (3) 記録するチャンネルを設定します。Acquire MED64 Data の Channels 右のボタンをクリックし、チャンネルセレクトを表示させます。
- (4) Export Raw Data が無効になっていることを確認します。安定した記録を行うためにも、データの出力はオフラインで行うようにします。
- (5) ワークフローをモニターボタンで実行し、1、2 分間信号を確認してから停止させ、解析条件を設定します。
 - 1) 取り込んだ信号波形から設定するフィルターを決定し、選択します（Spike_recording では、この手順は必要ありません）。
 - 2) 閾値を設定します。
 - 3) Compute Spike Freqs の設定を変更します（詳細は p. 50「3.3. 2: スパイクの発火頻度を解析する」をご参照ください）。

- 4) Save Spike Freqs 及び Save Spikes が無効になっていることを確認します。スパイク検出をしながら記録するには、これらのモジュールを有効にすることはお奨めできません。安定した記録を行うためにも、オフラインでの利用をお奨めします。
- (6) ワークフローをモニターボタンで実行し、設定した閾値でスパイク検出ができることを確認します。
- (7) ユーザーに固有の記録用ワークフローとして別名で保存します。ワークフローは moflo 形式で保存されます。
- (8) Acquire MED64 Data の Save raw data にチェックが入っていることを確認し、ワークフローを記録ボタンで実行します。

注 1: 安定した記録を行うためにも、オンラインでのスパイク検出は行わないようお奨めします。その場合、Extract Spikes の Disable にチェックを入れておくとスパイク検出は行われず (図 3.1.12)、記録中に生データ以外の波形やタイムチャートは表示されません。

注 2: 数日間、数週間にわたる長期間の記録を行う際には、Disable にチェックを入れるようお奨めします。

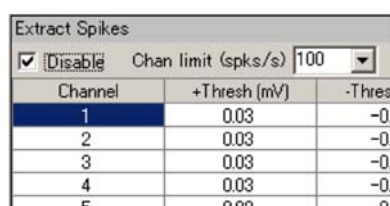


図 3.1.12: Disable にチェックを入れる。

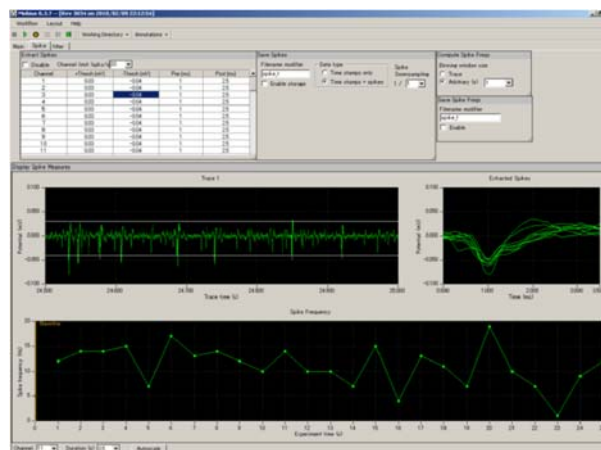


図 3.1.13: スパイク波形の検出とその発火頻度の解析。

3.1.6. オンラインでスパイクをクラスタリングしながら記録する -Spike_recording_cluster、Spike_recording_filter_cluster の利用-

3.1.6.1. Spike_recording_cluster、Spike_recording_filter_cluster の概要

SpikeRecording_cluster、SpikeRecording_filter_cluster は、以下のモジュールから構成されます。

タブウィンドウ名	含まれるモジュール
Main	Acquire MED64R2 Data / Display All Channels / Export Raw Data
Spike	Extract Spikes / Cluster Spikes / Compute Spike Freqs / Save Spikes / Save Spike Freqs / Display Spike Measures
Filter 注	Filter Raw Data (×2) / Display Single Channel (×2)

注: Spike_recording_cluster に [Filter] タブは含まれていません。

これらのテンプレートでは、設定した閾値を越えるスパイクを検出し、波形の形状を元にスパイクをクラスター分け (クラスタリング) します。分類された (クラスターごとの) スパイクの発火頻度が算出され、タイムチャートにプロットされます。記録中は 1) スパイクの検出経過、2) クラスターごとに異なる色で表示されるスパイクの波形、3) クラスターごとのスパイクの発火頻度をモニターできます。

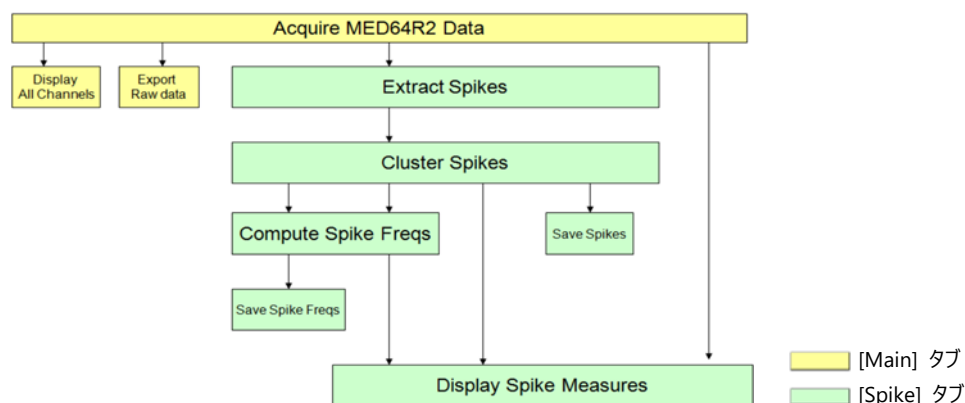


図 3.1.14: Spike_recording_cluster のモジュール構成。

Spike_recording_filter_cluster では、[Filter] タブに 2 つの Filter Raw Data が挿入されており、取り込まれた信号は、Extract Spikes に入力される前に、ユーザーが設定したフィルターによるフィルタリング（フィルター処理）を受けます（図 3.1.15 参照）。[Filter] タブの Display Single Channel は、上部が未処理の波形を、下部がフィルター処理後の波形を表示します（図 3.1.11 参照）。

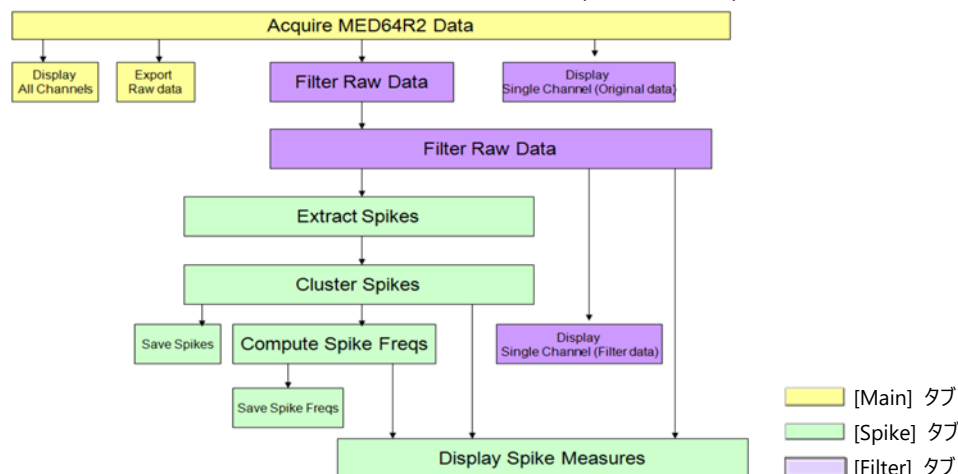


図 3.1.15: **Spike_recording_filter_cluster** のモジュール構成。

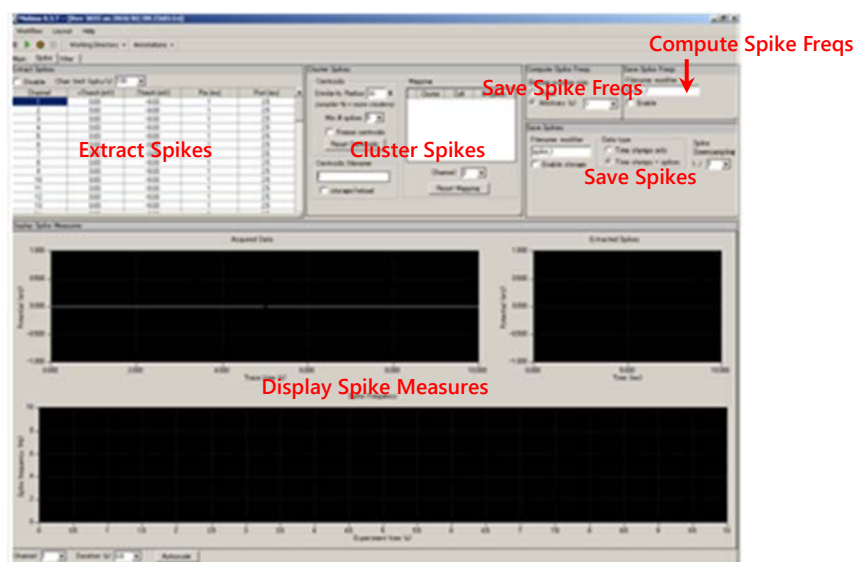


図 3.1.16: **Spike_recording_cluster** の [Spike] タブ上のタスクパネル。[Main] タブと [Filter] タブは **Spike_recording_filter_cluster** と同一（図 3.1.11 参照）。

3.1.6.2. オンラインでスパイクをクラスタリングしながら記録する

クラスタリングは単一のチャンネル（電極）から記録される複数のスパイクを、その形状に基づいて分類することを目的に行います。重心法（セントロイド法）により、検出されたスパイクはベクトルデータとして扱われ、各クラスターの重心（ベクトル集団の中心、もしくは平均化されたスパイクの形状のようなもの）が定義されます。重心はユーザーにより決定されなければ、定義されないことになります。つまり、重心を決定した後は随時入力されるスパイクを無視しなければなりません（随時入力されるスパイクにより、重心が変化するためです）。そのため、オンラインでのクラスタリングは、各チャンネル上に何種類のスパイクがあるかを確認するため（に限って）に行ってください。また、クラスタリングは Mobius のデータ処理を遅くし、解析可能な数以上のスパイクを検出すると、Mobius を強制終了させる原因となる可能性があります。従って、1) データの記録を始める前に、何種類のスパイクがあるかを確認をし、2) Extract Spikes の [Disable] にチェックを入れて記録し（記録中はスパイクが検出されず、波形や頻度の時系列チャートをモニターすることはできません）、3) 特に長期間の記録を行う際には、安定した記録を行うためにも、これらのテンプレートは使わないようにしてください。また、Cluster Spikes を含むワークフローでデータを記録する場合は、以下の点にご考慮ください。

注 1: ローカットフィルターの設定を 100 Hz にしてください（低周波ノイズが Mobius を停止させるおそれがあります）。

注 2: データを記録する際には、Export Raw Data や Save Spike Freqs 等の出力モジュールを無効にしてください。安定した記録を行うためにも、オフラインでのスパイク検出をお奨めします。

注 3: Trace duration は 10 分以下に設定し、データの解析処理が（先行する実時間の）データの取り込み処理に追従できるように Trace interval の時間をご設定ください。特に日、週、月にわたる長期間の記録を行う際には、Trace interval を長くするようにしてください。

注 4: データ取り込みチャンネルをできるだけ少なくしてください。

- (1) **Spike_recording_cluster**、**Spike_recording_filter_cluster**を開きます (p. 34 参照)。
- (2) Acquire MED64R2 Data パネルで記録する条件を設定します (p. 35「3.1.1. 取り込み条件の設定」をご参照ください)。
- (3) 記録するチャンネルを設定します。Acquire MED64R2 Data の Channels 右のボタンをクリックし、チャンネルセレクトを表示させます。
- (4) Export Raw Data が無効になっていることを確認します。安定した記録を行うためにも、データの出力はオフラインで行うようにします。
- (5) ワークフローをモニターボタンで実行し、1、2 分間信号を確認してから停止させ、解析する条件を設定します。
 - 1) 取り込んだ信号波形から設定するフィルターを決定し、選択します (**Spike_recording_cluster** では、この手順は必要ありません)。
 - 2) 閾値を設定します。
 - 3) 必要に応じて Cluster Spikes の設定を変更します (詳細は p. 57「3.3.4. スパイクの分類 (クラスタリング)」をご参照ください)。
 - 4) Save Spike Freqs 及び Save Spikes が無効になっていることを確認します。スパイク検出をしながら記録する際には、これらのモジュールを有効にすることはお奨めできません。安定した記録を行うためにも、オフラインでの利用をお奨めします。
- (6) ワークフローをモニターボタンで実行し、設定した閾値でスパイク検出ができることを確認します。
- (7) ユーザーに固有の記録用ワークフローとして別名で保存します。ワークフローは moflo 形式で保存されます。

注: 記録用ワークフローと同一フォルダー内に、データファイル (modat 形式) と、Acquire MED64R2 Data w/Stim が Replay Raw Data File に置き換えられた解析用ワークフロー (+analysis.moflo) が自動生成されます (p. 9 参照)。
- (8) Acquire MED64 Data の Save raw data にチェックが入っていることを確認し、ワークフローを記録ボタンで実行します。

注 1: 安定した記録を行うためにも、オンラインでのスパイク検出は行わないようお奨めします。その場合、Extract Spikes の Disable にチェックを入れておくとスパイク検出は行われず (図 3.1.17)、記録中に生データ以外の波形やタイムチャートは表示されません。注 2: 数日間、数週間にわたる長期間の記録を行う際には、Disable にチェックを入れるようお奨めします。

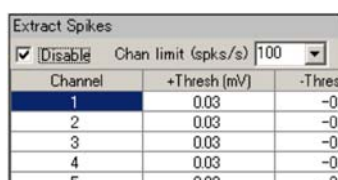


図 3.1.17: Disable にチェックを入れる。

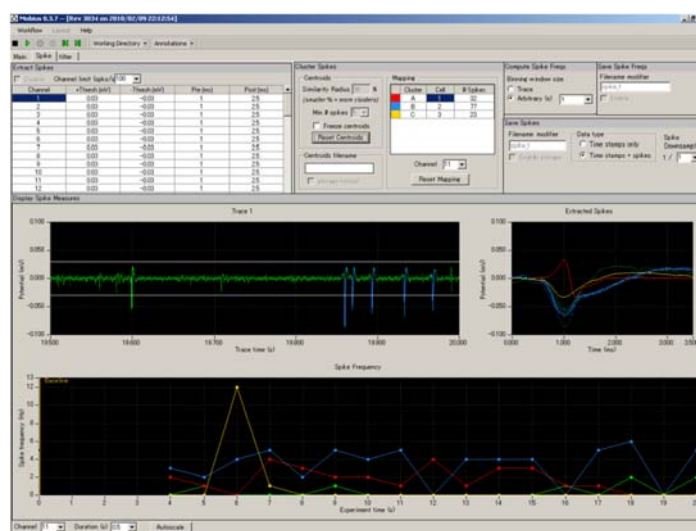


図 3.1.18: スパイクソーティング。

3.2. 薬効評価試験への応用

Compute Measure Averages は各フェーズで平均値と標準偏差を算出することで、ドーズレスポンスカーブ (用量反応曲線) の作成や、用量ごとの反応の比較に利用できます。この節ではその方法について紹介します。

このモジュールは必然的に解析モジュール群の最後に位置付けられるため、データの解析処理が (先行する実時間の) データの取り込み処理から大幅に遅れる原因となる可能性があり、最悪の場合 Mobius を強制終了させる原因となります。そのため、記録用ワークフローに含めることはお奨めできません。この節で紹介する解析方法はオフラインでも行えます。

強制終了を防止する対策として、オンラインではこのモジュールを使用せず (記録用ワークフローには含めず)、フェーズバーのみを挿入しながらデータを記録

する方法があります。その場合、以下の 1～3 は省略して、4 から始めてください。

- (1) **Spike_recording**、もしくは **Spike_recording_filter** を開きます。
- (2) テンプレートに **Compute Measure Averages** と **Save Measure Averages** を追加します。
 - 1) 新しいタブを作ります。[Layout] から [Add Tab] を選択し、タブに名前をつけます (図 3.2.1)。
 - 2) タブ上で [Workflow] から [Edit] を選択して Mobius Editor を開きます (図 3.2.2)。

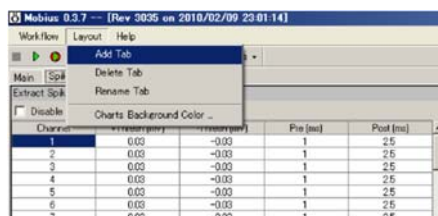


図 3.2.1: 新しいタブを作る。

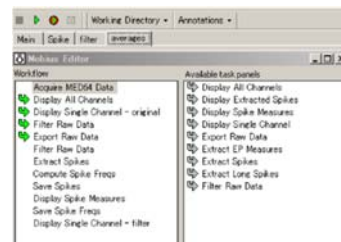


図 3.2.2: 新しいタブ上で Workflow Editor を開く

- 3) Workflow 欄の **Compute Spike Freqs** を選択し、Available task panels 欄から **Compute Measure Averages** をダブルクリックします (図 3.2.3)。Compute Measure Averages が Work flow 欄の Compute Spike Freqs の下位に接続され (図 3.2.4)、新しいタブにはこのモジュールのタスクパネルが現れます。

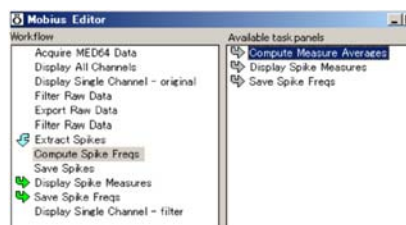


図 3.2.3

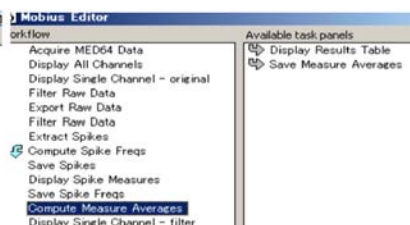


図 3.2.4

- 4) Workflow 欄から **Compute Measure Averages** を選択し、Available task panels 欄の **Save Measure Averages** をダブルクリックして **Compute Measure Averages** の下位に接続します。これで **Extract Spikes** の平均値と標準偏差が算出されます。

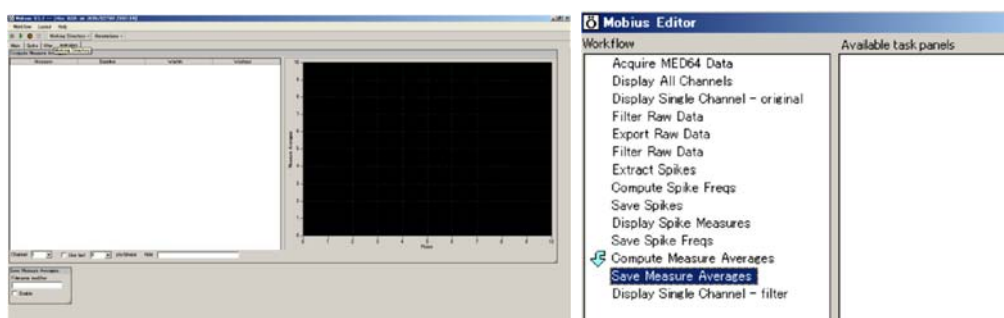


図 3.2.5: Compute Measure Averages と Save Measure Averages のタスクパネル (左) と新しいワークフローのモジュールリスト (右)。

- (3) [Filter] タブを選択します。ワークフローをモニターボタンで実行し、波形を観察しながら、適切な (任意の) フィルターを設定し (p. 51 参照)、**Compute Spike Freqs** の閾値等を設定します (p. 52 参照)。
- (4) ワークフローを別名で保存します。
- (5) ワークフローを記録ボタンで実行します。第 1 フェーズ (Baseline) は時間 0 から始まります。
- (6) 第 1 フェーズ (Baseline) を終了させる際には一時停止し、[Annotators] から [Add New phase] をクリックして、第 2 フェーズの名前をつけます (dose 1、図 3.2.6)。

注: 停止ボタンで終了させないでください。停止させた場合、実験を終了させることになり、新しいフェーズが追加できません。

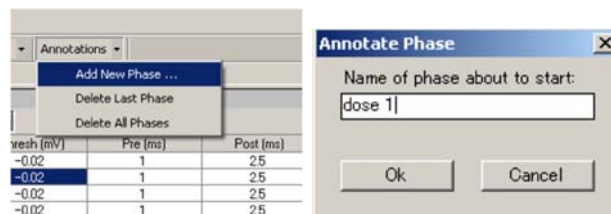


図 3.2.6: 新しいフェーズを追加する。

(7) [OK] をクリックすると、タイムチャート上に入力した名前と黄色のバー（フェーズバー）が現れます（図 3.2.7）。

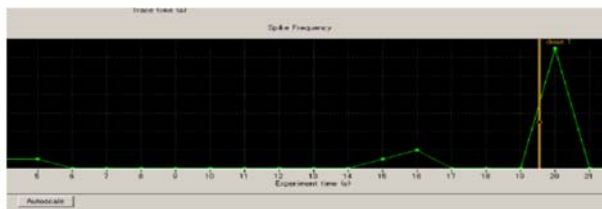


図 3.2.7: 挿入されたフェーズバー。

- (8) ワークフローを記録ボタンで再開します。タイムチャートの時間は一時停止中でも経過します。
- (9) 第 2 フェーズ (dose 1) を終了させる際には一時停止し、再び [Annotators] から [Add New Phase] をクリックします。
- (10) 第 3 フェーズの名前を入力します (dose 2)。[OK] をクリックすると、タイムチャート上に入力した名前とフェーズバーが現れます。
- (11) ワークフローを記録ボタンで再開します。以降、同様の手順でフェーズバーを挿入します。
- (12) 新しいタブ上の Compute Measure Averages パネルに各フェーズの平均値の表及びチャートが表示されます（図 3.2.8 参照）。

注: フェーズバーはドラッグ＆ドロップで移動させることができ、オフライン解析時にも利用できます。フェーズバーを移動させてから記録データを再生すると、フェーズバーの新しい位置に基づいて平均値と標準偏差が算出されます。

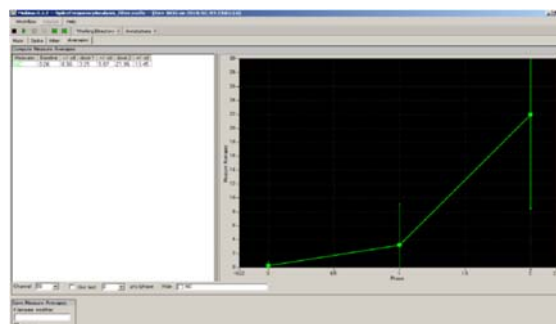
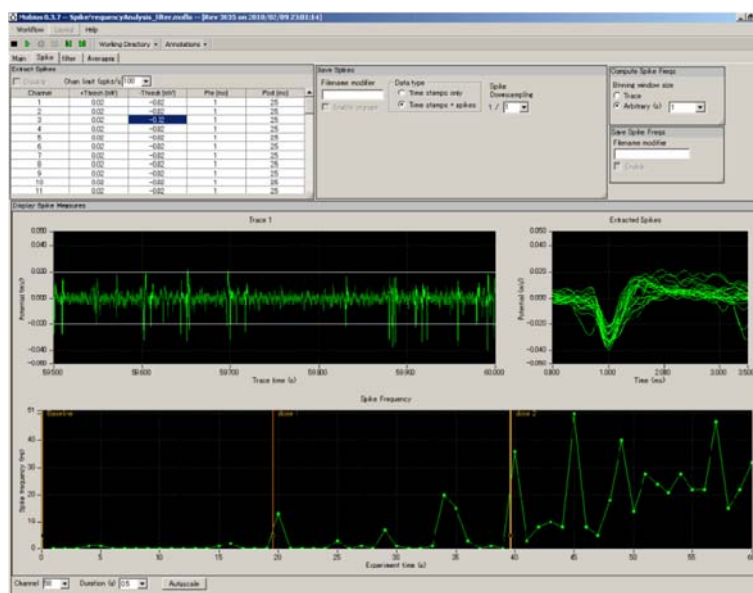


図 3.2.8: 測度の平均値の算出。

Compute Measure Averages の設定

- Channel: 表示するチャンネル。再生中（取り込み中）は変更できません。
- Use last: チェックを入れると、指定したトレースから平均値と標準偏差が算出されます。例えば 10 と設定した場合、各フェーズの直近 10 トレースから平均値と標準偏差が算出されます。
- Hide: チェックを入れた測度は平均値が算出されません。
- チャート: X 軸、Y 軸の最大値もしくは最小値を変更することで表示範囲を変更できます。

3.3. 記録データの再生とオフライン解析

記録したデータファイル (.modat) は Replay Raw Data Files で再生し、Extract Spikes、Cluster Spikes、Compute Spike Freqs で解析できます。データを再生、解析するには、解析用ワークフローを作らなければなりません。この節で紹介するテンプレートを利用すると、スパイク電位のデータを簡単に再生、解析できます。また、記録ボタンでデータの記録を行うと Acquire MED64R2 Data w/Stim が Replay Raw Data File に置き換えられた解析用ワークフロー (+analysis.moflo) が、記録用ワークフローと同一フォルダー内に自動生成されますが、それも利用できます。

3.3.1. データを再生する

- [Workflow] - [New] - [From Template] からディスプレイサイズに合わせて [64MD1_1280x1024] もしくは [64MD1_1920x1080] を選択します。[Spikes] - [Spike_analysis] からワークフローを選択します。スパイク電位の解析には 4 つのワークフローを利用できます。
 - Spike_frequency_analysis**: スパイクを検出し、その発火頻度を算出してタイムチャートにプロットします。
 - Spike_frequency_analysis_filter**: 1 にフィルタリング機能を追加。
 - Spike_sorting**: スパイク検出、分類をしながら、発火頻度を算出してタイムチャートにプロットします。
 - Spike_sorting_filter**: 3 にフィルタリング機能を追加。
- 記録したデータファイル (.modat) を読み込むには、Filename 欄右のボタンをクリックしてファイルを選択します。図 3.3.2 の右図のようにファイル名が表示されると、モニターボタンもしくは記録ボタンでデータを再生できます。
- モニターボタンで実行すると、記録したデータが再生されます。記録ボタンで実行する場合、データを出力するモジュール (Export Raw Data 等) が有効になっている (Enable にチェックを入れておく) と、データの再生とファイル出力が行われます。

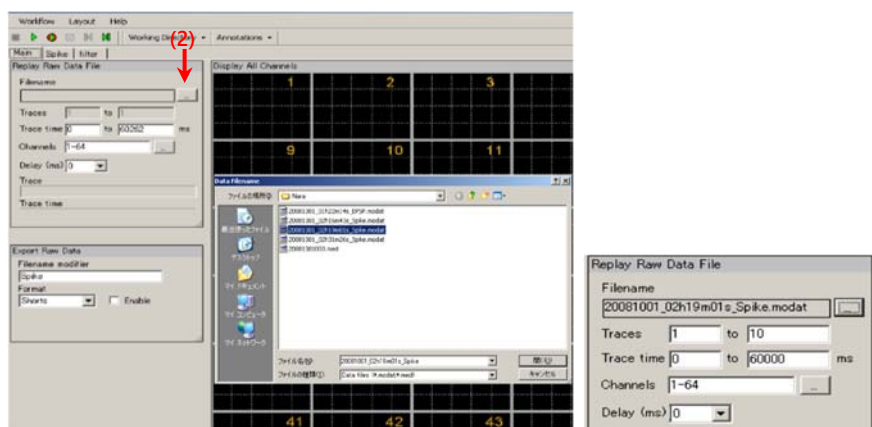


図 3.3.2: データファイルを選択する。

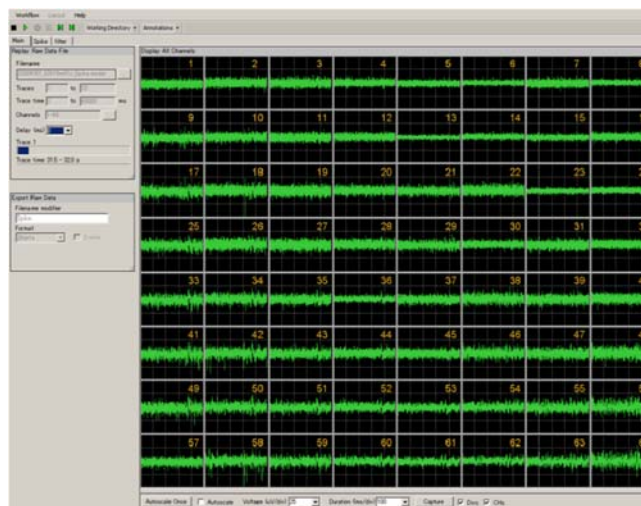


図 3.3.3: 自発的活動を再生。

Replay Raw Data Files の設定

1. Traces: 再生するトレースを選択します。
2. Trace time: 再生するトレースの時間範囲を設定します。
3. Channels: 再生するチャンネルを選択します。Channels 欄右のボタンをクリックすると、チャンネルセレクトが現れます。緑色にマークされたチャンネルのデータが再生されます。
4. Delay: 0 以上の値を設定すると、再生するトレース間に遅延が挿入されます。再生処理を遅延させ、解析処理を追従させるのに利用できます。

3.3.2. スパイクの発火頻度を解析する

この項では [Spike_frequency_analysis](#) もしくは [Spike_frequency_analysis_filter](#) により、スパイクの発火頻度を解析する方法を紹介します。これらのワークフローは [Main]、[Spike]、[Filter] 及び [Averages] の 4 つのタブに設置された以下のモジュールから構成されています。

タブウィンドウ名	含まれるモジュール
Main	Replay Raw Data / Display All Channels / Export Raw Data
Spike	Extract Spikes / Compute Spike Freqs / Save Spikes / Save Spike Freqs / Display Spike Measures
Filter 注	Filter Raw Data (×2) / Display Single Channel (×2)
Averages	Compute Measure Averages / Save Measure Averages

注: [Spike_frequency_analysis](#) には [Filter] タブが含まれていません。

生データは選択したフィルターによる処理を受けてから、設定した閾値を越える信号がスパイクとして検出されます。その発火頻度が算出され、タイムチャートにプロットされます。生データはバイナリデータもしくは CSV 形式の ASCII ファイルとして出力できます。検出したスパイクの波形、検出時間、発火頻度のタイムチャートは CSV 形式の ASCII ファイルとして保存できます。Compute Measure Averages は任意で挿入されたフェーズごとに発火頻度の平均値を算出し、タイムチャートにプロットします。[Spike_frequency_analysis](#) では再生したデータをフィルタリングせずに Extract Spikes へと出力します。

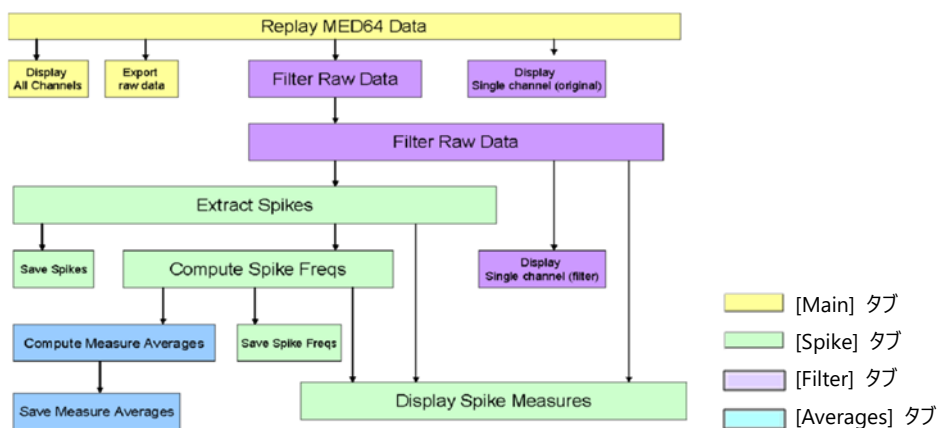


図 3.3.4: Spike_frequency_analysis_filter のモジュール構成。



図 3.3.5: Spike_frequency_analysis_filter の [Spike] タブ上のタスクパネル。[Main] タブは図 3.3.5 を、[Filter] タブは図 3.3.6 を、[Averages] タブは図 3.3.20 を参照。

(1) モニターボタンでデータを再生します。波形の形状をもとにフィルターを変更します。

注 1: 上部のチャートには未処理の波形が、下部のチャートにはフィルター処理後の波形が表示されます。縦軸は最大値もしくは最小値をダブルクリックし、直接数値を入力することで表示範囲を変更できます (図 3.3.6)。

注 2: 時間軸 (横軸) の表示範囲は Duration (s) 右のボックスから選択して変更することができます。最大値は 10 秒です (図 3.3.6)。

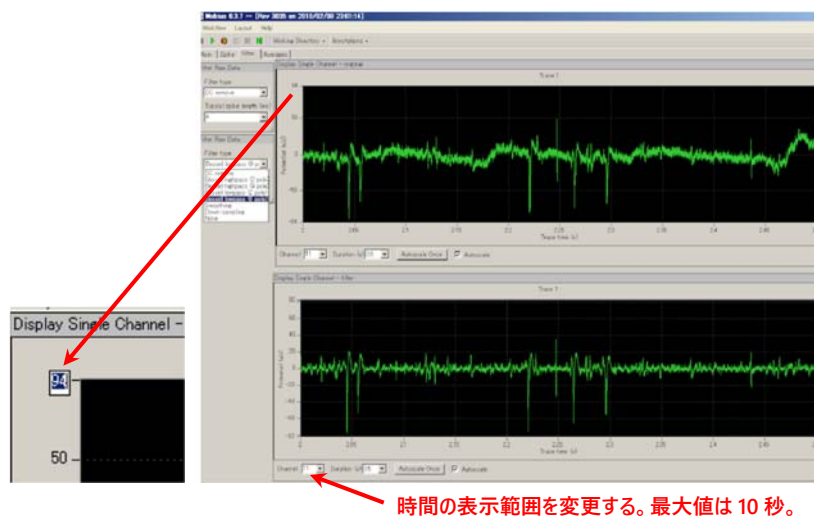
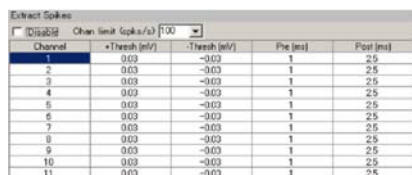


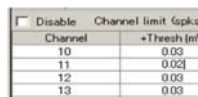
図 3.3.6: [Filter] タブ。上段には生データの波形が、下段にはフィルター処理後の波形が表示される。

(2) 閾値を設定します。[Spike] タブを選択して、閾値及び、閾値を越えた直後のピーク点前後から (スパイク波形として) 検出する範囲を Extract Spikes パネルの表で設定します。



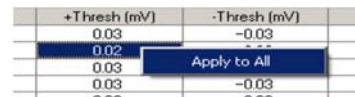
Channel	+Thresh (mV)	-Thresh (mV)	Pre (ms)	Post (ms)
1	0.03	-0.03	1	25
2	0.03	-0.03	1	25
3	0.03	-0.03	1	25
4	0.03	-0.03	1	25
5	0.03	-0.03	1	25
6	0.03	-0.03	1	25
7	0.03	-0.03	1	25
8	0.03	-0.03	1	25
9	0.03	-0.03	1	25
10	0.03	-0.03	1	25
11	0.03	-0.03	1	25

図 3.3.7: Extract Spikes のタスクパネル。



Channel	+Thresh (mV)
10	0.03
11	0.03
12	0.03
13	0.03

図 3.3.8



+Thresh (mV)	-Thresh (mV)
0.03	-0.03
0.02	-0.03
0.03	-0.03
0.03	-0.03
0.03	-0.03

図 3.3.9

- 1) 閾値及び、閾値を越えた直後のピーク点前後の検出範囲の数値は、ダブルクリックして直接数値を入力することで変更します (図 3.3.8)。
- 2) 変更した数値は右クリックから Apply to All により、全てのチャンネルに適用できます (図 3.3.9)。

注 1: 閾値及び、閾値を越えた直後のピーク点前後の検出範囲の数値を設定する際には、[help] から Mobius User Guide (5. 2. 3. Extract Spikes) をご参照ください。

注 2: Disable: チェックを入れるとスパイク検出は行われません。データの記録時等にご利用ください。

注 3: Chan limit (spks/s): 検出するスパイクの上限値を設定します。データの記録時の予期せぬ高周波ノイズによるフリーズを避けるのにご利用ください。

- (3) Compute Spike Freqs の条件を設定します (図 3.3.10)。このモジュールでは発火頻度 (Hz) を算出するデータサイズを設定します。初期設定では 1 秒が選択されており、1 秒ごとにその頻度が算出されます。Arbitrary (s) ではなく Trace にチェックを入れると、全トレース (データ) から検出されたスパイク数に基づいて頻度が算出されます。

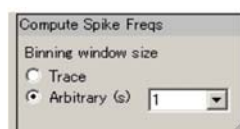


図 3.3.10

- (4) Display Spike Measures のチャートを設定します。チャートの表示範囲を変更する手順は以下の通りです。
 - 1) Trace (上部左): 振幅の範囲は、最大値及び最小値をダブルクリックして直接数値を入力することで変更します (図 3.3.11)。時間軸 (横軸) の長さは Duration (s) 右のボックスから選択して変更します (図 3.3.12)。
 - 2) Extracted Spikes (上部右): 振幅及び時間の範囲は、最大値及び最小値をダブルクリックして直接数値を入力することで変更します (図 3.3.11)。
 - 3) Spike Frequency (下部): 変更できません。

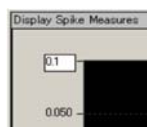


図 3.3.11

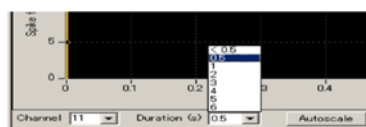


図 3.3.12

- (5) 新しく設定した条件でデータを再生します。新しい閾値を確定したら、ユーザーに固有の解析用ワークフローとして別名で保存してから利用し、必要なデータを出力します。

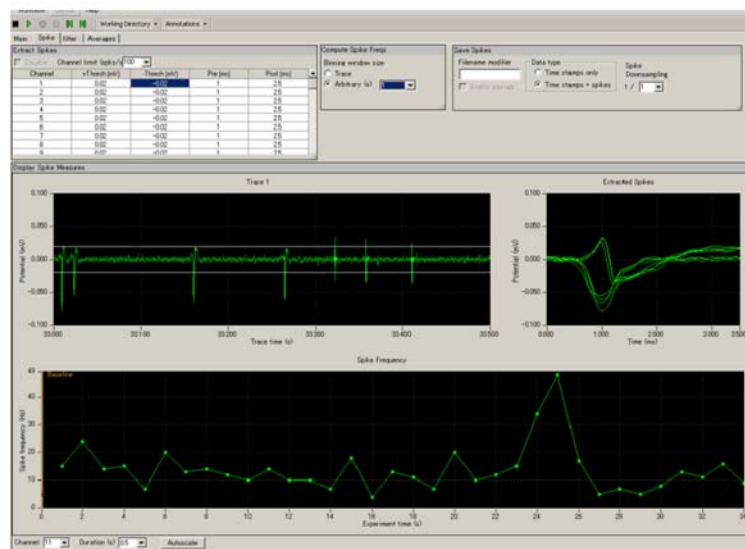


図 3.3.13: スパイクの検出とその発火頻度の解析。

3.3.3. データを出力する

解析条件を設定したら、データを出力します。生データ及び測度、もしくはどちらかの出力モジュールを有効にした状態で、ワークフローを記録ボタンで実行すると、データが出力されます。出力するチャンネルは Replay Raw Data File のチャンネルセレクト上で、緑色にマークすることにより選択できます。出力ファイル名は Filename modifier 欄で編集できます。

3.3.3.1. 生データを出力する

Export Raw Data を使用します。生データはバイナリデータもしくは CSV 形式の ASCII ファイルとして出力できます。

File Format Version	20071201				
Session Start Time	2004/7/28 17:29:48 +09				
time_ms	ch1_mV	ch2_mV	ch3_mV	ch4_mV	ch5_mV
0	0.006347656	-0.00292969	-0.00637109	0.001953125	-0.00634766
0.05	0.001464844	-0.00195313	-0.00390625	0.00390625	-0.00830078
0.1	0.001953125	-0.00244141	-0.00097656	-0.00244141	-0.00634766
0.15	0.006859375	-0.00244141	-0.00097656	0.000488281	-0.00488281
0.2	0.006835938	-0.00195313	-0.00244141	-0.00048828	-0.00634766
0.25	0.006347656	-0.00634766	-0.00390625	0.001464844	-0.00195313
0.3	0.003417969	-0.00634766	-0.00048828	-0.00195313	-0.00341797
0.35	0.002441406	-0.00292969	0.002441406	-0.00244141	-0.00195313
0.4	0.006859375	-0.00146484	0.003417969	-0.00195313	-0.00244141
0.45	0.004394531	-0.00292969	0	-0.00390625	-0.00244141
0.5	0.006371094	-0.00439453	-0.00048828	-0.00683594	-0.00390625
0.55	0.006371094	-0.00341797	-0.00341797	-0.00927734	-0.00488281
0.6	0.006347656	-0.00146484	-0.00195313	-0.00927734	-0.00341797
0.65	0.006859375	-0.00244141	-0.0078125	-0.01074219	-0.00537109
0.7	0.007324219	-0.00146484	-0.00439453	-0.00976563	-0.00390625
0.75	0.006859375	-0.00146484	-0.00488281	-0.00976563	-0.00732422
0.8	0.002441406	-0.00195313	-0.00244141	-0.00878906	-0.00488281
0.85	0.004882813	-0.00341797	-0.00390625	-0.01025391	-0.00390625

図 3.3.14: 生データを ASCII ファイルとして出力し、Excel で読み込んだ一例。

3.3.3.2. スパイクの波形とその検出時間を出力する

Save Spikes を使用します。1) 検出時間のみ、もしくは 2) 検出時間及び波形を CSV 形式の ASCII ファイルとして出力できます。

File Format	20071201											
Session	2004/7/28 17:29:48 +0900											
Trace	60262											
channel	time_of_day	within_session_time	within_session_time_ms	within_trace_time_ms	cluster_id	trace_num	pre_ms	post_ms	v0_mV	v1_mV	etc	
2	17:29:48.326	0d:00:00:00.326	326.9	326.9	none	1	1	2.5	0.00681065	0.006670749	0.005968603	0.004746663
2	17:29:48.397	0d:00:00:00.397	397.95	397.95	none	1	1	2.5	0.010181873	0.011403289	0.009233583	0.002875448
2	17:29:48.411	0d:00:00:00.411	411.5	411.5	none	1	1	2.5	0.002042739	0.000903023	-0.00267956	-0.01070083
2	17:29:48.437	0d:00:00:00.437	437.45	437.45	none	1	1	2.5	-0.001707017	-0.002345263	-0.00287904	-0.00219688
2	17:29:48.495	0d:00:00:00.495	495.3	495.3	none	1	1	2.5	-0.0084337	-0.011750365	-0.01249932	-0.0116412
3	17:29:48.009	0d:00:00:00.009	9.9	9.9	none	1	1	2.5	0.00425918	0.002154879	2.60E-06	-0.00273863
3	17:29:48.016	0d:00:00:00.016	16.4	16.4	none	1	1	2.5	-0.007372998	-0.006078022	-0.00389508	-0.00461111
3	17:29:48.027	0d:00:00:00.027	27.5	27.5	none	1	1	2.5	0.002399721	0.000965411	0.000798187	0.001859952
3	17:29:48.041	0d:00:00:00.041	41	41	none	1	1	2.5	0.00108115	0.001782467	0.002224701	0.002302321
3	17:29:48.056	0d:00:00:00.056	56.25	56.25	none	1	1	2.5	-0.001126919	-0.002629422	-0.00375508	-0.00402571
3	17:29:48.063	0d:00:00:00.063	63.85	63.85	none	1	1	2.5	-0.004111407	-0.004061442	-0.0038704	-0.00303171
3	17:29:48.068	0d:00:00:00.068	68.35	68.35	none	1	1	2.5	0.004206802	0.004814135	0.005279766	0.004864547
3	17:29:48.077	0d:00:00:00.077	77.65	77.65	none	1	1	2.5	0.000747327	0.001243812	0.002321215	0.002520453
3	17:29:48.095	0d:00:00:00.095	95.75	95.75	none	1	1	2.5	0.001295781	0.001522645	0.00065322	3.02E-05
3	17:29:48.099	0d:00:00:00.099	99.35	99.35	none	1	1	2.5	0.001450416	0.000778917	0.001544518	0.003327768
3	17:29:48.12	0d:00:00:00.12	120.2	120.2	none	1	1	2.5	-0.005230252	-0.004370654	-0.00303179	-0.00238824
3	17:29:48.13	0d:00:00:00.13	130	130	none	1	1	2.5	-0.000629679	0.000788942	0.003240642	0.004028604
3	17:29:48.134	0d:00:00:00.134	134.4	134.4	none	1	1	2.5	0.008337011	0.007848071	0.006018877	0.004288836

図 3.3.15: スパイクの検出時間と波形を ASCII ファイルとして出力し、Excel で読み込んだ一例。

3.3.3.3. 発火頻度のデータを出力する

Save Spike Freqs を使用します。CSV 形式の ASCII ファイルとして出力されます。

File Format Version	20071201				
Session Start Time	2004/7/28 17:29:48 +09				
time_secs	phase	ch1	ch2	ch3	ch4
		NC	NC	NC	NC
1	Baseline	5	20	69	1
2		2	32	51	0
3		9	58	37	0
4		13	20	6	0
5		6	5	8	0
6		13	1	2	0
7		5	14	3	0
8		1	0	3	0

図 3.3.15: スパイクの発火頻度を ASCII ファイルとして出力し、Excel で読み込んだ一例。

3.3.3.4. 平均値のチャートを出力する

Save Measure Averages を使用します。平均値と標準偏差の数値が CSV 形式の ASCII ファイルとして出力されます (p. 55「3.3.4. フェーズごとに発火頻度の平均値を算出する」をご参照ください)。

File Format Version	20080212				
Session Start Time	2008/10/01 16:16:43 +09				
Channel Number 57					
Measure	Baseline	+/-sd	dose 1	+/-sd	dose 2
NC	0.143	0.655	0.05	0.224	0.895
Channel Number 58					
Measure	Baseline	+/-sd	dose 1	+/-sd	dose 2
NC	0.857	2.833	4.55	9.139	22.211
Channel Number 59					
Measure	Baseline	+/-sd	dose 1	+/-sd	dose 2

図 3.3.15: 平均値のチャートを ASCII ファイルとして出力し、Excel で読み込んだ一例 (57ch、58ch、59ch のみ出力)。

3.3.4. フェーズごとに発火頻度の平均値を算出する -ドーズレスポンスカーブの作成-

Compute Measure Averages を利用すると、スパイクの発火頻度について各フェーズで平均値と標準偏差を算出し、ドーズレスポンスカーブを簡単に求めることができます。この項では [Spike_frequency_analysis](#) を利用して、Baseline、dose 1、dose 2 の各フェーズにおける発火頻度を算出してドーズレスポンスカーブを求める方法を紹介します。なお、このモジュールをワークフローに含める場合は、p. 45「3.2. 薬効評価試験への応用」をご参照ください。

- (1) 前項 (3.3.2. スパイクの発火頻度を解析する) に従って、全ての解析条件を設定します。
- (2) [Spike] タブを選択し、モニターボタンでデータを再生します。第 1 フェーズ“Baseline” (黄色のバー) は 0 から始まります。
- (3) dose 1 の再生を始める前にワークフローを一時停止し、新しいフェーズを追加します。

注 1: [Annotations] から [Add New Phase] を選択し、新しいフェーズの名前を入力します (図 3.3.18)。ワークフローを再開すると、発火頻度のタイムチャート上に新しい黄色のバーが挿入されます (図 3.3.19)。

注 2: 停止ボタンで停止しないでください。停止させた場合、実験を終了させることになり、新しいフェーズバーを挿入できなくなります。

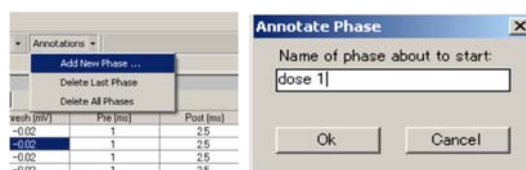


図 3.3.18: 新しいフェーズの追加。

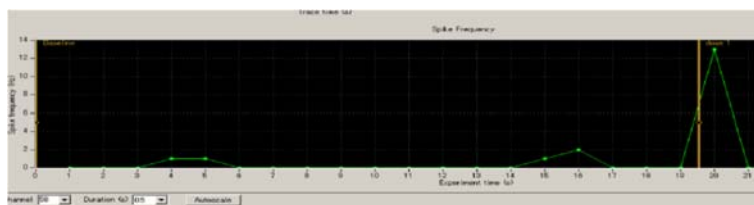


図 3.3.19: 挿入されたフェーズバー (dose 1)。

- (4) dose 2 の再生を始める前にワークフローを一時停止し、新しいフェーズを追加します。なお、挿入したフェーズバーの位置は後で変更することができます。
- (5) データを最後まで再生します。[Averages] タブ上の Compute Measure Averages で各フェーズで平均値と標準偏差が算出され、チャートにプロットされます。
- (6) 平均値のチャートを出力するには、まずユーザーに固有の解析用ワークフローとして別名で保存します。Save Measure Averages のボックスにチェックを入れてから、ワークフローを記録ボタンで実行してください。

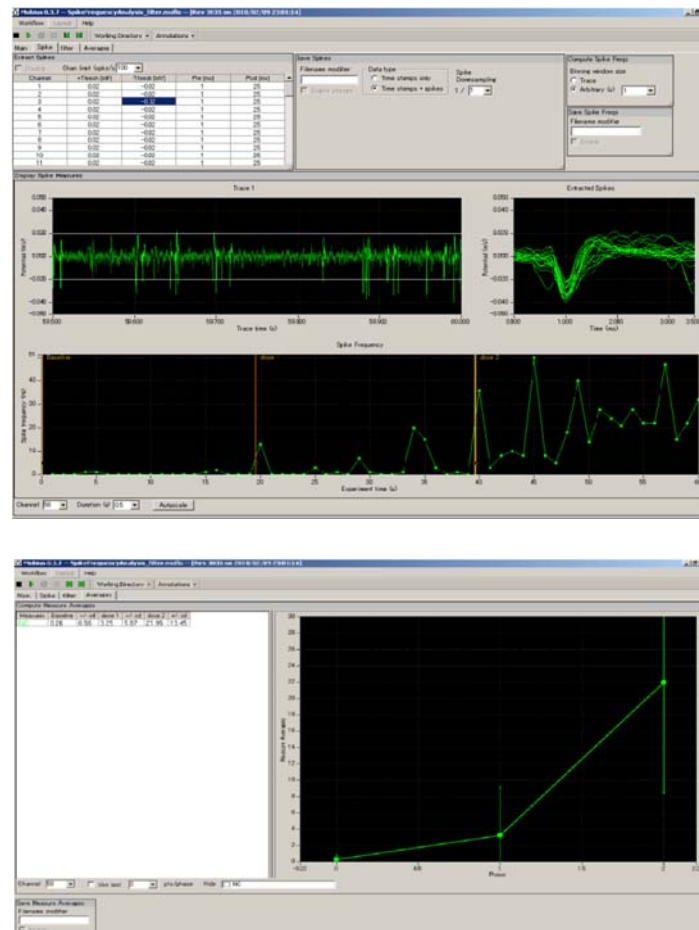


図 3.3.20: フェーズバーが挿入された Display Spike Measures のタスクパネル (上) と Compute Measure Averages パネル上の平均値と標準偏差のチャート (下)。

Compute Measure Averages の設定

- Channel: 表示するチャンネル。再生中 (取り込み中) は変更できません。
- Use last: チェックを入れると、指定したトレースから平均値と標準偏差が算出されます。例えば 10 と設定した場合、各フェーズの直近 10 トレースから平均値と標準偏差が算出されます。

3.3.5. スパイクの分類 (クラスタリング)

クラスタリングは単一のチャンネル (電極) から記録される複数のスパイクを、その形状に基づいて分類することを目的に行います。この項では [Spike_sorting_filter](#) を使ってスパイクをクラスタリングし、クラスターごとの発火頻度を解析する方法を紹介します。このワークフローは [Main]、[Spike] 及び [Filter] の 3 つのタブに設置された以下のモジュールから構成されています。

タブウィンドウ名	含まれるモジュール
Main	Replay Raw Data File / Export Raw Data
Spike	Extract Spikes / Save Spikes / Cluster Spikes / Compute Spike Freqs / Save Spike Freqs
Filter	Filter Raw Data (×2) / Display Single channel (生データ表示) / Display Single channel (フィルター処理後のデータ表示)

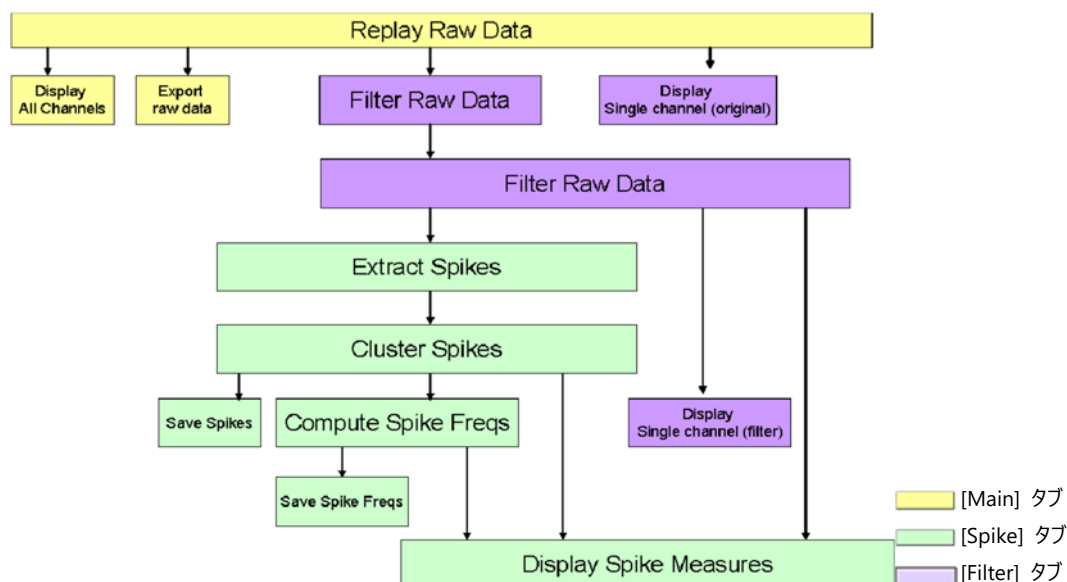


図 3.3.21: Spike_sorting_filter のモジュール構成。

Spike_sorting_filter では取り込んだ信号を選択したフィルターで処理し、Extract Spikes に出力します。閾値を越える信号をスパイクとして検出し、その形状に基づいて分類します。クラスターごとにスパイクの発火頻度が算出され、タイムチャートにプロットされます。生データはバイナリデータもしくは CSV 形式の ASCII ファイルとして出力できます。検出したスパイク波形、検出時間、クラスターの重心、発火頻度のタイムチャートは CSV 形式の ASCII ファイルとして出力できます。Spike_sorting では、再生されたデータはフィルター処理を受けずに直接 Extract Spikes へと出力されます。

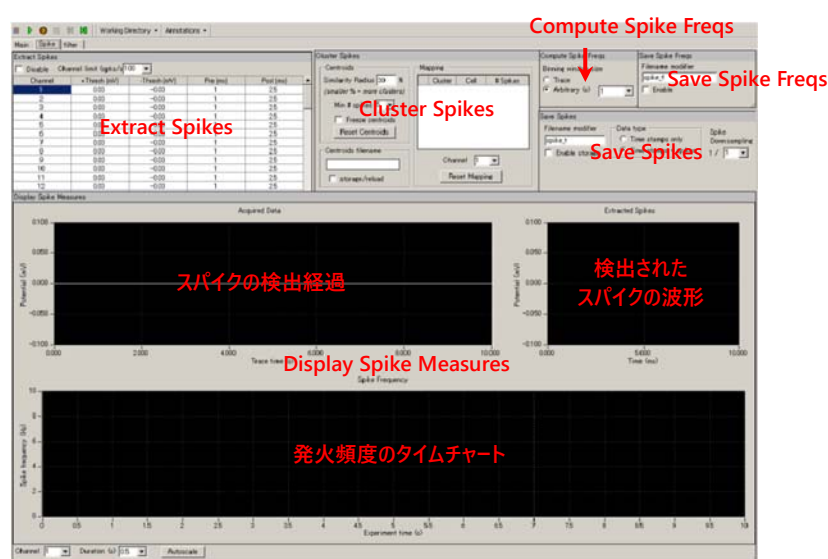


図 3.3.22: Spike_sorting_filter の [Spike] タブ上のタスクパネル。[Main] タブは

図 3.3.5 を、[Filter] タブは図 3.3.23 を参照。

3.3.5.1. フィルターの選択

ファイルを選択し、モニターボタンでデータを再生します。波形の形状をもとにフィルターを変更します。

注 1: 上部のチャートには未処理の波形が、下部のチャートにはフィルター処理後の波形が表示されます。縦軸は最大値もしくは最小値をダブルクリックし、直接数値を入力することで表示範囲を変更できます (図 3.3.23)。

注 2: 時間軸 (横軸) の表示範囲は Duration (s) 右のボックスから選択して変更することができます。最大値は 10 秒です。

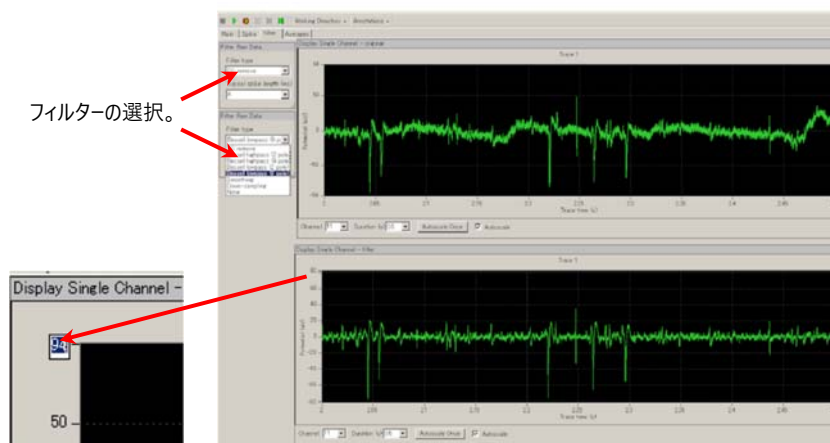


図 3.3.23: Spike_sorting_filter の [Filter] タブ上のタスクパネル。上部に未処理の波形が、下部にフィルター処理後の波形が表示される。

3.3.5.2. 閾値を設定する

[Spike] タブを選択して、閾値及び、閾値を越えた直後のピーク点前後から（スパイク波形として）検出する範囲を Extract Spikes パネルの表で設定します。

Channel	Chan limit (spks/s)	Thresh (mV)	Pre (ms)	Post (ms)
1	0.03	-0.03	1	2.5
2	0.03	-0.03	1	2.5
3	0.03	-0.03	1	2.5
4	0.03	-0.03	1	2.5
5	0.03	-0.03	1	2.5
6	0.03	-0.03	1	2.5
7	0.03	-0.03	1	2.5
8	0.03	-0.03	1	2.5
9	0.03	-0.03	1	2.5
10	0.03	-0.03	1	2.5
11	0.03	-0.03	1	2.5

図 3.3.24: Extract Spikes のタスクパネル。

- (1) 閾値及び、閾値を越えた直後のピーク点前後から検出する範囲の数値は、ダブルクリックして直接数値を入力することで変更できます。
- (2) 変更した数値は右クリックから Apply to All により、全てのチャンネルに適用できます（図 3.3. 25）。

☐ Disable	Channel limit (spks/s)
Channel	+Thresh (mV)
10	0.03
11	0.02
12	0.03
13	0.03
14	0.03

図 3.3.25

+Thresh (mV)	-Thresh (mV)
0.03	-0.03
0.02	-0.03
0.03	-0.03
0.03	-0.03
0.03	-0.03

図 3.3.26

- 注 1: 閾値及び、閾値を越えた直後のピーク点前後の検出範囲の数値を設定する際には、[help] から Mobius User Guide (5.2.3. Extract Spikes) をご参照ください。
- 注 2: Disable: チェックを入れると、スパイク検出は行われません。データの記録時等にご利用ください。
- 注 3: Chan limit (spks/s) : 検出するスパイクの上限値を設定します。データの記録時の予期せぬ高周波ノイズによるフリーズを避ける際にご利用ください。

3.3.5.3. クラスタリングの条件を設定する

クラスタリングは単一のチャンネル（電極）から記録される複数のスパイクを、その形状に基づいて分類することを目的に行います。分類の条件は (1) Similarity Radius (2) Min # spikes で設定します。初期設定では Similarity Radius が 30%、Min # spikes が 5 に設定されています。1) Similarity Radius (スパイクベクトル間の距離のようなもの) が 30%以内のスパイクが 5 回出現した際に、クラスター（図 3.3.27 では Mapping 欄表中の A～E）が形成され、その重心（平均化されたスパイクの形状のようなもの）が定義されます。スパイクがクラスターに分類されない場合は、形状が類似したスパイクが 5 回出現するまで、波形は黄緑色で表示されます。

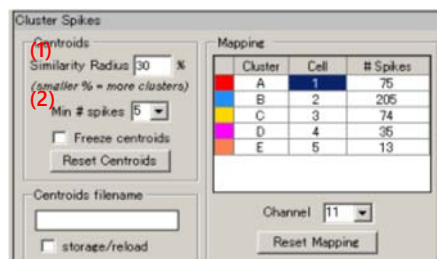


図 3.3.27: Cluster Spikes のタスクパネル。

検出されたスパイクは、いずれかのクラスターの重心に対して Similarity Radius が 30%以内の場合に、そのクラスター (A、B、C...) へと分類されます。分類されなければいずれのクラスターにも該当しない黄緑色で表示されます (分類されなかったスパイクの波形は Extracted Spikes 欄のチャート上から消えますが、NC として保持されます)。各クラスター (Mapping 欄表中の A、B、C...) は異なった色分けをされ (例えば A は赤に)、その波形と発火頻度は Display Spike Measures のチャート上で同一の色で表示されます。クラスターを確定するには、以下の条件を変更します。

(1) Similarity Radius

スパイク波形の変化 (ばらつき) に対して、クラスタリングがどの程度影響を受けるかを設定します。

注 1: 数が大きくなるとスパイクの形状の変化による影響を受けやすくなり、生じるクラスター数は少なくなります。

注 2: 数が小さくなるとスパイクの形状の変化による影響を受けにくくなり、生じるクラスター数は多くなります。

(2) Min # spikes

クラスターの生成に必要なスパイクの数を設定します。数が大きくなると生じるクラスター数は少なくなります。重心を検討するためデータを再生した後、例えばクラスター C と D が同一の細胞からのスパイクと判断し、そのデータを統合する場合は、クラスター D の数値を 4 から 3 へと変更 (ダブルクリックして数値を直接入力) し、統合します (図 3.3.28)。

Cluster	Cell	# Spikes
A	1	102
B	2	203
C	3	70
D	4	40
E	5	17

Cluster	Cell	# Spikes
A	1	102
B	2	203
C	3	70
D	3	40
E	5	17

図 3.3.28: クラスター D をクラスター C に統合する。

また別例として、クラスター E が単なるスパイクノイズであると判断し、解析から除外する場合は、そのカラムの数値を削除 (数値を右クリックメニューから削除) して除外します。

Cluster	Cell	# Spikes
A	1	102
B	2	203
C	3	70
D	3	40
E	5	17

Cluster	Cell	# Spikes
A	1	102
B	2	203
C	3	70
D	3	40

図 3.3.29: クラスターの削除。

これらの変更は [Reset Mapping] をクリックすることで初期化できます。クラスタリングの条件を決定したら、Freeze centroids 左のボックスにチェックを入れ、その条件を固定してください。これにより、随時入力されるスパイクにより重心が変化したり、新しいクラスターを生成しないようになります。重心は随時入力されるスパイクがクラスターに分類されることにより変化するため、固定しなければなりません。

3.3.5.4. スパイクに関連した測度のチャートを表示する

Display Spike Measures では、スパイクの検出経過 (上部左)、検出されたスパイクの波形 (上部右)、スパイクの発火頻度が、各クラスターで色分けされて表示されます (図 3.3.32)。Extracted Spikes 欄に実線と破線で検出されたスパイク波形が表示されます。実線は重心波形で、破線は検出されたスパイク波形です (図 3.3.30)。クラスターに分類されなかったスパイクは黄緑色で表示されます。

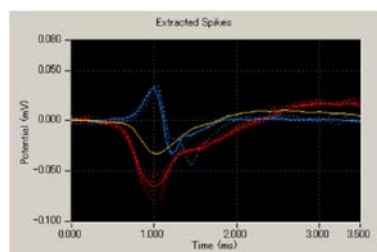


図 3.3.30: Extracted Spikes 欄。実践は重心波形、破線は検出されたスパイク波形を示す。

3.3.5.5. スパイクの発火頻度を算出する

初期設定では 1 秒ごとにその頻度が算出されます。Compute Spike Freqs の Arbitrary (s) の数値を選択することで、その条件を変更できます。Arbitrary (s) ではなく Trace にチェックを入れると、全トレース（データ）から検出されたスパイク数に基づいて頻度が算出されます。

Spike_sorting もしくは Spike_sorting_filter では、Cluster Spikes の下位にこのモジュールが接続されています。すなわち、各クラスターのスパイク発火頻度が異なった色分けをされて、タイムチャート上に表示されることになります。再生中にクラスターの数が増えると、発火頻度の算出は初期化されます。このため、新しいクラスターが形成される度に、発火頻度のタイムチャートは初期化されます。Freeze centroids 左のボックスにチェックが入っていると、クラスターの総数が固定され、発火頻度の算出は初期化されなくなります。

注: 発火頻度のタイムチャートを出力する際には、Freeze centroids 左のボックスにチェックを入れなければなりません。

3.3.5.6. ワークフローをモニターボタンで再開し、クラスタリングや解析の条件を確定する

ユーザーに固有の解析用ワークフローとして保存し、必要なデータを出力します。

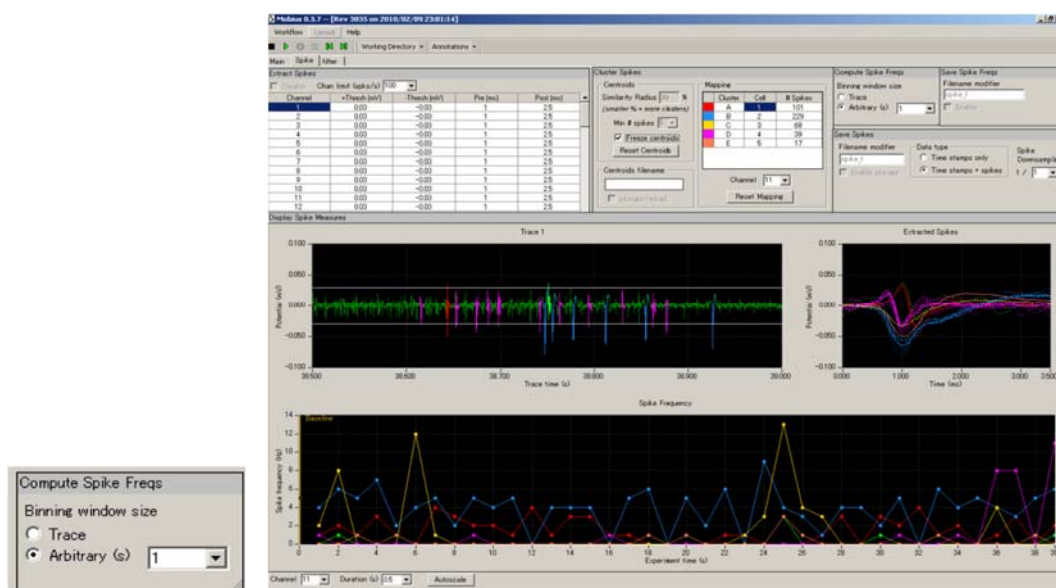


図 3.3.31

図 3.3.32: スパイクソーティング。

3.3.5.7. データを出力する

解析条件を設定したら、データを出力します。生データ及び測度の出力モジュール、もしくはどちらかのモジュールを有効にした状態でワークフローを記録ボタンで実行すると、データが出力されます。出力するチャンネルは Replay Raw Data File のチャンネルセレクト上で、緑色にマークすることにより選択します。出力ファイル名は Filename modifier 欄で編集できます。

a. 生データを出力する

Export Raw Data を使用します。生データはバイナリデータもしくは CSV 形式の ASCII ファイルとして出力できます。

File Format Ver	20071201					
Session Start	2010/8/11 19:03:39 +09					
time_ms	ch1_mV	ch2_mV	ch3_mV	ch4_mV	ch5_mV	ch6_mV
0	0.000488281	-0.00048828	-0.002001953	-0.00244141	-0.00048828	-0.00097656
0.05	0.000976563	-0.00292969	-0.01953125	-0.00244141	0.000976563	0
0.1	0.000488281	-0.00390625	-0.01806641	-0.00439453	-0.00048828	0.000976563
0.15	0.001464844	-0.00341797	-0.01464844	-0.00537109	-0.00146484	0.000488281
0.2	0.002441406	-0.00341797	-0.00878906	-0.00439453	-0.00244141	0.001464844
0.25	0.001953125	-0.00195313	-0.00439453	-0.00292969	0	0.002929688
0.3	0.001464844	-0.00146484	-0.00146484	-0.00195313	0.001953125	0.002929688
0.35	0.001464844	-0.00146484	0.000976563	-0.00146484	0.000976563	0.002441406
0.4	0.001953125	-0.00244141	0.001464844	-0.00097656	-0.00146484	0.001464844
0.45	0.001953125	-0.00195313	0.002441406	-0.00048828	-0.00292969	0.000976563
0.5	0.002441406	-0.00195313	0.000488281	0.001464844	-0.00390625	0
0.55	0.001464844	-0.00195313	0.002441406	-0.00048828	-0.00439453	0
0.6	0.000976563	-0.00292969	0.002441406	-0.00195313	-0.00390625	0
0.65	0	-0.00390625	0.002441406	-0.00244141	-0.00390625	0
0.7	0.000488281	-0.00390625	0.001464844	-0.00292969	-0.00292969	-0.00097656
0.75	0.001464844	-0.00292969	0.000976563	-0.00195313	-0.00048828	-0.00244141
0.8	0.001953125	-0.00341797	0.001464844	-0.00097656	0.000976563	-0.00537109
0.85	0.001464844	-0.00341797	0.002929688	-0.00146484	0.000976563	-0.00537109
0.9	0.000976563	-0.00292969	0.005859375	-0.00195313	0.000488281	-0.00537109

図 3.3.33: 生データを ASCII ファイルとして出力し、Excel で読み込んだ一例。

b. スパイクの波形とその検出時間を出力する

Save Spikes を使用します。1) 検出時間のみ、もしくは 2) 検出時間及び波形を CSV 形式の ASCII ファイルとして出力できます。

注 1: このワークフローでは、Save Spikes は Cluster Spikes の下位に接続されており、出力ファイル内において、スパイクの検出時間やその波形にはクラスターの ID が割り当てられます。

注 2: 正確なデータを出力するためには、重心を固定しなければなりません。

File Format	20071201								
Session Start	2010/8/11 19:03:39 +09:00								
Trace Duration	1.0252								
channel	time_of_day	within_session_time	within_session_time_ms	within_trace_time_ms	cluster_id	trace_number	pre_ms	post_ms	v0_mV
1	19:03:39.221	0d000000.221	221.4	221.4	1	1	1	2.5	0.008129589
1	19:03:39.271	0d000000.271	271.25	271.25	1	1	1	2.5	0.006258784
1	19:03:39.344	0d000000.344	344.55	344.55	1	1	1	2.5	0.002065627
2	19:03:39.19	0d000000.19	190.85	190.85	1	1	1	2.5	0.00316153
2	19:03:39.282	0d000000.282	282.2	282.2	1	1	1	2.5	-0.00199323
3	19:03:39.021	0d000000.021	21.3	21.3	1	1	1	2.5	0.002024472
3	19:03:39.292	0d000000.292	292.05	292.05	1	1	1	2.5	-0.01540339
5	19:03:39.177	0d000000.177	177.35	177.35	1	1	1	2.5	0.0058642
5	19:03:39.217	0d000000.217	217.35	217.35	1	1	1	2.5	0.00268408
5	19:03:39.351	0d000000.351	351	351	1	1	1	2.5	0.001629863
6	19:03:39.461	0d000000.461	461.75	461.75	none	1	1	2.5	0.001753265
6	19:03:39.468	0d000000.468	468.9	468.9	1	1	1	2.5	0.004137667
6	19:03:39.472	0d000000.472	472.9	472.9	none	1	1	2.5	-0.00231809
6	19:03:39.485	0d000000.485	485.8	485.8	1	1	1	2.5	0.00463588
6	19:03:39.492	0d000000.492	492.85	492.85	1	1	1	2.5	-0.00254817
7	19:03:39.437	0d000000.437	437.75	437.75	1	1	1	2.5	0.003172081
9	19:03:39.006	0d000000.006	6.6	6.6	1	1	1	2.5	0.005891912
9	19:03:39.011	0d000000.011	11.85	11.85	1	1	1	2.5	-0.00645758
9	19:03:39.056	0d000000.056	56.6	56.6	2	1	1	2.5	0.003822904
9	19:03:39.073	0d000000.073	73.85	73.85	2	1	1	2.5	-0.00664335

図 3.3.34: スパイクの検出時間と波形を ASCII ファイルとして出力し、Excel で読み込んだ一例。

検出時間と波形には ID が割り当てられる。

c. 重心を出力する

Cluster Spikes を使用します。重心波形 (Display Spike Measures において実線で表示される) は CSV 形式の ASCII ファイルとして出力されます。重心波形の出力において、特定のチャンネルのみを選択することはできません。

注: 正確なデータを出力するためには、重心を固定しなければなりません。

d. 発火頻度のデータを出力する

Save Spike Freqs を使用します。CSV 形式の ASCII ファイルとして出力されます。

注 1: このワークフローでは、Compute Spike Freqs は Cluster Spikes の下位に接続されており、各クラスターの発火頻度のタイムチャートが出力されます。

注 2: 正確なデータを出力するためには、重心を固定しなければなりません。

CHANNEL	1
#Centroids	2
Centroid	1
sign	-1
ms	mV
0	0.0017
0.05	0.0061
0.1	0.0067
0.15	0.0064
0.2	0.0071
0.25	0.0077
0.3	0.0081
0.35	0.0083
0.4	0.0085
0.45	0.0087
0.5	0.0085
0.55	0.0075
0.6	0.0063
0.65	0.0017
0.7	-0.0031
0.75	-0.0088
0.8	-0.0151
0.85	-0.0215
0.9	-0.0272
0.95	-0.0313
1	-0.0332
1.05	-0.0331
1.1	-0.0311
1.15	-0.0279
1.2	-0.0239
1.25	-0.0198
1.3	-0.0157
1.35	-0.0116

File Format Ver	20071201						
Session Start	2010/8/11 19:03:39 +09						
time_secs	phase	ch1	ch1	ch2	ch2	ch3	ch3
		NC	C1	NC	C1	NC	C1
1	Baseline	0	3	0	3	0	2
2		0	0	0	1	0	2
3		0	2	0	1	0	2
4		1	1	0	1	0	3
5		0	2	0	1	0	3
6		0	3	0	1	0	4
7		0	0	0	1	0	4
8		0	0	0	1	0	2
9		0	1	0	2	0	4
10		1	0	0	0	0	3

図 3.3.35: CSV 形式の ASCII ファイルとして出力した重心波形の一例 (左)。

CSV 形式の ASCII ファイルとして出力した発火頻度の一例 (右)。

第 4 章 心筋電場電位の記録

この章では既存のワークフローテンプレートを利用して、急性心筋切片や初代培養心筋細胞、および幹細胞由来心筋細胞の拍動に起因する電場電位 (以下、心筋電場電位とよびます) を記録、解析する方法を紹介します。

4.1. 自発的な心筋電場電位の記録

自発的な心筋電場電位の記録には、3 つのワークフローテンプレートを利用できます。この節ではこれらのテンプレートを利用して、自発的な心筋電場電位を記録する方法を紹介します。

- a. **Simple_recording**: オンライン解析をせずに自発的な心筋電場電位を記録。
- b. **Beat_recording**: ロングスパイクを検出し、拍動数及び拍動間隔を算出しながら自発的な心筋電場電位を記録。
- c. **QT_recording**: ロングスパイクを検出、解析し、拍動数を算出しながら自発的な心筋電場電位を記録。

4.1.1. 記録用ワークフローテンプレートの概要

4.1.1.1. QT_recording の概要

既存のワークフローテンプレート QT_recording は、[Main]、[Detect beating] 及び [Measurement] の 3 つのタブに設置された以下のモジュールから構成されています。

タブウィンドウ名	含まれるモジュール
Main	Acquire MED64R2 Data / Display All Channels
Detect beating	Extract Long Spikes / Display Extracted Spikes / Compute Beats per Minute / Display Beats per Minute
Measurement	Filter Spike Data (×2) / Extract Spike Measures / Save Measures Data / Display Results Table

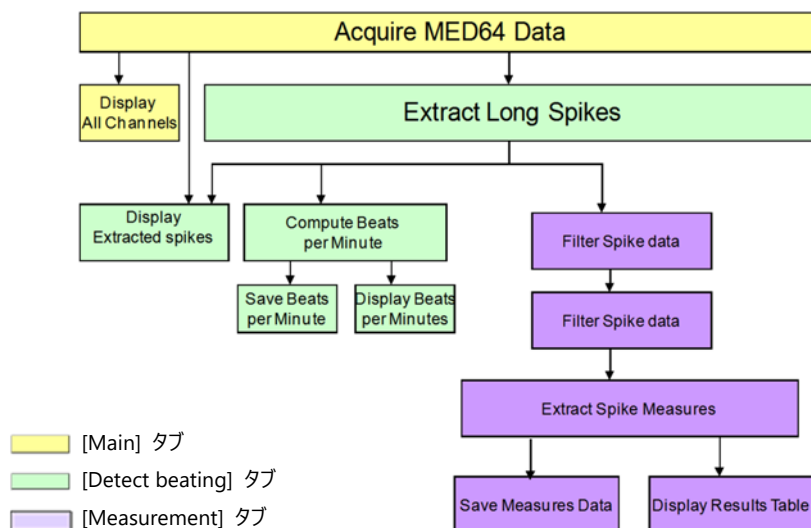


図 4.1. 1: QT_recording のモジュール構成。

このテンプレートでは設定した閾値を越えるロングスパイク（心筋細胞 1 拍動の電場電位波形）を検出します。検出されたロングスパイクは、ユーザーが設定したフィルターによるフィルター処理を受けてから Extract Spike Measures モジュールに出力されます。そこで振幅や傾き、面積、時間等の測度が算出され、タイムチャートにプロットされます。拍動数はロングスパイクの検出に基づいて算出され、タイムチャートにプロットされます。FPD（電場電位波形の時間間隔）延長評価等の波形解析を行う場合は、このテンプレートをご利用ください。

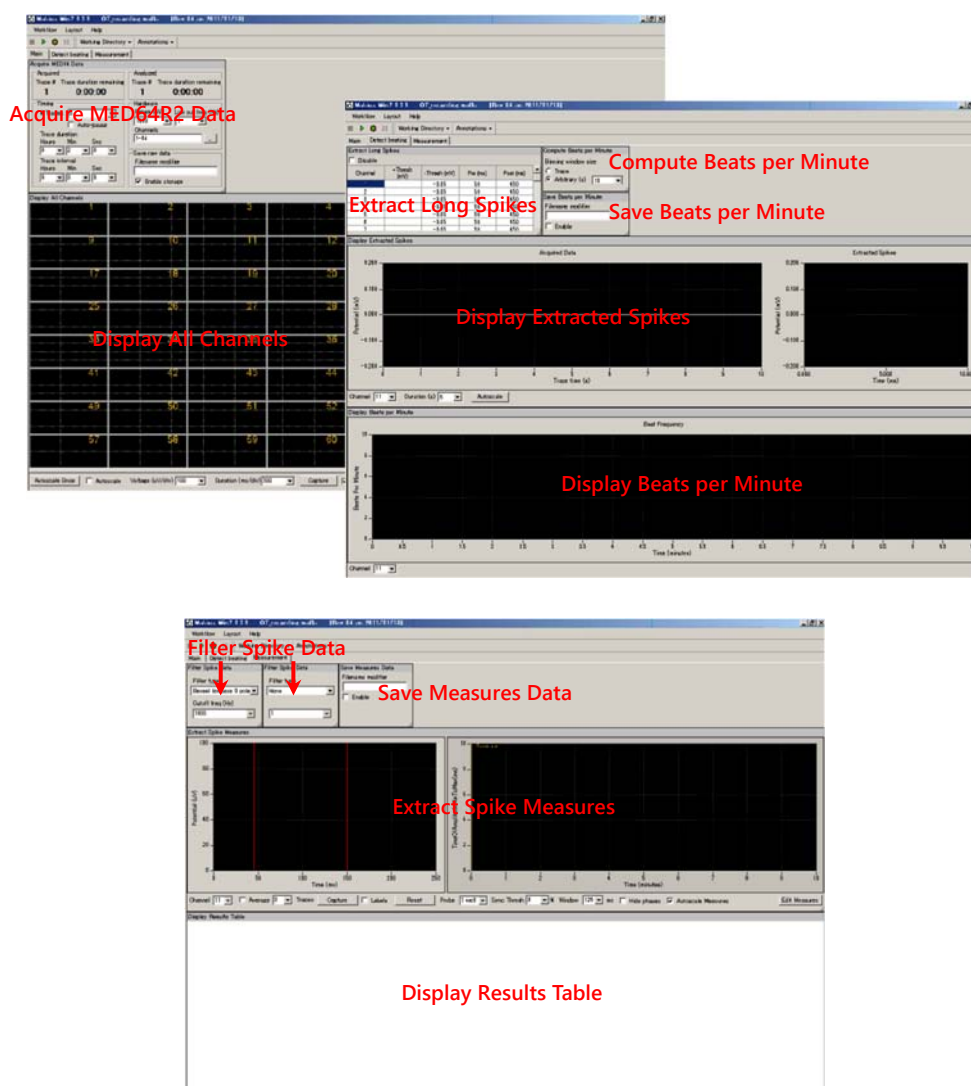


図 4.1.2: QT_recording を構成するモジュールのタスクパネル。[Main] タブ (上)、[Detect beating] タブ (上)、[Measurement] タブ (下)。

4.1.1.2. Beat_recording の概要

既存のワークフローテンプレート Beat_recording は、[Main] と [Detect beating] の 2 つのタブに設置された以下のモジュールから構成されています。

タブウィンドウ名	含まれるモジュール
Main	Acquire MED64R2 Data / Display All Channels
Detect beating	Extract Long Spikes / Compute Beats per Minute / Save Beats pre Minute / Display Beats per Minute / Compute Interspike Intervals / Save Interspike Intervals / Display Interspike Intervals / Display Extracted Spikes

このテンプレートでは設定した閾値を越えるロングスパイク（心筋細胞 1 拍動の電場電位波形）を検出し、拍動数や拍動間隔を算出して、タイムチャートにプロットします。拍動数の算出を行う場合は、このテンプレートをご利用ください。

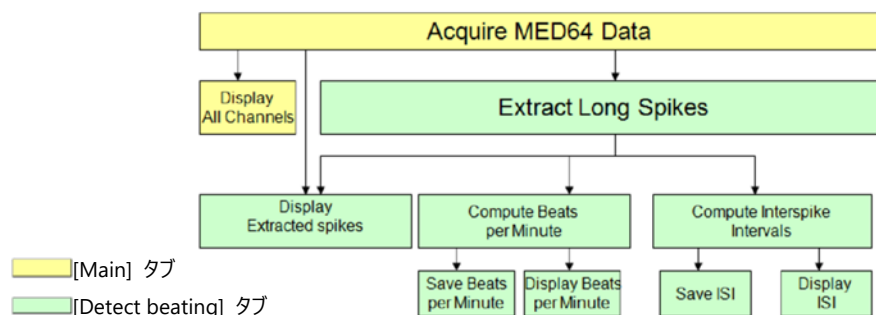


図 4.1.3: Beat_recording のモジュール構成。

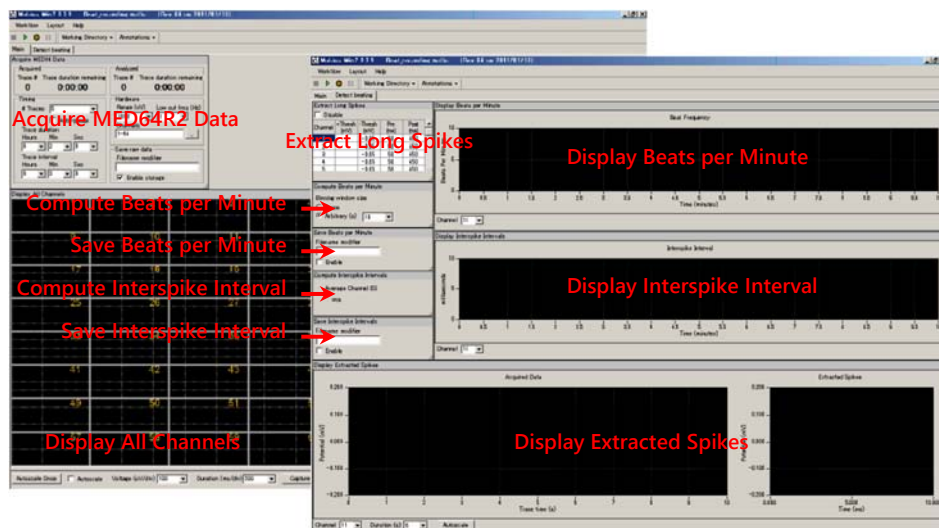


図 4.1.4: Beat_recording を構成するモジュールのタスクパネル。[Main] タブ (左)、[Detect beating] タブ (右)。

4.1.1.3. Simple_recording の概要

信号を取り込み、全 64 チャンネルで表示します。

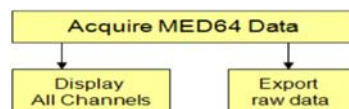


図 4.1.5: Simple_recording のモジュール構成。

4.1.1.4. テンプレートを開く

- (1) [Workflow] - [New] から、[From Template] を選択します (図 4.1.6)。
- (2) ディスプレイサイズに合わせて [64MD1_1280x1024] もしくは [64MD1_1920x1080] を選択し、[QT] - [Spontaneous_recording] から、いずれかの記録用テンプレートを選択します。



図 4.1.6: テンプレートを開く。

4.1.2. 取り込み条件の設定

記録用のワークフローテンプレート全てに Acquire MED64 Dada が含まれており、信号の取り込み条件を設定できます。

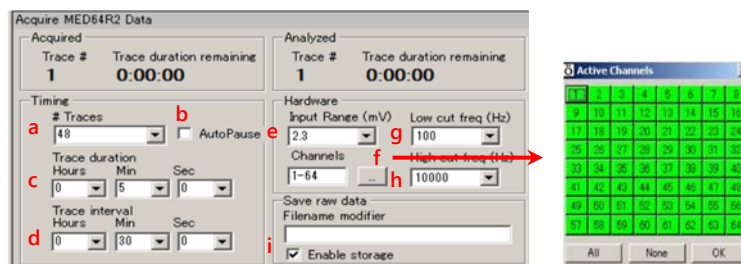
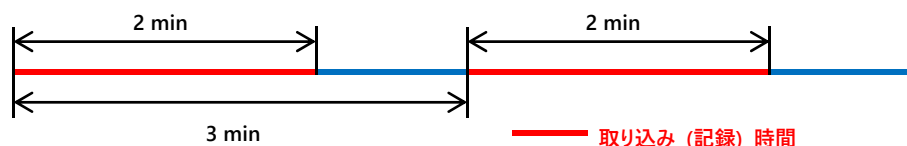


図 3.1.1: Acquire MED64R2 Data のタスクパネル。

- a. トレース (挿引) 回数。
- b. チェックを入れると、各トレースの取り込み後にワークフローが自動的に一時停止されます。
- c. トレースの取り込み (記録) 時間。
- d. 各トレース間間隔 (トレース開始時点から次のトレースの開始時点までの間隔)。

注: 初期設定では下図に示すように 30 分ごとに 5 分間のデータ取り込みが行われ、それが 48 回 (トレース) 繰り返されます。つまり、この設定によるデータ取り込みは 24 時間行われることになります。



- e. 最大許容入力。2.3 mV、2.9 mV、5.0 mV、12.5 mV、25 mV から選択します。心筋電場電位の記録では、通常 2.9 mV に設定します。
- f. 取り込みチャンネルの設定。右のボックスをクリックするとチャンネルセレクトが表示されます。緑色にマークされたボタン (チャンネル) の信号が取り込まれます。
- g. ハイパスフィルター (0.1、1.0、10、100 Hz) の設定。1 に設定した場合、1 Hz 以下の信号は遮断されます。心筋電場電位の記録では、通常 1 に設定します。
- h. ローパスフィルター (1000、2500、5000、7500、10000 Hz) の設定。5000 に設定した場合、5000 Hz 以上の信号は遮断されます。心筋電場電位の記録では、通常 10000 に設定します。
- i. [Enable storage] にチェックを入れると、ワークフローを記録ボタンで実行した場合に生データが自動保存されます。出力ファイル名は Filename modifier 欄で編集できます。

4.1.3. ワークフローを実行する

ワークフローは下図に示す操作ボタンで開始、停止します。

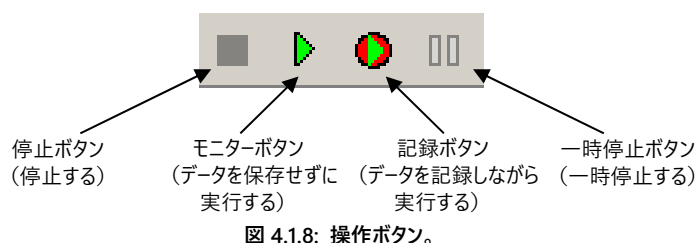


図 4.1.8: 操作ボタン。

4.1.4. 実験を始める前に

ワークフローを開いた後、モニターボタンもしくは記録ボタンで初めて実行する際には、数秒間のキャリブレーションが行われます。同時に開かれた複数のワークフローを瞬時に切り替えて記録を続ける際には、予めワークフローをモニターボタンで実行し、キャリブレーションを行うようにしてください。コンピュータを起動してから初めて Extract Long Spikes を含むワークフローを実行する際には、スパイク検出が行われないように Extract Long Spikes パネルの [Disable] にチェックを入れて、ワークフローを実行してください (大きく揺れるベースラインをスパイク波形として認識し過剰検出する可能性があります)。

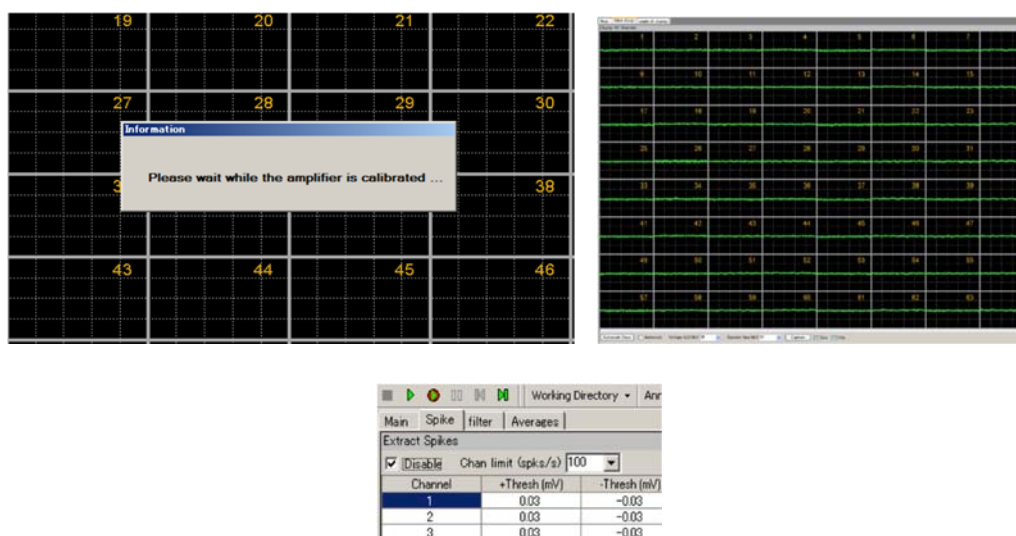


図 4.1.9: キャリブレーション (左) 後、ベースライン (右) が表示された画面。
ロングスパイク検出を行わないよう Disable にチェックを入れる (下)。

4.1.5. 自発的な心筋電場電位を記録する

4.1.5.1. オンライン解析を行わずに記録をする

Extract Long Spikes モジュールとそれに続く解析処理はコンピュータに重い負荷を加えます。ロングスパイクの検出、解析処理がデータの取り込み処理に追従できなくなると、Mobius が強制終了してしまう可能性があります。多数のスパイク状ノイズや振動によるベースラインのゆらぎが原因となり、全てのチャンネルから閾値を越えるロングスパイクを 1 度に検出する場合に起こる可能性があります。まずはロングスパイクの検出をオンラインで行わずに記録をする (ロングスパイク検出を無効にして) よう、推奨いたします。

- (1) Acquire MED64R2 Data パネル上でトレース回数、取り込み時間、間隔を変更します (p. 69「4.1.2. 取り込み条件の設定」をご参照ください)。
- (2) [Detect beating] タブを選択します。Disable ボックスにチェックを入れてロングスパイクが検出されないようにします (図 4.1. 10)。チェックを入れるとロングスパイク検出が行われないため、以降の解析処理も行われません。

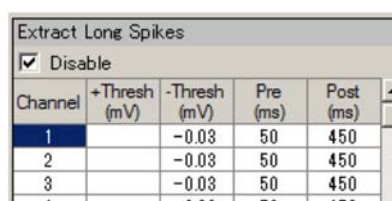


図 4.1.10: Disable ボックス。



図 4.1.11: チャンネルセレクト。

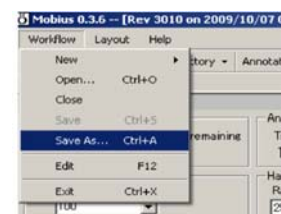


図 4.1.12

- (3) ワークフローをモニターボタンで実行します。
- (4) 記録するチャンネルを設定します。
 - 1) Acquire MED64 Data の Channels 右のボタンをクリックし、チャンネルセレクトを表示させます (図 4.1. 11)。
 - 2) 赤色にマークされたチャンネルは記録が行われず、緑色にマークされたチャンネルは記録が行われます。
- (5) [Main] タブを選択します。Acquire MED64 Data の Save raw data にチェックが入っていることを確認します。
- (6) [Workflow] - [Save as] から、ユーザーに固有の記録用ワークフローとして保存します (図 4.1. 12)。
- (7) ワークフローを記録ボタンで実行します。

注 1: ワークフローを保存せずに記録ボタンで実行すると、ワークフローを保存するようウィンドウが表示されます。

注 2: 記録を停止するとデータファイル (.modat) 及び、各設定が保存された記録用ワークフロー (+acquisition.moflo) が自動生成され、記録用ワークフローと同一のフォルダーに保存されます。また、ワークフローに測度を算出するモジュールが含まれる場合、Acquire MED64R2 Data もしくは Acquire MED64R2 Data w/Stim が Replay Raw Data File に置き換えられた解析用ワークフロー (+analysis.moflo) も自動生成され、記録用ワークフローと同一のフォルダーに保存されます。

- (8) 信号は Display All Channels パネルと Display Extracted Spikes パネルの“Trace 1”チャートに表示されますが、その他のパネルには表示されません (図 4.1.13)。

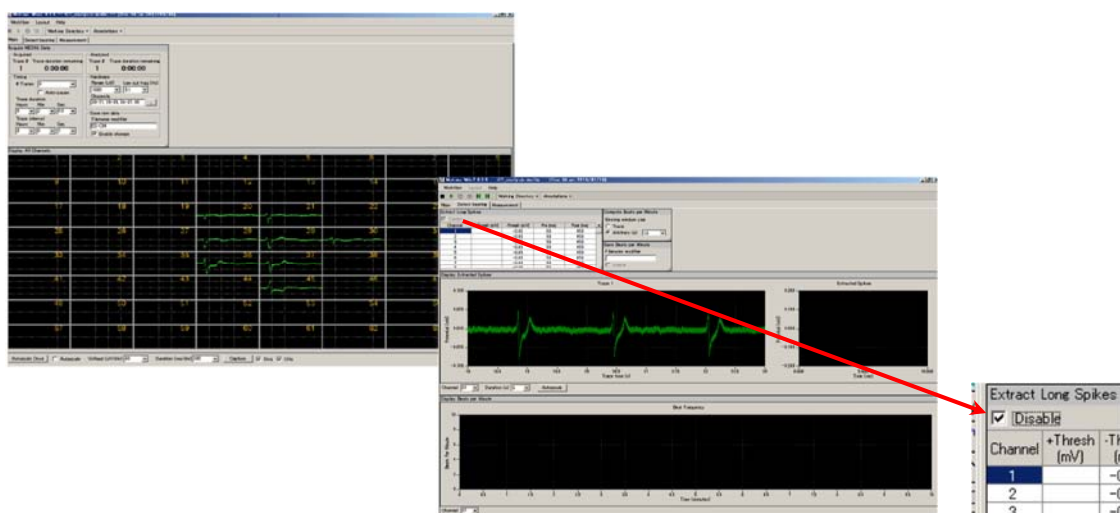


図 4.1.13: ロングスパイク検出を無効にし (右)、記録を行う (左)。

4.1.5.2. オンライン解析を行いながら記録する

Disable のチェックが外れていると、ユーザーが設定した閾値を越える信号をロングスパイクとして検出し、以降の解析処理が全てオンラインで行われます。これらの処理はコンピューターに重い負荷を加えるため、Mobius を強制終了させる原因となる可能性があります。これらのワークフローでオンライン解析を行う場合は、以下の点にご考慮ください。なお、解析条件を設定する方法につきましては p. 80「4.3.3. FPD (電場電位波形の時間間隔) 延長を解析する」をご参照ください。

- QT_recording 等の Extract Spike Measures を含むワークフローを実行する際には、データ取り込みチャンネルをできるだけ少なくしてください (Beat_recording 等の Extract Spike Measures だけではなく、Compute Beats per Minute や Compute Interspike Intervals を含むワークフローを実行する際も、なるべく少なくしてください)。
- データを記録する際には、データ出力モジュールを無効にしてください。安定した記録を行うためにも、データの出力はオフラインで行うようにします。
- Trace duration は 10 分以下に設定し、データの解析処理が (先行する実時間の) データの取り込み処理に追従できるように Trace interval の時間をご設定ください。特に日、週、月にわたる長時間の記録をする際には、Trace interval の時間を長くするようにしてください。
- 電場電位波形の他のピーク点や、スパイク状ノイズを検出しないよう、できるだけ高い閾値を設定してください。

4.2. 薬効評価試験への応用

Compute Measure Averages は Extract Spike Measures で算出した測度や拍動数、拍動間隔について、各フェーズで平均値と標準偏差を算出することで、ドーズレスポンスカーブ (用量反応曲線) の作成や、薬物投与前後の反応の比較に利用できます。この節ではその方法について紹介します。

- QT_recording、もしくは Beat_recording を開きます。
- 取り込み条件を設定し、Auto-pause にチェックを入れます (図 4.2.1)。これにより、各トレースの取り込み後にワークフローが自動的に一時停止します。

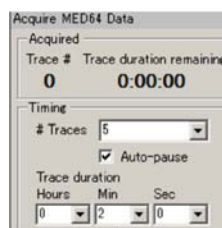


図 4.2.1

- 解析条件を設定し、[Workflow] - [Save as] からユーザーに固有のワークフローとして別名で保存します。
- [Detect beating] タブを選択します。ワークフローを記録ボタンで実行します。第 1 フェーズ (Baseline) は時間 0 から始まります。
- 第 1 フェーズ (トレース 1) が終了すると、ワークフローが自動的に一時停止します。

注 1: Auto pause にチェックを入れていない場合は、一時停止ボタンで一時停止してください。

注 2: 停止ボタンで停止しないでください。停止させた場合、実験を終了させることになり、新しいフェーズが追加できません。

- (6) 一時停止中に薬物を投与します。[Annotations] から [Add New Phase] をクリックし、第 2 フェーズの名前を入力します (図 4.2. 2 の例では、0100nM E4031)。
[OK] をクリックすると、タイムチャート上に入力した名前と黄色のバー (フェーズバー) が現れます (図 4.2. 3)。

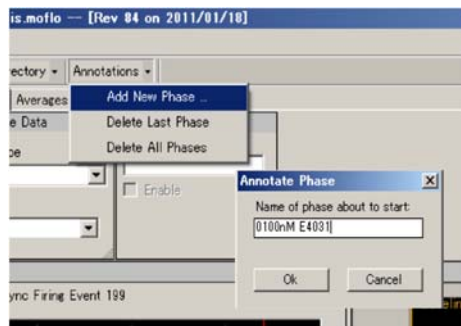


図 4.2.2

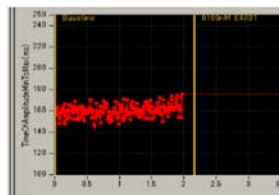


図 4.2.3

- (7) ワークフローを記録ボタンで再開します。
- (8) 第 2 フェーズ (トレース 2) が終了すると、ワークフローが自動的に一時停止します (あるいは一時停止ボタンで一時停止してください)。
- (9) [Annotations] から [Add New Phase] をクリックし、第 3 フェーズの名前を入力します (1000nM E4031 等)。
- (10) ワークフローを記録ボタンで再開し、以降、実験が終了するまで同様の手順を繰り返します。
- (11) 図 4.2. 4 にフェーズバーを挿入した Extract Spike Measures パネルを示します。
- (12) 設定した解析条件及び挿入されたフェーズバーを含む解析用ワークフローが記録用ワークフローと同一のフォルダーに保存されます。この解析用ワークフローを利用すれば、オフラインで簡単にドーズレスポンスカーブを作成できます (詳細は p. 87~89 をご参照ください)。ロングスパイクの検出を行わずに、フェーズバーを挿入して解析用ワークフローを作成することもできます (この場合、記録中にロングスパイクの検出とその波形解析は行われません)。実験プロトコルに不慣れな場合は、オンラインでのロングスパイクの検出を行わずに記録をするよう推奨いたします。

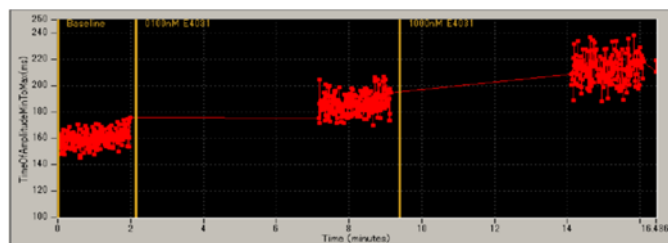


図 4.2.4: フェーズバーが挿入された Extract Spike Measures パネル。

4.3. 記録データの再生とオフライン解析

記録したデータファイル (.modat) は Replay Raw Data Files で再生し、Compute Beats per Minute、Compute Interspike Intervals、Extract Spike Measures 等で解析できます。記録データを再生、解析するには、これらのモジュールを組み合わせるユーザーに固有の解析用ワークフローを作らなければなりませんが、この章で紹介する解析用ワークフローテンプレートを利用するのが簡単です。自発的な心筋電場電位の解析には、以下の解析用ワークフローテンプレートをご利用ください。

- a. **QT_analysis**: 電場電位波形の時間間隔評価を含む波形解析用ワークフロー。
- b. **Beat_frequency_analysis**: 拍動数を算出する解析用ワークフロー。
- c. **Export_for_propagation_analysis_spontaneous**: 二次元興奮伝播図を作成するための解析用ワークフロー。

また、データの記録を行うと Acquire MED64R2 Data w/Stim が Replay Raw Data File に置き換えられた解析用ワークフロー (+analysis.moflo) が、記録用ワークフローと同一フォルダー内に自動生成されますが、それを利用することもできます。

4.3.1. データを再生する

- (1) テンプレートを開きます。[Workflow] - [New] から [From Template] を選択します。ディスプレイサイズに合わせて [64MD1_1280x1024] も

しくは [64MD1_1920x1080] を選択し、[QT] - [Spontaneous_analysis] から、いずれかの解析用テンプレートを選択します。ユーザーに固有の解析用テンプレートを開く場合は、[Workflow] - [Open] からワークフロー (.moflo) を選択します。

- (2) 記録したデータファイル (.modat) を読み込むには、Filename 欄右のボタンをクリックしてファイルを選択します。図 4.3.2 の右図のようにファイル名が表示されると、モニターボタンもしくは記録ボタンでデータを再生できます。



図 4.3.1: 解析用ワークフローテンプレートを開く。

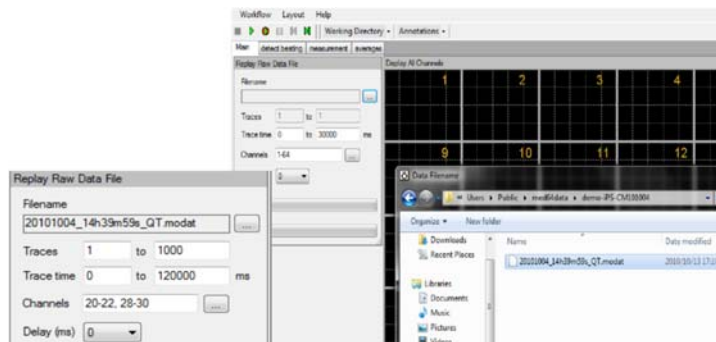


図 4.3.2: データファイル (.modat) を開く。

- (3) モニターボタンで実行するとデータが再生されます。出力モジュールが有効の場合、記録ボタンで実行するとデータの再生及びファイル出力が行われます。

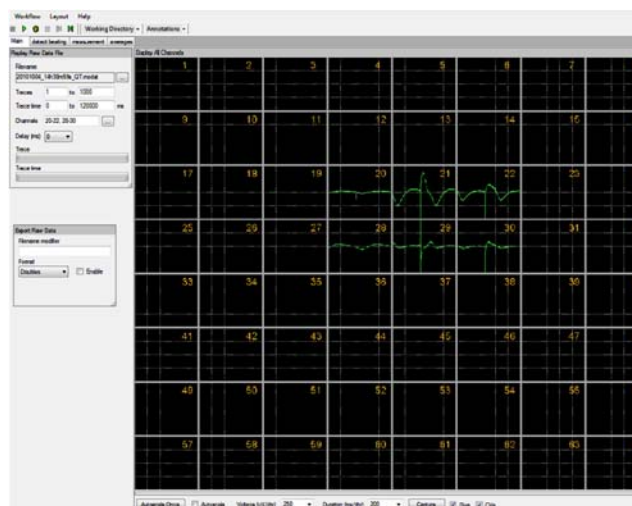


図 4.3.3: 記録した自発的な心筋電場電位を再生する。

Replay Raw Data Files の設定

- Traces: 再生するトレースを選択します。
- Trace time: 再生するトレースの時間範囲を設定します。
- Channels: 再生するチャンネルを選択します。Channels 欄右のボタンをクリックすると、チャンネルセクタが現れます。緑色にマークされたチャンネルのデータが再生されます。
- Delay: 0 以上の値を設定すると、再生するトレース間に設定した遅延時間が挿入されます。再生処理を遅延させ、解析処理を追従させるのに利用できます。

4.3.2. 解析用ワークフローテンプレートの概要

この節では自発的な心筋電場電位を解析するためのワークフローテンプレートを紹介합니다。

4.3.2.1. QT_analysis の概要

このテンプレートでは FPD (電場電位波形の時間間隔) 延長の解析を含めたロングスパイクの波形解析が行えます。このテンプレートは [Main]、[Detect beating]、[Measurement] 及び [Averages] の 4 つのタブに設置された以下のモジュールから構成されています。詳細は p. 80 「4.3.3. FPD (電場電位波形の時間間隔) 延長を解析する」をご参照ください。

タブウィンドウ名	含まれるモジュール
Main	Replay Raw Data File / Display All Channels / Export Raw Data
Detect beating	Extract Long Spikes / Display Extracted Spikes / Compute Beats per Minute / Save Beats per Minute / Display Beats per Minute
Measurement	Filter Spike Data (×2) / Extract Spike Measures / Save Measures Data / Display Results Table (Extract Spikes Measures)
Averages	Compute Measure Averages (Extract Spike Measures) / Save Measure Averages (Extract Spike Measures)

再生されたデータは Extract Long Spikes に出力され、設定した閾値を越える信号がロングスパイクとして検出されます。検出されたロングスパイクはフィルター処理を受けてから Extract Spike Measures モジュールに出力されます。そこで振幅や傾き、面積、時間等の測度が算出され、タイムチャートにプロットされます。Display Results Table にはその実数値が表示されます。Compute Measure Averages では測度の平均値が算出され、グラフにプロットされます。また、検出されたロングスパイクは Compute Beats per Minute にも出力され、拍動数が算出されます。生データはバイナリデータもしくは CSV 形式の ASCII ファイルとして出力できます。測度及びその平均値のチャートは CSV 形式の ASCII ファイルとして出力できます。

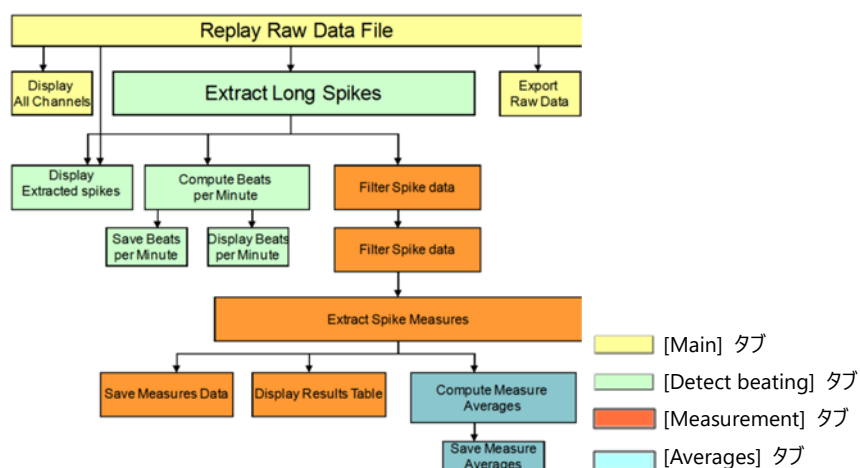


図 4.3.4: QT_analysis のモジュール構成。

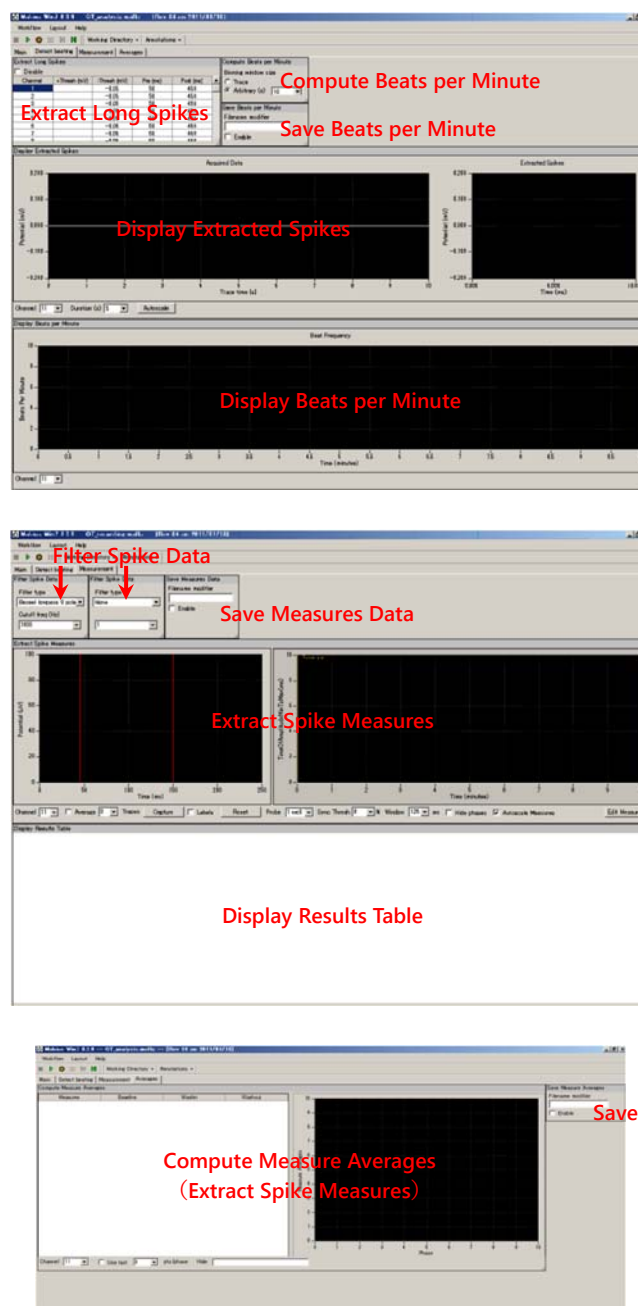


図 4.3.5: QT_analysis を構成するモジュールのタスクパネル。[Detect beating] タブ (前頁)、[Measurement] タブ (上)、[Averages] タブ (下)。

4.3.2.2. Beat_frequency_analysis の概要

このテンプレートでは拍動数の解析が行えます。このテンプレートは [Main]、[Detect beating] 及び [Averages] の 3 つのタブに設置された以下のモジュールから構成されています。詳細は p. 85「4.3.4. 拍動数を解析する」をご参照ください。

タブウィンドウ名	含まれるモジュール
Main	Replay Raw Data File / Display All Channels / Export Raw Data
Detect beating	Extract Long Spikes / Display Extracted Spikes / Compute Beats per Minute / Save Beats per Minute / Display Beats per Minute / Compute Interspike Intervals / Save Interspike intervals / Display Interspike Intervals
Averages	Compute Measure Averages (ISI) / Save Measures Averages (ISI)

再生されたデータは Extract Long Spikes に出力され、設定した閾値を越える信号がロングスパイクとして検出されます。検出されたロングスパイクは拍動数の算出のために Compute Beats per Minute に、また拍動間間隔の算出のために Compute Interspike Intervals に出力されま

す。Compute Measures Averages では拍動間隔の平均値が算出され、タイムチャートにプロットされます。生データはバイナリデータもしくは CSV 形式の ASCII ファイルとして出力できます。拍動数、拍動間隔、及びそれらの平均値のチャートは CSV 形式の ASCII ファイルとして出力できます。

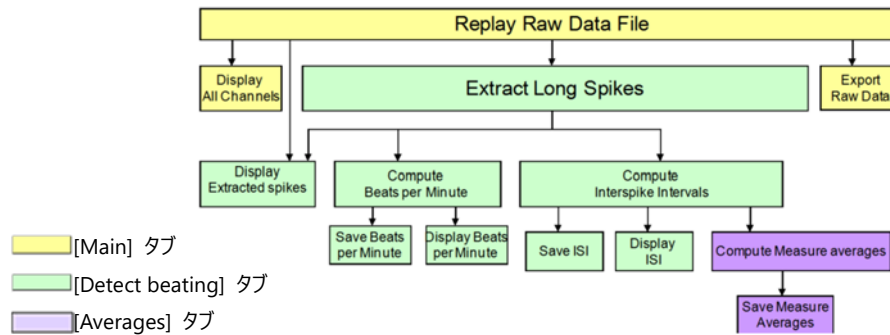


図 4.3.6: Beat_frequency_analysis のモジュール構成。

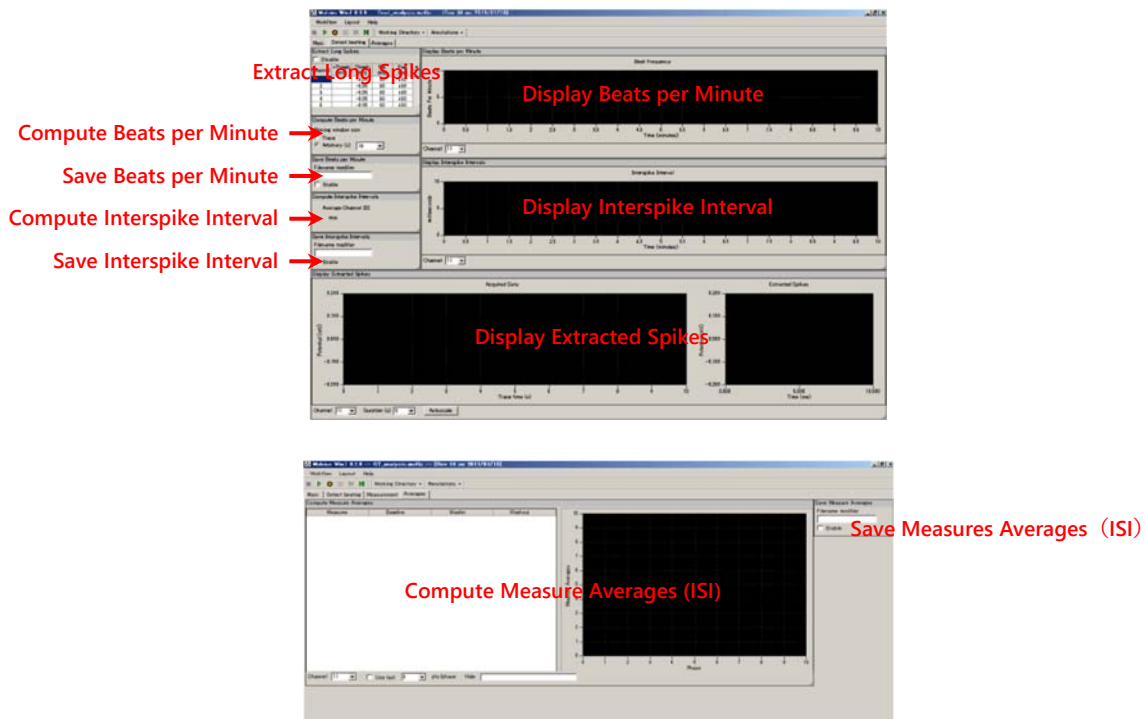


図 4.3.7: Beat_frequency_analysis を構成するモジュールのタスクパネル。

[Detect beating] タブ (前頁)、[Averages] タブ。

4.3.2.3. Export_for_propagation_analysis_spontaneous の概要

このテンプレートではロングスパイクの検出時間を CSV 形式の ASCII ファイルとして出力でき、心筋細胞の二次元興奮伝播図の作成に利用することができます。このテンプレートは 3 つのタブに設置された以下のモジュールから構成されています。詳細は p. 89「4.3. 6. 二次元興奮伝播図を作成する」をご参照ください。

タブ/ウィンドウ名	含まれるモジュール
Main	Replay Raw Data File / Display All Channels
Filter	Filter Raw Data (×2) / Display All Channels
Detect beating	Extract Long Spikes / Save Spikes / Extract Spike Measures

再生されたデータはフィルター処理を受けてから Extract Long Spikes に出力され、設定した閾値を越える信号がロングスパイクとして検出されます。Save Spikes ではロングスパイクの検出時間を CSV 形式の ASCII ファイルとして出力できます。

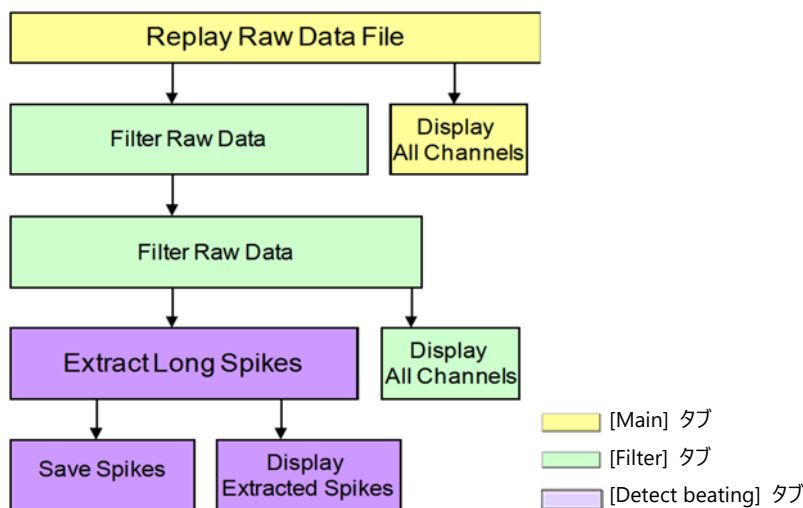


図 4.3.8: Export_for_propagation_analysis_spontaneous のモジュール構成。

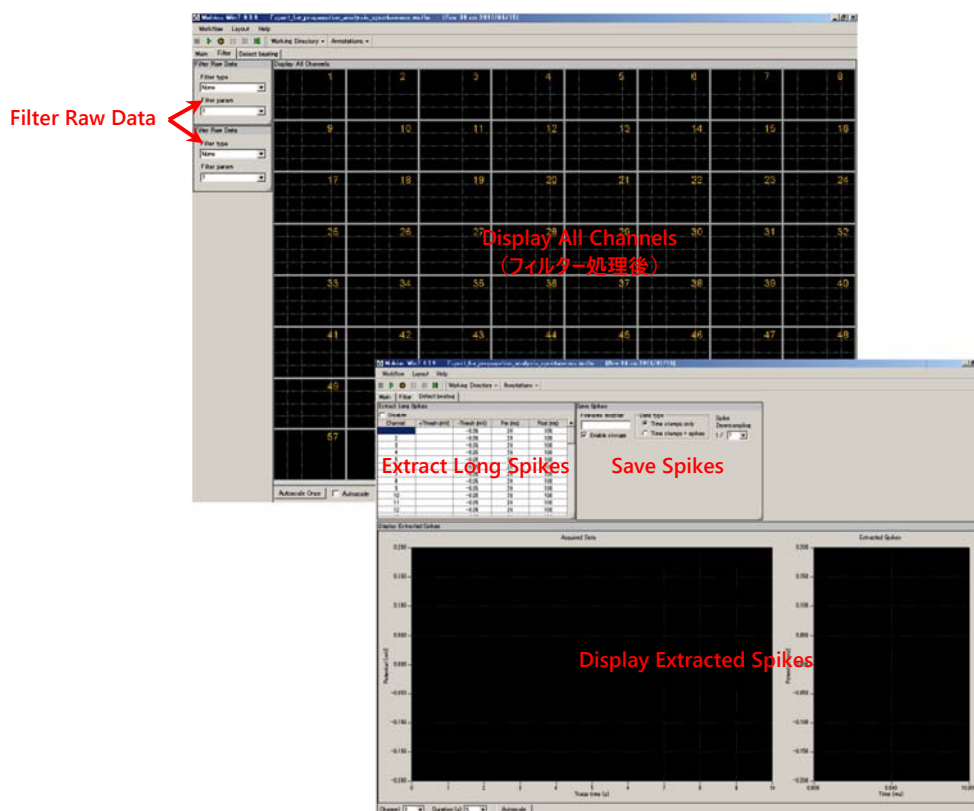


図 4.3.9: Export_for_propagation_analysis_spontaneous を構成するモジュールのタスクパネル。[Filter] タブ (左) と [Averages] タブ。

4.3.3. FPD (電場電位波形の時間間隔) 延長を解析する -QT_analysis の利用による検出したロングスパイク波形の解析-

- (1) QT_analysis を開き、データファイルを読み込みます。
- (2) [Detect beating] タブを選択し、Extract Long Spikes パネル上の Disable ボックスにチェックを入れます。ワークフローをモニターボタンで実行し、設定条件を確認してから停止します。
- (3) Acquire MED64R2 Data パネルからチャンネルセレクトを表示させ、解析するチャンネルを 1 つに絞り込みます (Channels 右のボタンをクリックし、チャンネルセレクトを表示させます)。
注: 複数のチャンネルを選択することもできますが、解析処理が遅くなったり、また各チャンネルの信号が同期していない場合にはロングスパイクの検出ミスを生じる可能性が高くなるため、お奨めしません。
- (4) [Detect beating] タブを選択します。Disable ボックスのチェックを外し (図 4.3.10)、閾値を設定します。なお、Disable ボックスにチェックを入れると、ロングスパイクの検出は行われません。データの記録時に使用してください。

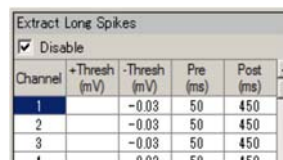


図 4.3.10: Disable にチェックを入れる。



図 4.3.11: チャンネルセレクト。

- 1) 閾値及び、閾値を越えた直後のピーク点前後の検出範囲の数値は、ダブルクリックして直接数値を入力することで変更します (図 4.3.12)。
- 2) 検出範囲の数値は、全てのチャンネルで同一になります。閾値はチャンネルごとに個別に割り当てることができます。
- 3) 変更した数値は右クリックから Apply to All により、全てのチャンネルに適用できます (図 3.3.12)。

注 1: 正負どちらにも閾値を設定するのはお奨めしません。どちらか一方で検出するようにしてください。

注 2: 波形の遅い成分を検出しないように、できるだけ高い閾値を設定してください (図 3.3.13)。

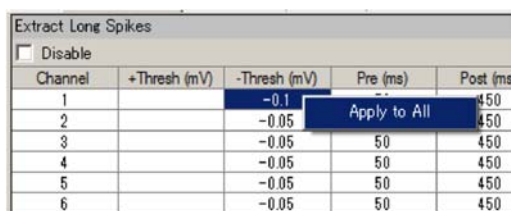


図 4.3.12: 閾値の変更。

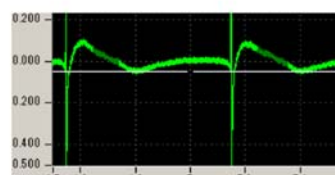


図 4.3.13: ロングスパイク検出の失敗例。

- (5) ワークフローをモニターボタンで再生し、Display Extracted Spikes パネル上でロングスパイク (黄緑色で強調表示される) の検出経過及び検出されたロングスパイク波形を確認します (図 3.3.14)。

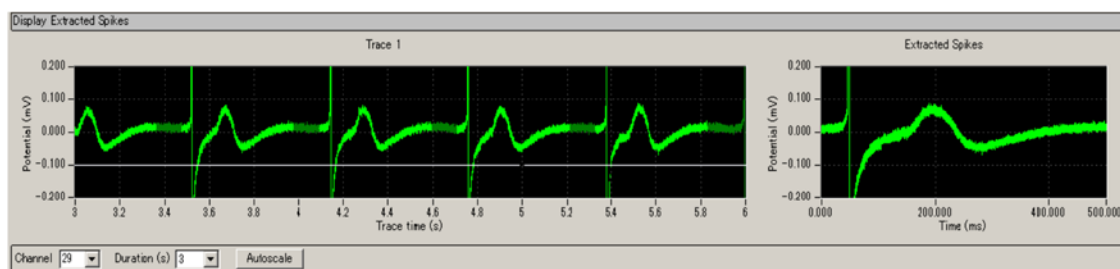


図 4.3.14: ロングスパイクの検出経過 (黄緑色で強調表示される)。

Display Extracted Spikes の設定

- a. Trace (左): 振幅の範囲は、最大値及び最小値をダブルクリックして直接数値を入力することで変更します (図 4.3.15)。時間軸 (横軸) の長さは Duration (s) 右のボタンから選択して変更します (図 4.3.16)。
- b. Extracted Spikes (右): 振幅及び時間の範囲は、最大値及び最小値をダブルクリックして直接数値を入力することで変更します (図 4.3.15)。
- c. Autoscale をクリックすると表示範囲が自動調節されます。



図 4.3.15

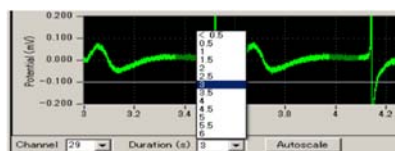


図 4.3.16

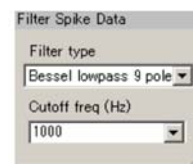


図 4.3.17

- (6) [Measurement] タブを選択します。検出されたロングスパイクはフィルター処理を受けて Extract Spike Measures に出力されます。初期設定では 1000 Hz の Bessel lowpass 9 pole フィルター のみが選択されており、フィルターの種類はここで変更できます。
- (7) 波形解析の条件は Extract Spike Measures で設定します。初期設定では TimeOfAmplitudeMinToMax が選択されており、第 1 及び第 2 カーソル間の最小振幅点 (時間) と、第 2 及び第 3 カーソル間の最大振幅点 (時間) との時間間隔が算出されます (図 4.3.18)。カーソルバー位置はドラッグ&ドロップでも移動できます。算出する測度の種類は、Measure Type 欄のプルダウンメニューを開いて変更できます (図

4.3.18)。

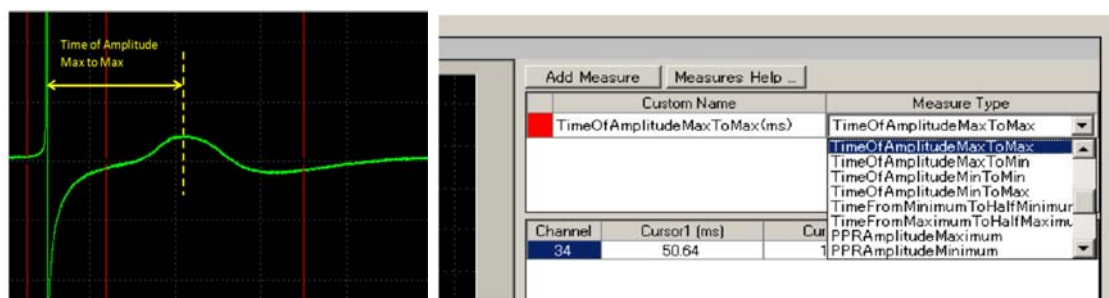


図 4.3.18: TimeOfAmplitudeMinToMax の定義 (左) と算出する測度の設定 (右)。

FPD 延長の評価に利用できる他の測度について

a. TimeOfCrossingHorizCursor

第 1 カーソル位置の時間と、第 2 カーソル位置以降の入力信号が水平カーソルと交差する点 (時間) との時間間隔を算出します (図 4.3.19)。

b. TimeOfSlopeCrossingHorizCursor

この測度の算出には 3 つの垂直カーソル位置と 1 つの水平カーソル位置を設定する必要があります。第 1 カーソル位置の時間と、回帰直線が水平カーソルと交差する点 (時間) との時間間隔を算出します。回帰直線は第 2 及び 第 3 カーソル位置間の最小及び最大振幅間から算出されます (図 4.3.20)。

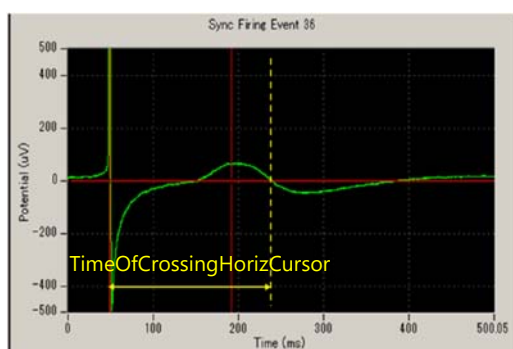


図 4.3.19

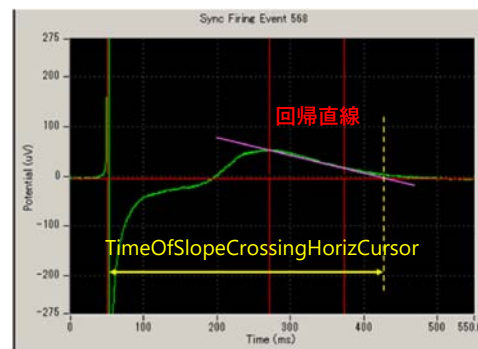


図 4.3.20

- (8) モニターボタンでデータを再生して解析条件を確認した後、解析用ワークフローとして別名で保存します。Save Measures Data にチェックを入れて、記録ボタンでデータを再生すると測度のタイムチャートが CSV 形式の ASCII ファイルとして出力されます (詳細は p. 93「4.3.7. データを出力する」をご参照ください)。また、QT_analysis には拍動数を解析するモジュールも含まれております。詳細は p. 85「4.3.4. 拍動数を解析する」をご参照ください。

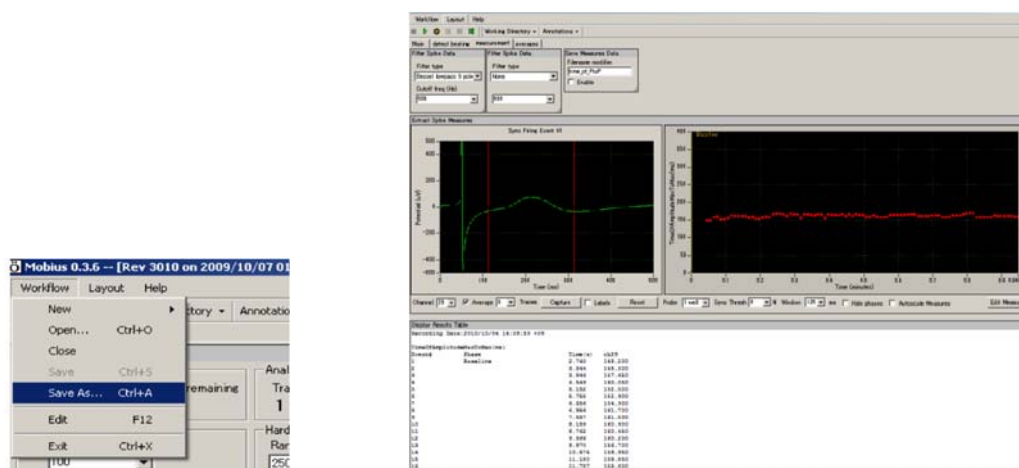
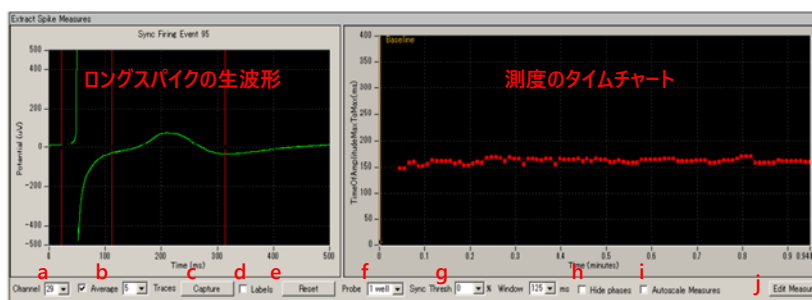


図 4.3.21

図 4.3.22: FPD の解析。TimeOfCrossingHorizCursor によりピーク点間間隔を算出し、タイムチャートにプロットする (中央左部)。算出値は Display Results Table パネルに表示される (下部)。

Extract Spike Measures の設定

このモジュールでは検出されたロングスパイク波形を解析する条件を設定できます。時間、振幅、傾き、面積等の測度を算出し、タイムチャートにプロットすることができます。



表示設定

図 4.3.23: Extract Spike Measures パネル

ロングスパイクの生波形

- パネルの左には検出されたロングスパイクの生波形が表示されます。測度のカーソル位置はドラッグ&ドロップで移動できます。
- 表示範囲を変更するには、1) Shift を押しながらクリックもしくは右クリックするか、2) チャートの最大値と最小値をクリックし、直接入力して表示範囲を変更します (図 4.3.24)。なお、チャート上のどこかでダブルクリックすると、表示範囲が自動調節されます。
- カーソル位置は右クリックから Copy Cursors により、全てもしくは個別のチャンネル及び測度に適用できます (図 4.3.25)。

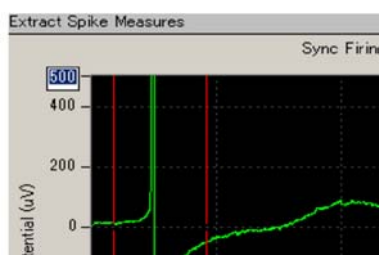


図 4.3. 24

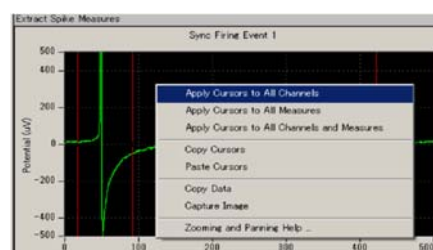


図 4.3. 25

測度のタイムチャート: 測度のタイムチャートがプロットされます。表示範囲はチャートの最大値と最小値をクリックし、数値を直接入力して変更します。

表示設定

- Channel: 表示するチャンネルを選択します。
- Average: チェックを入れると移動平均波形が表示されます。平均する波形の数 (トレース回数) を右のボックスに直接入力するか、もしくはプルダウンメニューから選択します。高周波ノイズをスムージングし、波形を明瞭にするのにご利用ください (例えば 3 と設定した場合はトレース 1.3、2.4、3.5 と 3 トレースずつ波形が平均化され、順番に表示されます)。
- Capture: クリックすると再生中の波形のスナップショットを 3 つまで取ることができます (図 4.3.26)。その後、クリックする度に一番古い波形が新しい波形と置き換わっていきます。右クリックメニューから波形を削除できます。フェーズごとの波形の比較にご利用ください。

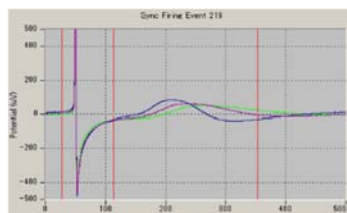


図 4.3.26

- Labels: チェックを入れるとカーソル位置の時間がチャートに表示されます。
- Reset: 表示範囲の拡大によりカーソル位置が表示範囲外に消えてしまった場合は、このボックスをクリックすることで、カーソルを範囲内に移動させることができます。
- Probe: マルチウェル記録用の設定個所です (※2011 年 11 月現在、未実装の機能です)。
- Sync Thresh: 複数チャンネルにわたる同期したロングスパイクを検出する際にご利用ください (Mobius の現行バージョンでは、複数チャ

ネルからの同時検出は推奨していません)。Window で設定した時間窓内において、ロングスパイクを生じたチャンネルの比率が Sync Thresh で設定した比率を越えた場合、同期したロングスパイクとして検出します。予期しないノイズ波形をロングスパイクとして誤検出せず、除外するのに利用できます。Display Results Table パネルの出力を参照しながら、設定値を調節してください。詳細は [Help] - [User Guide] からオンラインヘルプをご参照ください。

- h. Hide phases: チェックを入れるとフェーズバー（測度のタイムチャートに文字とともに表示される黄色のバー）を非表示にできます。
- i. Autoscale Measures: チェックを入れるとタイムチャートの表示範囲が自動調節されます。チェックを外すと X 軸、Y 軸の最大値もしくは最小値を直接入力することで表示範囲を変更できます。
- j. Edit Measures: 算出する測度を編集できます。
 - 1) 初期設定の測度を変えるには [Measure Type] から選択します (図 4.3. 27)。
 - 2) 選択した測度に名前をつけるには Custom Name 欄をダブルクリックして直接入力します。
 - 3) 測度を追加するには [Add Measure] をクリックします（データ記録時は処理を軽くするため、なるべく複数の測度を設定しないよう推奨いたします）。
 - 4) 不要な測度は名前の上で右クリックして削除します。測度の定義や詳細は [Measures Help] から確認できます。
 - 5) [Hide] をクリックすると Edit Measures 欄が閉じます。
 - 6) 下の欄にはカーソル位置の一覧表が表示され、数値を直接入力することにより、位置を移動させることができます。

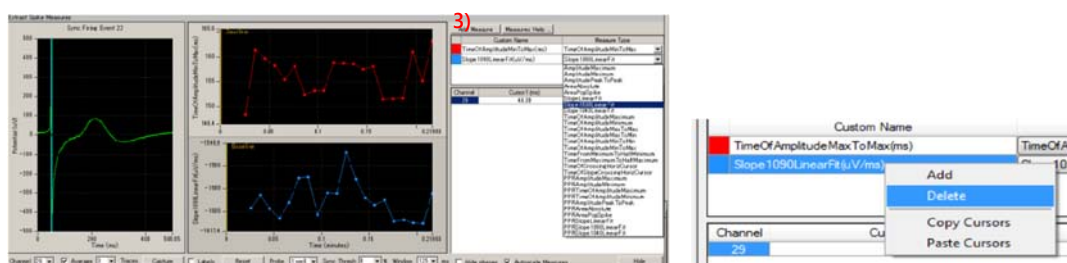


図 4.3.27: Edit Measures.

4.3.4. 拍動数を解析する

ワークフローテンプレートの **Beat_frequency_analysis** に含まれる Compute Beats per Minute 及び Compute Interspike Intervals を利用して解析します。

- (1) テンプレートを開き、データファイルを読み込みます。
- (2) [Detect beating] タブを選択し、Extract Long Spikes パネル上の Disable ボックスにチェックを入れます。ワークフローをモニターボタンで実行し、設定条件を確認してから停止します。
- (3) Acquire MED64R2 Data パネルからチャンネルセレクトを表示させ、解析するチャンネルを選択します（Channels 右のボタンをクリックし、チャンネルセレクトを表示させます）。
- (4) [Detect beating] タブを選択します。p. 80「4.3.3. FPD（電場電位波形の時間間隔）延長を解析する」の手順（2）～（5）に従って、閾値を設定します。

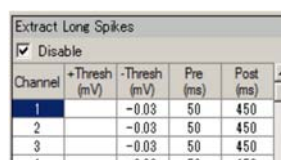


図 4.3.28: Disable にチェックを入れる。



図 4.3.29: チャンネルセクタ。

- (5) Compute Beats per Minute では、拍動数の変化を時系列的に算出します。拍動数は個別のチャンネルごとに算出され、Display Beats per Minute パネル上のタイムチャートにプロットされます。初期設定では 10 秒が選択されており、10 秒ごとに 1 分間あたりの拍動数（の換算値）が算出されます。Arbitrary (s) ではなく Trace にチェックを入れると、全トレース（データ）から検出されたスパイク数に基づいて 1 分間あたりの拍動数が算出されます。
- (6) Compute Interspike Intervals では連続するロングスパイク間の時間間隔を時系列的に算出します。パネル上の Averages Channel ISI は、解析する全てのチャンネルの直近の拍動間隔から算出した平均値を示します。

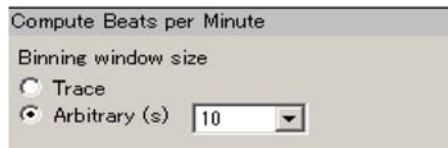


図 4.3.30: Compute Beats per Minute パネル。

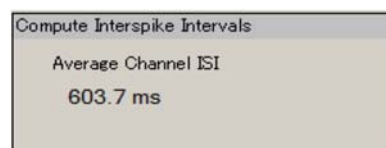


図 4.3.31: Compute Interspike Interval パネル。

(7) モニターボタンでデータを再生して解析条件を確認した後、解析用ワークフローとして別名で保存します (図 4.3.32)。



図 4.3.32

(8) タイムチャートを CSV 形式の ASCII ファイルとして保存する場合は、Save Beats per Minute、Save Interspike Intervals を有効にして、ワークフローを記録ボタンで実行します (詳細は p. 93「4.3.7. データを出力する」をご参照ください)。

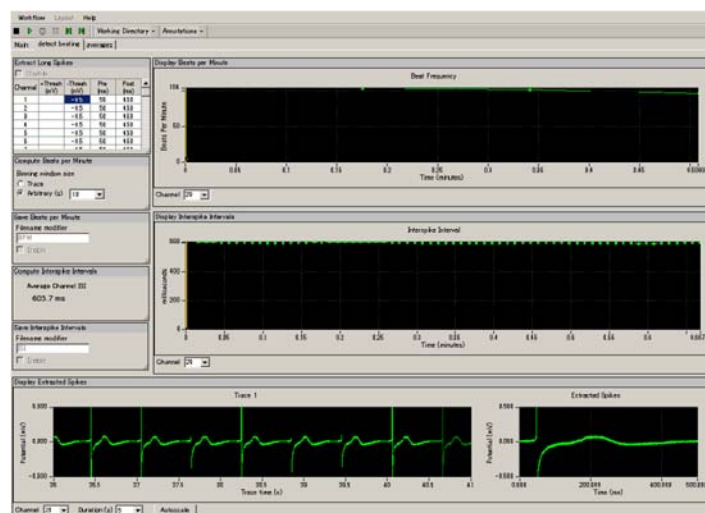


図 4.3.33: Beat frequency analysis による拍動数の解析。拍動数 (1 分間あたりのロングスパイクの出現頻度の予測値) が 10 秒ごとに算出され、Display Beats per Minute パネル (最上段のチャート) にプロットされる。算出されたロングスパイク間の時間間隔は Display Interspike Intervals パネル (中央のチャート) にプロットされる。最下段のチャートはロングスパイクの検出経過 (左) 及び、検出されたロングスパイク波形 (右) を表示する。

4.3.5. ドーズレスポンスカーブを作成する

この節では、記録したデータから FPD (電場電位波形の時間間隔) のドーズレスポンスカーブを作成する方法を紹介します。Compute Measure Averages を利用すると、測度や拍動数、拍動間隔についてフェーズごとの平均値と標準偏差を算出し、ドーズレスポンスカーブを簡単に作成することができます。

4.3.5.1. 予めフェースバーを挿入した解析用ワークフローでドーズレスポンスカーブを作成する -「4.2. 薬効評価試験への応用」からの続き-

- (1) [Workflow] - [Open] から、フェースバーを挿入しながら記録をした際に自動生成された解析用ワークフローを選択し、開きます。
- (2) ワークフローに Compute Measure Averages を追加します。
 - 1) [Layout] から [Add Tab] を選択し、新しいタブを作ります (図 4.3.34 参照)。
 - 2) 新しいタブ上で [Workflow] から [Edit] を選択して、Mobius Editor を開きます。
 - 3) Workflow 欄の Extract Spike Measures を選択し、Available task panels 欄から Compute Measure Averages をダブルクリックします。新しいタブには Compute Measure Averages のタスクパネルが現れます (図 4.3.35 参照)。
 - 4) Workflow 欄の Compute Measure Averages を選択し、Available task panels 欄から Save Measure Averages をダブルクリックします。新しいタブには Save Measure Averages のタスクパネルが現れます。

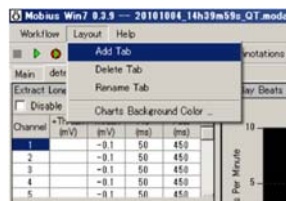


図 4.3.34: 新しいタブを作る。

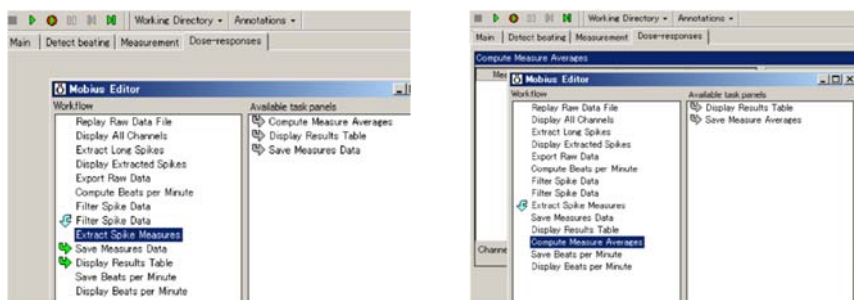


図 4.3.35: 新しいタブ上で Mobius Editor を開き、Extract Spike Measures をクリックする (左)。Available task panels 欄から Compute Measure Averages をダブルクリックすると、このモジュールのタスクパネルが現れる (右)。

- (3) p. 80「4.3.3. FPD (電場電位波形の時間間隔) 延長を解析する」の手順に従って、解析条件を設定します。
- (4) ワークフローをモニターボタンで実行し、最後までデータを再生します。Extract Spike Measures パネルにはデータの記録時に挿入したフェーズバーが表示され、Compute Measure Averages パネルには平均値と標準偏差が表示されます (図 4.3.36 参照)。
- (5) フェーズバーはドラッグ&ドロップにより移動できます。移動させてから、再びモニターボタンか記録ボタンで再生すると、フェーズバーの新しい位置に基づいて平均値と標準偏差が算出されます。

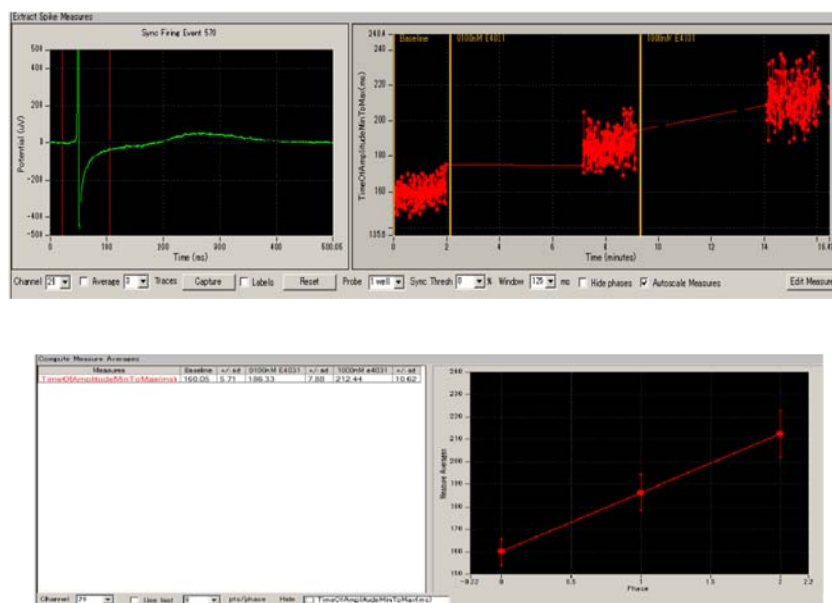


図 4.3.36: Extract Spike Measures パネルに表示されるフェーズバー (上)。各フェーズごとの平均値と標準偏差は Compute Measure Averages パネルに表示される (下)。

- (6) 平均値のチャートを出力するには、まず解析用ワークフローを別名で保存します ([Workflow] から [Save as] を選択)。Save Measure Averages を有効にして、ワークフローを記録ボタンで実行します (詳細は p. 93「4.3.7. データを出力する」をご参照ください)。

4.3.5.2. ワークフローテンプレート QT_analysis を利用してドーズレスポンスカーブを作成する

QT_analysis は Compute Measure Averages 及び Save Measure Averages を含んでおり、Mobius Editor によりワークフローを編集する必要はありません。但し、フェーズバーを挿入する必要があります。

- (1) QT_analysis を開き、データファイルを読み込みます。
- (2) p. 80「4.3.3. FPD (電場電位波形の時間間隔) 延長を解析する」の手順に従って、解析条件を設定します。
- (3) [Measurement] タブを選択し、ワークフローをモニターボタンで再生します。第 1 フェーズ (Baseline) は時間 0 から始まります。

- (4) 第 1 フェーズ (Baseline) を終了させる際には一時停止します。[Annotators] から [Add New phase] をクリックし、第 2 フェーズの名前をつけます (図 4.3. 37)。Extracted Spike Measures のタイムチャートには挿入されたフェーズバーが表示されます (図 4.3. 38)。

注: 停止ボタンで終了しないでください。停止させた場合、実験を終了させることになり、新しいフェーズを追加できません。

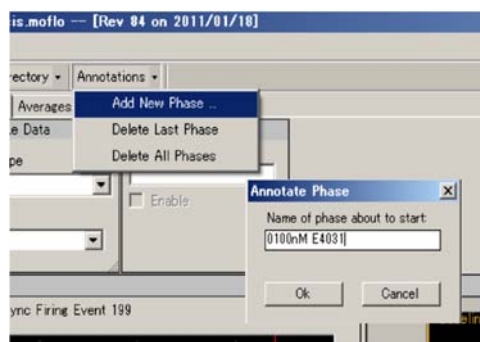


図 4.3.37

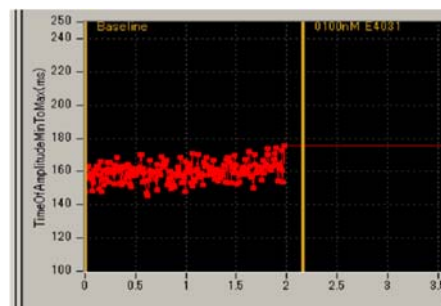


図 4.3.38

- (5) ワークフローをモニターボタンで再開します。第 2 フェーズを終了させる際には一時停止し、再度 [Annotators] から [Add New Phase] をクリックします。なお、挿入したフェーズバーの位置は後で変更することができます。
- (6) データを最後まで再生します。[Average] タブには各フェーズの平均値と標準偏差が算出され、グラフにプロットされます。
- (7) 平均値のチャートを出力するには、まず解析用ワークフローを別名で保存します ([Workflow] から [Save as] を選択)。Save Measure Averages を有効にして、ワークフローを記録ボタンで実行します (詳細は p. 93「4.3.7. データを出力する」をご参照ください)。

Compute Measure Averages の設定

- a. Channel: 表示するチャンネル。再生中 (取り込み中) は変更できません。
- b. Use last: チェックを入れると、指定したトレースから平均値と標準偏差が算出されます。例えば 10 と設定した場合、各フェーズの直近 10 トレースから平均値と標準偏差が算出されます。

4.3.6. 二次元興奮伝播図を作成する

この節では [Export_for_propagation_analysis_spontaneous](#) と Excel を利用して、二次元興奮伝播図 (ピーク点時間の等高線図) を作成する方法を紹介します。振幅のピーク点時間を CSV 形式の ASCII ファイルとして出力し、Excel のグラフ作成機能により等高線図を作成します。なお、等高線図 (伝播図) 作成用のテンプレートとして使用する Excel ブック (Propagation_analysis_spontaneous.xls) は、弊社サポートページ (<http://www.med64.com/Support>) からダウンロードしてください。

- (1) [Export_for_propagation_analysis_spontaneous](#) を開きます。
- (2) データファイルを読み込み、モニターボタンで再生します (p. 93「4.3. 1: データを再生する」をご参照ください)。
- (3) 電場電位波形のピーク点が不明瞭な場合は、フィルターメニューを変更する等してピーク点を検出しやすくするように設定してください。
- (4) チャンネルごとに適切な閾値を設定します。
- (5) 再度データを再生して閾値を確定します。
- (6) Save Spikes パネル上の Enable storage にチェックを入れ、Data type は Time stamps only を選択します (図 4.3. 39)。

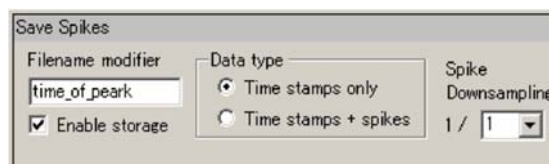


図 4.3.39: Save Spikes のタスクパネル。

- (7) 記録ボタンで再生し、ピーク点時間を CSV 形式の ASCII ファイルとして出力します。
- (8) Excel で出力されたファイルを開きます (図 4.3.40 に一例を示します)。
- (9) Excel ブック Propagation_analysis_spontaneous.xls を開きます。このブックは [data]、[analysis]、[map data] 及び [map] の 4 シートから構成されています。
- (10) 出力ファイル中の within_trace_time_ms について、channel の 1 から 64 まで (図 4.3.40 赤枠内) をコピーし、Excel ブックの [data] シート

に貼り付けます。「形式を選択して貼り付け」から「行と列を入れ替える」にチェックを入れて貼り付けてください。

(11) Propagation_analysis_spontaneous.xls のセルに記述された計算式に基づいて、[map] シートに伝播図が作成されます (図 4.3.41)。

[illegible]

図 4.3.40: ピーク点時間を出力した ASCII ファイルを Excel で開いた一例。within_trace_time_ms について 1~64 チャンネルまでのデータ (赤枠) を元にグラフ作成機能を利用して伝播図を作成する。作図用のテンプレートブックは弊社ウェブサイトからダウンロードできる。

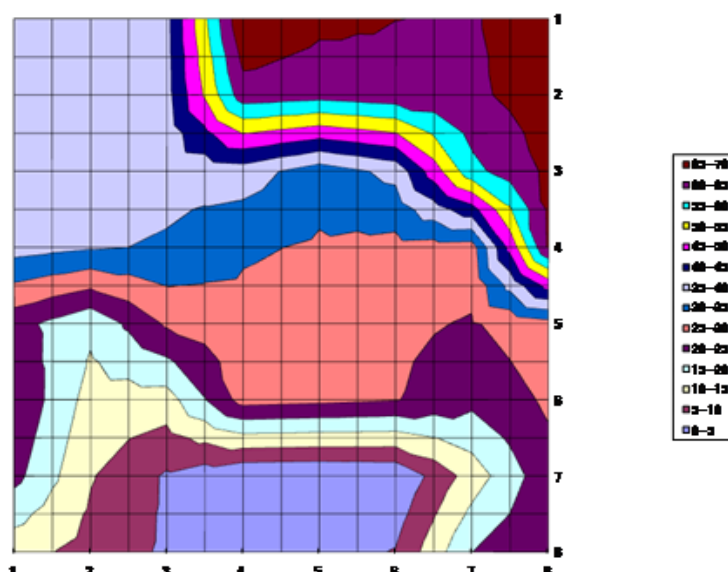


図 4.3.41: Excel で作成した二次元伝播図 (ピーク点時間を高さ軸とした等高線図)。

4.3.7. データを出力する

Mobius には記録した生データ及び算出した測度を出力するためのモジュールがいくつかあります。それらの出力モジュールを有効にしてワークフローを記録ボタンで再生すると、データが出力されます。データを出力するチャンネルは Replay Raw Data File パネルからチャンネルセレクトを表示させ、選択します。緑色にマークしたチャンネルのデータが出力されます。出力ファイル名は Filename modifier 欄で編集することができます。

4.3.7.1. 生データを出力する

Export Raw Data を使います。生データ (波形) は 1) Binary shorts (2 バイトの整数値)、2) Binary double (8 バイトの浮動小数点)、3) CSV 形式の ASCII ファイルとして出力できます。

File Format	20071201				
Session Sta	2010/10/04 14:31:18 +09				
time_ms	ch20_mV	ch21_mV	ch22_mV	ch28_mV	ch29_mV
0	-0.01953185	-0.12817774	-0.00244148	-0.01831111	0.06591998
0.05	-0.01831111	-0.13061922	-0.00732444	-0.02441481	0.0634785
0.1	-0.01586962	-0.1391644	-0.0061037	-0.02075259	0.070802942
0.15	-0.01831111	-0.14038514	-0.00488296	-0.02441481	0.06591998
0.2	-0.02075259	-0.14160588	-0.00366222	-0.02319407	0.069582202
0.25	-0.02441481	-0.14526811	-0.00732444	-0.02685629	0.059816279
0.3	-0.01342814	-0.13672292	-0.00122074	-0.02075259	0.06469924
0.35	-0.01342814	-0.13672292	-0.00488296	-0.01831111	0.06591998
0.4	-0.02197333	-0.14038514	-0.01831111	-0.02075259	0.059816279
0.45	-0.01464888	-0.13550218	-0.0122074	-0.01831111	0.068361461
0.5	-0.01464888	-0.13672292	-0.00854518	-0.02319407	0.06469924
0.55	-0.02197333	-0.15015107	-0.01709037	-0.02197333	0.061037019
0.6	-0.00976592	-0.13550218	-0.00366222	-0.01953185	0.068361461
0.65	-0.01953185	-0.14282662	-0.0122074	-0.02075259	0.068361461
0.7	-0.01342814	-0.13183996	-0.01088666	-0.02319407	0.072023682
0.75	-0.01953185	-0.14038514	-0.01586962	-0.01953185	0.070802942
0.8	-0.00976592	-0.1391644	-0.0122074	-0.02197333	0.072023682
0.85	-0.01464888	-0.13794366	-0.0122074	-0.02075259	0.070802942
0.9	-0.01831111	-0.1391644	-0.01342814	-0.02197333	0.06469924
0.95	-0.01831111	-0.14160588	-0.01586962	-0.02197333	0.0634785
1	-0.02075259	-0.14038514	-0.01586962	-0.02319407	0.069582202
1.05	-0.01464888	-0.13183996	-0.01088666	-0.01709037	0.072023682
1.1	-0.01953185	-0.1391644	-0.0122074	-0.02197333	0.068361461
1.15	-0.01831111	-0.13428144	-0.01464888	-0.02319407	0.061037019
1.2	-0.02319407	-0.14648885	-0.01831111	-0.02075259	0.061037019
1.25	-0.01831111	-0.14160588	-0.00976592	-0.01953185	0.05859538
1.3	-0.01586962	-0.14526811	-0.01088666	-0.02319407	0.056154057

図 4.3.42: ASCII ファイルとして出力した生データ (波形) を Excel で表示した一例。

20ch、21ch、22ch、28ch、29ch、30ch のみ出力した。

4.3.7.2. 測度のタイムチャートを出力する

Save Measures Data を使います。測度のタイムチャートは CSV 形式の ASCII ファイルとして出力されます。出力するチャンネルは Extract EP Measures でチャンネルセレクトにより選択します。

File Format Ver	20080210		
Recording Date	2010/10/04 14:39:59 +09		
TimeOfAmplitudeMinToMax(ms)			
Trace #	Phase	Time (s)	ch29
1	Baseline	1.531	148.3
2		2.136	161.4
3		2.74	159.65
4		3.344	158.2
5		3.946	155.4
6		4.549	158.1
7		5.152	152.35
8		5.755	153.2
9		6.356	153.15
10		6.956	158.85
11		7.557	158.7
12		8.159	158.6
13		8.762	157.45
14		9.366	158.1

図 4.3.43: Excel と互換性のある CSV 形式の ASCII ファイルとして出力した測度

(TimeOfAmplitudeMinToMax) を Excel で表示した一例。29ch のみ出力した。

4.3.7.3. 拍動数のタイムチャートを出力する

Save Beats per Minute を使います。拍動数のタイムチャートは CSV 形式の ASCII ファイルとして出力されます。

File Format Ver	20071201				
Session Start	2010/10/04 14:39:59 +09				
time_secs	phase	ch21	ch22	ch29	ch30
		NO	NO	NO	NO
10	Baseline	102	102	102	102
20		96	96	96	96
30		102	102	108	102
40		102	102	96	102
50		102	102	102	102
60		102	102	96	102
70		96	96	102	96
80		102	102	102	102
90		102	102	102	102
100		96	96	96	96
110		102	102	102	102
430.641	0100nME4031	102	102	102	102
440.641		96	96	96	96
450.641		96	96	96	96
460.641		96	96	96	96
470.641		96	96	96	96

図 4.3.44: CSV 形式の ASCII ファイルとして出力した拍動数の時系列ファイルを Excel で表示した一例。21ch、22ch、29ch、30ch のみ出力した。

4.3.7.4. 拍動間隔のタイムチャートを出力する

Save Interspike Intervals を使います。拍動間隔のタイムチャートは CSV 形式の ASCII ファイルとして出力されます。

File Format Ver	20071201				
Session Start	2010/10/04 14:39:59 +09				
time_secs	phase	ch21	ch22	ch29	ch30
		NO	NO	NO	NO
0.92355	Baseline	605.4	605.35	605.35	605.3
1.529		606.45	605.5	605.25	605.55
2.1335		604.5	604.5	604.6	604.45
2.7376		604.1	604.1	604.05	604.1
3.34125		603.65	603.7	603.8	603.75
3.944		602.75	602.75	602.5	602.75
4.5469		602.9	602.85	603.15	602.85
5.14945		602.55	602.55	602.55	602.5
5.7525		603.05	603	603.05	603.05
6.3536		601.1	601.1	601	601.05
6.95395		600.35	600.45	600.5	600.55
7.55505		601.1	601.1	600.75	601.1
8.1571		602.05	602	602.25	601.9
8.75975		602.65	602.6	602.7	602.6
9.3635		603.75	603.7	603.7	603.7
9.96775		604.25	604.35	604.25	604.4
10.57155		603.8	603.8	603.8	603.8
11.17725		605.7	605.65	605.7	605.7
11.78425		607	607	607	606.9
12.3899		606.65	606.65	606.65	606.7
12.9965		606.6	606.6	606.65	606.55
13.60245		606.95	606.95	606.8	606
14.208		606.55	606.55	606.6	606.5
14.81285		604.85	604.85	605.05	604.9
15.41745		604.6	604.55	604.4	604.5
16.02065		603.2	603.25	603.15	603.3
16.6242		603.55	603.55	603.6	603.5

図 4.3.45: CSV 形式の ASCII ファイルとして出力した拍動間隔の時系列ファイルを Excel で表示した一例。21ch、22ch、29ch、30ch のみ出力した。

4.3.7.5. 平均値のタイムチャートを出力する

Save Measure Averages を使います。平均値と標準偏差の値は CSV 形式の ASCII ファイルとして出力されます。

File Format Version:	20090613		
Recording Date:	2010/10/04 14:39:59 +09		
TimeOfAmplitudeMinToMax(ms)			
Phase	ch29	+/-sd	
Baseline	160.553	4.877	
0100nME4031	186.493	6.663	
1000nME4031	212.575	7.272	

図 4.3.46: CSV 形式の ASCII ファイルとして出力した TimeOfAmplitudeMinToMax の時系列ファイルを Excel で表示した一例。29ch のみ出力した。

4.4. ペーシングによる心筋電場電位の記録

心筋細胞をペーシングしながら電場電位を記録するには、既存のワークフローテンプレートである **Pacing_recording** をご利用ください。

4.4.1. **Pacing_recording** の概要

Pacing_recording は [Main] と [Pacing measures] の 2 つのタブに設置された以下のモジュールから構成されています。

タブウィンドウ名	含まれるモジュール
Main	Acquire MED64R2 Data w/Stim / Display All channels / Export Raw Data
Pacing measures	Extract EP Measures / Save Measures Data

取り込み条件と刺激条件は Acquire MED64R2 Data w/Stim で設定します。電場電位波形はロングスパイクとして検出され、振幅、傾き、時間及び面積等の測度が Extract EP Measures で算出されます。生データはバイナリデータもしくは CSV 形式の ASCII ファイルとして出力できます。測度のタイムチャートは CSV 形式の ASCII ファイルとして出力できます。

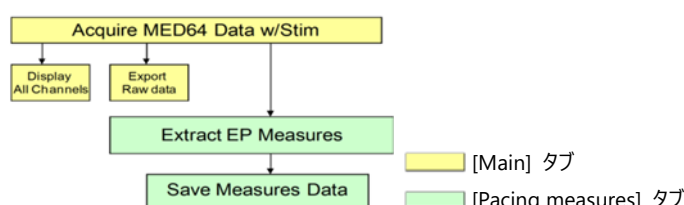


図 4.4.1: **Pacing_recording** のモジュール構成。

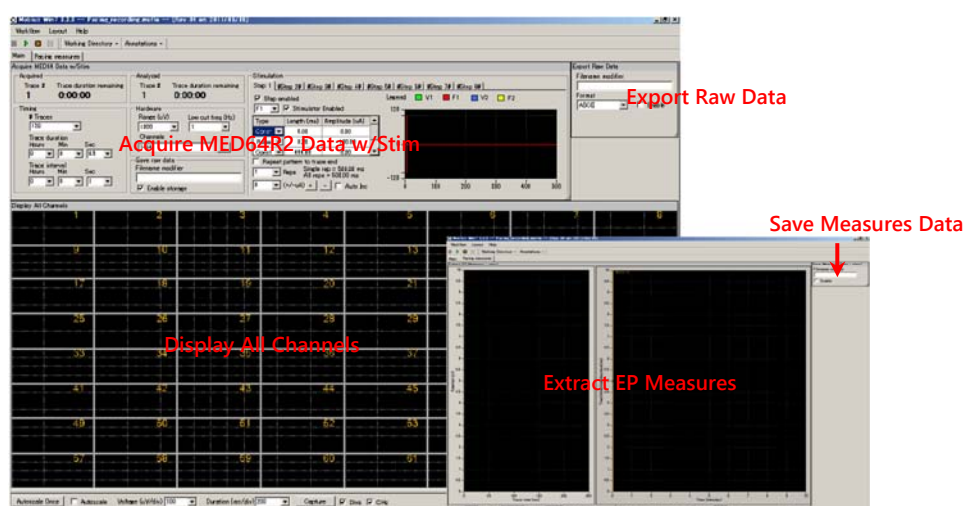


図 4.4.2: **Pacing_recording** を構成するモジュールのタスクパネル。[Main] タブ (左) と [Pacing_measures] タブ (右)。

テンプレートを開くには [Workflow] - [New] から、[From Template] を選択します。ディスプレイサイズに合わせて [64MD1_1280x1024] もしくは [64MD1_1920x1080] を選択して [QT] - [Pacing_recording] から、Pacing_recording を選択します。

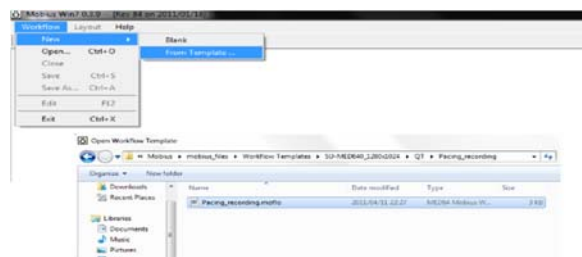


図 4.4.3

4.4.2. 取り込み条件と刺激条件の設定

このモジュールを使ってデータの取り込み条件及び刺激条件を設定します。



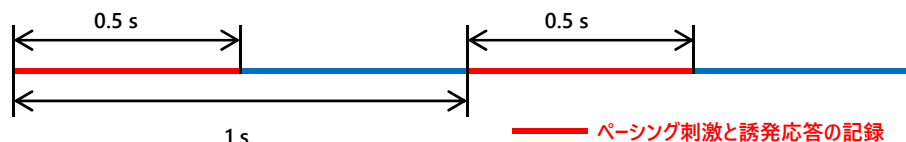
図 4.4.4: Acquire MED64 Data w/Stim のタスクパネル。

Acquire MED64R2 Data w/Stim の設定 (データ取り込み)

(1) トレース (挿引) 回数。

(2) トレースの取り込み (記録) 時間。

注: 初期設定では下図に示すように 1 秒ごとの 0.5 秒間の取り込みが行われ、それが 120 回 (トレース) 繰り返されます。つまり、この設定による取り込みは 120 秒間行われることになります。



(3) 各トレース間間隔。

(4) 最大許容入力。2.3 mV、2.9 mV、5.0 mV、12.5 mV、25 mV から選択します。心筋電場電位の記録では、通常 2.9 mV に設定します。

(5) 取り込みチャンネルの設定。右のボックスをクリックするとチャンネルセレクトが表示されます。緑色にマークされたボタン (チャンネル) の信号が取り込まれます。

(6) ハイパスフィルター (0.1、1.0、10、100 Hz) の設定。1 に設定した場合、1 Hz 以下の信号は遮断されます。心筋電場電位の記録では、通常 1 に設定します。

(7) ローパスフィルター (1000、2500、5000、7500、10000 Hz) の設定。5000 に設定した場合、5000 Hz 以上の信号は遮断されます。心筋電場電位の記録では、通常 10000 に設定します。

(8) [Enable storage] にチェックを入れると、ワークフローを記録ボタンで実行した場合に生データが自動保存されます。出力ファイル名は Filename modifier 欄で編集できます。

Acquire MED64R2 Data w/Stim の設定 (刺激)

- それぞれの Step タブは独立しており、Step ごとに異なる刺激条件を設定できます。[Step enabled] にチェックを入れると、Step の数字順に (例えば全ての Step にチェックを入れると、Step 1、Step 2、...Step 8、Step 1...といったように) 設定したトレース間隔で刺激を印加できます。
- (9) [Step enabled] にチェックを入れた Step は、その設定を変更できます。初期設定では Step 1 及び 2 が変更でき、Step 3～8 は変更できません (Step 名の両脇に#)。従って、初期設定では Step 1 と 2 で設定した刺激を 20 秒間隔で交互に印加することになります。
- (10) 使用するスティミュレーターを選択します。Stim の左のボックスにチェックを入れることで、プルダウンメニューで表示される F1 もしくは F2、またはその両方のスティミュレーターを有効にします。初期設定では Step 1 及び Step 2 ともに F1 スティミュレーターが有効であり、20 秒間隔で交互の Step から刺激が印加されます。同時に刺激を印加できるのは、全 64 チャンネルのうち、2 チャンネルになります。
- (11) 刺激を印加するチャンネルを選択します。プルダウンメニューもしくは右のボックスをクリックして表示されるチャンネルセレクトにより、チャンネルを選択します。刺激するチャンネルはワークフローの実行中でも変更できますが、変更が反映されるのは 2 トレース後の取り込みからになります。
- (12) 刺激パターンは [Const] もしくは [Pulse] を組み合わせ、その時間間隔と振幅を入力することで設定します。図 2.1.5 に具体例を示します。
- MED64.A64HE1 (ヘッドアンプ) の正面パネル STIMULUS CURRENT レバーを x2 に設定しますと、刺激強度の出力は 2 倍になります。
 - Mobius で設定可能な最大刺激強度は 100 μA です。STIMULUS CURRENT レバーを x2 に設定しますと、刺激強度は 200 μA になります。
 - [Const] と [Pulse] の組み合わせにより、1 つの Step 上で任意に構成できる双極性パルス刺激の最大数は 21 です。

注 1: 小数点以下の刺激電流値は設定できません。最少刺激電流値は 1 μA です。

注 2: MED64 システムによりデータを取り込む場合には、刺激パターンの [Ramp] は使用せず、二相性のパルス刺激のみをご使用ください。

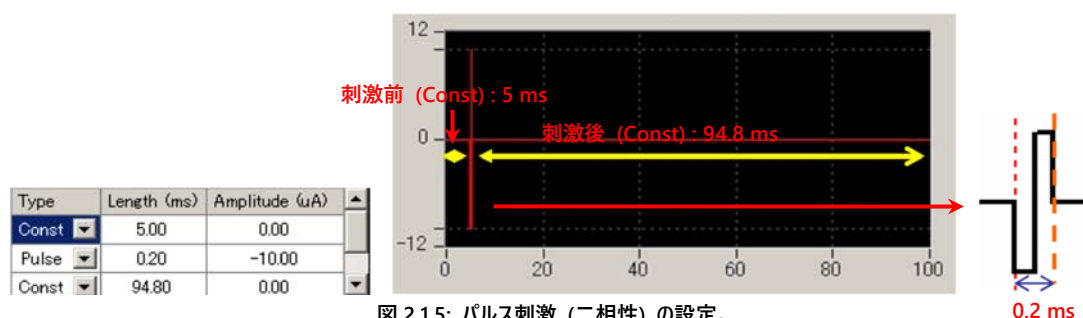


図 2.1.5: パルス刺激 (二相性) の設定。

- (13) [Repeat pattern to trace end] にチェックを入れると、トレース時間の終端まで設定した刺激が繰り返されます。LTD 誘発刺激の設定等にご使用ください。
- (14) 刺激パターンを何回繰り返すか設定します。LTP 誘発刺激等、複数のパルス刺激を設定するときに用います。
- (15) [+] をクリックする度に左のボックス内で指定した数値ずつ、[Pulse] の振幅が増加します。例えば 2 に設定した場合、1 度のクリックで振幅は 10 μA から 12 μA に増加します。複数のパルス刺激全ての振幅を 1 度のクリックで変更できるため、 θ バースト刺激等の振幅を増加するとき等に使用します。また同様に [-] をクリックすると振幅を減少できます。
- (16) (13) をご参照ください。
- (17) [Auto Inc] にチェックを入れると、トレースの度に自動的に振幅が左のボックス (16) で設定した数値分だけ増加します。I/O カーブを求める時に使います。詳細は p. 19「2.2.2: 両パスウェイの I/O カーブ (刺激反応曲線) を求め、適切な刺激強度を決める」をご参照ください。

4.4.3. ワークフローを実行する

ワークフローは下図に示す操作ボタンで開始、停止します。

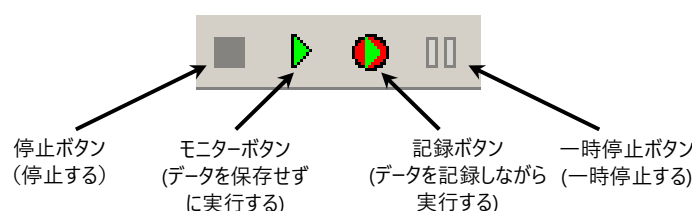


図 4.4.6: 操作ボタン。

4.4.4. 実験を始める前に

ワークフローを開いた後、モニターボタンもしくは記録ボタンで初めて実行する際には、数秒間のキャリブレーションが行われます。同時に開かれた複数のワークフローを瞬時に切り替えて記録を続ける際には、予めワークフローをモニターボタンで実行し、キャリブレーションを行うようにしてください。コンピューターを起動してから初めて Extract Long Spikes を含むワークフローを実行する際には、スパイク検出が行われないように Extract Long Spikes パネルの [Disable] にチェックを入れて、ワークフローを実行してください（大きく揺れるベースラインをスパイク波形として認識し過剰検出する可能性があります）。

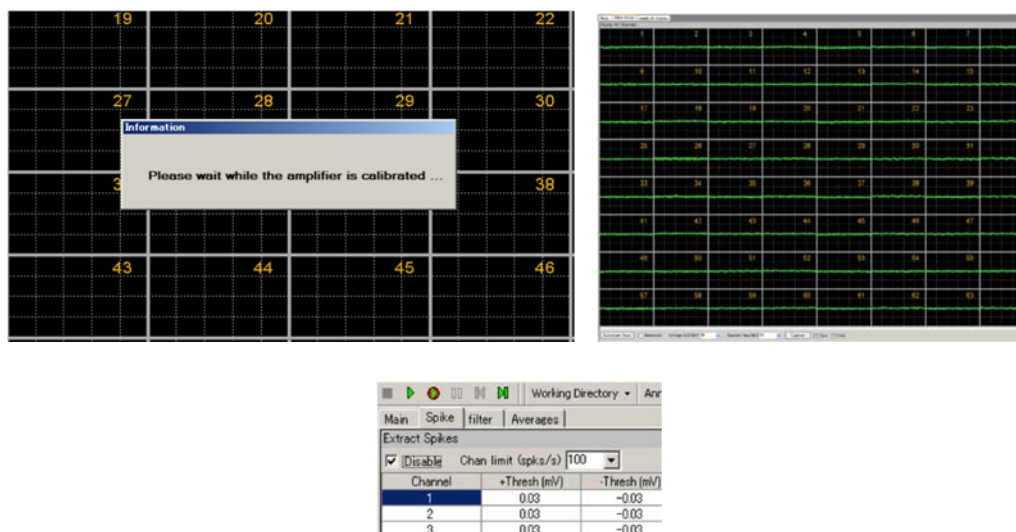


図 4.4.7: キャリブレーション (左) 後、ベースライン (右) が表示された画面。ロングスパイク検出を行わないよう Disable にチェックを入れる (下)。

4.4.5. ペーシングをしながら心筋電場電位を記録する

- (1) Acquire MED64R2 Data w/Stim で取り込み条件と刺激条件を設定します (p. 97「4.4.2. 取り込み条件と刺激条件の設定」をご参照ください)。
- (2) ワークフローをモニターボタンで再生します。
- (3) [Pacing measures] タブを選択し、解析条件を設定します (p. 102「4.5. 2: データを解析する」をご参照ください)。
- (4) [Workflow] から [Save as] を選択し、ユーザーに固有のワークフローとして別名で保存します。
- (5) Acquire MED64R2 Data w/Stim パネル上の Save raw data にチェックが入っていることを確認します。
- (6) ワークフローを記録ボタンで実行します。

注 1: ワークフローを保存せずに記録ボタンで実行すると、ワークフローを保存するようウィンドウが表示されます。

注 2: 記録を停止するとデータファイル (.modat) 及び、各タスクパネルの設定が保存された記録用ワークフロー (+acquisition.moflo) が自動生成され、記録用ワークフローと同一のフォルダーに保存されます。また、ワークフローに測度を算出するモジュールが含まれる場合、Acquire MED64R2 Data もしくは Acquire MED64R2 Data w/Stim が Replay Raw Data File に置き換えられた解析用ワークフロー (+analysis.moflo) も自動生成され、記録用ワークフローと同一のフォルダーに保存されます。

4.5. ペーシングされた心筋電場電位データの再生と解析

記録したデータファイル (.modat) は Replay Raw Data Files で再生し、Extract EP Measures で解析できます。データを再生、解析するには、解析用ワークフローを作らなければなりません。ペーシングされた心筋電場電位のデータを再生、解析する場合は、Pacing_analysis を使うのが簡単です。また、測度を算出するモジュールを含む記録用ワークフローでデータを記録すると、同一フォルダー内に Acquire MED64R2 Data もしくは Acquire MED64R2 Data w/Stim が Replay Raw Data File に置き換えられた解析用ワークフロー (+analysis.moflo) が自動生成されますが、それを利用することもできます。

4.5.1. データを再生する

- (1) 解析用ワークフローを開きます。[Workflow] - [New] から、[From Template] を選択します。ディスプレイサイズに合わせて [64MD1_1280x1024] もしくは [64MD1_1920x1080] を選択し、[QT] - [Pacing_analysis] から、Pacing_analysis を選択します。ユーザーに固有の解析用テンプレートを開くには、[Workflow] - [Open] からワークフロー (.moflo) を選択します。

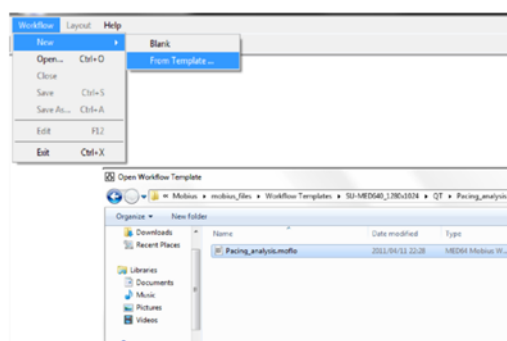


図 4.5.1: テンプレートを開く。

(2) 記録したデータファイル (.modat) を読み込むには、Filename 欄右のボタンをクリックしてファイルを選択します。図 4.5.2 の右図のようにファイル名が表示されると、モニターボタンもしくは記録ボタンでデータを再生できます。

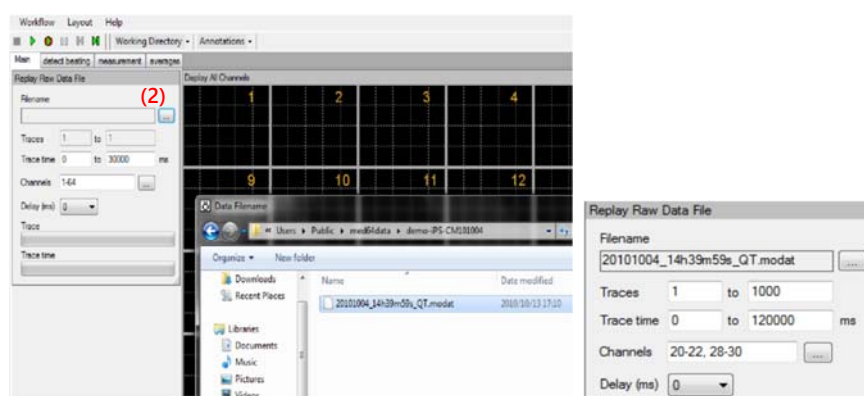


図 4.5.2: データファイル (.modat) を開く。

(3) モニターボタンで実行するとデータが再生されます。出力モジュールが有効の場合、記録ボタンで実行するとデータの再生及びファイル出力が行われます。

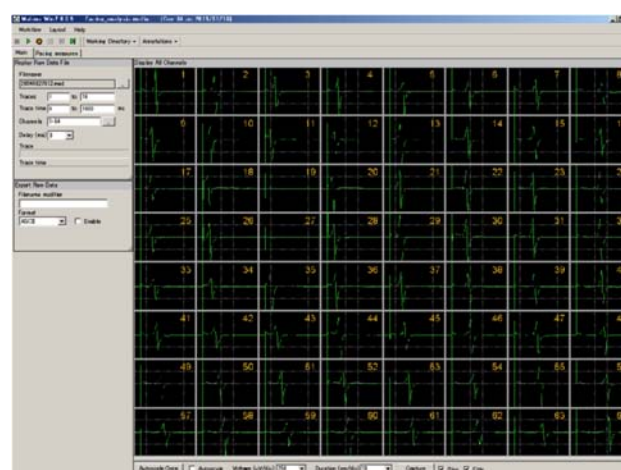


図 4.5.3: ペーシングされた心筋電場電位を再生する。

Replay Raw Data Files の設定

- Traces: 再生するトレースを選択します。
- Trace time: 再生するトレースの時間範囲を設定します。
- Channels: 再生するチャンネルを選択します。Channels 欄右のボタンをクリックすると、チャンネルセクタが現れます。緑色にマークされたチャンネルのデータが再生されます。
- Delay: 0 以上の値を設定すると、再生するトレース間に設定した遅延時間が挿入されます。再生処理を遅延させ、解析処理を追従させるのに利用できます。

4.5.2. データを解析する

ペーシングされた心筋電場電位のデータの再生、解析には、Pacing_analysis をご利用ください。

タブウィンドウ名	含まれるモジュール
Main	Replay Raw Data File / Display All Channels / Export Raw Data
Pacing measures	Extract EP Measures / Save Measures Data / Compute Measure Averages / Save Measure Averages

4.5.2.1. Pacing_analysis の概要

Pacing_analysis は [Main] と [Pacing measures] の 2 つのタブに設置された以下のモジュールから構成されます。

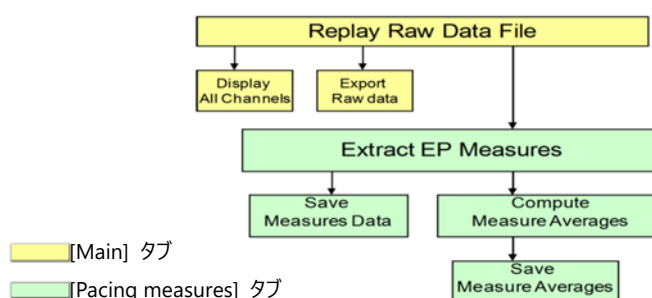


図 4.5.4: Pacing_analysis のモジュール構成。

再生されたデータは Extract EP Measures に出力され、振幅や傾き、面積、時間等の測度が算出され、タイムチャートにプロットされます。

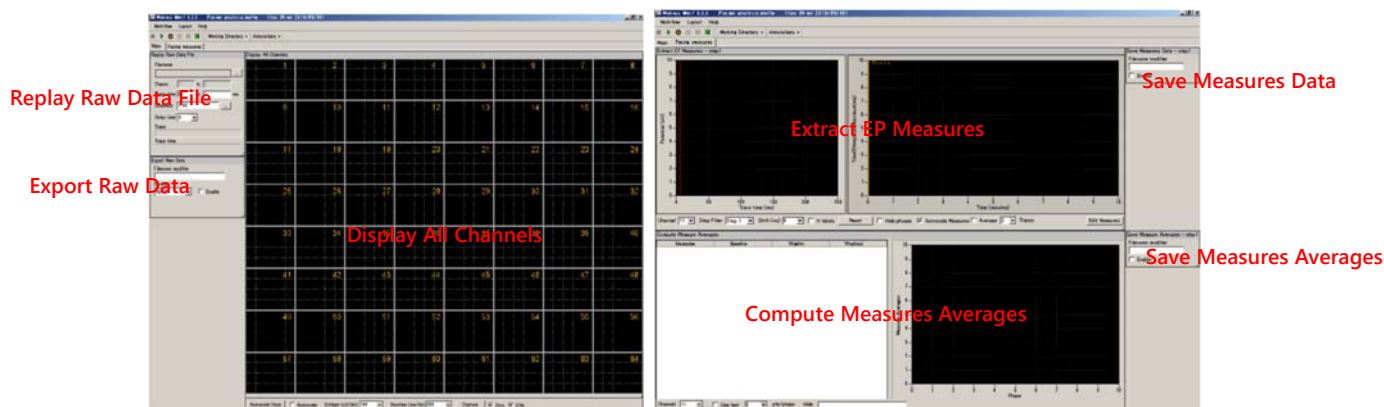
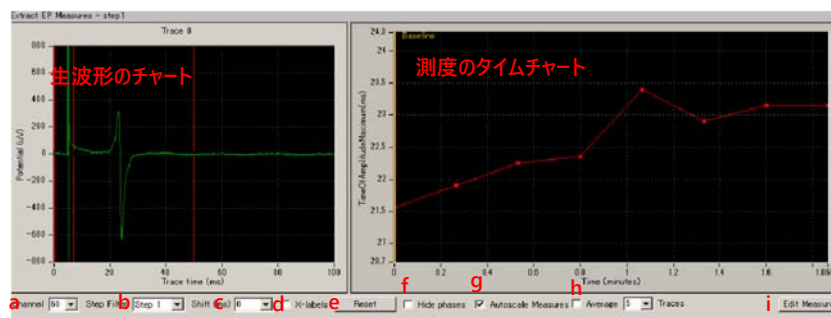


図 4.5.5: Pacing_analysis を構成するモジュールのタスクパネル。[Main] タブ (左) と [Pacing measures] タブ (右)。

フェーズバーが挿入されている場合、フェーズごとの測度の平均値と標準偏差が算出され、グラフにプロットされます。生データはバイナリデータもしくは CSV 形式の ASCII ファイルとして出力できます。測度及びその平均値のチャートは CSV 形式の ASCII ファイルとして出力できます。

4.5.2.2. ペーシングされた心筋電場電位の波形解析

Extract EP Measures ではペーシングされた心筋電場電位の波形を解析する条件を設定できます。時間、振幅、傾き、面積等の測度を算出し、タイムチャートにプロットすることができます。ペーシングされた心筋電場電位の生波形は左に、設定した測度のタイムチャートは右に表示されます。



表示設定

図 4.5.6: Extract EP Measures パネル。

生波形のチャート

- パネルの左には検出されたロングスパイクの生波形が表示されます。測度のカーソルバー位置はドラッグ&ドロップで移動できます。
- 表示範囲を変更するには、1) Shift を押しながらクリックもしくは右クリックするか、2) チャートの最大値と最小値をクリックし、直接入力して表示範囲を変更します (図 4.5.7)。なお、チャート上のどこかでダブルクリックすると、表示範囲が自動調節されます。
- カーソルバー位置は右クリックから Copy Cursors により、全てもしくは個別のチャンネル及び測度に適用できます (図 4.5. 8)。

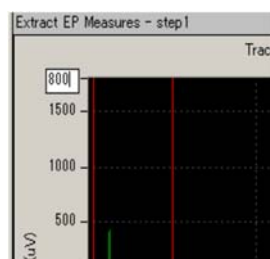


図 4.5.7

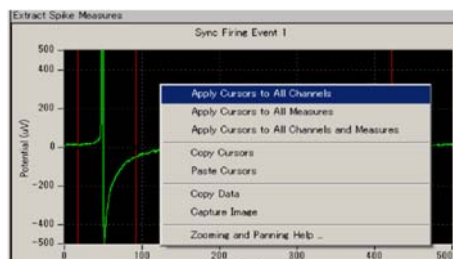


図 4.5.8

表示設定

- Channel: 表示するチャンネルを選択します。再生中も変更できます。ボックスを右クリックして [Select] を選択すると、チャンネルセレクトウィンドウが現れ、再生するチャンネルを選択できます (図 4.5.9)。MED チャンネル分配器をご使用の場合、プローブごとのチャンネル選択にご活用ください。



図 4.5.9

- Step Filter: 誘発電位を解析する Step を選択します。初期設定では Step 1 に設定されています。
注: Conductor (販売終了) のデータを解析するには、ALL を選択しなければなりません。
- Shift (ms): ペアパルス刺激の解析に使います。0 より大きな値を設定すると 2 発目のパルス刺激に対する 1) カーソルバー、2) タイムチャートが現れます。
- X.labels: チェックを入れるとカーソルバー位置の時間がチャートに表示されます。
- Reset: クリックすると移動したカーソルバーを初期位置に戻します。
- Hide phases: チェックを入れるとフェーズバー (測度のタイムチャートに文字とともに表示される黄色のバー) を非表示にできます (詳細は p. 87 「4.3.5. ドーズレスポンスカーブを作成する」をご参照ください)。
- Autoscale Measures: チェックを入れるとタイムチャートの表示範囲が自動調節されます。チェックを外すと X 軸、Y 軸の最大値もしくは最小値を直接入力することで表示範囲を変更できます。
- Averages: チェックを入れると測度の移動平均値が表示されます。平均する測度の数 (トレース回数) を右のボックスに直接入力するか、もしくはプルダウンメニューから選択します (例えば 3 と設定した場合はトレース 1.3、2.4、3.5 と 3 トレースずつ測度が平均化され、順番

に表示されます。

i. Edit Measures: 算出する測度を編集できます。

- 1) 初期設定の測度を変えるには [Measure Type] から選択します。
- 2) 選択した測度に名前をつけるには Custom Name 欄をダブルクリックして直接入力します。
- 3) 測度を追加するには [Add Measure] をクリックします。
- 4) 不要な測度は名前の上で右クリックして削除します。なお、測度の定義や詳細は [Measures Help] から確認できます。
- 5) [Hide] をクリックすると Edit Measures 欄が閉じます。

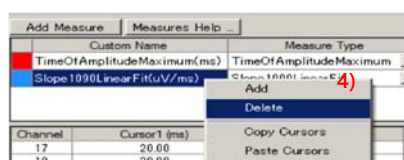
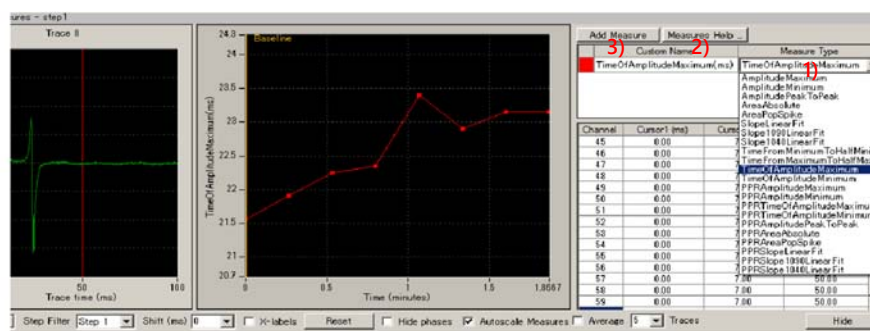


図 4.5.10

測度のタイムチャート: 選択した測度のタイムチャートが表示されます。X 軸、Y 軸の最大値もしくは最小値を直接ダブルクリックし、新しい数値を入力することで表示範囲を変更できます。

4.5.2.3. 測度のタイムチャートを出力する

[Save Measure Data] にチェックを入れてワークフローを記録ボタンで実行すると、設定した解析条件による測度のタイムチャートを、CSV 形式の ASCII ファイルとして出力できます。出力するチャンネルは Channel ボックスを右クリックして現れるチャンネルセクタで選ぶことができます。緑色にマークしたチャンネルのチャートを出力できます (詳細は p. 93「4.3.7. データを出力する」をご参照ください)。

File Format Ver	20080210						
Recording Date	2004/3/27 14:29:00 +09						
TimeOfAmplitudeMaximum(ms)							
Trace #	Phase	Time (s)	ch1	ch2	ch3	ch4	ch5
1	Baseline	0	16.95	14.05	12.7	13.1	16.05
2		16	17.1	14.25	12.9	13.3	16.15
3		32	17.15	14.3	12.9	13.25	16.2
4		48	17.3	14.4	13	13.4	16.25
5		64	17.25	14.45	13.05	13.35	16.2
6		80	17.15	14.35	13.05	13.4	16.2
7		96	17	14.2	12.95	13.2	16.1
8		112	16.85	14.15	12.75	13.2	15.9

図 4.5.11: ASCII ファイルとして出力した TimeOfAmplitudeMaximum を Excel で表示した一例。

4.5.2.4. 二次元興奮伝播図の作成

この項では [Pacing_analysis](#) と Excel を利用して、二次元興奮伝播図 (ピーク点時間の等高線図) を作成する方法を紹介します。振幅のピーク点時間を CSV 形式の ASCII ファイルとして出力し、Excel のグラフ作成機能により等高線図を作成します。なお、等高線図 (伝播図) 作成用のテンプレートとして使用する Excel ブック (Propagation_analysis_evoked_potential.xls) は、弊社サポートページ (<http://www.med64.com/Support>) からダウンロードしてください。

- (1) Pacing_analysis を開きます。データファイルを読み込んでモニターボタンで再生し、解析する波形を表示させて停止します。
- (2) 初期設定では TimeOfAmplitudeMaximum が設定されています。この測度は第 1 カーソル位置の時間と、第 2 及び第 3 カーソル位置の最大振幅時間との時間間隔を算出します。
注: 電場電位波形の正のピーク点が不明瞭で、負のピーク点を利用する場合は、TimeOfAmplitudeMinimum に変更します。
- (3) 第 1 カーソル位置を 0 に合わせて、第 2 及び第 3 カーソルで電場電位波形のピーク点をはさむように設定します。カーソル位置は右クリックから Apply to All Channels により、全てのチャンネルに適用します。

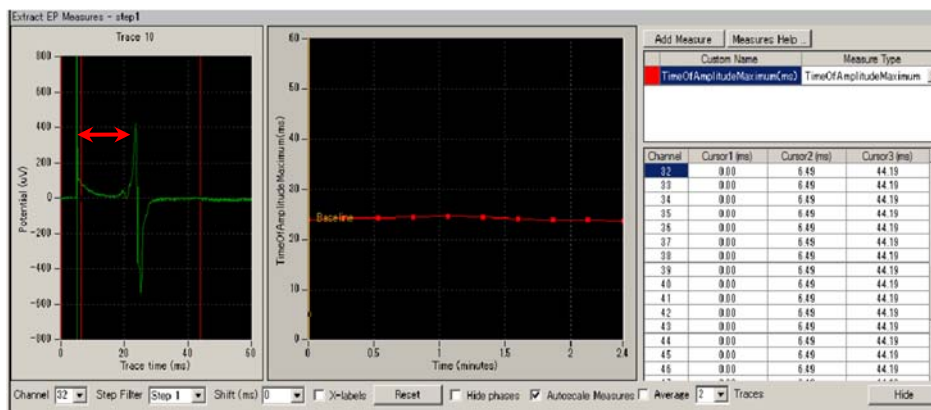


図 4.5.12

- (4) Save Measures Data の Enable にチェックを入れます (図 4.5.13 参照)。

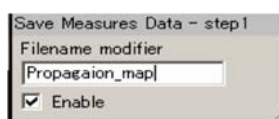


図 4.5.13

- (5) [Workflow] から [Save as] を選択し、ユーザーに固有のワークフローとして別名で保存します。
- (6) ワークフローを記録ボタンで実行して、測度のタイムチャートを CSV 形式の ASCII ファイルとして出力します。
- (7) 出力ファイルを Excel で開きます (図 4.5.14 上部は ASCII ファイルとして出力した TimeOfAmplitudeMaximum を Excel で表示した一例)。
- (8) Excel ブック Propagation_analysis_evoked_potential.xls を開きます。このブックは [data]、[analysis]、[map data] 及び [map] の 4 シートから構成されています。
- (9) 出力ファイル中の TimeOfAmplitudeMaximum について、channel の 1 から 64 まで (図 4.5.14 赤枠内) を コピーし、Excel ブックの [data] シートに貼り付けます (図 4.5.14 下部の赤枠は Propagation_analysis_evoked_potential.xls 内の貼り付け先のセル)。

File Format 20080210																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																						
----------------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

図 4.5.14: Pacing_analysis により ASCII ファイルとして出力した TimeOfAmplitudeMaximum (上)。1～64 チャンネルまでのデータをコピーし、Propagation_analysis_evoked_potential.xls の [data] シートに貼り付けて等高線図を作成する。

- (10) 刺激チャンネルには記録時に設定した刺激前時間を入力する (図 4.5.15 参照)。

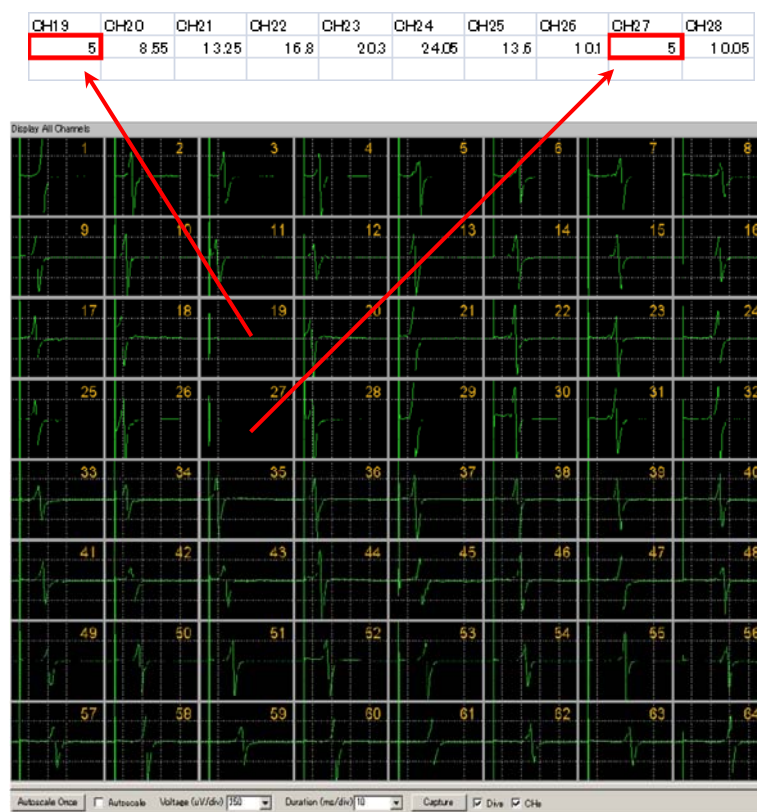


図 4.5.15: 刺激出力チャンネル (19ch、27ch) のセルは記録時に設定した刺激前時間 (5 ms) を入力する (上)。

(11) Propagation_analysis_evoked_potential.xls のセルに記述された計算式に基づいて、[map] シートに伝播図が作成されます (図 4.5.16)。

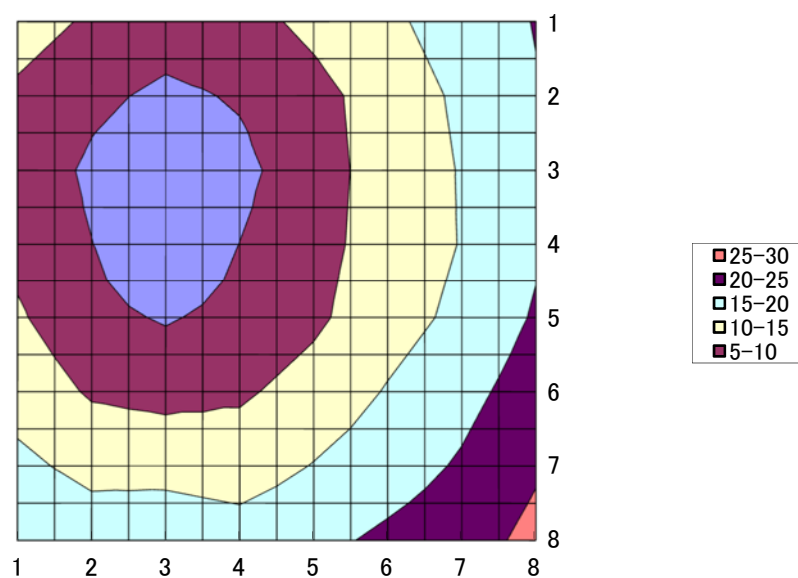


図 4.5.16: 二次元興奮伝播図。

本書は予告なく変更される場合があります。本書の一部または全てを著作権者であるアルファメッドサイエンティフィック株式会社の許可なしに複製、転載することを禁止します。本書の作成にあたっては細心の注意を払っておりますが、本書の記述にいかなる誤りや欠落があろうとも、またそれらの誤記や本書内で紹介するプログラムやソースコードによりいかなる損害が生じようとも、執筆者はいかなる責任も負わないものとします。いかなる場合でも、本書により直接的または間接的に生じた損害に対して、発行者および執筆者は責任を負いません。

© 2019 アルファメッドサイエンティフィック株式会社 ★不許複製・禁無断転載

Version: 1.02; June 20, 2019

■ 企画・製造

アルファメッドサイエンティフィック株式会社

〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ 7 丁目 7-15 彩都バイオインキュベータ 209 号

TEL: 072-648-7973 FAX: 072-648-7974

E-mail: info@amedsci.com Web: <https://alphamedsci.com>

■ 販売

株式会社 SCREEN ホールディングス ライフサイエンス事業室 細胞関連機材営業課

〒612-8486 京都市伏見区羽東師古川町 322

TEL : 075-931-7824 FAX : 075-931-7826