

MED64-Entry 取扱説明書





目 次 1. はじめに1 2. MED64-Entry の構成1 2.1. 各部の名称とはたらき1 2.1.1. MED64-Entry アンプ1 2.1.2. 計測用 PC システム 2 3. MED64-Entry のセットアップ 3 3.4. MED64-Entry アンプへの接続5 3.4.2. MED コネクターとデータ収集デバイスとの接続 5 4.4. SIGNAL WAVEFORM パネル 13 4.5. BASELINE STABILITY パネル 14 5. 異常ノイズ 17 5.1. ノイズのチェックポイント 17 5.2. 設置に関連したノイズ 17 5.3. 灌流に関連したノイズ 18 6. 付録 20 6.1. 機器仕様 20 6.1.1. MED64-Entry メインアンプ 20 6.1.3. MED コネクター及び MED 温度制御付コネクター 21 6.1.6 計測用 PC システム 21 6.2. 技術解説 24 6.2.3. 刺激アーチファクトと二相性刺激 24





1. はじめに

- ◆ MED64 システムは 1997 年に世界で初めて商業製品化された微小平面電極 (Micro electrode array; MEA) システムです。MEA システムは 欧米を中心に普及し、現在は脳神経系及び循環器系分野の基礎研究で広く活用されています。また、その簡便性と効率性が評価されて、近年 では創薬スクリーニングへの応用が急速に広まりつつあります。
- ◆ ガラス基板上に 64 個の平面微小電極がパタ−ニングされています (MED プロ−ブ)。この電極上に組織切片を載せるだけ、あるいは細胞を直接培養するだけで、細胞外電位が測定できます。本電極からは電流刺激も可能で、刺激電極はソフトウェアで任意に選択できます。自発活動・誘発応答の測定ともに、ガラス管電極のような操作が一切不要です。特別な訓練を必要とせず、電気生理未経験者でも簡単・確実に測定が行えます。
- ◆ 電極の材質には白金黒またはカーボンナノチューブが用いられ、そのインピーダンスはわずか 7-10 kΩで市場最小を誇ります。この低インピーダンス電 極によって、本システムは外来ノイズの影響をほとんど受けません。シールドボックス等、電気生理実験用の特別な環境・設備を必要とせず、実験 机の上に設置できるため、ノイズ除去に煩わされず、毎日安定して測定が行えます。
- ◆ MED64-Entry は MED プロ−ブの 64 個の平面微小電極のうち、16 個の平面微小電極から細胞外電位を検出、増幅します。制御ソフトウェア はデータ取得に特化した設計となっており、実験後は MED64 Offline Toolkit を利用することで取得データの様々な解析が可能になります。

2. MED64-Entry の構成



MED64-Entry アンプは 68 ピン SCSI ケーブル端子を備えており、MED コネクター (MED-C03) または MED 温度制御付コネクター (MED-CP04H) を接続できます。 内部にはチャンネルセレクター回路を搭載しており、 下図に示す 4 種類のいずれかの配列パターンに従い、 MED プローブの 64 電極より 16 電極からの信号を取得します (出荷時に指定)。



アルファメッドサイエンティフィック株式会社



MED プローブの記録電極で検出される細胞外電位は MED64-Entry アンプで 100 倍に増幅され、計測用 PC 内蔵のナショナルインスツルメンツ社 製データ収集デバイスによってアナログ/デジタル変換されます。信号取得及び刺激電流の印加は専用の制御ソフトウェアによって制御します。

2.1. 各部の名称とはたらき



- 1電源ボタン 電源のオン/オフを切り替えます。
- ❷INPUT …… MED コネクターからの信号を入力するアナログ入力端子です。68 ピン SCSI ケーブルによりコネクター端子と接続します。
- ❸SIGNAL GND 接地のためのリード線を接続するグランド端子です。
- ④PCle-6343 …… データ収集デバイス (ナショナルインスツルメンツ社製 PCle-6343) への出力端子です。マルチファンクションケーブル (ナショナルインスツルメンツ社製 192061C-02) により計測用 PC 背面のデータ収集デバイスの VDHCI 端子に接続します。(0) は ch1-8 (上の VDHCI 端子)、(1) は ch9-16 (下の VDHCI 端子) への出力端子です。
- ⑤DC INPUT AC アダプターの電源コードを接続します。

2.1.2. MED64-Entry アンプ付属品



1AC アダプター

2.1.3. 計測用 PC システム













3. MED64-Entry のセットアップ

MED64-Entry は、そのセンサー部分に相当する MED プローブの優れた電極インピーダンス (50 μm サイズの電極の場合、周波数帯域 1 kHz におい て 10 kΩ) によって、いくつかの技術的利点を有します。

- 1) 外因性ノイズ (ハムノイズ等) に対して強い。
- 2) 数 µV とジョンソンノイズ (ベースラインノイズ) が非常に低い。
- 3) 2 m の接続ケーブルにより、MED プローブ/コネクターをアンプから物理的に離れた場所 (100%湿度のインキュベーターの庫内等) へ設置できる が、ノイズの影響や取得信号の減衰がない。

MED64-Entry は一般的な電気生理実験で通常使用するファラデーケージや除振台を必要としませんが、実験机のような安定したぐらつきのない机の 上にセットアップする必要があります。スペースは少なくとも横 100 cm×奥行 75 cm 程度は必要ですが、空間的に余裕をもって実験するためには、そ れ以上の空間の確保が望まれます。また、アンプ等に接続する AC アダプターは磁界性のノイズ源です。 壁際に設置された机にセットアップする場合、 AC アダプターをアンプ等から遠ざけるため、 壁際に隙間を空けてコードを引き回し、床の上に置くようにします (机が壁に固定されていないことが前提とな ります)。 そうでない場合は、遠ざけて置けるよう余剰な空間を確保する必要があります。



3.1. 計測用 PC へのデータ収集デバイスの装着

注:日本国内で MED64-Entryを購入した場合、本項の工程は出荷前作業として事前実施されています。

計測用 PC の筐体を開けて背面の拡張スロットカバーを取り外し、マザーボード上の PCI Express x1 スロットに PCIe-6343 を装着してネジ止めします。

拡張スロットカバー



PCIe-6343の付属 DVD に収録された NI-DAQ mx インストーラー (バージョン 16.0 以降) を実行して計測用 PC に NI MAX をインストールし、マルチファンクションケーブルにより MED64-Entry アンプと計測用 PC を接続します。

NI MAX を起動し、デバイスの構成を確認します。過去に計測用 PC へ PCIe-6343 以外のデータ収集デバイスを接続させたことがあれば、PCIe-6343 にのみ"Dev1"と名前を割り当て、それ以外のデバイスには別の名前を割り当てます (制御ソフトウェア上では"Dev1"を PCIe-6343 の識別コー ドとして使用します)。





3.2. 配置の検討

実験スペース確保の観点から、MED64-Entry アンプの上に計測用 PC を置きます (必須ではありません)。PC 本体の脚で MED64-Entry アンプの 筐体を傷つけないようご注意ください。ディスプレイモニターを隣に置き、その手前に MED コネクターとなるよう配置します。アンプ後面の接続端子には AC アダプターや他の電子機器が近接しないようにします。



美す比による配直1メーン。 美験が傾または使力に十分な空间がめり、テーノルタッノを床に直くことかできると、 作乗空间に赤柗かできる 灌流システムを組み合わせない場合は横幅 100 cm 程度で済むが、組み合わせる場合はさらに広い空間が必要。

3.3. 電源の確保

MED64-Entry アンプ、計測用 PC システム (計測用 PC 及びディスプレイモニター)、の3つ、さらに温度制御付コネクターを使用する場合はもう1つの電源を必要とします。いずれも同一のテーブルタップに接続し、テーブルタップの電源はアース端子が備わった壁コンセントに接続します (卓上ラックのコンセントはアース端子が正常ではないことが多いため避けます)。MED64-Entry と関係のない機器については、同一のテーブルタップ及び壁コンセントに電源を接続しないようにします。電源ケーブルや AC アダプターはアンプ本体や MED コネクター、68 ピン SCSI ケーブルから遠ざけます。



アルファメッドサイエンティフィック株式会社



3.4. MED64-Entry アンプへの接続

3.4.1. MED コネクターの各部の名称とはたらき



●出力端子 …… 付属品の 68 ピン SCSI ケーブルにより MED64-Entry アンプの INPUT と接続します。
 ②固定ネジ …… MED プローブ装着したベースプレートとトップユニットを嵌合させた後に固定します。
 ③コンタクトピン …… MED プローブ端子部と接触し、信号を読み取ります。
 ④ミノムシクリップ付アース線 …… 灌流システム使用時に灌流キャップ付属の白金線と接続します。
 ⑤68 ピン SCSI ケーブル (2 m) …… 導電性布テープとアース線が巻かれています。

3.4.2. MED コネクターとデータ収集デバイスとの接続



●MED コネクターの出力端子と MED64-Entry アンプの INPUT 端子を 68 ピン SCSI ケーブルで接続します。

268 ピン SCSI ケーブルのリード線を MED64-Entry アンプの SIGNAL GND 端子に接続します。

注: 68 ピン SCSI ケーブルは導電性布テープを巻いてあり、その上に被覆を剥いだリード線を巻き付けています。 リード線を開放した状態では電界性 ノイズを集めるアンテナとして働き、ノイズの原因となる可能性がありますので、(導電性布テープが電界性のシールドとして働くように) MED64-Entry アンプの SIGNAL GND 端子に必ず接続するようにします。



SIGNAL GND 端子のネジを緩めてアース線を孔に通し(左)、ネジを締めて固定する(右)。

注 2: ノイズ対策のために周辺機器等を接地する場合は MED64-Entry アンプの SIGNAL GND 端子で一点接地します。

③MED64-Entry アンプの PCIe-6463 (1) 端子と計測用 PC 背面の PCIe 端子 (下) をファンクションケーブルで接続します。
 ④MED64-Entry アンプの PCIe-6463 (0) 端子と計測用 PC 背面の PCIe 端子 (上) をファンクションケーブルで接続します。





⑤MED64-Entry アンプにAC アダプターを接続します。

3.4.3. MED コネクターの端子配列

MED コネクターはその出力端子と 68 ピン SCSI ケーブルを右側にして置きます。それにより MED プローブの左上が ch 1、右下が ch 64 に割り当 てられます。 MED プローブの電極番号は MED コネクターのコンタクトピンが規定するため、 MED プローブの配置の向きが重要です。





MED コネクターのコンタクトピンと電極番号との対応。出力端子を右にして接触面から見た対応 (左) と MED プローブ端子部との対応 (右)。R は参照電極。



 29
 5
 21
 6
 22
 7
 50
 49
 41
 35
 33
 28
 26
 27
 18
 19
 8
 15
 23
 24
 31
 32
 40
 39
 48
 47
 56
 64
 63
 54
 45
 53
 36
 60

 4
 13
 12
 14
 20
 57
 3
 42
 11
 34
 2
 25
 10
 17
 1
 9
 R2
 16
 R4
 30
 R1
 37
 R3
 38
 58
 46
 43
 55
 51
 62
 59
 61
 44
 52

 MED コネクター出力端子と電極番号との対応。R は参照電極。



3.4.4. アルミホイルによる電界シールド

ノイズチェックにより MED コネクターが外因性の電界性ノイズの影響を受けることが判明した場合、その下にアルミホイルを敷き、リード線でアルミホイルと MED64-Entry アンプの SIGNAL GND 端子を接続して接地することにより、ノイズを回避できることがあります。



アルミホイルを接地することで、アルミホイルが電界シールドとして働く。なお、電界シールドでは磁場に由来するノイズは防げない。

注: MED コネクターの材質はアルミニウムですが、その表面は塗装されており、アルミホイルと絶縁されています。たとえノイズが許容できる範囲であっても、アルミホイルを敷く場合は MED64-Entry アンプに必ず接地しなければなりません。接地しなければアルミホイルが電界性ノイズを集めるアンテナとして働き、予期せぬノイズの原因となりかねません。



セットアップした MED64-Entry。本例では向かって右側に計測用 PC を配置。

3.4.5. ノイズチェックの準備 -MED プローブの装着

MED コネクターの固定ネジを緩め、トップユニットを取り外します。



aCSF や PBS 等の生理食塩液を満たした MED プローブをベースプレートに置きます。MED プローブのリングチャンバー、あるいはガラス基板部の端 を掴むようにし、端子部には触れないようにします。端子部に水滴や培地、汚れ等が付着している場合は、MED プローブをセットする前に端子部 をキムワイプで拭います。その後、トップユニットを被せて固定ネジを締めて固定します。









注 1: 固定ネジの緩め/締めは両方同時に行います。固定ネジがほとんど緩んだ/締まった段階で、片方ずつ強く緩める/締めることは問題ありません。片方ずつ緩める/締めると、もう片方を緩める/締める際に固定ネジがネジ孔に対して垂直に入りません。

注 2: MED コネクターのコンタクトピンには素手で触れないようにします。手脂が付着すると、コンタクトピンと MED プローブとの接触抵抗が上昇 し、ノイズの原因となります。また、MED プローブをセットした後は液こぼし (特に生理食塩液) に注意し、液がコンタクトピンに及ばないように します。

3.4.6. ノイズチェックの実施

デスクトップ上の MED16 アイコンをダブルクリックし、制御ソフトウェアを起動します。 EASY SETTINGS から Spontaneous を選択し、再生ボタン をクリックします。



5 秒後にデータの取得が始まり、ベースラインノイズが表示されます。理想のベースラインノイズレベルはピークピーク値が約±8 μVpeak to peak で す。ベースラインノイズが正常であれば、セットアップは完了です。なお、制御ソフトウェアの操作の詳細については p.9「制御ソフトウェアによるデータ 取得」をご参照ください。また、各種実験標本の事前準備は各種アプリケーションノートをご参照ください。



正常なベースラインノイズ。

3.4.7. MED コネクターのメンテナンス

MED コネクターのトップユニットには、MED プローブの端子部と接触する 68 本のコンタクトピンをハンダ付けしたプリント基板がネジ止めされていま す。コンタクトピンとしてスプリングピンが使用されており、その表面を清潔に保つことが MED コネクターのメンテナンス上、重要になります。特定電 極で異常ノイズが認められ、MED プローブ配置の向きを変えてもその電極にノイズが残る場合は、コンタクトピンの通常損耗による変形 (つぶれ) や、埃や手脂の付着が原因となっている場合があります。後者の場合はコンタクトピンをメガネクリーナー越しに押すように拭うことで改善する場合 があります。なおコンタクトピンの内部にはスプリングの潤滑油が満たされているため、エタノールは使用しないでください。またコンタクトピンの通常損 耗や、灌流液や培地をこぼして塩類を付着させた場合による動作不良は、プリント基板の有償交換修理対応となります。





4. 制御ソフトウェアによるデータ取得

アンプ、計測用 PC、ディスプレイモニターの電源を入れます。デスクトップ上の MED64-Entry のアイコンをダブルクリックして制御ソフトウェアを起動しま す。ソフトウェアにはデータを取得する RECORD と収録済のデータファイルを再生する REPLAY の 2 つのモードがあり、最後に使用して終了した際のモード でソフトウェアが起動します。初回使用時は RECORD モードで起動します。



収録モードのメインウィンドウには4つのパネルが存在します。

CONTROL PANEL データ取得に関わる各種条件を設定します。RECORD、STIMULATION、FILE OUTPUT のサブパネルが存在します。

STIMULATION PATTERN CONTROL PANEL で設定した刺激パターンを表示します。

SIGNAL WAVEFORM データ取得中の全 16 電極の信号波形を表示します。

BASELINE STABILITY …… SIGNAL WAVEFORM パネルで選択した 1 電極の信号波形を拡大表示します。またその信号波形から計測標本の 活動または応答の安定性の指標となる測度を算出し、タイムチャートとして表示します。 Spike、EP、ISI の 3 つのモード があり、Spike モードではスパイクの検出頻度、EP モードでは誘発電位の振幅値、ISI ではスパイクの検出間隔を指標と して算出します。いずれもデータ解析を目的としたモードではなく、電気刺激や薬物投与等の実験的操作のタイミングを 判断するための情報を与えるものです。

CONTROL PANEL 上の RECORD 及び STIMULATION (電気刺激適用時のみ) サブパネルでデータ取得条件を設定した後、後述のコントロールボタ ンでソフトウェアを実行することによってデータを取得します。本ソフトウェアには標準的な実験内容を想定した9つの既存のデータ取得条件フォーマットが 準備されており、そのいずれかを EASY SETTINGS から呼び出しできます (詳細は p.12「EASY SETTINGS の各メニューについて」をご参照ください)。また ソフトウェアを起動すると、それらの9つの既存条件のうち Custom が呼び出されます。



アルファメッドサイエンティフィック株式会社



各パネル上にはテキストボックスやプルダウンメニュー等の条件設定欄があります。下図の灰色のプルダウンメニューでは規定条件の選択しかできません が、白色のプルダウンメニューでは任意の数値の直接入力も可能です (下図中央)。クリックボタンはオン、オフ、無効の状態に応じて表示色が切り替わ ります (下図右)。



データ取得の実行は CONTROL PANEL 上で条件を指定した後、同パネル上部に存在するコントロールボタンで制御します。



注 1: データ取得中は他のソフトウェアを起動しないようにします。OS への予期せぬ負荷により、フリーズや強制終了の原因となるためです。特にアンチウ イルスソフトウェア等、バックグラウンドで実行される設定のソフトウェアには注意します。また、インターネットへの接続も予期せぬ通信負荷によるフ リーズや強制終了の原因となるため、接続を避けます。

注 2: 本書では、データファイルの出力を伴ったデータ取得を"収録"とよびます。

以降の節では、各パネル上で設定する詳細条件について説明します。

4.1. データ取得スケジュールの設定 ~RECORD サブパネル~

データ取得スケジュールは RECORD サブパネルでユーザーが任意設定する1回以上のデータ取得セッション(本ソフトウェアでは"リピート"とよぶ)で構成します。下図の例では1リピート0.1 sのデータ取得を実行後、19.9 sの待機時間を置いて次のリピートを開始するセッションを1000回繰り返します。データ取得区間を表す Time の最小設定値は0.1 s、リピート区間を表す Interval は1 s です。Interval は Time よりも0.1 s 以上大きな値を設定しなければなりません。



Max input には最大許容入力を入力します。収録中に設定値を超える信号が入力されると、設定値を飽和値として取得します。MED64-Entry のデジタイザー分解能は 16 bit であるため、電圧値の解像度は Max inpt を 2¹⁶で除算した値となります。計測対象標本から得られる細胞外電位 の大きさに合わせて、適切な値を設定します。Hipass filter、Lowpass filter は出力するデータファイルには適用されず、データ取得中に OSCILLOSCOPE と RAW WAVEFORM - SELECTED ELECTRODE での生波形の表示に対してのみ適用されます。



4.2. 刺激パターンの設定 ~STIMULATION サブパネルと STIMULATION PATTERN タブ~

STIMULATION サブパネルには Step 1、Step 2、Manual の 3 つのタブウィンドウが存在します。 Step 1 または Step 2 のどちらかを有効にしてそのタ ブ上で刺激パターンを設定すると、全リピートにおいてその刺激パターンを適用します。 両方を有効にすると、リピート 1 では Step 1 の刺激パターン、リ ピート 2 では Step 2 の刺激パターン、リピート 3 では Step 1 の刺激パターンと、下図右に示すようにリピートごとに交互にその刺激パターンを適用しま す。 また MED64-Entry アンプには刺激出力が 2 端子 (S1 と S2)存在するため、同一ステップにおいて最大 2 電極への刺激パターン適用が可能 です。



データ取得と刺激パターンの概略図。本例では Step 1 で 1 電極にのみ刺激印可し、Step 2 では異なる 2 電極に異なる刺激を印可する。

注:刺激パターンの長さは Time の長さ以下に設定しなければなりません。

Manual タブ上にはリピート間の一時停止中にのみ有効となる Start Stim ボタンが存在し、クリックすると Manual タブ上で設定した刺激を手動で 任意のタイミングにより適用できます。データ収録中に刺激を適用した場合、その区間のデータファイルは別ファイルとして出力されます。

Step 1	#Step 2#	Manual	
🗹 En	able step		
Stimu	lator	~	S1

刺激パターンを構成する最小単位は二相性パルスまたは単相性パルスです。刺激パターンは Pulse config で設定する刺激パルスを1つ以上連結 することで構成します。





Pulse type では Biphasic (二相性パルス) または Const (単相性パルス) を選択しますが、通常は Biphasic を選択します。Duration ではパルス 幅を 0.1 s 単位で指定しますが、Biphasic 選択時はその 50%値を各相に割り当てます。Intensity では正または負の整数を指定しますが、 Biphasic 選択時はその指定値を第一相に割り当て、符号が反転した指定値を第二相に割り当てます。Pre 及び Post はパルスの前後に 0.1 s 単 位で指定した待機時間を設けます。二相性パルスを選択する理由について、詳細は p.35「7.2.3. 刺激アーチファクトと二相性刺激」をご参照くださ い。

注: 刺激パルスの出力電流を0(ゼロ) レベルに戻すため、刺激パターンの最終パルスには必ず Post 値を設定しなければなりません。

Pulse config は刺激パターンの1パルス区間を表しますが、それを下図のクリックボタンにより刺激パターン全体に追加、削除、繰り返す等することで 刺激パターンを構成します。



EASY SETTINGS の各メニューについて

Custom …… Customを選択した状態でソフトウェアを終了すると、設定したデータ取得条件を全て保存し、次回起動時での呼び出しが可能で す。ユーザー固有のデータ取得条件を設定し、繰り返し使用することを想定したメニューです。

注: Custom 以外のメニューでは設定条件を保存できず、ソフトウェアの再起動のたびに初期設定値を呼び出します。

- EP baseline …… 脳スライス標本での誘発応答 (集合電位) 計測を想定したメニューです。0.1 s データ取得し、19.9 s 後に次の 0.1 s データ取 得を繰り返すセッションを 1000 回繰り返します。 Max input を 10000 uV としており、1-10000 Hz の帯域幅のデータを表示 します。急性海馬スライス標本の場合、初期値の刺激パルス (0.2 ms 幅、-10 uA) で-300 uV 以上の振幅が得られれば、 標本の状態は良好と言えます (目安です)。
- EP culture …… 分散培養神経回路網 (培養神経系標本) での誘発応答 (スパイク) 計測を想定したメニューです。0.1 s データ取得し、4.9 s 後に次の 0.1 s データ取得を繰り返すセッションを 100 回繰り返します。Max input は 10000 uV としています。自発活動に起 因する LFP (local field potential) によりベースラインに低周波成分が生じることがあるため、スパイクを観察しやすいように 100-10000 Hz の帯域幅でフィルタリング処理を適用しています。初期値の刺激パルス (0.1 ms 幅、-20 uA) により、いずれかの電 極において、刺激アーチファクトから定まった遅延時間でスパイクが誘発されるかどうか、刺激電極を変えながら観察します。いず れの刺激電極においても誘発スパイクが観察できない場合は、刺激強度を大きくし (例えば-30 uA 等に変更し)、同様の手順 を試します。
- EP IO curve …… 脳スライス標本での誘発応答の入出力関係 (刺激強度の大きさに対する誘発電位の大きさの入出力曲線)を調べるメニュー です。データ取得条件は EP - baseline とほとんど同一ですが、by rep #が有効になっており、1 リピートごとに刺激強度が 1 uA 増加します。刺激強度の最大値は 100 uA であるため (要説明) リピート回数を 90 と設定していますが、飽和応答が得 られた時点でデータ取得を手動停止します。
- ERP …… 培養心筋標本での早発刺激による有効不応期計測を想定したメニューです。 刺激幅 0.6 ms、 刺激強度 10 uA、基本周期長 (パルス 間間隔) 1000 ms で 10 発の電気刺激を適用し、 11 発目に基本周期長より短い 900 ms で電気刺激を適用します。
- LTP HFS …… テタヌス刺激による LTP 誘導を想定したメニューです。データ取得条件は EP baseline とほとんど同一ですが、Manual タブに 10 ms 間隔 (100 Hz)、1 s 間 (100 発) のテタヌス刺激を設定しています。刺激強度の初期設定値は-20 uA であり、入出力関係の結果に基づいた値に変更する場合は Increase intensity に増減幅を入力し、in all units ボタンをクリックして刺激パターン 全体の刺激強度を増減します。
- LTP TBS θバースト刺激による LTP 誘導を想定したメニューです。データ取得条件は EP baseline とほとんど同一ですが、Manual タブに 100 Hz、4 発のパルス刺激を 200 ms (5 Hz) 間隔で 2 s 間 (10 回) 設定しています。 刺激強度の初期設定値は-20 uA であ り、入出力関係の結果に基づいた値に変更する場合は、Increase intensity に増減幅を入力し、 in all units ボタンをクリックして 刺激パターン全体の刺激強度を増減します。



- Spontaneous Max input を 10000 uV として、1-10000 Hz の帯域幅のデータを取得します。 刺激は設定しておらず、 連続 20 m 間データを 取得します。
- Straight pacing …… 培養心筋標本での固定周期によるペーシング応答計測を想定したメニューです。 repeat all the time が有効となっており、 刺激幅 0.6 ms、刺激強度-10 uA、周期長 (パルス間間隔) 1000 ms で連続ペーシングします。周期長を変更する場合 は、 Post の値を編集します。

注: EASY SETTINGS からいずれかのメニューを呼び出して Custom に切り替えると、Custom はそのメニューの取得条件を引き継ぎます。

4.3. データファイル出力先の設定 ~FILE OUTPUT サブパネル~

収録ボタンでデータ取得を実行すると、データ取得終了後にデータファイルを生成します。出力先フォルダー、ファイル名は下図に示す項目欄で指定します。

	FILE OUTPUT		山力さるデータファイルの形式を指定
シ海市日 ドウサザトギーク取得た中	File format 🗸	Entry (16 bit)	収録では指定できない (再生のみ)。
が現境日。 相定 ビタトノーク 取得を美 行すると指定を促すウインドウが現れる。 -	Output folder D:/sample1		
	Add text to filename InM_E-4031	•	任意項目。ファイル名に 追加するテキストを入力。

収録モードではデータファイルの出力形式を指定できず、固有の.endat 形式で出力します。ファイル名は「年月日_##h##m##s(_added text).endat」の形式で自動的に割り当てられます。

4.4. SIGNAL WAVEFORM パネル

全 16 電極の信号波形 (生データ)を描画します。電極のチャート上を左クリックすることによって 1 電極を選択し (赤枠で表示)、BASELINE STABILITY パネルに単独表示します。

SIGNAL WAVEFORM							
	2	3	4	5	6	7	8
				<u> </u>	M	V	
9	10	11	12	13	14	15	16
					Carrier -	~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~	V

パネル上を右クリックすることで、電極配列パターンの表示切り替えや、各電極チャートに共通する軸の表示範囲を変更するメニューが出現します。

SIGNAL V	VAVEFORM		
1			
	Array Pattern	•	√ A/B
	X-axis	•	C
•••••	Y-axis	•	
	Copy Image		
5	Preferences	•	

各電極チャートは補助線によって X 軸 5 区画×Y 軸 4 区画に分かれており、右クリックメニューX-axis 及び Y-axis で指定する値は 1 区画あたりの 表示時間 (ms/div) 及び 電圧値 (uV/div) を表します。指定する電圧値は 0 uV を中心にした正負の値です。Autoscale で On を選択すると、 電極ごとに最大電圧値に基づいて Y 軸を 2.5 s ごとに自動調節します。Copy Image はパネル画像をクリップボードにコピーします。



Preferences は Line Color でデータ点の表示色、Background Color でチャートの背景色、Grid Color で補助線の表示色をカスタマイズでき、 Deafault を選択すると変更を初期設定に戻します。

4.5. BASELINE STABILITY パネル

計測標本の活動の安定性をモニター表示します。EP、SPIKE、ISIの3つのモードから選択し、それぞれにおいて活動の指標となる測度が異なります。 上段には SIGNAL WAVEFORM パネルで選択した電極の信号波形を拡大表示し、カーソルによって測度の算出範囲を指定します。下段には算出 した測度のタイムチャートを表示します。





EP モードでは信号波形チャート上に2本の垂直カーソルが存在します。ドラッグ&ドロップによりX 軸上での位置を変更し、2本の垂直カーソル間の生 データの最小値を求めて活動安定性の指標とします。



BASELINE STABILITY パネルの SPIKE モード (左) と ISI モード (右)。

SPIKE モード、ISI モードでは生データチャート上に1本の水平カーソル (閾値)が存在します。ドラッグ&ドロップにより動かしてY軸上での位置を変更し、信号が閾値と交差した回数 (SPIKE)、または交差してから次に交差するまでの時間 (ISI; inter-spike interval)を求めます。この際、閾値がプラス側に存在する場合は立ち上がりを、マイナス側に存在する場合は立ち下がりの交差点を測度の対象とします。



SIGNAL WAVEFORM パネルと同様に、信号波形チャート上で右クリックすると軸の表示範囲を変更するメニューが出現します。X-axis で指定する 値は X 軸の最大値 (s) を表します。 Y 軸については、極値の軸ラベルをクリックして直接編集により表示範囲を変更します。





その他のメニューは SIGNAL WAVEFORM パネルと同様です。



また、測度チャートについても信号波形チャートと同様です。Step Filter は Step 1 と Step 2 を有効にしてデータ取得する際に、どちらかのステップでの 誘発応答のみをタイムチャートとして表示します。また、Copy Data はタイムチャートの数値データをクリップボードに保存します。チャートの各プロット上 をマウスオーバーすると、プロット点の数値情報を表示します。

4.6. 出力したデータファイルの再生 ~再生モードでできること~

本ソフトウェアには、収録したデータファイルを確認するための再生モードが備わっています。



上図に示すように画面構成は収録モードとほとんど同一ですが、CONTROL PANELに若干の違いがあります。REPLAY サブパネル上で再生するデー タファイル、再生範囲、電極番号を指定します。また、endat 形式のデータファイルをバイナリー形式または csv 形式に変換出力する場合は FILE OUTPUT サブパネル上で指定します。

	クリッ
REPLAY	Filena
Filename 20121116_15h31m49s_priman	עב
Repeat # 1 to 24	FI
Time 0 to 180000 ms	F
Electrode	0
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16	
Hipass filter v 100 Hz	1
Lowpass filter V None Hz	

リックして再生するデータファイルを選択。 lename 欄にファイル名が表示された後、 コントロールボタンによる再生が可能。				
FILE OUTPUT				
File format	✓ Short (16 bit)			
Output folder	Short (16 bit)			
	CSV			
Add text to filename				



Filename欄にデータファイル名が表示された後、コントロールボタンでデータファイルを再生します。この際、データファイルの形式変換出力も行う場合は、収録ボタンでソフトウェアを実行します。

	CONTROL PANEL データ取得実行中の
コントロールボタン	REPEAT # TIME 時間経過を表示。
< 再生するリピートを1つ戻す。 > データファイルを出力せずにデータ再生する。 ● データファイルを変換出力しながらデータ再生する。	REPLAY SPEED V Fact 再生速度の選択。
> 再生するリピートを1つ進める。 リピートとリピートの間でデータ取得を一時停止する。 ■ データ再生を停止する。	□ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □

MED64-Entry の制御ソフトウェアは、実行中の動作負荷の低減を目的として、十分なデータ解析機能を備えておりません。データ解析につきまして は、endat 形式にも対応した MED64 Offline Toolkit や、別売の MED64 Burstscope、MED64 Peakmap の利用をご検討ください。またその詳 細につきまして、それぞれの取扱説明書をご参照ください。



5.1. ノイズのチェックポイント

・正常なベースラインノイズの振幅は Low cut freq 1 Hz、High cut freq 10000 Hz での信号取得帯域において、ピークピーク値が約±8 μV です。 横軸 20 ms/div 及び横軸 500 ms/div 表示で平坦なベースラインノイズかどうかを目視で確認します。



・ノイズの発生する電極について、特定一部の電極のみか16電極全体か、偏りがないか等を把握します。

・ノイズの形状について、横軸を 20 ms/div に設定した際に、例えば 5 回または 6 回繰り返す正弦波様のノイズか、あるいは特定電極に偏った高周 波のノイズか等を把握します。

- ・外因性ノイズは距離に関係なく電界シールドによって遮断できるノイズと、電界シールドが有効ではないものの、ノイズ源を遠ざけることで軽減できるノ イズに分けられます。後者は電源ケーブルが接続された機器が発する磁場 (磁界)が原因であると考えられます。ノイズが解消する距離まで該当機 器を遠ざけるか、または MED64-Entry の使用中は電源ケーブルを抜く対策が必要となります。
- 注: サポート窓口に相談する場合は SIGNAL WAVEFORM 上で右クリックメニューから Copy Image を選択し、ペイント等の画像編集ソフトに 16 電極画面を貼り付け、jpg または tif 形式で保存して電子メールに添付してご送付ください。 bmp 形式はファイルサイズが大きくなるため避けるよ うにします。 またこの際、縦軸は 25 µV/div または Autoscale により自動調整し、横軸を 20 ms/div 及び 500 ms/div の両設定の 16 電極画 面をご送付ください。

5.2. 設置に関連したノイズ

・MED コネクターの固定ネジがしっかりと締められてない。





固定ネジの締め付けが悪いノイズの事例。16 電極全体に生じやすい。

・SCSI ケーブルとアナログ入力端子の接触が悪い。





・MED64 メインアンプの端子部や 68 ピン SCSI ケーブルの近くに (概ね 30~100 cm 以内)、AC アダプターや他の電子機器 (インキュベーター等) が置かれている。



・インキュベーターのヒーター回路や電磁弁が作動してインキュベーター庫内に磁場が発生している。



インキュベーター庫内で発生する磁場ノイズの事例。干渉を受ける電極に偏りがあり、庫内での配置場所によって影響の程度が異なり、 温度が安定すると消失する (画面は偏りが把握しやすいように、MED64-Basic での事例を使用)。

・テーブルタップに MED64 システムと関係のない他の電子機器の電源ケーブルが接続されており、接続を外すとノイズが解消する。

5.3. 灌流に関連したノイズ

・灌流ポンプ本体やその AC アダプターがアンプ本体や MED コネクター、68 ピン SCSI ケーブルに近接している。



·灌流ポンプの近接による磁場ノイズの事例。干渉を受ける (磁場の及ぶ) 電極は偏りがある (画面は偏りが把握しやすいように、MED64-Basic での事例を使用)。





MED64 システムの近くに置かれた恒温槽によって発生する磁場ノイズの事例。干渉範囲が比較的広い (画面は偏りが把握しやすいように、MED64-Basic での事例を使用)。

・灌流液が MED プロ−ブの電極全面や白金線を完全に浸漬しておらず、空気に触れていない個所がある。

・白金線をミノムシクリップ付アース線で掴んでいない。

・白金線が固定ネジでしっかり固定されていない (ぐらつきやすくなっている)。

・数秒おきにスパイク様のノイズが発生し、ペリスタルティックポンプの電源をオフにすると平坦なベースラインノイズが得られる。

①ドロッパー内部が完全に親水化して多数の水滴が付着しており、灌流液が滴下する度に内部で絶縁破壊が発生してポンプ由来のノイズが導通し

ている可能性があります。給液側パイプと白金線をミノムシクリップ付アース線で接続してノイズが解消すれば、給液側ドロッパーが原因と特定でき ます (排液側は空気層が混じるため、同様の手段での確認はできません)。

②給液側パイプが白金線に接近しており、灌流液が滴下した際の水圧を受けていないか確認します。

③給液側ドロッパーでエアー噛みが発生し、バブルがチャンバー内に定期的に混入、白金線を圧迫していないか確認します。

5.4. 機器の不具合が疑われる場合の原因特定

電界シールドでも対策できず、また疑わしいノイズ源を遠ざけたり、その電源ケーブルを抜いても一部特定電極でノイズが解消しない場合は、機器の 不具合が疑われます。原因を特定する手順は下記の通りです。

手順 1: MED プローブ

MED プローブの配置を 90°回転させて MED コネクターに装着し、ノイズが発生する電極の番号が 90°回転した位置に移動するか (例えば電極 1 から電極 8 へと移動するか) 確認します。 MED ミニ・プローブ及び MED マルチウェル・プローブの場合は、テストボードを装着してノイズが解消するか 確認します。移動する場合は、該当する電極のめっき剥がれ、または電極の ITO リードパターン上の絶縁層の損傷が原因として考えられます (新品 であれば初期不良として交換対応いたします)。移動しない場合は手順 2 以降の原因特定を行います。

手順 2: ケーブルや導線等の接触不良

MED コネクター出力端子、MED64 メインアンプ入力及び出力端子等、接触が不完全な場合は、SCSI ケーブルを一度完全に抜いてから、挿し直 します。GND 端子に接続した導線、ミノムシクリップが外れていないか確認します。

手順 3: MED コネクター

コンタクトピンに埃や手脂が付着して MED プローブ端子部との接触不良が起こっていないか確認します。コンタクトピンをメガネクリーナー越しに指で 押さえるように拭い、再度 MED プローブを装着してノイズが解消しない場合は、目視により一部のコンタクトピンの高さが他よりも低くなっていないか 確認します。コンタクトピン内部にはオイルが満たされており、使用劣化等によりオイル抜けすることでピンの弾性が失われると押し込まれたまま低くな ります。その結果、不可逆的に MED プローブ端子部との接触が悪くなり、基板部の交換修理が必要になります。なお、正常な MED コネクターと 交換してノイズが解消する場合は、コンタクトピンの損耗として原因を完全に特定できます。ノイズが解消しない場合は手順4に進みます。



6. 付録

6.1. 機器仕様

6.1.1. MED64-Entry メインアンプ [MED-A16HM1]

一般	
電源	DC ±12V
重量	3.3 kg
外径寸法	幅 215×高さ 74×奥行 437 mm
入力端子	SCSI 68 ピン
出力端子	D-sub 68 ピン×2
記録アンプ部	
チャンネル数	16
增幅率 ※1	×100
带域幅 ※2	0.1 Hz - 10 kHz
入力抵抗	100 ΜΩ
PCle-6343 デジタイザー	
分解能	16 bit
サンプリング周波数	20 kHz
電源供給ユニット	
入力	AC 100 - 240 V (50 / 60 Hz)
出力	DC ±12V

<u>※1帯域幅について</u>

MED64-Entry アンプは 0.1 Hz から 10 kHz と広い帯域幅での信号を取得します。 収録中は制御ソフトウェアのデジタルフィルター処理を必要に 応じて適用します。 主な推奨設定は下記の通りです。

①脳スライス標本での誘発電位計測: 1 Hz - None (10 kHz)

②分散培養神経回路網での自発活動計測 (スパイク検出): 1 Hz - None (10 kHz)

③培養心筋細胞での自発活動計測 (FPD 試験): 0.1 Hz - None (10 kHz)

<u>※2 分解能について</u>

取得信号の分解能は制御ソフトウェアの"Max input (最大許容入力)"を変更することにより設定します。選択する最大許容入力は、取得電位の振幅の上限値を表します。例えば 2000 μV を選択した場合、2000 μV を超える信号は 2000 μV として取得します。最大許容入力を小さく設定することになります。下表は最大許容入力によって得られる振幅の分解能を示します。

最大許容入力	分解能
2000 µV	0.061035 μV
10000 µV	0.305176 µV

	RECORD	
	# Repeat	1000 ~
	Time 0 ∽ h 0	∨m 0.1 ∨s
	Interval 0 V h 0	∽ m 20 ∽ s
最大許容入力 (増幅率)	Max input	√ 10000 uV
ハイパスフィルター	Hipass filter	∨ 1 Hz
ローパスフィルター	Lowpass filter	✓ None Hz

RECORD パネル上での帯域幅と増幅率の設定。

アルファメッドサイエンティフィック株式会社



6.1.3. MED コネクター及び MED 温度制御付コネクター

MED コネクター	
MED プローブ固定方式	ネジ式
材質	アルミニウム
接触抵抗	30 mΩ以下 (MED プローブ装着時)
重量	480 g
外形寸法	幅 174×高さ21×奥行 150 mm

MED 温度制御付コネクター	
MED プローブ固定方式	ネジ式
材質	アルミニウム
接触抵抗	30 mΩ以下 (MED プローブ装着時)
重量	コネクター部: 510 g
	温度制御部: 357 g
外形寸法	コネクタ−部: 幅 200×高さ 21×奥行 112 mm
	温度制御部: 幅 153×高さ50×奥行 115 mm
温度制御精度	1℃未満
上記制御精度の検証温度	灌流時: 32℃ (室温 25℃)
	通常時: 37℃ (室温 25℃)
加熱方式	トランジスター

6.1.4. 計測用 PC システム

以下の性能に準じる PC であれば、機種は問いません。

コンピューター	
形状	ミニタワー型
オペレーティングシステム	Windows 10 Pro 64bit
CPU	インテル Core i7-6700K (4 コア/4.00GHz/8MB キャッシュ)
メモリ	16GB (8GB×2)
メインディスク	512GB SSD
セカンドディスク	2TB HDD (7200rpm/6Gbs 対応)
光学ドライブ	DVD スーパーマルチドライブ
付属品	キーボード、マウス
重量	6.9 kg
外形寸法	幅 175×高さ 365×奥行 385 mm
ディスプレイモニター	
解像度	23 型、1920×1080 ドット
重量	4.0 kg
外形寸法	幅 533×高さ 388×奥行 180 mm



6.1.5. 灌流配管構成図





6.1.6. ガス配管構成図





6.2. 技術解説

6.2.1. MED64 システムでの信号取得

MED プローブには 64 の記録電極と、4 (または 8、16) の参照電極がパターニングされています。 MED64 システムは記録電極と参照電極間の電 位を取得します。 下図は記録電極と参照電極間の等価回路を示します。



信号の減衰を避けるために必要な入力インピーダンス

平面微小電極に固有の特徴の一つは、電極と電解液の界面の間に形成される"電気二重層容量"です。電気二重層容量は電極の低周波領 域のインピーダンスを上昇させます(下図参照)。電極インピーダンスがアンプの入力インピーダンスよりも高くなる場合、取得信号は減衰します。 MED プローブ上の白金黒電極は非常に低いインピーダンスであり(信号周波数 1 kHz において 50 μm 角電極 10 kΩ、20 μm15kΩ)、低周波 領域においても低くなっています。そのため、MED64 システムの 100 MΩの入力インピーダンスは十分に高く、脳スライス標本の誘発電位や消化 管筋層組織標本のペースメーカー電位等の低域信号を減衰することなく、取得できます。もし無めっきの ITO 電極で 1 Hz の信号を取得する場 合、電極インピーダンスは 100 MΩよりも高いため、信号は減衰します(下図青線)。しかし、白金黒電極の場合は電極インピーダンスが 100 MΩ よりも低いため、信号は減衰しません。



電極インピーダンスと MED64 ヘッドアンプの入力インピーダンス。

7.2.2. MED64 システムでの電気刺激 -平面微小電極への電流印加

MED64 ヘッドアンプは2 チャンネルの電流駆動スティミュレーターを搭載しており、任意の64 電極への電気刺激を可能にします。下図は MED64 システムによる電気刺激の等価回路です。選択した電極から参照電極へと刺激電流が流れます。刺激電流は電極表面で電気二重層容量に 蓄電し、電極電位を変化させます。この電位変化は細胞外電位を変化させ、細胞膜の脱分極を誘発します。下図の右側に示すように、出力電流 (Is) に従って細胞外電位 (Vf) は変化します。





6.2.3. 刺激アーチファクトと二相性刺激

電極間のクロストークにより、刺激パルス波形は全記録電極に"刺激アーチファクト"として認められます。刺激アーチファクトは実際の刺激パルスが 終了した後も持続し、生体由来の信号波形に干渉します。主に以下の要因に由来します。

- 1. 刺激アーチファクトの振幅は MED64-Entry アンプの最大許容電圧を超えることが多く、一時的な入力の飽和状態の原因となり、その状態からの回復には時間を必要とします。この遅延時間は刺激出力電圧 (Vs) に比例して大きくなります。
- 2. 電極は蓄電よりも放電に長い時間を必要とします。この遅延時間も Ce (Vc) の電圧に比例して長くなります。

電極の低インピーダンス (高キャパシタンス) により、Vs と Vc はどちらも小さくなるため、刺激アーチファクトの時間幅が最小限度となるよう適切に MED64 システムを運用しなければなりません。以下の指示に従い、刺激アーチファクト幅を最小化します。

 下図に示すように同一幅の陰性及び陽性パルスで構成される電流駆動の二相性パルス刺激を適用します。二相性パルス刺激を印可する と、電極はすばやく蓄電、放電します。しかし、単相性パルス刺激をした場合、電極は蓄電よりも放電に長い時間を必要とし、刺激アーチファ クトを劇的に延長し、電極を損傷します。



二相性パルス刺激と単相性パルス刺激。

- 注: MED64 システムでは同一幅の陰性及び陽性パルスで構成される電流駆動の二相性刺激が推奨です。単相性パルス刺激は電極を損傷し ます。
- 追加の参照電極としての白金線を使用します。白金線を MED コネクターのミノムシクリップ付アース線で掴むと、白金線は追加の参照電極として機能します。MED プローブの参照電極は4 個所に配置されていますが、追加の参照電極を設けることにより、参照電極の総合インピーダンスがさらに減少し、灌流ポンプ由来のノイズや刺激アーチファクトが低減します。



注: 白金線は必ず灌流液 (電解液) に浸漬させ (即ち、MED プローブの参照電極と導通させ)、ミノムシクリップ付アース線で掴んだ状態にしま す。開放した状態では白金線が電界性ノイズを集めるアンテナとして働き、ノイズの原因となります。



白金線による刺激アーチファクトの低減。MED 灌流キャップ未使用時 (左) と使用時 (右)。

6.2.4. 刺激電流値と電気分解

前節で説明したように、刺激電流は電気二重層容量に蓄電されて Vc の電圧の原因となります (下図参照)。Vc の電圧が 1 V を超えると、電極は電気分解を引き起こし、H₂を放出します。それにより、刺激効率は劇的に低下し、刺激アーチファクトが極端に大きくなり、細胞や電極を損傷します。そのため、刺激電流 (Is) により分解電圧に達しないようにしればなりません。



Vcは Vc = ls×T / Ceと定義されます。MED プローブの電極キャパシタンス (Ce) は 50×50 μm サイズの電極で 50000 pF であり (20×20 μm サイズの電極で 22000 pF)、200 μA の刺激電流で 0.2 ms 幅 (片相 0.1 ms) までは許容できます。

注: 下図の陰影範囲外に及ぶ刺激電流値及び刺激幅では印加しないようにします。グラフ中の数値は"単一パルス刺激"に基づきます。1 s 未 満の短い刺激間間隔での複数パルス刺激を印可する場合は、刺激電流値及び刺激幅をグラフの 80%に抑えます。



6.2.5. MED64-Entry での刺激パターンの設定

刺激電流値及び刺激電極は制御ソフトウェアの STIMULATION パネルで設定します (詳しくは p.11「4.2. 刺激パターンの設定 ~ STIMULATION サブパネルと STIMULATION PATTERN タブ〜」をご参照ください)。 アンプは刺激電極でのミュートの解除 (ベースラインノイズの回 復) におよそ 5 秒は必要とする点にご注意ください。 そのため、トレース間間隔は 5 秒以上空けるよう設定します。

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。

© 2021 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: 1.00; 2021 年 2月8日

■ 開発·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: sales-j@med64.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 京都市伏見区羽束師古川町 322 TEL: 075-931-7824 FAX: 075-931-7826

アルファメッドサイエンティフィック株式会社