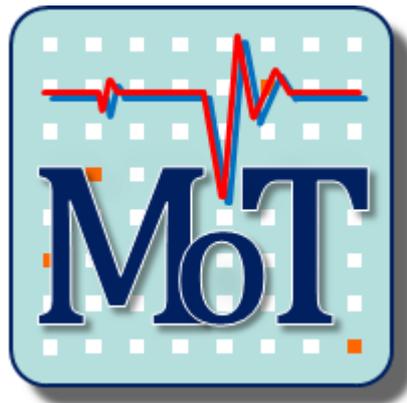


MED64 Offline Toolkit 取扱説明書



1. はじめに

MED64 Offline Toolkit (MOT) は MED64 システム制御ソフトウェア Mobius のオフライン解析機能を補足する目的で設計されたソフトウェアです。Mobius で出力される固有形式のファイルを入力対象とする、独立した複数の解析ツールにより構成されています。MED64-Entry の固有形式のファイルにも対応しており、同ユーザーを対象としたデータ解析のための標準ソフトウェアとして位置付けています。解析ツールはユーザーからの要望や意見を反映し、新規追加や機能改修を継続して行っており、当社ウェブサイト (<https://alphamedsci.com/>) から最新版をダウンロードできます。

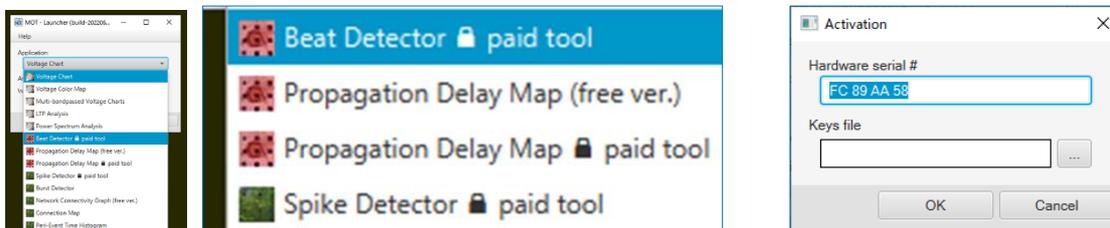
1.1. 動作環境

コンピューターの推奨動作環境は以下の通りです。

OS	: Windows 10 64 ビット版 (32 ビット版には対応していません。)
CPU	: Intel Core i7 と同等かそれ以上
メモリ	: 8 GB (16GB 以上がより好ましい)
空き容量	: 64 MB
ディスプレイ	: 1280 x 1024 以上

1.2. インストールとバージョンアップ

MOT インストーラーをダブルクリックしてインストールします。インストール後、スタートメニューから MOT を起動してランチャーウィンドウを表示し、Application プルダウンメニューから使用する解析ツールを選択します。有償ツールには鍵マークが表示され、インストール後 45 日のデモ期間終了後はアクティベーションが必要になります。MOT ライセンス購入済、Mobius Spike Sorter または QT パッケージ購入済の場合、メニューバー Help の Activation ... を選択して表示する、Activation ウィンドウに記載の Hardware serial #をお知らせください。適合するキーファイルを送付いたします。無償ツールについては、デモ期間終了後もアクティベーションせずに使用できます。



20201211 版以前の MOT をインストールしてアクティベーション済の場合は、以下の手順によりバージョンアップを実施します。

1) activation ファイルを以下のフォルダーからデスクトップ等に移動します。

C:/ユーザー/ユーザー名/AppData/Local/Mobius Offline Toolkit/app

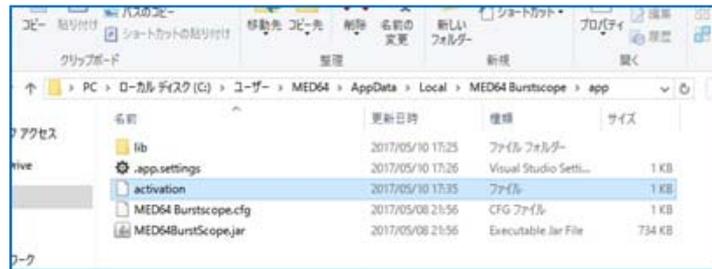


AppData は隠しファイルのため、フォルダー設定の表示タブ「隠しファイル」にチェックを入れて表示させる。

2) コントロールパネルのプログラムと機能から MED64 Offline Toolkit を選択してアンインストールし、「C:/ユーザー/ユーザー名/AppData/Local/」に存在する Mobius Offline Toolkit フォルダーを削除します。

3) 新しいバージョンの MOT をインストールし、上記 1 で移動した activation ファイルを以下のフォルダー内に移動します。

C:/ユーザー/ユーザー名/AppData/Local/Mobius Offline Toolkit/app



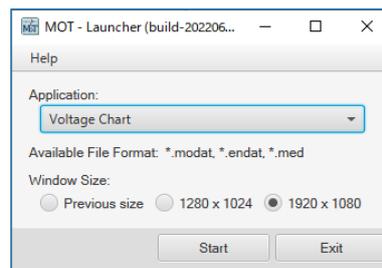
電子メールの添付ファイルとして activation ファイルを送信すると、activation.dat という拡張子が付いた名前のファイルとなる。
そのままではアクティベーションできないため、拡張子.dat を削除して移動させる。

1.3. 起動

1) スタートメニューの AlphaMED Scientific フォルダから MED64 Offline Toolkit を選択して起動します。



2) 解析ツールを選択するランチャーが起動した後、使用する解析ツールとウィンドウサイズを指定して Start をクリックします。終了する場合は Exit をクリックします。



1.4. ラストワンメモリ設計

MOT は終了時にユーザーが指定、選択した設定項目の情報を保存し、次回の起動時にそれら呼び出して起動します。

1.5. 使用メモリの割り当て変更

MOT は初期設定で最大 6GB のメモリを使用するように設定されています (8GB の PC を想定し、2GB は他の処理のために空けています)。ご使用の PC に十分なメモリサイズがある場合、その上限を増やして、処理速度の向上を図ることができます。

C:\ユーザー\ユーザー名\AppData\Local\MED64 Offline Toolkit/app

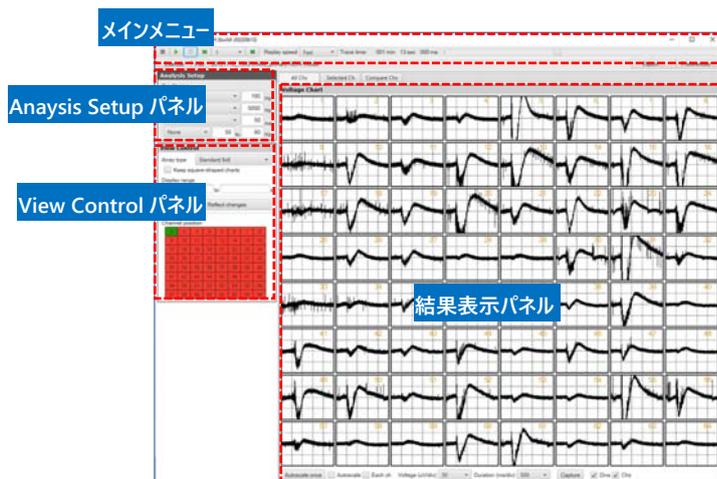
にある MED64 Offline Toolkit.cfg をテキストエディターで開き

```
[JVMOPTIONS]
-Xmx6000m
```

を修正後 (例: 6→12GB の場合、Xmx6000m→Xmx12000m)、保存して使用メモリを変更します。

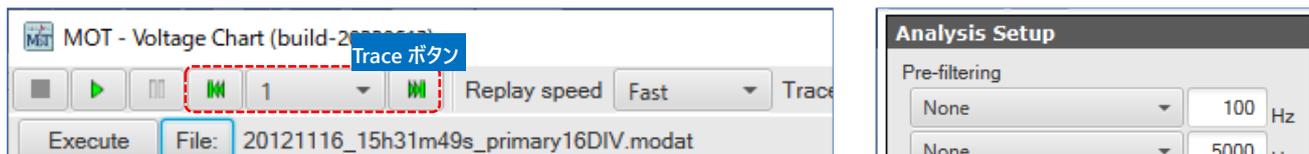
1.6. 解析ツールの基本事項

MOT を構成する各解析ツールには、共通する画面構成と操作手順があります。



1.6.1. メインメニューと Analysis Setup パネル

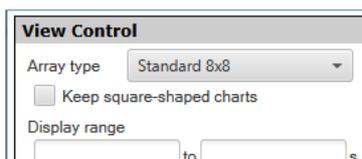
1) File ボタンをクリックして解析対象のデータファイルを選択します。2) Analysis Setup パネル上で解析条件を設定し、3) Execute ボタンをクリックして解析処理を開始し、処理終了後に結果表示パネルに結果を表示します。例外はありますが、これらの 3 ステップが MOT の基本操作となります。また横軸を時間とするタイムチャート形式の結果については、▶ (再生)、■ (停止)、|| (一時停止) の各ボタンでリプレイできます。複数の Trace で構成されるデータファイルについては、Trace ボタンで結果を表示する Trace 番号を切り替えます。解析ツールによっては、結果をファイル出力する Export ボタンや、グラフやチャートの外観をカスタマイズする Preference ボタンも有効です。



メインメニュー (左) と Analysis Setup パネル (右)。Analysis Setup パネルはタイトルバーとその背景色がその他のパネルと異なる。

1.6.2. View Control パネル

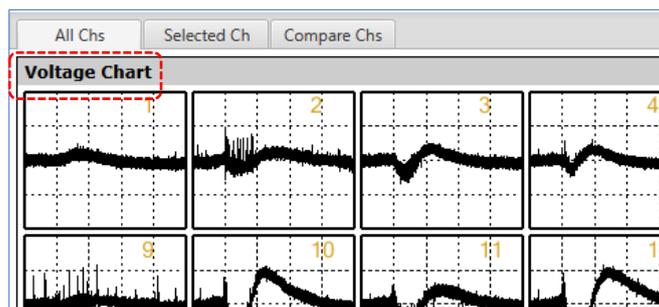
解析処理終了後に、結果表示パネルに結果を表示する対象電極や時間範囲等を指定します。一部の解析ツールには存在せず、また解析ツールごとに内容も異なります。データファイル選択後の解析処理前にも操作できますが、基本的には解析処理後に操作するパネルです。



Voltage Chart ツールの View Control パネル。

1.6.3. 結果表示パネル

解析結果を表示するパネルで、解析ツールごとにパネルの名前、種類、数、機能が異なります。

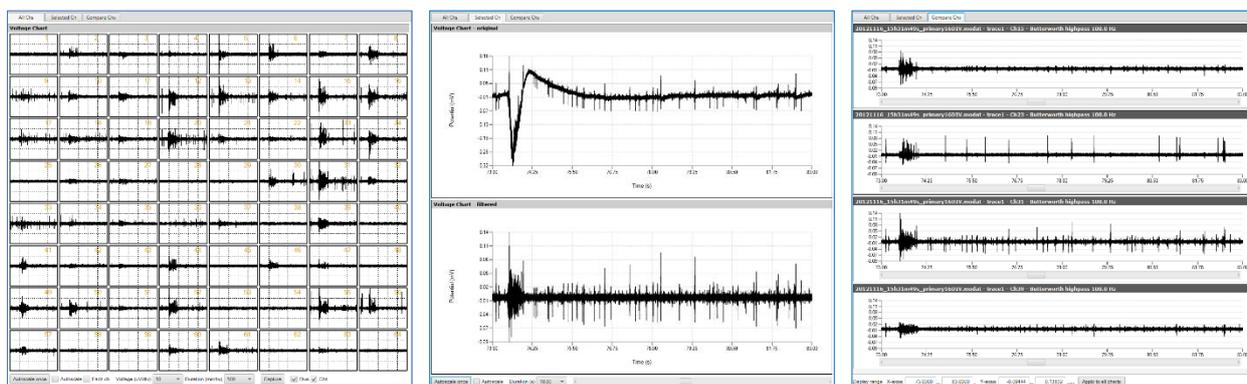


Voltage Chart ツールの Voltage Chart パネル。

Voltage Chart

1. 概要

Voltage Chart は生データの波形表示に特化したツールです。Mobius よりも長時間のデータ区間を表示でき、フィルター処理やファイル変換出力機能も備えています。表示区間中の数値データのテキスト出力や、任意の電極の比較表示も行えます。結果表示パネルは 3 つのタブウィンドウで構成され、All Chs タブでは 64 電極画面で波形をリプレイし、Selected Ch タブでは任意選択した 1 電極のフィルター処理適用前後の波形を表示します。All Chs タブでの時間軸のリプレイ表示範囲はメモリの都合により最大 5000 ms/div の制限があるものの、静止表示範囲には制限がなく、読み込んだデータファイルの全長を表示できます。Compare Chs タブでは Selected Ch タブで選択した電極について、指定区間を 1×n 電極配置で比較表示します。

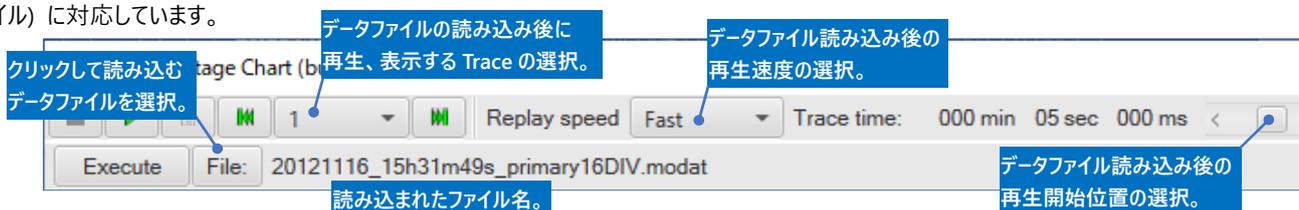


左から All Chs、Selected Ch、Compare Chs の各タブ。

2. 操作手順

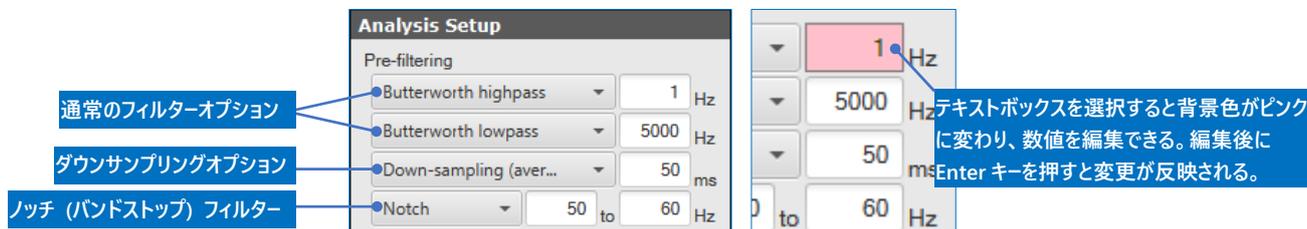
2.1. データファイルの読み込み

メインメニューの File ボタンをクリックしてデータファイルを選択します。データファイルは modat 形式、endat 形式、または med 形式 (Conductor ファイル) に対応しています。



2.2. Analysis Setup パネル

表示する生波形にフィルター処理を適用します。Execute ボタンをクリックしてフィルター処理を実行します。設定したフィルターの数だけ処理中のプログレスウィンドウの数が増え、終了までの時間を必要とします。フィルター処理は常にオリジナルのデータファイルに対して適用され、連続して実行してもフィルター処理後のデータファイルにフィルター処理を重ねられません。



ダウンサンプリングメニューについて

Down-sampling (average) または **Down-sampling (median)**: 指定した時間窓ごとに時間軸を区切り、各区間で平均値または中央値を算出してその区間のデータ点とします。例えば「50」と入力した場合、データは 0.05 ms ごとの離散値であることから、 $50 / 0.05 = 1000$ 、つまり 20000 Hz から 20 Hz のダウンサンプリングとなります。

Down-sampling: 指定したデータ点の時間窓 (50 と入力すれば 2.5 ms) ごとに時間軸を区切り、その中心時間 (50 の場合は 25 点目) のデータをその区間のデータ点として置き換えます (未加工の modat ファイルの場合、 $20000 / 50 = 400$ Hz のダウンサンプリングとなります)。

2.2. View Control パネル

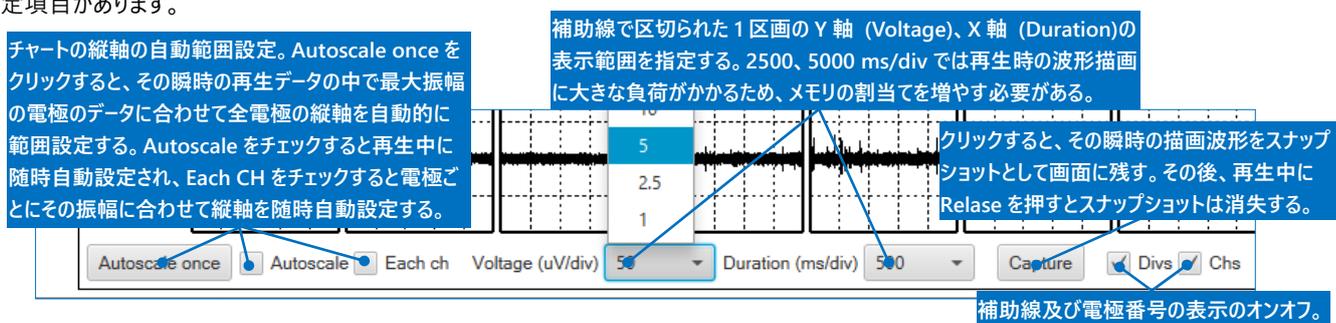
データファイル読み込み、またはフィルター処理の終了後、View Control パネル上で波形表示の設定を随時変更できます。Array typ では All Chs タブ上での電極配列の表示形式を指定します。Keep square-shaped charts をチェックすると Standard 8x8 表示での各電極チャートは正方形になります。Display range では静止表示範囲を任意指定でき、Show as a drop chart をチェックするとチャートをデータ点のみで表示して描画に関わる処理負荷を軽減できます。いずれも Reflect changes ボタンをクリックして変更を反映します。Channel position では Selected Ch タブでチャートを表示する電極番号を指定します。



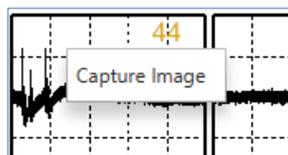
Rat hippocampal 表示 (中央) と Keep square-shaped charts にチェックを入れた状態での Standard 8x8 表示 (右)。

2.3. All Chs タブ

データファイル読み込み、またはフィルター処理の終了後、メインメニュー上のツールバーを使用してデータをリプレイします。タブの下位置には表示範囲等の設定項目があります。



All Chs タブ上で右クリックすると 64 電極画面の画像を保存する右クリックメニューが現れ、Capture Image を選択するとツールバーを除く 64 電極画面のみをクリップボードに保存します。

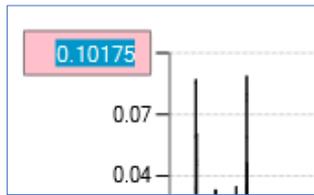


2.4. Selected Ch タブ

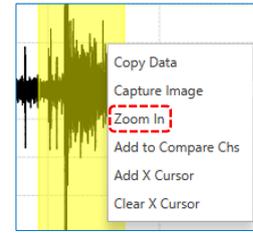
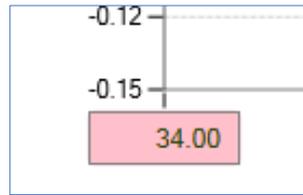
データファイル読み込み後に View Control パネル上の Channel Position で電極番号をクリックすると、該当する電極のデータファイル全長の波形を表示します。フィルター処理適用前の原波形を上段、フィルター処理適用後の波形を下段に表示します。タブの下位置には縦軸や横軸の表示範囲を指定する設定項目があります。



表示範囲はツールバーの Duration (s) で X 軸を指定する以外にも、数値軸の最大値または最小値をクリックして直接編集して変更できます。また、チャート上で右クリックすると右クリックメニューが現れます。事前にドラッグ&ドロップで範囲指定すると Zoom in が加わり、X 軸指定範囲を拡大表示できます。その後 Zoom out を選択すると、Zoom in 前の表示に戻ります。



数値軸をクリックして編集後、Enter キーを押す。



Selected Ch タブの右クリックメニュー。

その他の右クリックメニューについて

Copy Data: 表示区間の数値データをクリップボードに保存します。Excel 等の表計算ソフトへの貼り付けが可能です。

Capture Image: チャートパネルを画像としてクリップボードに保存します。ペイント等の画像処理ソフトへの貼り付けが可能です。

Add to Compare Chs: 選択したチャートを Compare Chs タブに挿入します。

Add X measure: チャート上に X 軸の時間情報を示すカーソルを表示します。カーソル位置の数値をドラッグ&ドロップしてカーソルを動かします。

Clear X measure: 表示したカーソルを消去します。

2.5. Compare Chs タブ

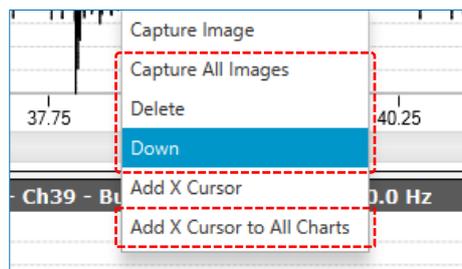
Selected Ch タブの右クリックメニュー Add to Compare Chs で選択したチャートを比較表示するタブです。データファイルを変更しても追加したチャートは残るため、異なるデータファイル間でもチャートを比較できます。タイトルバーには追加したデータの情報 (ファイル名-Trace 番号-電極番号-フィルター処理の有無) を表示します。



チャートごとの個別の軸変更は行えず、タブの下位置にある設定項目での一括変更のみ可能です。

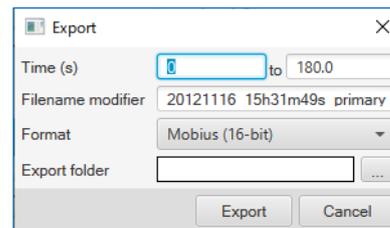
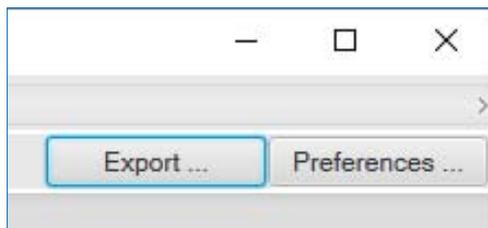


また右クリックメニューより、画像保存や挿入したチャートの削除、位置の入れ替えができます。



2.6. ファイル出力

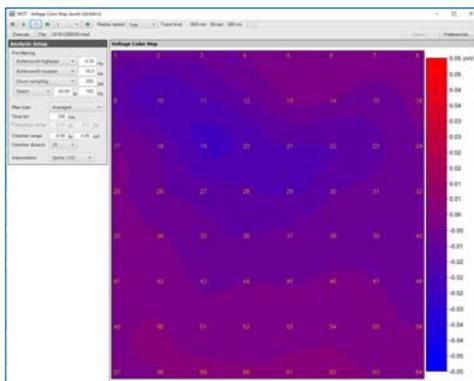
フィルター処理後の波形は modat 形式 (64chs) または csv 形式でのファイル出力も可能です。メインウィンドウ右上の Export ... をクリックして Export ウィンドウを表示させ、出力先フォルダーを指定した後に Export をクリックすることでファイル出力を実行します。



Voltage Color Map

1. 概要

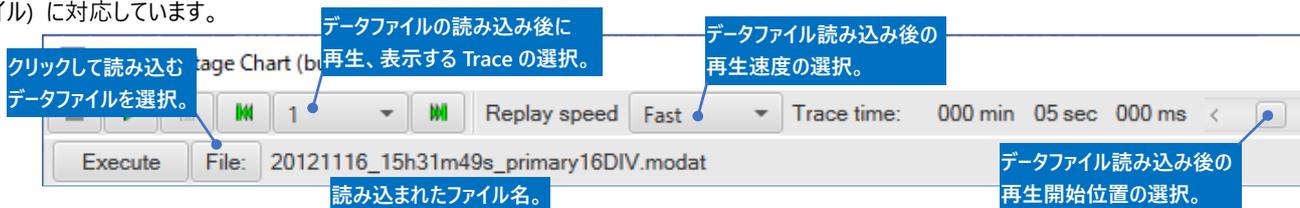
Voltage Color Map は生データの電圧値をカラーマップとして表現するツールです。MEA では電極ごとに信号源との距離や密度が異なり、それによって取得する電圧値が変化します。そのため、ある電極から別の電極に向かって信号が伝搬する様子をカラーマップで表現する場合には、電極ごとにその電圧値を標準化する必要があります。本ツールでは Iwata N et al. (Biosens. Bioelectron., 94, 312-320, 2017) の報告に準拠し、任意の周波数帯域のリニアスペクトルを用いて電圧値を標準化します。本ツールのメインウィンドウは Analysis Setup パネルと結果表示パネル Voltage Color Map により構成されます。



2. 操作手順

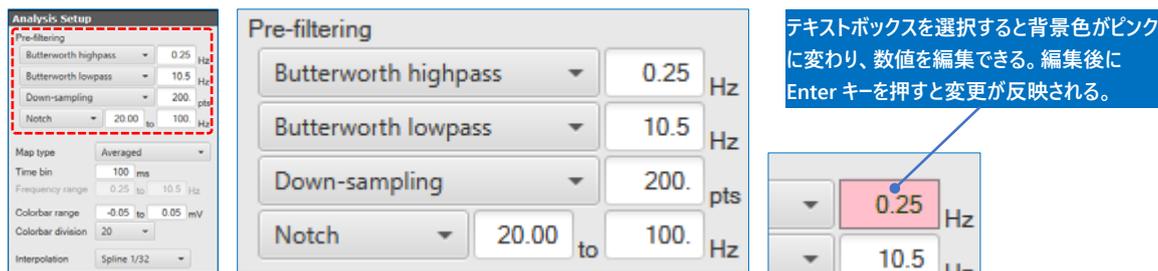
2.1. データファイルの読み込み

メインメニューの File ボタンをクリックしてデータファイルを選択します。データファイルは modat 形式、endat 形式、または med 形式 (Conductor ファイル) に対応しています。



2.2. Analysis Setup パネル

表示する生波形にフィルター処理を適用します。Execute ボタンをクリックして、フィルター処理を実行します。設定したフィルターの数だけ出現するプログレスウィンドウの数が増え、処理に時間を必要とします。フィルター処理は常にオリジナルのデータファイルに対して適用され、連続して実行することでフィルター処理後のデータにフィルター処理を重ねることはできません。



制御エリアの Filter Raw Data パネル。

ダウンサンプリングについて

Down-sampling (average) または **Down-sampling (median)**: 指定した時間窓ごとに時間軸を区切り、各区間で平均値または中央値を算出してその区間のデータ点とします。例えば「50」と入力した場合、データは 0.05 ms ごとの離散値であることから、 $50 / 0.05 = 1000$ 、つまり 20000 Hz から 20 Hz のダウンサンプリングとなります。

Down-sampling: 指定したデータ点 (「50」と入力すれば 2.5 ms) の時間窓ごとに時間軸を区切り、その中心時間 (50 の場合は 25 点目) のデータをその区間のデータ点として置き換えます。未加工の modat ファイルでは $20000 / 50 = 400$ Hz のダウンサンプリングとなります。

データファイル読み込み後、カラーマップの表示条件を指定します。Map type は Averaged、Integrated、Corrected から指定します。Averaged は Time bin で指定した区間ごとに電圧値の区間平均、Integrated は総和を算出し、値をカラー表現します。Corrected は Frequency range で指定した周波数帯域のリニアスペクトルの総和を元に、

$$\text{電極の電圧値の区間平均} \times \frac{\text{全電極の指定周波数帯域のリニアスペクトルの総和の電極平均}}{\text{該当電極の指定周波数帯域のリニアスペクトルの総和}}$$

に従って補正した値でカラー表現します。なお、リニアスペクトルを算出する際の FFT サイズは 8192 (固定) であり、Trace 全長で短時間フーリエ変換を行った後、得られたスペクトルの周波数ごとの平均値を上記の式に適用します。

1つのマップデータとしてまとめる時間窓の指定。

Map type で Corrected を指定した場合、リニアスペクトルの周波数帯域を指定。

カラー表現する電圧値の範囲を指定。

Map type: Averaged

Time bin: 100 ms

Frequency range: 0.25 to 10.5 Hz

Colorbar range: -0.05 to 0.05 mV

Colorbar division: 20

Interpolation: Spline 1/32

時間窓ごとの代表値の算出方法を指定。

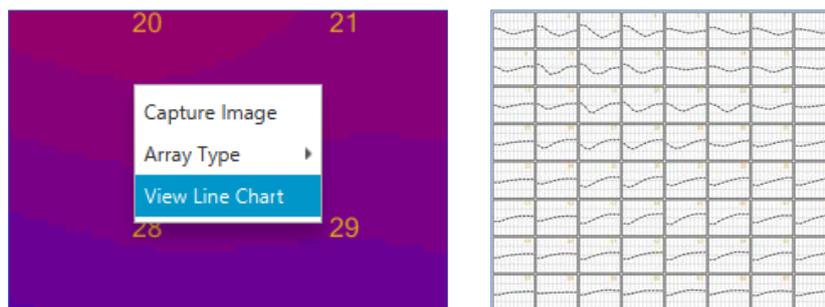
カラーバーの識別色の分割数を 5、10、20 から指定。

電極と電極の間を中間色で補間する方法 (直線補間またはスプライン補間) とその段階数を指定。

条件設定後、Execute をクリックしてカラーマップを作成します。条件を変更して結果を出力する場合は、その都度 Execute をクリックして再処理します。

2.3. Voltage Color Map パネル

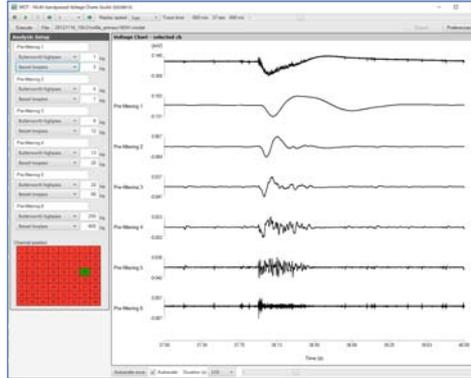
Analysis Settings パネルで設定した解析条件に基づく結果を表示します。メインメニューの再生ボタンをクリックすると、指定した再生速度でカラーマップを連続表示します。右クリックメニュー Capture Image により、その瞬時のカラーマップをクリップボードに保存し、画像処理ソフトに貼り付けできます。MED64-Entry のデータファイルを読み込んだ場合は Array Type から該当の電極配列を選択します。また View Line Chart を選択すると、時間窓ごとの値をカラーマップではなく、チャートとして表示します。



Multi-bandpassed Voltage Charts

1. 概要

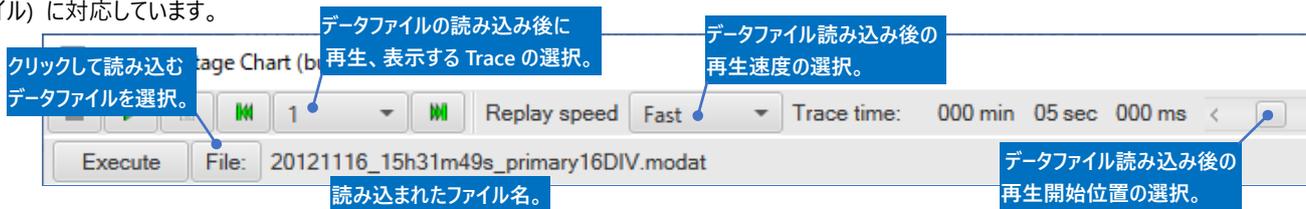
Multi-bandpassed Voltage Charts は同一データファイルに対し、最大で 6 つのフィルター処理適用後波形を同時に表示し、比較するツールです。フィルター処理には大きな負荷が伴いますが、解析対象とする電極数を 1 つに絞り込むことによって、異なる複数の帯域でフィルター処理した波形を同時比較します。メインウィンドウは Analysis Setup パネルと結果表示パネル Voltage Color Map により構成されます。



2. 操作手順

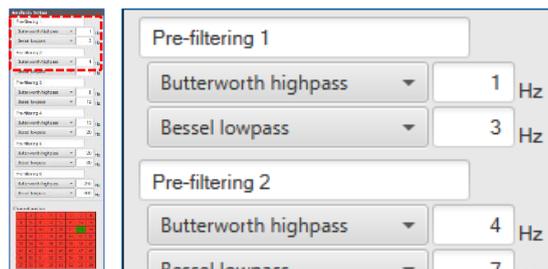
2.1. データファイルの読み込み

メインメニューの File ボタンをクリックしてデータファイルを選択します。データファイルは modat 形式、endat 形式、または med 形式 (Conductor ファイル) に対応しています。



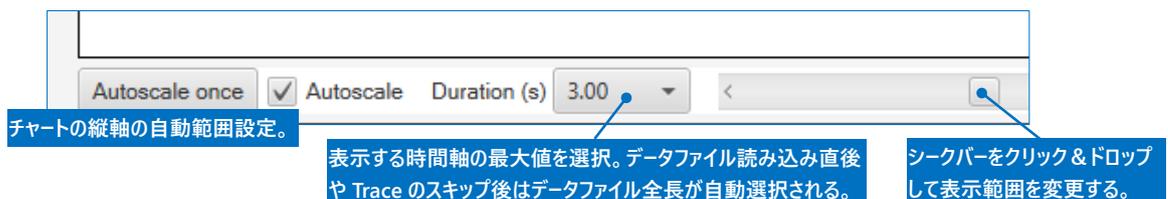
2.2. Analysis Setup パネル

最大で 6 パターンのフィルター処理を適用します。対象とする電極番号は、実行前に Channel position より選択します。Execute ボタンをクリックして、フィルター処理を実行します。設定したフィルターの数だけ出現するプログレスウィンドウの数が増え、処理に時間を必要とします。フィルター処理は常にオリジナルのデータファイルに対して適用され、連続して実行することでフィルター処理後のデータにフィルター処理を重ねることはできません。



2.3. Voltage Chart – selected ch パネル

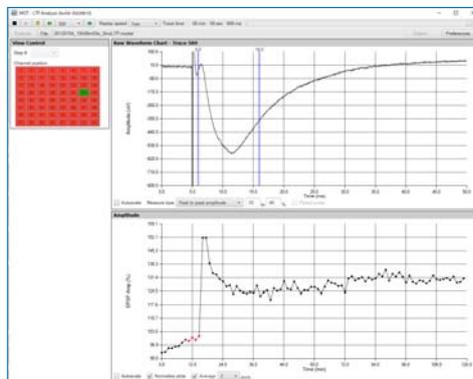
表示された波形画像は、右クリックメニュー Capture Image によりクリップボードへコピーできます。個々の波形チャートの縦軸及び共通の横軸は、最大値または最小値をクリックして直接編集し、表示範囲を変更します。またパネルの下位置にも表示範囲の設定項目があります。



LTP Analysis

1. 概要

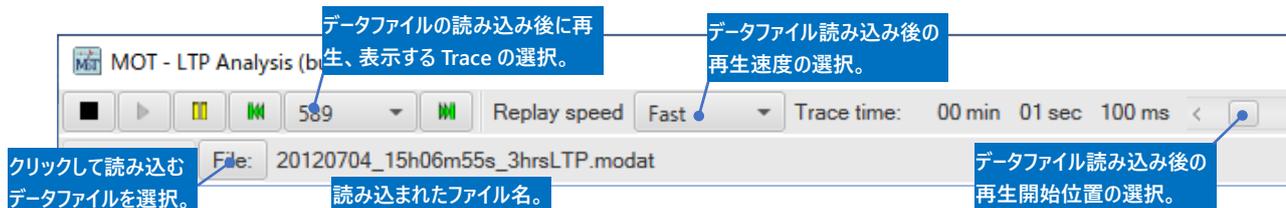
LTP Analysis は海馬スライス標本での誘発電位波形に対し、指定範囲の振幅や立下りの傾き等の測度を算出してタイムチャートに表示する解析ツールです。対象として 1 Trace につき 100 ms のデータ取得を数十から数百 Trace 繰り返したデータファイルを想定しており、Trace ごとに算出した測度をタイムチャートとして描画します。メインウィンドウは View Control パネルと結果表示パネル Raw Waveform Chart、Measurement Chart により構成されます。



2. 操作手順

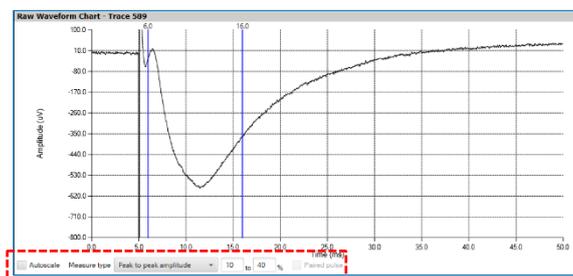
2.1. データファイルの読み込み

メインメニューの File ボタンをクリックしてデータファイルを選択します。データファイルは modat 形式、endat 形式、または med 形式 (Conductor ファイル) に対応しています。Raw Waveform Chart パネルで算出する測度の設定を行い、▶ (再生) をクリックして結果を Measurement Chart パネルにリプレイします。



2.2. Raw Waveform Chart パネル

1 Trace ごとの誘発電位波形を表示し、定量化する測度の種類及びその算出範囲を指定します。



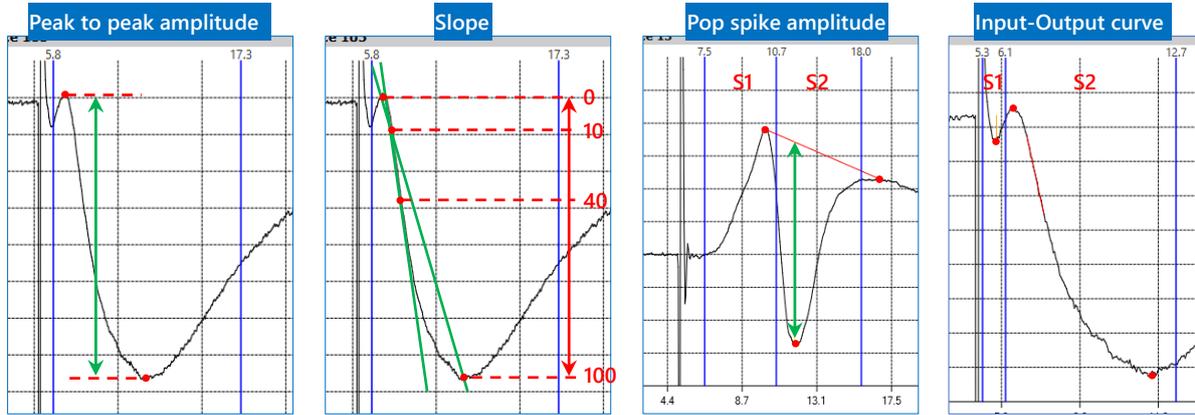
Measure type について

Peak to peak amplitude: 2 つのカーソル間のピークピーク振幅を算出します。

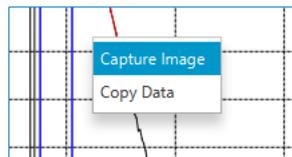
Slope: 2 つのカーソル間の最大値と最小値間のデータ点について、接線の傾きを最小二乗法により算出します。

Pop spike amplitude: 区間 1 (S1) と 2 (S2) の最大値を通る直線と区間 2 の最小値を通る垂線との交点を求め、その交点と区間 2 の最小値間の振幅を算出します。

Input-Output curve: 区間 1 (S1) の最小値と、区間 2 (S2) の最大値と最小値間のデータ点の接線の傾きを最小二乗法により算出します。

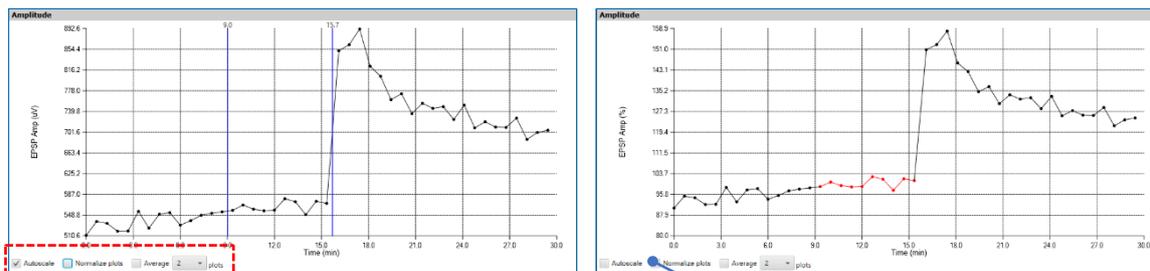


右クリックメニューにより、表示範囲の画像または生波形の数値データをクリップボードにコピーできます。



2.3. Measurement Chart パネル (Amplitude、Slope、Pop Spike Amplitude、Input-Output Curve)

Raw Waveform Chart パネルで算出した測度について、縦軸を測度、横軸を時間としたタイムチャートとして表示します。Input-Output curve については縦軸を傾き、横軸を振幅としたチャートとして表示します。Raw Waveform Chart パネルと同様に、右クリックメニューにより表示範囲の画像またはチャートの数値データをクリップボードにコピーします。



チャートの縦軸の自動範囲設定。

チャート描画後に指定区間の絶対値の平均を 100 として縦軸の値を相対値に変換。

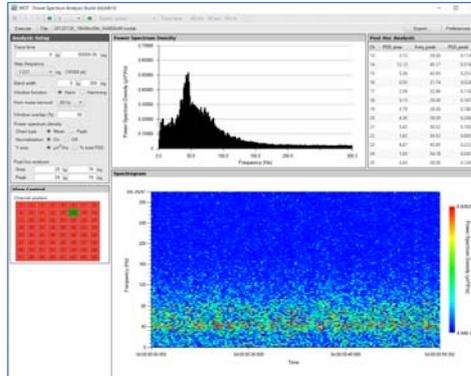


指定したプロットごとに平均値を算出してプロットを置換。

Power Spectrum Analysis

1. 概要

Power Spectrum Analysis は生データ波形を短時間フーリエ変換し、電極ごとのパワースペクトル密度 (power spectrum density、以下 PSD) をグラフ化、またスペクトログラムを表示するツールです。得られた PSD から、指定した周波数範囲の PSD の合計値及び PSD の最大値を求める Post hoc 解析 (事後解析) オプションを備えています。メインウィンドウは Analysis Setup パネルと View Control パネル、3 つの結果表示パネル Power Spectrum Density、Spectrogram、Post Hoc Analysis により構成されます。



2. 操作手順

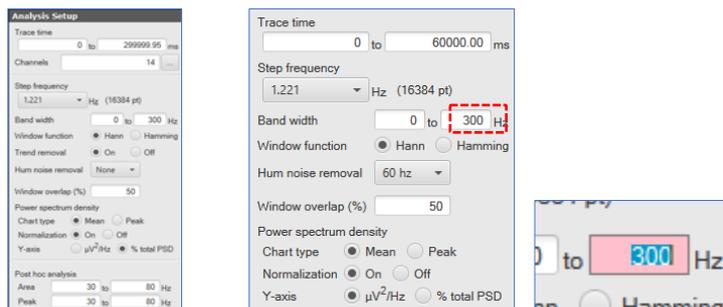
2.1. データファイルの読み込み

メインメニューの File ボタンをクリックしてデータファイルを選択します。データファイルは modat 形式、endat 形式に対応しています。本ツールでは生波形チャートや結果のリプレイはできません。



2.2. Analysis Setup パネル

データファイル読み込み後、解析条件を設定します。テキストボックスをクリックすると、背景色がピンクに変わって編集できる状態になり、編集後に Enter キーを押して変更を反映させます (背景色は白に戻ります)。



編集後に Enter キーを押さない変更は反映されない。

解析条件について

Trace time (ms): データファイルの解析対象区間を指定します。解析対象区間の終端において、FFT サイズで分割できない残余区間は解析から除外します。

Channels: データファイルの解析対象電極を指定します。絞り込むことによって、処理負荷を軽減できます。

Step frequency (Hz): 求める PSD の周波数解像度を指定します。言い換えると 2^5 から 2^{21} までの任意の FFT サイズ (FFT フレーム) を指定することに相当します。例えば 2^{14} (16384) の場合、ダウンサンプリングされていない modat ファイルは 0.05 ms ごとの離散値データであるため、基本周期は $16384 \times 0.05 = 819.2$ ms、即ち 1.221 Hz が基本周波数となります。

Band width (Hz): PSD の周波数帯域を指定します。

Window function: FFT フレームに適用する窓関数を指定します。

Hum nose removal: 50 Hz または 60 Hz のパワースペクトル密度を除去するオプションです。

Window overlap (%): FFT フレームを隣接する FFT フレームとオーバーラップさせる比率を 0-50%の間で指定します。

Power Spectrum Density

Chart type: PSD チャートに示す結果について、各時間窓で得られた PSD の平均値または最大値のどちらにするかを指定します。

Normalization: PSD の正規化の有無を指定します。正規化する場合、PSD は FFT サイズの 2 乗で割った値になり、サンプリング周波数の異なるデータファイル間の PSD を比較しやすくなります。

Y-axis: PSD の表示形式を指定します。% of total PSD を選択すると、Band width (Hz)で指定した帯域全ての PSD を 100 として、各周波数ビンの PSD をその比率で示します (% of total PSD 形式での表示の場合、正規化の有無は PSD の値に影響しません)。

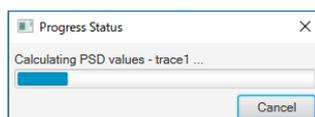
注: 本ツールではデータからデータを線形回帰 ($y=ax+b$) した値を引くトレンド除去をした後にフーリエ変換します。

Post Hoc Analysis について

周波数範囲を指定して解析を実行すると、その周波数範囲の PSD 合計値 (Area)、最大 PSD とその周波数 (Peak) を自動算出します。なおテキストボックスに整数値を入力すると、その整数にもっとも近い Step frequency (Hz) の倍数に置き換えられます。

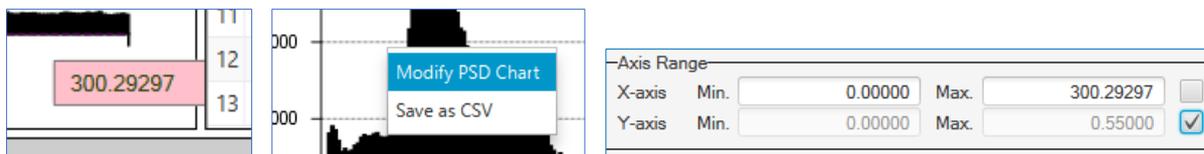
Post hoc analysis
 Area: 29 to 76 Hz
 Peak: 29 to 76 Hz

解析条件の指定後、メインメニューの Execute をクリックして解析処理を開始します。進行を示すプログレスバーが出現しますが、Cancel をクリックすることで解析処理を途中で中止できます。



2.3. Power Spectrum Density パネル

解析処理終了後、View Control パネルの Channel position で選択した電極のワースパクトログラムを表示します。複数 Trace で構成されるデータファイルの場合は、結果を表示する Trace をメインメニューのスキップボタンをクリックして変更します。表示範囲は軸の最大値及び最小値を直接編集するか、PSD チャート上での右クリックメニュー-Modify PSD Chart から呼び出す Preferences ウィンドウの PSD Chart Format タブ上で変更します。

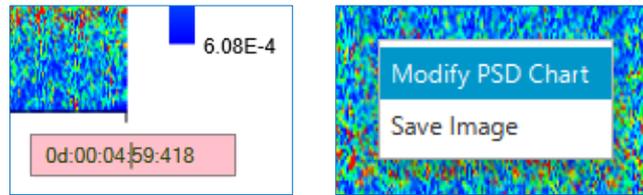


また右クリックメニュー-Save As CSV を選択すると、選択中の電極について FFT フレームごとの PSD をまとめた csv ファイルを出力します。

Frequency (Hz)	mean	peak	1	2	3
0	15140837.97	16488856	12129997.96	13782758.91	3398295.218
5	1.220703125	31559248.88	338201265.8	27159228.44	37586069.13
6	2.44140625	48993050.09	403409716.1	63819044.02	11607700.88
7	3.662109375	51515220.53	400193828	77727035.6	685156.9445
8	4.8828125	50132675.69	371324954	137126644.2	39542308.61
9	6.103515625	46439776.35	460938418.8	234466443	100733278.8
10	7.32421875	42588051.68	282102458.9	61950432.88	8288740.045
11	8.544921875	43674731.74	355022591.5	81817102.91	42453063.81
12	9.765625	42580934.04	299938163.4	60768814.48	25559507.45
13	10.98632813	43034793.56	271870843.6	4176076.902	21460170.96
14	12.20703125	44782982.55	312493079.5	11254778.85	43371064.05
15	13.42773438	45502785.39	347160543.2	18947182.77	49544709.05
16	14.6484375	47560554.09	328782332.9	148897004.4	18729114.98

2.4. Spectrogram パネル

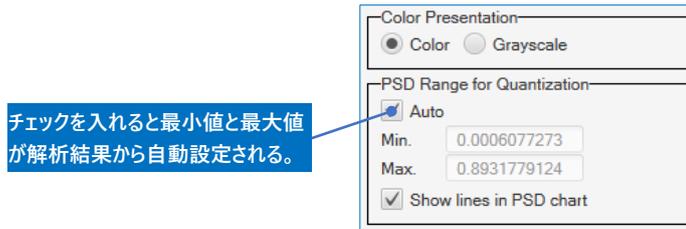
解析処理終了後、View Control パネルの Channel position で選択した電極のスペクトログラムを表示します。複数 Trace で構成されるデータファイルの場合は、結果を表示する Trace をプルダウンメニューまたはツールバーのスキップボタンをクリックして変更します。表示範囲は軸の最大値及び最小値を直接編集するか、右クリックメニュー-Modify PSD Chart から呼び出す Preferences ウィンドウの Spectrogram Format タブ上で変更します。



また右クリックメニュー Save Image を選択すると、表示中のスペクトログラムを emf 形式、bmp 形式または png 形式にてファイル出力します。

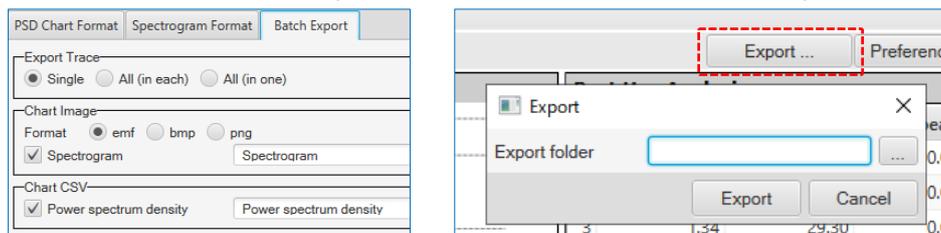
カラー指定について

スペクトログラムの濃淡は PSD の大きさを表しますが、初期設定では 0-255 の 256 段階のカラー表示となっています。Spectrogram Format タブの PSD Range for Quantization 欄の Auto にチェックを入れると、その最小値 (0) と最大値 (255) は解析で得られた全 PSD からの最小値と最大値を自動的に割り当てます。また Show lines in PSD chart にチェックを入れると、PSD チャート上に最小値と最大値を表す破線を表示します。



2.5. 解析結果の一括出力

PSD チャート及びスペクトログラムの右クリックメニューから出力する csv ファイル及び画像ファイルは一括出力できます。Preference ウィンドウの Batch Export タブで出力する項目を選択し、メインメニューの Exopt ... をクリックして出力先フォルダーを指定後、Export ボタンをクリックして出力します。



Batch Export タブの設定項目について

Export Trace: 結果を出力する Trace を指定します。Single は表示中の Trace のみ、All (in each) は全ての Trace を個別ファイルに、All (in one) は 1 つのファイルに出力します。

All (in one) を指定すると、一行空けて後続の Trace の結果がリストされる。

290	993.6523	2791398	30593784	35937.1
291	994.873	2788417	31876025	11974.4
292	996.0937	2782918	31886287	6716.3
293	997.3145	2733955	32438032	7671.2
294	998.5352	2725548	31769845	7974
295	999.7559	2714779	29077167	1982.8
296				
297	Frequency	Power Spectrum Density		
298	(Hz)	(uV ² /Hz)		
299		mean	peak	
300	0	3.04E+08	3.17E+09	4.37E+
301	1.220703	5.41E+08	5.25E+09	1.16E+
302	2.441406	4.55E+08	8.25E+09	3.16E+
303	3.662109	1.7E+08	6E+09	83690
304	4.882812	1.06E+08	4.52E+09	61385
305	6.103516	82264091	3.11E+09	32278

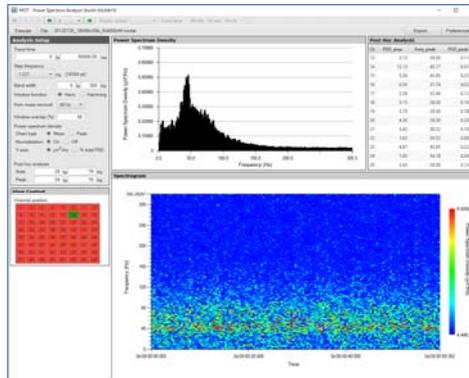
Chart Image: 選択中の電極のスペクトログラム画像を出力します。emf、bmp または png 形式から指定します。Export Trace で All (in one) を指定しても All (in each) 同様に Trace ごとの個別出力になります。またテキストボックスに入力したテキストは、出力ファイル名の末尾に「読み込みファイル名+テキスト」の形式で追加されます (Chart CSV でも同様です)。

Chart CSV: 選択中の電極について FFT フレームごとの PSD をまとめた csv ファイルを出力します。

Discrete Wavelet Transform

1. 概要

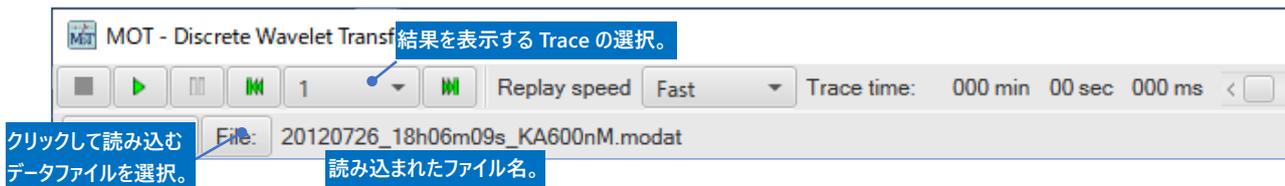
生データ波形をガボールウェーブレット変換します。メインウィンドウは Analysis Setup パネルと View Control パネル、2 つの結果表示パネル All Chs と Selected Ch により構成されます。



2. 操作手順

2.1. データファイルの読み込み

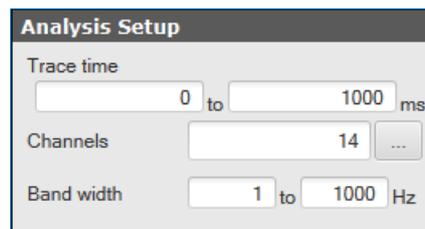
メインメニューの File ボタンをクリックしてデータファイルを選択します。データファイルは modat 形式、endat 形式に対応しています。本ツールでは生波形チャートや結果のリプレイはできません。



2.2. Analysis Setup パネル

データファイル読み込み後、解析条件を設定します。負荷が非常に大きな演算処理を実行するため、解析処理には時間を必要とします。そのため、Trace time と Channels で解析対象区間と電極をなるべく制限します。

注: 推奨動作環境を満たす PC であっても、10 秒間、1 電極のみの解析処理に約 1 分以上の時間を必要とします。

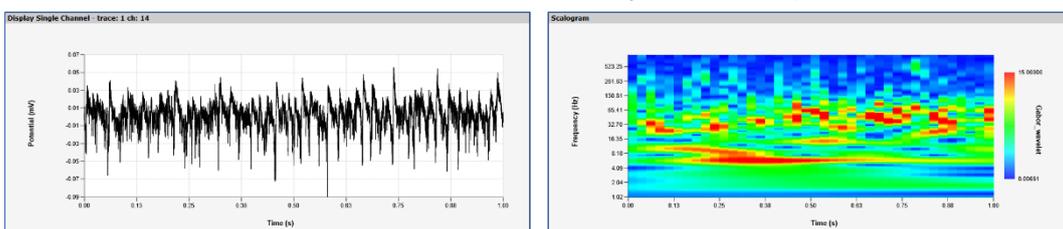


2.3. All Chs タブ

データファイル読み込み、または解析処理の終了後、メインメニュー上のツールバーを使用してデータをリプレイします。解析対象とする電位波形及びその電極を検討するにあたり、補助機能としてご利用ください。

2.4. Selected Chs タブ

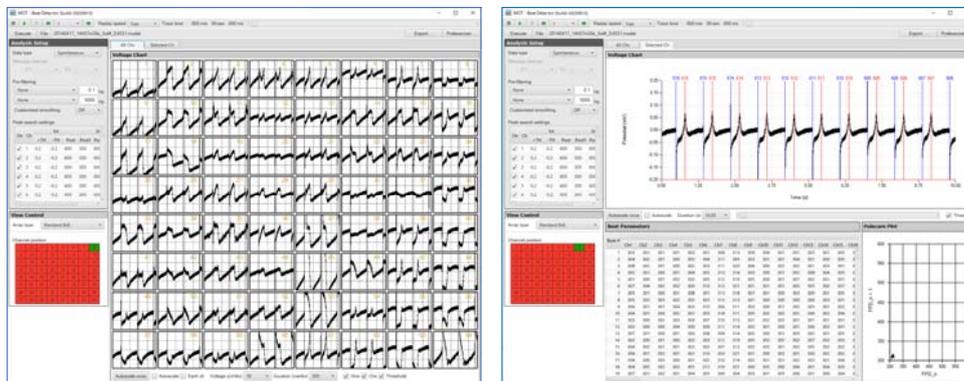
Channel position で選択した電極の電位波形チャートとスカログラムを表示します。後者は解析対象の電極でのみ表示できます。



Beat Detector

1. 概要

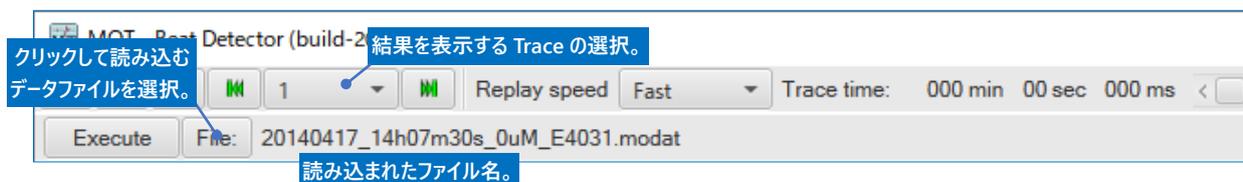
Beat Detector は培養心筋標本の 1 拍動ごとの電場電位波形を検出し、FPD (field potential duration) と ISI (interspike interval) を算出するツールです。Mobius では電場電位波形の検出時間に関する情報をタイムスタンプファイルとして出力しますが、Propagation Delay Map free ver. ツールでの興奮伝搬図作成に利用できます。メインウィンドウは Analysis Setup パネルと View Control パネル、結果表示パネルにより構成され、結果表示パネルは All Chs タブと Selected Ch タブに分かれます。



2. 操作手順

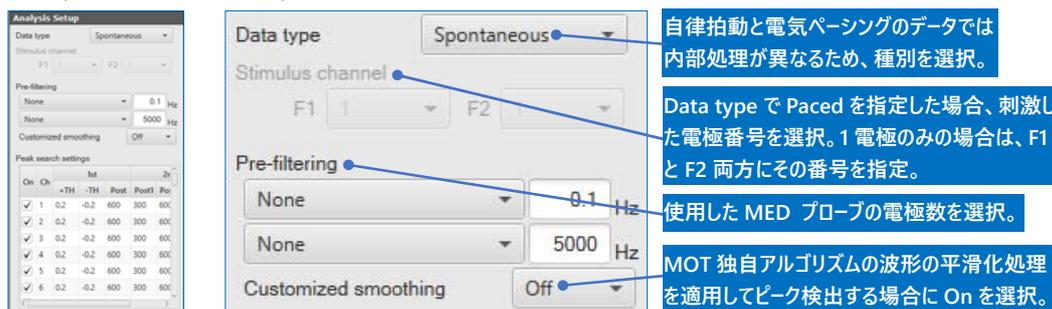
2.1. データファイルの読み込み

メインメニューの File ボタンをクリックしてデータファイルを選択します。データファイルは modat 形式、endat 形式に対応しています。本ツールでは生波形チャートや結果のリプレイはできません。



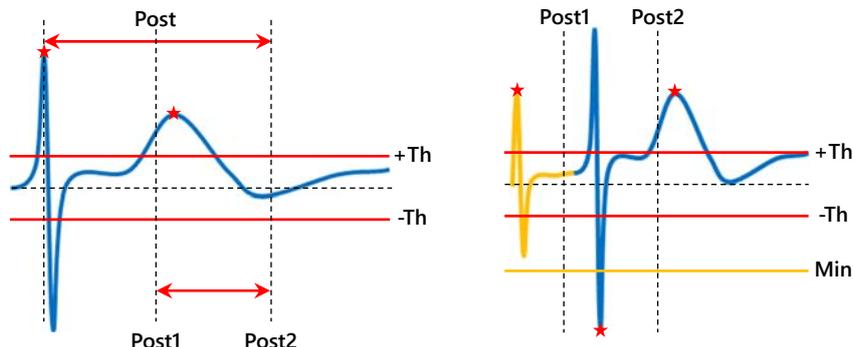
2.2. Analysis Setup パネル

データファイル読み込み後、解析条件を設定します。テキストボックスをクリックで選択すると、背景色がピンクに変わって編集できる状態になり、編集後に Enter キーを押して変更を反映させます (背景色は白に戻ります)。



Peak search settings で 1st ピークと 2nd ピークの検出範囲を設定します。Data type で Paced を指定した場合は、ペーシング応答の直前に刺激アーチファクトが存在する波形を想定し、Spontaneous 指定時と設定項目が異なります。

On	Ch	1st		2nd	
		+TH	-TH	Post	Post1
<input checked="" type="checkbox"/>	1	0.2	-0.2	600	300
<input checked="" type="checkbox"/>	2	0.2	-0.2	600	300
<input checked="" type="checkbox"/>	3	0.2	-0.2	600	300
<input checked="" type="checkbox"/>	4	0.2	-0.2	600	300
<input checked="" type="checkbox"/>	5	0.2	-0.2	600	300
<input checked="" type="checkbox"/>	6	0.2	-0.2	600	300



Spontaneous 指定時のアルゴリズムについて

信号と振幅閾値との交点の直後に出現するピーク (+Th の場合は +、- Th の場合は-) を 1st ピークとし、1st ピークから post1 で指定した範囲までは次のピークを検索しない。1st ピークを起点に post1 から post2 の範囲の最大値を 2nd ピークとして認識する。

Paced 指定時のアルゴリズムについて

信号と振幅閾値との交点の直後に出現するピーク (+Th の場合は +、- Th の場合は-) をアーチファクトピークとして認識し、post1 から post2 の範囲でピークを検索。Min よりも深ければ (小さければ) 1st ピークと認識する。1st ピークを起点に post1 から post2 の範囲の最大値を 2nd ピークとして認識する。

解析条件の指定後、メインメニューの Execute をクリックして解析処理を開始します。

2.3. View Control パネル

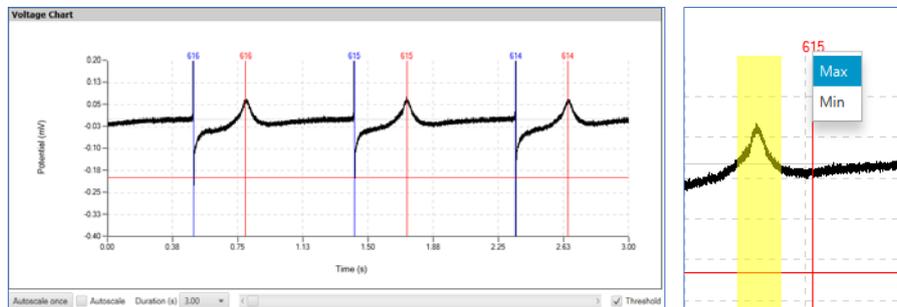
データファイル読み込み後、またはフィルター処理実行後 (プログレスウィンドウが消えた後)、View Control パネル上で波形表示の設定を随時変更できます。Array typ では All Chs タブ上での電極配列の表示形式を指定します。Channel position では Selected Ch タブの Voltage Chart パネルで電位波形を表示する電極番号を指定します。

2.4. All Chs タブ

Voltage Chart ツールの All Chs タブと同様に、64 電極の電位波形を表示します。リプレイもできます。

2.5. Selected Ch タブ

Channel position で選択した電極番号の電位波形と、解析処理により認識されたピーク点位置にカーソルを表示します。青は 1st ピーク、赤は 2nd ピーク位置を表します。カーソル番号は全データ区間中の最後に認識されたピーク位置を 1 として逆行方向に割り当てられます。データに部分的な変動があり、指定した検索範囲からピーク位置が外れてしまった場合は、番号をクリック&ドロップすることで任意にカーソル位置を修正できます。このとき、先にチャート上でクリック&ドラッグして範囲を指定し (黄色く強調表示されます)、番号上で右クリックして指定範囲の信号の最大値または最小値にピーク位置を修正できます。



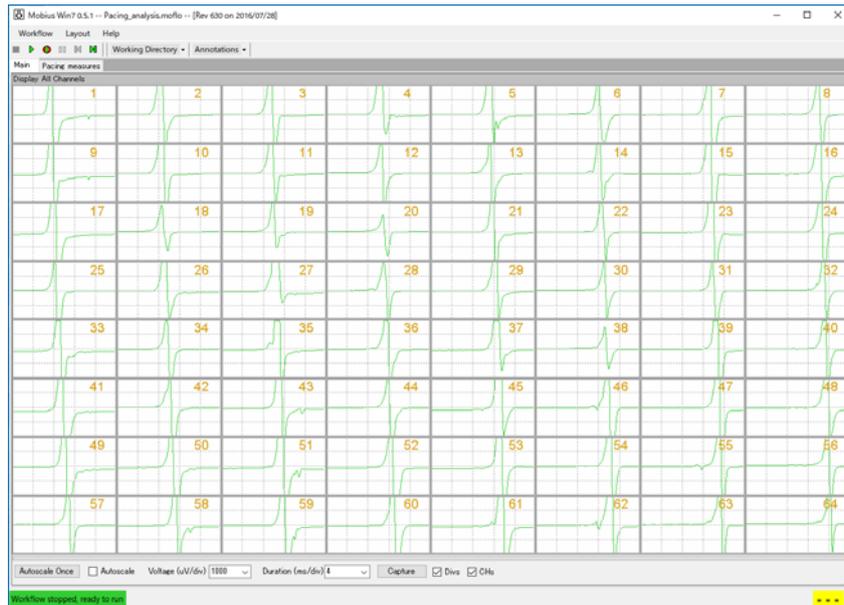
Beat Parameters パネルは、解析した全ての電極、全てのデータ区間を対象として、認識したピーク位置に基づき算出した FPD (1st ピークと 2nd ピークの時間間隔) と ISI (直前の拍動の 1st ピークと 1st ピークの時間間隔) を表示します。Voltage Chart パネル上でピーク位置を修正した場合、修正されたピーク位置に基づいて FPD と ISI も瞬時に修正されます (赤字で強調表示されます)。数値は右クリックメニューよりクリップボードにコピーし、Excel 等の表計算ソフトに貼り付けできます。

Beat #	Ch1	Ch2	Ch3	Ch4	Ch5	Ch6	Ch7	Ch8	Ch9	Ch10	Ch11	Ch12	Ch13	Ch14	Ch15	Ch16	
999	302	302	301	301	302	302	300	315	302	301	301	300	301	300	301	3	
1000	300	301	301	300	300	301	302	302	300	300	301	301	300	301	302	301	3
1001	301	300	301	301	300	301	301	307	300	302	300	301	301	301	300	301	3
1002	300	301	301	300	301	300	302	304	300	300	301	301	300	300	302	3	
1003	301	300	300	301	302	304	310	310	300	300	301	301	301	301	302	300	3
1004	302	300	301	300	300	302	301	302	302	300	300	300	301	302	300	302	3
1005	301	301	300	300	300	304	308	311	302	300	300	301	301	301	300	3	
1006	300	300	301	300	301	301	301	308	301	301	300	302	302	302	304	3	
1007	301	300	302	301	300	300	302	305	301	301	300	303	301	302	301	3	
1008	300	300	301	300	301	301	307	314	301	300	300	300	302	303	301	3	
1009	302	301	300	300	301	300	301	301	301	300	300	300	300	300	300	3	
1010	302	301	300	300	300	302	307	309	300	301	302	301	300	300	300	3	
1011	300	301	300	300	302	304	302	302	302	300	301	301	303	302	301	3	
1012	302	301	300	300	300	302	307	309	300	301	302	301	300	300	300	3	
1013	302	300	301	300	301	301	307	306	300	301	302	301	301	301	301	3	
1014	300	301	300	300	302	301	314	301	301	301	300	301	300	300	300	3	
1015	301	300	300	300	300	300	308	308	300	301	301	301	304	302	300	3	
1016	300	300	303	300	302	307	311	300	300	301	301	302	302	301	3		
1017	300	300	300	300	300	300	300	300	300	300	300	300	300	300	300	3	

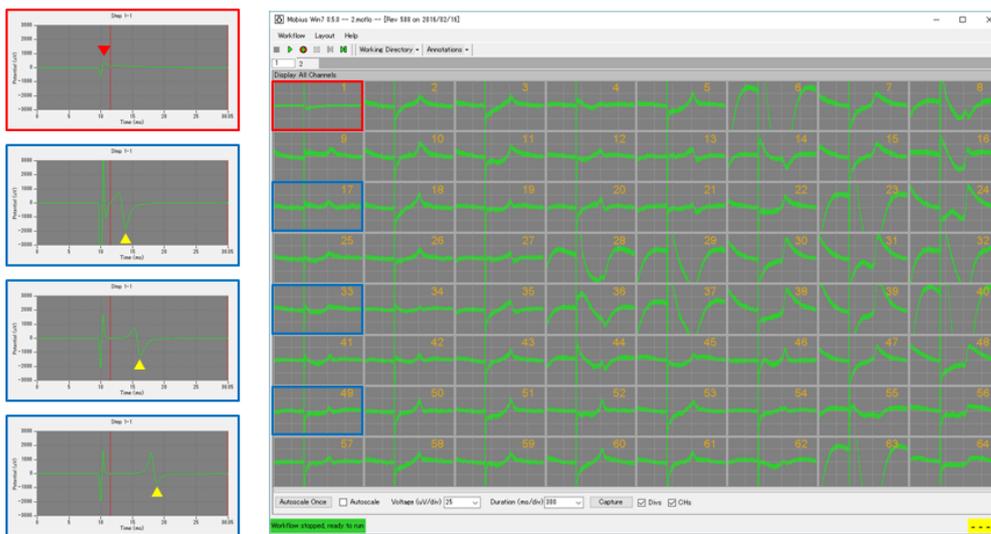
Propagation Delay Map (free ver.)

1. 概要

Propagation Delay Map (free ver.) は、培養心筋標本における 1 拍動ごとにギャップ結合を介して伝わる電氣的興奮（心筋 FP 波形）の伝導の様子をカラーマップとして表示します。全電極において最も早くに興奮を発生する電極を基準として、各電極間の電氣的興奮の発生タイミングの差（遅延時間）を算出し、等高線図で表します。本ツールにおける各電極での電氣的興奮の発生は、1 拍動ごとの心筋 FP 波形の 1st スパイクのピーク時間を観測点としており、入力ファイルとして Mobius で FP 波形検出後、出力したタイムスタンプデータファイルを対象としています。また自律拍動のみならず、電気ペーシングにより調律された拍動にも対応しており、後者においては刺激各電極にアーチファクトとして現れる波形のピーク点から、1st スパイクのピーク時間までの潜時を興奮伝導の差として評価します。そのため、電気ペーシングのデータを取り扱う場合は、入力ファイルとして Extract Spike Measures モジュールで算出し、Save Measures Data モジュールで出力した潜時の出力結果を対象とします（詳細は Mobius チュートリアルをご参照ください）。

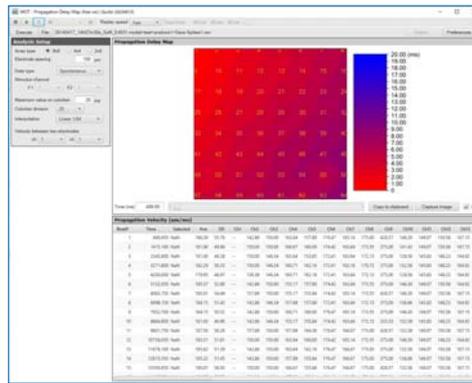


自律拍動のデータ。電極 1 から電極 64 へと 1st スパイクの出現タイミングに遅延が生じている。



電気ペーシングのデータ。電極 1 を刺激（赤枠の下向き三角）して発生した興奮の伝搬が、離れた電極ほど遅れて伝わる（青枠の下向き三角）。

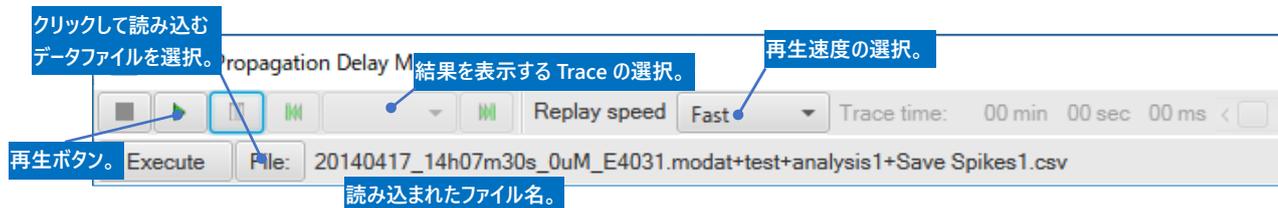
メインウィンドウは Analysis Setup パネルと 2 つの結果表示パネル Propagation Delay Map、Propagation Velocity (um/ms) により構成されます。



2. 操作手順

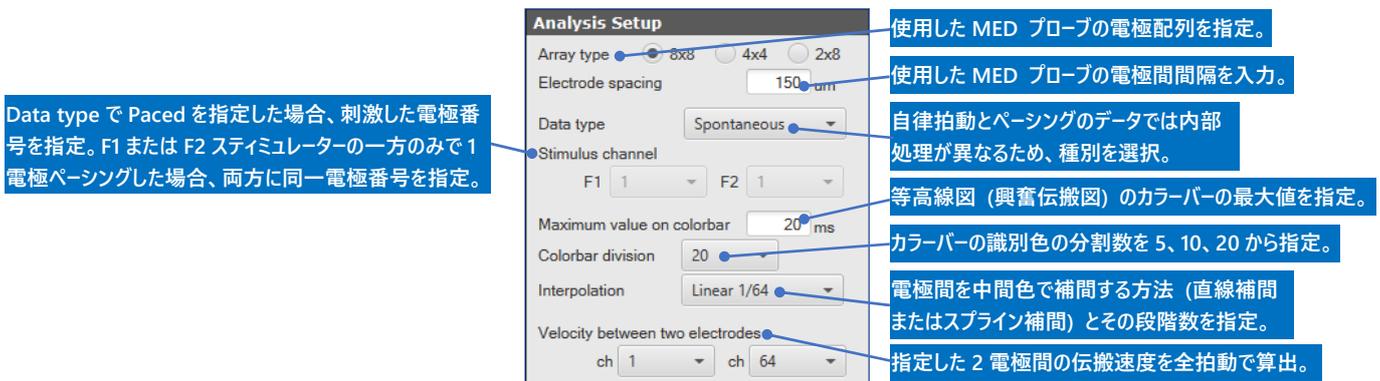
2.1. データファイルの読み込み

メインメニューの File ボタンをクリックしてデータファイルを選択します。データファイルは Mobius 固有のスパイクタイムスタンプ形式 (csv 形式) に対応しています。解析処理実行後、▶ (再生)をクリックすると、得られた興奮伝搬図をリプレイします。



2.2. Analysis Setup パネル

データファイル読み込み後、解析条件を設定します。Execute をクリックして興奮伝搬図を作成、伝搬速度を算出します。結果の出力後に条件を変更して結果を出力する場合は、その都度 Execute をクリックして再処理します。

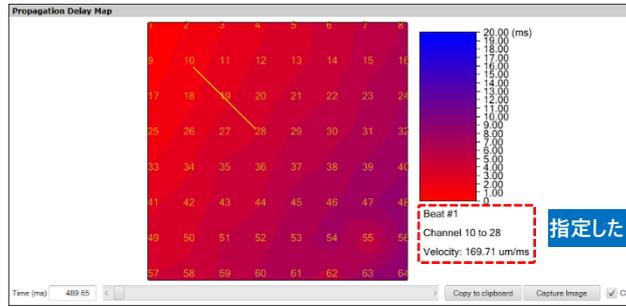


Spontaneous 選択時の内部アルゴリズムについて

ファイル中に含まれるタイムスタンプ (FP 波形の検出時間) リストから、総数が最大で、なおかつ電極番号が小さい電極を検索します。その電極内での 1 番目のタイムスタンプから 600~3000 ms 後の範囲で 2 番目のタイムスタンプを検索し、その後同様に次に続くタイムスタンプを検索して拍動タイミングの目安とします。その結果得られた 1 電極内の 1 拍動ごとのタイムスタンプの前後 500 ms の範囲について、その他の電極においてもタイムスタンプを検索し、一番早いタイムスタンプの電極をもっとも早くに興奮を発生する電極 (ペースメーカー部位) とします。この処理を各拍動ごとに実行し、伝搬図を作成します。

2.3. Propagation Delay Map パネル

検出した 1 拍動ごとの興奮伝搬図を表示します。コマンドバーの再生ボタンをクリックすると、指定した再生速度で伝搬図を段階的に表示 (アニメーション表示) します。伝搬図上の電極番号を左クリックと右クリックで 2 つ選択すると、その電極同士のタイムスタンプの時間差に基づいて算出した伝搬速度を表示します。パネル下位置にあるシークバー操作によって任意の時間の伝搬図にスキップできます。Copy to clipboard ボタンをクリックすると表示中の伝搬図作成の元になった各電極のタイムスタンプの時間差を数値情報としてクリップボードに保存し、Excel 等の表計算ソフトに貼り付けできます。また Capture Image ボタンをクリックすると画像をクリップボードに保存し、画像処理ソフトへ貼り付けできます。



2.4. Propagation Velocity (um/ms) パネル

1 拍動ごとの伝搬速度を表示します。最も早くに興奮を発生した電極については伝搬速度を表示しません (「--」を表示します)。右クリックメニュー Copy to clipboard を選択してテーブル中の全数値を csv 形式でクリップボードに保存し、Excel 等の表計算ソフトへ貼り付けできます。

Propagation Velocity (um/ms)								50.00	150.00	165.04	157.89	170.47	163.14	173.00	428.57	
Beat#	Time	Selected	Ave	SD	Ch1	Ch2	Ch3	Ch4	50.00	150.00	166.67	160.00	174.42	163.64	173.55	375.00
1	489.650	157.13	186.30	55.76	--	142.86	150.00	163.64	50.00	146.34	163.64	153.85	172.41	163.64	172.13	375.00
2	1415.100	155.49	181.90	49.99	--	150.00	150.00	166.67	50.00	146.34	160.00	Copy to Clipboard				
3	2343.800	155.49	181.00	49.28	--	150.00	146.34	163.64	36.36	146.34	160.00	Copy Selected Data to Clipboard				
4									42.86	150.00	155.17	Copy Velocities in the Currently Displayed Map				
5	5132.650	157.13	185.37	52.80	--	142.86	150.00	155.17	57.89	150.00	155.17	155.84	174.42	165.14	173.55	428.57
6	6063.750	156.31	185.91	54.49	--	157.89	150.00	155.17								

本例では ch1 が最も早くに興奮を発生。ch1 の 1st ピーク検出時間を基準に其他電極との時間差を算出したため、ch1 (赤枠) にはデータが表示されていない。

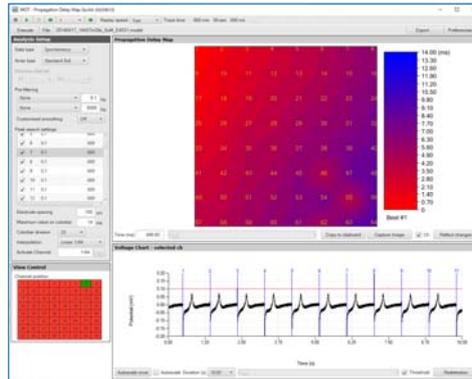
Copy Velocities in the Currently Displayed Map を選択すると、表示中の伝搬図における全電極の組合せについて、算出した伝搬速度をクリップボードに保存します。

	A	B	C	D	E	F	G	H
1		1ch	2ch	3ch	4ch	5ch	6ch	7ch
2	1ch	--	142.86	150	163.64	157.89	176.47	165.14
3	2ch	--	--	157.89	176.47	163.64	187.5	170.45
4	3ch	--	--	--	200	166.67	200	173.91
5	4ch	--	--	--	--	142.86	200	166.67
6	5ch	--	--	--	--	--	333.33	181.82
7	6ch	--	--	--	--	--	--	125
8	7ch	--	--	--	--	--	--	--
9	8ch	--	--	--	--	--	--	--
10	9ch	--	--	--	--	--	--	--

Propagation Delay Map

1. 概要

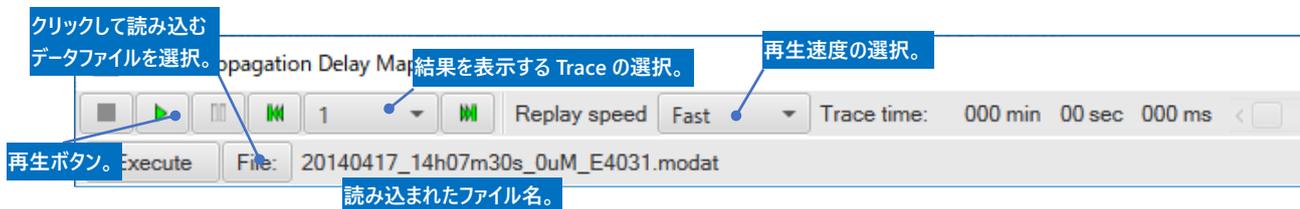
Propagation Delay Map は Propagation Delay Map (free ver.) の有償版ツールです。Mobius での FP 波形検出とそのタイムスタンプ (検出時間情報) データの出力を必要とせずに、直接 modat 形式のデータを読み込んで同ツール内で全工程を実施できます。Beat Detector と Propagation Delay Map (free ver.) の機能の一部を組み合わせて構成されており、2 つの結果表示パネルのうち Propagation Delay Map は後者の、Voltage Chart – selected ch は前者のツールに含まれるパネルとほぼ同一のインターフェースとなっています。そのため、本ツールの理解を深める目的で、各々のツールの説明を予めご参照ください。本ツールの最大の特徴として、電位波形のベースラインの変動や電極間での 1st ピーク振幅のばらつき等によって FP 波形やその 1st ピーク位置検出に問題があった場合に解析処理を再実行することなくそれらを手動修正し、その結果を即座に興奮伝搬図に反映させることが可能です。



2. 操作手順

2.1. データファイルの読み込み

メインメニューの File ボタンをクリックしてデータファイルを選択します。データファイルは modat 形式、endat 形式に対応しています。解析処理実行後、▶ (再生)をクリックすると、得られた興奮伝搬図をリプレします。



2.2. Analysis Setup パネル

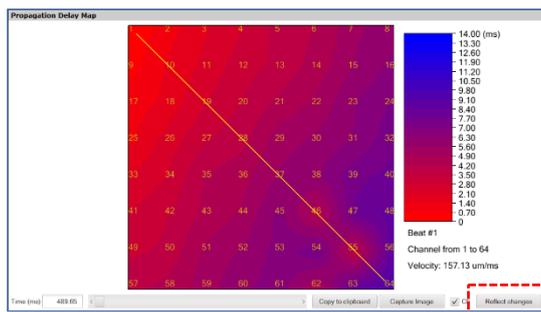
データファイル読み込み後、解析条件を設定し、Execute をクリックして興奮伝搬図を作成します。結果の出力後、条件を変更して結果を出力する場合は、その都度 Execute をクリックして再処理します。

Spontaneous 選択時の内部アルゴリズムについて

ファイル中に含まれるタイムスタンプ (FP 波形の検出時間) リストから、総数が最大で、なおかつ電極番号が小さい電極を検索します。その電極内での 1 番目のタイムスタンプから 600~3000 ms 後の範囲で 2 番目のタイムスタンプを検索し、その後同様に次に続くタイムスタンプを検索して拍動タイミングの目安とします。その結果得られた 1 電極内の 1 拍動ごとのタイムスタンプの前後 500 ms の範囲について、その他の電極においてもタイムスタンプを検索し、一番早いタイムスタンプの電極をもっとも早くに興奮を発生する電極 (ペースメーカー部位) とします。この処理を各拍動ごとに実行し、伝搬図を作成します。

2.3. Propagation Delay Map パネル

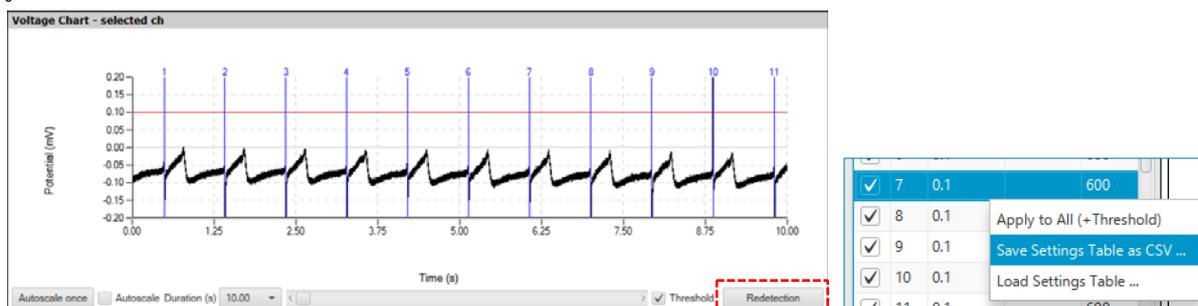
検出した 1 拍動ごとの興奮伝搬図を表示します。コマンドバーの再生ボタンをクリックすると、指定した再生速度で伝搬図を段階的に表示 (アニメーション表示) します。伝搬図上の電極番号を左クリックと右クリックで 2 つ選択すると、その電極間での伝搬速度を表示します。パネル下のシークバー操作によって任意の時間の伝搬図にスキップできます。Copy to clipboard ボタンをクリックすると表示中の伝搬図作成の元になる各電極の遅延時間の数値をクリップボードに保存し、Excel 等の表計算ソフトに貼り付けできます。また Capture Image ボタンをクリックすると画像をクリップボードに保存し、画像処理ソフトへ貼り付けできます。



Voltage Chart – selected ch パネル上での修正内容を興奮伝搬図に反映させる場合は、Reflect changes をクリックします。

2.4. Voltage Chart – selected ch パネル

Channel position で選択した電極番号の電位波形と、解析処理により認識された 1st ピーク位置にカーソルを表示します。Beat Detector と異なり、カーソル番号は順行方向に割り当てられます。番号をクリック&ドロップすることで任意にカーソル位置を修正でき、チャート上でクリック&ドラッグして範囲を指定した (黄色く強調表示されます) 後に、番号上で右クリックして指定範囲の信号の最大値または最小値にピーク位置を修正することも可能です。

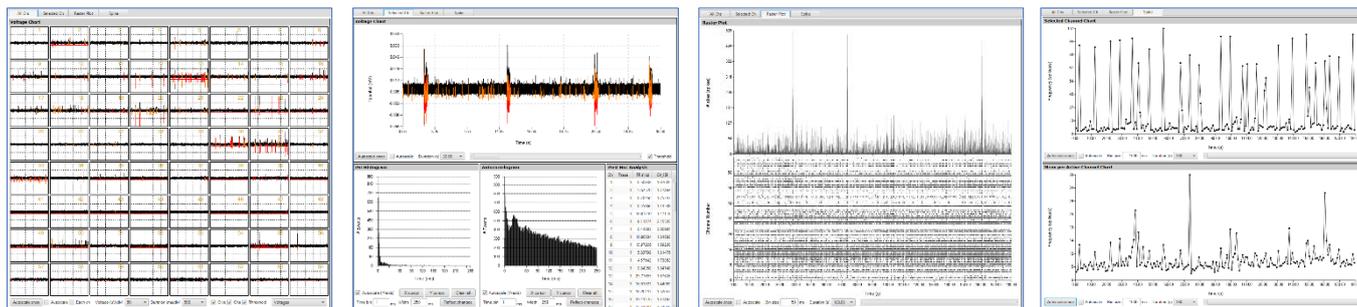


Analysis Setup パネルの Peak search settings で閾値を直接編集により変更し、ピーク位置を再検出する場合は Redetection ボタンをクリックします。

Spike Detector

1. 概要

Spike Detector は培養神経標本の活動電位に由来する細胞外電位波形をスパイクとして検出して、その結果を様々なチャートにより可視化するツールです。スパイクの検出時間に関する情報はタイムスタンプファイルとして出力でき、Burst Detector ツールでのバースト区間検出に利用できます。メインウィンドウは Analysis Setup パネルと View Control パネル、4 つのタブに配置された 12 の結果表示パネルにより構成されます。



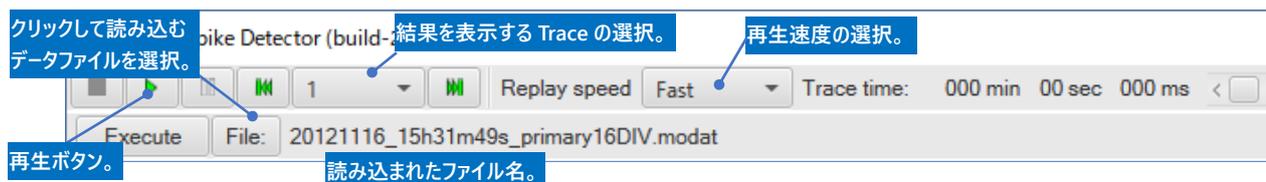
左から All Chs, Selected Ch, Raster Plot, Frequency の各タブ。

2. 操作手順

2.1. データファイルの読み込み

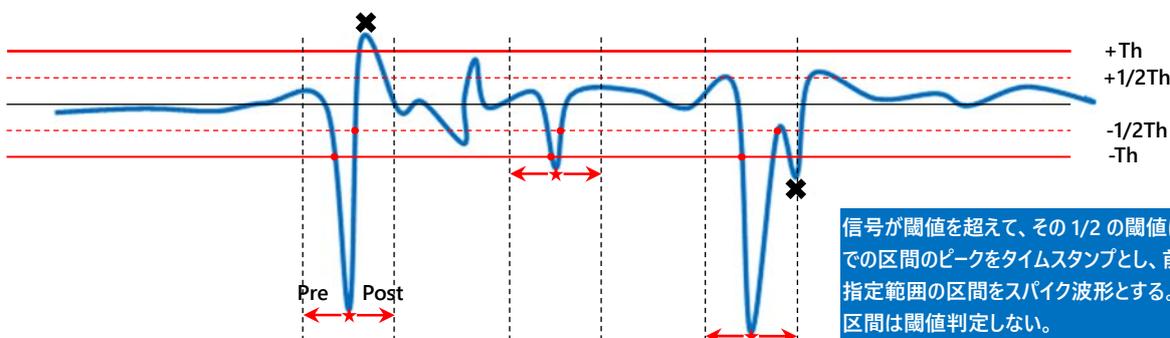
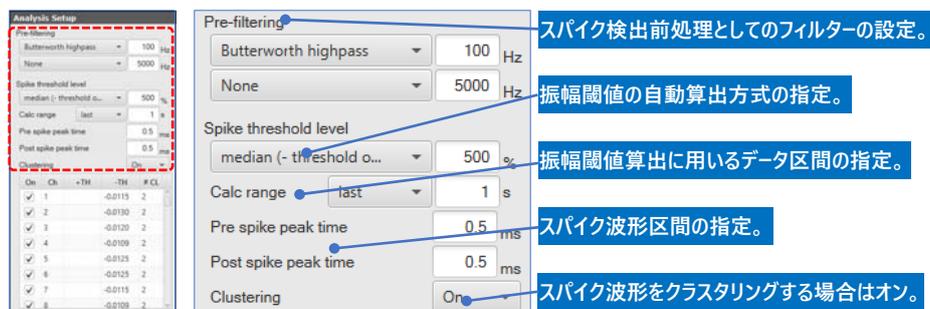
メインメニューの File ボタンをクリックしてデータファイルを選択します。データファイルは modat 形式、endat 形式に対応しています。解析処理実行後、

▶ (再生)をクリックすると、得られた興奮伝搬図をリプレイします。



2.2. Analysis Setup パネル

データファイル読み込み後、解析条件を設定します。テキストボックスをクリックで選択すると、背景色がピンクに変わって編集できる状態になり、編集後に Enter キーを押して変更を反映させます (背景色は白に戻ります)。



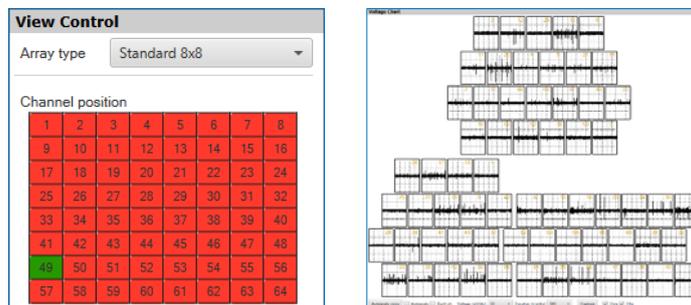
クラスタリングについて

1/2 閾値でのスパイク幅 (X) とスパイクピーク電位 (Y) を説明変数とした k-means 法により、指定した数のクラスターに検出スパイクを分類します。

解件設定後、Execute をクリックして解析処理を実行します。条件を変更して解析する場合は、その都度 Execute をクリックして再処理します。

2.3. View Control パネル

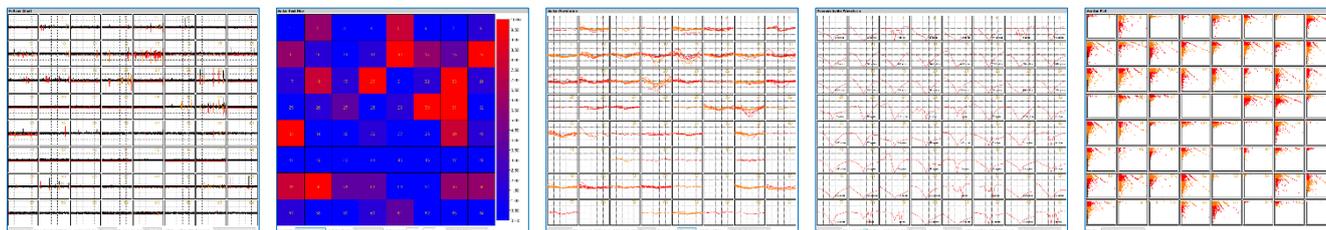
データファイル読み込み後、または解析処理実行後（プログレスウィンドウが消えた後）、View Control パネル上で波形表示の設定を随時変更できます。Array typ では All Chs タブ上での電極配列の表示形式を指定します。Channel position では Selected Ch タブでチャートを表示する電極番号を指定します。



Array type で Rat hippocampal を指定した場合の Voltages Chart (右)。

2.3. All Chs タブ

スパイク検出の経過や、検出されたスパイク波形等を 64 電極表示します。5 つのタブ（表示方法）から 1 つを選択して表示します。



左から Voltage Chart、Spike Heat Map、Spike Waveform、Averaged Spike Waveform、Scatter Plot。

以下では各チャートの下位置にある設定項目について説明します。

2.3.1 Voltage Chart パネル

検出されたスパイク波形は赤で強調表示されます。

チャートの縦軸の自動範囲設定。Autoscale once をクリックすると、その瞬時の再生データの中で最大振幅の電極のデータに合わせて全電極の縦軸を自動的に範囲設定する。Autoscale をチェックすると再生中に随時自動設定され、Each CH をチェックすると電極ごとにその振幅に合わせて縦軸を随時自動設定する。

補助線で区切られた 1 区画の Y 軸 (Voltage)、X 軸 (Duration) の表示範囲を指定する。2500、5000 ms/div では再生時の波形描画に大きな負荷がかかるため、メモリの割当てを増やす必要がある。

補助線、電極番号、閾値表示のオンオフ。

表示チャートの切り替え。



2.3.2. Spike Heat Map パネル

500 ms ごとに検出されたスパイク数を元に頻度を算出し、カラー表示します。

電極と電極の間を中間色で補間する方法（直線補間またはスプライン補間）とその段階数を指定。

カラーバーの識別色の分割数を 5、10、20 から指定。

カラー表現するスパイク検出率の範囲を指定。



2.3.3. Spike Waveform パネル

Display Count 以外の項目は Voltage Chart と同様です。

オーバーレイするスパイクの数。上限に達すると、オーバーレイする度に古いスパイク波形から順に消去する。



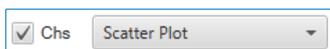
2.3.4. Averaged Spike Waveform パネル

Cluster #と SpikeCount 以外の項目は Voltage Chart と同様です。



2.3.5. Scatter Plot パネル

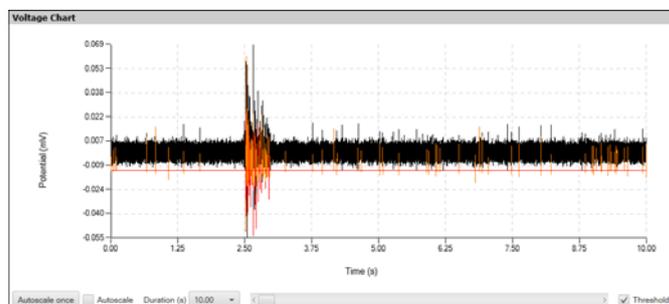
Scatter Plot には個別の設定項目はありません。1/2 閾値でのスパイク幅を X 軸、スパイクピーク電位を Y 軸として、検出スパイクの散布図を表示します。



2.4. Selected Ch タブ

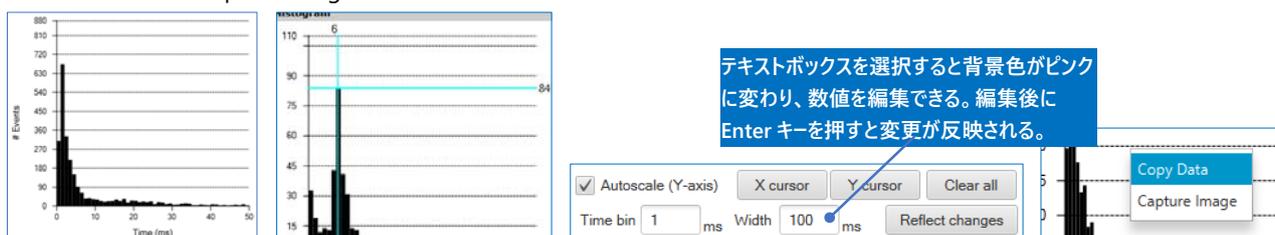
2.4.1. Voltage Chart パネル

データファイル読み込み後に View Control パネル上の Channel Position で電極番号をクリックすると、該当する電極のデータファイル全長のフィルター処理適用後の波形を表示します。Duration にて表示する時間範囲を指定します。縦軸と横軸の極値をクリックして直接編集し、表示範囲を任意変更できます。



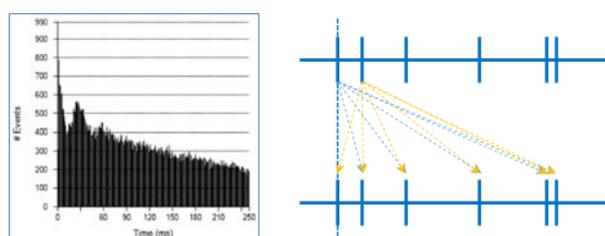
2.4.2. ISI Histogram パネル

Channel Position で指定した電極について、検出されたスパイクのスパイク間隔のヒストグラムを表示します。ヒストグラムの階級幅は Time bin、階級の最大値は Width で指定します。X cursor ボタンと Y cursor ボタンをクリックするとチャート上にカーソルが現れます。Channel position で別の電極のチャートを表示してもカーソルはそのまま残るため、ピーク位置やその時間を比較する目印となります。右クリックメニューより Copy Data で表示範囲の数値データを、Capture Image で画像をクリップボードに保存します。



2.4.3. Autocorrelogram パネル

Channel Position で指定した電極について、スパイクの自己相関ヒストグラムを表示します。ある電極において検出されたスパイク列について、各スパイク検出時間を 0 としてその他のスパイクとの時間差を指定した時間窓の階級で表し、各階級内でのスパイク検出頻度を棒グラフで表したヒストグラムです。



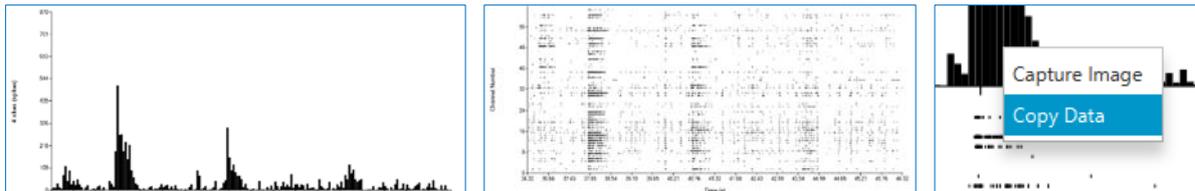
2.4.4. Summary パネル

全データ区間における、各電極のスパイク検出頻度 (FR) とスパイク間隔の変動係数 (CV_ISI) を表示します。

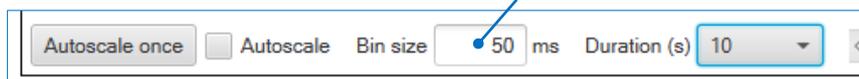
Summary			
Ch	Trace	FR (Hz)	CV_ISI
1	1	0.50838	1.07005
2	1	5.34079	1.71467
3	1	0.70391	1.74313
4	1	0.54749	1.11484
5	1	10.48045	1.43128

2.5. Raster Plot タブ

上段には全電極での総スパイク検出数について経過時間を階級としたタイムヒストグラムを、下段には同時間軸での 64 電極ラスタプロットを表示します。右クリックメニュー-Capture Image より画像を、また Copy Data よりタイムヒストグラムの数値データをクリップボードに保存します。



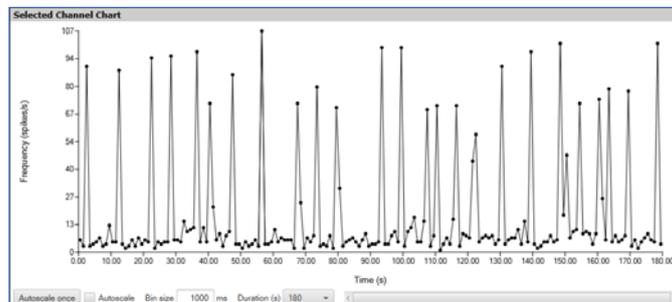
時間窓 (経過時間の階級幅) を指定。



2.6. Frequency タブ

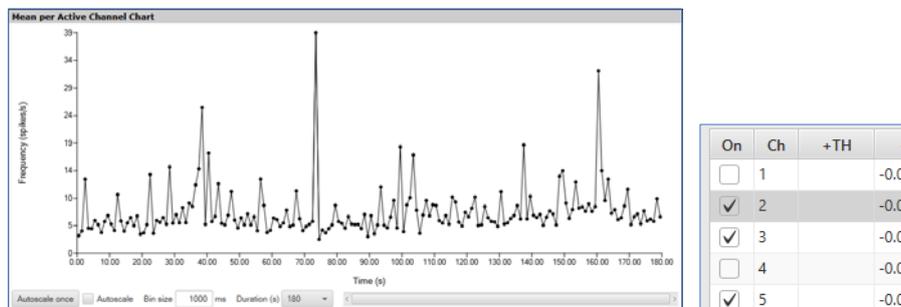
2.6.1. Selected Channel Chart パネル

選択した電極について、指定した Bin size ごとに検出スパイク数から 1 秒あたりの検出スパイク数を算出し、折れ線グラフとしてプロットします。右クリックメニュー-Capture Image より画像を、また Copy Data よりタイムヒストグラムの数値データをクリップボードに保存します。



2.6.2 Averaged Channel Chart パネル

スパイク検出が有効な電極のみを対象として、スパイク検出頻度の電極平均チャートをプロットします。

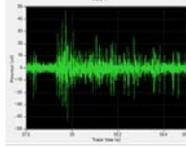


Ch1と4はチェックが外れておりスパイク検出が有効ではないため、平均値の算出からは除外される (右)。

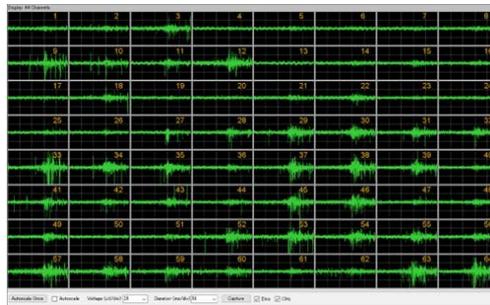
Burst Detector

1. 概要

Burst Detector はスパイク検出により得られたスパイク検出時間の情報を元に、静止区間を挟んで発火が一過性に亢進するバースト発火とよばれる区間を検出し、その定量的指標を算出するツールです。本ツールでは Single Channel Burst と Multi Channel Burst と名付けた、2 種類のバーストを評価対象としています。Single Channel Burst は 1 電極のチャート上において活動電位が一過性に連続して発生するバースト区間を指します。Max Interval method (Nexttechnologies 社) アルゴリズムを用いて、バースト検出数やバースト幅、バースト間隔等の数値指標を算出します。



Multi Channel Burst は分散培養神経回路網において認められる、多電極間で同時発生的に起こるバースト発火現象（以下、同期バーストとよぶ）の区間を指します。Mukai et al. (Elect, Eng, Jpn., 145, 28-37, 2002) の報告を元にしたアルゴリズムを用いて、その検出数や同期バースト幅、同期バースト間隔等の数値指標を算出します。

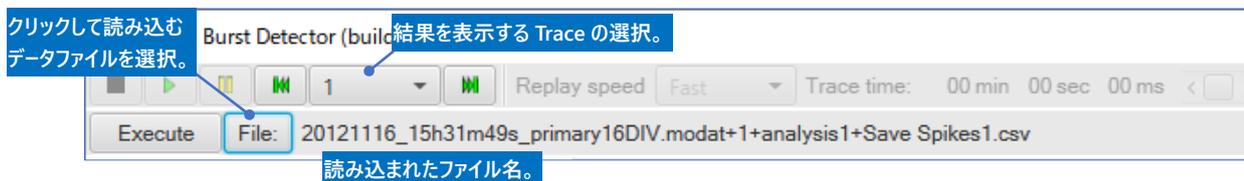


どちらも共通の入力ファイルとして Mobius でのスパイク検出により得られた固有のスパイクタイムスタンプファイルを必要とします。なお Single Channel Burst について、一般には 1 つの信号源（1 個の神経細胞、単一ユニット）のみからの信号に対してバースト区間を検出すべきですが、MEA では 1 電極の電位チャート上に複数の信号源の活動電位が重複して存在する場合がほとんどです。そのため、スパイク波形をその形状に基づいて個々の信号源へと分類（クラスタリング）した後、バースト検出することが本来の意味でのバースト検出に近くなりますが、本ツール内ではクラスタリングまでは行いません。本ツールのメインウィンドウは Analysis Setup パネルと View Control パネル、そして Single Channel Burst と Multi Channel Burst の 2 つのタブにより構成され、それぞれのタブにその結果を表示します。

2. 操作手順

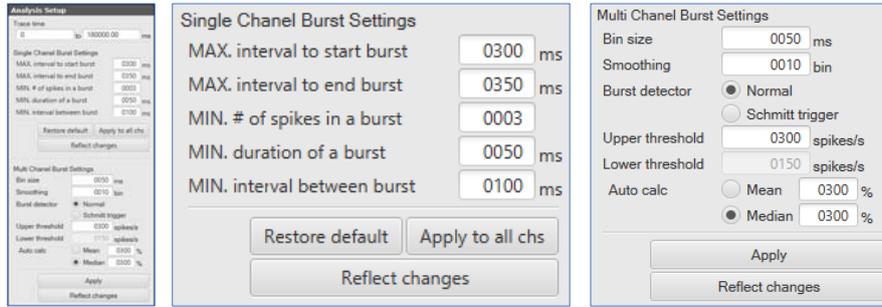
2.1. データファイルの読み込み

メインメニューの File ボタンをクリックしてデータファイルを選択します。データファイルは Mobius 固有のスパイクタイムスタンプ形式（csv 形式）に対応しています。データを読み込むと、Single Channel Burst タブに指定電極のラスタプロットを、Multi Channel Burst タブに全電極のラスタプロットとスパイク検出頻度の時間ヒストグラムを表示します。



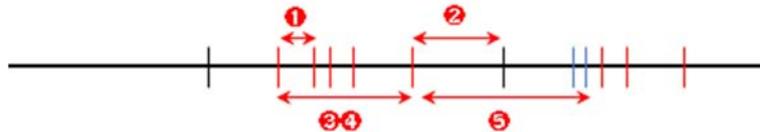
2.2. Analysis Setup パネル

データファイル読み込み後、解析条件を設定します。テキストボックスをクリックで選択すると、背景色がピンクに変わって編集できる状態になり、編集後に Enter キーを押して変更を反映させます（背景色は白に戻ります）。



各項目に任意の数値を入力します。指定した解析条件は全 Trace に共通して適用されます。Single Channle Burst Settings については Channel position で選択した電極ごとに条件を指定でき、Apply to All によりその他の電極への同一条件の割り当てができます。Restore default をクリックすると初期設定の条件に戻ります。解析条件を指定した後、Execute ボタンをクリックして実行します。

Single Channel Burst 検出のアルゴリズムについて



Max. interval to start burst: 連続するスパイクの間隔が設定値未満以下 ($<$) の先行スパイクをバースト (仮) 開始スパイクとし、

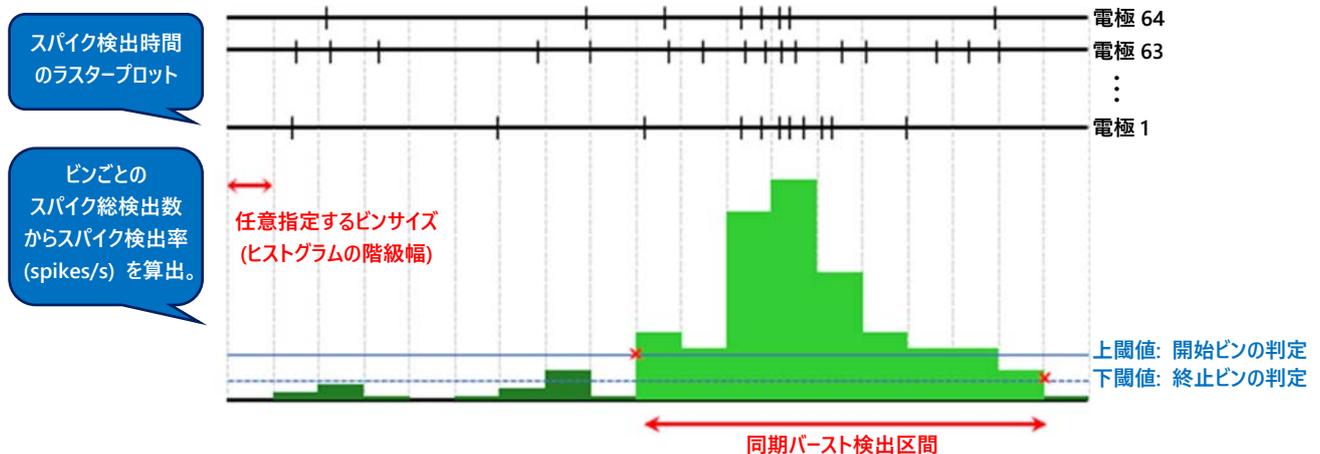
Max. interval to end burst: その後連続するスパイクの間隔が設定値より長い ($>$) 先行スパイクをバースト (仮) 終了スパイクとする。

Min. # spikes in a burst: バースト (仮) 区間内のスパイク数が設定値以上 (\geq) 存在し、

Min. duration of a burst: 開始点から終了点までの間隔が設定値以上 (\geq) あれば、バーストと判定。

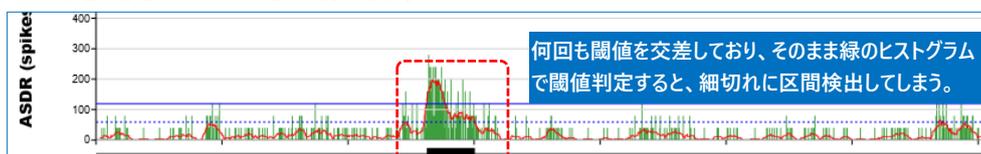
Min. interval between bursts: 連続するバーストの間隔 (先行バーストの終了スパイクから後続バーストの開始スパイク) は設定値以上 ($<$) とする (間隔内に含まれるスパイク列は、バースト検出の判定には用いない)。

Multi Channel Burst 検出のアルゴリズムについて



Bin size: ASDR チャート作図のための、X 軸のビンサイズ (ヒストグラムでの階級幅に相当) を指定します。クリックして選択後、背景色がピンクになり、数値を編集して Enter キーを押して変更を反映します (背景色が白に戻ります)。

Smoothing: 同期バースト区間の判定に際し、ASDR チャートをスムージングする場合は 0 より大きな値を指定します (各ビンの ASDR を指定した前後のビン数の ASDR で平均した値にします)。例えば下図のように MED ミニ・プローブ (16 電極) で取得したデータにおいて、バースの発火頻度と同期バースト区間の発火頻度の差が乏しい場合に、低く設定した閾値で意図しない区間を同期バーストとして検出する可能性があります。また、同期バースト区間でビンごとの発火の変動が激しい場合に、同区間を細切れに多重検出する可能性もあります。そのような場合においてスムージング (赤線) した波形で閾値判定すると、誤検出率を抑えられます。



Burst detector: 閾値判定の方式を Normal と Schmitt trigger から指定します。前者は単一の閾値 (Threshold - high) により、バーストの開始ピンと終止ピンを判定します。後者は 2 つの閾値により、開始ピン (上閾値) と終止ピン (下閾値) を判定します。

Threshold - high: 同期バーストの開始ピンを判定する閾値です。

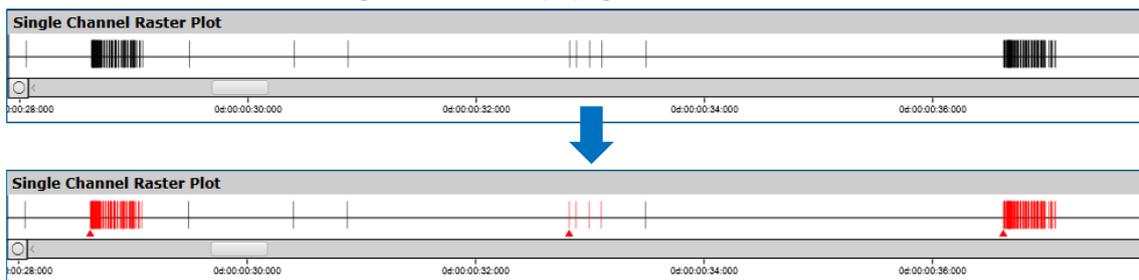
Threshold - low: 同期バーストの終止ピンを判定する閾値です。Threshold calculation で閾値を算出すると、上閾値の 50%の値を入力します。Threshold - high 以下の数値でなければなりません。

Threshold calculation: 閾値を任意指定せず、データに基づいて算出する場合に使用します。ASDR の Trace 平均または中央値を選び、その値を何倍 (X/100) するか指定した後、Apply を押すと自動的に閾値を設定します。自動設定後も閾値は手動修正できます。

2.2. Single Channel Burst タブ

2.2.1. Single Channel Raster Plot パネル

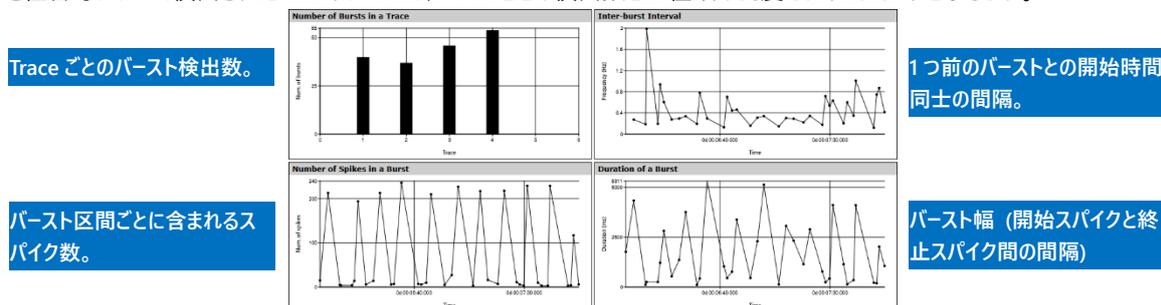
View Control パネルで選択した電極番号のラスタプロットを表示します。検出したバースト区間を赤で強調表示し、開始スパイクの位置を上向きの三角で示します。右クリックメニューの Display により表示範囲を 1 sec、10 sec、1 min、10 min に変更でき、シークバー左の○ボタンをクリックすると全データ区間を表示します。Save Chart Image により emf、bmp、png 形式のいずれかでチャートを画像出力します。



上向き三角はバーストの開始スパイクを表す。

2.2.1 Number of Burst in a Trace / Inter-burst Interval / Number of Spikes in a Burst / Duration of a Burst パネル

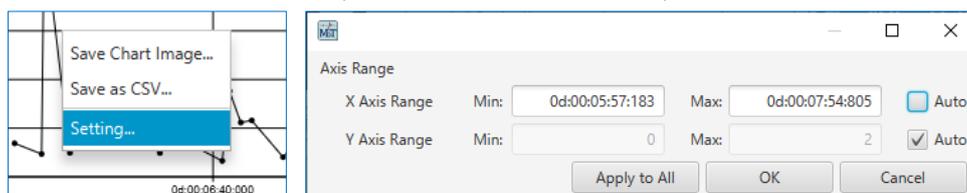
選択した電極番号において検出されたバーストについて、Trace ごとの検出数と 3 種類の測度のタイムチャートを示します。



Inter-burst Interval パネルでのバースト間隔は周波数単位 (Hz) での表記です。瞬時のバーストの開始時間を T_i 、1つ前のバーストの開始時間を T_{i-1} とすると、

$$\text{Inter - burst Interval} = \frac{1000}{T_i - T_{i-1}}$$

で表します。チャートの表示範囲を変更する場合は、右クリックメニュー-Settings ...を選び、編集ウィンドウを呼び出します。表示範囲は Trace ごと、電極ごとに指定できます。表示範囲を編集後、全電極に共通の表示範囲とする場合は Apply to All をクリックします。この際、同一電極であっても、指定範囲は異なる Trace 間では共通となりません (Trace ごとに別途指定が必要です)。



Save Chart Image ...を選ぶと選択した Trace、電極番号の表示中のチャートの画像を emf、bmp、png 形式のいずれかを選択してファイル出力します。Save As CSV ...を選ぶと選択した Trace、電極番号のチャートの数値データを csv 形式でファイル出力します (表示範囲外の数値データも含まれます)。

2.2.2. Burst Characteristics パネル

検出したバーストについて、数値指標を 1 行ごとに示します。

Burst Characteristics						
Trace #	Ch	Start time (ms)	Interburst interval (ms)	Spikes in a burst	Duration (ms)	
1	1	123.40		12	183.70	
1	1	9913.15	9789.75	12	959.85	
1	1	14081.65	4168.50	16	595.35	

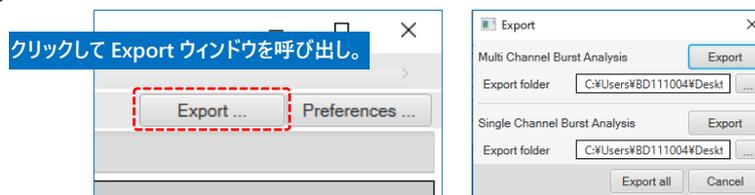
Trace #: Trace 番号、Ch: 電極番号、Start time (ms): バースト開始時間、Interburst interval (ms): バースト間隔 (1つ前のバーストの開始-現在のバーストの開始の差)、Spikes in a burst: バースト区間中のスパイク検出数、Duration (ms): バースト幅 (終止時間-開始時間の差)。

右クリックメニューの Copy Result により指定したセルの数値データのコピー、Save Result ...によりテーブル全体を csv 形式でファイル出力します。前者については、1つのセルを選択後、Shift キーを押しながら別のセルを選択することで、連続する複数範囲を選択できます。

Burst Characteristics			
Trace #	Ch	Start time (ms)	Interburst interval (ms)
1	1	123.40	
1	1	9913.15	
1	1	14081.65	
1	1	27525.10	
1	1	38694.80	

2.2.3 解析結果の一括出力

Export ウィンドウで出力先を指定し、Export ボタンをクリックして一括出力します。出力内容は Preference ボタンをクリックして Preferences ウィンドウを呼び出し、Batch Export タブで指定します。



Batch Export タブの設定項目について

Export Trace: 結果を出力する Trace を指定します。Single は表示中の Trace のみ、All (in each) は全ての Trace を個別のファイルに出力します。All (in one) は 1つのファイルに出力し、Trace 間には空行が入ります。

Trace #	Ch	Start time (ms)	Interburst interval (ms)	Spikes in a burst	Duration (ms)
1	1	123.40		12	183.70
1	1	9913.15	9789.75	12	959.85
1	1	14081.65	4168.50	16	595.35

Chart Image: 画像を出力する結果表示パネルと、そのファイル形式を emf、bmp、png から指定します。All (in one) を指定した場合も All (in each) 同様に Trace ごとの個別出力になります。テキストボックスに入力したテキストは、出力ファイル名の末尾に「読み込みファイル名+テキスト」の形式で追加されます。

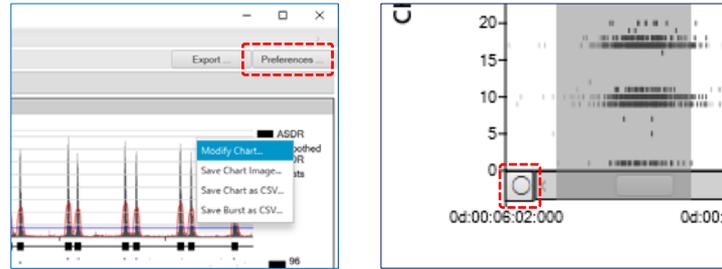
Chart CSV: 指定した結果表示パネルの実数値を csv ファイルで出力します。表示範囲のみではなく、全区間の実数値を出力します。

Information CSV: Burst Characteristics パネルのテーブルを csv 形式で出力します。

2.3. Multi Channel Burst タブ

2.3.1. Array-wide Spike Detection Rate Chart and Multi Channel Raster Plot

軸の表示範囲やラベルフォントの指定は Preferences ボタン、またはパネル上の右クリックメニュー-Modify Chart...から呼び出す Preferences ウィンドウ上で変更します。チャート上でドラッグ & ドロップにより X 軸の表示範囲を任意拡大でき、範囲拡大後にシークバー左のボタンをクリックすることで Trace 全長の表示に切替えます。



ASDR チャートは ASDR Chart Format タブ、全電極ラスタプロットは Raster Plot Format タブ上で設定を変更します。Raster Plot Format タブの Plot Type 欄ではラスタプロットの表示色を指定します。Black はラスタを黒の単色のみで表示し、Grayscale 及び Color はピンごとにラスタをグレーまたはカラースケールで 5 段階表示します。

スパイク検出率レベル	グレースケール	カラースケール
> 4 (4 を超える検出率)	0 (黒)	赤 (255, 0, 0)
4 (任意指定する表示上の最大スパイク検出率)	0 (黒)	赤 (255, 0, 0)
3	$(255 - \text{最小レベル}) \times 0.25$	橙 (255, 165, 0)
2	$(255 - \text{最小レベル}) \times 0.50$	緑 (0, 128, 0)
1	$(255 - \text{最小レベル}) \times 0.75$	青 (0, 0, 255)
0 (最小スパイク検出率)	255-最小レベル [※]	紫 (128, 0, 128)

背景色に白を設定した場合において、白に近い最小階調のグレースケールでの表示を避けるため、55 を減算した階調で表示。

2.3.2. Burst Characteristics - Individual Values パネル

検出した同期バーストについて、数値指標を 1 行ごとに示します。ドラッグ&ドロップにより範囲指定した後、右クリックメニュー Copy Result を選択すると、選択範囲の数値データをクリップボードに保存します。また Save Results ... を選択するとテーブル全体を csv ファイルとして出力します。

Trace #	Burst #	Start time (ms)	Interburst interval (ms)	Peak (spikes/s)	Duration (ms)
1	1	10150.00		1580.00	1000.00
1	2	13650.00		1920.00	1050.00
1	3	27150.00		1700.00	950.00
1	4	38600.00		1580.00	1000.00
1	5	47800.00	9200.00	1640.00	1050.00

Trace #: Trace 番号、Burst #: バースト番号、Start time (ms): バースト開始ピン、Interburst interval (ms): バースト間隔 (開始ピン-開始ピンの差)、peak (spikes/s): バースト区間中の最大 ASDR ピンの ASDR、Duration (ms): バースト幅 (終止ピン-開始ピンの差)、Spikes in a burst (spikes): バースト区間中の総スパイク検出数、Interval between 1st and last spikes (ms): バースト区間中の最終-先頭スパイクの間隔。

2.3.3. Burst Characteristics - Summary Values パネル

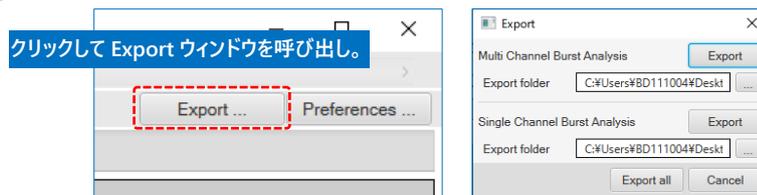
同期バーストの数値指標を Trace ごとに集計し、また 4 つの数値指標についてのバースト平均、標準偏差、標準誤差、中央値を算出して表示します。ドラッグ&ドロップにより範囲指定した後、右クリックメニュー Copy Result を選択すると選択範囲の数値データをクリップボードに保存します。また Save Results ... を選択するとテーブル全体を csv ファイルとして出力します。

Trace #	ASDR (spikes/s)	Number of bursts (bursts)	Burst rate (bursts/min)	Total spikes in bursts (spikes)
total	100.87	32	3.20	32848
1	78.15	11	5.50	5447
2	214.98		7.50	21563
3	115.58		3.00	5838
4	88.48	0	0.00	
5	7.15	0	0.00	
Interburst interval (ms)				
Trace #	Mean	SD	SEM	Median
total	9682.76	5434.65	1009.19	10350.00

Trace #: Trace 番号、ASDR (spikes/s): 電極全体での平均スパイク検出率、Number of bursts (bursts): バースト検出数、Burst rate (bursts/min): バースト検出率、Total spikes in bursts (spikes): バースト区間内の総スパイク検出数、Interburst interval (ms): バースト間隔 (開始ピン-開始ピンの差)、Peak (spikes/s): バースト区間中の最大 ASDR ピンの ASDR、Duration (ms): バースト幅 (終止ピン-開始ピン)、Spikes in a burst (spikes): バースト区間内の総スパイク検出数。

2.3.4 解析結果の一括出力

Export ウィンドウで出力先を指定し、Export ボタンをクリックして一括出力します。出力内容は Preference ボタンをクリックして Preferences ウィンドウを呼び出し、Batch Export タブで指定します。



Batch Export タブの設定項目について

Export Trace: 結果を出力する Trace を指定します。Single は表示中の Trace のみ、All (in each) は全ての Trace を個別のファイルに出力します。All (in one) は 1 つのファイルに出力し、Trace 間には空行が入ります。

Trace #	Duration of a burst	ch	time (ms)
1	123.4	43	1038.1
1	567.8	17	1039.2
1	901.2	36	1043.4
1	234.5	33	1043.4
1	678.9	49	1043.8
1	101.2	27	1043.8
1	345.6	9	1044.2
1	789.0	63	1045.0
1	112.3	41	1045.0
1	456.7	9	1045.2
1	890.1	17	1045.2
1	123.4	10	1045.6
1	567.8	41	1045.6
1	901.2	10	1046.0

Chart Image: Array-wide Spike Detection Rate Chart and Multi Channel Raster Plot パネルの出力画像形式を bmp、png から指定します。All (in one) を指定した場合も、All (in each) 同様に Trace ごとの個別出力になります。テキストボックスに入力したテキストは、出力ファイル名の末尾に「読み込みファイル名+テキスト」の形式で追加されます。

Chart CSV: ASDR チャートの数値データを出力します。Chart は Trace 全体を、Burst はバースト区間のみを出力します。後者は ASDR Chart Format タブ上の Save Burst As CSV において、同期バースト開始ピン (Start time) または ASDR ピークピン (Peak time) を起点に、Export range (ms) で指定した前後の範囲として出力します。

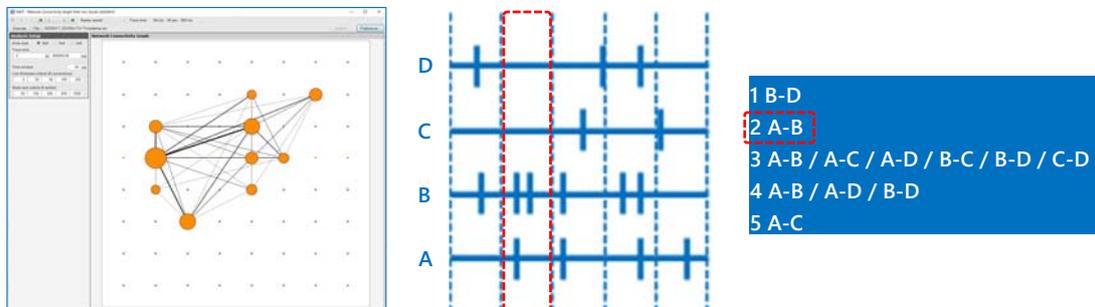
Information CSV: Summary values 及び Individual values は 2 つの Burst Characteristics パネルの数値データです。右クリックメニュー-Save Results...により出力するファイルと同一のファイルになります。Details はバーストごとに含まれるスパイクの電極番号と検出時間についての詳細情報です。

trace #	burst #	ch	time (ms)
1	1	43	1038.1
1	1	17	1039.2
1	1	36	1043.4
1	1	33	1043.4
1	1	49	1043.8
1	1	27	1043.8
1	1	9	1044.2
1	1	63	1045.0
1	1	41	1045.0
1	1	9	1045.2
1	1	17	1045.2
1	1	10	1045.6
1	1	41	1045.6
1	1	10	1046.0

Network Connectivity Graph (free ver.)

1. 概要

Network Connectivity Graph (free ver.)は、各電極でのスパイク検出時間を元にして、多電極アレイ上のネットワーク間の活動の同期的な結合 (connection) を図示化します。Faustino Martins JM et al. (Cell Stem Cell, 27, 498, 2020) の報告を元にしています。指定した時間窓で時間軸を区切り、複数の電極にわたって同一時間窓内にスパイクが1つ以上存在する場合にそのペアごとに結合があったとみなし、全データ区間中の結合の総数を、その強さとして直線の太さで2次元マップ上に表します。



2. 操作手順

2.1. データファイルの読み込み

メインメニューの File ボタンをクリックしてデータファイルを選択します。データファイルは Mobius 固有のスパイクタイムスタンプ形式 (csv 形式) に対応しています。



2.2. Analysis Setup パネル

データファイル読み込み後、解析条件を指定して Execute ボタンをクリックし、処理を実行します。

使用したプローブの電極配列の指定。

解析対象区間の指定。

時間窓の指定。

結びつきの強さの基準を5段階で指定。

スパイク検出数の高さを5段階で指定。

Analysis Setup

Array type 8x8 4x4 2x8

Trace time
0 to 300000.00 ms

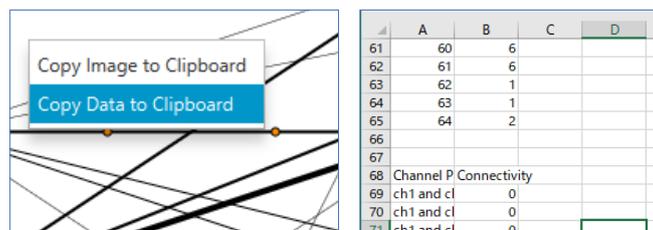
Time window
40 ms

Line thickness criteria (# connections)
5 20 50 100 200

Node size criteria (# spikes)
50 150 300 500 1000

2.3. Network Connectivity Graph パネル

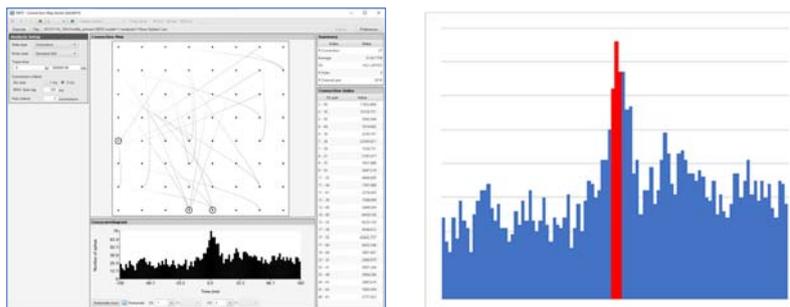
右クリックメニュー Copy Image to Clipboard により画像をクリップボードに保存します。Copy Data to Clipboard は電極ごとのスパイク検出数と電極ペアごとの結合数を数値データとしてクリップボードに保存します。



Connection Map

1. 概要

Connection Map は、電極ごとのスパイク検出時間に基づいて相互相関ヒストグラムを求め、その結果からスパイク（を発生した信号源）同士の機能的結合の強さを図示化するツールです。Kudoh SN et al. (IEEJ Trans. ELS, 129, 1611-1618, 2007) の報告を元としています。詳細については引用元をご参照ください。



2. 操作手順

2.1. データファイルの読み込み

メインメニューの File ボタンをクリックしてデータファイルを選択します。データファイルは Mobius 固有のスパイクタイムスタンプ形式 (csv 形式) に対応しています。



2.2. Analysis Setup パネル

1 つの電極は複数の信号源からのスパイクを検出する可能性があります、それらを形状に基づいてクラスタリングした後のスパイクタイムスタンプファイルには、検出した電極番号に加えてクラスターIDの情報が追加されています。そのようなデータファイルを解析する場合、Data type から Clustered を選択することで、解析処理にクラスターIDを反映させられます。

読み込むデータファイルがクラスタリング済の場合は Clustered を指定。

使用したプローブの電極配列の指定。

解析対象区間の指定。

相互相関ヒストグラムの時間窓を指定。

相互相関ヒストグラムの範囲指定。

信号源をハブと判定する機能的結合の最小数。

Execute ボタンをクリックして処理を実行すると、Bin size で指定した時間窓を元に全信号源ペアで相互相関ヒストグラムを作成し、以下の指標を計算します。

$$Connection\ index = A_{peak} \times \left(0.01 \times \frac{A_{peak}}{A_{total}} + \frac{1}{\Delta t + 1} + \frac{1}{Kurtosis} \right)$$

A_{peak} は相互相関ヒストグラムのピーク周りの 2 ms 範囲の面積、 A_{total} は相互相関ヒストグラムの全面積、 $Kurtosis$ は相互相関ヒストグラムの尖度を表します。

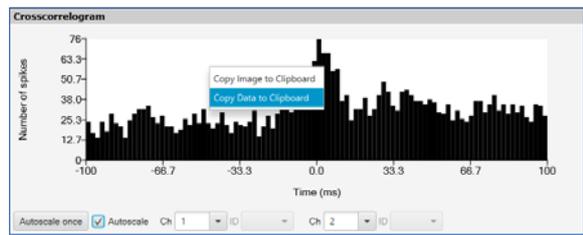
2.3. Connection Map パネル

Connection index を元に、機能的結合の強さやハブとなる信号源の電極を図示します。右クリックメニュー-Copy Image to Clipboard により画像をクリップボードに保存します。ハブと判定された信号源が存在する電極は丸印で囲まれます。



2.4. Crosscorrelogram / Summary / Coonnection Index パネル

Connection Map を生成する過程で得られた計算値やその集計値を表示します。Connection Index パネルの右クリックメニューRemove を選択すると、任意の機能的結合を手動削除できます。



Summary	
Index	Value
# Connection	27
Average	1758
SD	7035
# Hubs	3
# Channel pair	2016

Connection Index	
Ch pair	Value
2 - 50	11932.808
3 - 16	10000.751
3 - 55	10000.751
4 - 44	10000.751
6 - 16	2220.761

Peri-Event Time Histogram

1. 概要

Peri-Event Time Histogram (以下 PETH) は電気や光等による繰り返し刺激 (イベント) による誘発応答としてのスパイクについて、刺激イベントごとに前後の区間でその検出数を累積し、ヒストグラムとして表すツールです。本ツールのメインウィンドウは Analysis Setup パネルと View Control パネル、そして Chart、Raster/Histogram、All Chs Raster の 3 つのタブにより構成され、それぞれのタブにその結果を表示します。

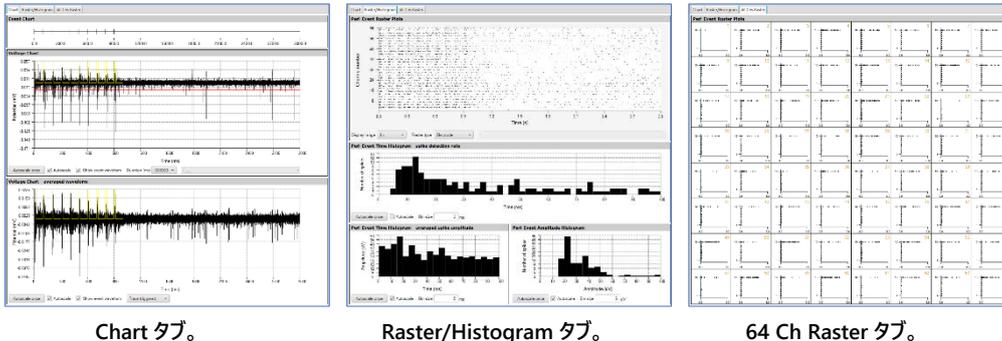


Chart タブ。

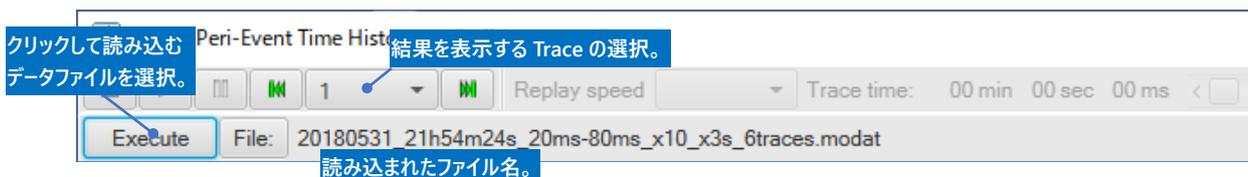
Raster/Histogram タブ。

64 Ch Raster タブ。

2. 操作手順

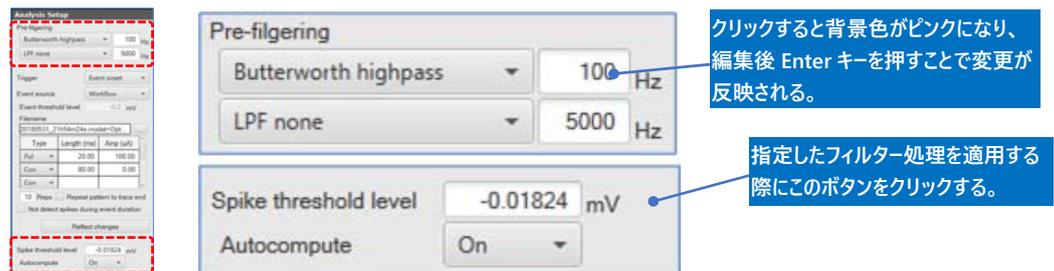
2.1. データファイルの読み込み

メインメニューの File ボタンをクリックしてデータファイルを選択します。データファイルは modat 形式、endat 形式に対応しています。



2.2. Analysis Setup パネル

データファイル読み込み後、解析条件を設定します。必要に応じて PETH 作成前のプレフィルタ処理を適用しますが、この工程は必ずしも必要ありません。ハイパスフィルタはバターワース (Butterworth) のみ、ローパスフィルタはバターワースとベッセル (Bessel) から選択します。ローパスフィルタのカットオフ周波数については 5000 Hz までの制限があります。設定後 Reflect changes をクリックすると、読み込んだデータファイルにフィルタ処理が適用され、Raw Waveform Chart パネルや Raw Wavform Chart - trace averaged パネルの波形がフィルタ処理後の波形に変化します。



スパイク検出の判定は振幅閾値に基づきますが、その閾値はデータファイル読み込み後に Autocompute の On/Off に従って自動算出できます。On の場合は以下の計算式

$$5 \times \text{median} \left\{ \frac{\{\text{ファイルの開始 2 秒間の各データ点の振幅値}\}}{0.6745} \right\}$$

に従って、電極ごとに異なる閾値を算出します。Off の場合は全電極 -0.02 mV と自動設定します。どちらも閾値と入力信号の交点から後の 0.5 ms の範囲では続くスパイク検出判定を行いません。スパイク検出時間は Mobius でのシュミットトリガー方式と同様に、閾値との交点から 1/2 閾値との交点までの区間の信号ピーク振幅の時間であり、ピーク振幅はその区間の極値です。また、Execute をクリックして PETH 作成する前であれば、電極ごとに閾値を手動変更できます。

イベントトリガーの設定

PETH 作成に必要なイベントトリガーを設定します。Trigger から Event onset または Trace onset を選択します。前者は 1 trace 中に複数回のイベントが存在する場合、各イベントを独立したトリガーとして扱います。後者は 1 trace 中に複数回のイベントが存在する場合も、Trace 開始時間をトリガーとして扱います。

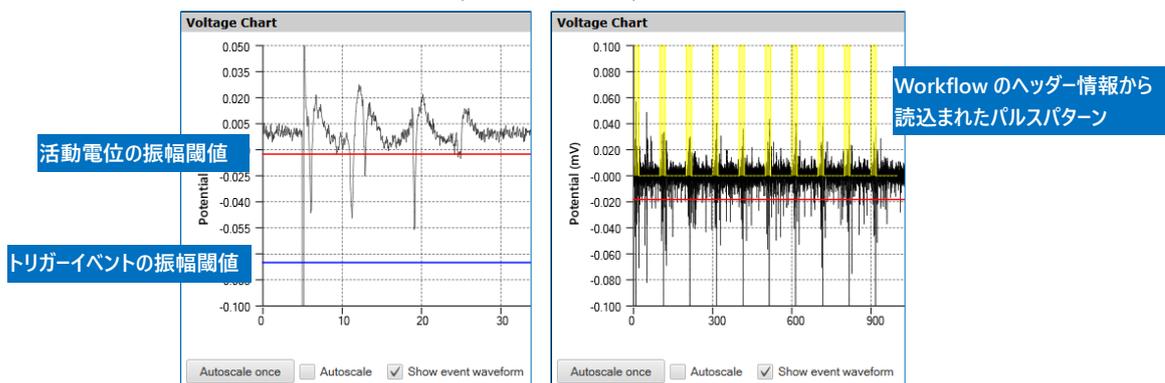
Amp (uA)が0以外の Pulse または Const について、その開始時間をイベント時間とみなす。右例では 0 ms、100 ms の 2 個所にイベントトリガーを認識する。

Event source で Workflow を選択した場合は、ここをクリックしてワークフローを指定する。

チェックをすると、イベント中のスパイクを検出しない。

刺激パターン編集後は、ここをクリックして変更を反映させる。

次に Event source から Raw Data または Workflow を選択します。前者は読込んだデータファイルに振幅閾値を設定し、その閾値と入力信号との交点をイベント時間とします。具体例として分散培養神経回路網での電気刺激誘発応答計測を考えると、誘発される活動電位よりも電気刺激によるアーチファクトの振幅の方が大きくなるため、イベントトリガーとするアーチファクトのみ検出するよう閾値レベルを調整できます。閾値レベルは Event threshold level 欄だけでなく、チャート上の閾値カーソルを直接ドラッグ & ドロップすることも変更できます。後者の Workflow を選択した場合は、データ取得時に生成した ~+acquisition.moflo を読込んで、適用した刺激パターンの情報を取得し、刺激パルス発生タイミングを自動的にイベントトリガーとして取り扱います。また、Workflow を読込まず (または読込んだ後) 刺激パターンを任意編集することも可能です。

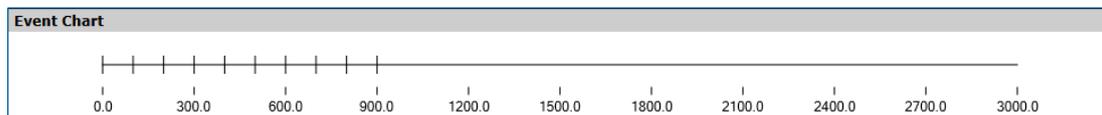


Raw Data によるイベントトリガーの設定 (左) と Workflow によるイベントトリガーの設定 (右)。

2.3. Chart タブ

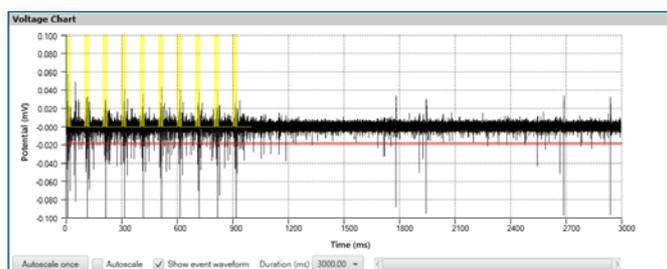
2.3.1. Event Chart パネル

PETH 作成の実行後に表示されるイベント発生時間のタイムチャートです。軸の編集は行えず、右クリックメニューもありません。

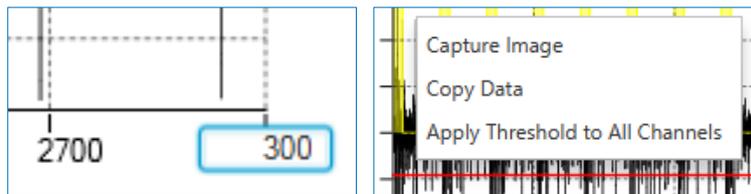


2.3.2. Raw Waveform Chart パネル

View Control パネルで選択した電極の 1 trace の生波形チャートです。赤いカーソルはスパイク検出の振幅閾値、青いカーソルはイベント検出の振幅閾値です (Event source で Raw data を選択時のみ表示)。黄色い線はアーチファクトを表し、チャート下の Show event waveform のチェックを外すと非表示にできます。



X 軸及び Y 軸の表示範囲は、最大値または最小値をクリックして編集することで変更します。また右クリックメニュー-Capture Image によりチャート画像を、Copy Data により数値データ (※20190701 版では未実装) をクリップボードに保存します。Apply Threshold to All Channels を選択すると、表示中の閾値をその他の電極全てに適用します。



チャート下の Autoscale Once をクリックすると表示中の Y 軸の値の最大値、最小値に従って軸を自動調整します。Autoscale ボックスにチェックを入れると、電極番号を切り替える度に軸を自動調整します。

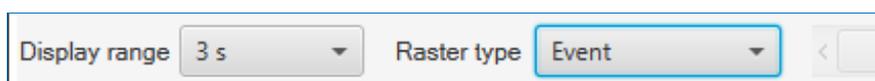
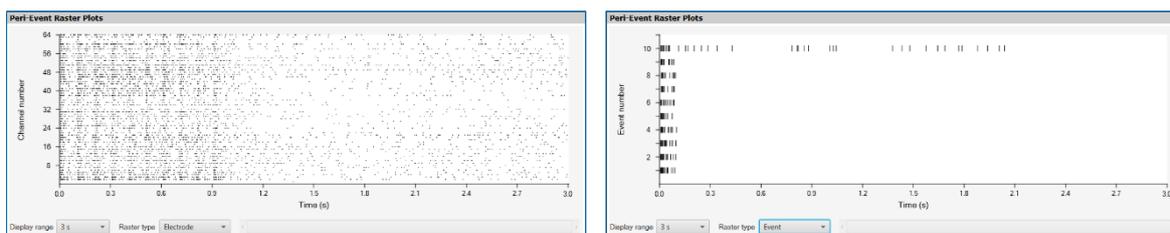
2.3.3. Raw Waveform Chart – averaged waveform パネル

PETH 作成後に表示される 1 電極の全 Trace を加算平均した生波形チャートです。加算平均によりランダムノイズと自発発火は打ち消し合いますが、全体的に信号の振幅自体も小さくなります。Raw Waveform Chart パネルと同様に軸を編集し、右クリックメニューを呼び出せます。

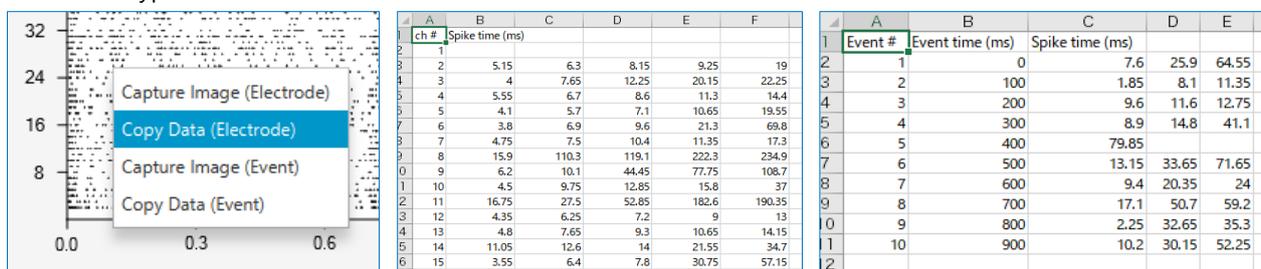
2.4. Raster/Histogram タブ

2.4.1. Peri-Event Raster Plots パネル

Raster type で Electrode を選択すると、X 軸を時間、Y 軸を電極番号とする 1 trace ごとのラスタープロットを表示します。Event を選択すると、X 軸を時間、Y 軸をイベント番号とする 1 電極 1 trace ごとのラスタープロットを表示します。時間 0 がイベントの発生時間になるため、イベント後の応答発生タイミングや、イベントの繰り返しによる応答の再現性を視覚化できます。

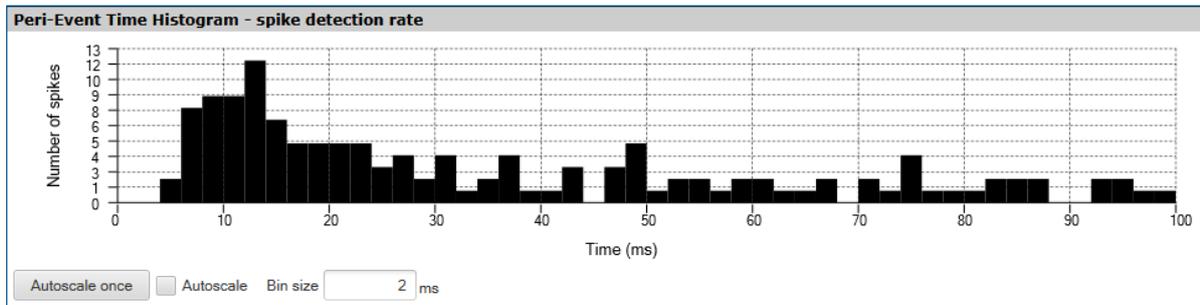


どちらもチャート下の Display range により 1 画面の表示範囲を指定でき、スライダーで範囲を変更します。また軸の最大値、最小値をクリックして数値を直接編集して表示範囲を指定できます。右クリックメニュー-Capture Image により画像を、Copy Data により数値データをクリップボードに保存します。Raster type で選択していないチャートの情報もコピーできます。



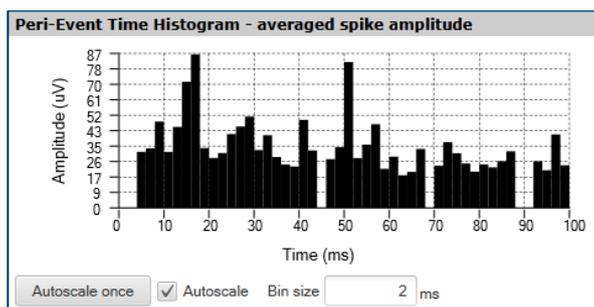
2.4.2. Peri-Event Time Histogram - spike detection rate パネル

X 軸を時間、Y 軸をスパイク検出数とする 1 電極 1 trace ごとのヒストグラムを表示します。時間 0 がイベントの発生時間になるため、イベント発生により誘発される定まった応答が存在する場合、その潜時が含まれるビン (階級) のスパイク検出数 (度数) は他のビンより大きくピークとして現れます。X 軸の解像度 (ヒストグラムの階級の幅) はチャート下の Bin size で指定します。右クリックメニュー-Copy Image により表示範囲中の画像を、Copy Data により数値データをクリップボードに保存します。



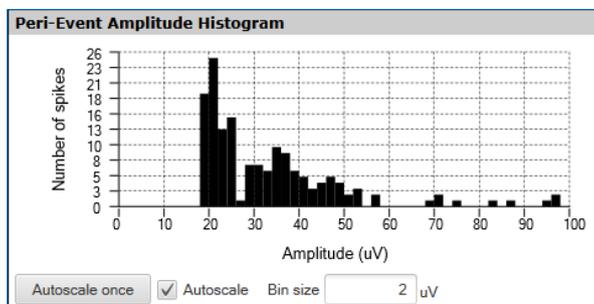
2.4.3. Peri-Event Time Histogram - averaged spike amplitude パネル

X 軸を時間、Y 軸を検出したスパイクの平均ピーク振幅とする 1 電極 1 trace ごとのヒストグラムを表示します。X 軸の解像度 (ヒストグラムの階級の幅) はチャート下の Bin size で指定します。右クリックメニュー-Copy Image により表示範囲中の画像データを、Copy Data により数値データをクリックボードに保存します。



2.4.4. Peri-Event Amplitude Histogram パネル

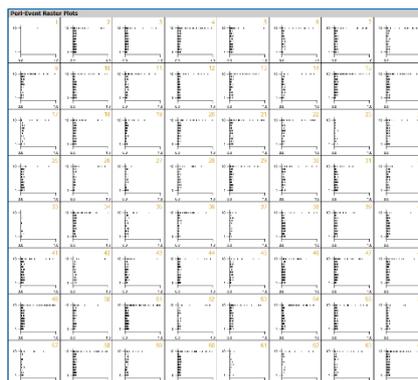
X 軸をスパイクのピーク振幅、Y 軸をスパイク検出数とする 1 電極 1 trace ごとのヒストグラムを表示します。X 軸の解像度 (ヒストグラムの階級の幅) はチャート下の Bin size で指定します。右クリックメニューより、表示範囲中の画像データ (Copy Image) 及び数値データ (Copy Data) をクリックボードに保存できます。



2.5. All Chs Raster タブ

2.5.1. Peri-Event Raster Plots パネル

全 64 電極のイベント周囲時間ラスタープロットを表示するタブです。X 軸は Raster/Histogram タブの 1 電極イベント周囲時間ラスタープロットに連動します。右クリックメニュー-Copy Image により画像を保存し、また Capture all images individually により電極ごとに個別で画像ファイルを出力できます。



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。

© 2022 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: 221013

■ 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 京都市伏見区羽束師古川町 322

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