

2018.05.15

Clampfit 11

日本語マニュアル

株式会社インターメディカル

## 目次

Clampfit 11 .....	1
日本語マニュアル .....	1
株式会社インターメディカル .....	1
目次 .....	2
I. 機能 .....	7
1. ウィンドウについて (Feature - Clampfit Software Window) .....	7
1.1. Clamfit Software Windows (ウィンドウについて) .....	7
1.2. Analysis Window .....	8
1.2.1. ファイルを開く .....	9
1.2.2. シグナルのコピーと追加 .....	10
1.2.3. 波形の表示設定 .....	11
1.2.4. 解析項目 .....	14
1.2.5. カーソルの設定 .....	15
1.2.6. 複数ファイルのフィッティングカーブの解析結果について .....	17
1.2.7. データの保存 .....	17
1.3. Data File Index .....	18
1.4. Graph Window .....	19
1.4.1. Graph ウィンドウの設定 .....	20
1.4.2. Graph ウィンドウの操作 .....	22
1.4.3. グラフの作成 .....	22
1.5. Lab Book .....	27
1.6. Layout Window .....	29
1.7. Results Window .....	31
1.8. Statistics Window .....	32
2. ファイルのインポート (Feature - File Import) .....	33
2.1. カット&ペースト .....	33
2.2. テキストファイルの読み込み .....	34
2.3. pCLAMP6 Event List, Histogram データの読み込み .....	35
2.4. バイナリファイルの読み込み .....	36
3. データの調整 (Feature - Data Conditioning) .....	37
3.1. ベースラインの補正 (Baseline) .....	37
3.2. 不活性反応を減算する (Subtract Control) .....	38
3.3. 不活性な波形のみを平均する (Average Traces) .....	38
3.4. 不活性な部分のみを平均する (Segment Traces) .....	39

3.5.	不要な部分だけ削除する (Force Values) .....	39
3.6.	必要な部分だけ保存する (Save As > Options) .....	40
3.7.	波形を正規化する (Normalize Traces) .....	40
3.8.	波形を連結する (Concatenate Files) .....	41
4.	イベント検索 (Feature - Event Detection) .....	42
4.1.	イベントを検索する (Event Detection Searches) .....	43
4.2.	重要なイベント統計を表示する (Event Monitor) .....	46
4.3.	イベントグラフを作成する (Define Graphs) .....	47
4.4.	イベント波形を表示する (Event Viewer) .....	48
4.5.	全イベント統計を表示する (Event Statistics) .....	50
5.	シングルチャンネルの解析 (Feature - Single-Channel Analysis in Clampfit software)	
	54	
5.1.	Clampfit Software for Fetchan Users .....	54
5.1.1.	ファイルを減算する (File Subtraction) .....	54
5.1.2.	データを修正する (Data Modification) .....	55
5.1.3.	解析モード (Analysis Mode) .....	57
5.1.4.	波形を平均する (Episode Average) .....	57
5.1.5.	セグメントを平均する (Segmented Average) .....	58
5.1.6.	Pulse Average の代替え方法 .....	59
5.1.7.	イベントリスト (Events List) .....	60
5.2.	短時間イベント (Brief Events) .....	62
5.3.	潜伏時間について (Latency) .....	62
5.4.	All Points Histogram .....	64
5.5.	Clampfit Software for pSTAT Users .....	64
5.5.1.	ヒストグラムを作成する (Histograms) .....	64
5.5.2.	グラフ・散布図を作成する (Graphs) .....	67
5.5.3.	フィッティングをする (Fitting) .....	68
5.5.4.	周波数解析 (Frequency Analysis) .....	71
5.5.5.	バースト解析 (Burst Analysis) .....	72
5.5.6.	開口率の解析 (P(open) Analysis) .....	73
5.5.7.	潜伏時間の解析 (Latency Analysis) .....	75
5.5.8.	中央イベントの解析 (Peri-event Analysis) .....	77
5.5.9.	理想波形の表示 (Idealized Trace) .....	79
5.6.	Curve Fitting for Single-Channel Results .....	79
5.7.	QuB .....	81
6.	フィッティングと統計解析 (Feature - Fitting and Statistical Analysis) .....	83

6.1.	フィッティング (Fitting) .....	83
6.2.	統計解析 (Statistical Analysis) .....	84
6.3.	その他の解析.....	86
7.	Layout ウィンドウの作図 (Feature - Creating Figures in the Layout Window) .....	87
7.1.	要素を Layout ウィンドウにコピーする.....	87
7.2.	図を別のアプリケーションにコピーする .....	88
II.	チュートリアル .....	89
8.	グラフを作成する (Tutorial - Quick Graph) .....	89
8.1.	I-V カーブ .....	89
8.2.	I-V の作成例 (Whole Cell Currents) .....	91
8.3.	I-V の作成例 (Cell-Attached Recoding).....	95
8.4.	Trace vs. Trace .....	98
8.5.	Trace vs. Trace の作成例 (Whole-Cell Currents).....	100
8.6.	Preparing Data for Presentation .....	102
9.	ノイジーなシングチャンネルデータの前処理 (Tutorial - PRECONDITIONING NOISY SINGLE-CHANNEL RECORDING)) .....	105
9.1.	波形から数値データを出力する .....	106
9.2.	ノイズデータを作成する .....	107
9.3.	波形データとノイズデータを加算する .....	110
9.4.	ノイズを削除する .....	114
10.	重ね合された活動電位と SENSILLAR 電位 (Tutorial - SENSILLAR POTENTIALS WITH SUPERIMPOSED ACTION POTENTIALS) .....	120
10.1.	サンプル数を減らす (Data Reduction) .....	121
10.2.	サンプル数を増やす (Interpolation) .....	122
10.3.	ローパスフィルタで活動電位を除去する .....	123
10.4.	フィルタの適正を評価する .....	126
10.5.	ハイパスフィルタで Sensillar 電位を除去する.....	129
10.6.	sensillar 電位のフィッティングカーブを描く .....	135
11.	活動電位を分類する (Tutorial - SEPARATING ACTION POTENTIALS BY THEIR SHAPE) .....	144
11.1.	アーチファクトを除去する .....	145
11.2.	ベースラインの調整.....	148
11.2.1.	平均値によるベースラインの調整 .....	149
11.2.2.	マニュアル操作によるベースラインの調整.....	151
11.3.	ピークを整列する.....	153
11.4.	Peak-to-Peak の計算.....	155



11.5.	グラフの描画 .....	158
11.5.1.	散布図を描画 .....	158
11.5.2.	ヒストグラムを描画 .....	159
11.6.	F-test & t-Test .....	164
11.7.	グループ分けデータの保存 .....	168
III.	Advanced Analysis .....	175
12.	ファイルサーバーの設定 (Advanced Analysis - MDC File Server) .....	175
13.	バッチ解析 (Advanced Analysis - Batch Analysis) .....	178
13.1.1.	データベース構成 .....	178
13.1.2.	データファイルのインポート .....	180
13.1.3.	サンプルマクロの実行 .....	182
13.1.4.	マクロの作成 .....	183
13.1.5.	サンプルマクロの変更 .....	185
14.	集合スパイク検索 (Advanced Analysis - Population Spike Search) .....	187
14.1.	Event Finding Tab Settings .....	187
14.2.	Measurements Tab Settings .....	187
14.3.	Population Spike Search を構成する方法 .....	187
14.3.1.	Population Spike Search を構成する方法 : .....	187
14.4.	Population Spike Search の編集 .....	189
14.4.1.	検出されたイベントを調整するには : .....	189
14.4.2.	イベントの領域を除外するには : .....	190
14.4.3.	編集を終了するには : .....	190
15.	活動電位検索 (Advanced Analysis - Action Potential Search) .....	191
15.1.	Tool panel settings .....	191
15.2.	Action Potential Search を構成する方法 .....	191
IV.	その他 .....	194
16.	統計解析をする (Statistics) .....	194
17.	波形の演算 (Arithmetic) .....	202
18.	サンプリングレートを速くする (Interpolation) .....	211
19.	フィルターの種類 (Filter) .....	212
20.	活動電位の解析 (Workshop 2013- ) .....	216
20.1.	イベント検索 .....	216
20.2.	Vmax, APD, APA の解析 .....	220
20.3.	平均波形の作成 .....	222
20.4.	dV/dt の作成 .....	223
20.5.	Phase プロットの作成 .....	225

21.	シナプス電位の解析 (Workshop 2013- )	227
21.1.	Template Search のテンプレートを作成する	227
21.2.	Template Search の検索範囲を設定する	231
21.3.	Template Search でイベント検出する	234
21.4.	Cumulative Histogram を作成する	237
21.5.	ノーマライズされた Cumulative Histogram を作成する	242
21.6.	Peak の Kolmogorov-Smirnov Test を行う	250
21.7.	Inter-event Interval の Kolmogorov-Smirnov Test を行う	253
21.8.	Peak と Inter-event Interval の基本的な統計解析	257
22.	イベントを検出する (Single-Channel, Template, Threshold Search)	259
22.1.	Single-Channel Search	260
22.2.	Template Search	264
22.3.	Threshold Search	265
23.	イベントを判定する (Event Detection Searches)	269
23.1.	Event Detection ツールバー	271
23.2.	自動イベント判定	272
23.3.	手動イベント判定	273
23.4.	Event Detection の解析項目	276
24.	シングルチャンネルの解析	278
24.1.	Close Time, Open Time, Open Amp. Histogram	279
24.2.	Exponential Fitting	281
24.3.	All point Histogram	282
24.4.	Gaussian fitting	283
25.	イベントを解析する (Event Analysis)	284
25.1.	Burst Analysis	286
25.2.	Burst Statistics	293
25.3.	Latency Analysis	294
25.4.	Latency Statistics	299
25.5.	P(open)	300
25.6.	P(open) Statistics	304
25.7.	Perievent Analysis	305
25.8.	Fast Graph	310
26.	インピーダンス - 周波数グラフの作成	312
27.	お問い合わせ	314

## I. 機能

### 1. ウィンドウについて (Feature - Clampfit Software Window)

この章は Clampfit 入門のための概要で、プログラムの主要な機能および一般的な構成を解説します。pCLAMP 9 から Clampfit に追加された event detection および single-channel analysis のセクションについても解説しています。Fetchan, pSTAT ユーザ用の解説は single-channel analysis セクションに記載してあります。

#### 1.1. Clamfit Software Windows (ウィンドウについて)

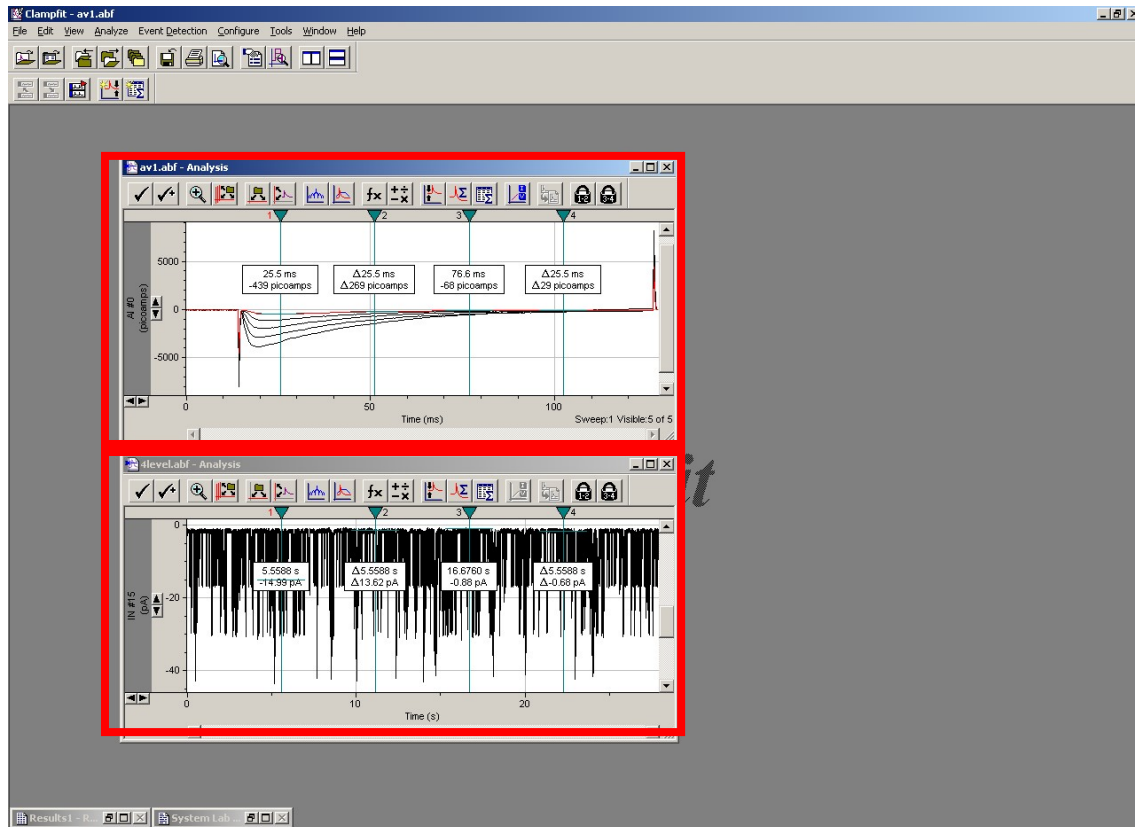
Clampfit は Campex と同様の標準ウィンドウがあります。可能な限り Clampex と同じコマンドと構成を採用しています。Clampfit は、これらの多くはツールボタン、または右クリックポップアップメニューからアクセスできますが、すべてのコマンドはメニューにあり、選択しているウィンドウタイプによって、メニューは異なります。例えば、Analysis ウィンドウに Format メニューはありませんが、Results ウィンドウにはあります。同様に、選択されたウィンドウタイプによって、同じ名前のメニューでも、中のコマンドは異なります。Clampfit は以下の 7 つのウィンドウがあります。

Analysis  
Data File Index  
Graph  
Lab Book  
Layout  
Results  
Statistics

これらのウィンドウは最大化、最小化、サイズ変更、タイル表示することができます。Window メニューの下の方にあるリストから、隠れているウィンドウを開くことができます。各ウィンドウで各領域を右クリックすると、ウィンドウタイプによって、異なるポップアップメニューを表示します。Window Properties ダイアログもその 1 つです。Window Properties はウィンドウの外観を設定することができ、View > Window Defaults を選択すると、その時の設定をデフォルトとして保存できます。各ウィンドウタイプの基本的な機能は、次項から解説しますが、より詳細についてはヘルプを確認して下さい。

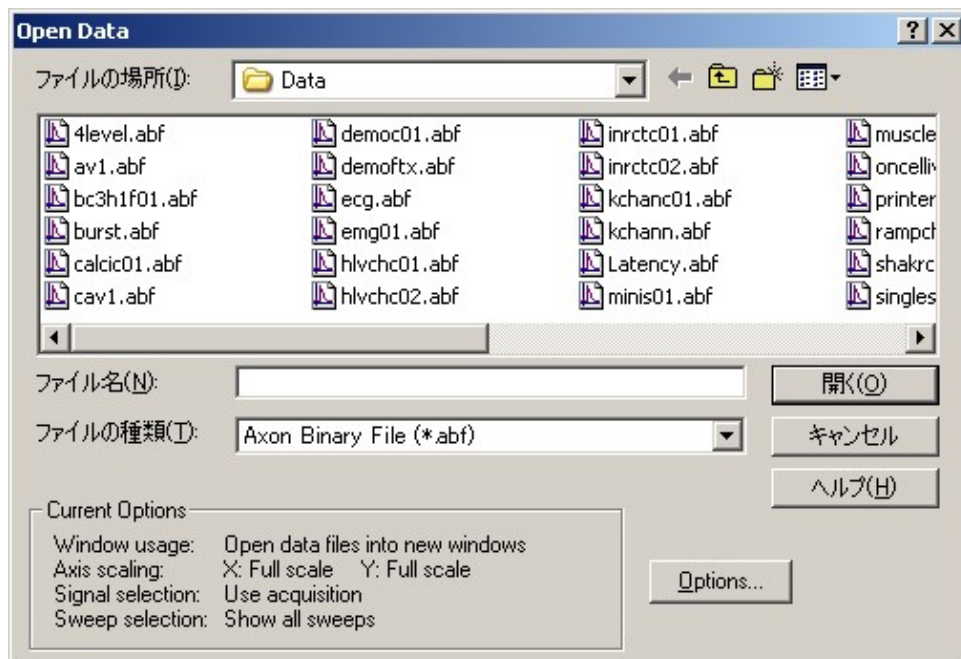
## 1.2. Analysis Window

Analysis Window は記録したデータを表示します。データごとにサブウィンドウが開かれます。



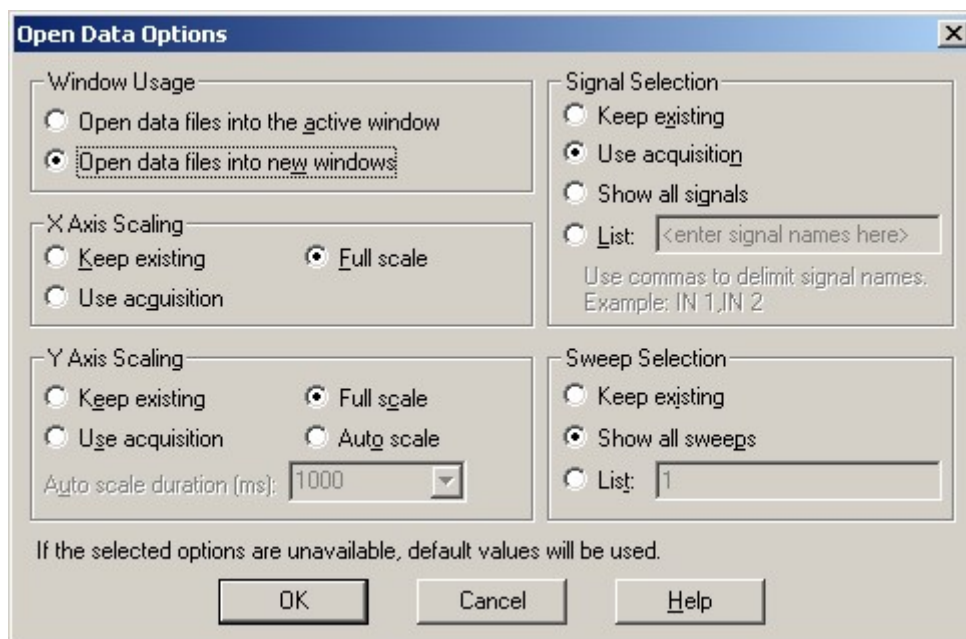
### 1.2.1. ファイルを開く

File > Open Data でファイルを開きます。



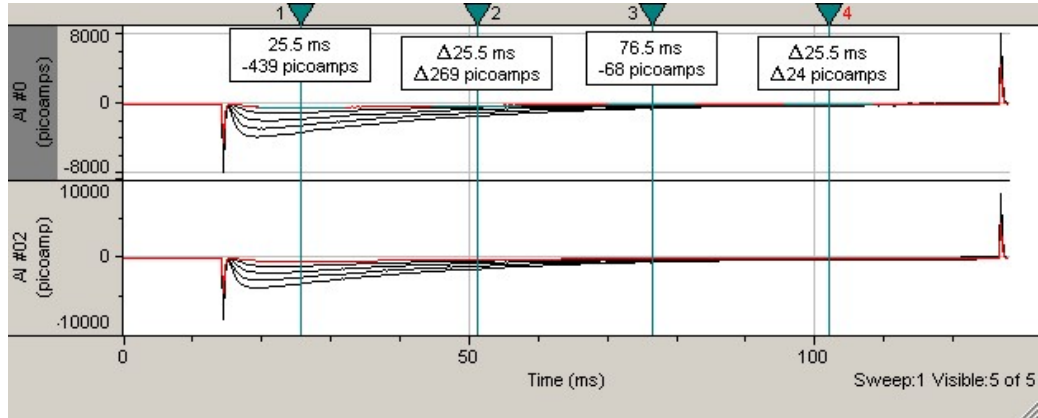
File > Open Data Option はデータファイルを開くときのオプションを設定できます。

Windows Usage は新しいウィンドウで開くか、現在のウィンドウに置き換えるかを選択できます。X Axis Scaling はX軸のスケール、Y Axis Scaling はY軸のスケール、Signal Selection は表示するシグナル、Sweep Selection は表示する Sweep を設定できます。

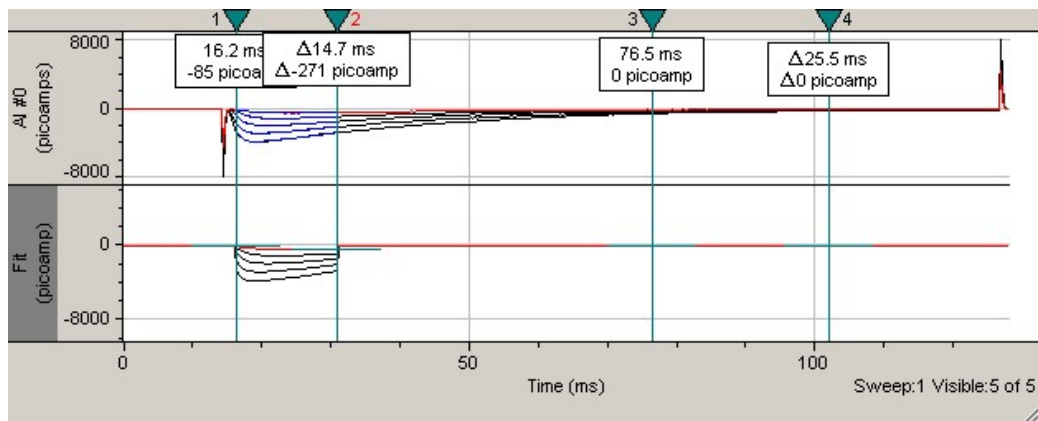


### 1.2.2. シグナルのコピーと追加

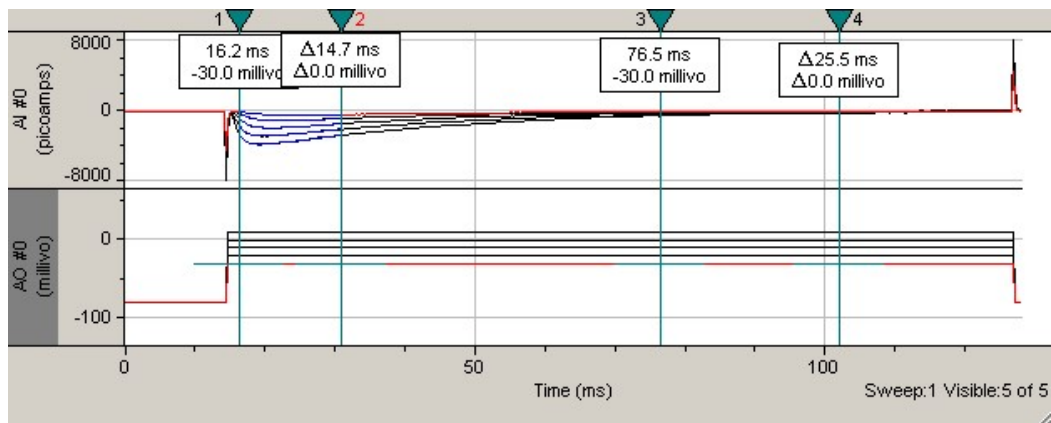
Edit > Create Duplicate Signal でシグナルをコピーできます。



Edit > Create Fitted Curve Signal でフィッティングカーブを追加できます。

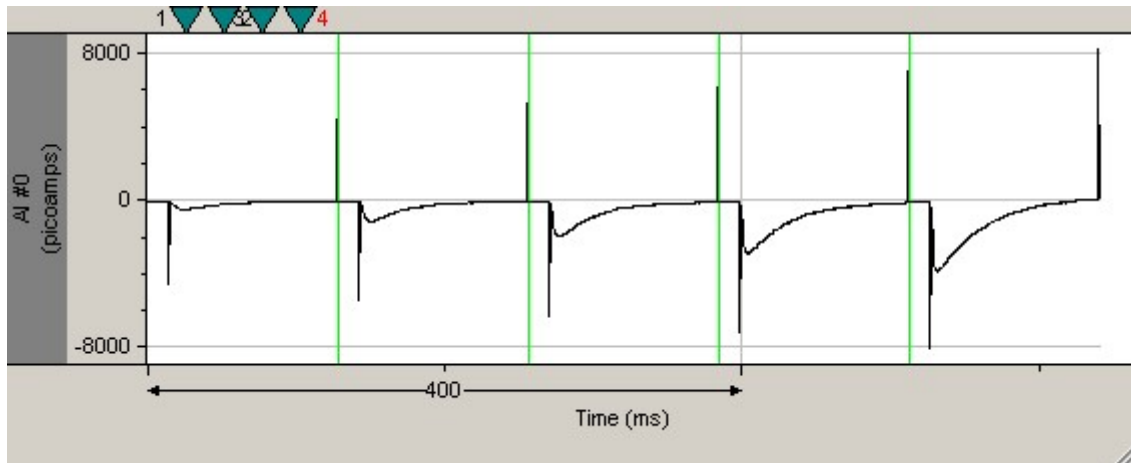


Edit > Create Stimulus Waveform Signal でプロトコルの Waveform を追加できます。

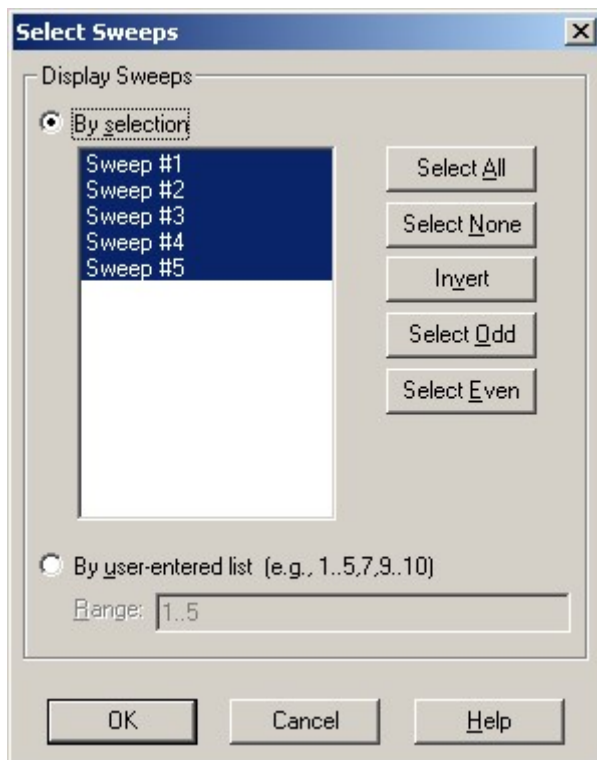


### 1.2.3. 波形の表示設定

View > Data Display はデータの表示方法を選択します。Sweep, Continuous, Concatenated



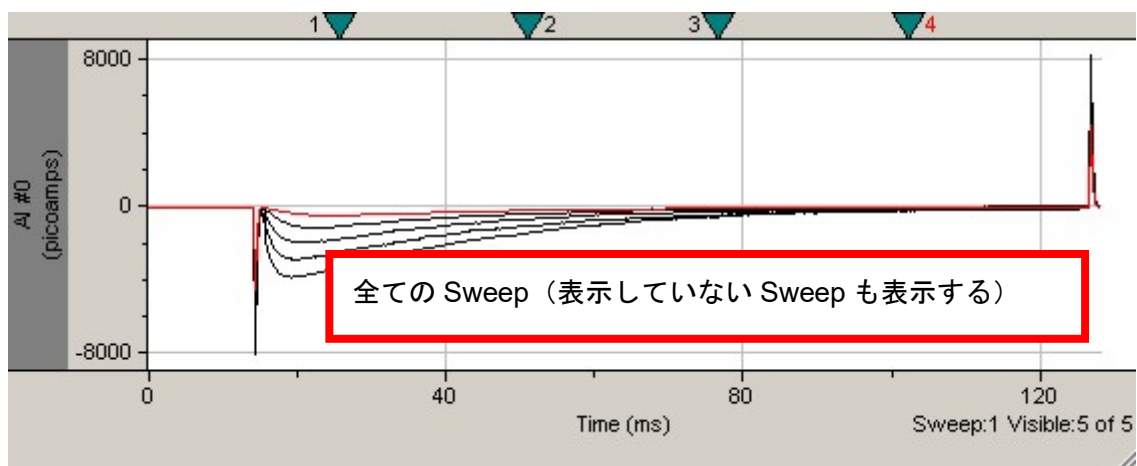
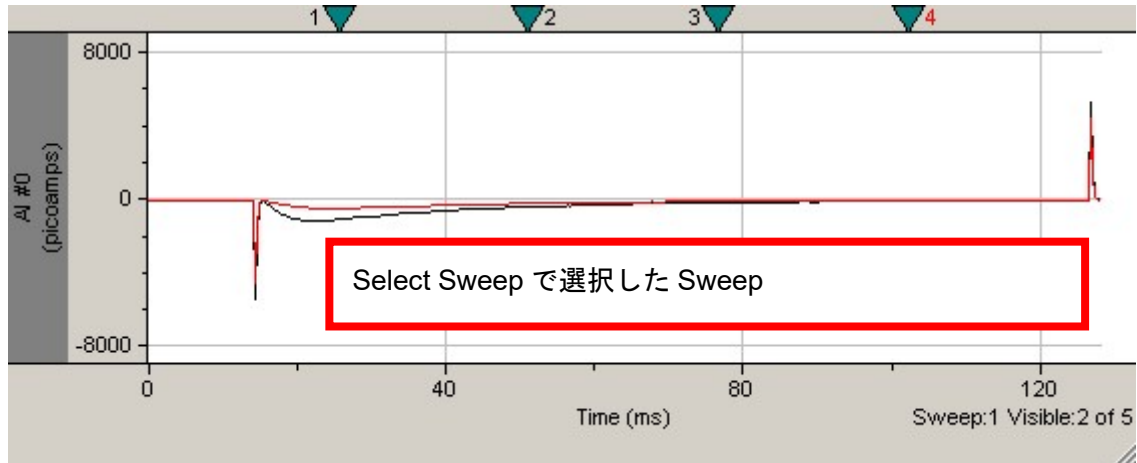
View > Select Sweeps で表示する Sweep を選択できます。





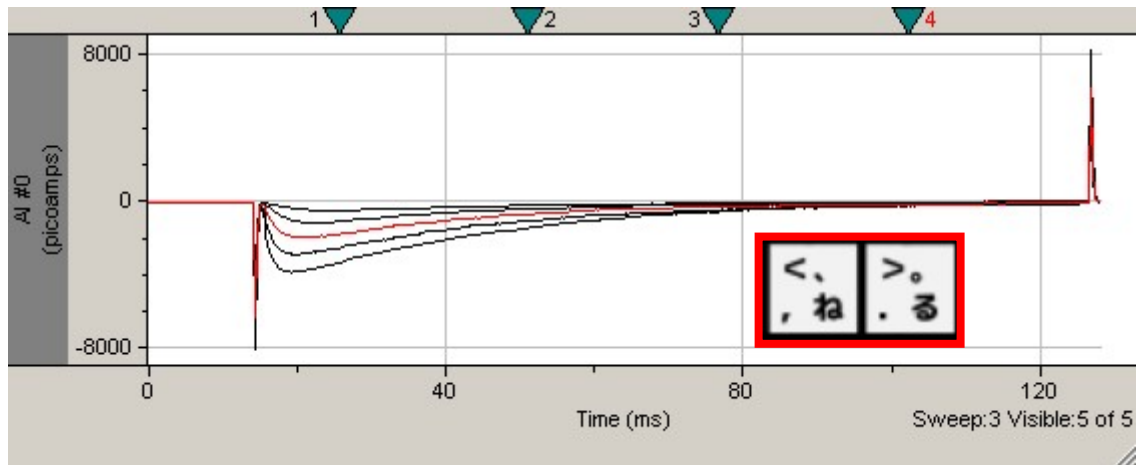
View > Toggle Sweep List で表示する Sweep を切り替えることができます。

Select Sweep で選択した Sweep→全ての Sweep（表示していない Sweep も表示する）→  
選択している Sweep（赤線の Sweep のみ）→Select Sweep で選択した Sweep.....





キーボードの「<」と「>」で選択する Sweep（赤線の Sweep）を変更できます。



#### 1.2.4. 解析項目

さまざまな解析ができます。

Curve Fitting : フィッティング

Autocorrelation : 時系列分析

Cross-Correction : 時系列分析

Non-Stationary fluctuation : ゆらぎの非定常解析

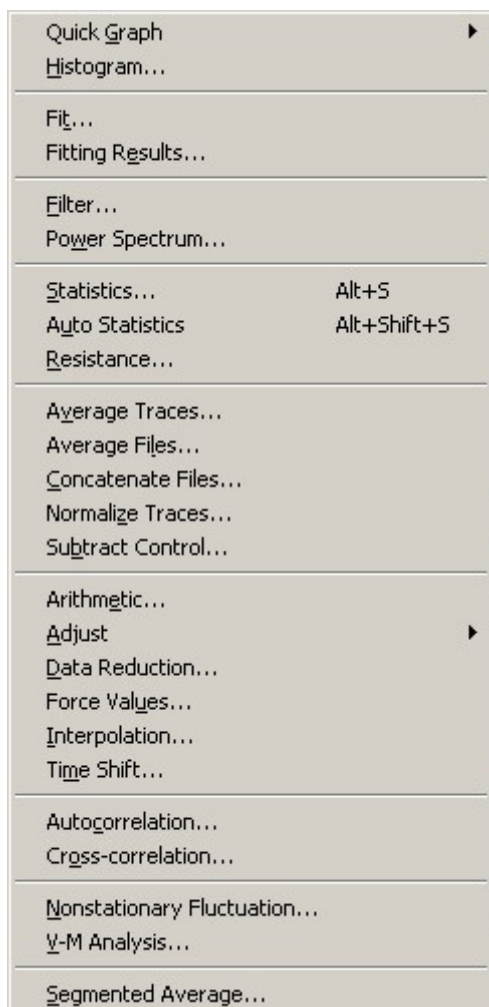
V-M Analysis : 伝達物質放出を評価

さまざまな操作ができます。

Subtracting a control file : コントロールデータの減算

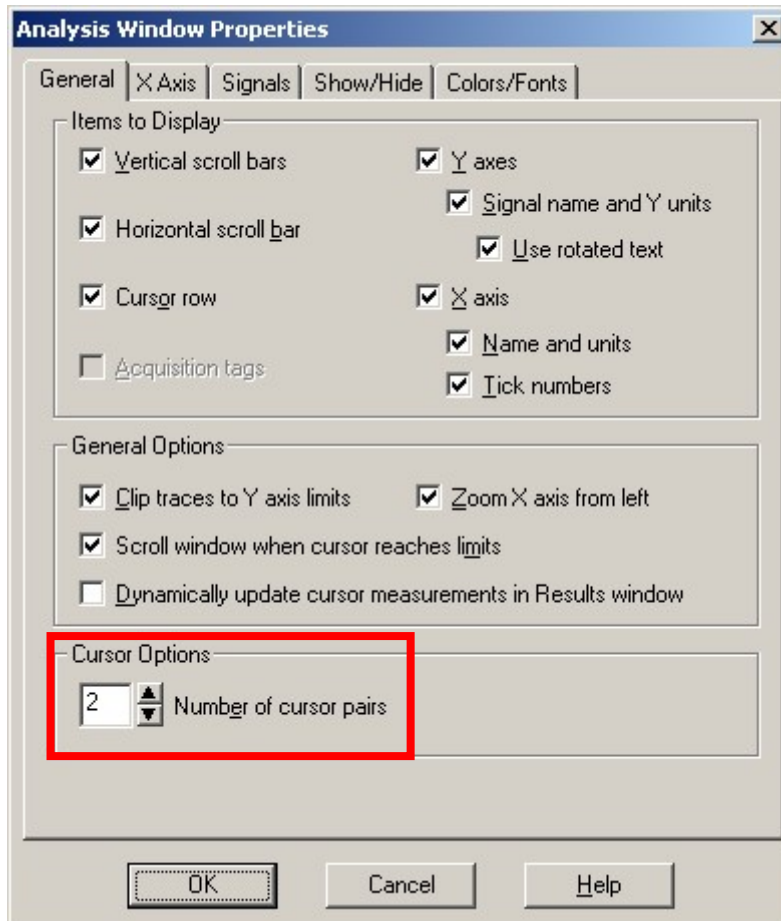
Averaging trace : 波形の平均

Adjusting the baseline : ベースラインの補正

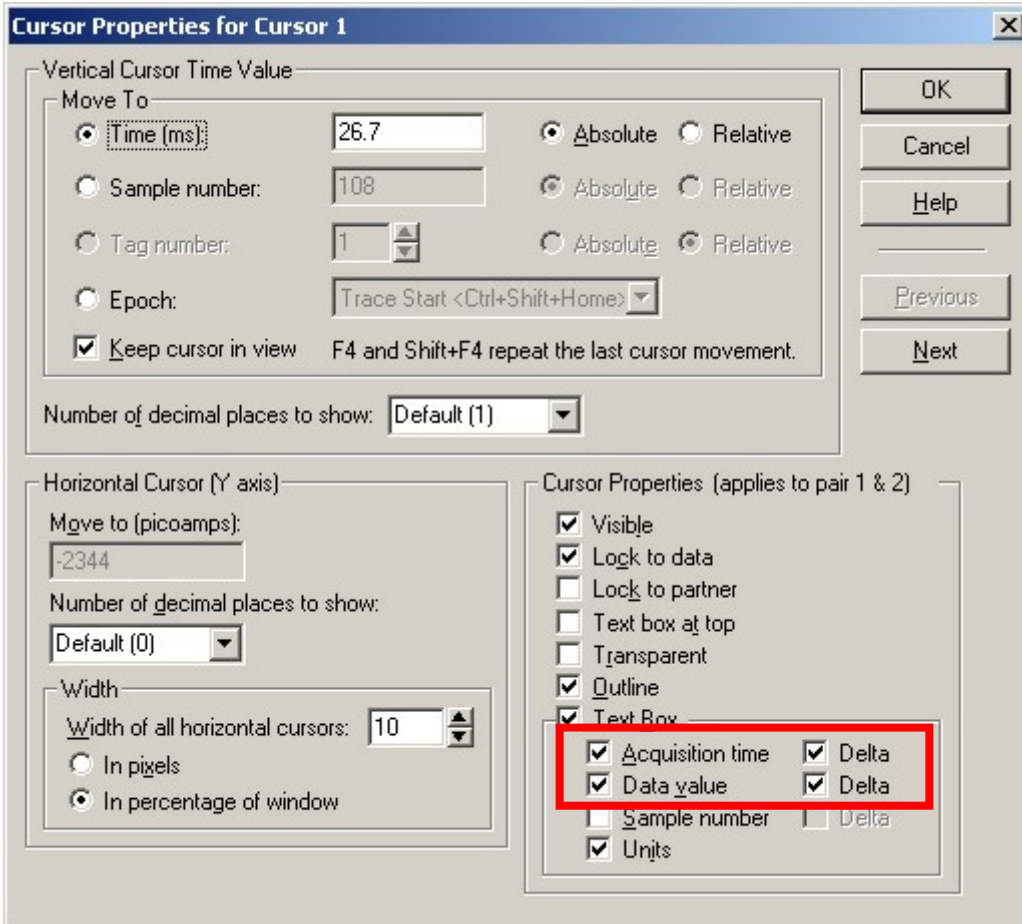


### 1.2.5. カーソルの設定

解析範囲の指定などをアシストする9つのカーソルペアがあります。View > Window Properties > General タブでカーソルペアを追加・削除できます。



Tools > Cursor > Cursor Properties でカーソルの設定ができます。カーソルをダブルクリックしても可能です。カーソルペアの位置はファイルごとにロックすることができます。コメント、時間、振幅、サンプル数を表示でき、カーソルペアの2つ目（1と2の場合は2）は差で表示することができます。



**Cursor Properties for Cursor 1**

Vertical Cursor Time Value

Move To:

- ☒ Time (ms): 26.7 ☒ Absolute ☐ Relative
- ☐ Sample number: 108 ☒ Absolute ☐ Relative
- ☐ Tag number: 1 ☐ Absolute ☒ Relative
- ☐ Epoch: Trace Start <Ctrl+Shift+Home>

☒ Keep cursor in view F4 and Shift+F4 repeat the last cursor movement.

Number of decimal places to show: Default (1)

Horizontal Cursor (Y axis)

Move to (picoamps): -2344

Number of decimal places to show: Default (0)

Width

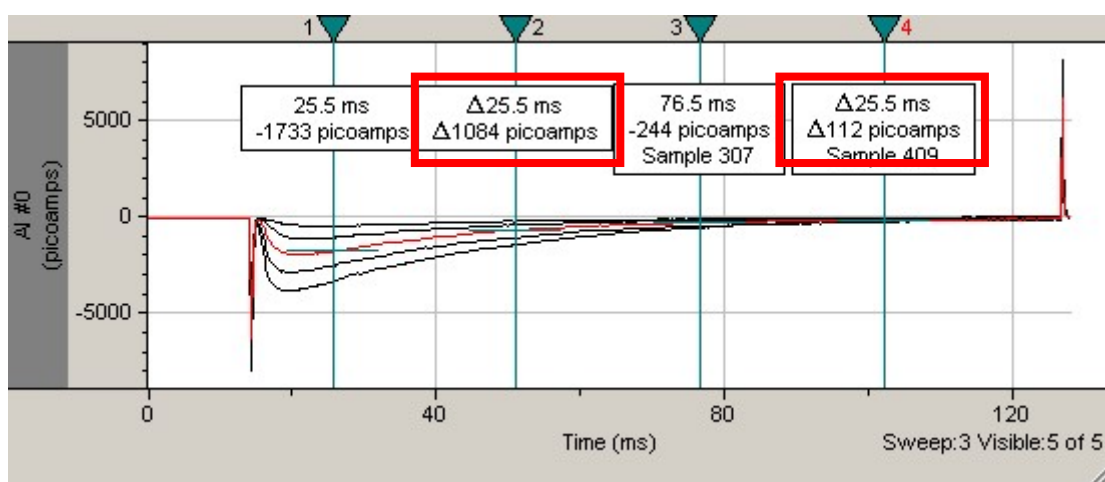
Width of all horizontal cursors: 10

- ☐ In pixels
- ☒ In percentage of window

Cursor Properties (applies to pair 1 & 2)

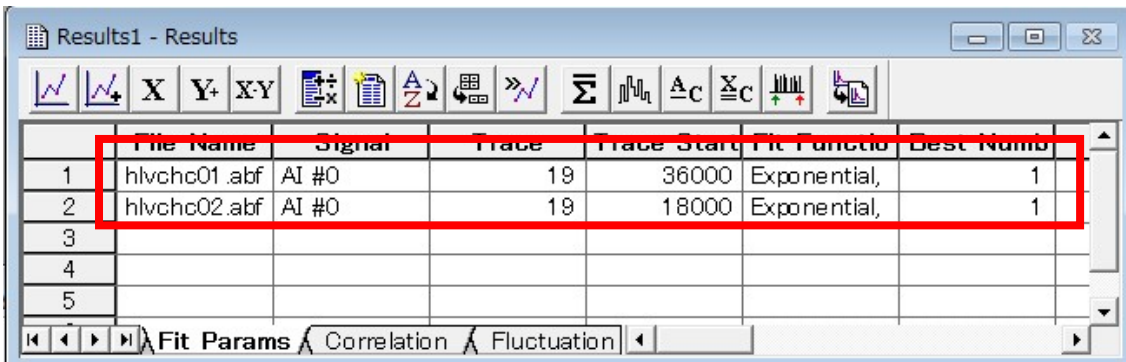
- ☒ Visible
- ☒ Lock to data
- ☐ Lock to partner
- ☐ Text box at top
- ☐ Transparent
- ☒ Outline
- ☒ Text Box
- ☒ Acquisition time ☒ Delta
- ☒ Data value ☒ Delta
- ☐ Sample number ☐ Delta
- ☒ Units

Buttons: OK, Cancel, Help, Previous, Next



### 1.2.6. 複数ファイルのフィッティングカーブの解析結果について

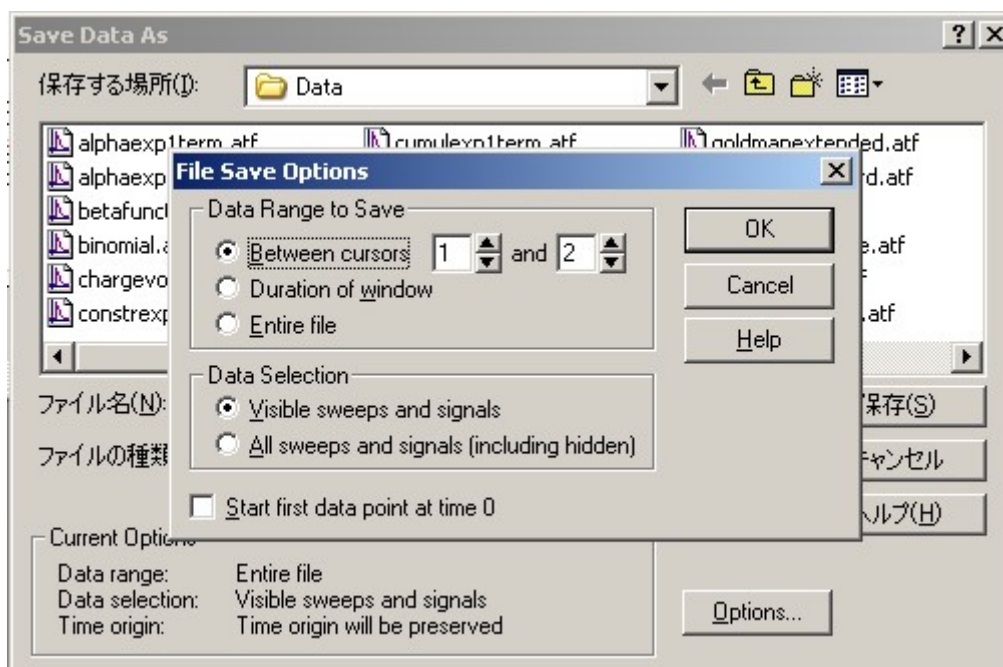
複数のデータを開いている場合でも、各データのフィッティングカーブの解析結果は Results ウィンドウの同じ Fit タブにレポートされます。



	File Name	Signal	Trace	Trace Start	Fit Function	Best Numb
1	hlvchc01.abf	AI #0	19	36000	Exponential,	1
2	hlvchc02.abf	AI #0	19	18000	Exponential,	1
3						
4						
5						

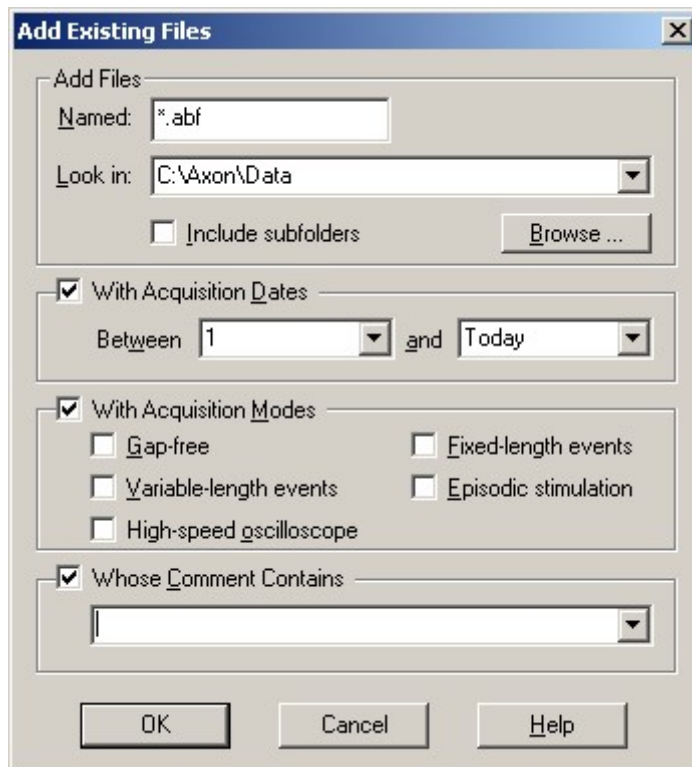
### 1.2.7. データの保存

File > Save As > Option dialog で開いたデータの一部を新しく保存することができます。カーソル間の波形を保存、表示している波形を保存するなど。



### 1.3. Data File Index

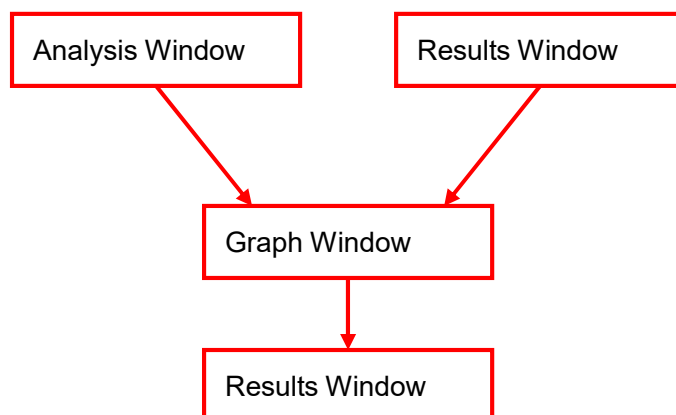
Data File Index ( DFI ) はデータファイルをグループ化して索引を作成することができます。データファイルは同時に複数の DFI にグループ化することができます。各ファイルのパラメータがレポートされ、パラメータで並び替えすることができます。File > New Data File Index で作成できます。また、アーカイブすることもできます。



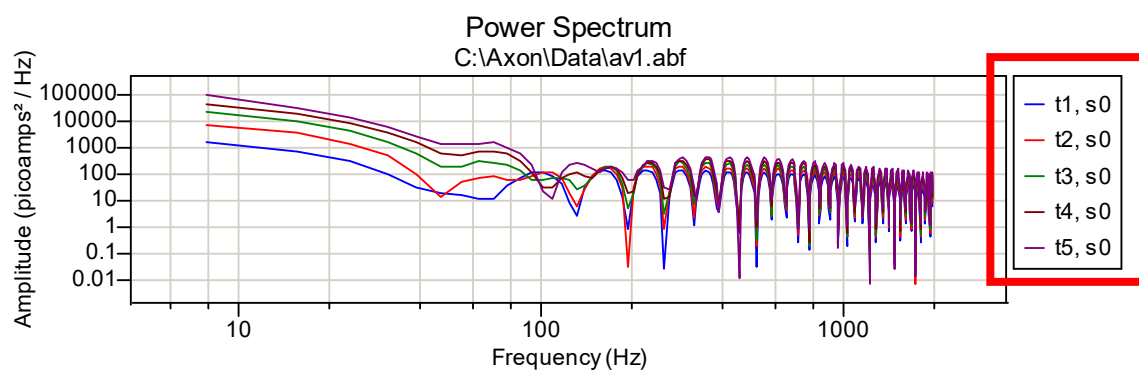
Data File Index3 - Data File Index									
35 files									
Filename	ABF Version	Data Format	Mode	Date	Time	Stopwatch	1st Interval (μs)	2nd Interval (μs)	Amplif
4level...	1.8	Floating P...	Ga...	Fe...	15...	00:06:12	400	400	Voltaç
av1.abf	1.8	Floating P...	Epi...	M...	00...	00:00:00	250	250	Voltaç
bc3h1...	1.8	Floating P...	Var...	M...	09...	00:02:02	100	100	Voltaç
burst...	1.8	Floating P...	Ga...	De...	11...	00:00:38	100	100	Voltaç
calcic...	1.8	Floating P...	Epi...	Ap...	16...	03:48:25	400	400	Voltaç
cav1...	1.8	Floating P...	Epi...	CL...	00...	00:00:00	500	500	Voltaç
demo...	1.8	Floating P...	Epi...	M...	00...	00:00:00	2000	2000	Voltaç
demof...	1.8	Floating P...	Ga...	CL...	00...	00:00:00	100	100	Voltaç
ecg.abf	1.8	Floating P...	Ga...	Jul...	23...	00:00:00	2000	2000	Voltaç
emg0...	1.3	Integer	Ga...	Se...	15...	00:00:00	325	325	Voltaç
hlvchc...	1.8	Floating P...	Epi...	M...	00...	00:00:00	40	40	Voltaç
hlvchc...	1.8	Floating P...	Epi...	M...	00...	00:00:00	500	500	Voltaç

## 1.4. Graph Window

Graph ウィンドウは2次元グラフです。Analysis ウィンドウや Results ウィンドウのデータからグラフを作成し、グラフデータを Results ウィンドウにレポートします。グラフを保存する場合は Results ファイルとして保存されます。保存した Results ファイルを開くと、グラフも表示されます。

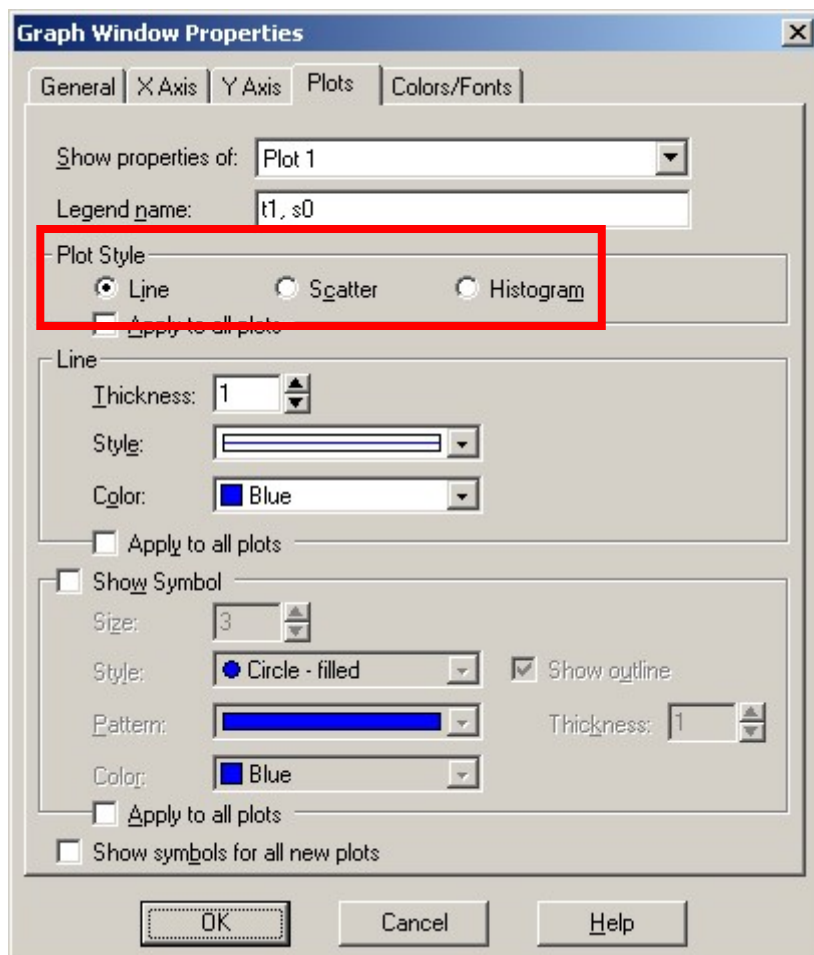


また、複数のプロットを描画でき、右側に凡例が表示されます。



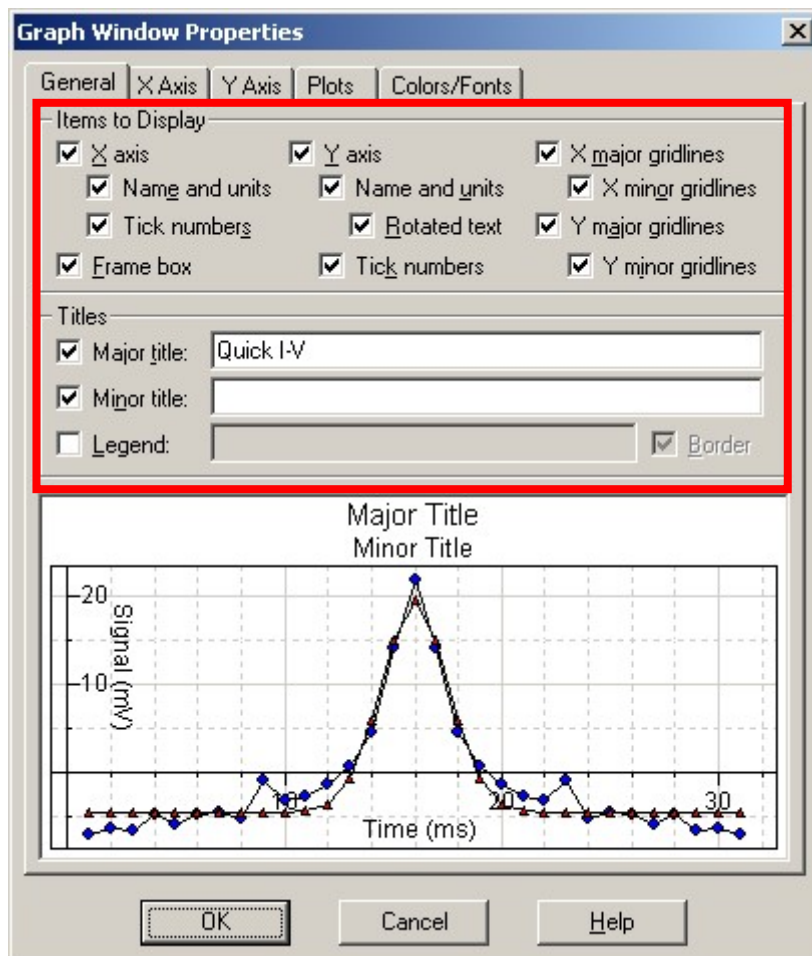
### 1.4.1. Graph ウィンドウの設定

グラフタイプにはスキャタープロット、ラインプロット、ヒストグラムがあります。

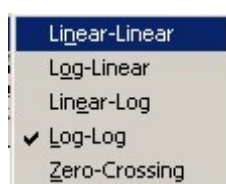




View > Window Properties でグラフの名前、軸のラベルを変更できます。

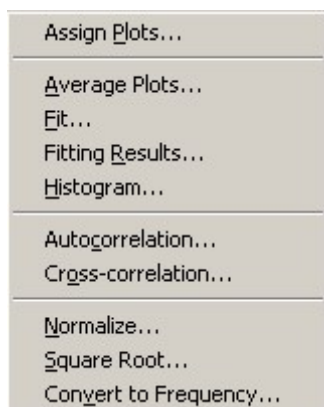


View > Axis Type で軸のスケールを設定できます。



### 1.4.2. Graph ウィンドウの操作

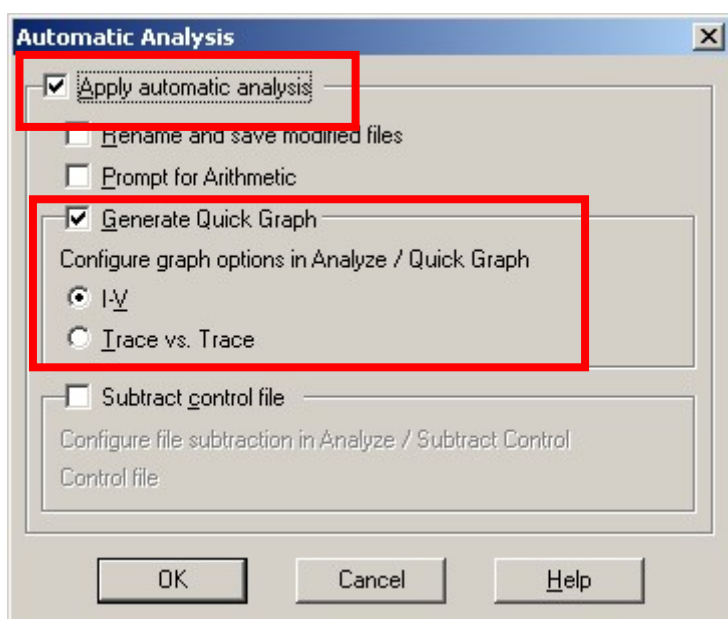
作成したグラフは Analyze から Curve fitting, normalization, square root などの操作を実行できます。Graph ウィンドウを操作すると、Results ウィンドウにその結果が反映されて数値が変更されます。



### 1.4.3. グラフの作成

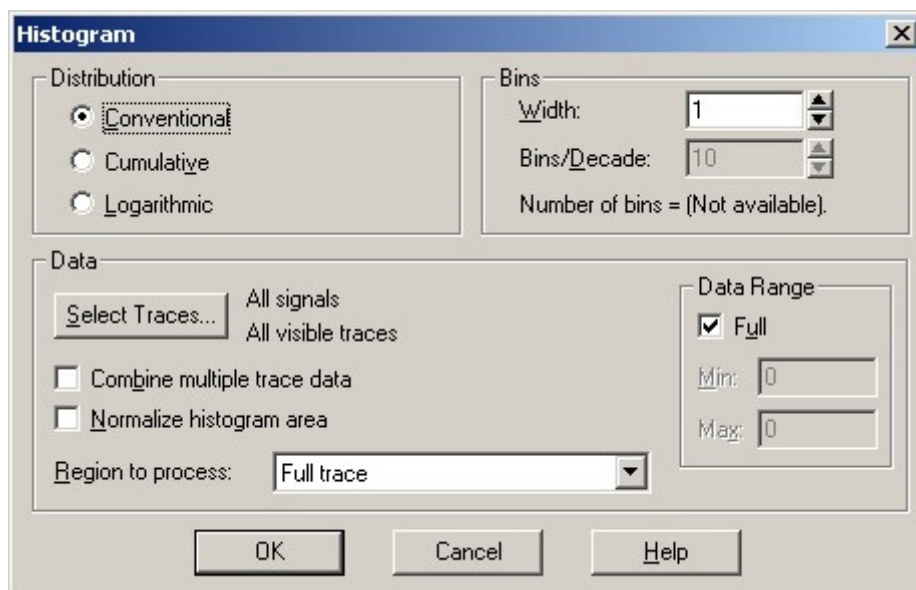
Analyze > Quick Graph

Analysis Window のデータを使用して、I-V カーブと Trace vs. Trace のグラフを作成します。Configure > Automatic Analysis を設定すれば、Clampex の記録と連動してグラフを描くことができます。Apply automatic analysis をチェックすると有効になり、Generate Quick graph をチェックすると、I-V グラフ、もしくは Trace vs. Trace グラフが自動的に作成されます。カーソルの位置がリアルタイムで反映されます。



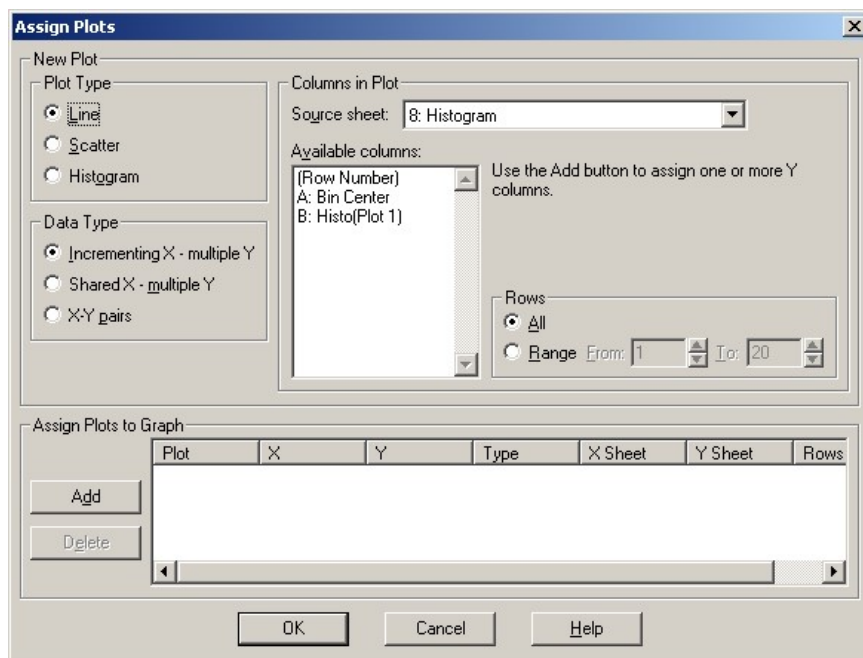
## Analyze > Histogram

Analysis, Graph, Results Window のデータを使用して、ヒストグラムを作成します。



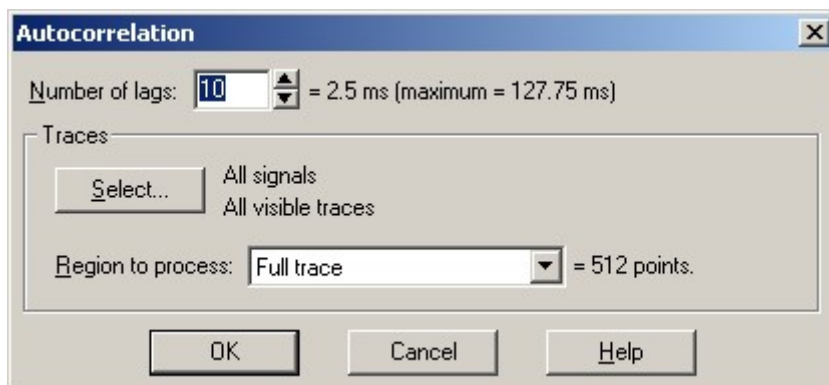
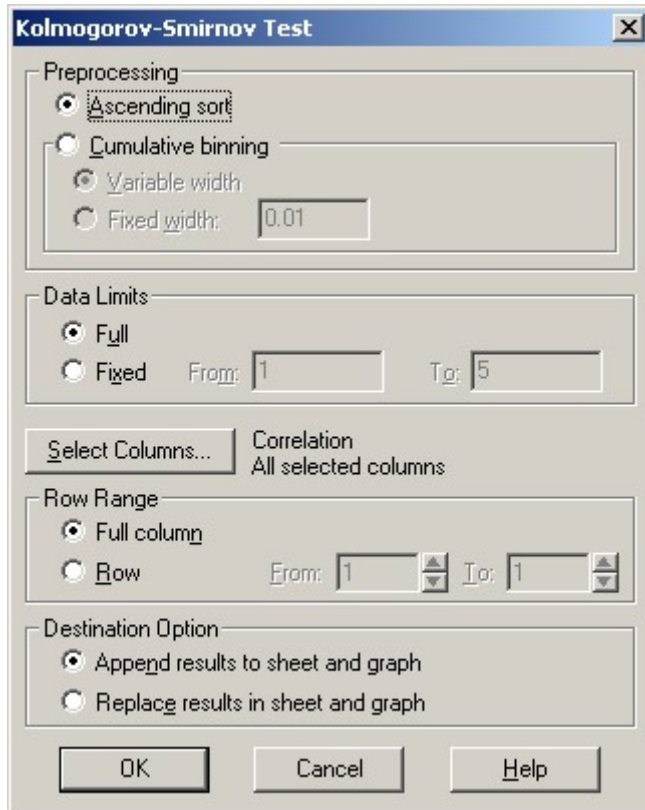
## Analyze > Create Graph, Assign Plots

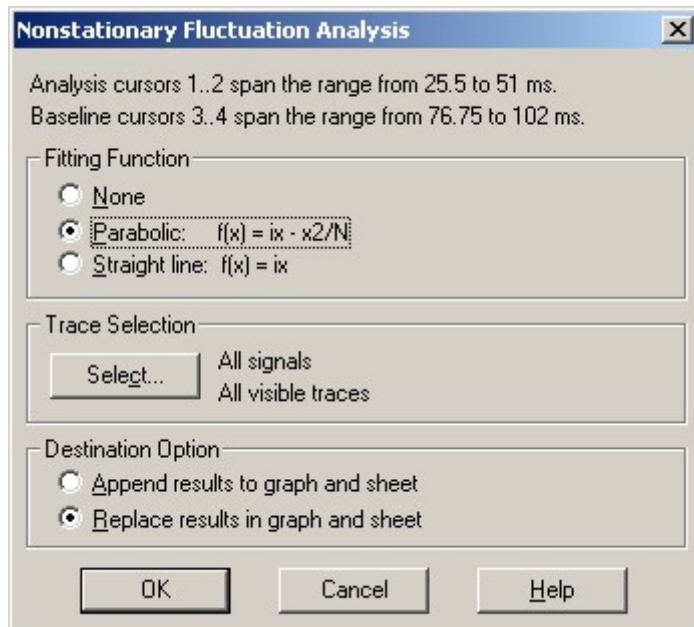
Results Window のデータを使用してグラフを作成できます。



Analyze > のさまざまなメニュー

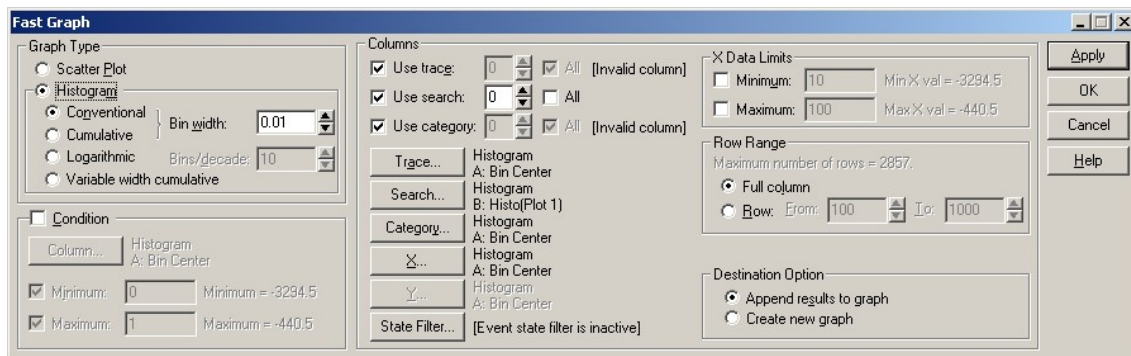
Analysis, Results Window のデータを使用してさまざまなグラフを作成できます。





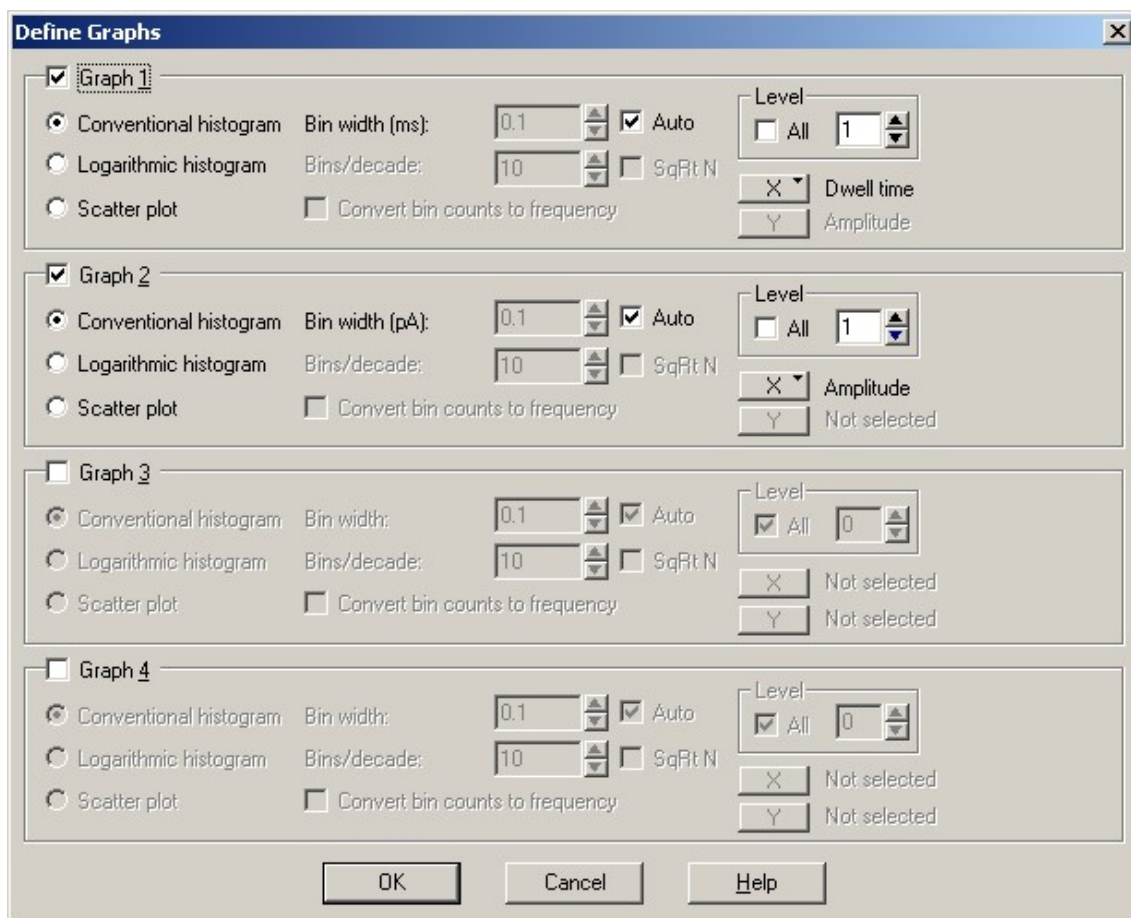
## Analyze > Event Analysis > Fast Graph

イベントデータのグラフを作成するようにデザインされています。通常は Results Window Event Sheet のデータを使用してグラフを作成します。もちろん、他の Sheet でも使用できますが、ほとんど使用しません。



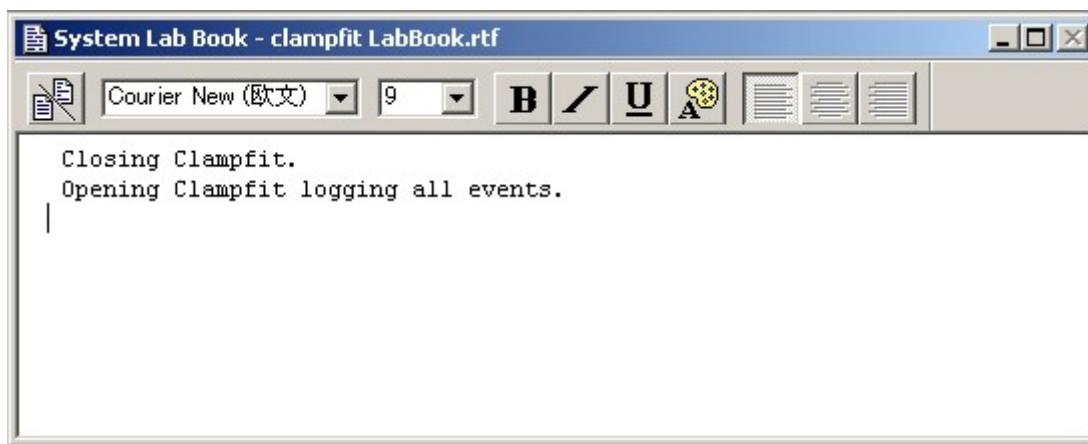
## Event Detection > Define Graph

イベントデータのグラフを作成します。最大4つのグラフを作成できます。

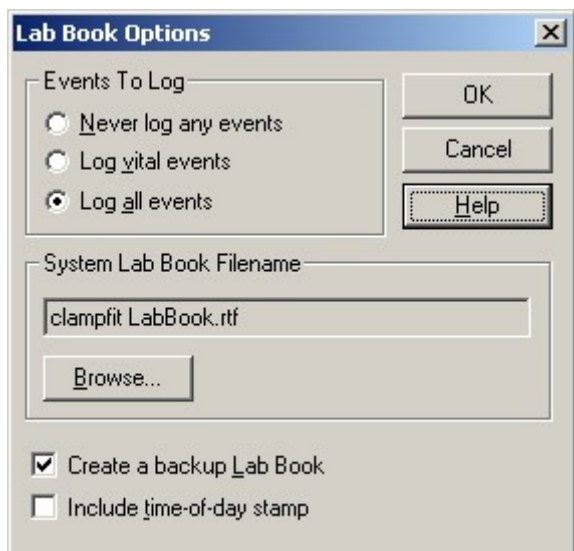


## 1.5. Lab Book

System Lab Book ウィンドウは操作や発生したイベントを記録するテキストエディタです。操作や発生したイベントが自動的に追加されます。

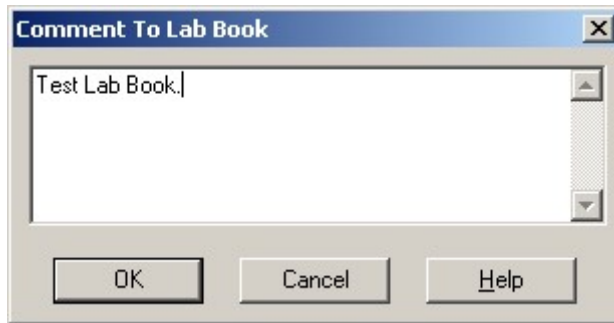


Configure > Lab Book Option で Lab Book を設定できます。Event To Log には記録するイベントを設定します。System Lab Book Filename には Lab Book のテキストファイルを設定します。Create a back up Lab book をチェックすると、Lab Book が更新されたときに、ファイルを保存する前に、拡張子.bak のファイルにバックアップを行います。Include time-of-day stamp をチェックすると、日時情報も記録します。

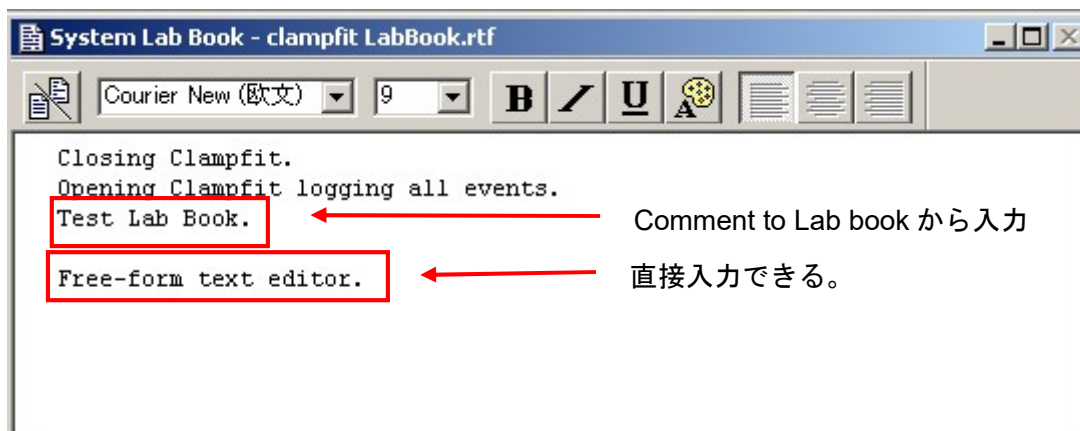




Tools > Comment to Lab book で Lab book にテキストを追加できます。



直接入力することもできます。

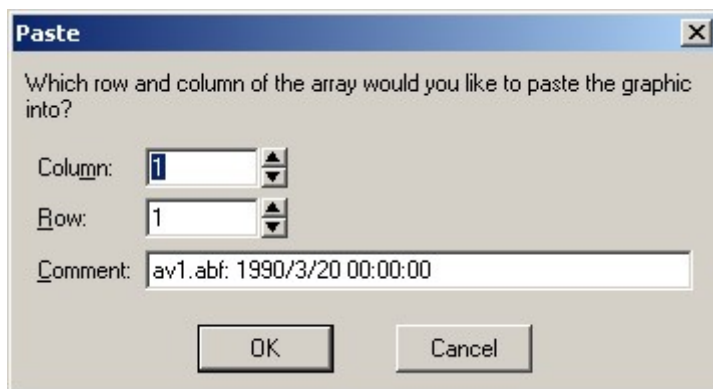




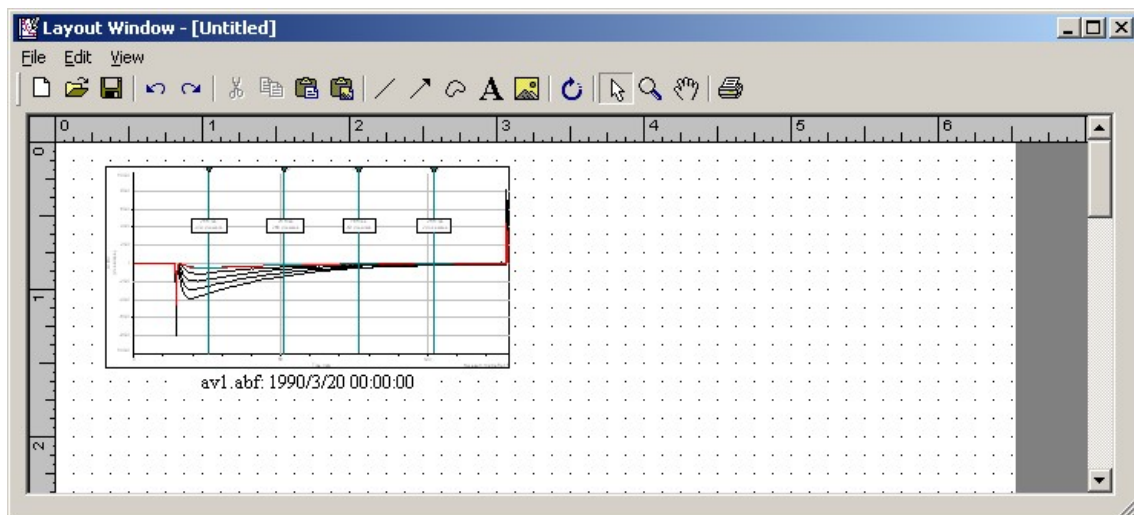
## 1.6. Layout Window

Layout ウィンドウはプレゼンテーションのためのページレイアウトツールです。Analysis ウィンドウの波形、Results ウィンドウのデータ、Graph ウィンドウのグラフを Layout ウィンドウにコピーすることができます。

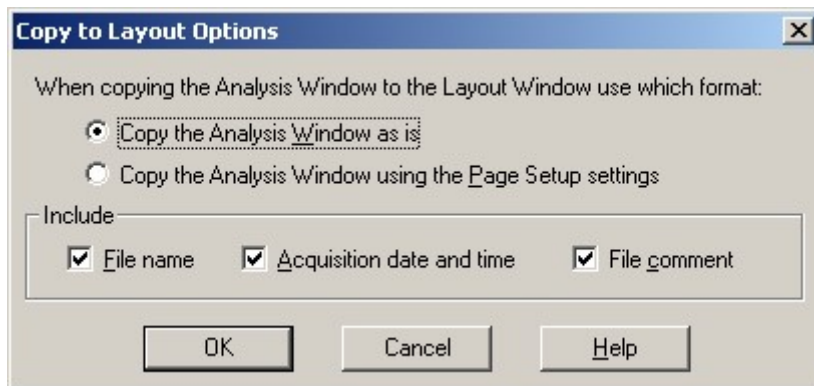
Edit > Copy to Layout Window から Layout ウィンドウにコピーすることができます。



Layout ウィンドウは clampfit と別ウィンドウで表示されます。



Analysis ウィンドウをコピーする場合のみ、Edit > Copy to Layout Option でコピーする項目などのオプションを設定できます。



## 1.7. Results Window

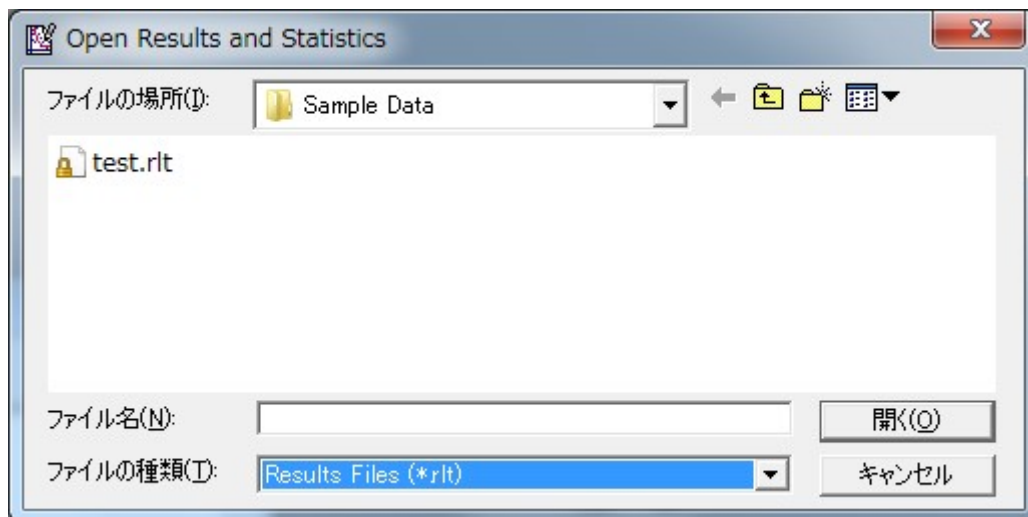
Clampfit で解析したデータや作成したグラフのデータなどは Results ウィンドウに格納されます。Clampex では Results ウィンドウに Cursor のデータを格納する 1 シートのみ用意されていましたが、Clampfit の Results ウィンドウには 20 シート用意されています。Clampex で保存した Results ファイルは Clampfit でも開くことができ、シート名は clampex となります。

デフォルトで 13 シートが専用シートに割り当てられ、7 シート(7-14)はユーザが自由に使用することができます。

Results	Sheet Function	For Window Type
Cursors	Cursor Tools > Cursors > Write Cursors & Append	Analysis
Events	Event Detection	Analysis
Bursts	Analyze > Event Analysis > Burst Analysis	Results
Statistics	Analyze > Statistics & Power Spectrum Analysis	Analysis
Basic	Stats Analyze > Basic Statistics	Results
Fit Params	Analyze > Fit	Analysis, Graph & Results
Correlation	Analyze > Autocorrelation & Cross-Correlation	Analysis, Graph & Results
Fluctuation	Analyze > Nonstationary Fluctuation	Analysis
Histogram	Analyze > Histogram	Analysis, Graph & Results
Power	Analyze > Power Spectrum	Analysis
Resistance	Analyze > Resistance	Analysis
V-M Analysis	Analyze > V-M Analysis	Analysis
Quick Graph	Analyze > Quick Graph	Analysis

### 1.8. Statistics Window

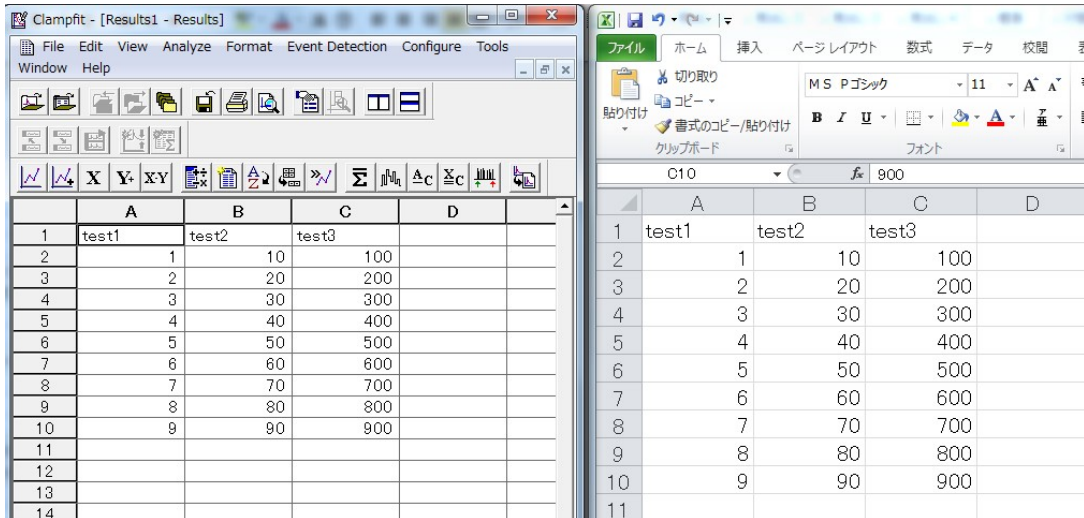
Clampex で作成された統計ファイルは File > Open Other > Results & Statistics で開くことができます。データは Results ウィンドウに表示されます。



## 2. ファイルのインポート (Feature - File Import)

### 2.1. カット&ペースト

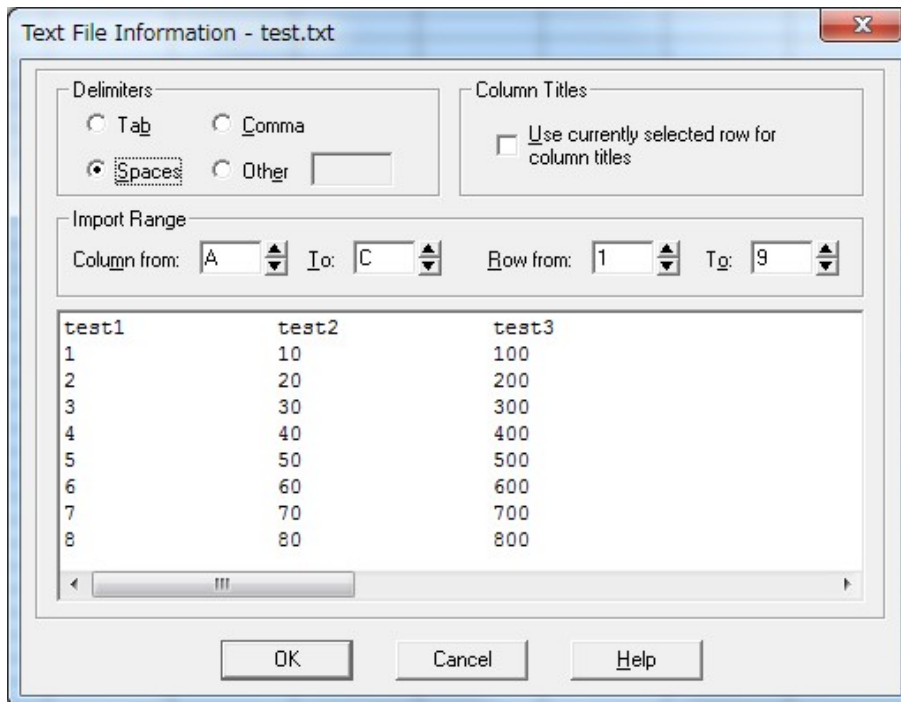
Clampfit は他のソフトウェアのデータを簡単にインポートすることができます。例えば、カット&ペーストによって、エクセルからのデータを Clampfit の Results シートにペーストすることが可能です。



	A	B	C	D
1	test1	test2	test3	
2	1	10	100	
3	2	20	200	
4	3	30	300	
5	4	40	400	
6	5	50	500	
7	6	60	600	
8	7	70	700	
9	8	80	800	
10	9	90	900	
11				
12				
13				
14				

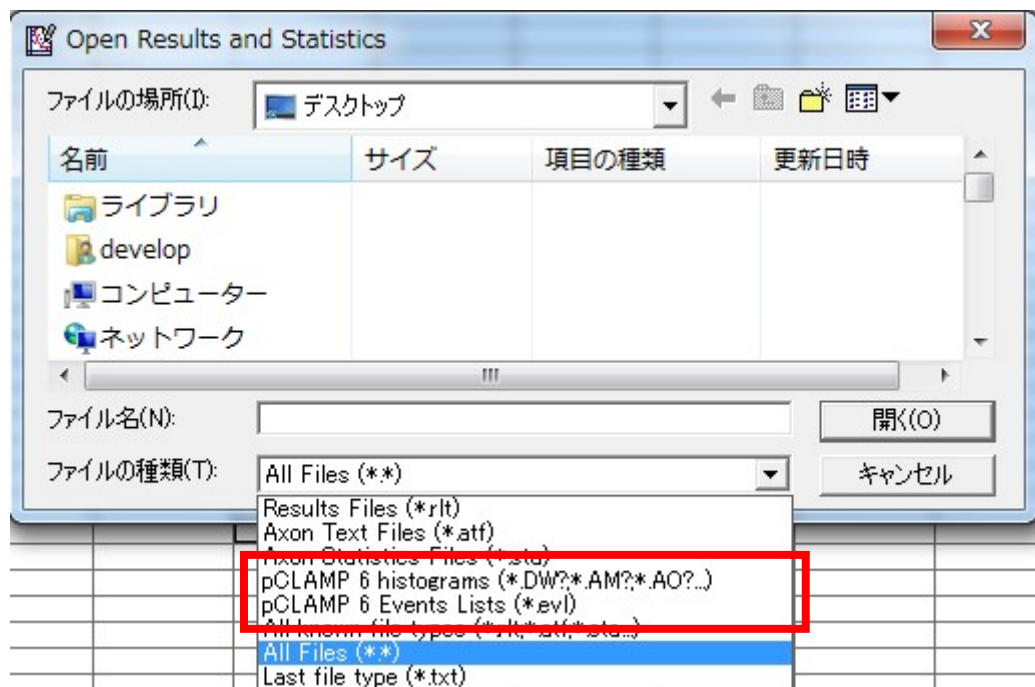
## 2.2. テキストファイルの読み込み

ほとんどのテキストファイルは Results シートで開くことができます。File > Open Other > Results & Statistics を選択し、開きたいテキストファイルを選択します。ファイルが表示される前に、ダイアログが開きます。テキストファイルの列区切り記号を選択し、かつ他のオプションをセットします。



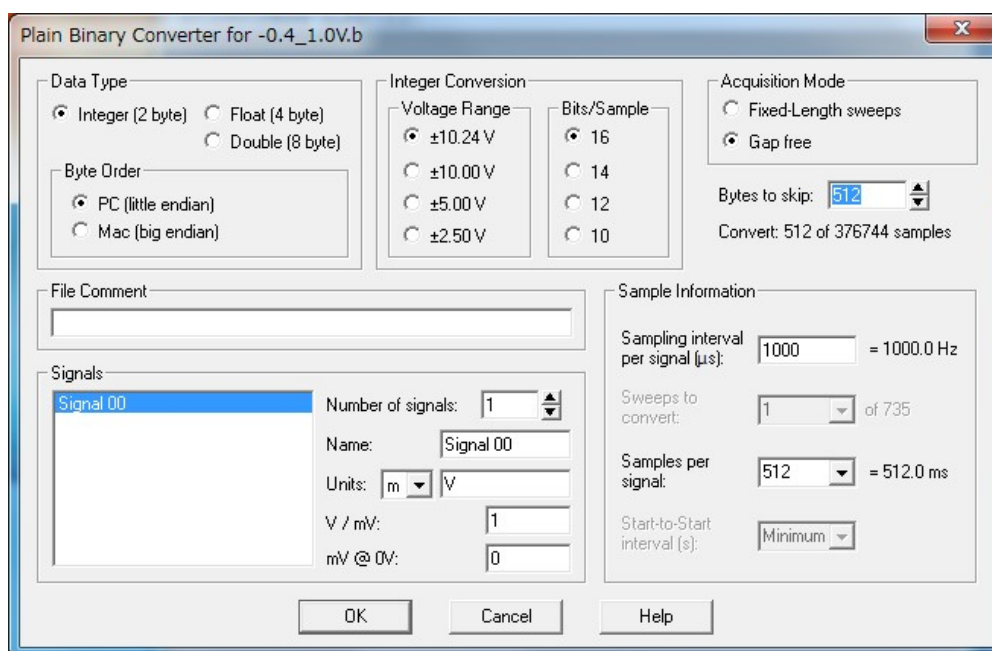
### 2.3. pCLAMP6 Event List, Histogram データの読み込み

pCLAMP6 の Event List や Histogram のファイルは File > Open Other > Results & Statistics から開くことができます。



## 2.4. バイナリファイルの読み込み

いくつかのシンプルな ASCII 形式、バイナリ形式のファイルを開くことが可能です。File > Open Data から Axon 以外のテキスト、バイナリファイルを開くと、Plain Text/Binary Converter ダイアログが開きます。ファイルを表示させるにはシグナル数、シグナル名、単位、スケールを設定する必要があります。また、ヘッダー情報がデータとして誤解されないようにスキップするライン数やバイト数を指定する必要があります。データに時間列がない場合は、サンプリングレートを指定して、時間データを自動的に作成することができます。



Plain Binary Converter for -0.4\_1.0V.b

Data Type: ☒ Integer (2 byte) ☐ Float (4 byte) ☐ Double (8 byte)

Byte Order: ☒ PC (little endian) ☐ Mac (big endian)

Integer Conversion: Voltage Range: ☒ ±10.24 V ☐ ±10.00 V ☐ ±5.00 V ☐ ±2.50 V Bits/Sample: ☒ 16 ☐ 14 ☐ 12 ☐ 10

Acquisition Mode: ☐ Fixed-Length sweeps ☒ Gap free

Bytes to skip: 512

Convert: 512 of 376744 samples

File Comment:

Signals: Signal 00

Number of signals: 1

Name: Signal 00

Units: m V

V / mV: 1

mV @ 0V: 0

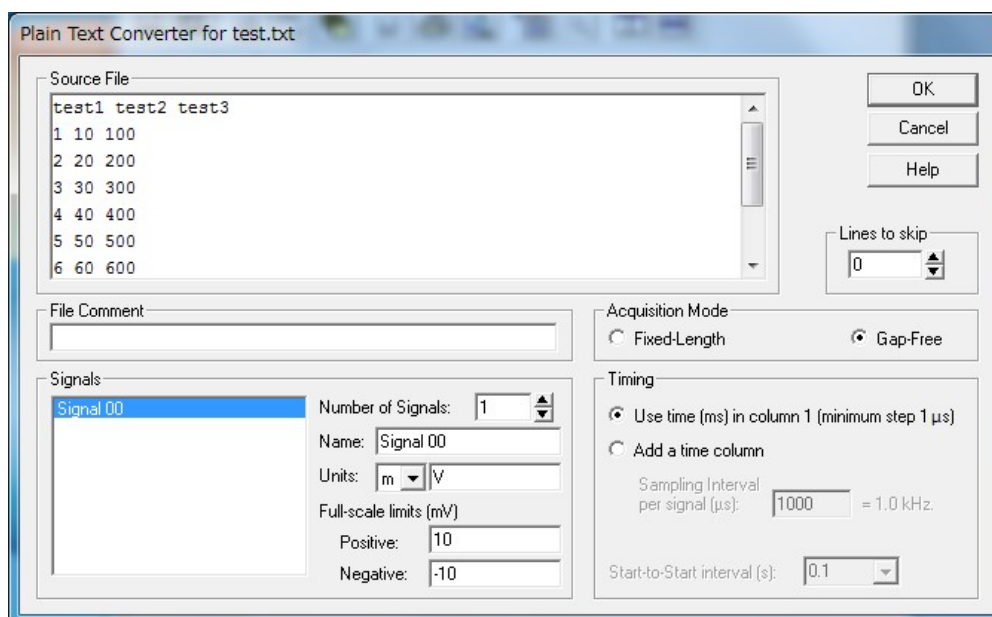
Sample Information: Sampling interval per signal (μs): 1000 = 1000.0 Hz

Sweeps to convert: 1 of 735

Samples per signal: 512 = 512.0 ms

Start-to-Start interval (s): Minimum

OK Cancel Help



Plain Text Converter for test.txt

Source File: test1 test2 test3

1 10 100

2 20 200

3 30 300

4 40 400

5 50 500

6 60 600

File Comment:

Signals: Signal 00

Number of Signals: 1

Name: Signal 00

Units: m V

Full-scale limits (mV): Positive: 10 Negative: -10

Acquisition Mode: ☐ Fixed-Length ☒ Gap-Free

Timing: ☒ Use time (ms) in column 1 (minimum step 1 μs) ☐ Add a time column

Sampling Interval per signal (μs): 1000 = 1.0 kHz

Start-to-Start interval (s): 0.1

Lines to skip: 0

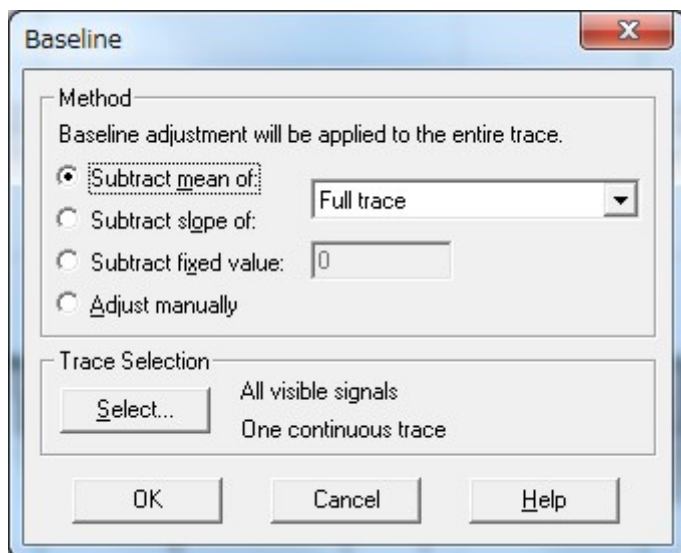
OK Cancel Help



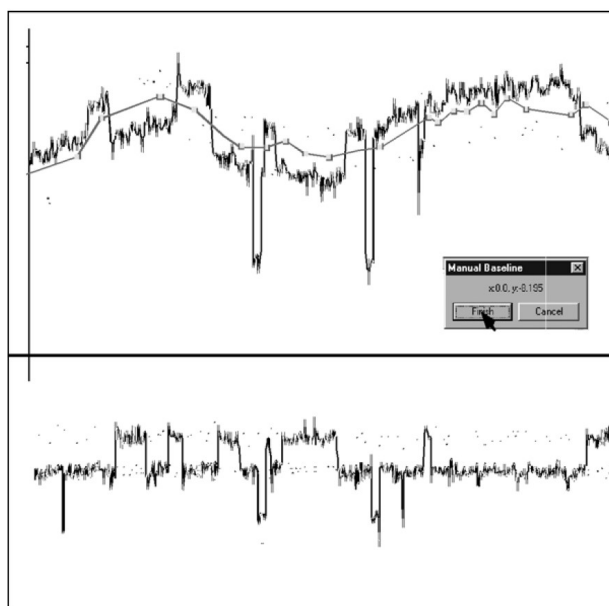
### 3. データの調整 (Feature - Data Conditioning)

#### 3.1. ベースラインの補正 (Baseline)

Clampfit はフィルタやベースラインの調整など、いくつかのデータ調整機能があります。Analyze > Adjust > Baseline かベースラインの補正を行い、補正方法として、固定値のオフセット、平均値のオフセット、特定範囲の平均値のオフセットなどがあります。

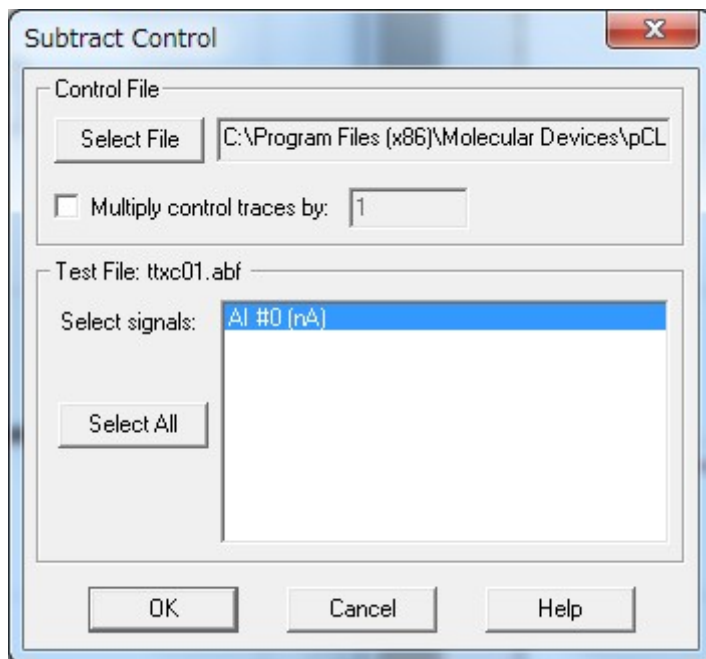


ベースラインがドリフトしている場合は、傾きで補正することができます。多くの場合、ドリフトのベースライン補正はマニュアルで行うことが多いです。下図のように、マニュアルベースライン補正は複雑な補正関数を必要とするようなデータにも適応できます。補正線をクリックして、次の変曲点へ引きずることによって、適切な補正線を定義することができます。この方法はシングルチャンネルのデータ補正に有用かもしれません。



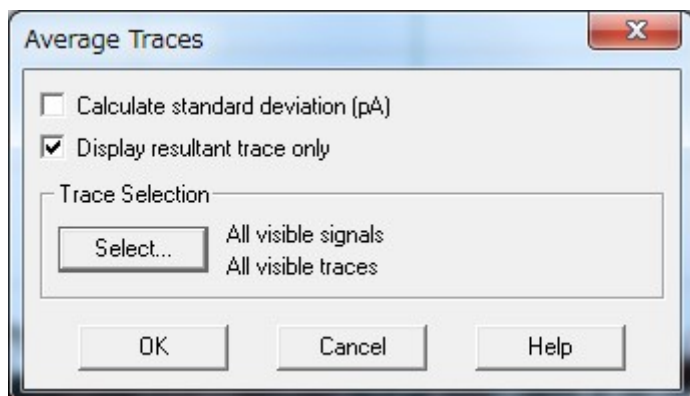
### 3.2. 不活性反応を減算する (Subtract Control)

解析ファイルを準備するためには、刺激プロトコルによる不活性反応を除去する必要があります。Analyze > Subtract Control を使用して、コントロールファイルを減算することができます。実際に使用する刺激プロトコルより低電圧の刺激プロトコルを実行すれば、不活性反応を記録することができます。それを記録データから減算すれば、不活性反応を除去することができます。



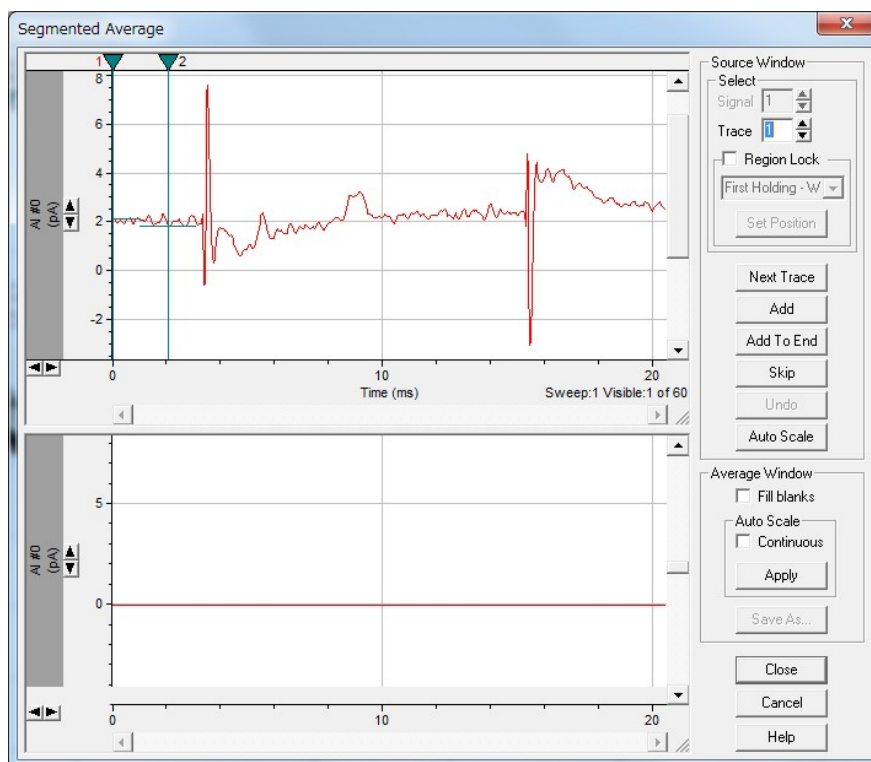
### 3.3. 不活性な波形のみを平均する (Average Traces)

もし減算に適切なコントロールファイルを持っていなければ、テストファイルから不活性反応のファイルを作成することができます。いくつかの sweep が不活性反応だけを含んでいる場合、これらの Sweep を識別し、Analyze > Average Traces で平均することができます。この平均波形を保存してコントロールファイルとして使用します。



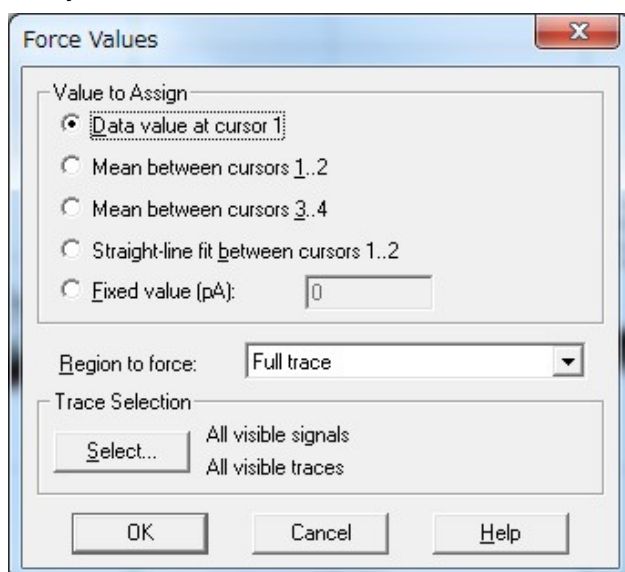
### 3.4. 不活性な部分のみを平均する (Segment Traces)

不活性反応だけを含んだ Sweep がない場合、Analyze > Segmented Average で不活性な部分だけを別の Sweep から選択することができ、不活性反応の平均を作り上げることができます。



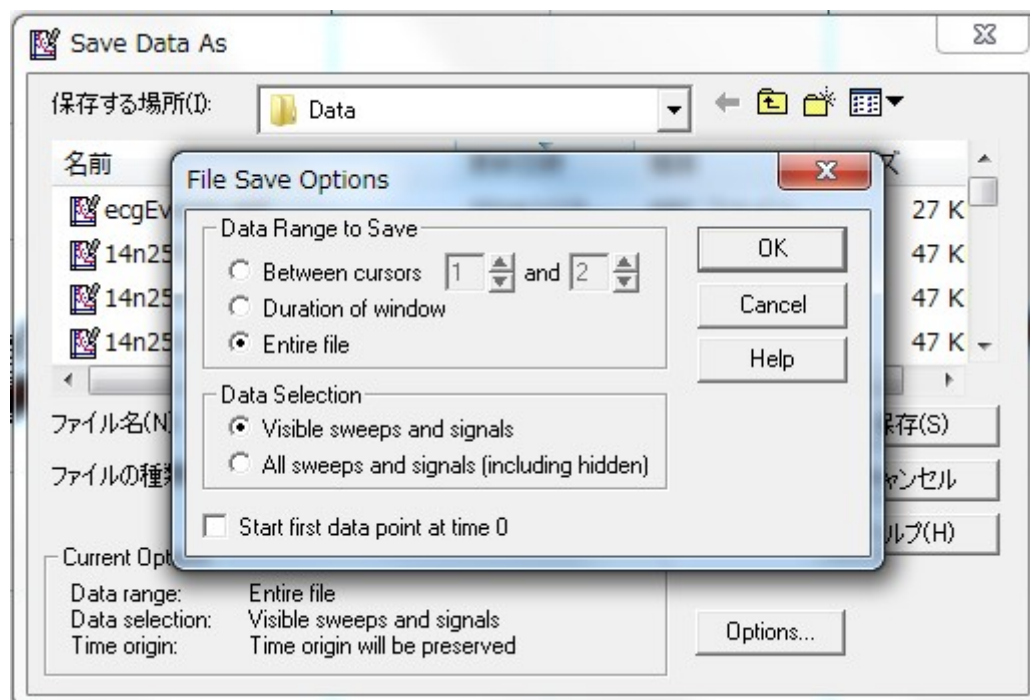
### 3.5. 不要な部分だけ削除する (Force Values)

Analyze > Force Values で不要なアーチファクトなどを削除することもできます。



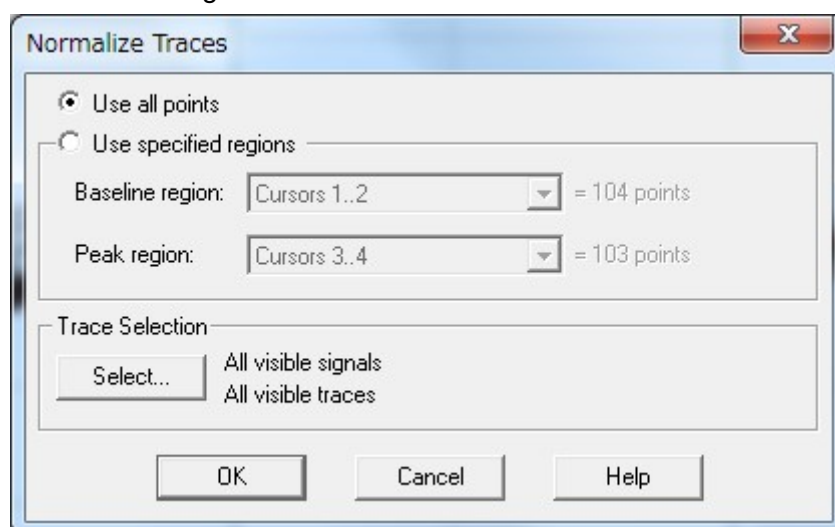
### 3.6. 必要な部分だけ保存する (Save As > Options)

File > Save As > Options. で適切な設定をして、特定の領域だけを保存することもできます。



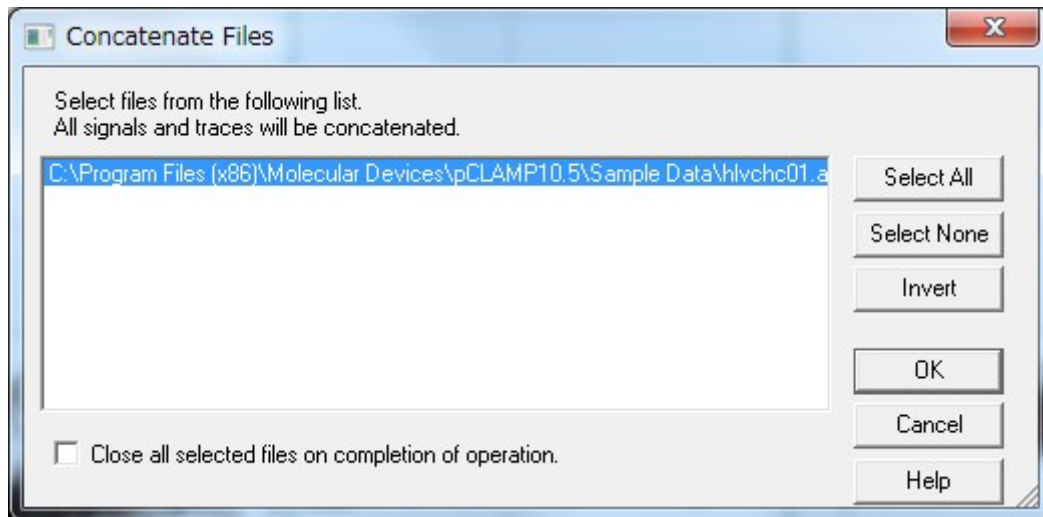
### 3.7. 波形を正規化する (Normalize Traces)

データファイルの波形は、より一層の解析を行うために、Analyze > Normalize を使用して事前に正規化することができます。ファイル全体か選択した sweep を正規化することができます。or to rescale the entire trace equally, but where only a selected duration maps to the zero-to-one range.



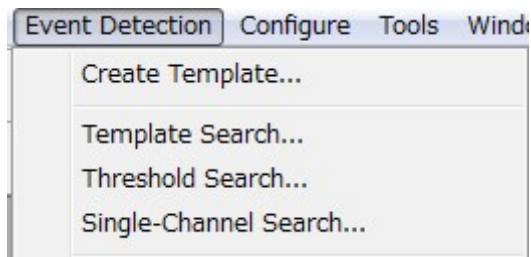
### 3.8. 波形を連結する（Concatenate Files）.

互換性が合えば（例えば、記録時の測定モード、サンプリング周波数、シグナルの数など）変更されていないファイルは Analyze > Concatenate Files でいくつでも連結することができます。



#### 4. イベント検索 (Feature - Event Detection)

イベント検索は、検索されているファイルが表示される Analysis ウィンドウの操作によって、Graph ウィンドウ、Results ウィンドウ、イベント検出機能が連動する統合モードです。生物学的なイベントをマークするために、1つのデータファイルから一度に、シナプス電位やシングルイオンチャンネルなど、特定の特徴のある波形を検索できます。イベント検索は3種類の主要なタイプ（メニューの Event Detection から）から実行できます。



##### Single-channel search

シングルチャンネル記録は、理想化されたイベントに変換されます。イベントは、各イオンチャンネルの振幅がユーザ定義のレベルに一致した場合に、属していることとして分類されます。Clampfit ソフトウェアの Event Detection > Single-channel search は、Fetchan-pCLAMP の Event List と Latency の操作モードに代わる機能です。

##### Template searches

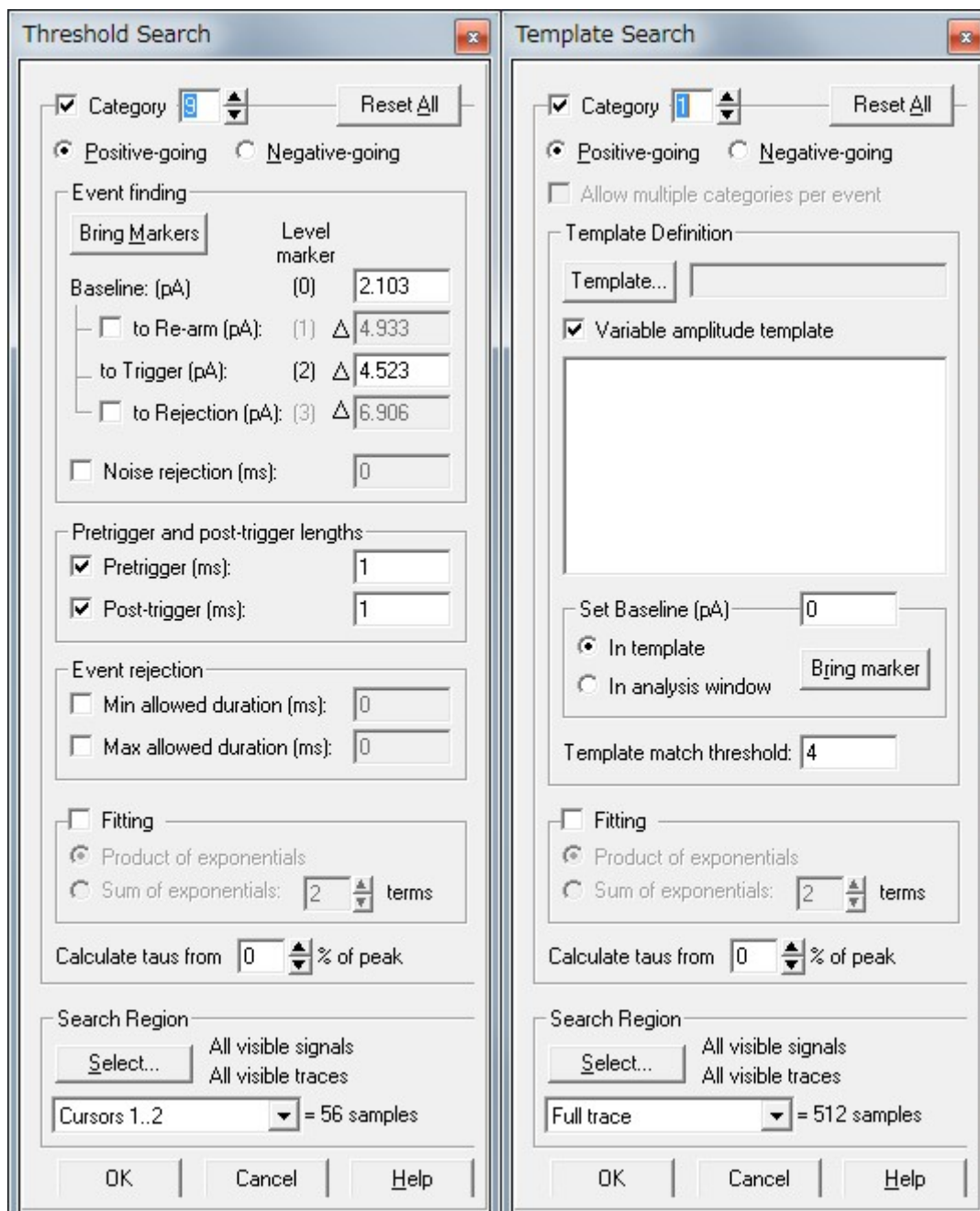
テンプレートは、イベントに対応したデータについて、手動操作でセグメントを取り出し平均することによって作成されます。そのテンプレートでデータを調べ、波形から一致したイベントを識別します。

##### Threshold-based searches

振幅ベースラインと閾値レベルを設定し、ファイルは、閾値を横切るデータを検索します。

#### 4.1. イベントを検索する (Event Detection Searches)

Event Detection は、不要なデータを除去、イベントを定義するために、条件範囲を設定することができます。そして、設定した各イベント検索パラメータによって、イベントの統計値を自動的に取得します。 Threshold , Template searches は 9 つの検索カテゴリーを設定することができ、同時に検索されます。



The image shows two side-by-side dialog boxes from the CLAMPFIT 11 software: "Threshold Search" and "Template Search".

**Threshold Search Dialog:**

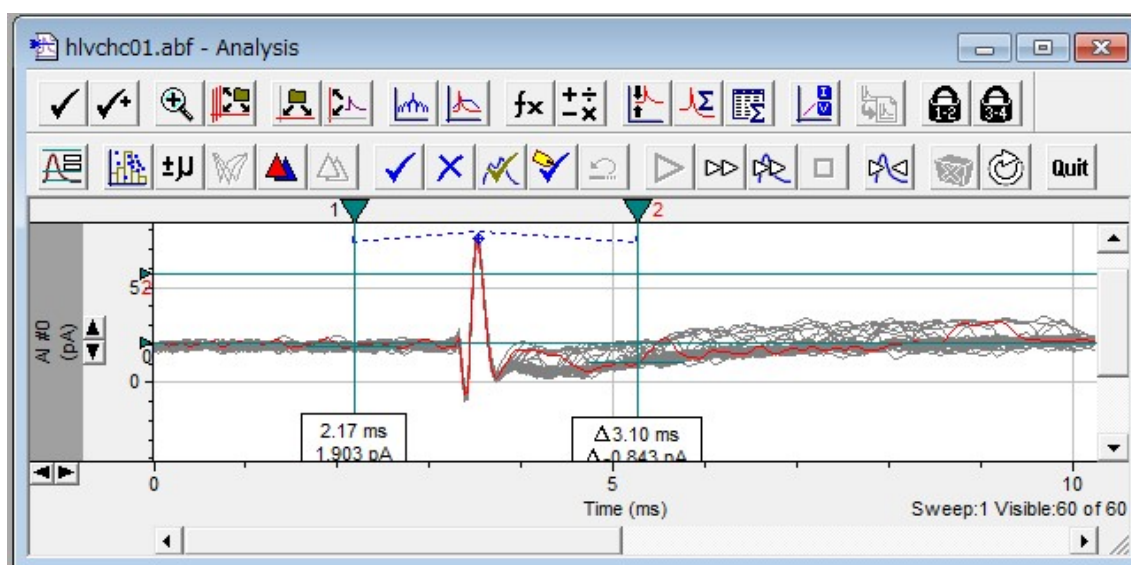
- Category:** 9 (with a "Reset All" button)
- Direction:** ☒ Positive-going, ☐ Negative-going
- Event finding:**
  - Bring Markers:** Level marker (0) 2.103
    - ☐ to Re-arm (pA): (1)  $\Delta$  4.933
    - ☐ to Trigger (pA): (2)  $\Delta$  4.523
    - ☐ to Rejection (pA): (3)  $\Delta$  6.906
  - ☐ Noise rejection (ms): 0
- Pretrigger and post-trigger lengths:**
  - ☒ Pretrigger (ms): 1
  - ☒ Post-trigger (ms): 1
- Event rejection:**
  - ☐ Min allowed duration (ms): 0
  - ☐ Max allowed duration (ms): 0
- Fitting:**
  - ☐ Fitting
  - ☒ Product of exponentials
  - ☐ Sum of exponentials: 2 terms
- Calculate taus from:** 0 % of peak
- Search Region:**
  - Select...** All visible signals, All visible traces
  - Cursors 1..2 = 56 samples
- Buttons:** OK, Cancel, Help

**Template Search Dialog:**

- Category:** 1 (with a "Reset All" button)
- Direction:** ☒ Positive-going, ☐ Negative-going
- ☐ Allow multiple categories per event
- Template Definition:**
  - Template...** (empty field)
  - ☒ Variable amplitude template
  - Set Baseline (pA):** 0
    - ☒ In template
    - ☐ In analysis window
  - Bring marker** (button)
  - Template match threshold:** 4
- Fitting:**
  - ☐ Fitting
  - ☒ Product of exponentials
  - ☐ Sum of exponentials: 2 terms
- Calculate taus from:** 0 % of peak
- Search Region:**
  - Select...** All visible signals, All visible traces
  - Full trace = 512 samples
- Buttons:** OK, Cancel, Help



検索機能は、急な変化がなければ、大きなベースラインドリフトに対応することができます。(もし、急な変化を含む場合は、Analyze > Adjust > Baseline で調整することをお奨めします)。ベースラインドリフトの対策として、検索セッションが進行中の間に、レベルを手動で変更することができます。Analysis ウィンドウの水平のマーカをドラッグすることによって、イベントは、直ちに、新しいレベルで検索され、新しいレベルでの統計値が記録されます。レベルは検索中に変更できる唯一の検索パラメータです。他のパラメータを変更するためには、検索を終了し、ダイアログを再設定し、検索を再スタートする必要があります。イベント検索パラメータのセットが実行されると(検索ダイアログにおいて OK ボタンをクリックされると)、イベント検出ツールバーが、Analysis ウィンドウに挿入されます。



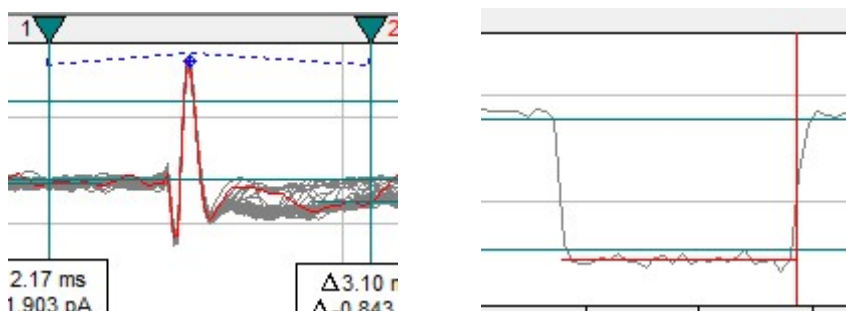
検索をコントロールするために、イベント検出ツールバー (または メニューコマンド、ホット・キー) を使用します。

Accept	A
Reject	R
Suppress	S
Accept and Tag	T
Undo	U
Find Event	
Nonstop	
Accept Entire Category	
Stop	Esc
Go to Current Event	
Clear All	
Restart	
Quit Event Detection	



最初の候補イベントは、評価できるように強調されて、識別することができます。

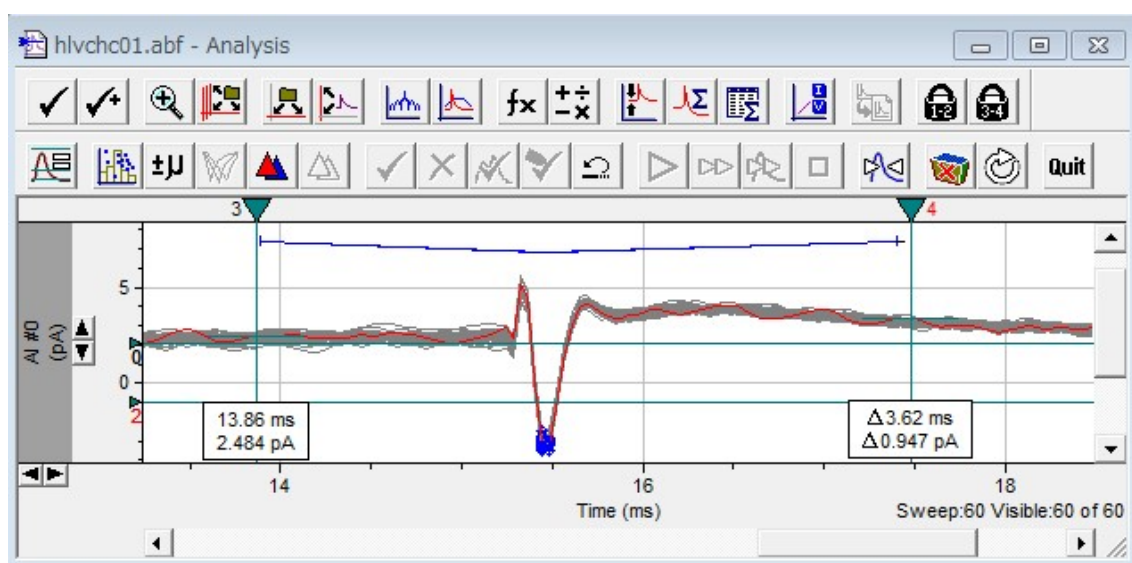
Template, threshold search ではカテゴリーで色分けされたライン、single-channel search ではレベルが強調されます。



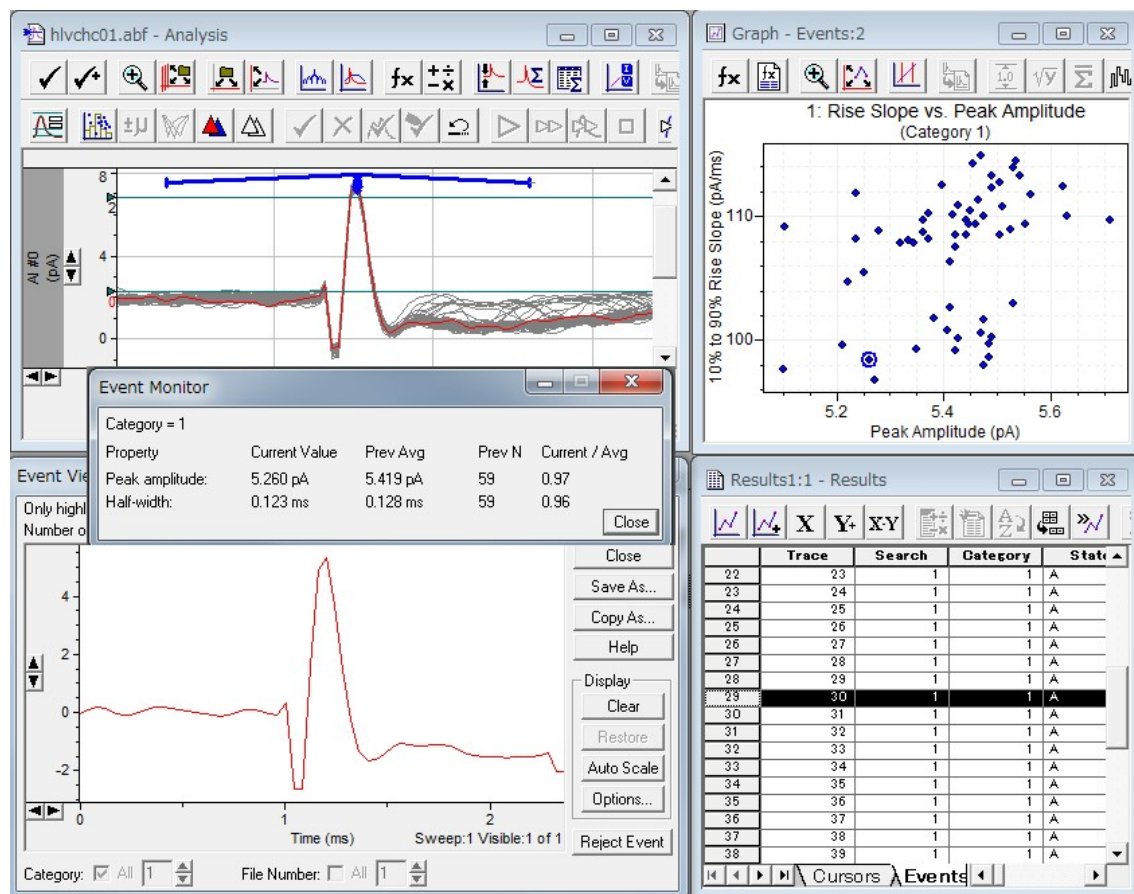
プログラムは候補イベントを、有効なイベントとして認めるか、認めるが無効とするか、もしくは拒否するか、選択するまで待ちます。選択して終了すると、次の候補イベントが自動的に検索され、これらの過程が繰り返されます。ファイル（または定義された範囲）の全体の長さで、このように手動で判定することができますが、見つけれられたすべてのイベントを受け入れて、自動的に判定することもできます。



検索が終了したら、同じイベント検出セッション内で新しい検索を設定することができます。例えば、カーソルを再配置して、ファイルの違う部分を検索することができます。

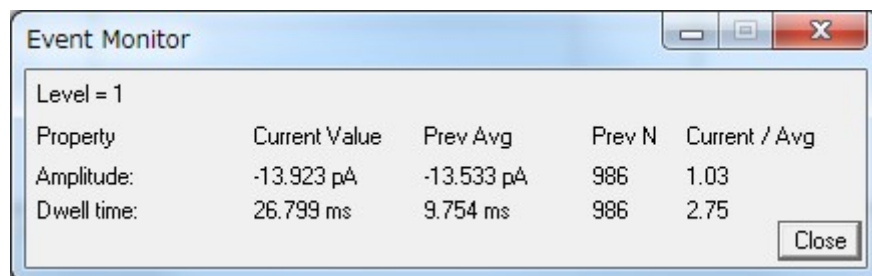


検索が開始してイベントデータが蓄積すると、Event Monitor, Event Viewer, graphs, Results Window Event Statisticsの5カ所で、様々な表示形式のイベントを確認することができます。



#### 4.2. 重要なイベント統計を表示する (Event Monitor)

Event Detection > Event Monitor は現在の候補イベントのために、いくつかの重要な統計値を報告する小さいダイアログで、すでに検索されたイベントと現在の候補カテゴリー（ピーク時間イベントのための）またはレベルとの（シングルチャネルのイベント）比較情報を提供します。これは、データに含まれる候補イベントを評価する時に有益である。

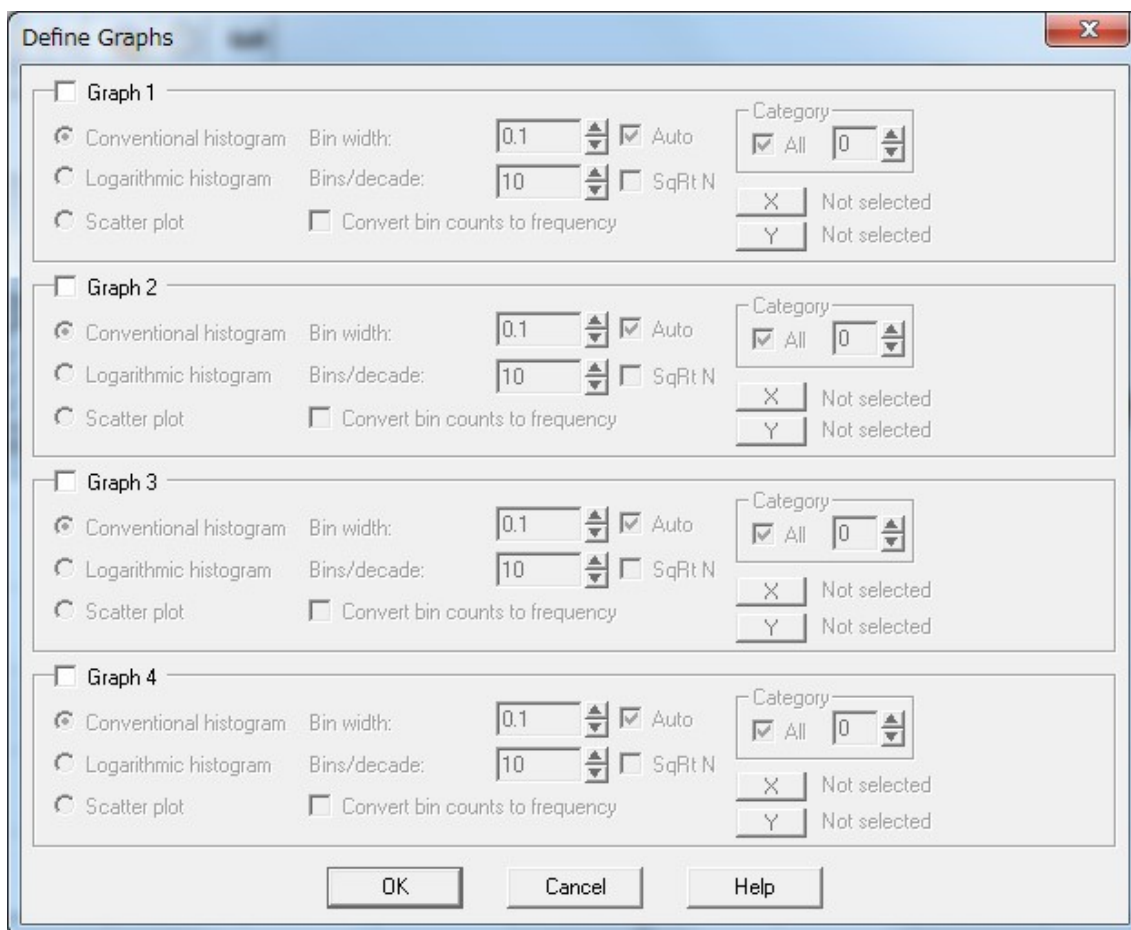


個々のイベントが受け入れられると、Results ウィンドウの Event シートに、1つのイベン

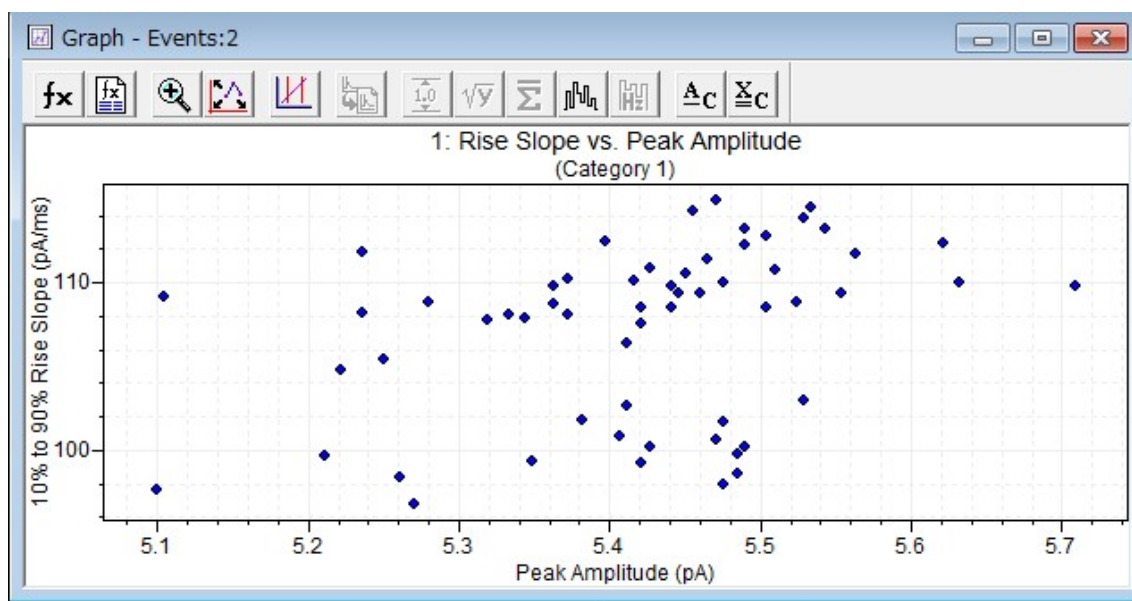
トあたり 1 本のデータ行が記録されます。常に開始時間、終了時間が記録され、template と threshold イベントのために、ピーク振幅、立ち上がり傾き、立ち下り傾き、半値幅なども記録され、シングルチャネルのイベントのために振幅および滞在時間なども記録されます。

#### 4.3. イベントグラフを作成する (Define Graphs)

検索パラメータが定義されて、イベントが確認されると、最高 4 つのグラフ (Event Detection > Define Graphs) を設定することができます。Results ウィンドウに記録されたすべての測定値を使用して、個々のグラフは標準または対数のヒストグラムまたは散布図として設定できます。また、新しいイベントが見つかったと、それらのグラフは自動的にアップデートされます。

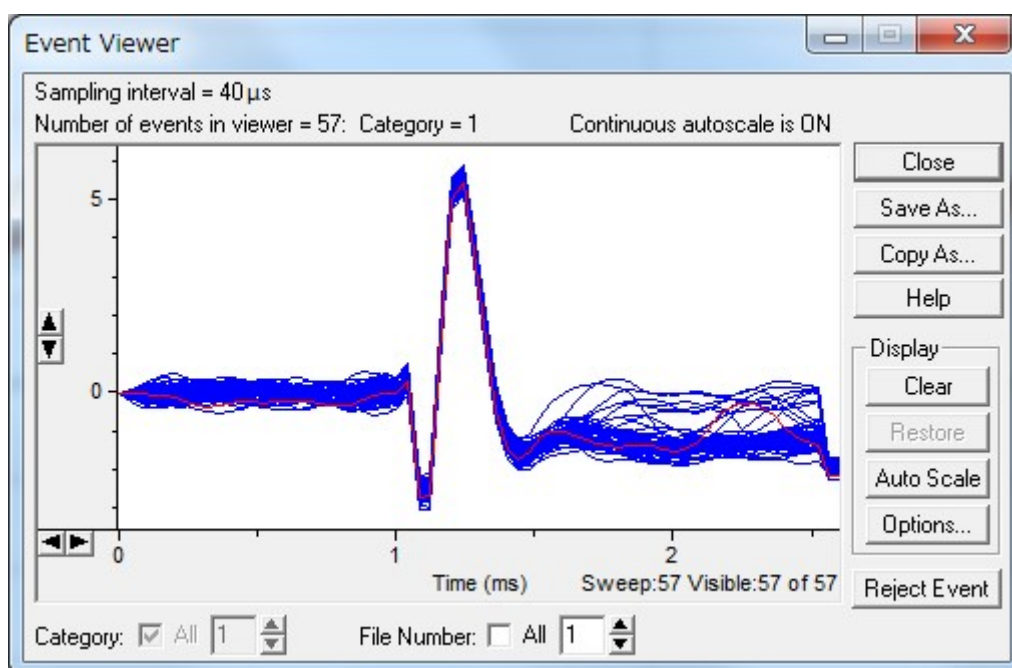


The image shows a software dialog box titled "Define Graphs". It contains four sections, each for a different graph (Graph 1, Graph 2, Graph 3, and Graph 4). Each section has three radio button options: "Conventional histogram", "Logarithmic histogram", and "Scatter plot". The "Conventional histogram" option is selected in all sections. For each histogram option, there are two sub-options: "Bin width" and "Bins/decade". The "Bin width" sub-option has a numeric input field (set to 0.1) and a checked "Auto" checkbox. The "Bins/decade" sub-option has a numeric input field (set to 10) and an unchecked "SqRt N" checkbox. There is also an unchecked checkbox labeled "Convert bin counts to frequency". To the right of these options is a "Category" section with a checked "All" checkbox and a numeric input field (set to 0). Below the "Category" section are two buttons: "X" (labeled "Not selected") and "Y" (labeled "Not selected"). At the bottom of the dialog box are three buttons: "OK", "Cancel", and "Help".



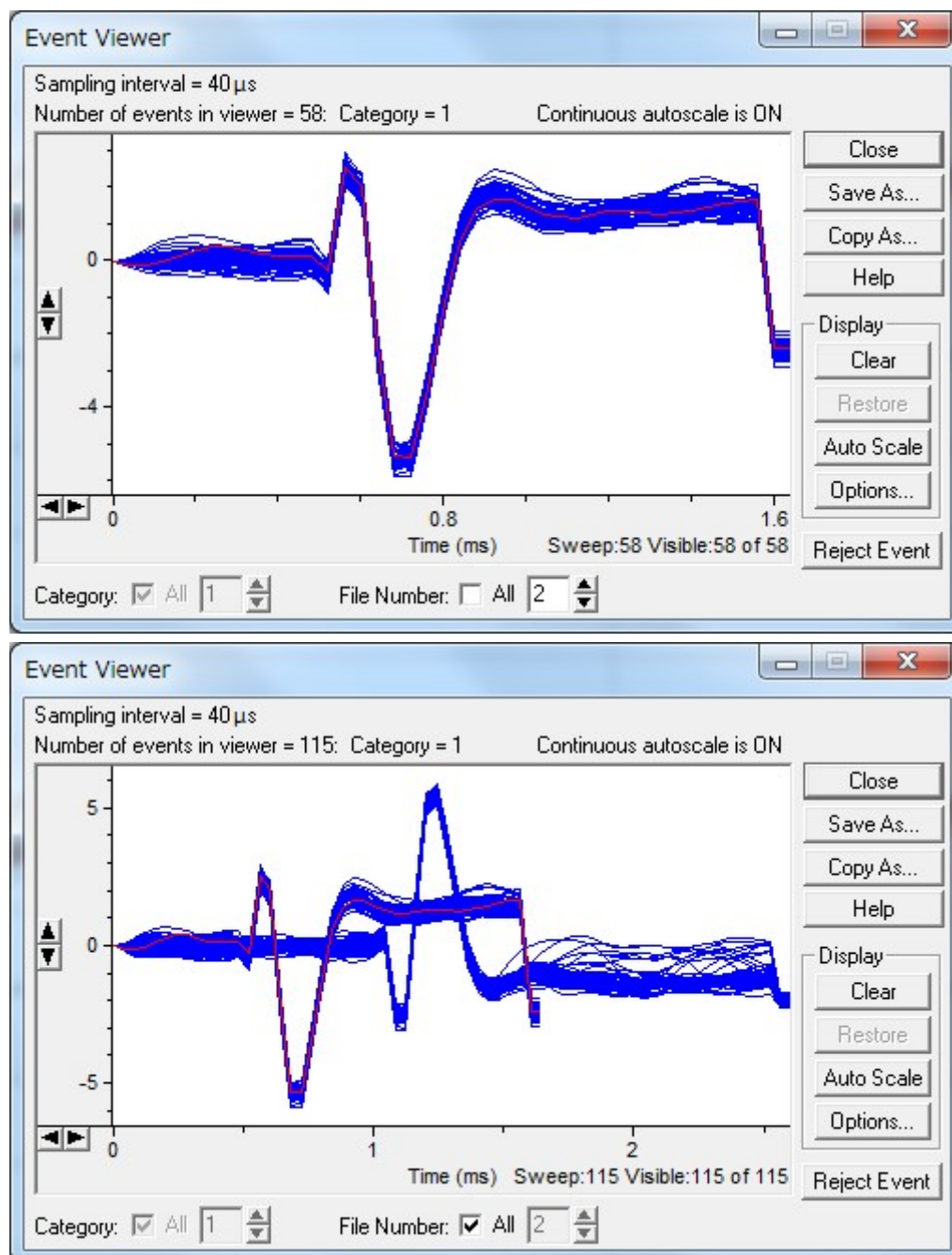
#### 4.4. イベント波形を表示する (Event Viewer)

Event Viewer (Event Detection > Event Viewer) は、検索でイベントと認定された波形セグメントを表示する分析ウィンドウです。ウィンドウ内で Sweep が追加され、ABF または ATF ファイルとして保存できます。



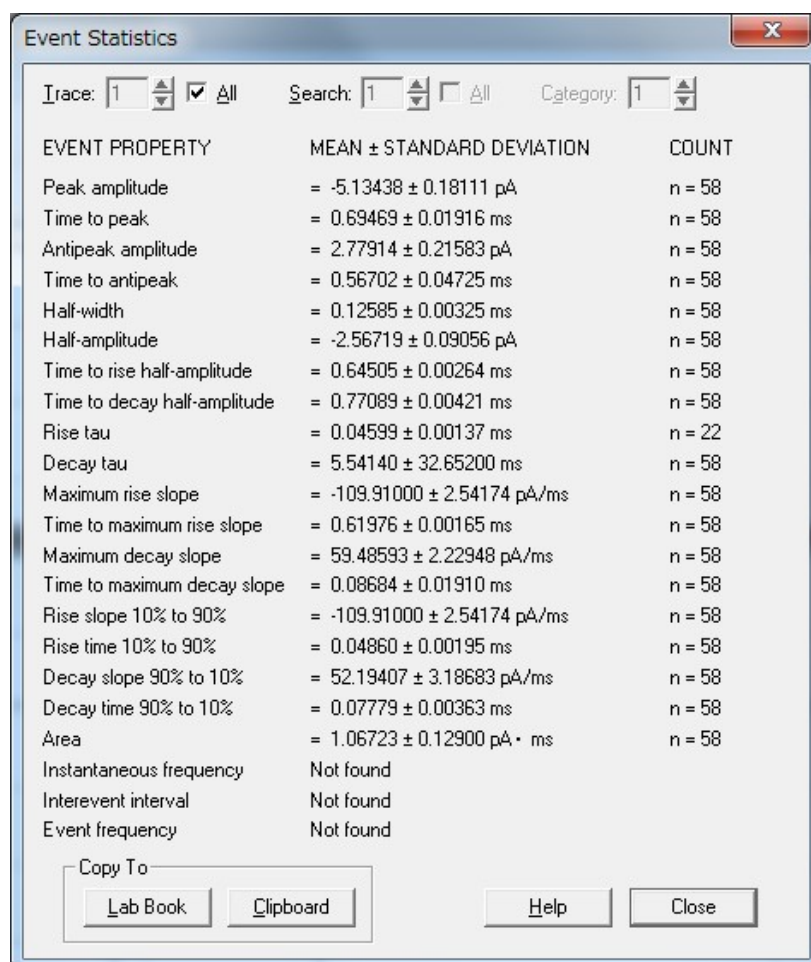
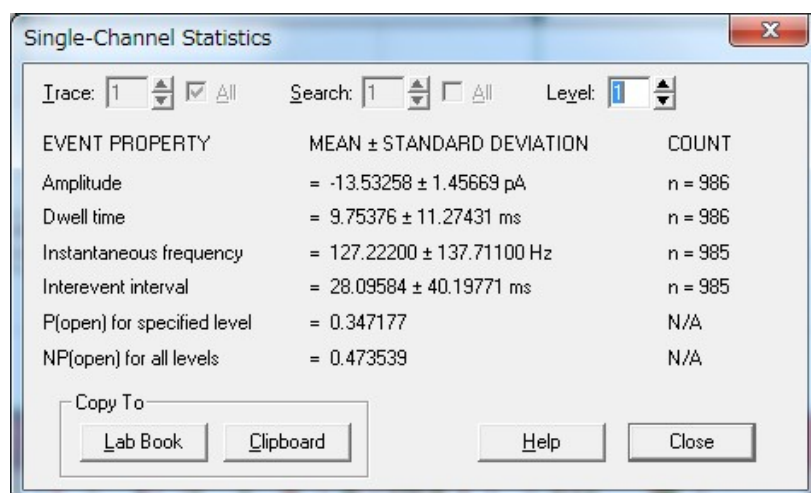


統合されたイベント検出コンポーネントだけで、イベントビューアはイベント検出セッションの間に開いているようにしておかれて、種々のファイルでの検索からイベントを蓄積できる。Event Viewer はイベント検出セッションの間だけで表示され、種々のファイルでの検索からイベントを蓄積することができます。

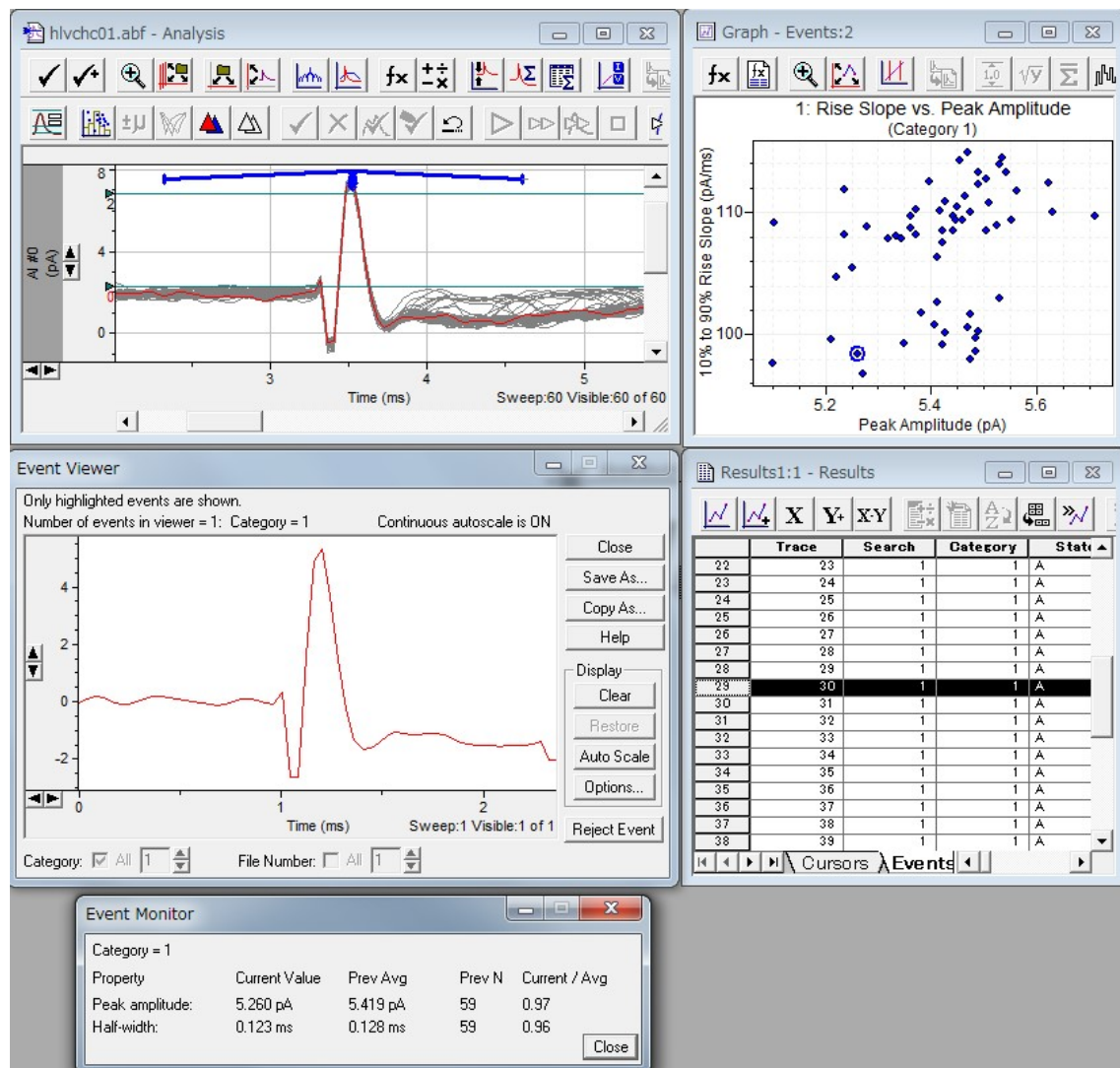


#### 4.5. 全イベント統計を表示する (Event Statistics)

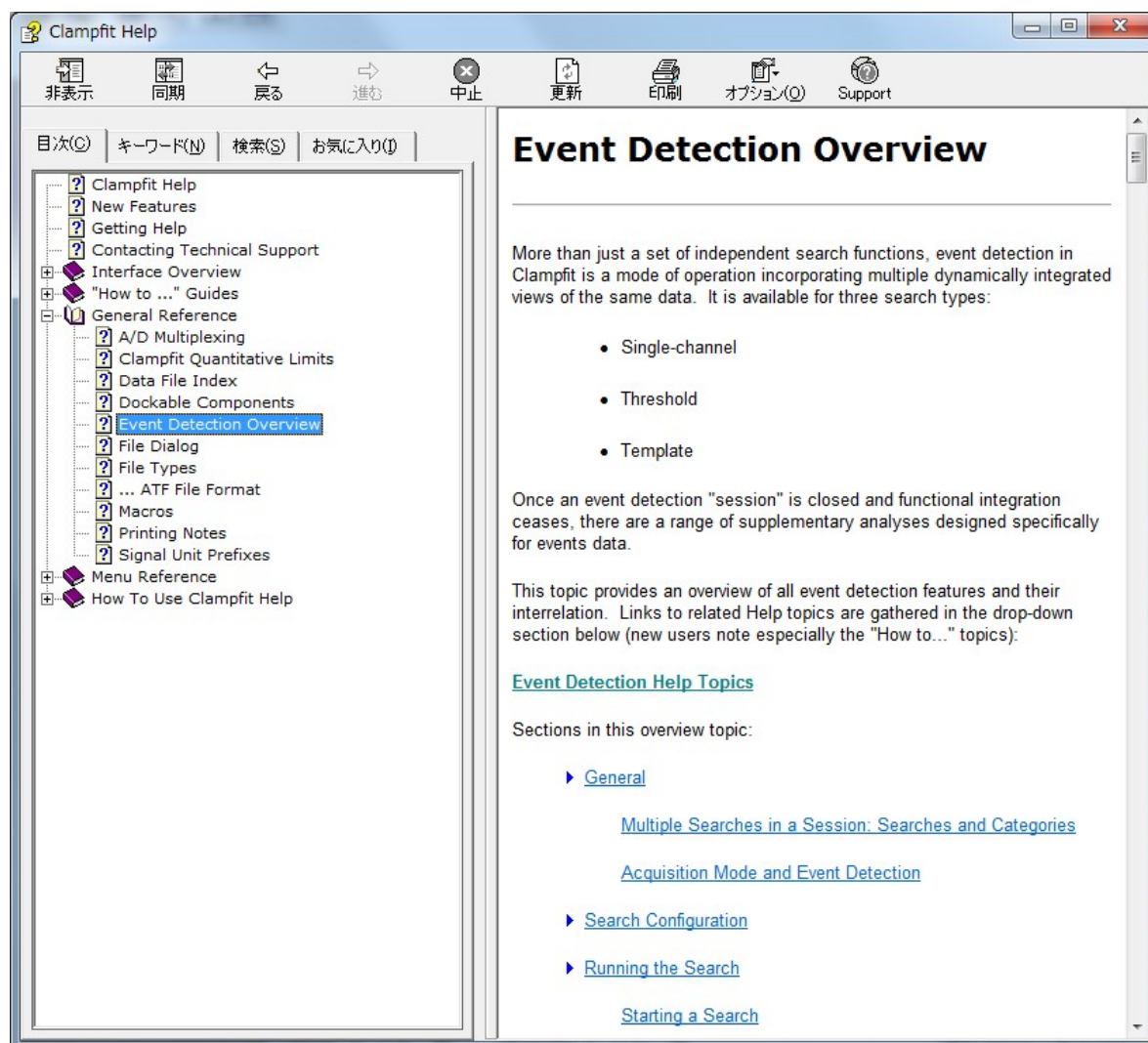
検索によって統合されたデータパッケージにおいて、記録された統計値を Event Detection > Event Statistics によって表示できます。また、検索タイプに依存して、イベント統計またはシングルチャネル統計ダイアログを開きます。



異なったイベント表示のために、ある表示でイベントを選ぶと、他の表示でも同じイベントが選択されるようになっていきます。例えば、散布図のポイントをクリックすると、Results ウィンドウで対応したラインが強調され、Analysis ウィンドウの波形でイベントマークラインが強調され（必要なら、それらを表示するためには、ウィンドウをスクロールする）、そして、Event Viewer と Event Monitor で対応したイベントだけが表されます。

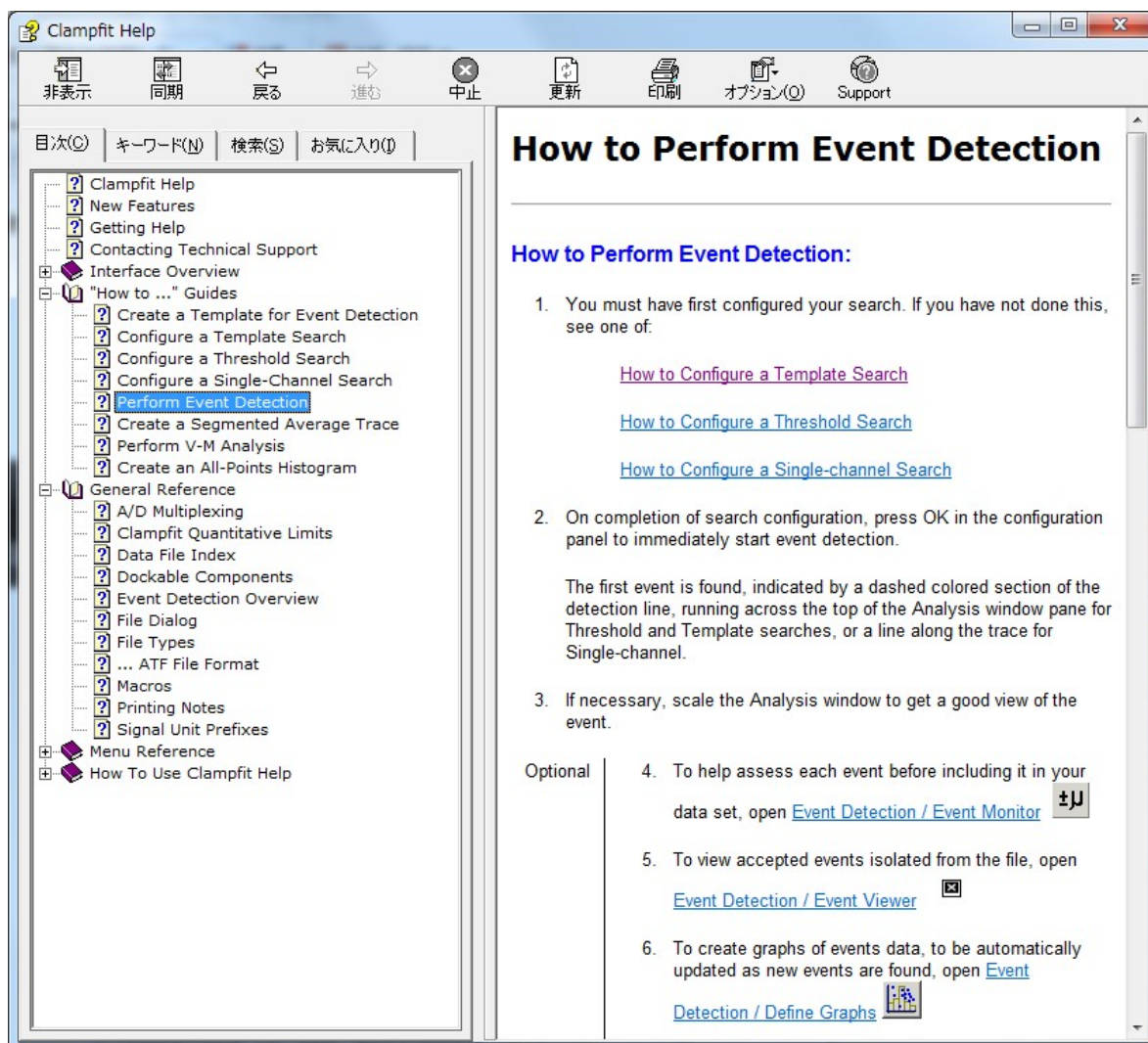


詳細は Help > Clampfit Help を参照して下さい。すべての概要とヘルプトピックスのリンクがあります。





イベント検出のオンラインヘルプとしては How to トピックもあります。



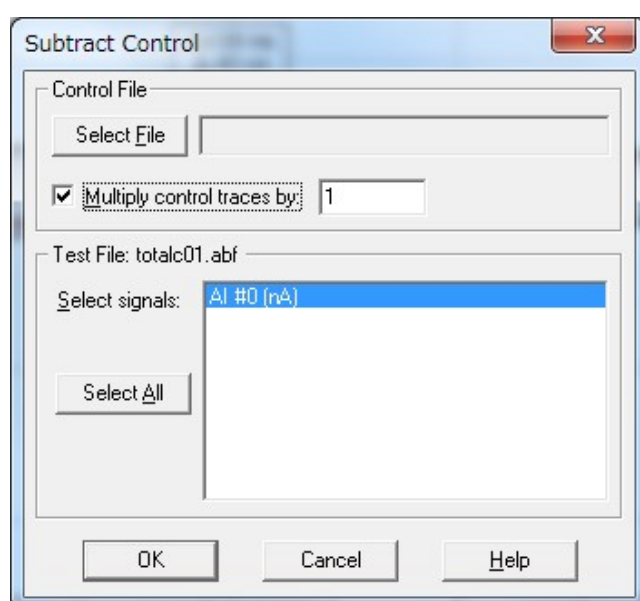
また、シングルチャネルのイベント検出についての追加の情報は、次章でも解説しています。

## 5. シングルチャンネルの解析 (Feature - Single-Channel Analysis in Clampfit software)

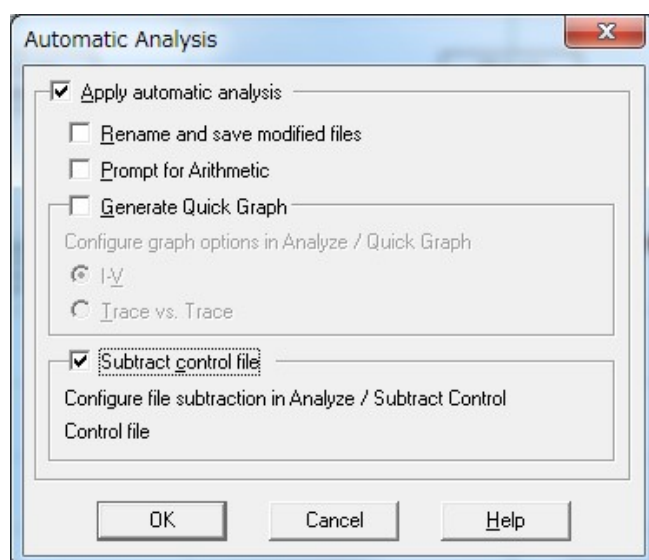
### 5.1. Clampfit Software for Fetchan Users

#### 5.1.1. ファイルを減算する (File Subtraction)

コントロールファイルをテストファイルから減算する場合は、Analyze > Subtract Control を使用します。ダイアログでは減算される前にコントロールファイルをスケールすることが可能です。



Clampfit にファイルが呼び込まれると、Configure > Automatic > Analysis > Subtract control file によって、自動的に減算を適用するように設定できます。



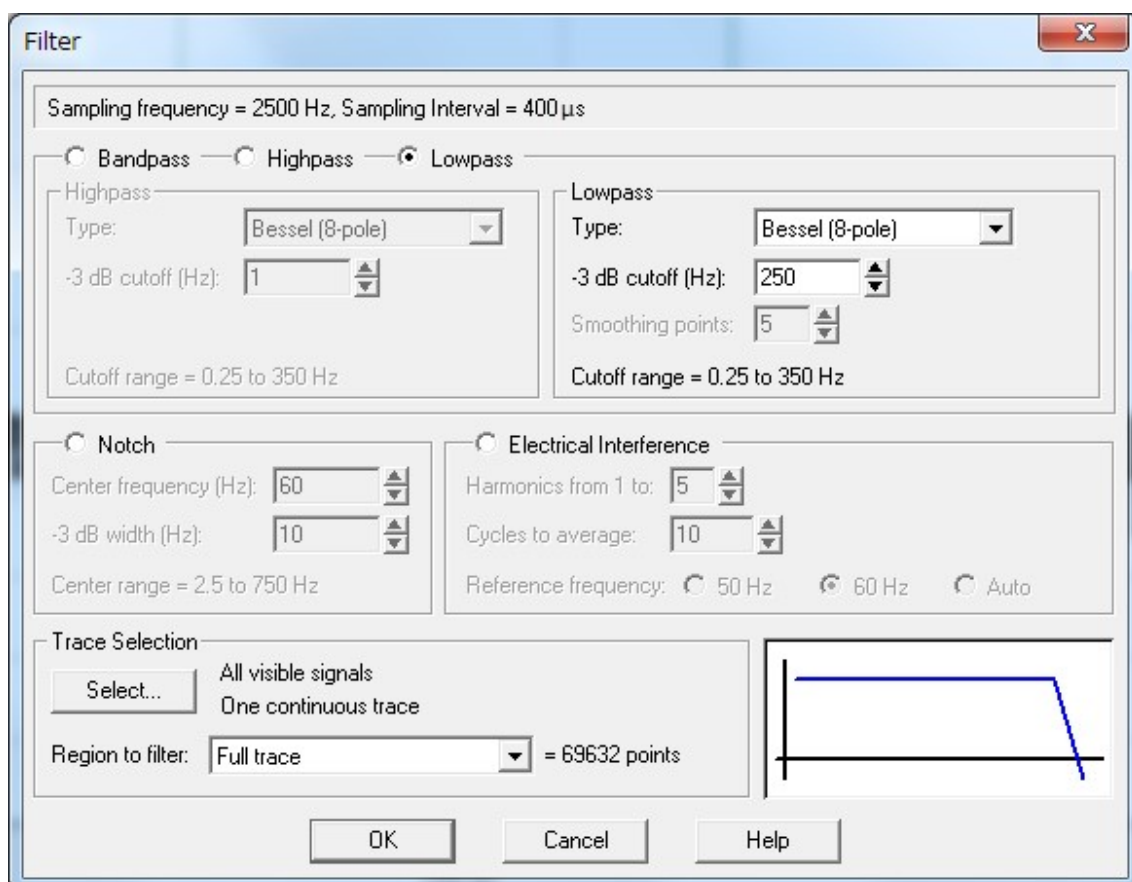
ベースライン補正は、別の操作として Analyze > Adjust > Baseline を実行する必要があります。この機能には多くのオプションがあります。Fetchan の “Closest N Episodes” に相当する減算オプションはありません。平均された波形を除去し、適切なベースライン調整を適用すれば、Fetchan の “Closest N Episodes” と等しい結果が得られるかもしれません。例えば、Sweep のうちの何の活動でもない波形セグメントの平均を除去し、上昇または落下ベースラインと共通 0 のベースライン に Sweep のセットを得ることができます。

### 5.1.2. データを修正する (Data Modification)

Fetchan の Parameters > General > Modify Data セクションは 3 つの設定があります。

#### Filter freq

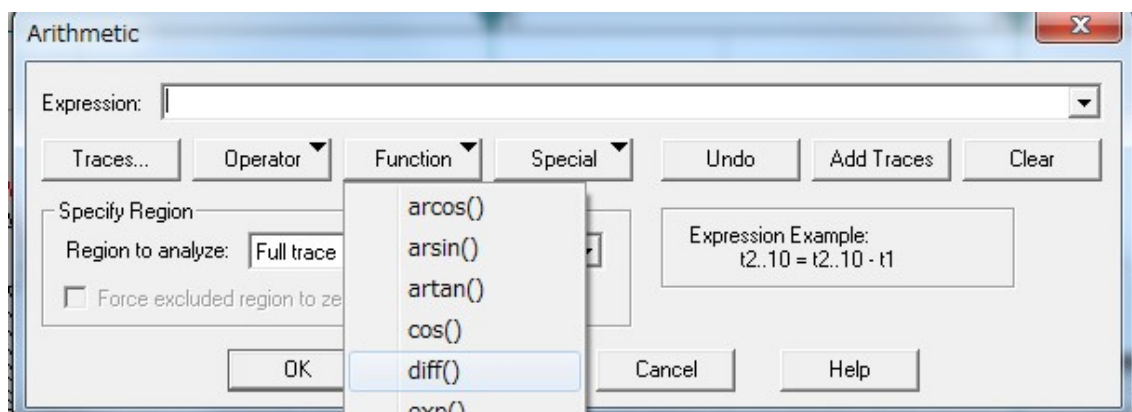
フィルタリングは Analyze > Filter において実行され、すべてのオプション設定があります。Fetchan と違って、event detection の前に別のステップとしてファイルにフィルタをかける必要があります。なぜなら、フィルタは波形のレベル遷移に丸みをつけるからです。それはイベント振幅の計算と自動的にレベルをアップデートのために使われた short イベントの定義において、検討されます。



もし、データ記録時に増幅器のフィルタが Clampex の Telegraph で設定されていれば、Clampfit ソフトウェアに应用される Cyber Amp やその他のポストフィルタはヘッダーに自動的に記録されます。もし、手動で設定したければ、Telegraph は Manual に設定すべきです。また、LabBench のフィルタを使用する場合も自動的にファイルヘッダーに記録されます。(英語マニュアル P186 Single-Channel EventAmplitudes を参照)

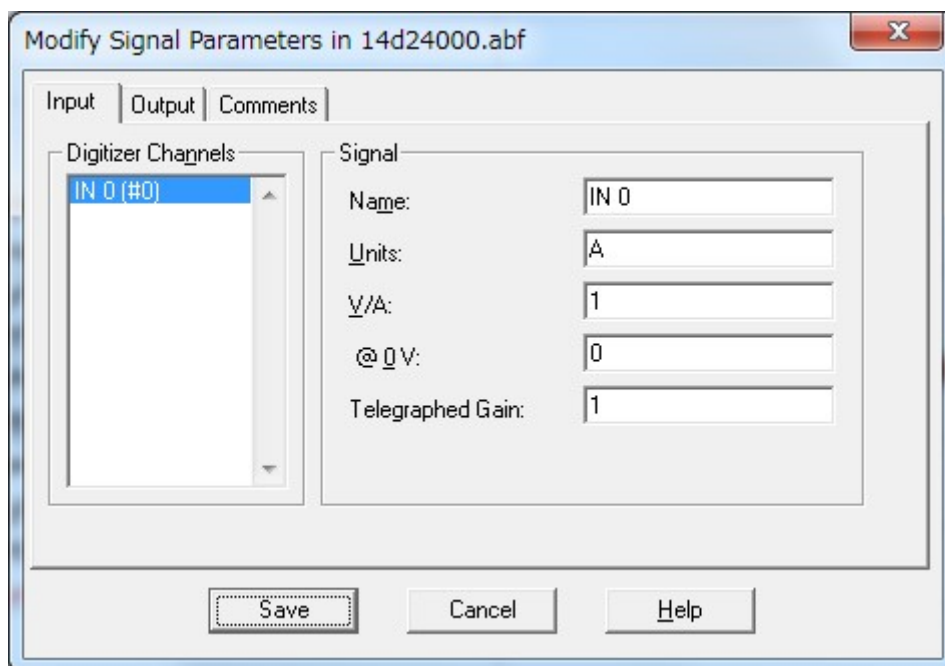
## Derivative

Analyze > Arithmetic の diff( )関数で、データ波形を微分波形に変換できます。



## Change polarity

ファイル倍率を変更して、Signal の極性を変更できます。これを実行するには Edit > Modify Signal Parameters を開き、倍率の極性を反転します。これは、Clampfit ソフトウェア内で何も修正されていない ABF ファイルのみに有効です。



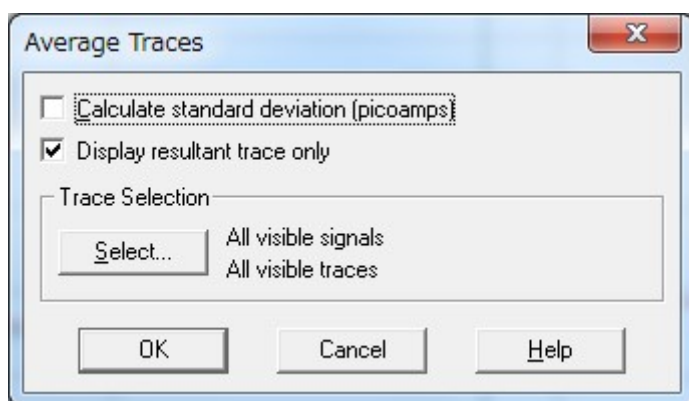
### 5.1.3. 解析モード (Analysis Mode)

Fetchan では Parameters > General > Analysis > Analysis mode フィールドで解析モードを変更することによって、選択された解析モードに関連したメニューコマンドを表示しました。Clampfit ソフトウェアはこのような使い方をせず、Analysis ウィンドウにファイルを開けば、使用可能です。Clampfit の操作に連動して、自動的に Fetchan モードに変更されます。

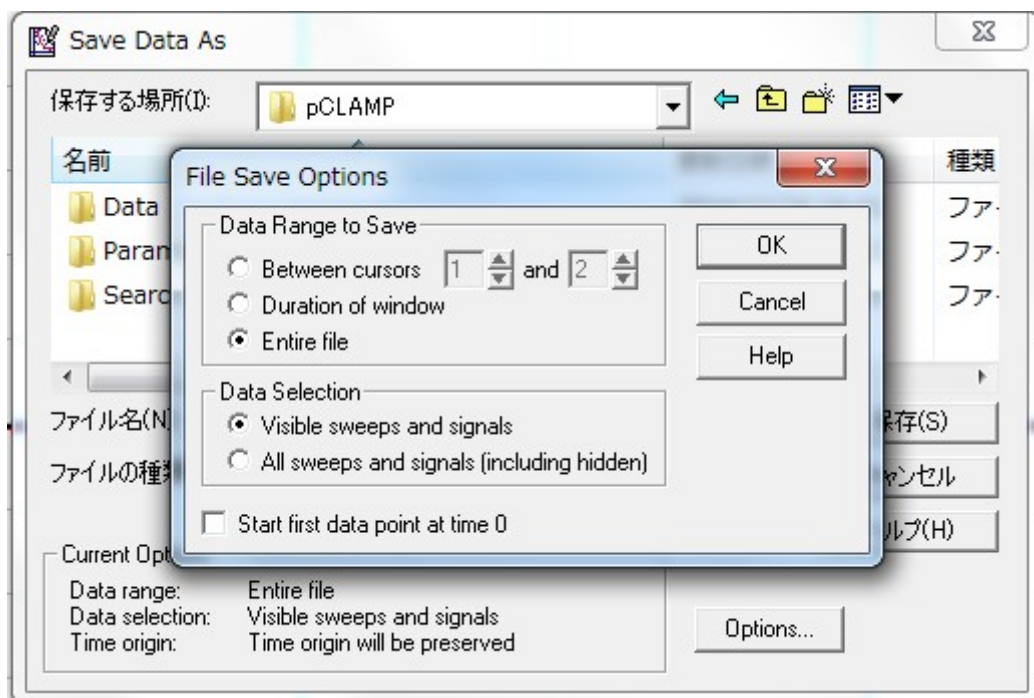
### 5.1.4. 波形を平均する (Episode Average)

この Fetchan モードは、Episodic ファイルから、すべてまたは選択された Sweep を平均することが可能です。Clampfit の場合、この機能は Analyze > Average Traces を使用します。平均に含む Sweep を確認するために、「>」および「<」キーストロークを使用して選択できます。

平均する Sweep に含みたくない場合は、「Delete」キーを使用します。これらの操作は View > Select sweep で可能です。表示している Sweep のみ平均したい場合は、Analyze > Average Traces を使用し、Trace Selection を All visible Traces に選択し、Display resultant trace only をチェックします。



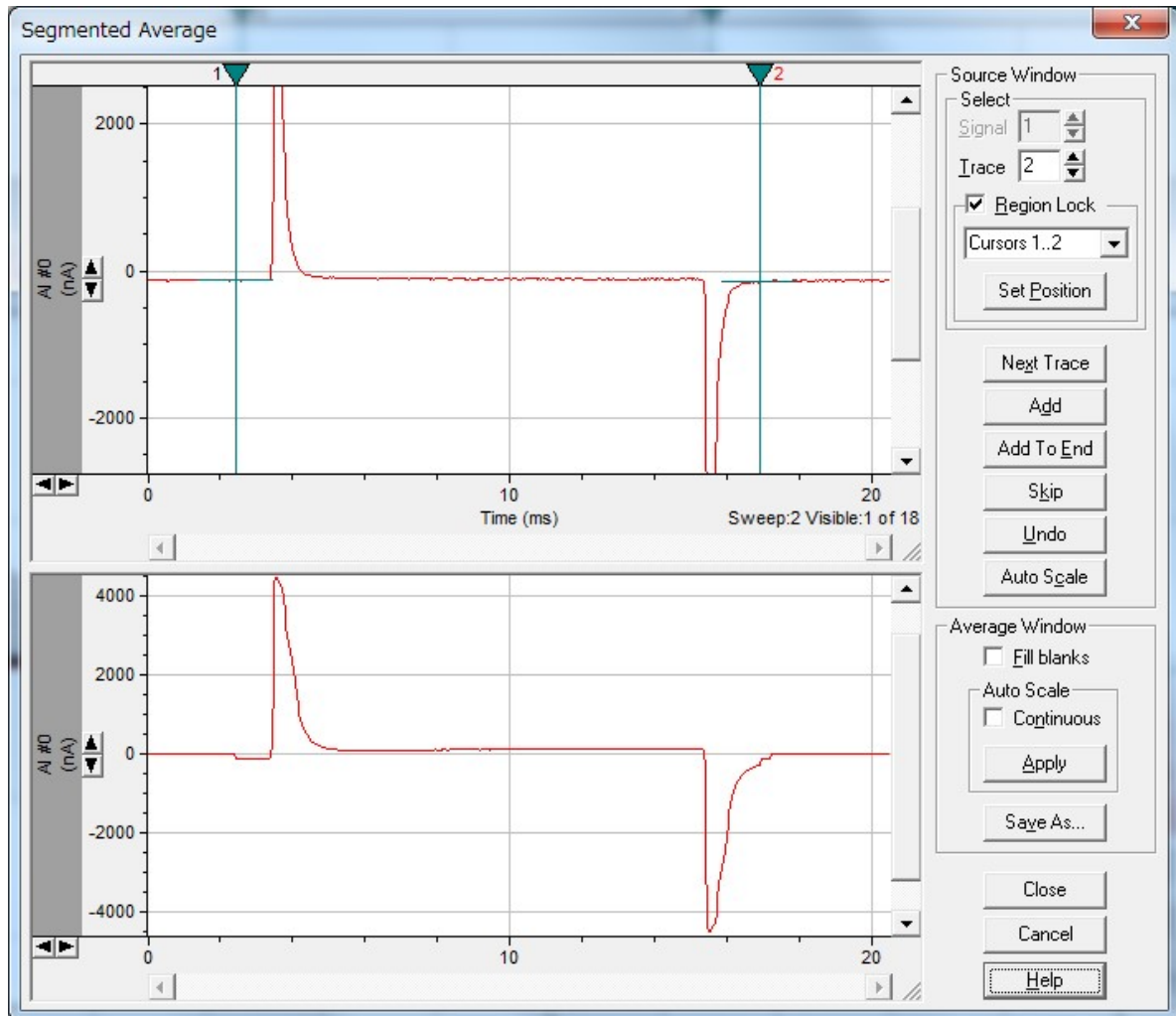
結果は File > Save As で保存できます。Save As ダイアログにおいて、必ずデータ選択オプションで Visible sweeps and signals を使用して下さい。新しく保存されたファイルが、平均された Sweep のみを含んでいることと「可視の掃除とシグナル」。実際には、すべてのオリジナルの Sweep は非表示になっているだけで、ファイルに存在します。もしこれらを含んでいるファイルを減算のコントロールファイルとして使用する場合は、平均された Sweep だけでなくすべての非表示 Sweep を使用して下さい。



#### 5.1.5. セグメントを平均する (Segmented Average)

この Fetchan モードは、Clampfit の場合、Analyze > Segmented Average を使用します。分割された平均的 Sweep は、Fetchan と同様に組み立てていきます。ダイアログの上部のウィンドウでファイルでの Sweep をスクロールし、セグメントを定義するためにカーソルを設定します。下のウィンドウに蓄積された平均的波形が表示されます。セグメントを定義しても、sweep 全体が作成され、ダイアログで保存したデータも Sweep 全体が保存されます。

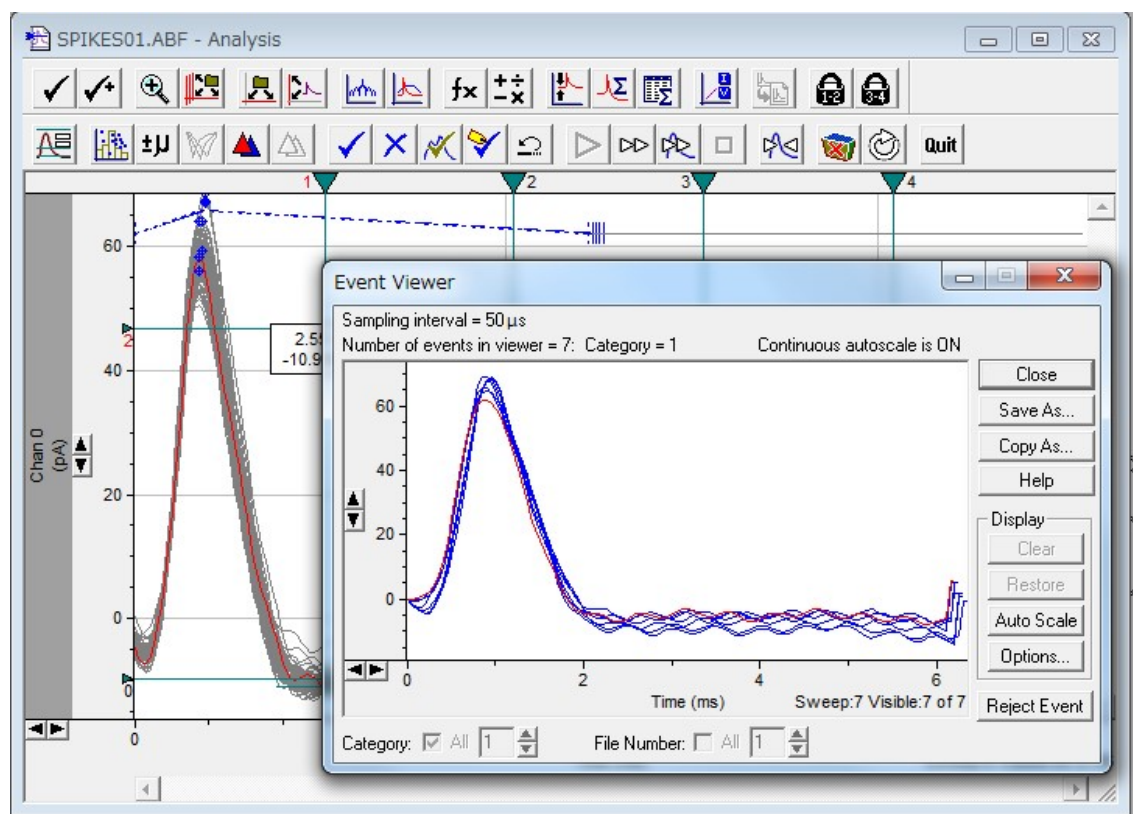




#### 5.1.6. Pulse Average の代替え方法

Clampfit はパルス平均を生成する専門のコマンド がありません。しかし、この Fetchan 機能は簡単に代替えできます。

threshold event detection search のとき、個々のイベントは、イベントビューアにコピーされます。検索が終了したら、組み立てられたイベントを ABF ファイルとして保存するために、ビューアの中のコピーをクリックします。保存したファイルを開き、Analyze > Average Traces によってイベントを平均して、パルス平均波形を作成します。

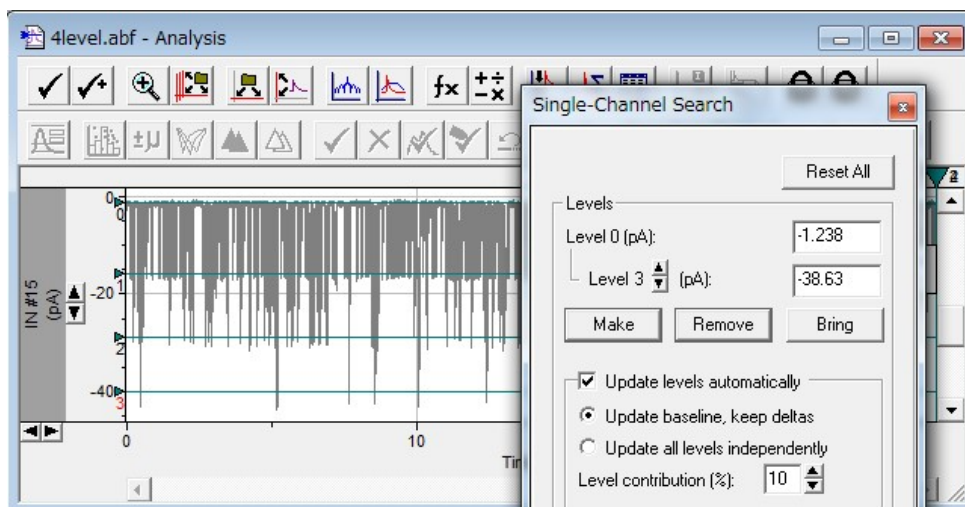


### 5.1.7. イベントリスト (Events List)

この Fetchan モードは、gap-free と variable-length ファイルでのレベル遷移を検索します。Clampfit の場合、Event Detection > Single-Channel Search で代替できます。解析データは Fetchan EVL ファイルと同様な情報があり、Results ウィンドウにレポートされます。シングルチャネルの検索において、理想的な記録は、検索されている波形に重ね合わせられ、各レベルで理想的なイベントを表示します。イベントの時間は、データが定義レベルと交差し、定義レベルの振幅レンジにいるまでの時間です。その時間内のすべてのデータポイントの平均振幅が、イベントの振幅になります。すべての報告されたイベント統計は、理想的な波形からは除去されます。

Fetchan では single-channel search の一般的な設定を Parameters > Special > Events List Analysis で設定します。Clampfit の場合、single-channel search ダイアログで設定します。ダイアログにベースラインとチャンネルのオープンレベルの数値を入力、または Analysis ウィンドウの平行マーカーをドラッグします。チャンネル（または、複数のチャンネル）が完全に開いている時、できる限り振幅に近づけるようにレベルを設定しなければなりません。中間の振幅は、実のところ各レベルの間に位置していて、どちらのレベルのイベント分類の閾値（50%交差）でもある。

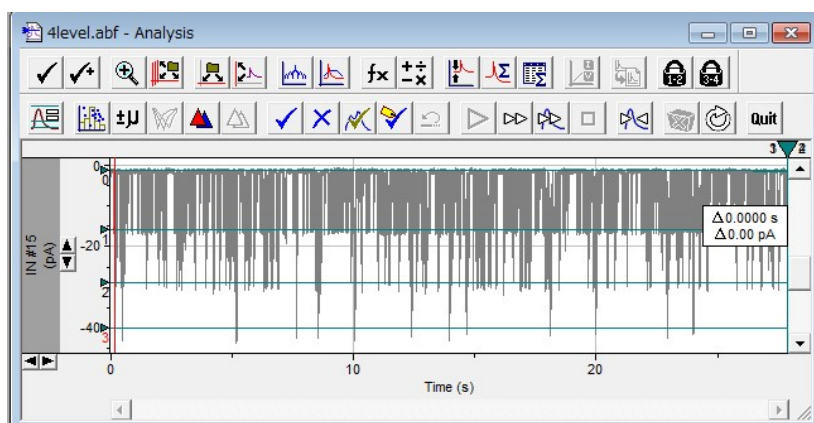




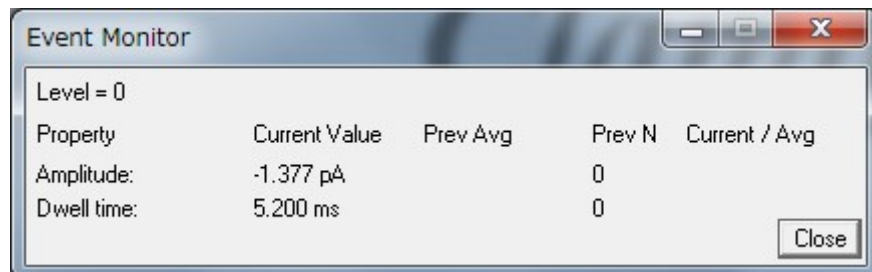
Fetchan では不安定なベースラインに続くように、自動的にアップデートするように設定でき、検索の間にレベルを手動で調整することができました。Fetchan でイベント波形の作成と同時に実行されたフィルタは、Clampfit では Analyze > Filter によって個別に実行しなければなりません。Fetchan で検索を実行するためのコマンドは、名前が異なるものもあります。

Fetchan	Clampfit software
Include	Accept
eXclude	Suppress
iGnore	Reject
Undo	Undo
Nonstop	Nonstop

多くの機能（イベント検出ツールバーのイベント検出メニュー、またはツールボタン、またはキーストロークにおいて）が残っています。



個々のイベントが検索で発見されると、前のイベントとの比較するために Event Detection > Event Monitor で重要な統計を見ることができます。



もしあなたが振幅に不満足、または、時間がイベントに自動的に与えられるならば、関連した理想的なイベント定義するラインを Result ウィンドウにドラッグしてこれを調整できます。

## 5.2. 短時間イベント (Brief Events)

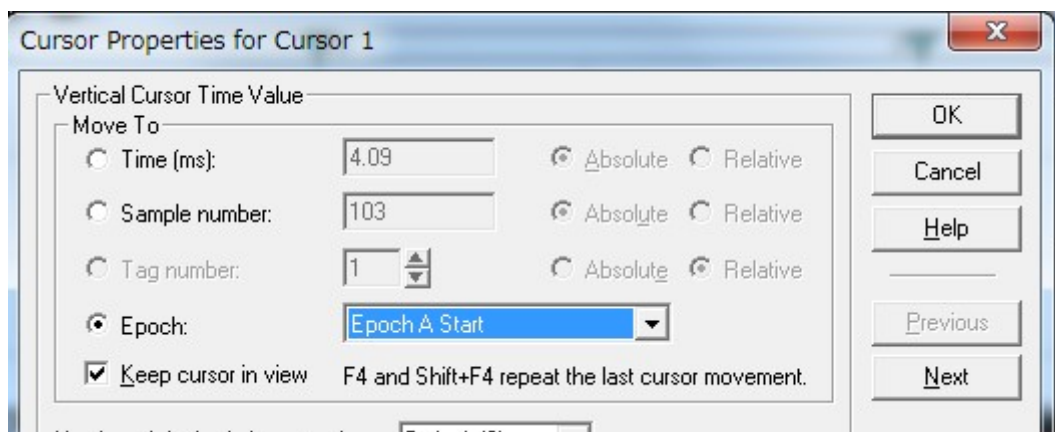
Fetchan の "short" イベントは Clampfit では "Brief" と表現され、Events シートの State 列に "B" とラベルされます。They can be optionally excluded from analyses you go on to perform on the events data. Clampfit が Brief イベントを決定するアルゴリズムは Fetchan と同じです。Since filtering rounds out level transitions in the trace, イベントの開始と終了の2つのデータポイントは、振幅の計算に含まれません。(where the time constant is proportional to the amount of filtering applied). これは、イベントのポイント数が4個より少ないとき、正常な方法では振幅を計算できません。このようなケースでは、Clampfit は全体のイベントの振幅として、イベントの中間点の振幅をレポートします。(詳細は英語マニュアル P186 を確認して下さい。)

## 5.3. 潜伏時間について (Latency)

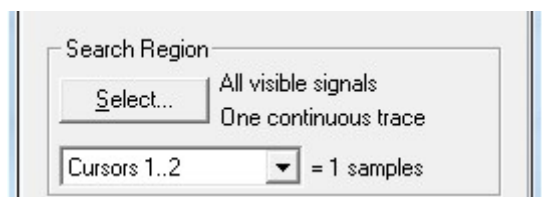
Fetchan の Latency モードは Events List モードと同じ機能ですが、episodic stimulation モードで、各 Sweep が同じ時間に刺激された記録ファイルに適用します。刺激と最初の反応の間の時間 (例えば latency) が測定されます。Clampfit では、正常な潜伏時間が正しく測定されることを保証するために、Event Detection > Single-Channel Search を設定します。

1. Analysis ウィンドウのカーソルを検索範囲に設定します。開始カーソル (1.2 なら 1) を刺激波形の開始時間に設定します。これを行うには、Edit > Create Stimulus Waveform

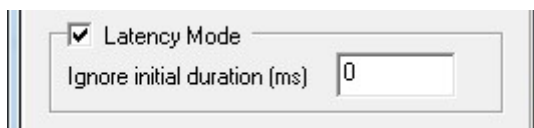
Signal によって刺激波形を表示し、カーソルを刺激波形の開始位置にドラッグします。または、Tools > Cursors > Cursor Properties ダイアログを使用して、刺激パルスを含んでいる epoch の開始にカーソルを置くこともできます。



2. 検索設定ダイアログにおいて、検索範囲を定義するために、設定したカーソルペアを選択します。



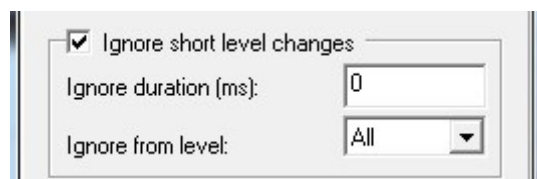
3. 検索設定ダイアログにおいて、Latency Mode チェックボックスをチェックします。



チェックされた Latency Mode チェックボックスによって、Event シートに報告されるイベント開始と終了の時間は、Sweep の開始からではなく、検索範囲の開始から測定されます。上の設定ではカーソル配置、検索範囲の設定によって刺激波形が開始された時間から測定されることになります。これは、個々の Sweep において、最初のイベントを使用することが可能になります。これらの値は、Analyze > Event Analysis > Latency (Event シートから解析)の潜伏時間の分析に使用されます。

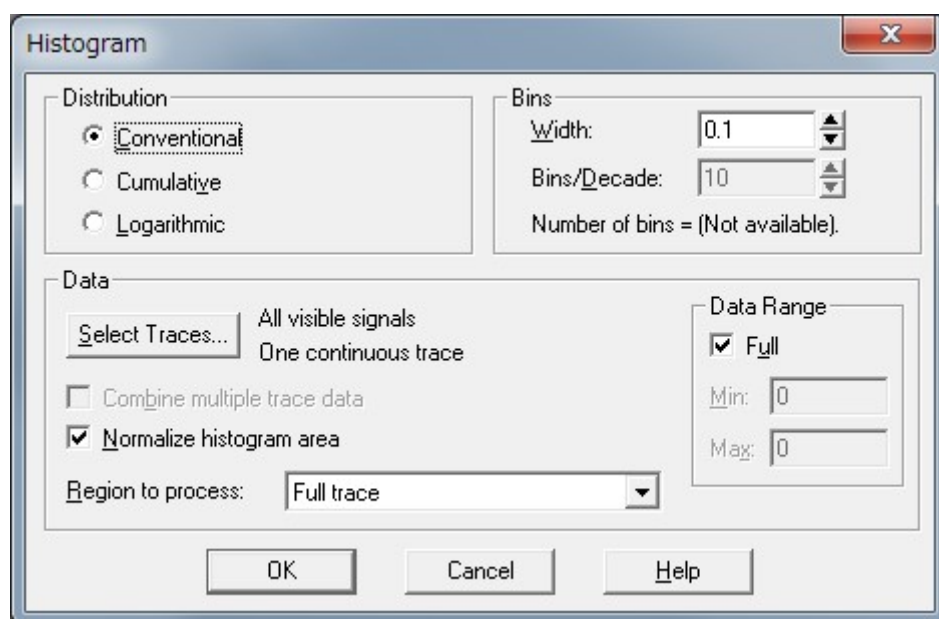
加えて、Ignore initial duration を検索設定ダイアログにおいて設定するようにすることができます。これは、検索開始から検索を無効にする時間の設定で、Fetchan の Parameters > Special > First Latency Analysis の Ignore と同じ機能です。一般的には、刺激パルス直後に

発生する過剰な静電容量をスキップするために使用します。



#### 5.4. All Points Histogram

データファイルの全ポイントで振幅ヒストグラムを作成するためには、Analyze > Histogram を使用します。横幅を設定し、波形、範囲、およびデータ値など、データ範囲を設定できます。



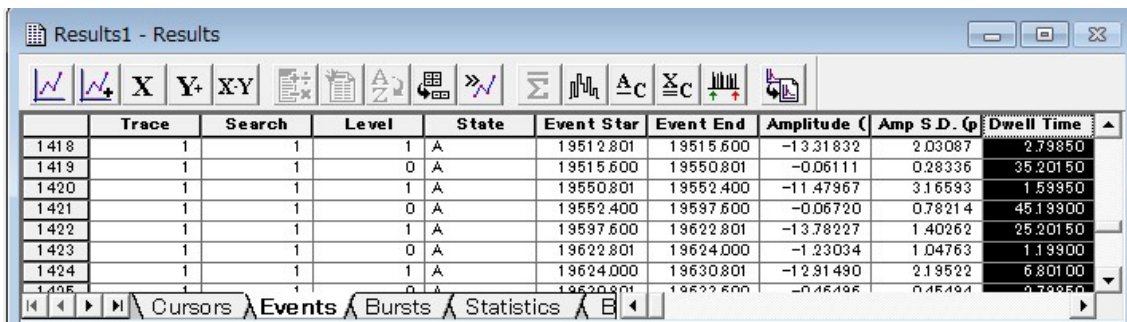
#### 5.5. Clampfit Software for pSTAT Users

pSTAT では Fetchan で作成された Event List (EVL) ファイルを使用して解析を行います。Clampfit では同様のデータが Results ウィンドウ の Event シート にレポートされます。よって、Even シートは、分類の分析とグラフオブションを行う場合に選択します。

##### 5.5.1. ヒストグラムを作成する (Histograms)

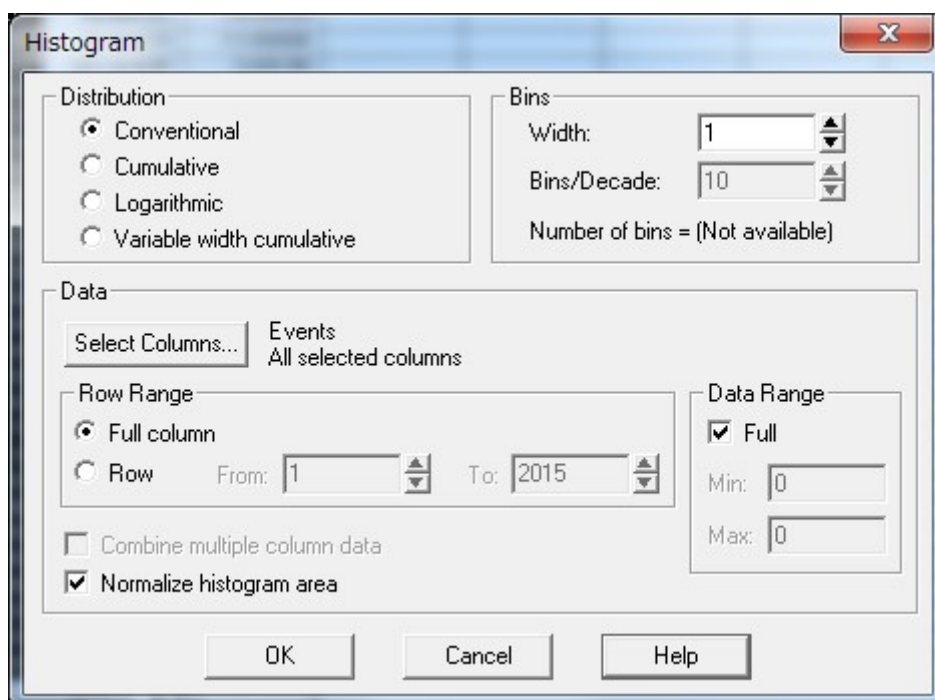
pSTAT はヒストグラムに関係する機能が多く、例えば時間または振幅の分析などがあります。Clampfit は Analyze > Histogram によって、Event シートに報告されたイベントの測定値から簡単なヒストグラムを作成することができます。

1. ヒストグラムにおいて表示したいデータ列を選択します。
2. Results ウィンドウツールバーの Histogram tool button をクリックします。



	Trace	Search	Level	State	Event Star	Event End	Amplitude (	Amp S.D. (p	Dwell Time
1418	1	1	1	A	19512.801	19515.600	-13.31832	2.03087	2.79850
1419	1	1	0	A	19515.600	19550.801	-0.06111	0.28336	35.20150
1420	1	1	1	A	19550.801	19552.400	-11.47967	3.16593	1.59950
1421	1	1	0	A	19552.400	19597.600	-0.06720	0.78214	45.19900
1422	1	1	1	A	19597.600	19622.801	-13.78227	1.40262	25.20150
1423	1	1	0	A	19622.801	19624.000	-1.23034	1.04763	1.19900
1424	1	1	1	A	19624.000	19630.801	-12.81490	2.19522	6.80100
1425	1	1	0	A	19630.801	19633.600	-0.46496	0.46496	0.79950

3. ダイアログでヒストグラムタイプと幅を選択し、Data セクションに Results ウィンドウのシート、および All selected column が正しいことを確認します。また、任意の行またはデータ範囲にデータを限定することもできます。



**Histogram**

**Distribution**

- ☒ Conventional
- ☐ Cumulative
- ☐ Logarithmic
- ☐ Variable width cumulative

**Bins**

Width:

Bins/Decade:

Number of bins = (Not available)

**Data**

Select Columns...  All selected columns

**Row Range**

- ☒ Full column
- ☐ Row From:  To:

☐ Combine multiple column data

☒ Normalize histogram area

**Data Range**

☒ Full

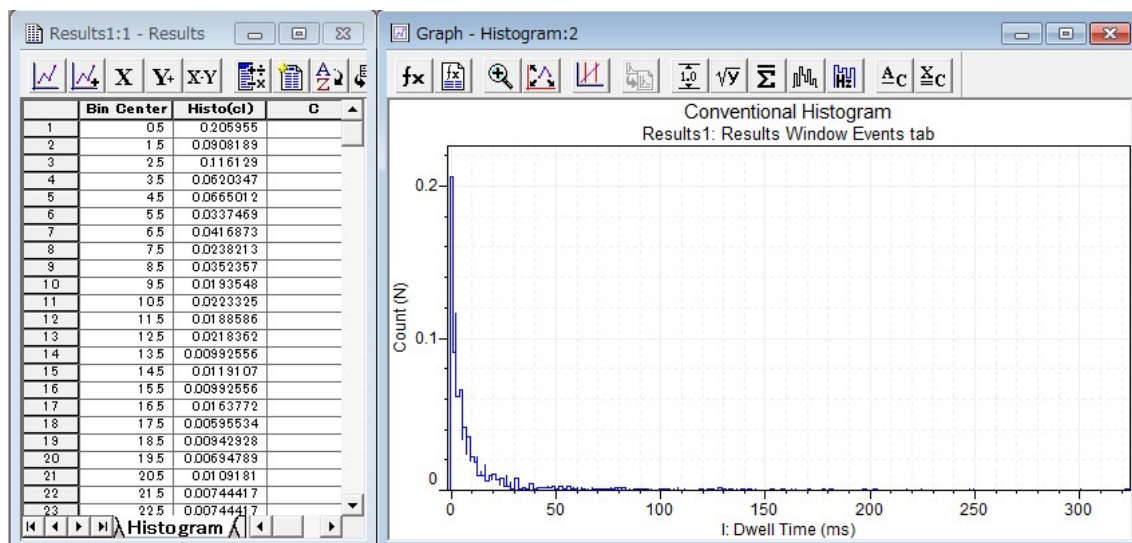
Min:  Max:

OK Cancel Help

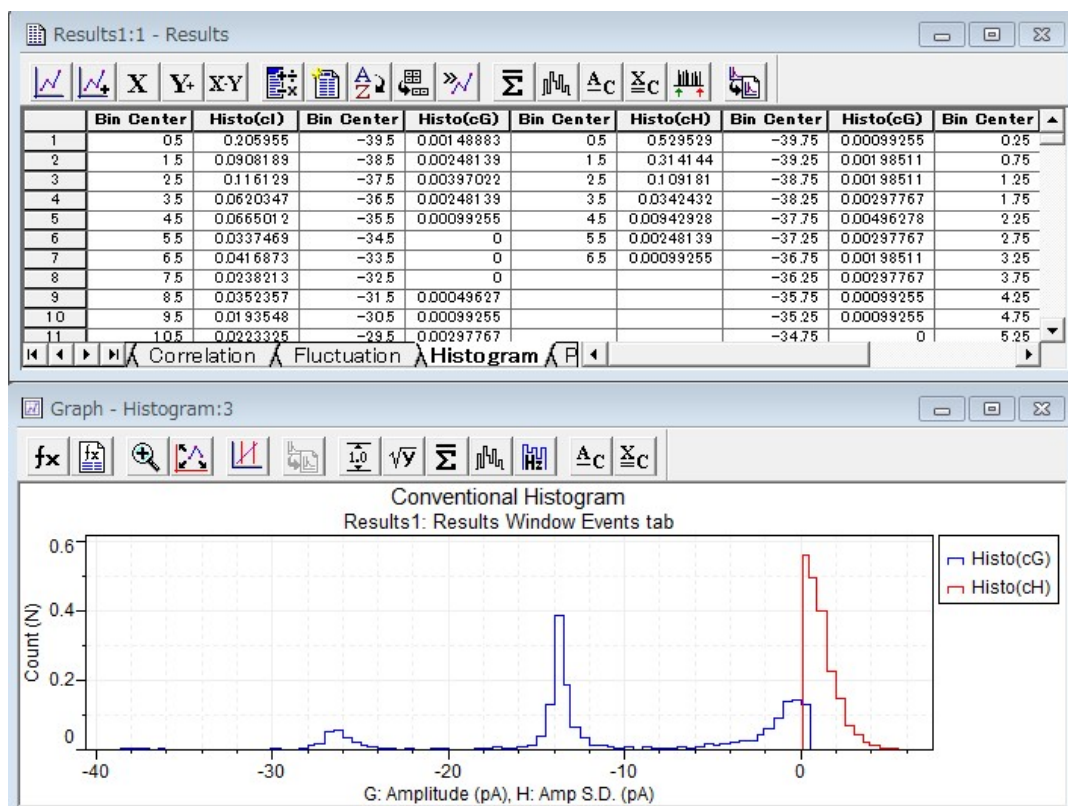
4. ヒストグラムを実行するために、OK をクリックします。幅は Results ウィンドウ



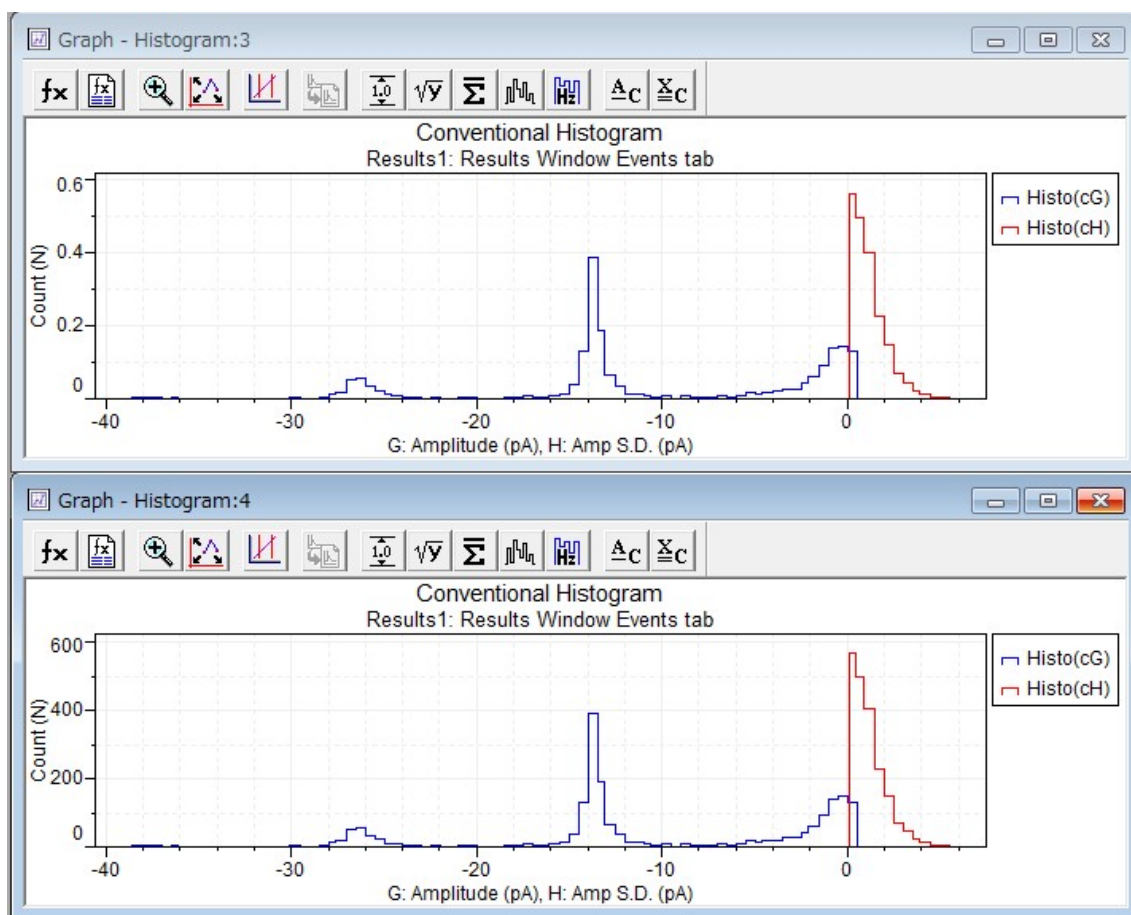
Histogram シートに記録されます。



複数のデータ列を選ぶことによって、複数のパラメータをヒストグラムグラフに作成することが可能です。(結合して表示、または色分けして別々に表示することができます。)



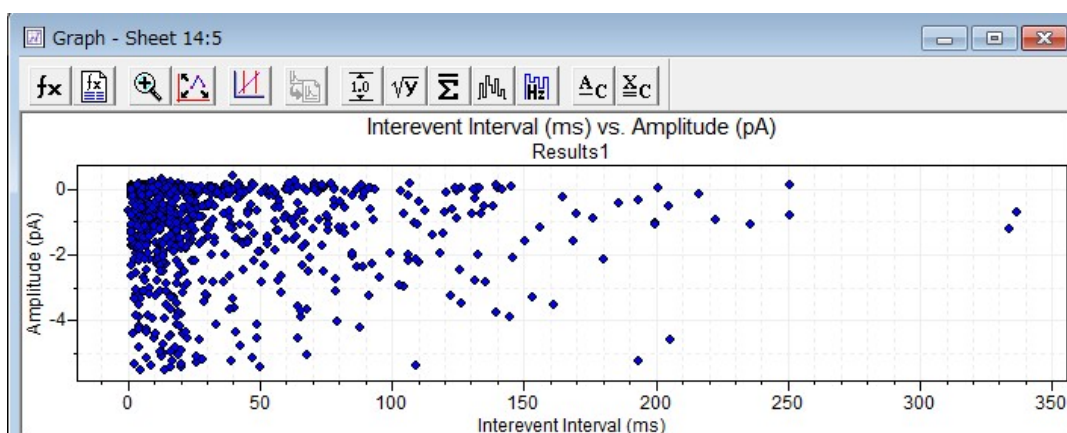
また、ヒストグラムの面積を正規化することができます。



しかし、ヒストグラム機能はレベルまたは他のパラメータに従ってデータを区別することができません。これらを区別するには、Event Analysis Fast Graph を使う必要がある。

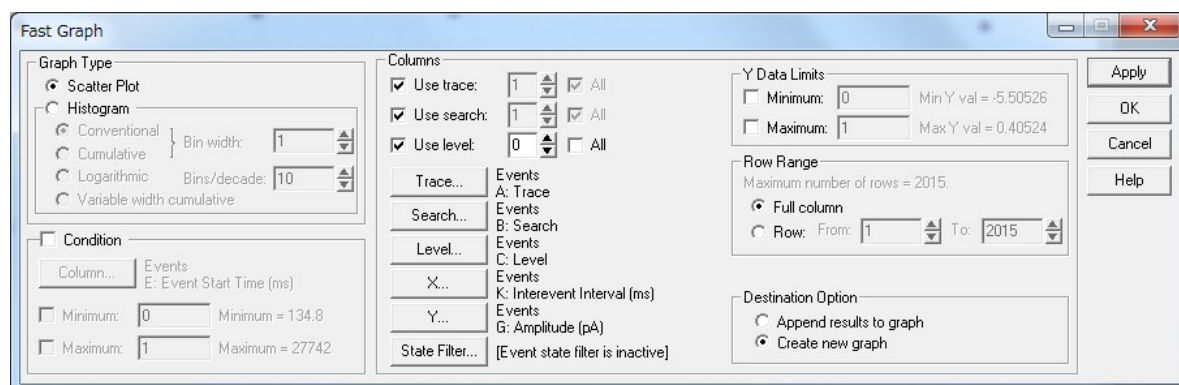
### 5.5.2. グラフ・散布図を作成する (Graphs)

Analyze > Event Analysis > Fast Graph は Histogram より強力なグラフ生成ダイアログで、散布図も作成できます。

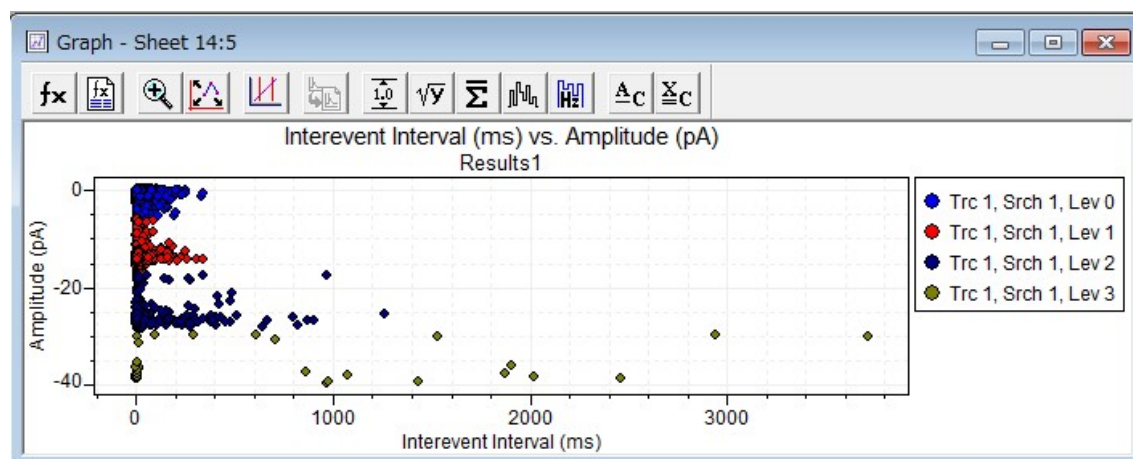


この非常にコンフィギュレーション可能なダイアログは、イベントデータのために特別に

デザインされています。Fast Graph はオプションのほとんどをヒストグラムダイアログに含めています。そして、波形、検索、およびレベルによって、またはプロットされているものと違うパラメータの値でデータを選択することができます。



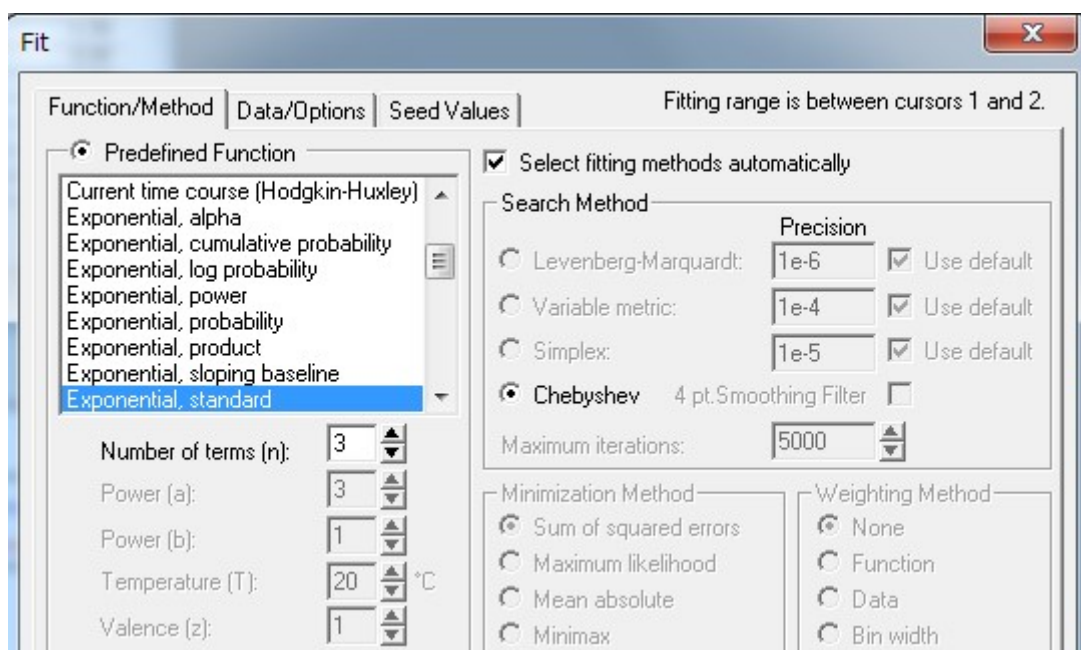
Brief event と suppressed event はプロットから除外できます。複数のレベルでイベントをプロットする場合、レベルによって色分けされます。Fast Graph は、すべてのイベントデータのための汎用グラフ生成ダイアログです。



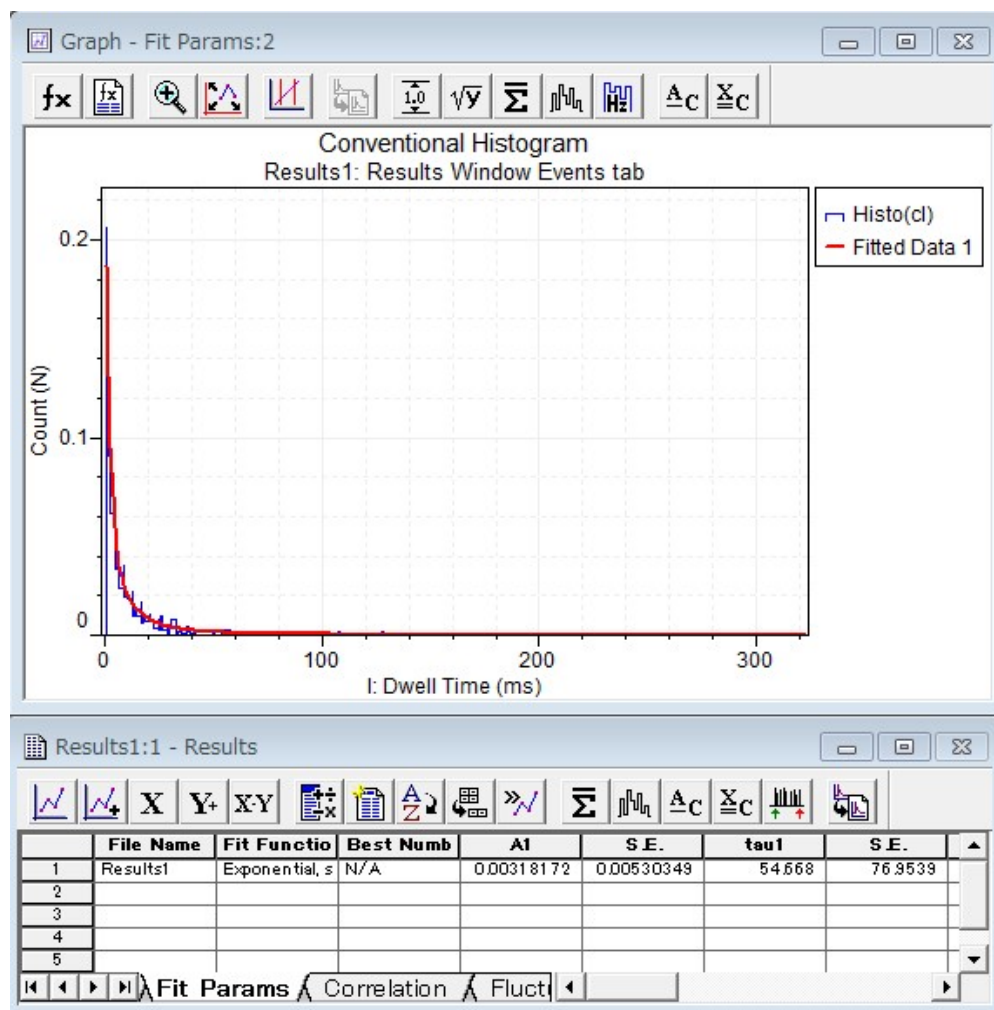
### 5.5.3. フィッティングをする (Fitting)

作成した散布図またはヒストグラムを曲線に適合させる場合は、Clampfit のフィッティング機能である Analyze > Fit を使用します。





グラフのすぐ傍にフィッティング曲線が表示され、フィッティングの結果は Results ウィンドウの Fit Params シートと Analyze > Fitting Results にレポートされます。



Fitting Results

Parameters Statistics

	A ± S.E.		tau ± S.E.					
Term 1	0.00318172	0.00530349	54.668	76.9539	0	0	0	0
Term 2	0.0433001	0.0112815	9.97586	3.54897	0	0	0	0
Term 3	0.140393	0.013826	2.18959	0.234788	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0

☒ Absolute proportions  
☐ Normalized proportions

Y(x=0) Intercept = 0.186838

C ± S.E.  
-3.69969e-5 3.71147e-4

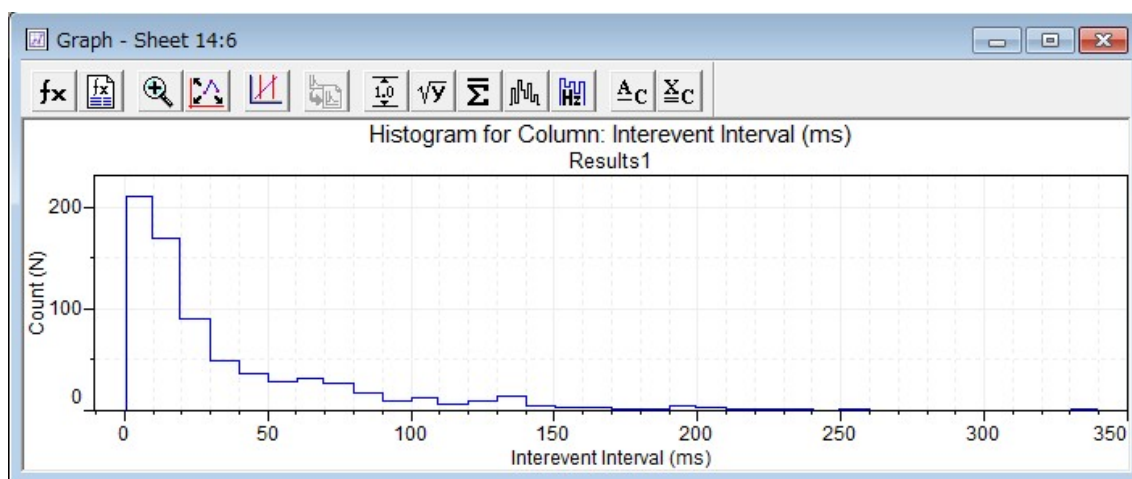
Copy To

Select  
 Trace number: 1  
 Model number: 3

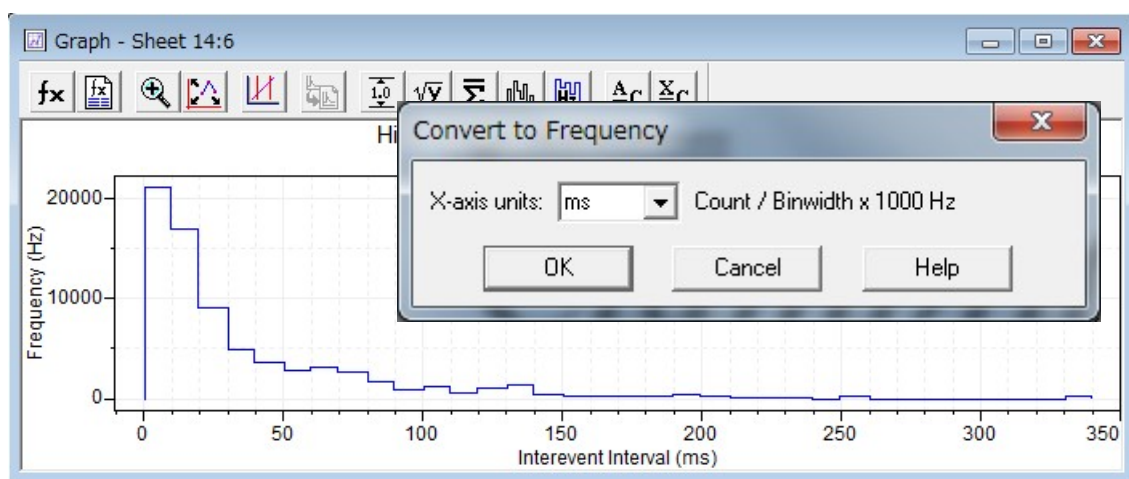
#### 5.5.4. 周波数解析 (Frequency Analysis)

瞬時周波数は、すべてのイベント検索において、基本的な測定値の1つとして Event シートに自動的に測定される。もし必要であれば、Fast Graph を使用して、これらのデータをグラフィックで表示することができます。pSTAT の Interval method frequency calculation は Analyze > Convert to Frequency で代替することができます。

1. 適当な幅を選んで Event Start Time のヒストグラムを作成します。



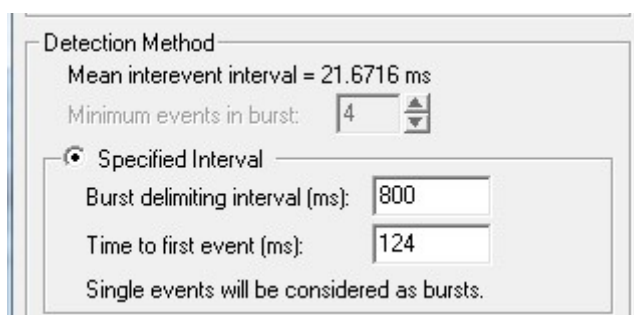
2. ヒストグラムを選択して、Convert to Frequency クリックします。カウント数を幅で割り、各幅においてカウント数を周波数に変換します。



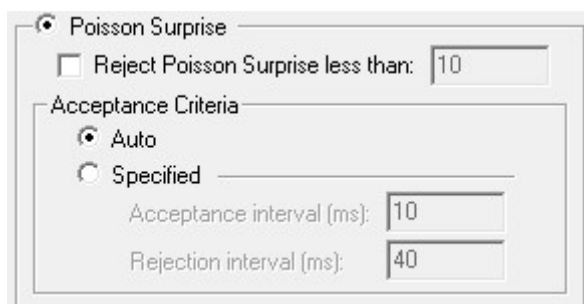
### 5.5.5. バースト解析 (Burst Analysis)

Clampfit の発火解析は、Analyze > Event Analysis > Burst から実行されます。Clampfit において提供された発火解析は、多くの点について pSTAT と異なります。発火を Clampfit で発見するためには、2 つの基本的な方法があります。

イベント間隔を設定する方法があります。この間隔より小さいイベントは、同じ発火に属していると分類されます。Clampfit の inter-event interval は、pSTAT の inter-burst interval と同じですが、異なる点として、Clampfit は設定間隔より小さい閉じたチャンネルイベントを検索し、pSTAT は間隔より大きい閉じたチャンネルイベントを検索して、発火を 1 つのグループとして分離します。



Poisson surprise を使用する方法があります。which measures the degree to which one is “surprised” that a frequency of occurrence deviates from a Poisson distribution.



各レベルのイベントの発火、または全レベルの発火を検索することを選択できます。全レベルを検索する場合は merged を有効にします。ゼロ以外のレベルイベントが 1 つのイベントとみなされるようになります。

**Results1 - Results**

	Level	Events in Burst	Start
1	1	972	12
2	2	7	21
3	2	84	145
4	2	111	993
5	2	18	1965
6	2	38	2210
7	2	14	2559
8	3	1	50
9	3	1	421
10	3	5	518
11	3	1	767
12	3	2	853
13	3	3	1005
14	3	2	1237
15	3	3	1396
16	3	1	1620
17	3	1	1811
18	3	1	1998
19	3	4	2292
20	3	7	2402

**Burst Analysis**

Data Format

☐ Peak time

☒ Single-channel

Detect bursts for level: 1 ☒ All ☒ Merge

検索された発火のデータは Burst シートにレポートされます。各発火のイベント数、発火期間、発火間隔の平均、イベント頻度、開口時間の平均が含まれています。これらのプロパティのヒストグラムは通常の方法で生成できます。

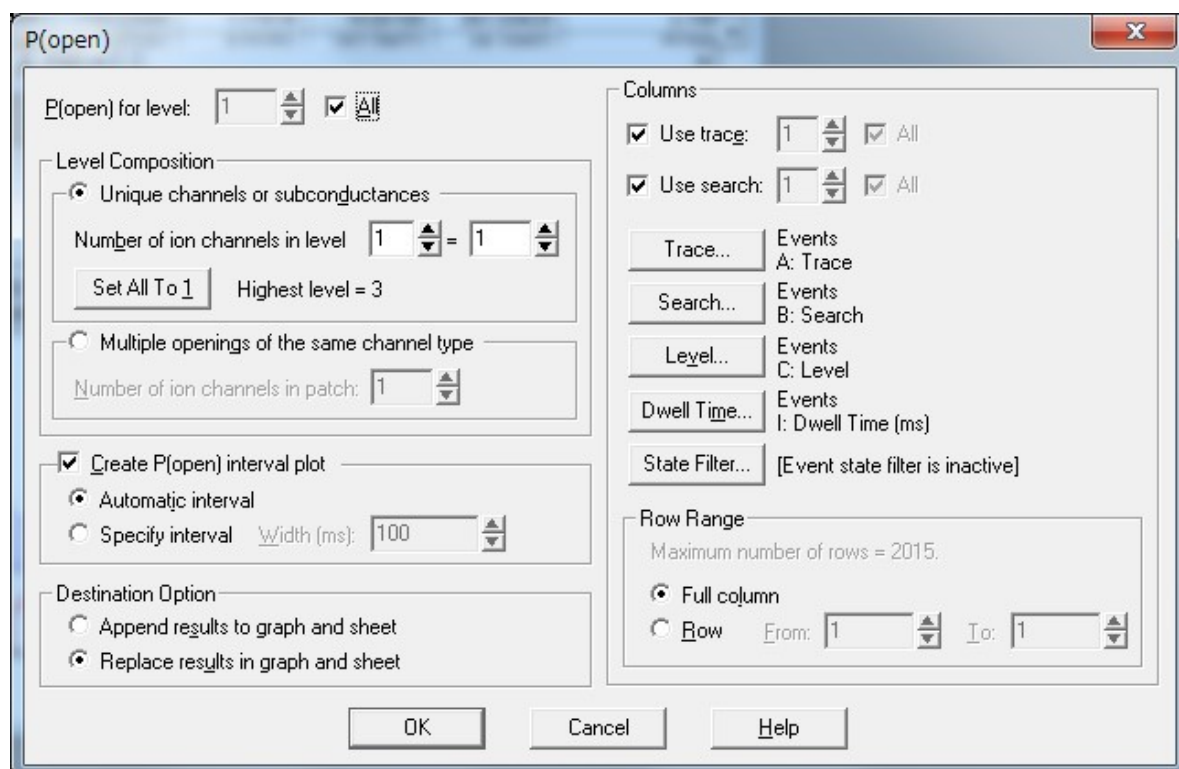
Burst	Trace	Search	Level	Events in Burst	Duration (ms)	Mean Intraburst Interval (ms)	Frequency (Hz)	O
1	1	1	1	972	27701.199	28.501	126.90316	
2	2	1	2	7	371.200	61.733	128.55165	
3	3	1	2	84	7213.600	86.887	136.09108	
4	4	1	2	111	8828.400	80.251	131.34616	
5	5	1	2	18	1631.199	95.785	109.87145	
6	6	1	2	38	2530.400	68.130	153.07684	
7	7	1	2	14	1966.000	150.769	66.52030	
8	8	1	3	1	2.800	0.000	0.00000	
9	9	1	3	1	0.800	0.000	0.00000	
10	10	1	3	5	27.600	5.900	188.05074	
11	11	1	3	1	3.200	0.000	0.00000	
12	12	1	3	2	94.000	93.200	10.72959	
13	13	1	3	3	299.199	149.000	58.54835	
14	14	1	3	2	608.400	607.601	1.64582	

詳細については英語マニュアル p193 の Burst Analysis を参照して下さい。

### 5.5.6. 開口率の解析 (P(open) Analysis)

チャンネルの開確率の解析は、Analyze > Event Analysis > P(open)によって実行されます。





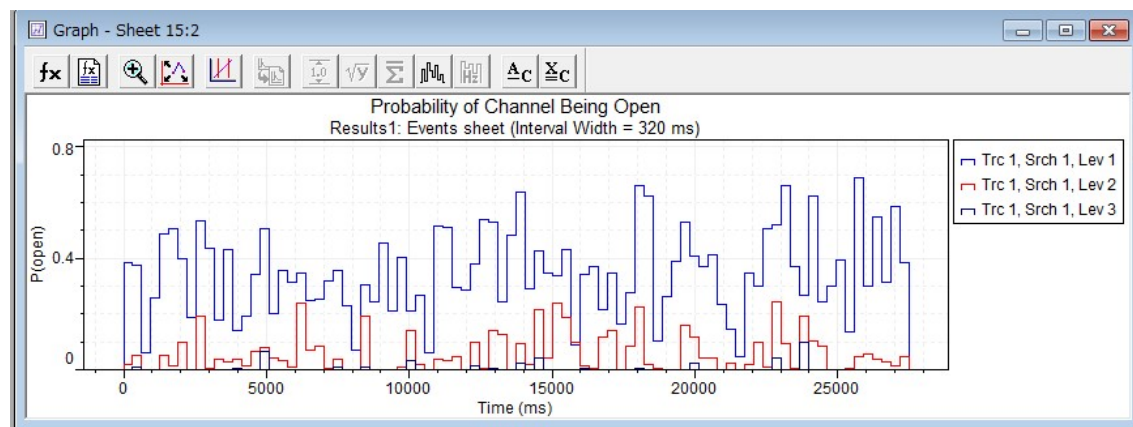
この解析はイベント数、イベント時間、単一チャンネルの開確率、全チャンネルの開確率などがレポートされます。

Results1:1 - Results

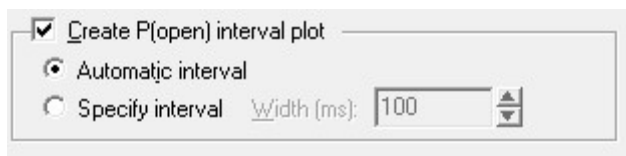
	Trace	Search	Level	Total Time (m)	No. Events	No. Channel	P(o)	NP(o)
1	1	1	1	27701.199	972	1	0.34760	0.47693
2	1	1	2	27701.199	272	1	0.05811	0.47693
3	1	1	3	27701.199	32	1	0.00438	0.47693
4								
5								
6								

Sheet 14 Sheet 15 Sheet 16 Sheet 17 Sheet 18

オプションで pSTAT と同様に開確率のヒストグラムが作成することができます。



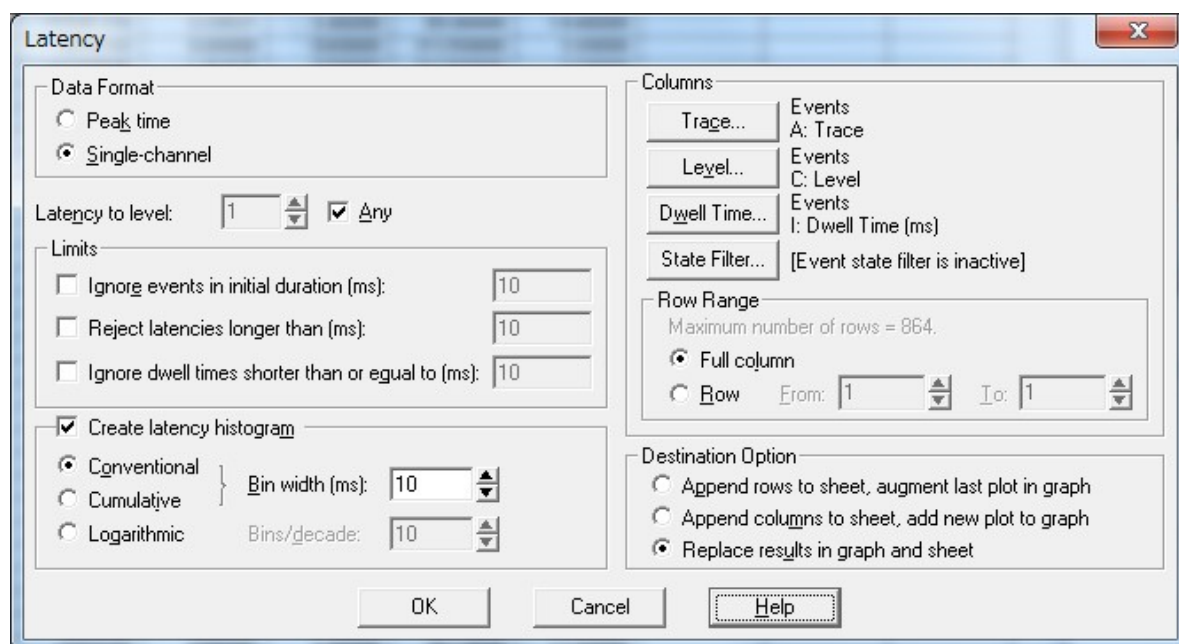
pSTAT の場合、間隔を手動で設定することができましたが、Clampfit では自動で設定することもできます。



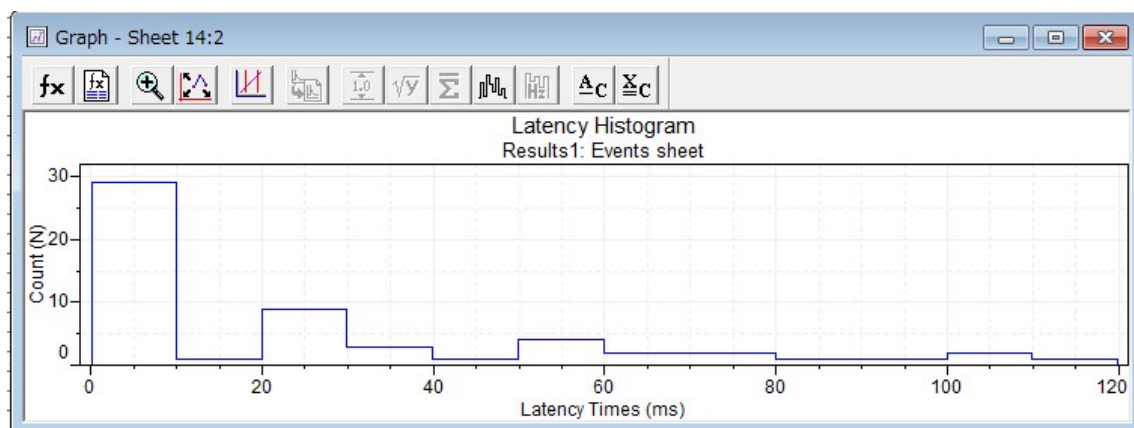
その他詳細については、英語マニュアル P195 の P(open)をご参照下さい。

### 5.5.7. 潜伏時間の解析 (Latency Analysis)

Latency 解析は Analyze > Event Analysis > Latency から実行し、各 Sweep の刺激波形の開始から、最初のイベント開始までの時間を測定します。オプションでダイアログからヒストグラムを作成することができます。







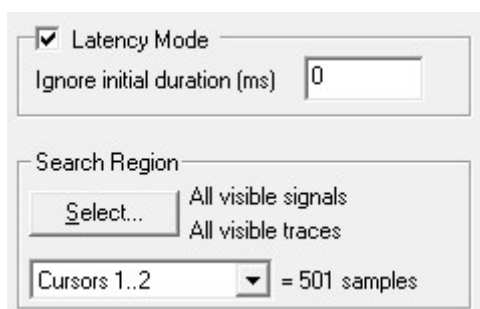
イベントデータは、この解析が実行できるように、良好な条件のもとで収集される必要があります。レポートされた Latency の価値は、各 Sweep において単に最初のゼロでないレベルのイベントにイベント開始時間が与えられることです。

Results1:1 - Results

	Trace	To Level	Latency	Sheet	Bin Center	Bin Count	G
1	1	1	24.000	Events	5.00000	29	
2	2	1	0.800	Events	15.00000	1	
3	3	1	5.600	Events	25.00000	9	
4	4	1	4.800	Events	35.00000	3	
5	5	1	28.800	Events	45.00000	1	
6	6	1	20.800	Events	55.00000	4	
7	7	1	2.400	Events	65.00000	2	
8	8	1	53.600	Events	75.00000	2	
9	9	1	109.200	Events	85.00000	1	
10	10	1	57.200	Events	95.00000	1	
11	11	1	26.800	Events	105.00000	2	
12	12	1	0.800	Events	115.00000	1	
13	13	1	69.200	Events			
14	14	1	26.800	Events			
15	15	1	70.000	Events			

Quick Graph Sheet 14

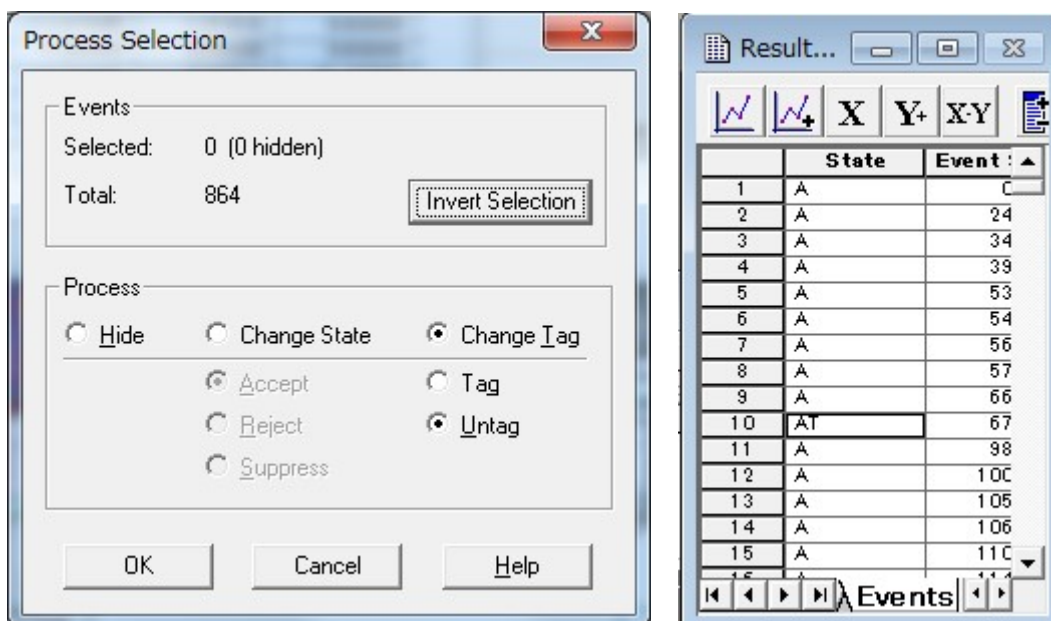
この Latency が刺激の開始からの時間として測定するには、Event Detection > Single-Channel Search を適切に設定する必要があります。これは Single-Channel Search ダイアログにおいて Latency Mode をチェックし、検索の開始時間を刺激の開始時間と正確に合わせる必要があります。手順については 5.3 Latency を参照して下さい。また、ヘルプには詳細な手順が記載あります。



### 5.5.8. 中央イベントの解析（Peri-event Analysis）

この解析機能は pSTAT になく、Clampfit の新しい機能です。選択イベントから設定された時間範囲内で発生したイベントとの間隔を測定する機能です。選択イベントはタグを付けることによって central event として設定します。

検索中は Event Detection > Accept and Tag、または Event Detection > Process Selection で設定し、検索終了後は Event シートの Stat 列に「AT」と入力して変更できます。



その他詳細については、英語マニュアル P195 の Peri-event Analysis をご参照下さい。

**Perievent Analysis**

**Plots**

☒ Create raster plot

☒ Create histogram

Bin Width (ms):

**Range**

Before zero (ms):  ☐ From start of trace

After zero (ms):  ☐ To end of trace

**Amplitude Limits**

☐ Lower:

☐ Upper:

**Destination Option**

☐ Append results to graphs and sheet

☒ Replace results in graphs and sheet

**Columns**

☒ Use category:  ☐ All [Invalid column]

☒ Use trace

☒ Use search

Trace... Sheet 15  
A: Bin Center 1

Search... Sheet 15  
B: Bin Count 1

Category... Sheet 15  
C: Raster 1 Data

Tag... Sheet 15  
D: Raster 1 Position

Event Time... Sheet 15  
E: Raster 2 Data

Amplitude... Sheet 15  
G: Raster 3 Data

State Filter... [Event state filter is inactive]

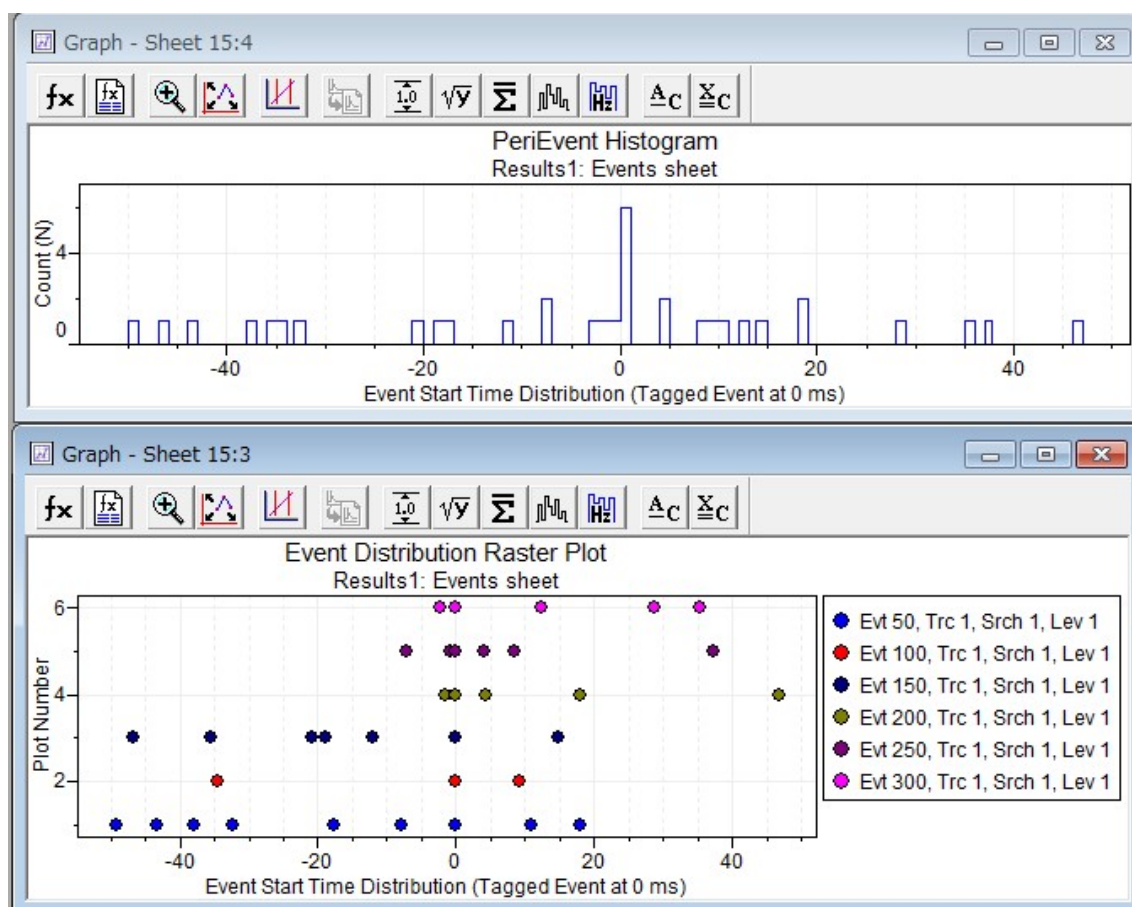
**Row Range**

Maximum number of rows = 3.

☒ Full column

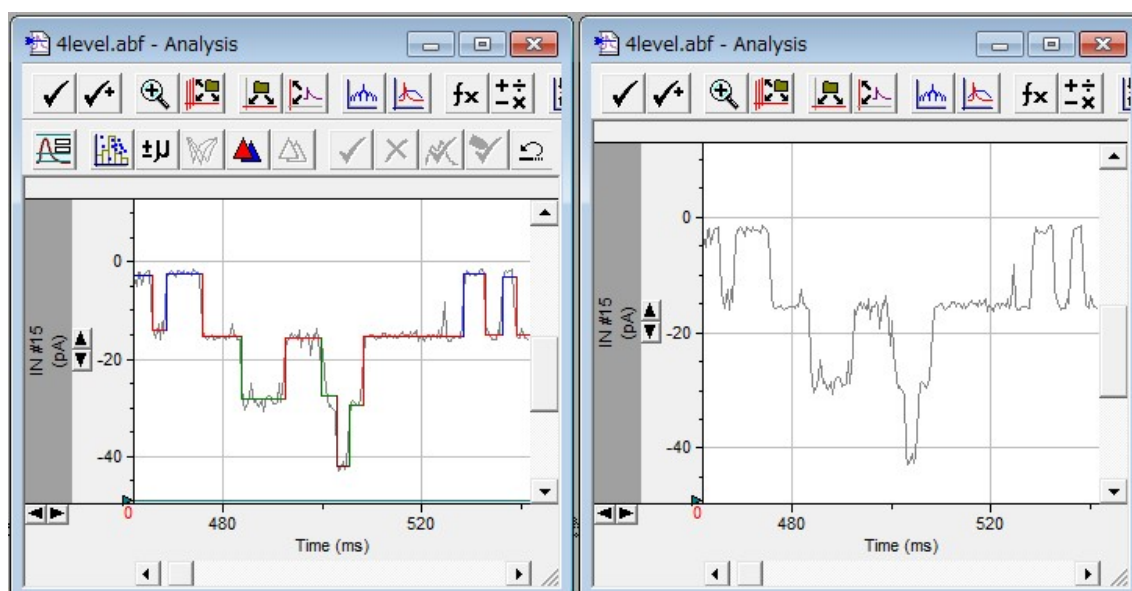
☐ Row From:  To:

OK Cancel Help



### 5.5.9. 理想波形の表示 (Idealized Trace)

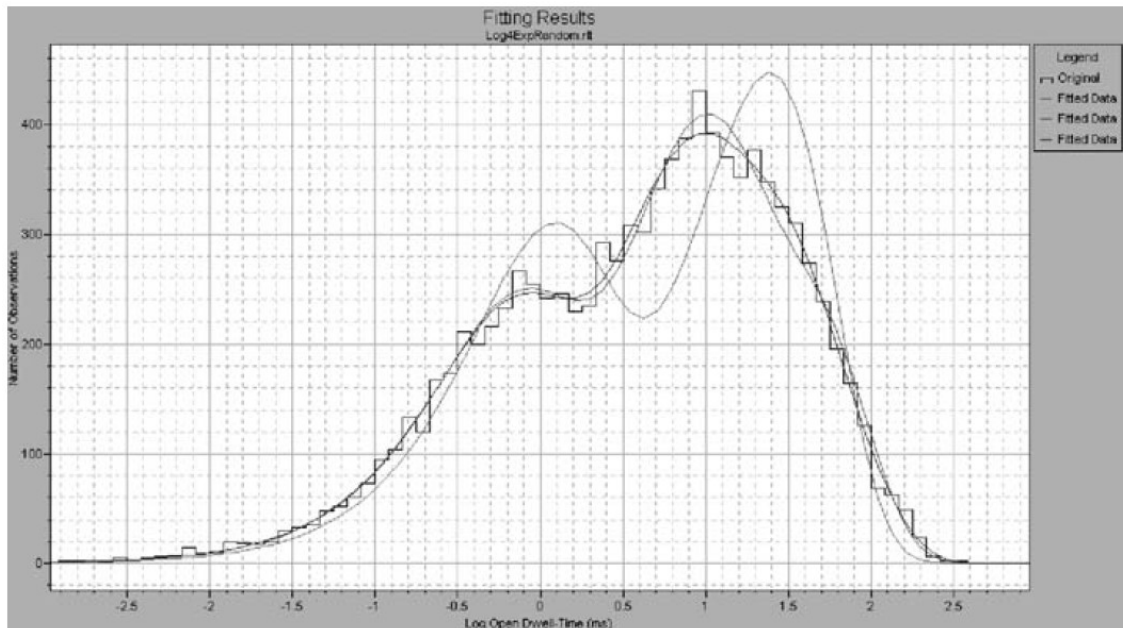
Clampfit はイベントレベルによって色分けされ、時間と振幅平均で理想波形を示します。イベント検出セッションを終了すると、理想波形は消えます。



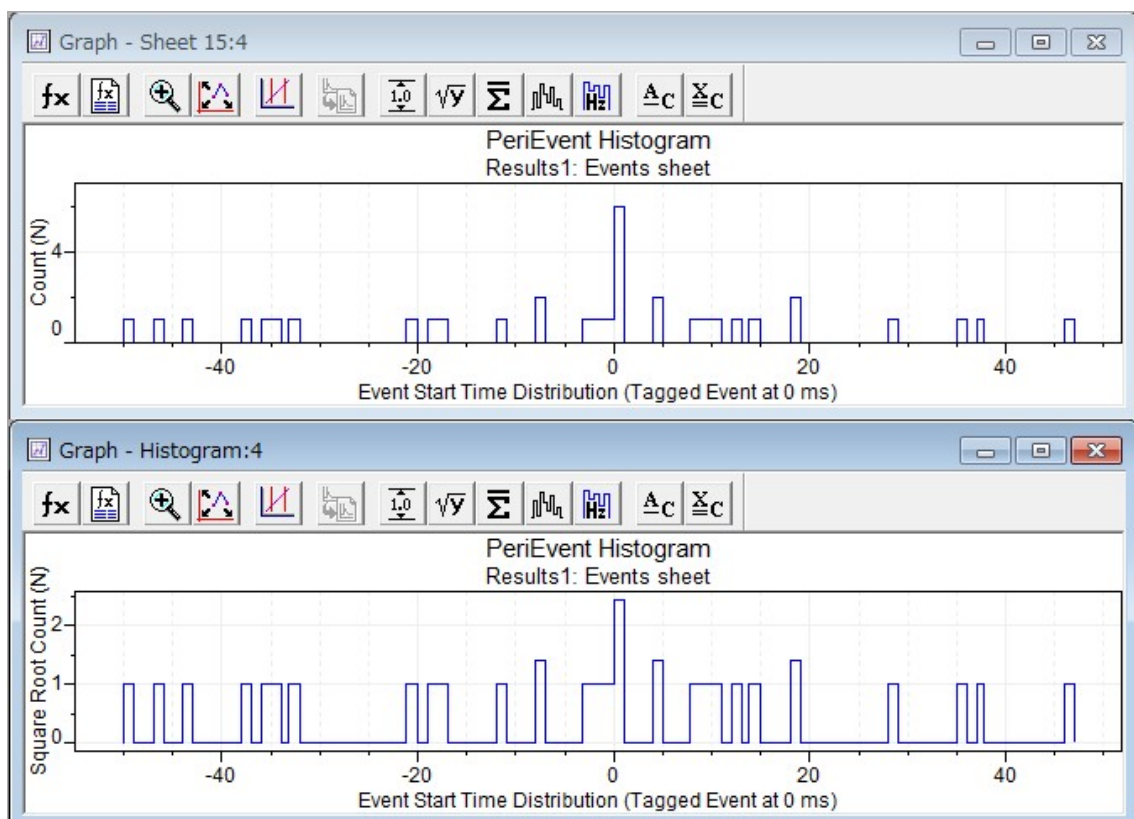
### 5.6. Curve Fitting for Single-Channel Results

Clampfit は、一般的な時間データのヒストグラムとログ間隔の時間データのヒストグラム、振幅データおよび指数関数をフィッティングするためにガウス関数を提供します。時間データのフィッティングには最小二乗法極小化または対数尤度最大化がサポートされます。しかし、最大尤度フィッティングは一般的なヒストグラムには推奨されず、ログ間隔のヒストグラムに推奨されます。Clampfit は、ログ間隔のヒストグラムを最大尤度フィッティングするために、効率的で正確なアルゴリズムを提供します。初期パラメータの予測に EM アルゴリズム、フィッティングの微調整に可変計量法を使用します。例えば、下図は、対数変換された開閉時間、2、3、または 4 つの指数項による可変計量法のフィッティングを示します。フィッティングはより高次数によって改善するのがわかります。



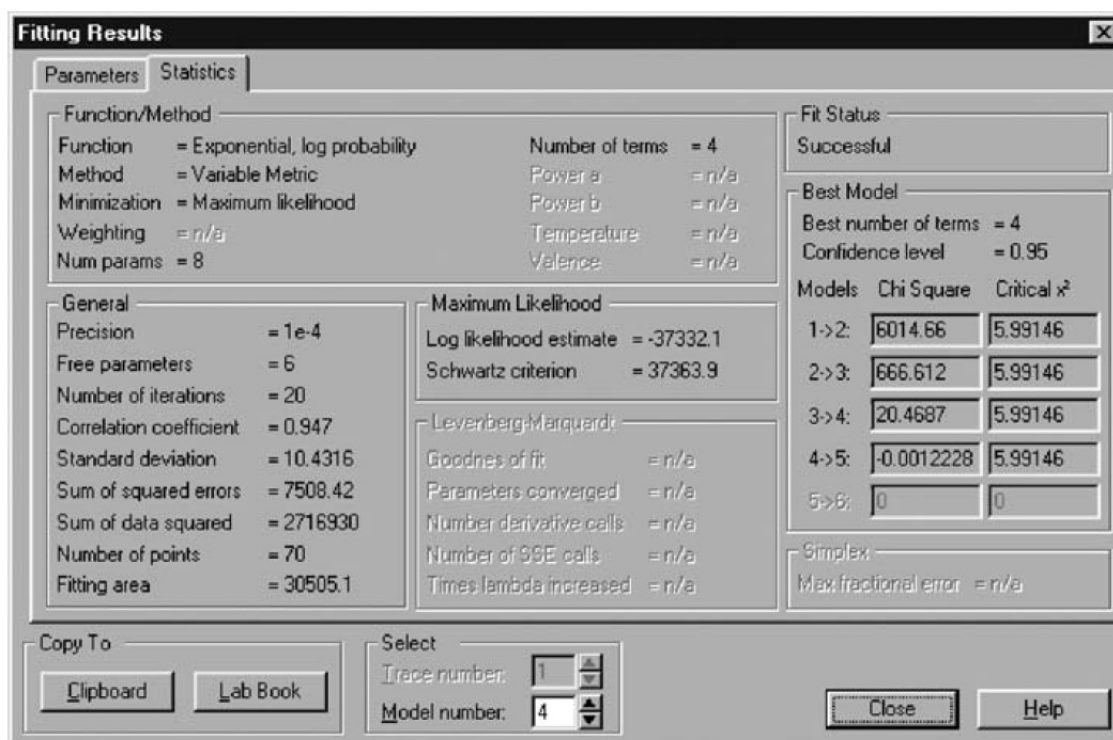


ヒストグラムデータの平方根変換は、Analyze > Square Root で計算できます。しかし、Clampfit は pSTAT と同じように、ゼロカウントの bin をフィッティングから除外するオプションがなく、一般的なヒストグラムのプロモーションエラーを修正しません。



たとえそうでも、Clampfit のフィッティング、表示、プレゼンテーションのためにより柔軟な環境を提供すると気付くかもしれません。

例えば、図 6-3 は、図 6-2 において示されたログ間隔のヒストグラムのための自動的なモデル比較の結果を示しています。



モデル比較統計はこの情報ダイアログにおいて右側に示されています。モデル 4 と 5（4 次と 5 次）のカイ二乗値の差は重要ではなく、4 次モデルは最もよいフィットとして認められる。

## 5.7. QuB

Clampfit は、ファイルを\*.ldt フォーマットで出力するオプション機能があります。このフォーマットで出力されたシングルチャネルのデータは、Buffalo 大学から入手可能なパッケージソフトウェア QuB によって解析可能です。これらのプログラムは Clampfit の代案を提供します。特異なモデルで可能性が高いレート定数を見つける最大尤度による、理想化されたレコードを作成するために。これらのプログラムについての情報 およびダウンロードは QuB ウェブサイトにあります。これらのプログラムは隠れマルコフモデリングと呼ばれ

る、非常に専門的なアプローチで単一のチャンネルデータを解析し、Axon Instruments はこのプログラムをサポートしません。よって、Clampfit ユーザは QuB プログラムを用いる前に QuB ウェブサイトで提供された情報と参照を確認することをお奨めします。また、QuB がフィルタを重くかけられなかったデータに、最もよく適していることは言及されるべきである。

Fetchan で実行された単一のチャンネル記録の理想化と違って、QuB の理想化は識別および個々のイベントの編集を許可しません。従って、データは、それらが理想化に相当であることを保証するために、あらかじめ慎重に処理する必要があります。これは Clampfit ソまたは QuB の前処理モジュールに行います。

Clampfit の前処理は簡単です。まず、QuB により分析されるデータは、出力の前にマニュアルの調整方法でベースライン調整されるべきです。もし記録データがパッチ抵抗または他の偽のシグナルの要因からノイズのセグメントを持っているならば、ノイズ部分は、出力の前に、blank コマンドを使って削除するべきです。レコーディングはその時複数のセグメントとして出力され、QuB プログラムは、セグメント内の活動を表現するフィッティングモデルを適用できます。QuB 解析では、セグメントの時間についての情報は失われます。もしレコーディングが複数の種類のチャンネル活動をはっきりと含んでいるならば、例えば、振幅区別できるならば、blank コマンドは、また、単一のモデルのフィッティングに適切な、同次のセグメントを作成するために用いられます。

QuB の隠れマルコフモデル分析、SKM、および MIL モジュールとともに、振幅とイベント期間のヒストグラムファイルを生成し、Clampfit の Results シートで直接開くことができます。Clampfit の Analyze > Column Arithmetic を使用して、QuB の時間ヒストグラムの Xaxis データはログ値に変換すると、SKM で理想化されたデータは、上での説明のように従来の方法に相当であるかもしれません。

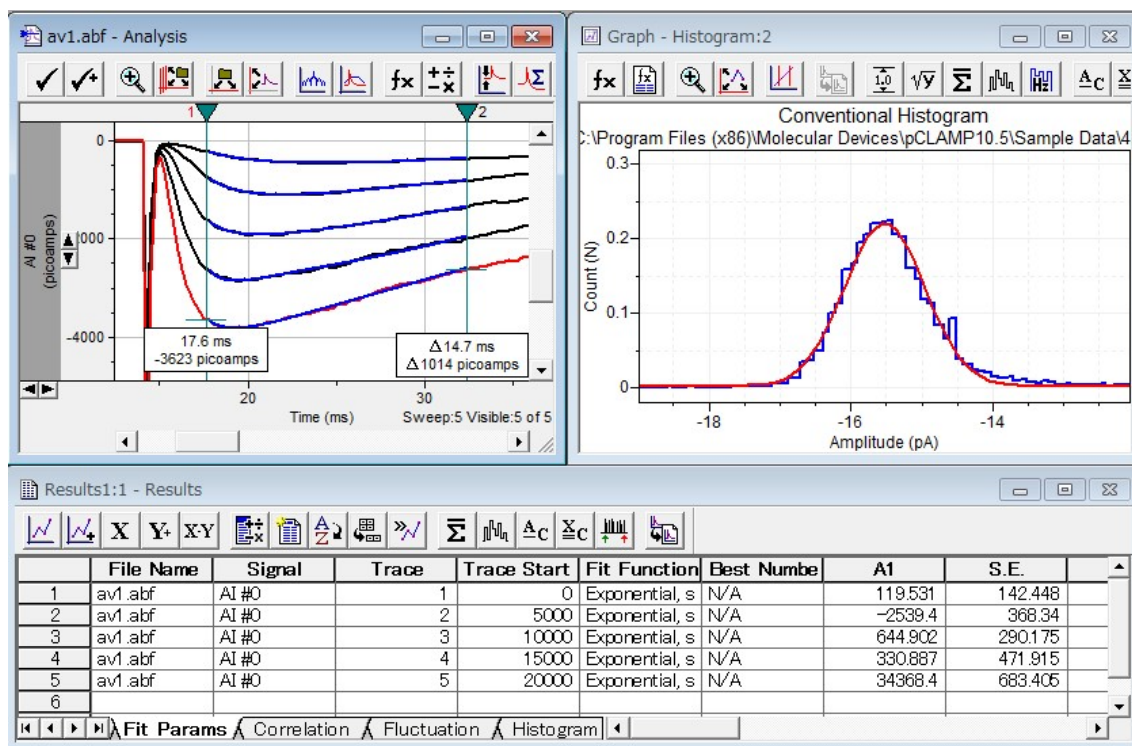


## 6. フィッティングと統計解析 (Feature - Fitting and Statistical Analysis)

### 6.1. フィッティング (Fitting)

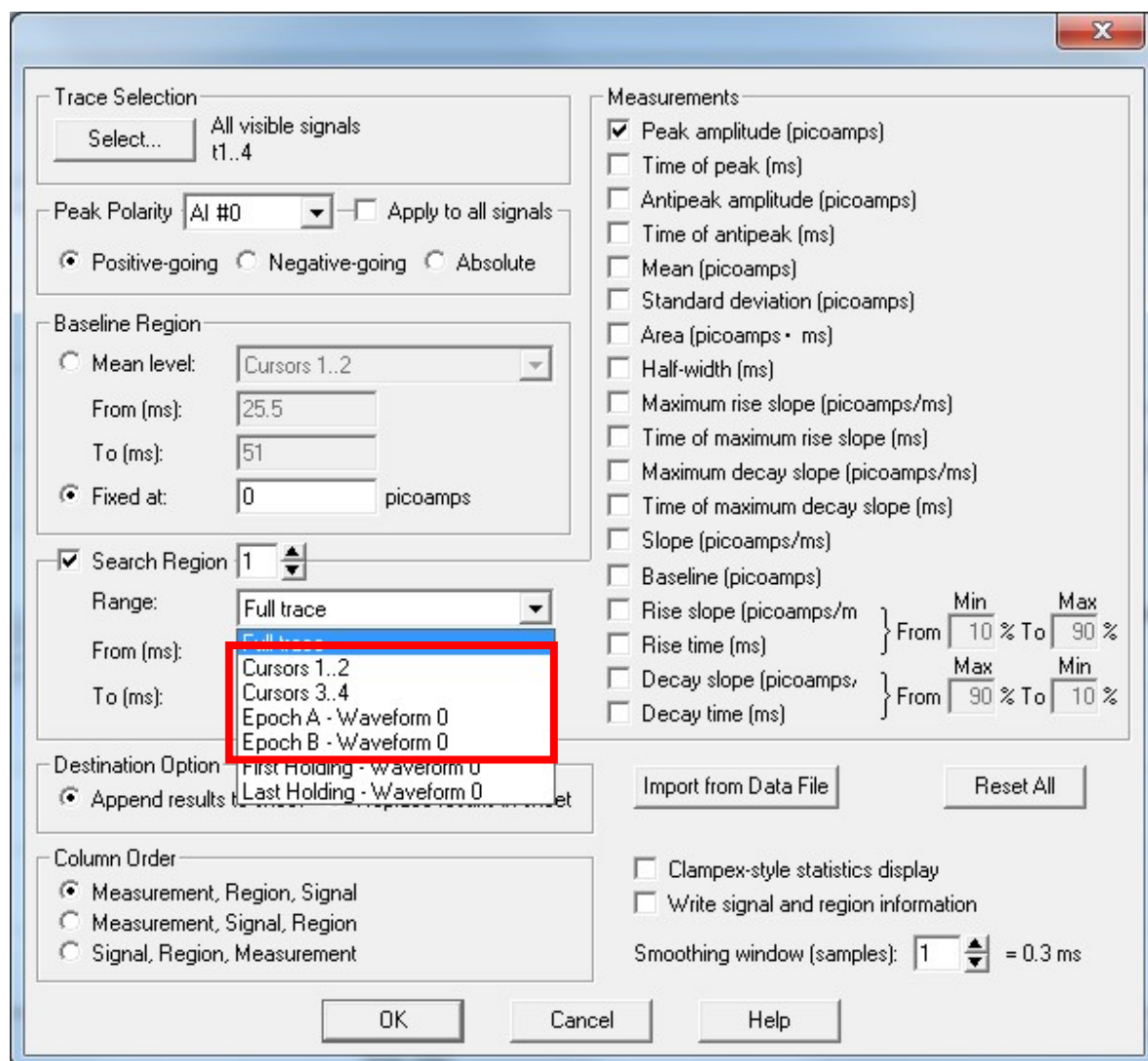
Clampfit は、定義関数またはカスタマイズ関数でフィッティングしたデータを Analysis, Graph, および Results ウィンドウに表示することができます。Analyze > Fit ダイアログでは、フィッティング方法を選び、フィッティング関数と手法に関連したパラメータや範囲を設定することもできます。Analysis と Graph ウィンドウのフィッティングはデータとともにフィッティング波形が表示されます。Results ウィンドウのデータは、一方では、Goldman-Hodgkin-Katz 程式などの複雑な関数のため、複数の変数を具体的な列に割り当てるのが適当であるかもしれません。

フィッティングの詳細については、カーブフィッティングは英語マニュアル P197、フィッティング関数は英語マニュアル P229 を参照して下さい。

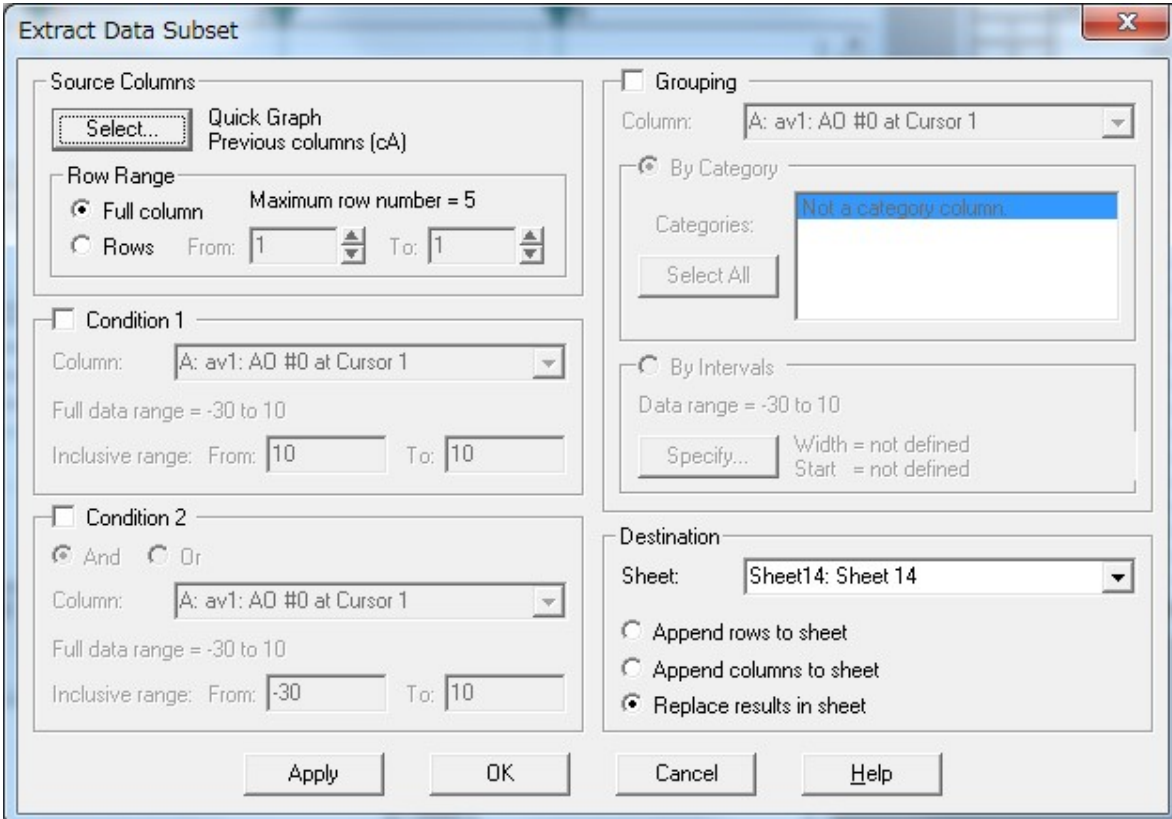


## 6.2. 統計解析 (Statistical Analysis)

パラメトリック解析とノンパラメトリック解析の解析範囲は Analysis と Results ウィンドウのデータに適応するように設定可能です。もしファイル全体を解析したくない場合、Analysis ウィンドウで実行される解析は、設定ダイアログ内で epoch 領域の範囲を設定することができます。別の方法として、解析ダイアログを開く前にカーソルペアを解析したい範囲に設定し、解析ダイアログで範囲にカーソルペアを設定する方法もあります。



Results ウィンドウのデータを選択する場合は、解析ダイアログの列選択ダイアログから設定し、条件付きの設定に基づくデータセットを選択する場合は、Analyze > Extract Data Subset ダイアログから設定します。



**Extract Data Subset**

**Source Columns**

Select... Quick Graph  
Previous columns (cA)

**Row Range**

☒ Full column Maximum row number = 5

☐ Rows From: 1 To: 1

**Condition 1**

Column: A: av1: AO #0 at Cursor 1

Full data range = -30 to 10

Inclusive range: From: 10 To: 10

**Condition 2**

☒ And ☐ Or

Column: A: av1: AO #0 at Cursor 1

Full data range = -30 to 10

Inclusive range: From: -30 To: 10

**Grouping**

Column: A: av1: AO #0 at Cursor 1

☒ By Category

Categories: Not a category column

Select All

☐ By Intervals

Data range = -30 to 10

Specify... Width = not defined  
Start = not defined

**Destination**

Sheet: Sheet14: Sheet 14

☐ Append rows to sheet

☐ Append columns to sheet

☒ Replace results in sheet

Apply OK Cancel Help

### 6.3. その他の解析

他の解析はすべて Analyze メニューにあります。

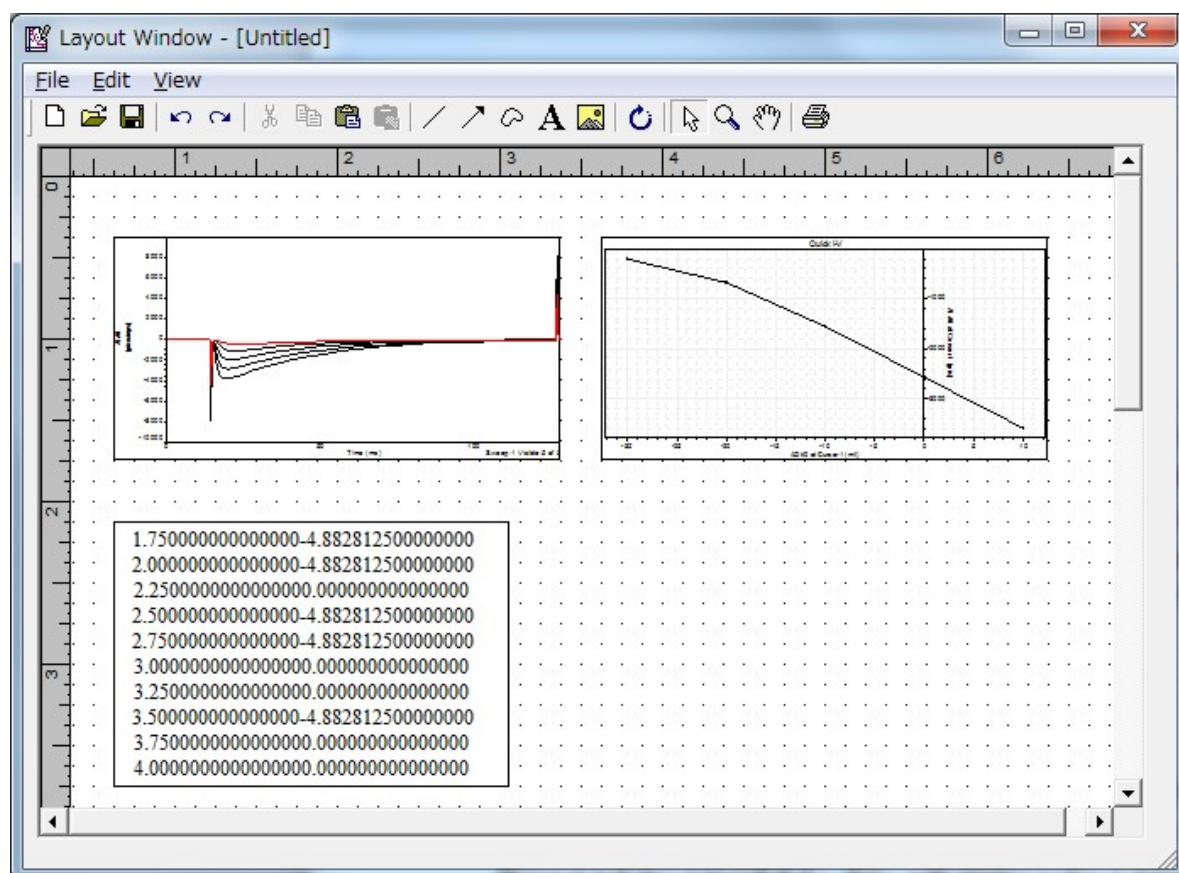
解析項目	解析内容
Burst Analysis	シングルチャンネルとピークタイムイベントのファイルを検索し、その統計解析をレポートする。
Latency	episodic ファイルの刺激と反応の時間差を計測する。(シングルチャンネルとピークタイムイベント用)
Peri-event Analysis	選択したイベントと規定された時間範囲内で発生するイベントの間隔を測定する。(シングルチャンネルとピークタイムイベント用)
P(open)	シングルチャンネルの開確率を測定する。
Kolmogorov-Smirnov Test	コルモゴロフ・スミルノフ検定は、2 つのデータ分布が同一の集団に属する確率を評価します。
Nonstationary Fluctuation	アクティブな波形において、選択された範囲で全 Sweep の個々のサンプルポイントの平均と分散を計算し、選択された範囲でベースラインの平均と分散を計算して、減算する。
V-M Analysis	伝達物質放出を評価するために、異なる実験条件のデータに対して、平均と分散をプロットする。
Autocorrelation Cross-correlation	Results, Analysis, および Graph ウィンドウデータで利用可能であり、これらは、時間シフトされたデータを自身と比較、または違うファイルデータと比較することで、選択されたデータセット内で周期を検索する時系列分析です。

## 7. Layout ウィンドウの作図 (Feature - Creating Figures in the Layout Window)

データ整理とプレゼンテーションは、データの簡単なフィッティングから、それらのフィッティングに基づく複合関数まで、多くのステップに関係します。Clampfit は、生データおよび最終的な分析の両方において同じ図を得るために、様々な既存のフィッティング機能によって設定される。例えば、濃度応答データは Hill 方程式が適切であるかもしれないし、または、イオン置換実験の逆転電位データは、拡張された Goldman-Hodgkin-Katz 方程式が適当であるかもしれません。Layout ウィンドウは、最終的な分析の生データとプロットのプレゼンテーションをフォーマットするときに使用できます。

### 7.1. 要素を Layout ウィンドウにコピーする

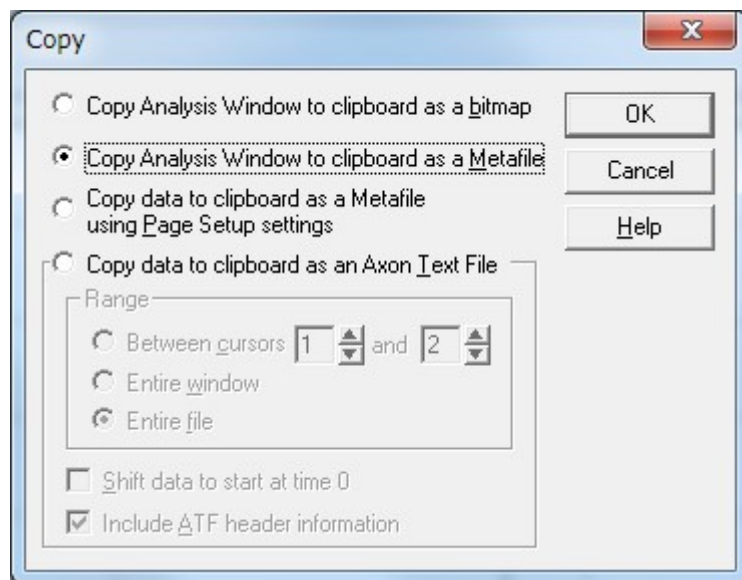
Layout ウィンドウは、プレゼンテーションのために多くの要素をペーストすることができます。グラフデータ、生データ、表形式データ、すべてのコピーをこのウィンドウに直接ペーストすることができます。また、Lab book にレポートされた統計結果の場合は、まず初めに Results ウィンドウにコピー&ペーストし、それらを Layout ウィンドウにコピーします。また、Layout ウィンドウを保存し、再度 Clampfit で開くこともできます。



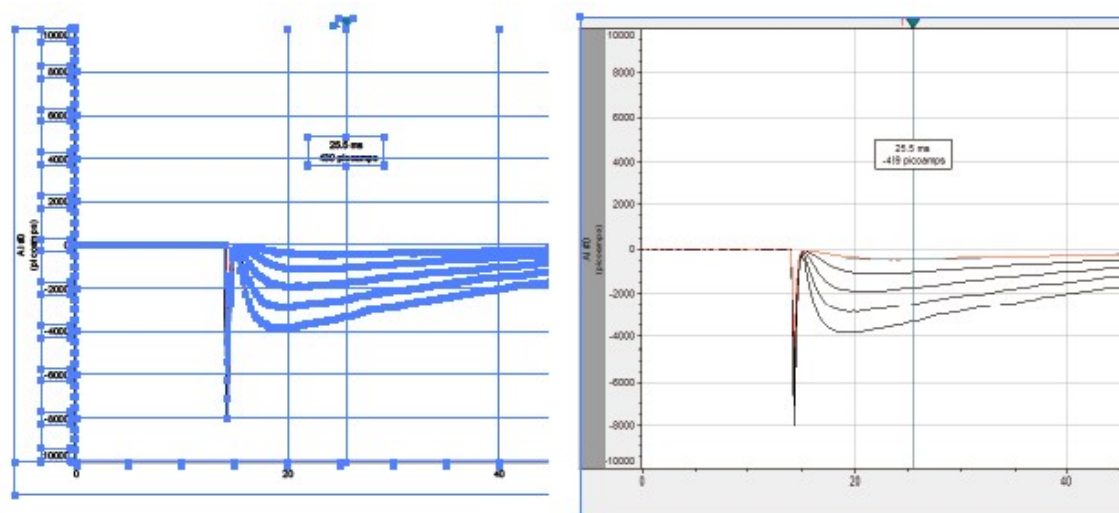


## 7.2. 図を別のアプリケーションにコピーする

図を別のプログラムにコピーするには、Windows 標準のコピー&ペーストを使用します。また、特別なペーストオプションとして、メタファイル形式でコピーすることができます。メタファイル形式を使用しない場合は、まず初めに、Word などのマイクロソフトアプリケーションにコピー&ペースト し、それらを別のアプリケーションにコピーします。



下図はイラストレータにメタファイル形式（左）、ビットマップ形式（右）でコピーした画像です。メタファイル形式は部位ごとにパスが割り当てられています。一方、ビットマップ形式は画像全体が1つのパスになっていて、細かく編集することはできません。拡大すると画像も荒くなります。

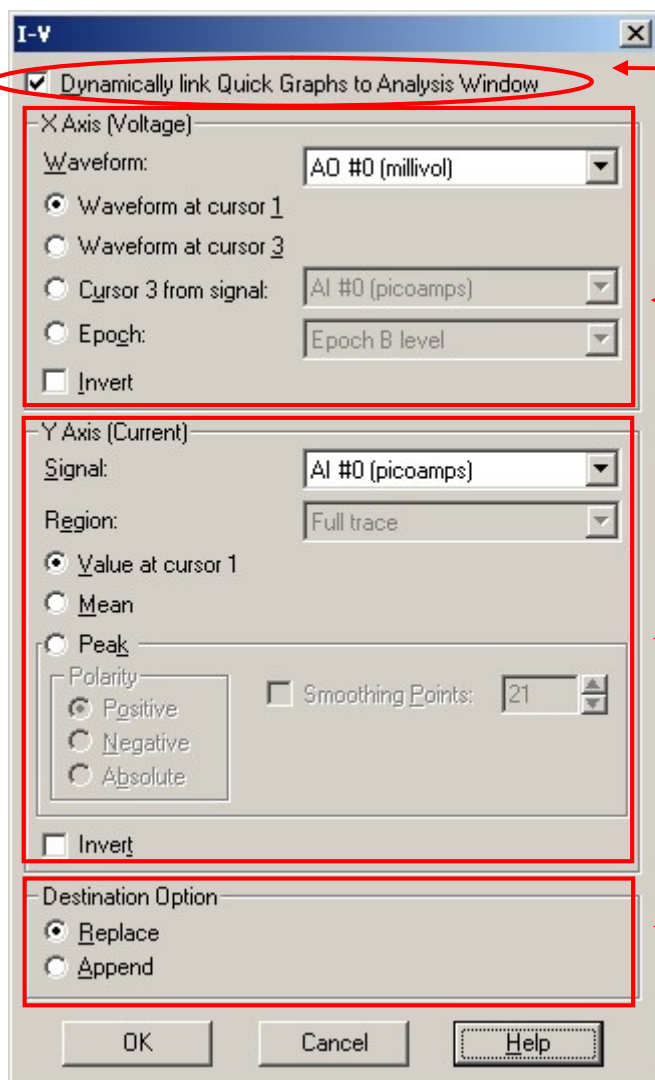


## II. チュートリアル

### 8. グラフを作成する (Tutorial - Quick Graph)

#### 8.1. I-V カーブ

I-V カーブはある時間の電圧をX軸、ある時間（ある時間内での平均値、ピーク値）の電流をY軸としたグラフです。Results ウィンドウの Quick タブに解析結果がレポートされます。



☒ Dynamically link Quick Graphs to Analysis Window

X Axis (Voltage)

Waveform: A0 #0 (millivol)

☒ Waveform at cursor 1

☐ Waveform at cursor 3

☐ Cursor 3 from signal: A1 #0 (picoamps)

☐ Epoch: Epoch B level

☐ Invert

Y Axis (Current)

Signal: A1 #0 (picoamps)

Region: Full trace

☒ Value at cursor 1

☐ Mean

☐ Peak

Polarity: ☒ Positive ☐ Negative ☐ Absolute

☐ Smoothing Points: 21

☐ Invert

Destination Option

☒ Replace

☐ Append

OK Cancel Help

カーソル設定をリアルリアルタイムでグラフにリンクする機能です。

X 軸を設定するセクションです。X 軸には電圧を設定します。

Y 軸を設定するセクションです。Y 軸には電流を設定します。

グラフの描画方法を設定するセクションです。

#### Dynamic link Quick Graph to Analysis Window

カーソル設定をリアルリアルタイムでグラフにリンクさせる機能です。カーソルを移動するとグラフも変化します。また、Results ウィンドウの Quick タブの数値も変化します。



## X Axis (Voltage)

設定項目	解説
Waveform	X 軸に使用するアナログ出力チャンネルのシグナルを設定します。
Waveform at cursor 1	カーソル 1 の値を X 軸に設定します。 シグナルは Waveform で設定したチャンネルです。
Waveform at cursor 3	カーソル 3 の値を X 軸に設定します。 シグナルは Waveform で設定したチャンネルです。
Cursor 3 from signal	カーソル 3 の値を X 軸に設定します。 シグナルはアナログ入力チャンネルのシグナルを設定できます。
Epoch	Epoch の値を X 軸に設定します。
Invert	数値を反転します。

## Y Axis (Current)

設定項目	解説
Signal	Y 軸に使用するアナログ入力チャンネルのシグナルを設定します。
Region	Value at cursor 1 : 無効です。 Mean : 平均する範囲を設定します。 Peak : ピーク値を探す範囲を設定します。
Value at cursor 1	カーソル 1 の値を Y 軸に設定します。
Mean	平均値を Y 軸に設定します。範囲は Region に設定します。
Peak	ピーク値を Y 軸に設定します。範囲は Region に設定します。
Polarity	ピーク値を探す極性を設定します。
Smoothing Points	boxcar smoothing filter の smoothing point を設定します。最大 21 まで設定できます。
Invert	数値を反転します。

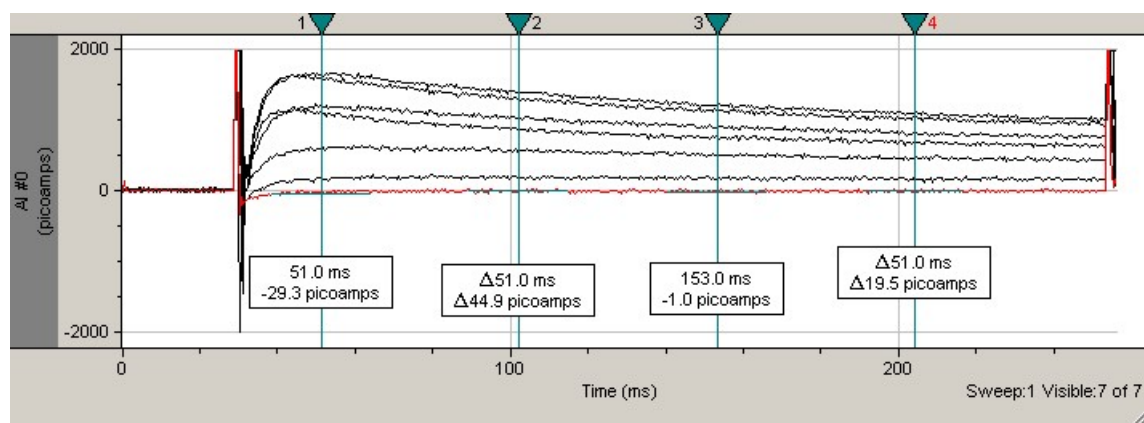
## Destination Option

設定項目	解説
Replace	グラフを上書きで描画します。
Append	グラフを追加して描画します。

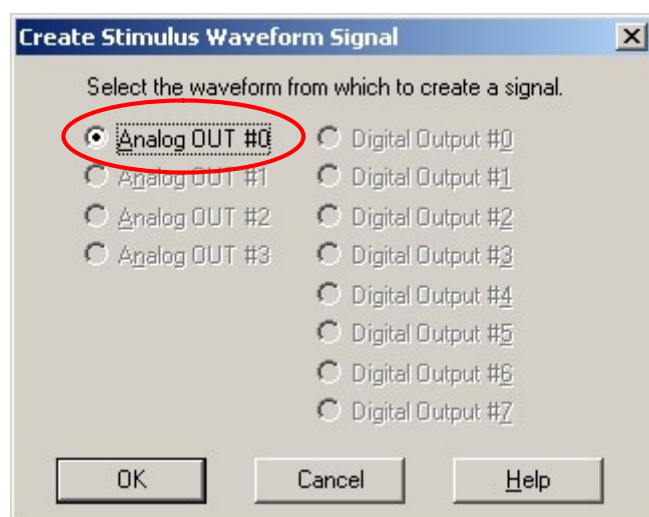
Boxcar smoothing filter について  
作成中！

## 8.2. I-V の作成例 (Whole Cell Currents)

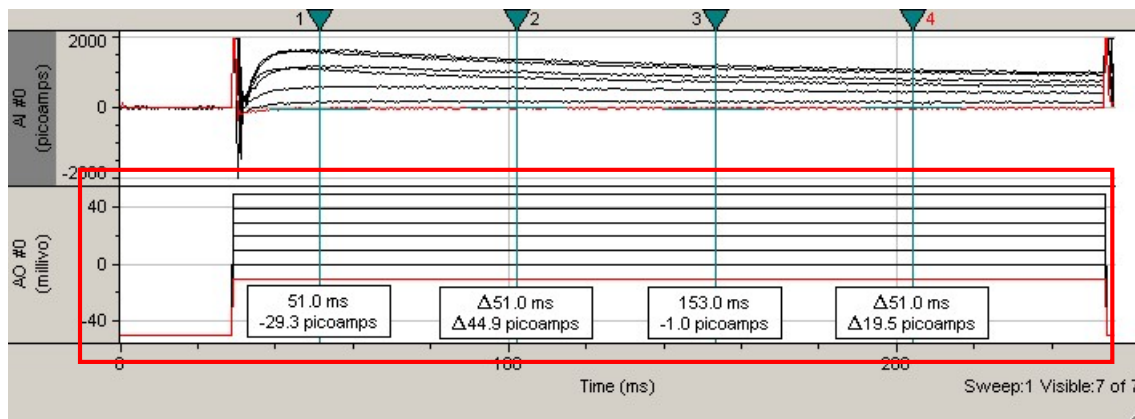
File/Open data からサンプルデータ cav1.abf を開きます。これは電圧ステップによる外向き電流の反応を記録したホールセルパッチクランプのデータです。今回は電圧ステップの範囲で外向き電流のピーク値をプロットすることになります。



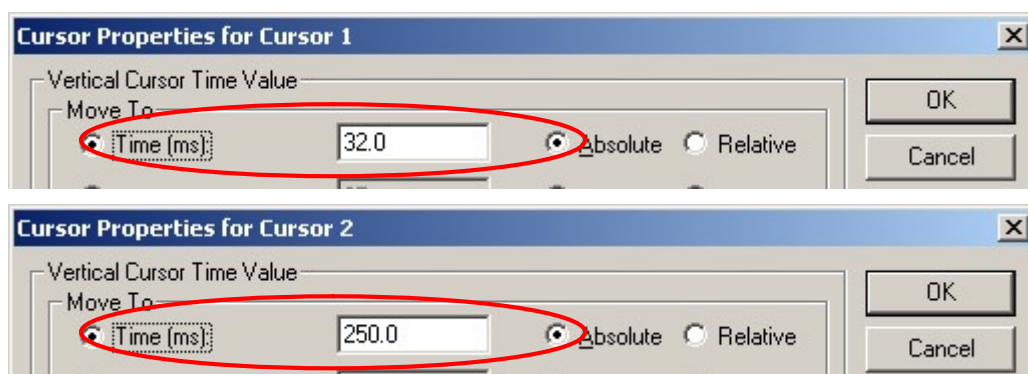
電圧ステップの波形を表示します。View > Stimulus Waveform Display を選択し、Analog OUT #0 を選択して、OK ボタンをクリックします。



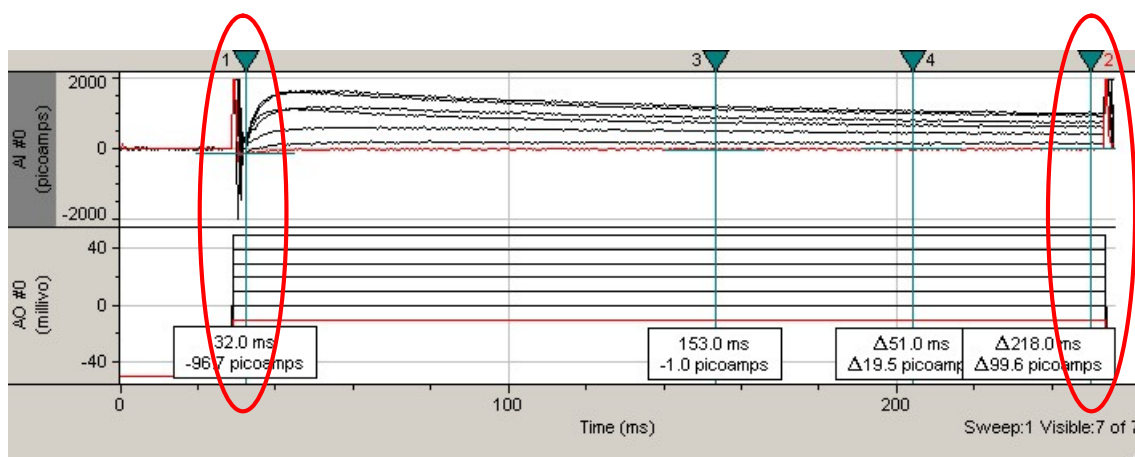
下図のように電圧ステップの波形が追加されます。



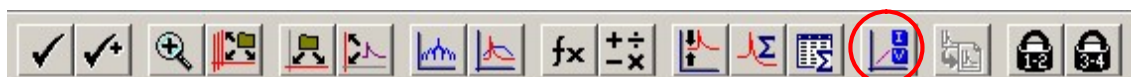
ピーク値を検索する範囲を設定します。カーソル 1 を 32ms, カーソル 2 を 250ms に設定します。カーソルをダブルクリックすると Cursor Properties ウィンドウが表示されるので、Time に直接入力することができます。



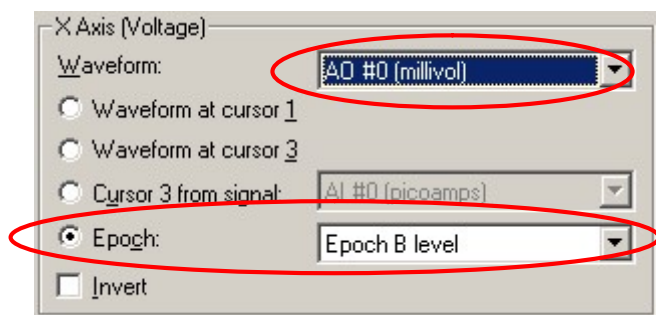
下図のようにカーソルが移動します。



Analyze > Quick Graph > I-V を選択します。また、ツールバーのツールボタンをクリックすることもできます。

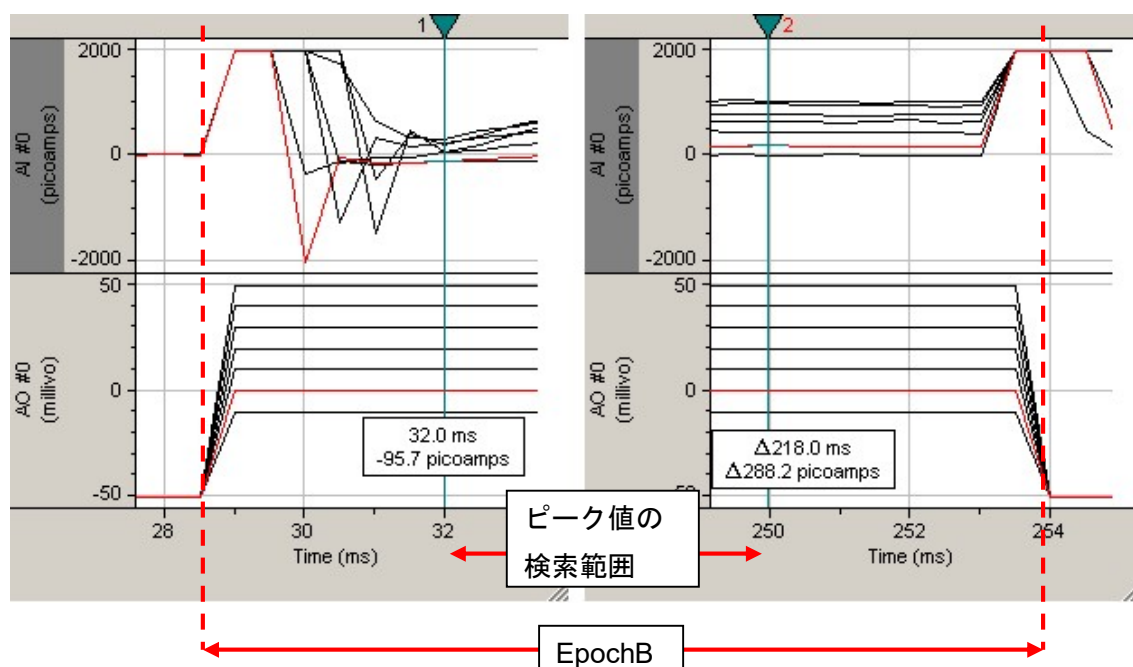


X 軸は EpochB level に設定します。この例では全てのカーソルが EpochB の範囲に設定されているため、Waveform at cursor 1, Waveform at cursor 3 に設定しても結果は変わりません。



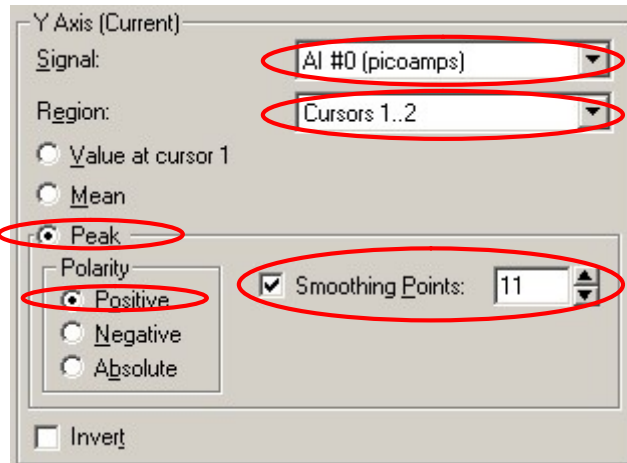
Y 軸の Signal は AI#0 を選択します。

ピーク値を検索する範囲を設定します。Region を Cursors 1..2 に設定します。EpochB に設定すると、電圧ステップ立ち上がりにおける容量性トランジェントが邪魔になるので、カーソルで設定しました。

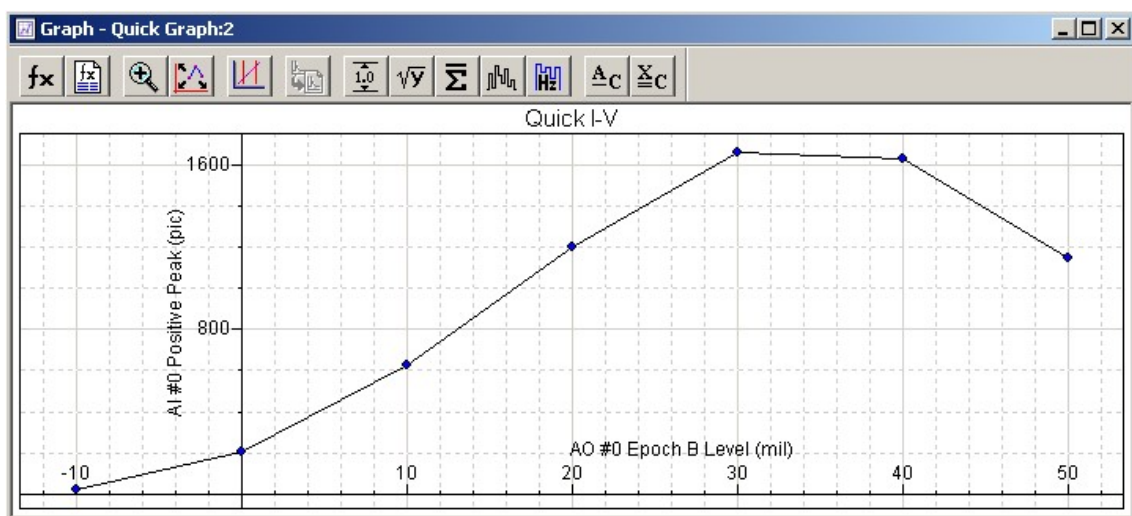


ピーク値をプロットするので Peak を選択し、外向き電流なので Polarity は Positive を選択します。

比較的遅い電流なので、Smoothing Points を 11 に設定すれば、極端なフィルタリングの危険性はほとんどなく、十分スムーズなシグナルを提供できます。



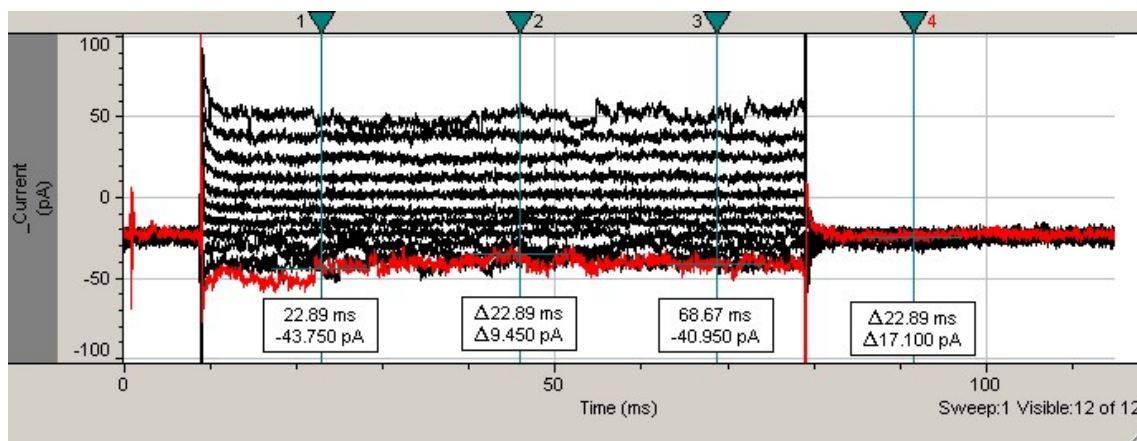
OK をクリックします。新しく I-V プロットの Graph ウィンドウが作成されます。



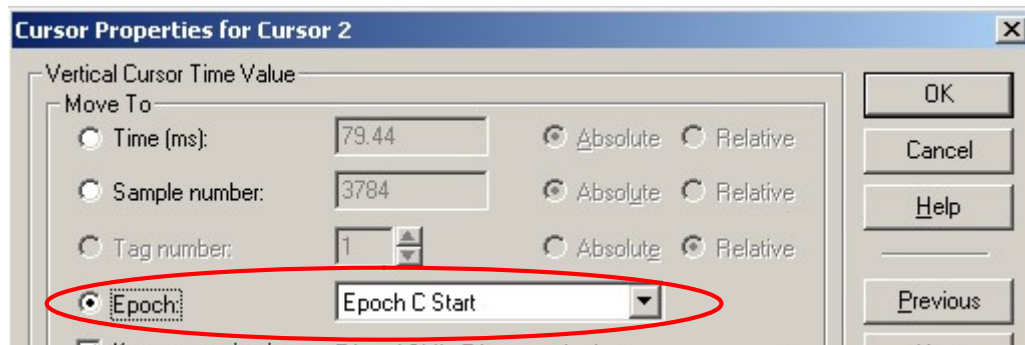
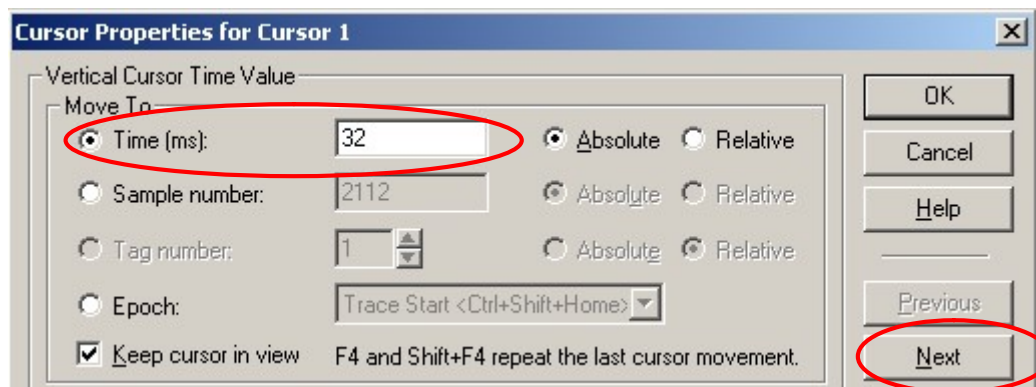


### 8.3. I-V の作成例 (Cell-Attached Recoding)

File/Open data からサンプルデータ oncelliv.abf を開きます。これは Cell-Attached 記録のデータで、電流は反転されていて、電圧ステップも反転させていません。よって、I-V を描くときはX軸を反転させる必要があります。また、今回は電圧ステップの範囲で、電流の平均値をプロットします。



平均値の計算範囲を設定します。カーソル1を12.5ms、カーソル2をEpochCのスタート時間に設定します。Cursor Properties ウィンドウのNext ボタンをクリックすると次のカーソル設定に移動できます。





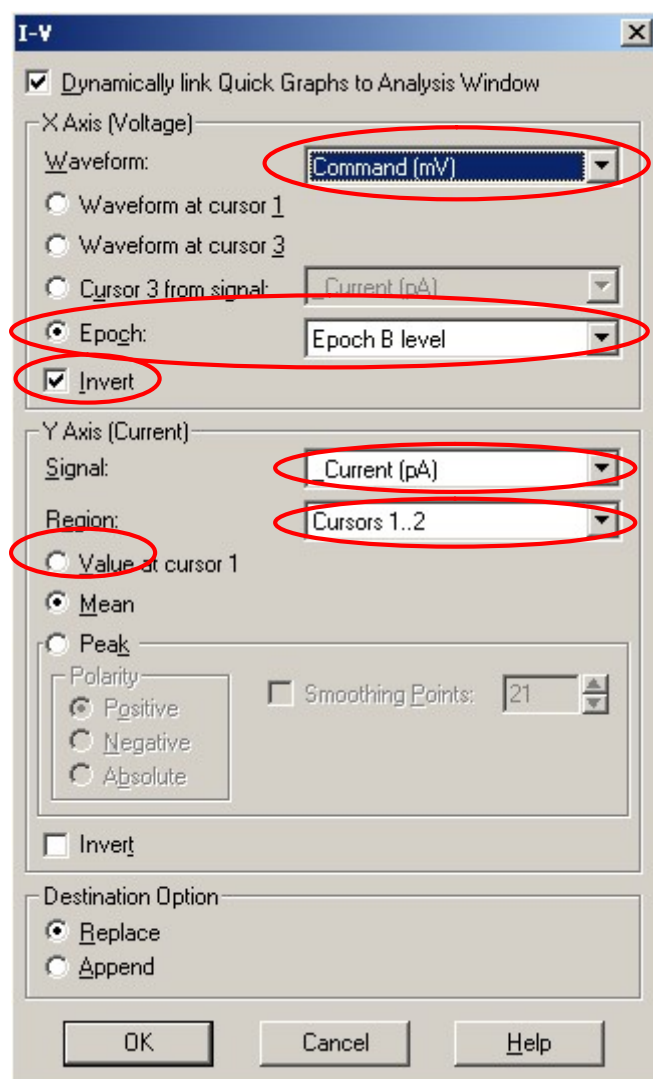
Analyze > Quick Graph > I-V を選択します。

X 軸は Command の EpochB Level に設定します。

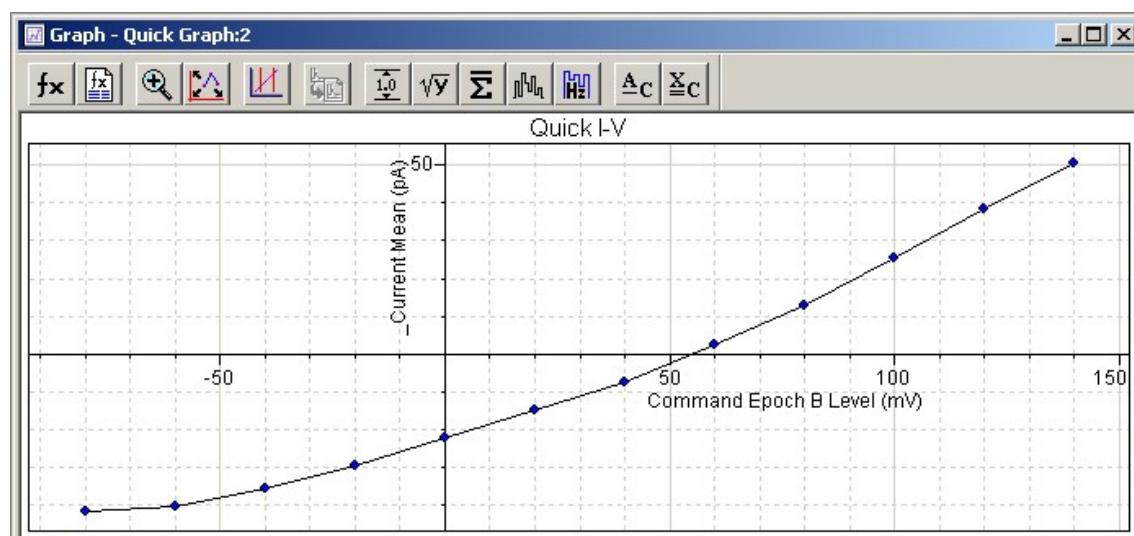
X 軸の Inverter をチェックします。

Y 軸は \_Current の Mean を選択し、Region は Cursor1..2 に設定します。

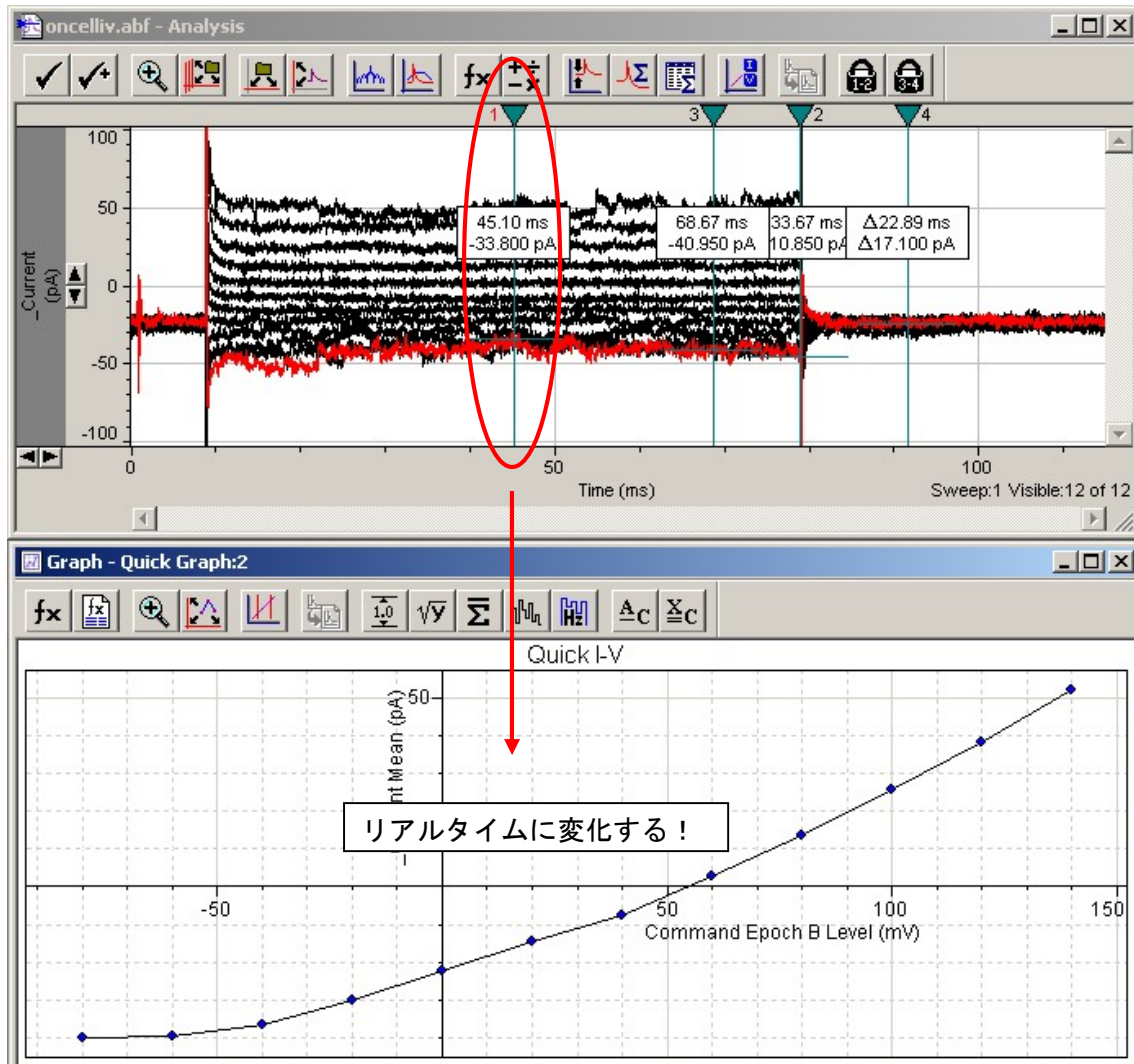
Dynamic link Quick Graph to Analysis Window をチェックします。



OK をクリックして、I-V プロットの Graph ウィンドウを作成します。

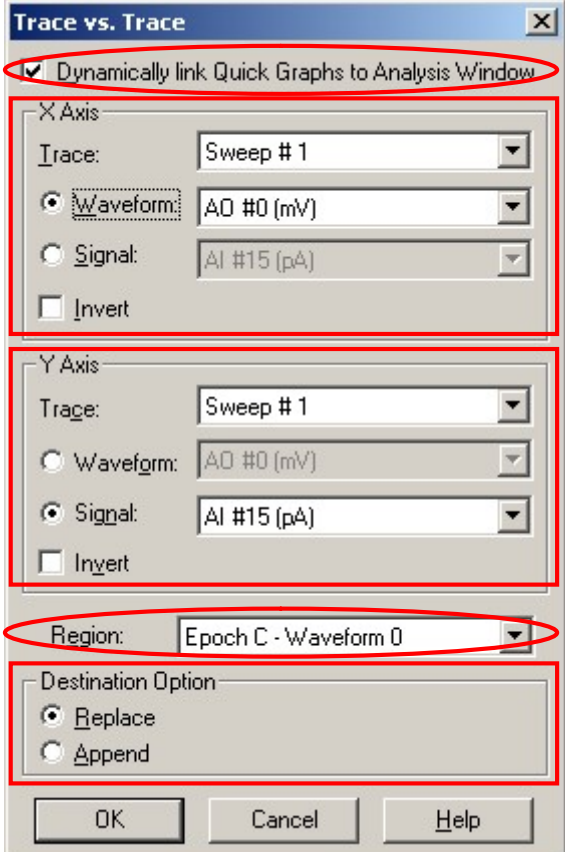


Graph ウィンドウと Analysis ウィンドウを並べて表示して下さい。カーソル 1 を移動するとリアルタイムに Graph ウィンドウが変化と思います。これは Dynamic link Quick Graph to Analysis Window をチェックしたからです。



#### 8.4. Trace vs. Trace

Trace vs. Trace はある時間内で波形と波形を X 軸、Y 軸に使用するグラフです。Results ウィンドウの Quick タブに解析結果がレポートされます。



The screenshot shows the 'Trace vs. Trace' dialog box with the following settings and annotations:

- Top Section:** A checkbox labeled 'Dynamically link Quick Graphs to Analysis Window' is checked. An annotation points to it: 'カーソル設定をリアルリアルタイムでグラフにリンクする機能です。' (Function to link cursor settings to the graph in real-time).
- X Axis Section:** Contains settings for the X-axis. An annotation points to it: 'X 軸を設定するセクションです。' (Section to set the X-axis).
  - Trace: Sweep # 1
  - Waveform: AO #0 (mV)
  - Signal: AI #15 (pA)
  - Invert: unchecked
- Y Axis Section:** Contains settings for the Y-axis. An annotation points to it: 'Y 軸を設定するセクションです。' (Section to set the Y-axis).
  - Trace: Sweep # 1
  - Waveform: AO #0 (mV)
  - Signal: AI #15 (pA)
  - Invert: unchecked
- Region Section:** A dropdown menu is set to 'Epoch C - Waveform 0'. An annotation points to it: 'グラフを描画する範囲を設定するセクションです。' (Section to set the range for drawing the graph).
- Destination Option Section:** Contains radio buttons for 'Replace' (selected) and 'Append'. An annotation points to it: 'グラフの描画方法を設定するセクションです。' (Section to set the graph drawing method).
- Buttons:** OK, Cancel, and Help buttons are at the bottom.

### Dynamic link Quick Graph to Analysis Window

カーソル設定をリアルタイムでグラフにリンクさせる機能です。カーソルを移動するとグラフも変化します。また、Results ウィンドウの Quick タブの数値も変化します。

#### X Axis (Voltage)

設定項目	解説
Trace	X 軸に使用する Sweep 番号を設定します。
Waveform	X 軸に使用する Waveform 設定します。
Signal	X 軸に使用する Signal 設定します。
Invert	数値を反転します。

#### Y Axis (Current)

設定項目	解説
Trace	Y 軸に使用する Sweep 番号を設定します。
Waveform	Y 軸に使用する Waveform 設定します。
Signal	Y 軸に使用する Signal 設定します。
Invert	数値を反転します。

#### Region

設定リスト	解説
Full trace	全ての範囲
Cursor	カーソルで指定した範囲
Epoch	Waveform で指定した Epoch の範囲
Holding Level	Fist Holding Level, Last Holding Level の範囲

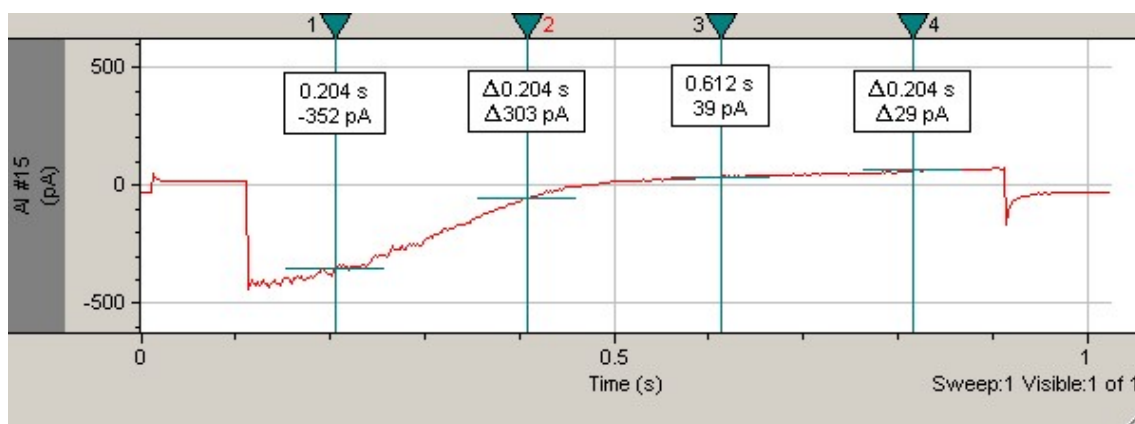
#### Destination Option

設定項目	解説
Replace	グラフを上書きで描画します。
Append	グラフを追加して描画します。

## 8.5. Trace vs. Trace の作成例 (Whole-Cell Currents)

ランプ電圧のアプリケーションは、リガンド依存性電流の測定・解析に使用されることがあります。

File/Open data からサンプルデータ inrctc02.abf を開きます。これはランプ電圧による内向き整流電流の反応を記録したデータです。今回はランプ電圧を印加している範囲で電流-電圧のグラフを作成します。

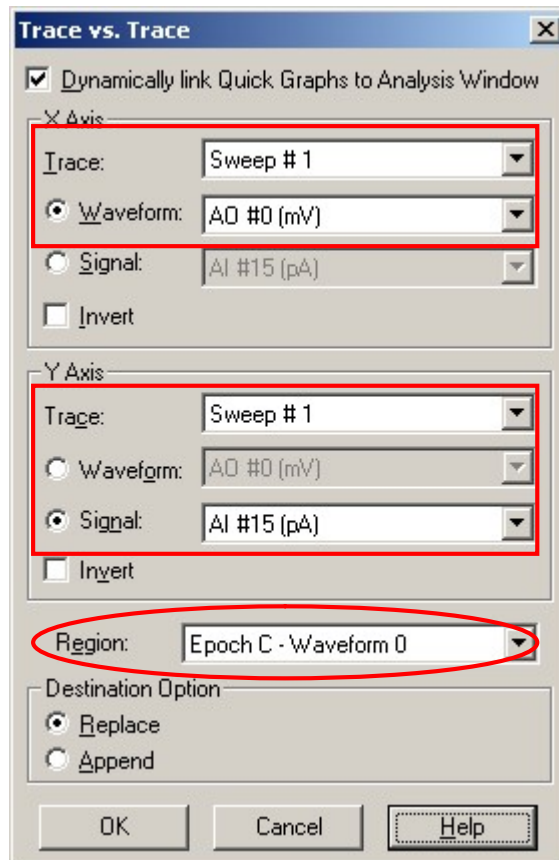


Analyze > Quick Graph > Trace vs. Trace を選択します。

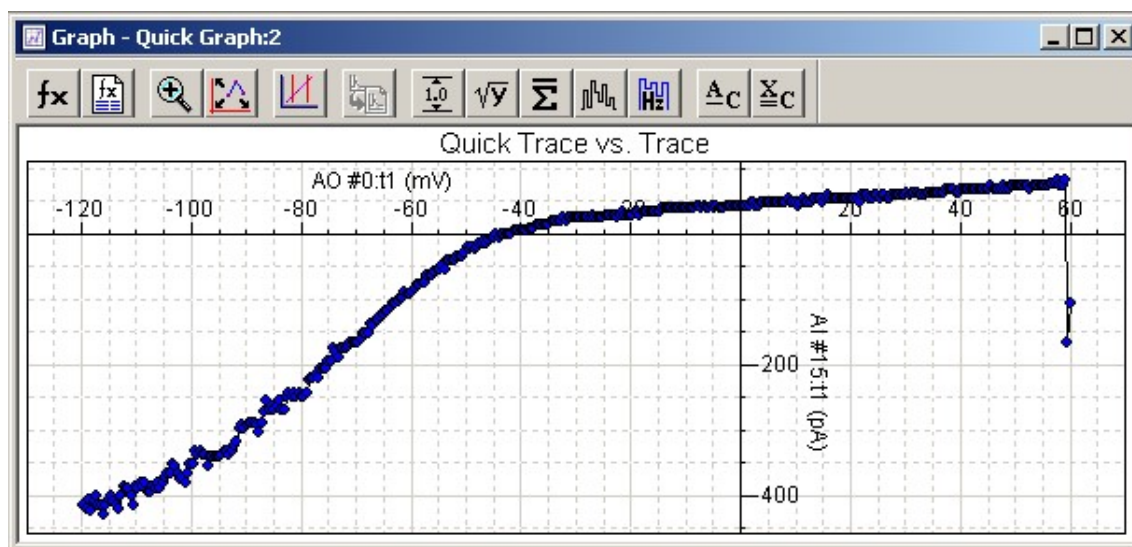
X 軸を図のように設定します。

Y 軸を図のように設定します。

Region にグラフを描画する範囲を設定します。EpochC-Waveform0 に設定します。カーソルで設定しても良いですが、epochの方が確実に設定できます。



OK をクリックして、Trace vs. trace のグラフを作成します。

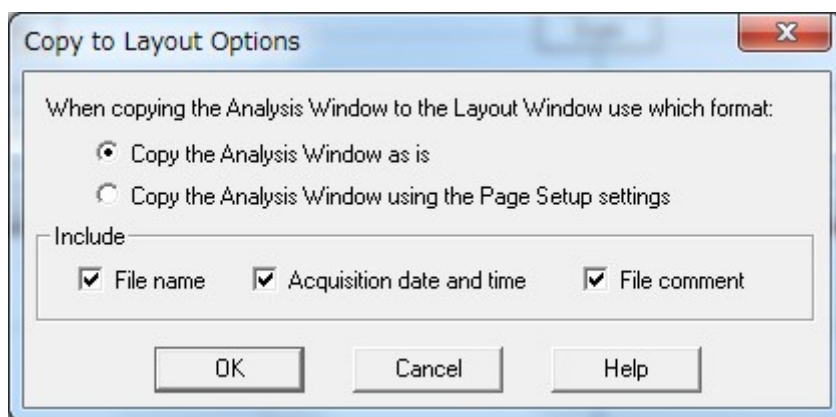




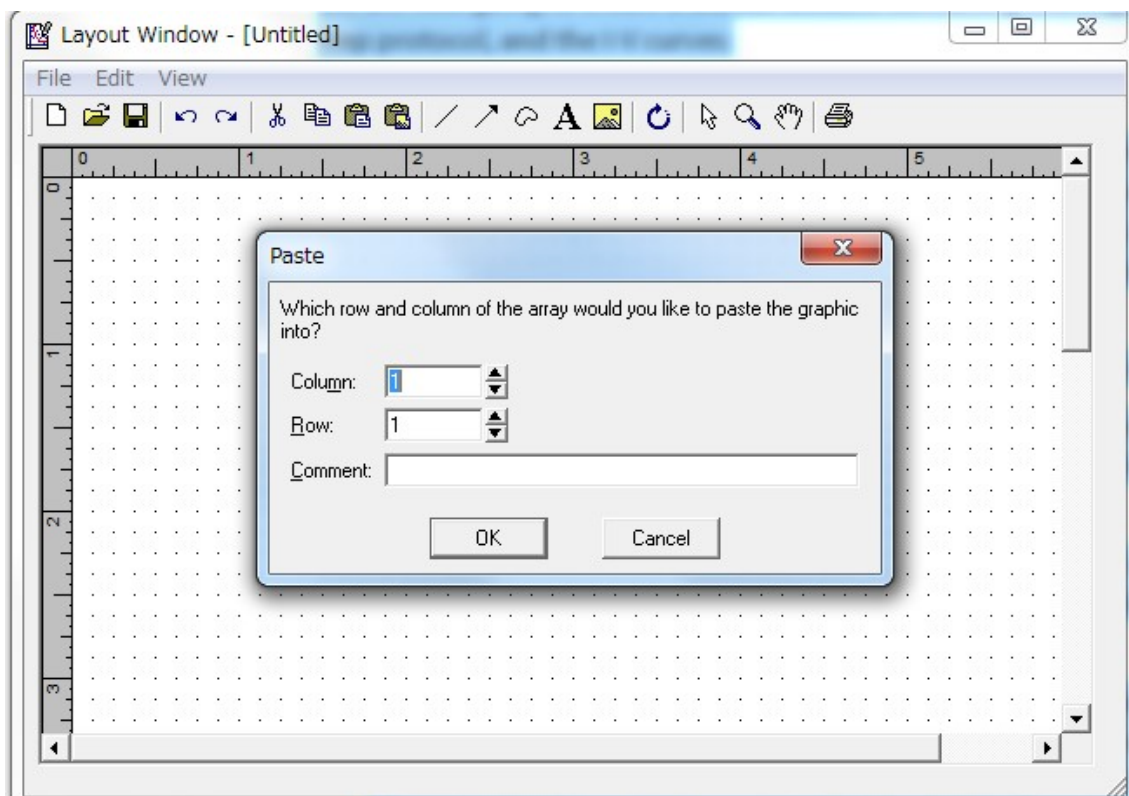
## 8.6. Preparing Data for Presentation

次に、オリジナルデータファイル、ステッププロトコル、I-V カーブを含んだ Layout ウィンドウを作成します。

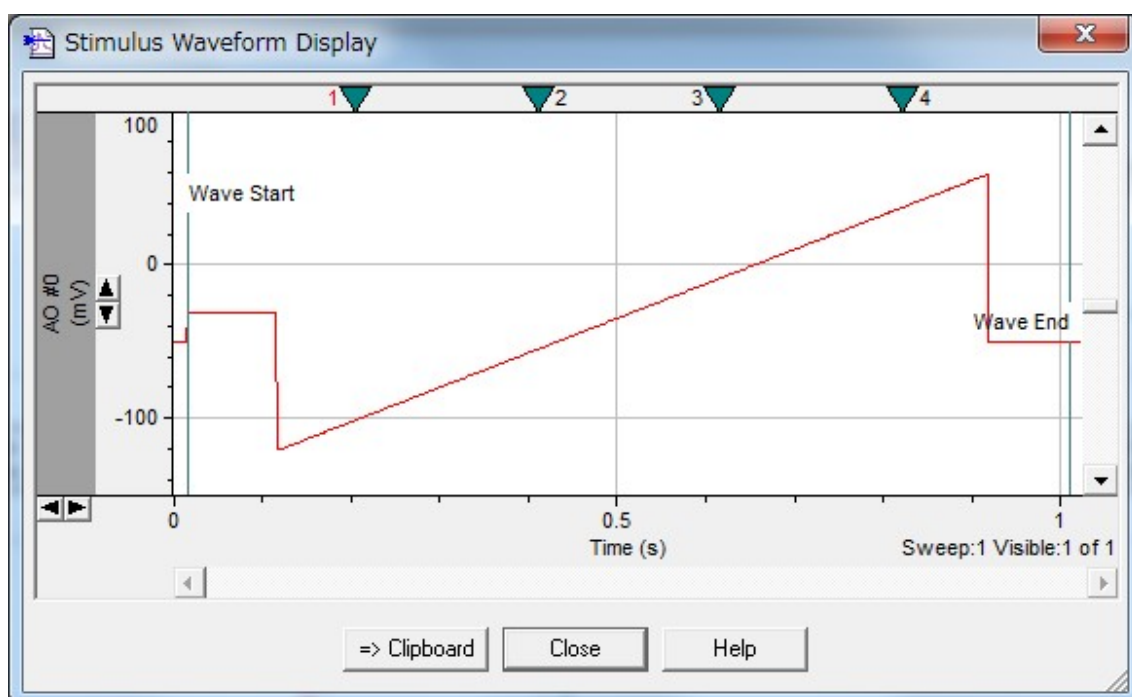
1. Inrctc02.abf の Analysis ウィンドウを選択します。
2. Edit > Copy to Layout Option を選択します。Analysis ウィンドウから Layout ウィンドウにコピーする形式を、Analysis ウィンドウか Page Setup Settings のどちらかを選択できます。また、Layout ウィンドウのコメントラインに自動入力される3つのパラメータ：ファイル名、記録日時、ファイルコメントを設定できます。



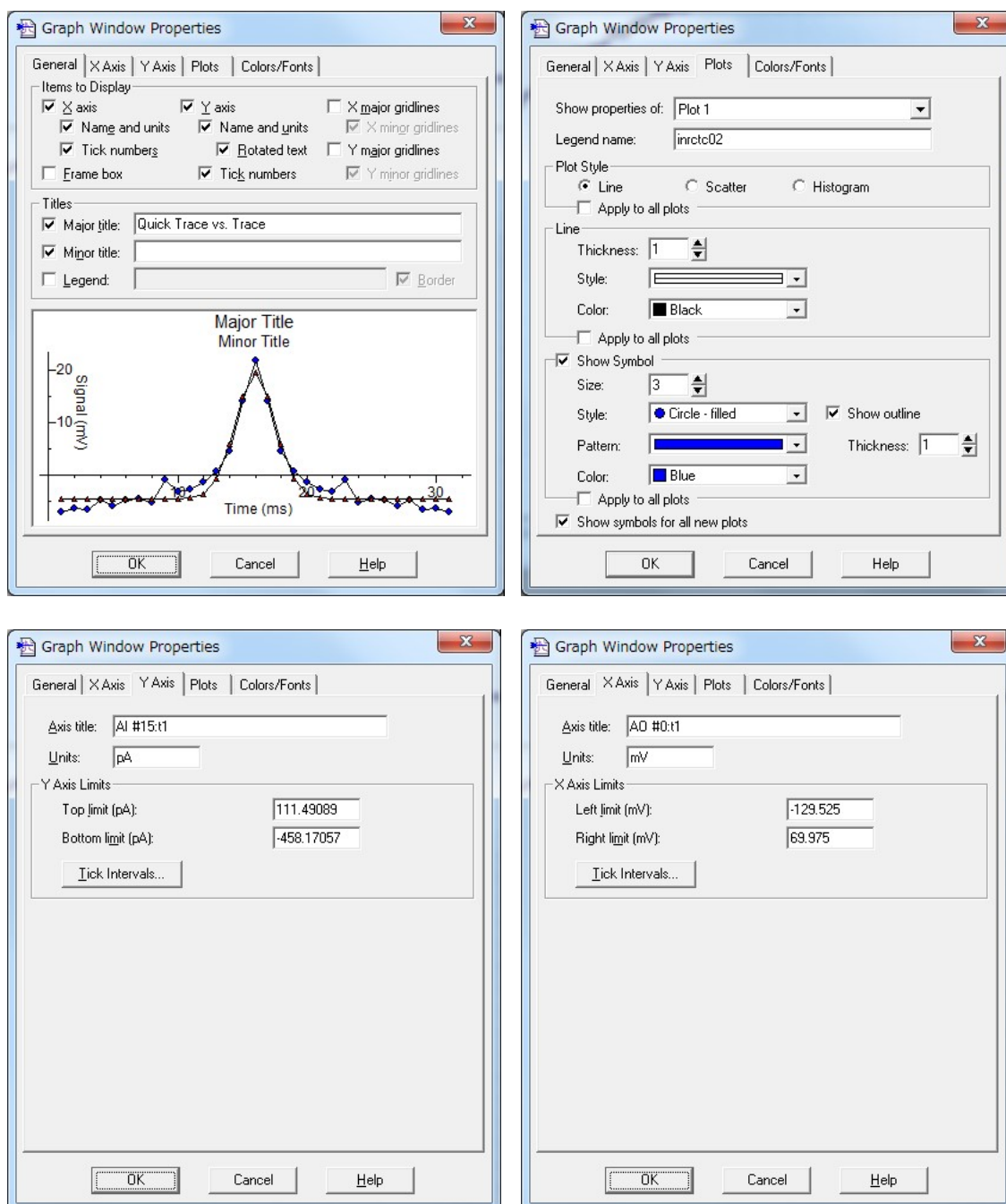
3. Page Setup settings を選択して、3つのパラメータのチェックボックスをはずします。
4. Edit > Copy to Layout Window を選択します。Layout Window と Paste プロンプトが開きます。Paste プロンプトにはグラフの配置とコメントを設定します。



5. View > Stimulus Waveform Display を選択して、波形スケールを設定し、Clipboard ボタンをクリックします。View > Layout Window を選択して、右クリックで Past します。



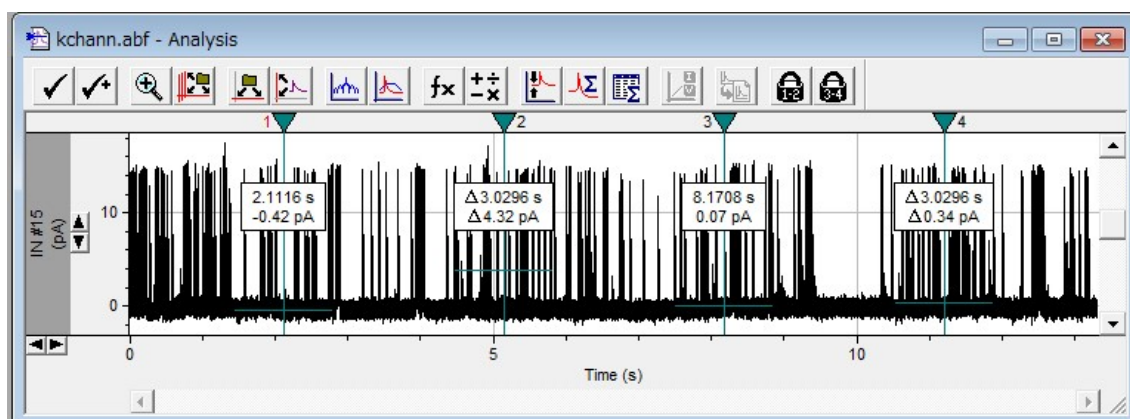
6. 作成した Graph ウィンドウに戻って下さい。Trace vs, Trace グラフをカスタマイズすることができます。グラフをダブルクリックするか、右クリックしたメニューの View > Window Properties で Properties ウィンドウを開くことができます。Fonts, axis title, grid line, frame box, legend title など、必要に合わせてカスタマイズして、Layout Window にコピーして下さい。



## 9. ノイジーなシングチャンネルデータの前処理 (Tutorial - PRECONDITIONING NOISY SINGLE-CHANNEL RECORDING))

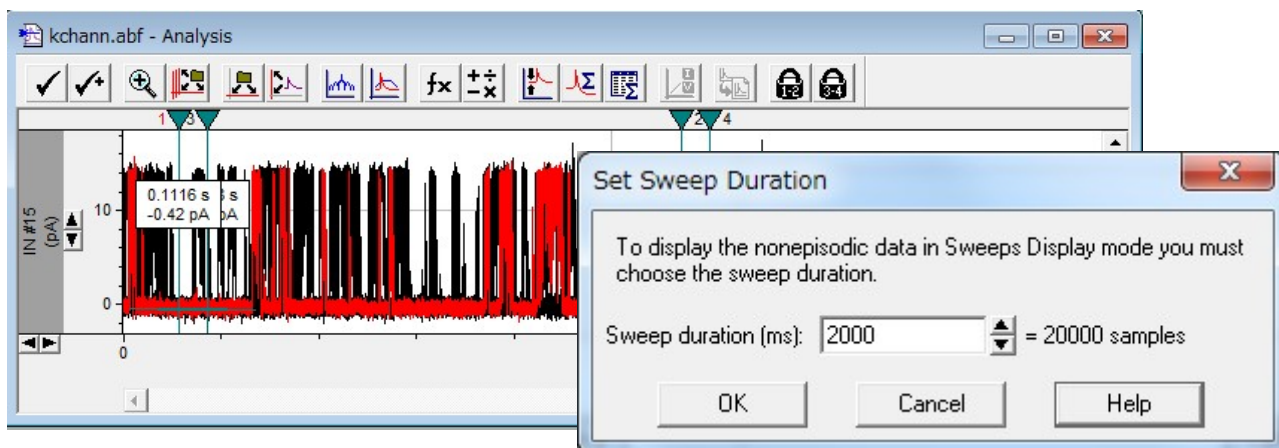
電気生理学において、ノイズの取り扱いに最も良い方法は、ノイズの記録を避けることです。しかし、ノイズが乗ってしまい、前処理しなければ分析できない重要なデータもあります。このチュートリアルでは Clampfit ソフトウェアの機能をもっとよく知ってもらうために、データファイルに人工的なノイズを加えます。そして、データファイルの状態をできる限り多く維持しながら、ノイズを取り除きます。

サンプルファイル kchann.abf はアクティブなシングチャンネル記録のデータです。出版物ではよく「典型的なデータ」としてプレゼンテーションされる種類の記録データです。また、ほとんどの記録において、これほどクリーンな記録はできません。従って、このデータにノイズを加えた、少しリアルなデータに処理します。

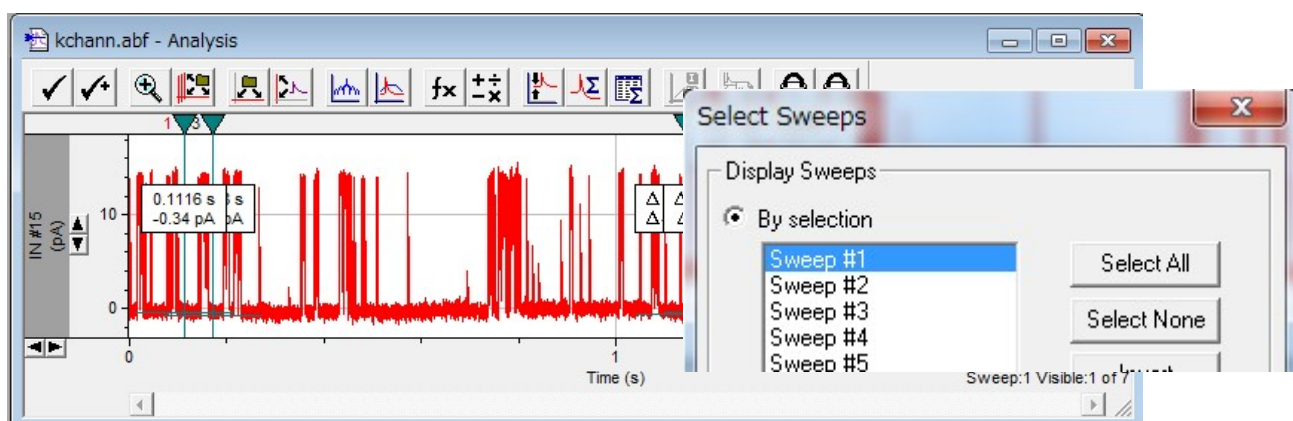


## 9.1. 波形から数値データを出力する

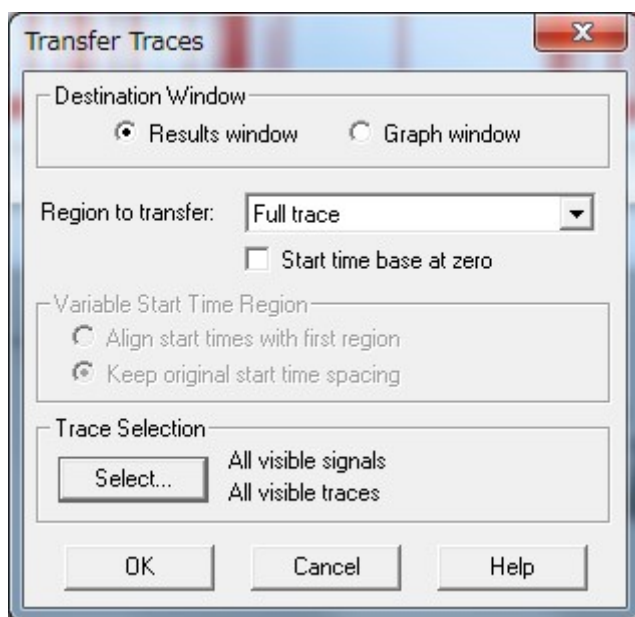
1. Continuous 表示から Sweep 表示に変更します。View > Data Display > Sweeps を選択し、Sweep duration を"2000"に設定して、OK をクリックします。



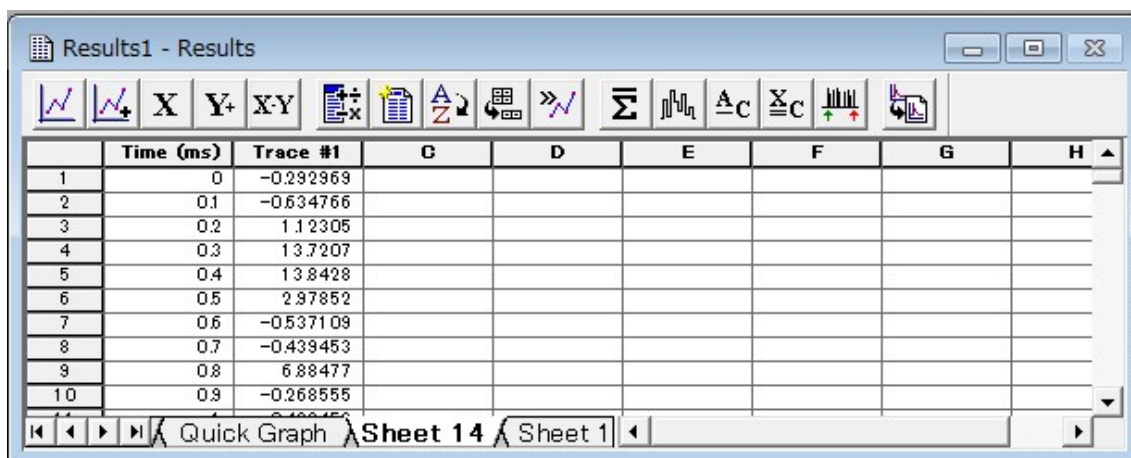
2. Sweep#1 のみ表示します。View > Select Sweeps、もしくは右クリック > Select Sweeps を選択して、Sweep #1 を選択します。



3. Edit > Transfer Traces でバイナリデータを ASCII データに変換して、Results ウィンドウに出力します。オプションで出力先のウィンドウを選択できます。Results ウィンドウを選択します。
4. 変換可能なサンプル数は 1,000,000 ポイントです。この Sweep は 20,000 ポイントなので、Region to transfer を Full trace に設定します。
5. 表示している Sweep #1 のみ変換したいので、Trace Selection は All visible traces を選択します。



- OK をクリックして、Results ウィンドウの Sheet14 を確認して下さい。データが出力されます。



The 'Results1 - Results' window displays a table with the following data:

	Time (ms)	Trace #1	C	D	E	F	G	H
1	0	-0.292969						
2	0.1	-0.634766						
3	0.2	1.12305						
4	0.3	13.7207						
5	0.4	13.8428						
6	0.5	2.97852						
7	0.6	-0.537109						
8	0.7	-0.439453						
9	0.8	6.88477						
10	0.9	-0.268555						

The window also shows a toolbar with various analysis tools and a sheet tab at the bottom with 'Quick Graph', 'Sheet 14', and 'Sheet 1'.

ノイズを人工的に作成することができます。まず、ハムノイズを作成してみます。

## 9.2. ノイズデータを作成する

- カラム C のヘッダーをクリックして、選択した状態にし、Analyze > Create Data を選択します。もしくは Results ウィンドウのツールバーの Create Data を選択します。
- Create Data ダイアログが開き、Fill Range に columns と rows の数を定義できます。デフォルト設定では Results Sheet の使用領域と同じになります。今回の例の場合は、



raw が 1-20,000 で、columns は C-C になります。デフォルトのままで OK です。

3. Function オプションはあらかじめ用意された機能があり、Expression にはカスタムで計算式を設定できます。
4. Data Limits には変数の値を設定します。内容は選択した Function によって内容が変わります。
5. Fill Range で複数の column, raw を選択した場合は、Fill Direction にセルの方向を設定する必要があります。
6. expression function を使用してサイン波形を作成します。変数を x として入力します。回線周波数 50Hz を使用して、波長 20ms を作成します。

$$y = \sin(2\pi \times \text{time} / \text{wavelength}) =$$

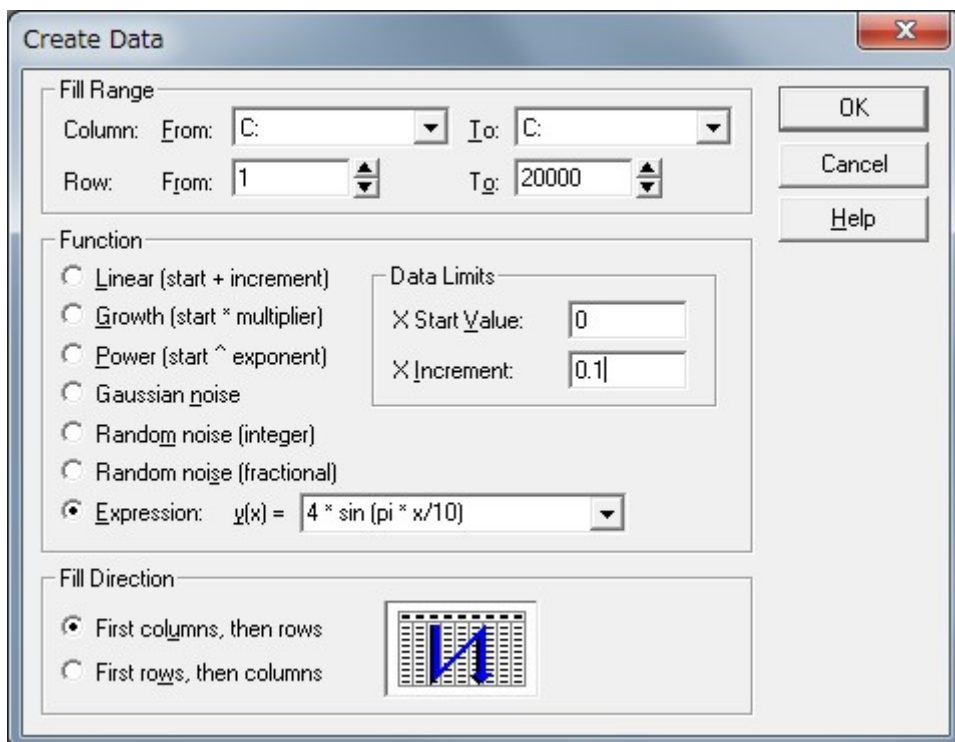
$$\sin(2\pi \times \text{time} / 20 \text{ ms}) =$$

$$\sin(\pi \times \text{time} / 10 \text{ ms}) =$$

$\pi$  は"pi"と入力します。サイン波形の振幅は約 16pA と信号の 1/4 に設定します。Expression に以下のように入力します。

$$4 * \sin(\pi * x / 10)$$

7. Result シートでは最初の Column が時間で、その間隔がサンプリング間隔です。このサンプリング間隔を変数 X とし、X Increment に"0.1"と入力します。X Start はいくでも構いません。サイン波の位相がシフトするだけです。



**Create Data**

Fill Range  
 Column: From: C: To: C:  
 Row: From: 1 To: 20000

Function  
☐ Linear (start + increment)  
☐ Growth (start \* multiplier)  
☐ Power (start ^ exponent)  
☐ Gaussian noise  
☐ Random noise (integer)  
☐ Random noise (fractional)  
☒ Expression:  $y(x) = 4 * \sin(\pi * x / 10)$

Data Limits  
 X Start Value: 0  
 X Increment: 0.1

Fill Direction  
☒ First columns, then rows  
☐ First rows, then columns

OK  
 Cancel  
 Help

8. OK をクリックします。

	Time (ms)	Trace #1	C	D	E	F	G	H
1	0	-0.292969	0					
2	0.1	-0.634766	0.125643					
3	0.2	1.12305	0.251162					
4	0.3	13.7207	0.376433					
5	0.4	13.8428	0.501333					
6	0.5	2.97852	0.625738					
7	0.6	-0.537109	0.749525					
8	0.7	-0.439453	0.872573					
9	0.8	6.88477	0.99476					
10	0.9	-0.268555	1.11596					

9. 波長の項(10)を整数除算、振幅(4)の項を整数減算によって減少させて、D-F に高調波を追加します。To keep track which signal you created in which column, column C のヘッダーをダブルクリックして名前を変更し、Next をクリックして column D-F にも便利な名前を付けてください。

Column Rename

Name of column C:

Previous

Next

OK Cancel Help

Column Rename

Name of column D:

Previous

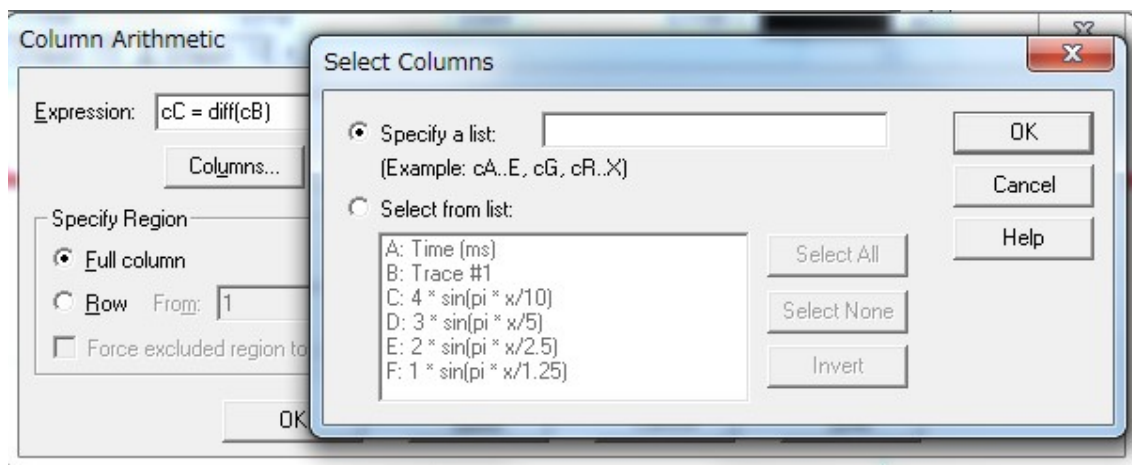
Next

OK Close Help

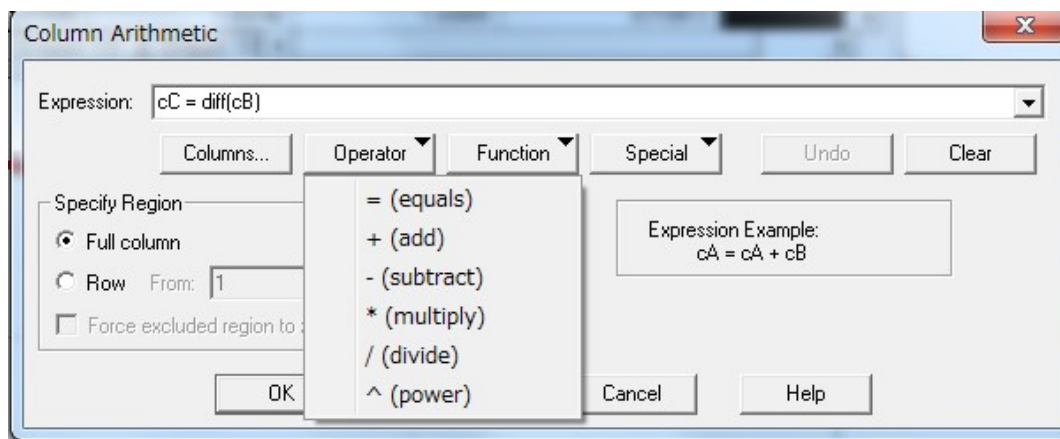
4 * sin(pi * x/10)	3 * sin(pi * x/5)	2 * sin(pi * x/2.5)	1 * sin(pi * x/1.25)
0	0	0	0
0.125643	0.188372	0.250666	0.24869
0.251162	0.376	0.49738	0.481754
0.376433	0.562144	0.736249	0.684547
0.501333	0.74607	0.963507	0.844328
0.625738	0.927051	1.17557	0.951057
0.749525	1.10437	1.36909	0.998027
0.872573	1.27734	1.54103	0.982287
0.99476	1.44526	1.68866	0.904827
1.11596	1.60748	1.80965	0.770513

### 9.3. 波形データとノイズデータを加算する

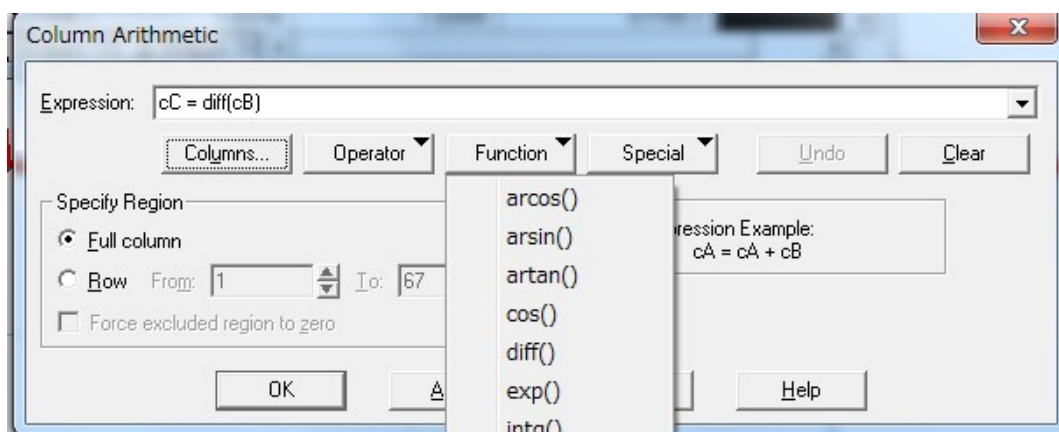
10. 現在、column B にオリジナル信号、column C-F に回線周波数ハムがあります。次に、コンポーネントを追加します。Analyze > Column Arithmetic を選択します。
11. Column Arithmetic ダイアログでは、Expression の入力を補助するいくつかのコントロールがあります。Column ボタンは column を設定することができます。specify a list では"cA"などの表記方法で指定し、select from the list はリストから選択します。



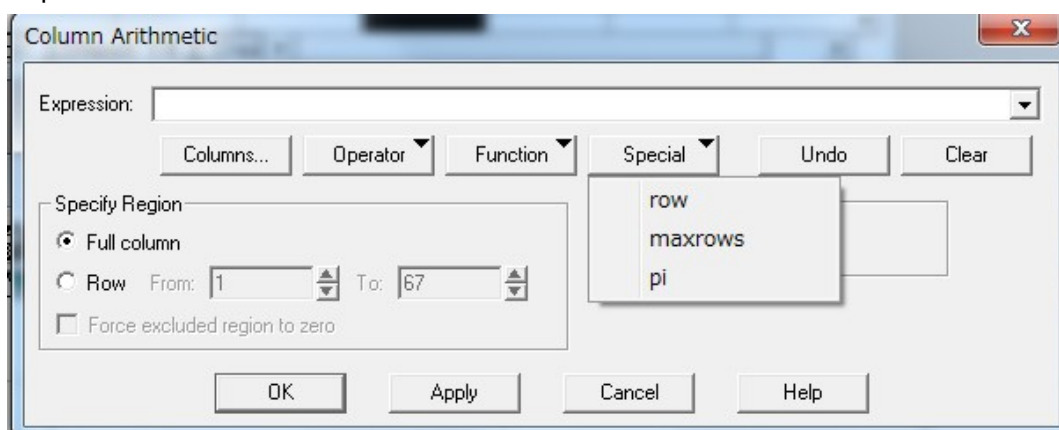
Operator ボタンは基本的な演算のドロップダウンリストが表示されます。



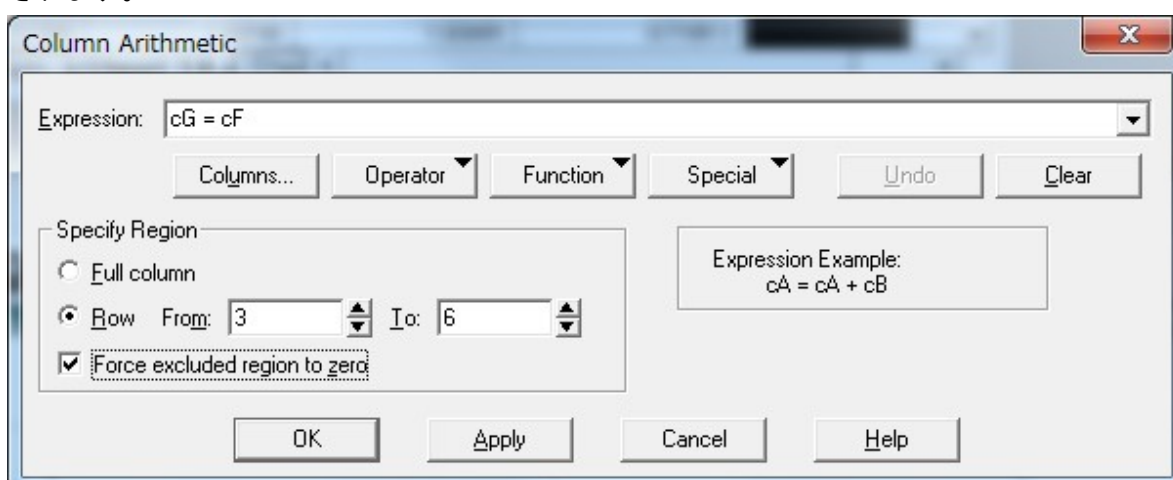
Function ボタンは clampfit がサポートしている関数が表示されます。より詳細な情報はヘルプを確認して下さい。



Special ドロップダウンリストには行の数、行の最大値、定数 $\pi$ があります。Undo は Expression を 1 つ前の操作に戻します。

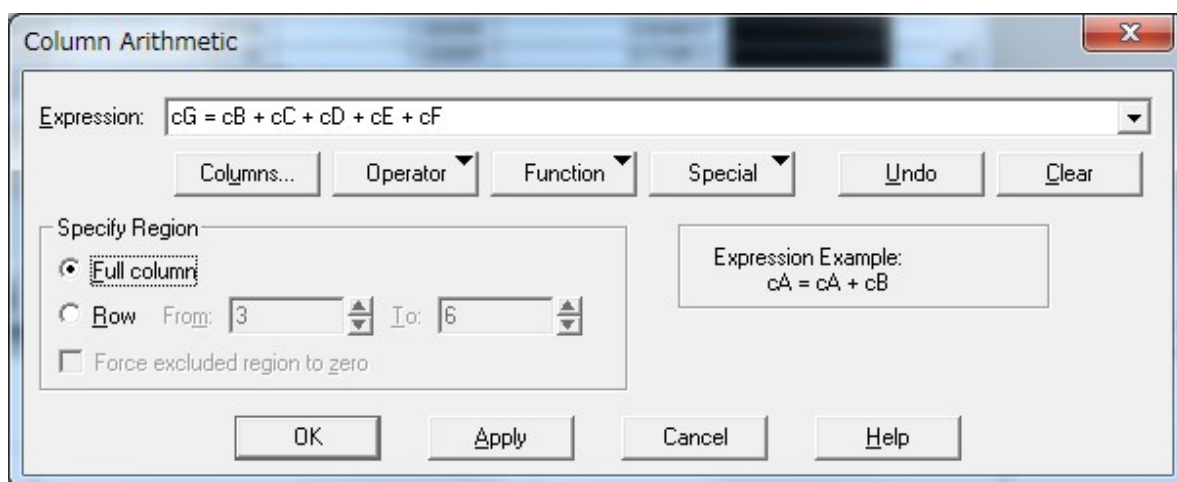


Specify Region は Expression を適用する行の範囲を限定することができます。行の範囲を限定する場合、Force excluded region to zero をチェックすると、範囲外の実行はゼロが挿入されます。

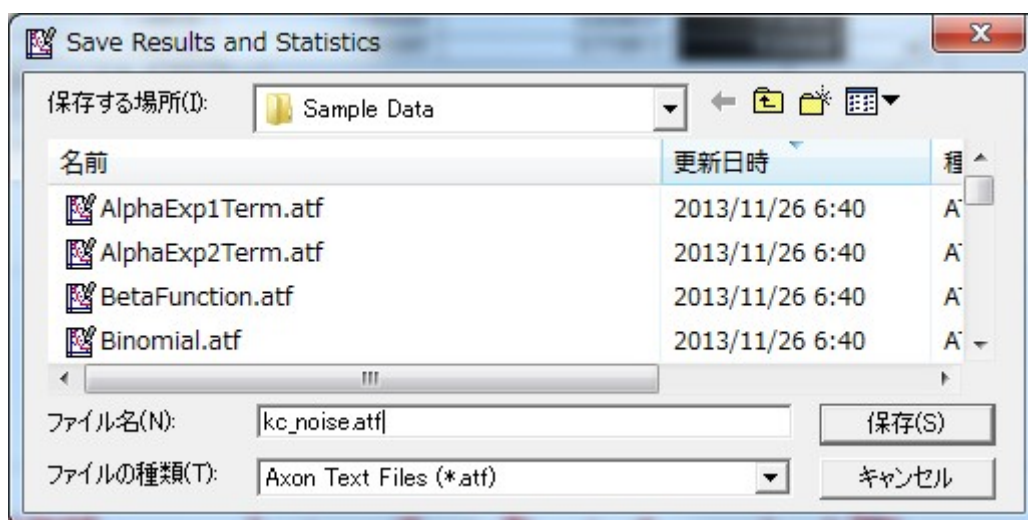


$1 * \sin(\pi * x / 1.25)$	G	$1 * \sin(\pi * x / 1.25)$	G
0		0	0
0.24869		0.24869	0
0.481754	0.481754	0.481754	0.481754
0.684547	0.684547	0.684547	0.684547
0.844328	0.844328	0.844328	0.844328
0.951057	0.951057	0.951057	0.951057
0.998027		0.998027	
0.982287		0.982287	
0.904827		0.904827	
0.770513		0.770513	

12. 空の列において時間列を除いて結果をすべて追加して出力します。よって、Expression は以下のように表現されます。
13. OK もしくは Apply で実行されます。Apply の場合はダイアログが閉じません。Column G はパッチクランプのデータと多数のハムが混在したデータになります。

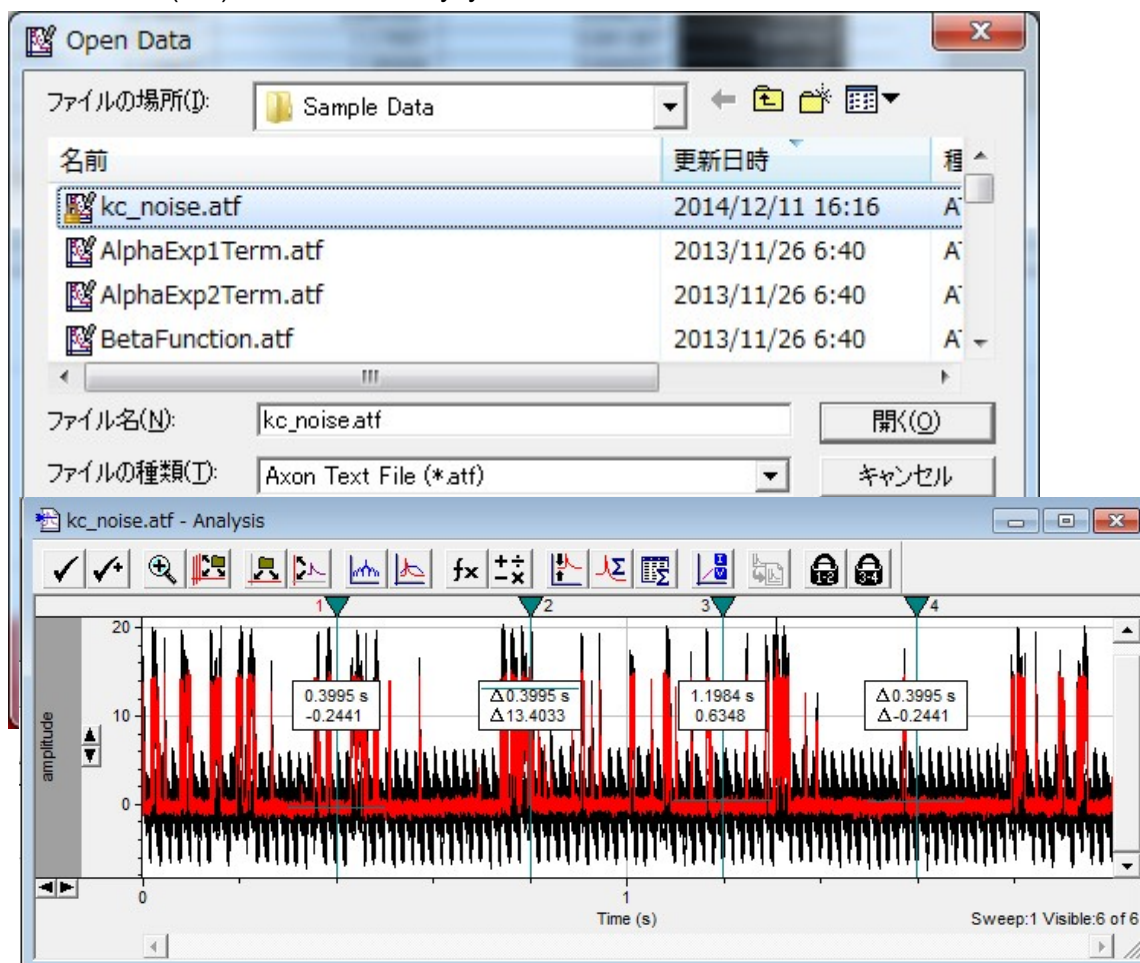


14. File > Save As を選択し、file type を Axon Text File(\*.atf)に設定し、“kc\_noise”などの名前で保存します。





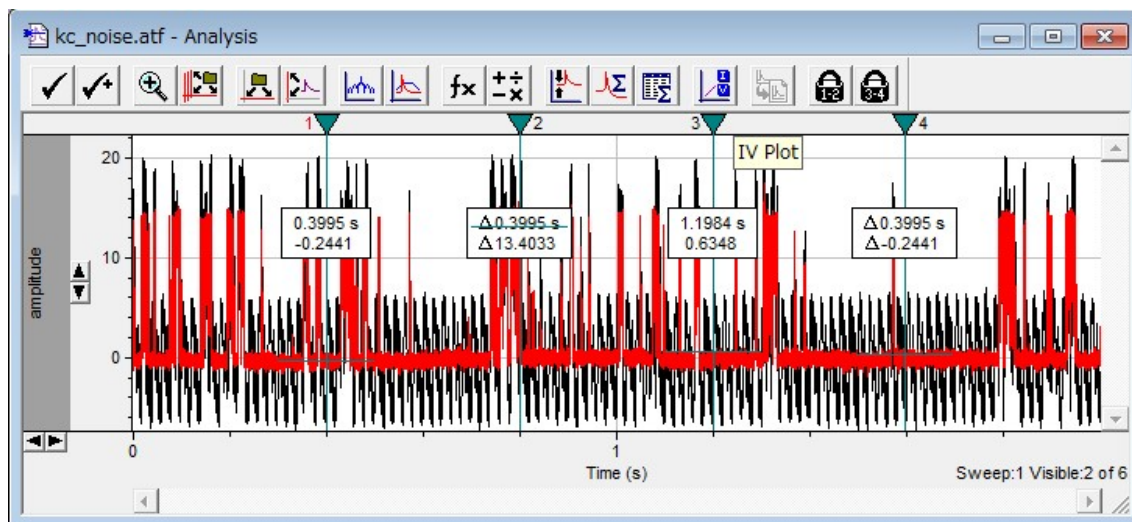
15. たった今 Result ウィンドウで保存したデータを、File > Open Data で file type を Axon Text File(\*.atf) に設定し、Analysys ウィンドウで開きます。



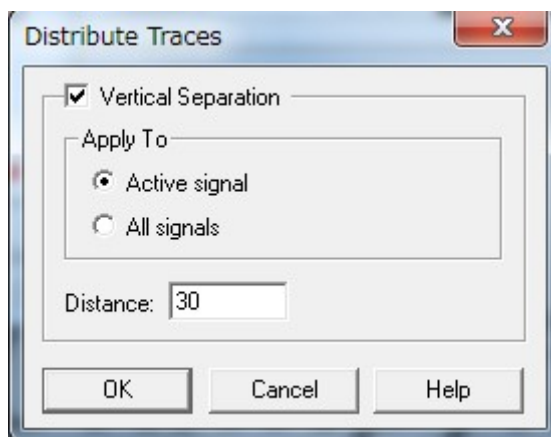


#### 9.4. ノイズを削除する

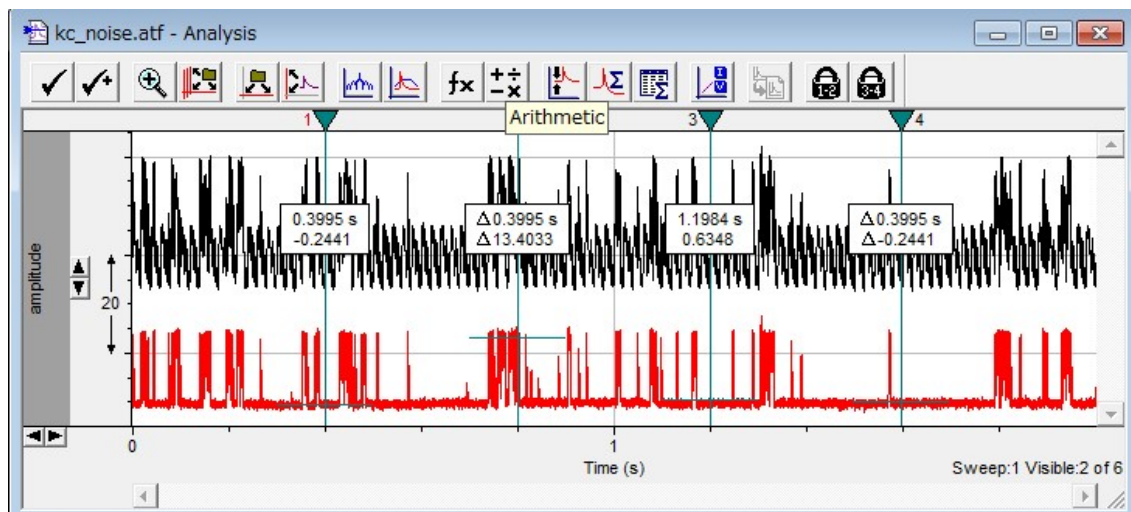
16. Clampfit はデフォルトで、複数列の ATF ファイルを Sweep タイプのファイルと仮定し、各列を 1 つの sweep として表示します。View > Select Sweeps で sweep1 と sweep6 をだけを表示し、View > Distribute Trace を選択します。



17. Distribute Trace は重なった波形をユーザが設定した距離だけオフセットして表示することができます。オフセットは表示上だけで、データには影響しません。Distance を 30 に設定して Ok をクリックします。



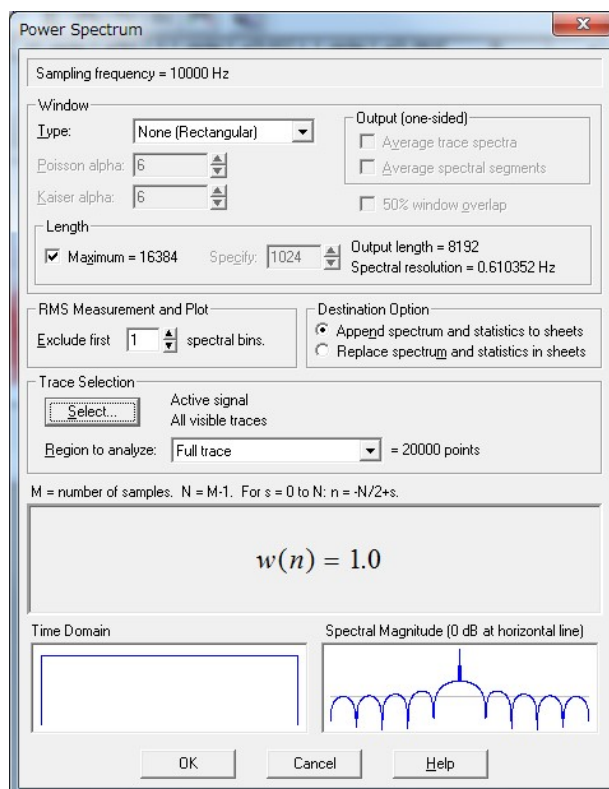
18. 右クリックして、ポップアップメニューから Auto Scale All Y Axes を選択します。



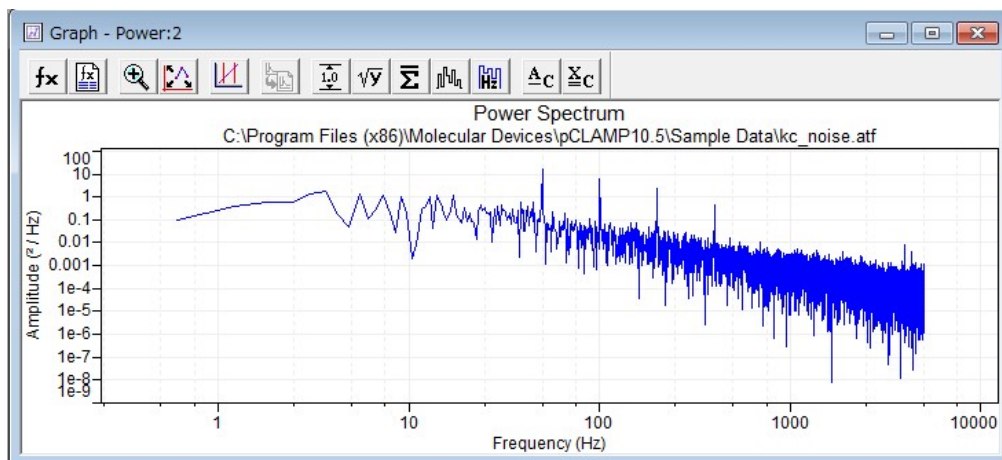
19. オリジナルデータは下側に表示されている波形で、上側に強力なノイズで汚れた波形が確認できます。現実的には、あなたはノイズを自身で作成していません。フィルタリングの前にパワースペクトルを実行することが有益です。

Sweep6 のみを表示し、Y 軸をもう一度自動スケールし、Analyze > Power Spectrum を選択します。

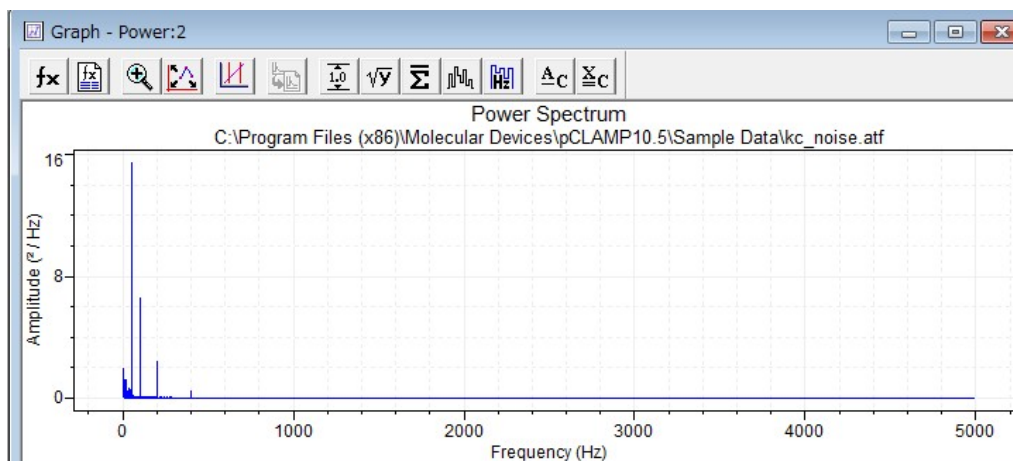
Power Spectrum ダイアログで設定値を調整することができます。詳細は英語マニュアル P177 を参考にしてください。今回の目的には Windows Type を Rectangular、Length を Maximum に設定します。Exclude first spectral bins は不要で、Region to analyze は Full trace に設定します。OK をクリックします。



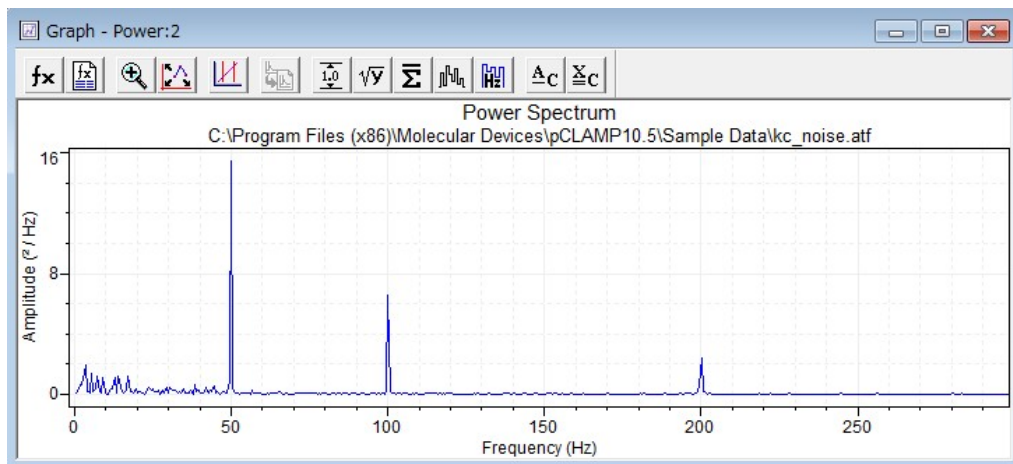
Graph ウィンドウに Log-Log プロット上にパワースペクトラムが表示されます。



軸を右クリック、もしくは View > Axis Type から Linear-Linear を選択して、自動スケールします。

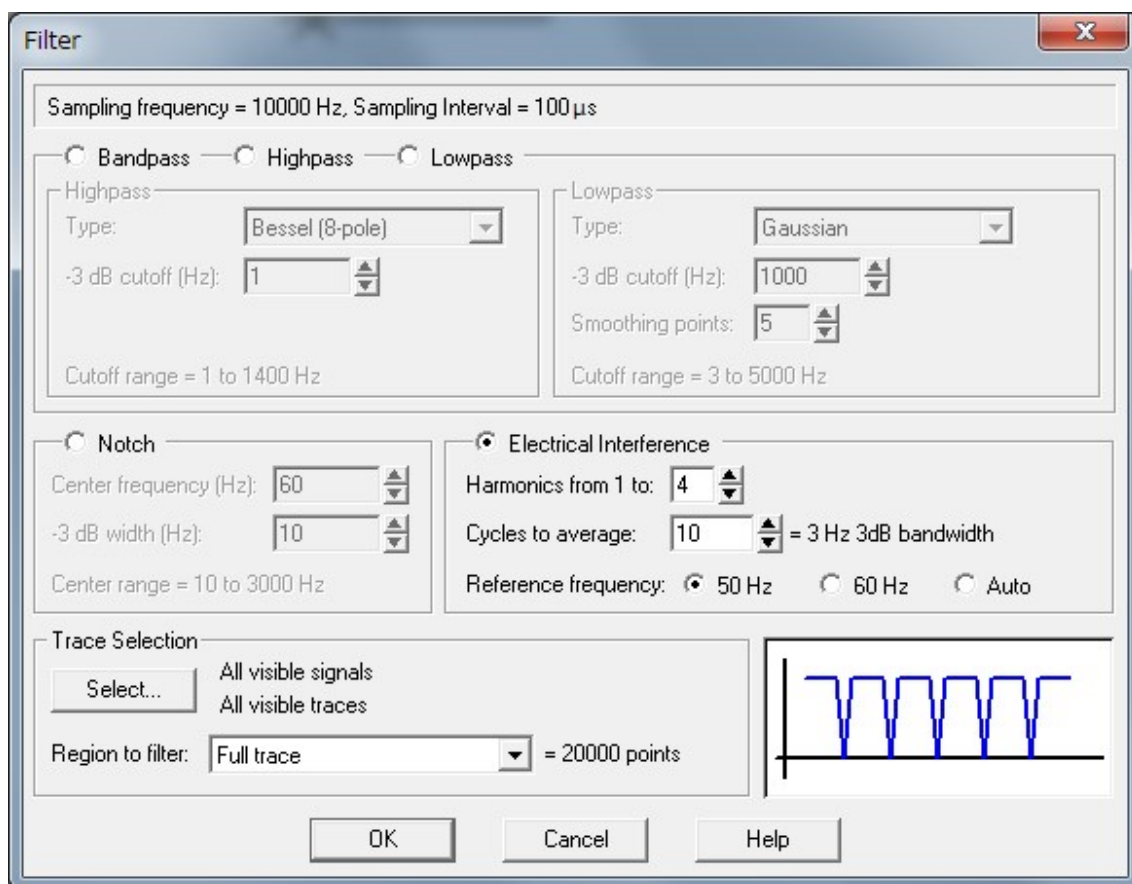


X 軸の最初の数百 Hz をマウスでドラッグして拡大します。



予期通り、スペクトルは、50Hz および 3 つの高調波で 4 つの鋭いピークが表示されます。

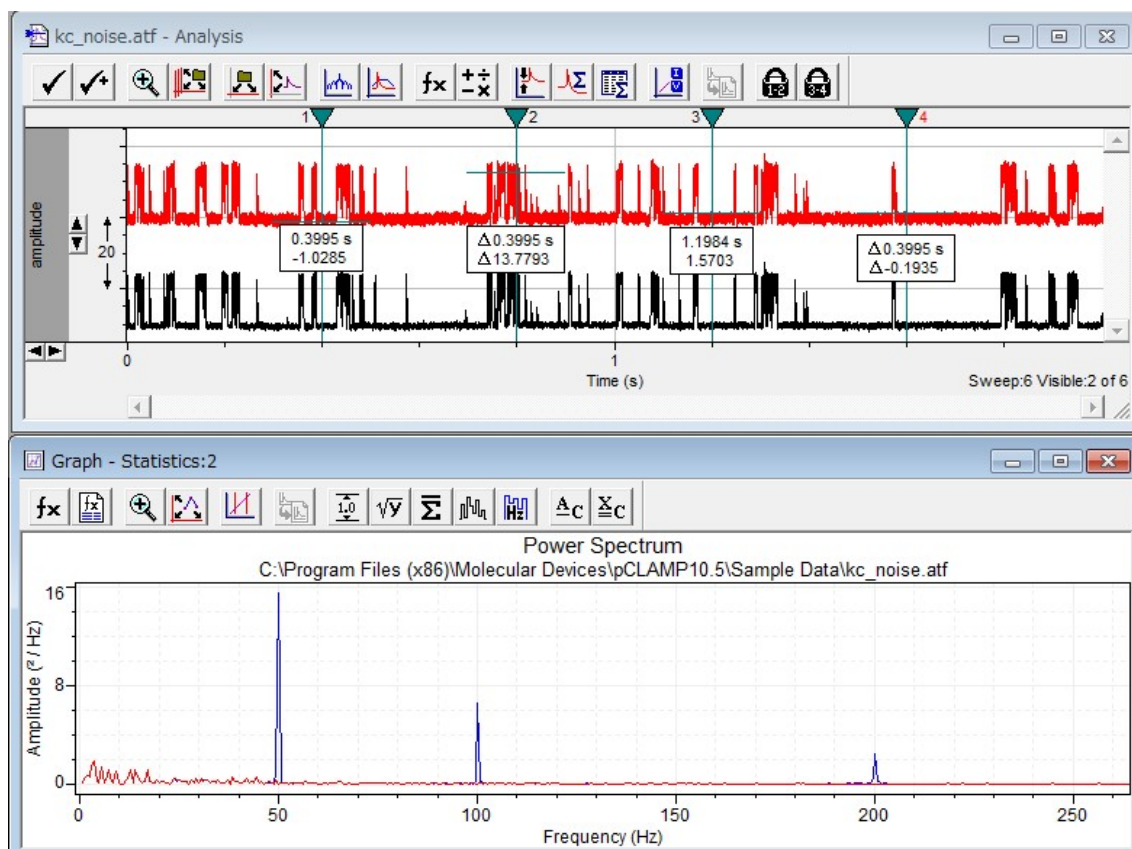
20. Analysis ウィンドウに戻り、Analyze > Filter を選択します。Electrical Interference セクションは、いくつかのパラメータを調整することが可能です。私達はシグナルに 4 つの高調波だけがあると知っています。Clampfit はどの高調波が存在するか、既存のフィルタ 1 つだけを決定します。従って、主に、高調波の検索をリアルな数に限定することで、実行スピードに違いが出ます。



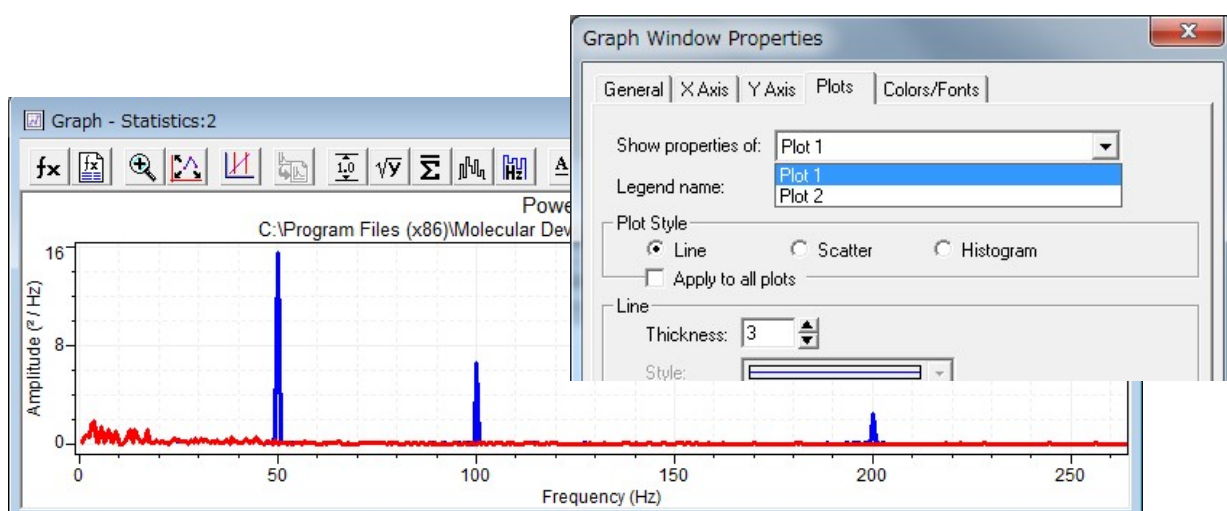
Cycle to average の設定によって、フィルタの帯域幅が決定されます。フィルタをかけられた領域において、このパラメータがサンプル数により制限されます。今回は 100 に設定します。

Clampfit はライン周波数を自動的に決定できます。しかし、通常ではライン周波数は既知なので、パラメータを手動で設定すべきです。OK をクリックして、別のパワースペクトルを実行し、それを既存のプロットに付加することによって、フィルタはハムを完全に排除いたことが確認できます。





グラフウィンドウプロパティでプロットのライン厚さを増大させると、新しいパワースペクトルはより簡単に比較できます。



記録データを汚染するのはライン周波数ハムだけではありません。メカニカルな振動など他の影響は、鋭いピークではなく、広帯域のパワースペクトルが作成されます。今回、ノイズの作成と除去する方法を学びましたが、広帯域ノイズを作成して、ノッチフィルタを使って除去するのもよいです。このようにゴリズムの利点と制限についての多くを学ぶことができます。ヘルプファイルと英語マニュアル P147Digital Filter に詳細な情報が乗っています。

もし Episodic データを持っているならば、人工的なノイズを導入するために実行したステップのほとんどは、そのまま使用できます。Analysis ウィンドウから Analyze > Arithmetic で分析します。

次のチュートリアルでは、バイナリから ASCII データへの変換は必要ではないので、より簡単に解析できます。

今回は Clampfit の Result ウィンドウについて、ASCII データによる入出力機能など学ぶために、より複雑な方法をとりました。

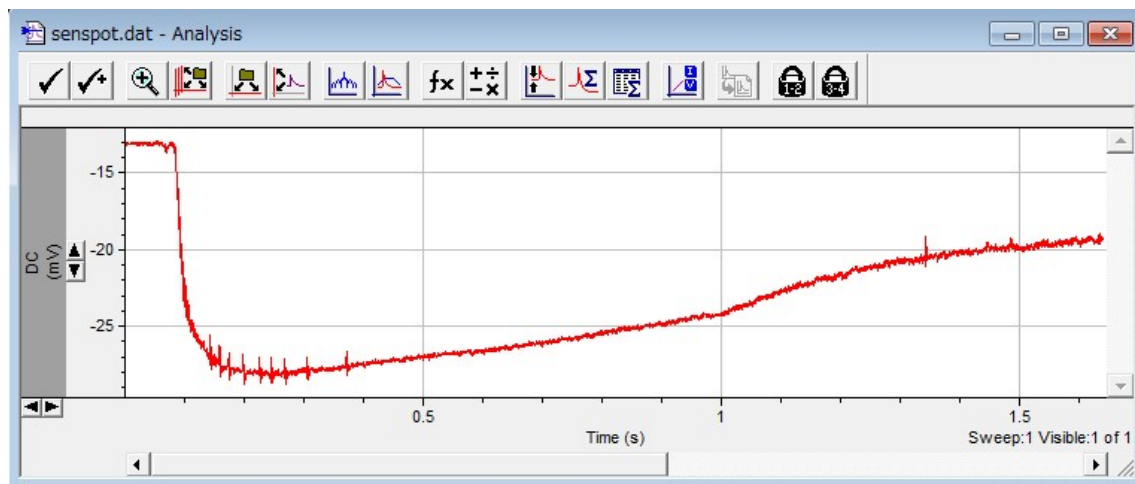
さらに、記録データにおいて S/N 比を高めるために、パワースペクトラムとフィルタを使用する方法を学びました。



## 10. 重ね合された活動電位と SENSILLAR 電位 (Tutorial - SENSILLAR POTENTIALS WITH SUPERIMPOSED ACTION POTENTIALS)

このチュートリアルは Clampfit で速いシグナルと遅いシグナルを分離する方法を学びます。この状況は細胞外のレコーディングで特に存在します。別の興奮細胞、または同じ細胞の別のコンポーネントから同時に寄与される場合、マルチコンポーネントシグナルを形成します。

サンプルファイル senspot.dat を開いて下さい。ソフトウェアフィルタで相対的に下方偏向の sensillar 電位と、それに重なる速い活動電位を分離します。(Thurm 1972, Kaissling & Thorson 1980)

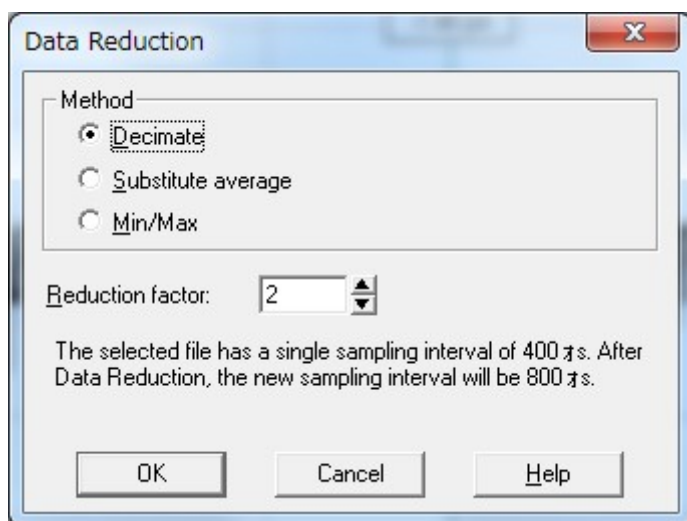


デジタルフィルタは、連続的なサンプリング間隔をもつシグナルが必要です(英語マニュアル P147 Digital Filters)。この古いデータファイルが当てはまるかわからない場合は、File > Properties を選択して確認することができます。Analyze > Data Reduction または、Analyze > Interpolation を使って 200 および 600  $\mu$ s の 2 つのサンプリング間隔を単一の間隔に変換する必要があります。比較のために、両方を試してみます。

## 10.1. サンプル数を減らす (Data Reduction)

Data Reduction は、速いサンプリングレートで取得された余分なサンプルを除去する目的で使用されます。この他に、ファイルサイズを縮小、PC の使用メモリを最小化する目的で使用します。2 つのパラメータを設定します。

Reduction factor N はファイルのサンプル数を縮小するファクターです。Reduction method は余分なサンプルを除去する方法をそ選択します。



Decimate は N 個のデータポイントだけを保有し、間のサンプルは削除されます。この方法はコンピュータ処理を最小化しますが、エイリアシングの危険があります。生成されたデータは低いサンプリングレートで記録されたデータと同じになります。That means no signal containing higher frequencies than half the sampling frequency in the reduced file may be processed using Decimate reduction.

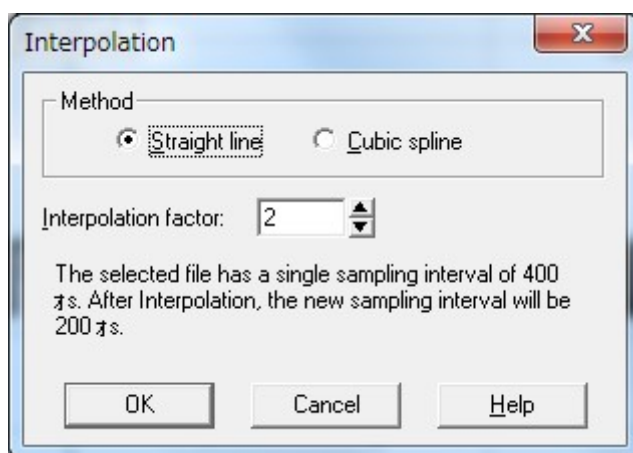
Substitute average は対照的で、少しのアーチファクトも生成しません。新しいデータ値を生成するために、すべての N サンプルは平均されます。この方法はトランジェントと高周波ノイズを除去し、平均値が A/D 変換器の解像度に限定されないで、シグナルを滑らかにすることさえできます。欠点は計算量が多く、非常に遅いコンピュータと非常に大きなデータファイルの場合に時間がかかります。Substitute average は最も有効な方法です。

Min/Max は N 個のデータポイントのセットから最大値と最小値を検索して保有します。よって、この方法で N を最小値 2 に設定することは不適切です。なぜなら、オリジナルのデータのサンプル数と変化しないからです。また、Decimate と同様にエイリアシングの危険があります

## 10.2. サンプル数を増やす (Interpolation)

Interpolation は Interpolation factor および、Straight line と Cubic spline の 2 つのアルゴリズムから 1 つを選択することができます。

Straight line は、新しく導入された高周波コンポーネントで階段状のシグナルを作成して既存のサンプルを単に相互接続します。Cubic spline は計算に時間はかかりますが、スムーズなシグナルを生成します。



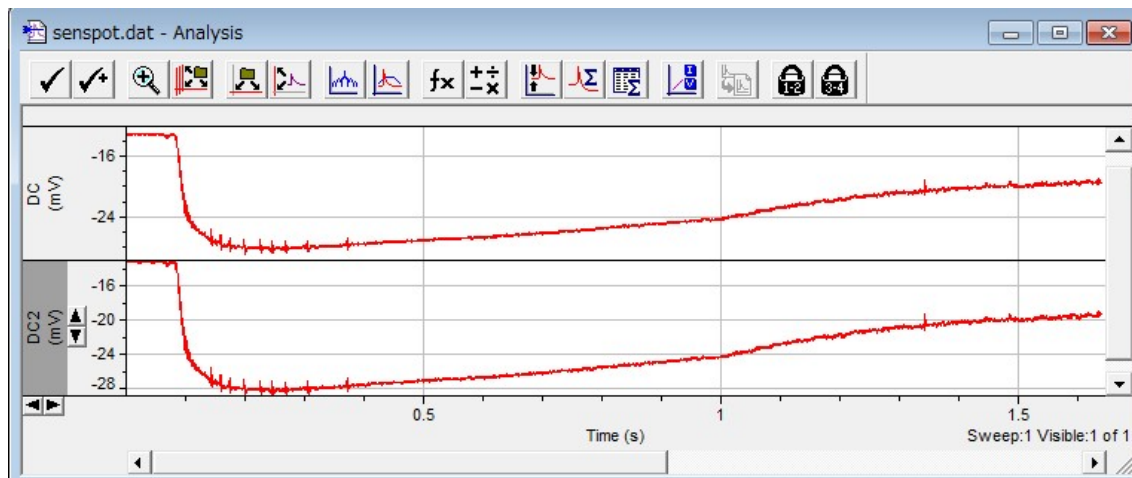
補間ファクターは 1 に設定して、単にファイルを複製することもできます。

1. Analyze > Interpolation ダイアログを開きます。
2. Cubic Spline を選択します。
3. Interpolation factor は "1"に設定します。
4. OK をクリックします。

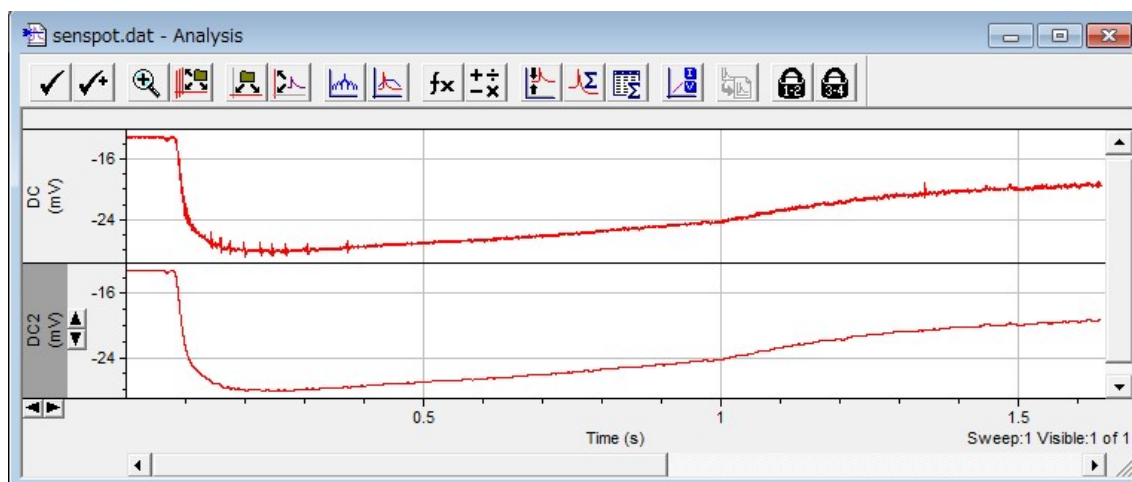
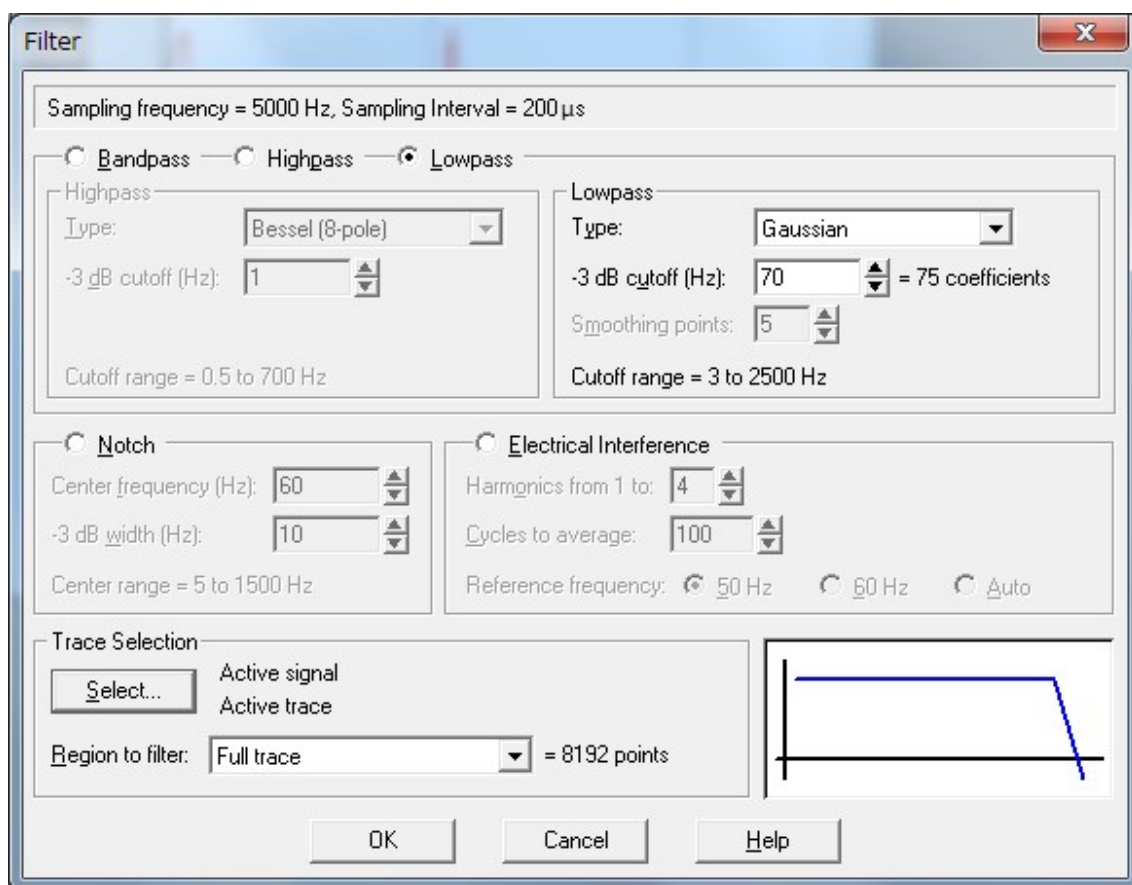
### 10.3. ローパスフィルタで活動電位を除去する

これは、Analysis ウィンドウにタイルを貼らせて、約 1000ms を拡大撮影した後にシグナルを比較するかどうかにおいて見られるようにオリジナルのファイルの中のより高いサンプリングレートによって新しいファイルを作成する。次のステップのソフトウェアフィルタを使うつもりで、サンプリングレートが、許される遮断周波数の範囲を決定するので、改ざんされたファイルを使う。

1. Edit > Create Duplicate Signal を選択して、新しく作成されたシグナルを選択します。

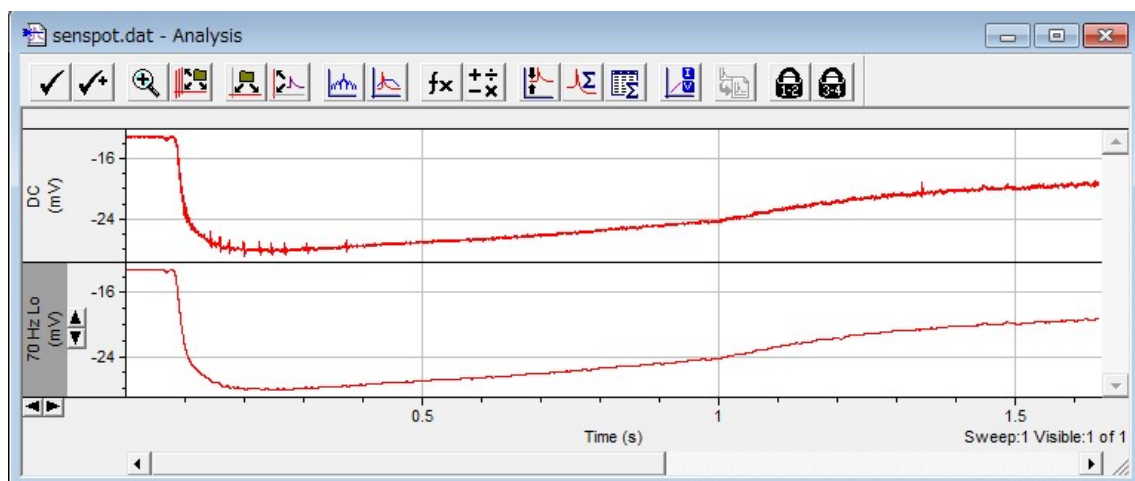
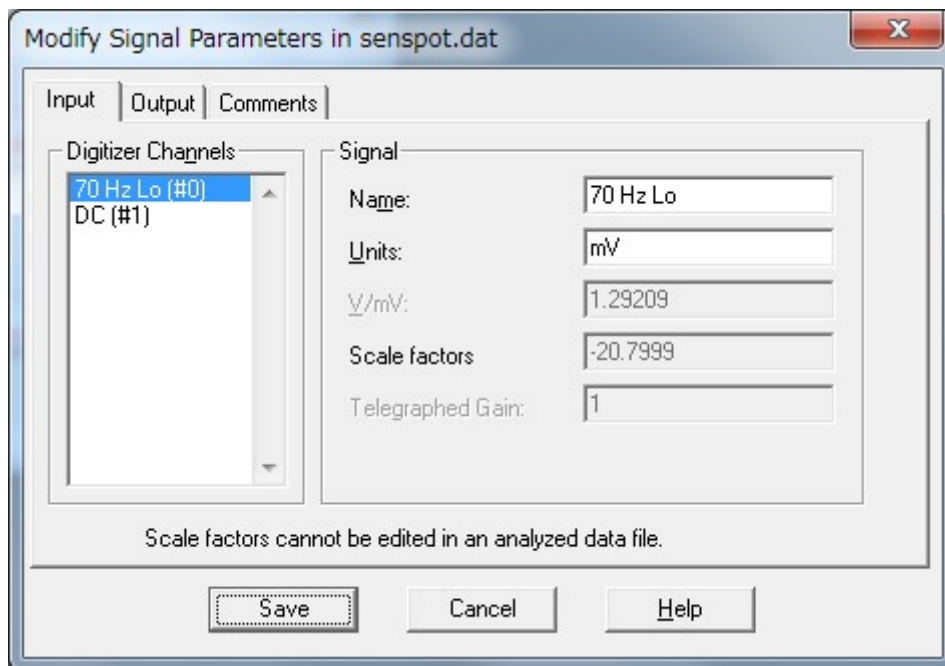


2. Analyze > Filter を選択します。
3. 活動電位を削除します。何種類かのローパスフィルタが利用できます。詳細は英語マニュアル P147 Digital Filters を参考にしてください。
4. Type からフィルタのタイプを選択し、cutoff range のレポートが変化することを確認できます。
5. Gaussian を選択します。
6. -3 dB cutoff f を 70Hz に設定します。
7. Trace Selection の Select ボタンをクリックします。
8. Select Traces ダイアログで、Signals セクションで Active Signal を選択します。Traces セクションは 1 Sweep しかないので、そのままの設定で問題ありません。
9. OK をクリックすると、Filter ダイアログに選択がレポートされます。
10. フィルタの適応範囲を波形全体に適応したいので、Region to filter に Full Trace を設定し、OK をクリックします。活動電位が除去されるのが確認できます。



このシグナルはデフォルトで DC2 と名前が付けられています。以下の手順で名前を変更します。

1. Edit > Modify Signal Parameters を選択します。
2. Name に 70 Hz Lo と入力します。
3. Save ボタンをクリックします。





#### 10.4. フィルタの適正を評価する

フィルタは遅い sensillar 電位の波形に影響しないように、速い活動電位を除去すべきですが、これを決定するのはとても難しいです。遮断周波数の設定が適切であったのか、どのように確認すればよいのでしょうか？これは確認するには、フィルタをかけられたシグナルをオリジナルのシグナルから減算する方法があります。

Analyze > Arithmetic を使用してシグナルを除去することができます。Arithmetic ダイアログは、前のチュートリアルで説明された Column Arithmetic ダイアログと似ています。結果として生成された波形をオリジナルシグナルから減算します。

まず最初に、格納先として使用する別のシグナルを作成します。

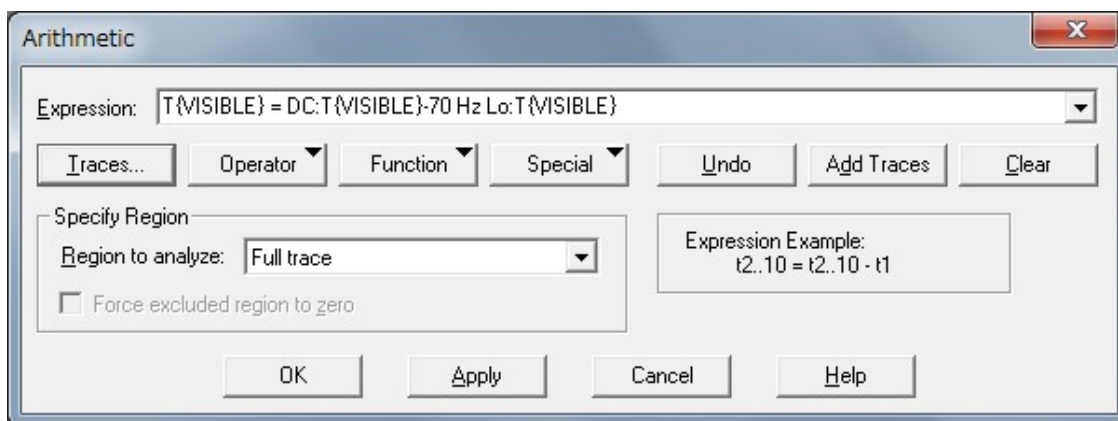
1. 70 Hz Lo シグナルを選択します。
2. Edit > Create Duplicate Signal を選択して、新しいシグナルを作成します。
3. Edit > Modify Signal Parameters を選択します。
4. 新しく作成したシグナルを Subtracted に改名します。
5. Save をクリックします。

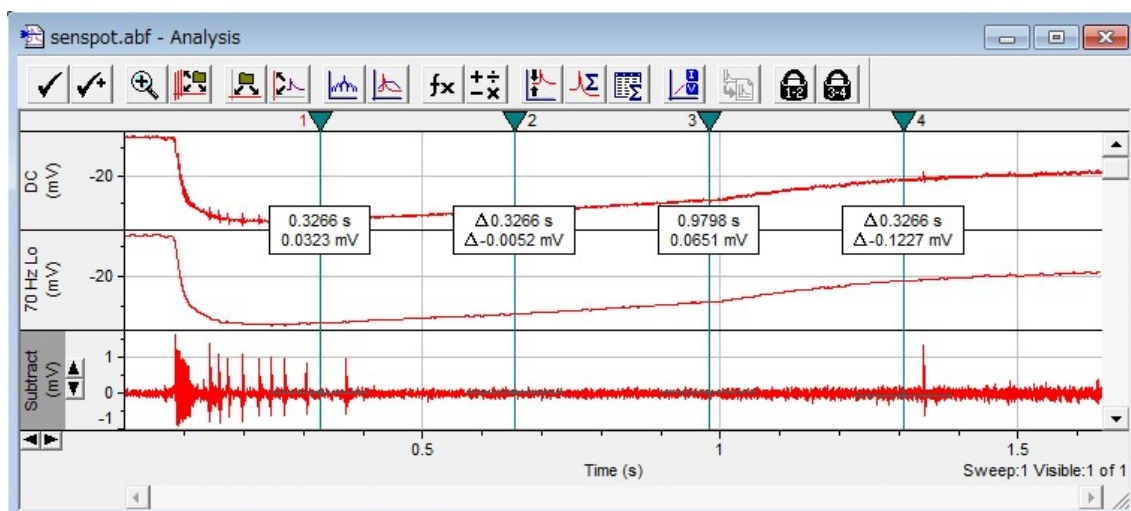
これで、波形を減算する準備ができました。次に減算を行います。

1. Analyze > Arithmetic を選択します。
2. Trace を選択して、A specified signal I リストから Subtracted を選択します。
3. OK をクリックします。
4. Trace を選択して、specified signal list から DC(mV)を選択します。
5. OK をクリックします。
6. Operator リストで (subtract)を選択します。
7. Trace を選択して、specified signal list から 70 Hz Lo (mV)を選択します。
8. OK をクリックします。Expression は以下のように表示されます。

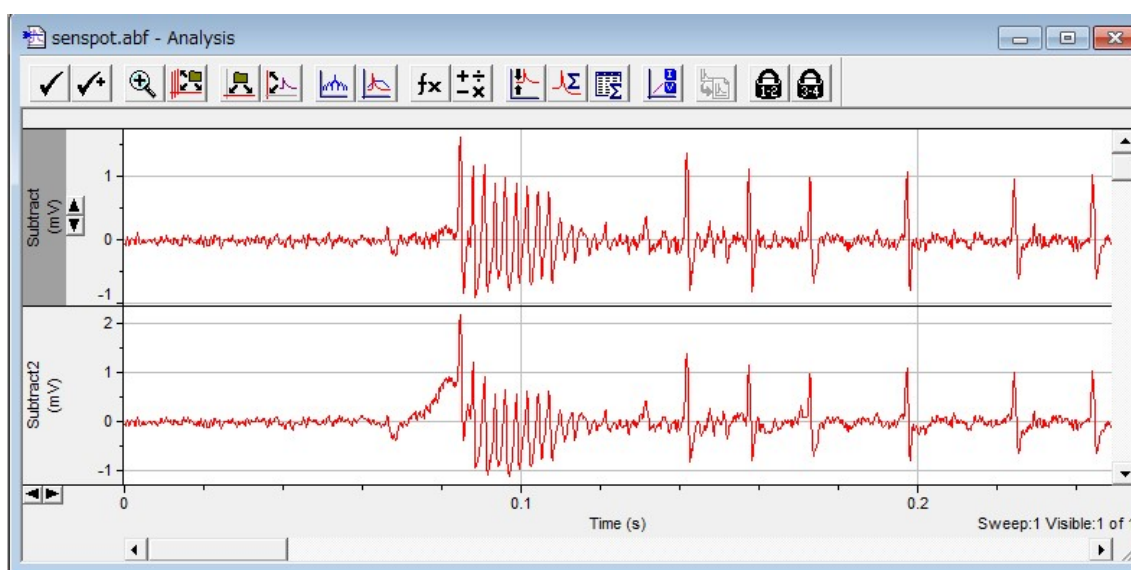
$T\{VISIBLE\} = DC:T\{VISIBLE\} - 70 \text{ Hz Lo}:T\{VISIBLE\}$

9. OK をクリックします。

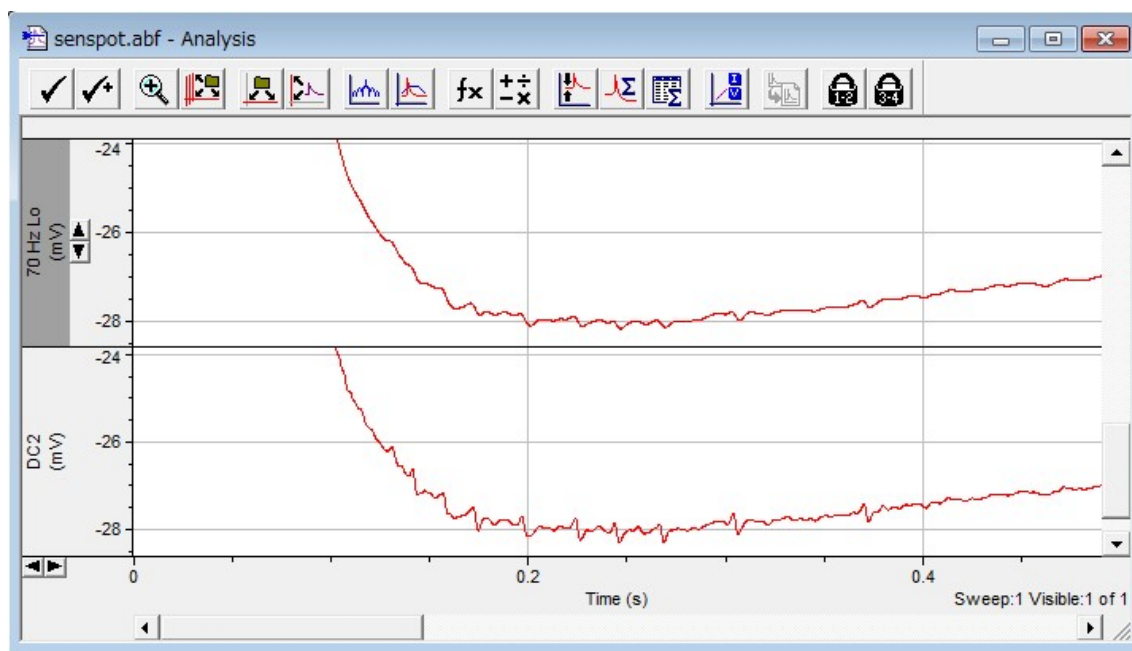




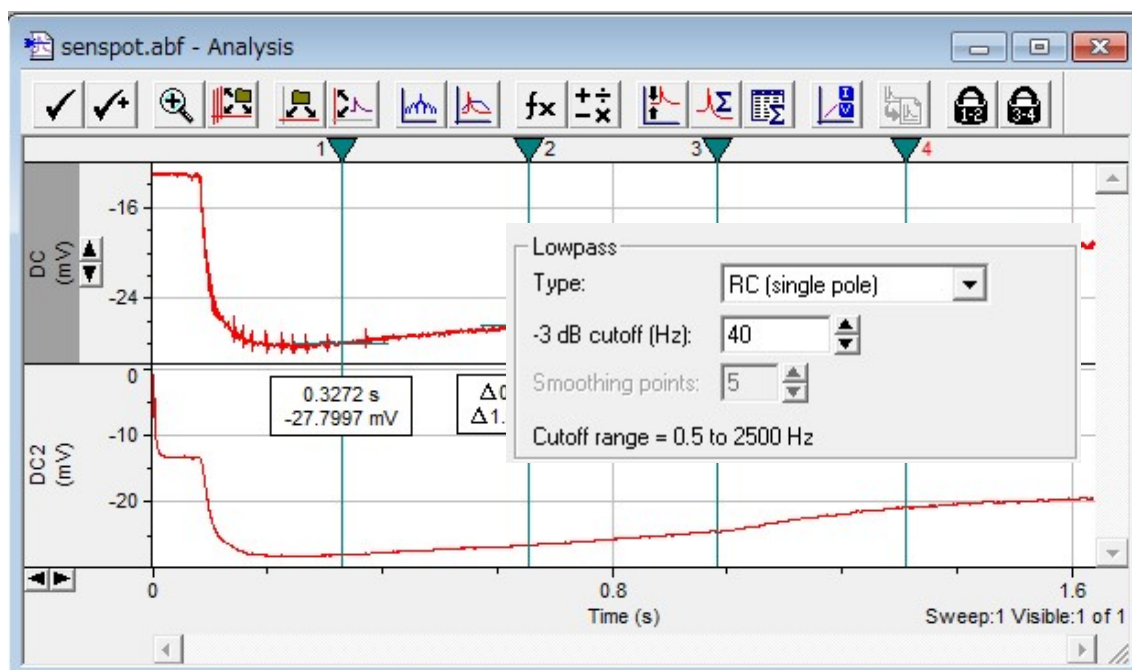
もし納得しない場合は、遮断周波数やフィルタの種類を変更して試すことができます。遮断周波数を低く設定した場合、Subtracted シグナルは sensillar 電位の前方により突出したトランジェントが発生します。これは、低い遮断周波数では sensillar 電位によって、速い要素がより歪められることを示しています。



遮断周波数を高くすると、活動電位の残余がより大きくなります。よって、今回の場合、70Hz は妥当な設定と考えられます。



他のフィルタタイプを試すと、フィルタがかかるまでにかなり長い時間を必要とし、無限のインパルス反応が発生します。また、0mV から始まります。

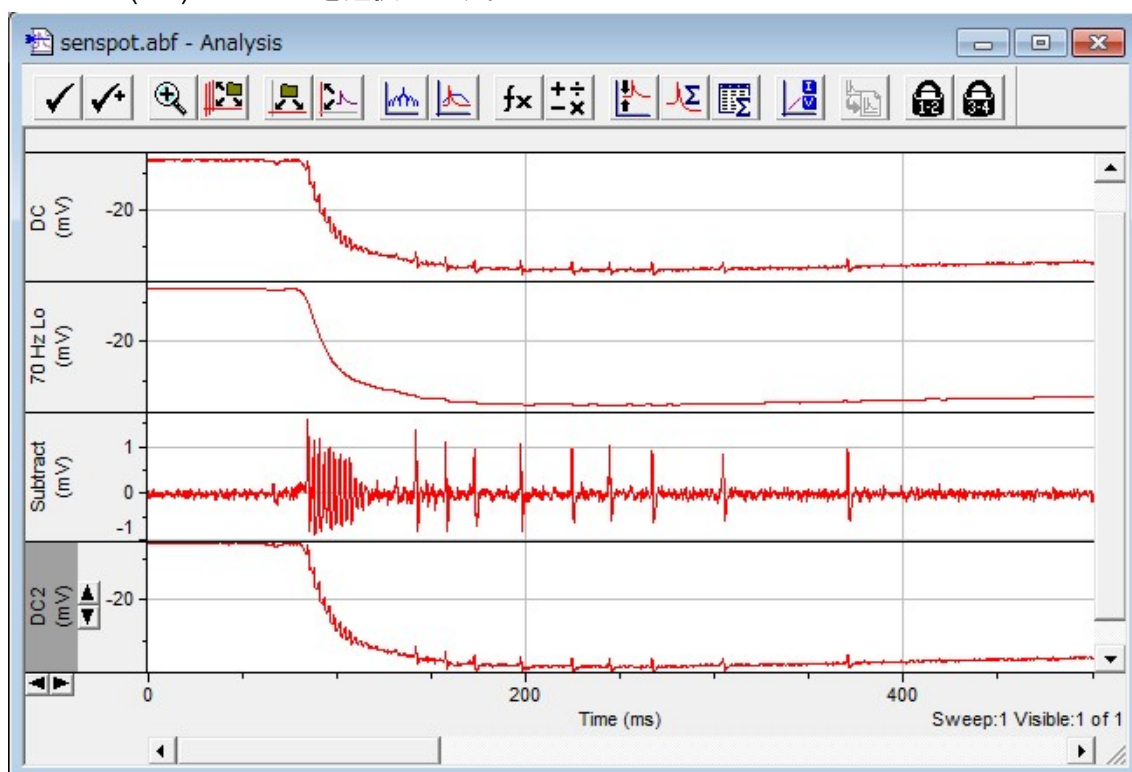


詳細は英語マニュアル P147 digital filter を参照して下さい。次のチュートリアルで、それらを扱うために、2 つの方法を説明します。

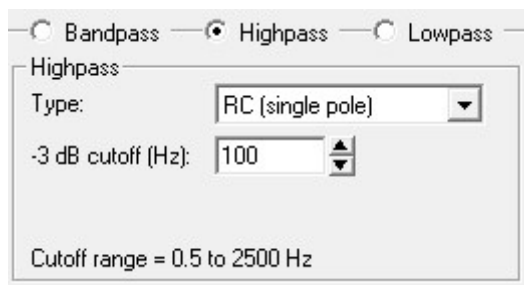
## 10.5. ハイパスフィルタで Sensillar 電位を除去する

Sensillar 電位を分離した後も、活動電位はわずかに確認できます。Subtracted シグナルではすでに活動電位の評価に適切なフィルタが実行されています。次に、ハイパスフィルタをかけたシグナルと比較します。

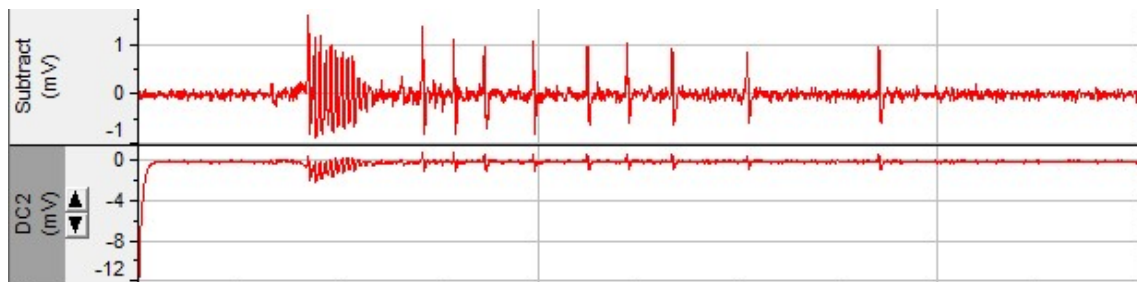
1. 最初の 500ms が表示されるように X 軸をスケールします。
2. DC (mV) シグナルを選択します。
3. Edit > Create Duplicate Signal を選択して、DC (mV) シグナルをコピーします。
4. DC2 (mV) シグナルを選択します。



5. Analyze > Filter を選択します。
6. Highpass を選択します。
7. Highpass フィルタは RC (single pole) と Bessel (8-pole) の 2 つを設定できます。
8. RC (single pole) を選択し、-3 db cutoff frequency を 100Hz に設定します。
9. OK をクリックします。

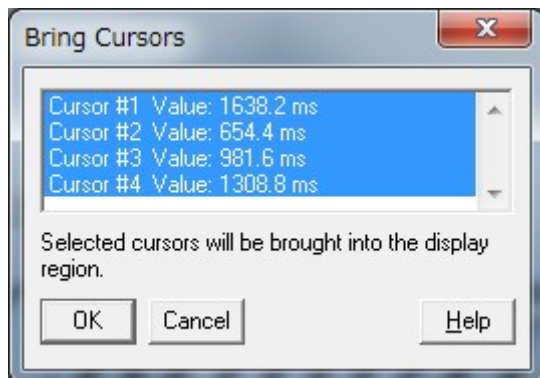


10. View > Auto Scale > Active Y axis to auto scale を選択して、終端効果を自動スケールし、データの始めのほうが負の値から始まることが確認できます。



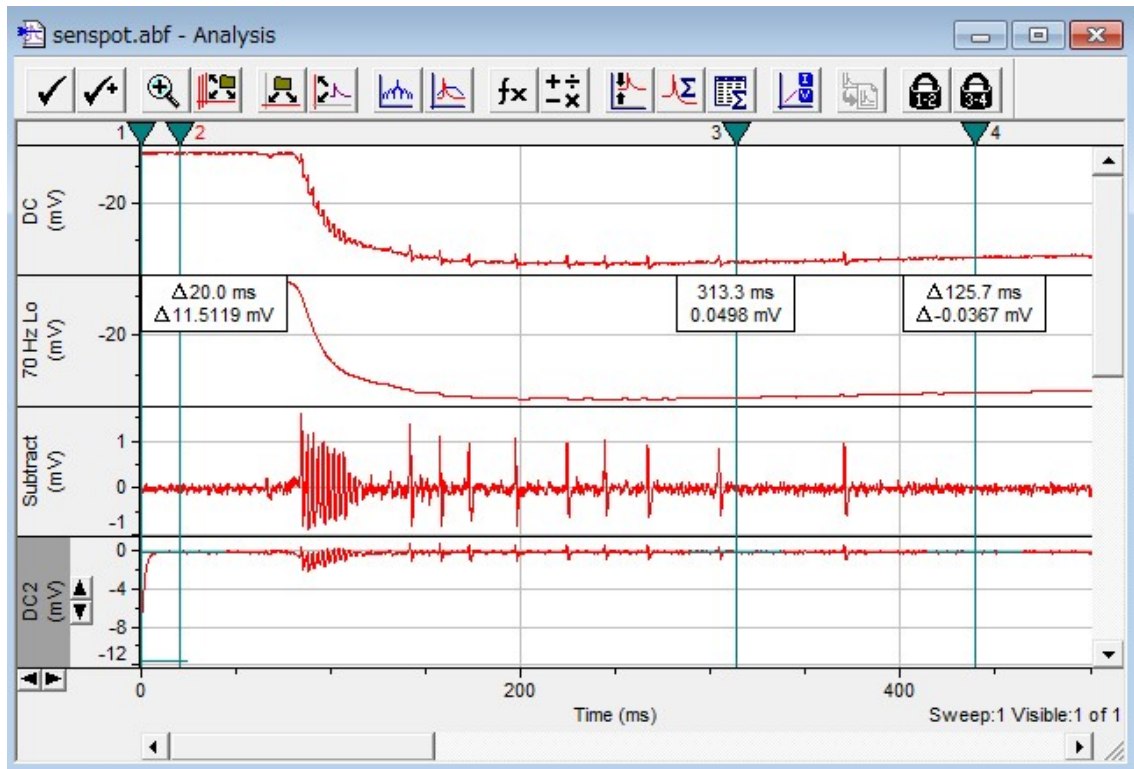
11. 次にこのランジェントを除去します。

Tools > Cursors > Bring Cursors を選択して、現在の表示範囲にカーソルを移動します。



カーソル 1 を 0ms、カーソル 2 を約 20ms にドラッグします。





Analyze > Force Values を選択します。この機能は、データの値をカーソル設定や固定値に割り当てることができます。

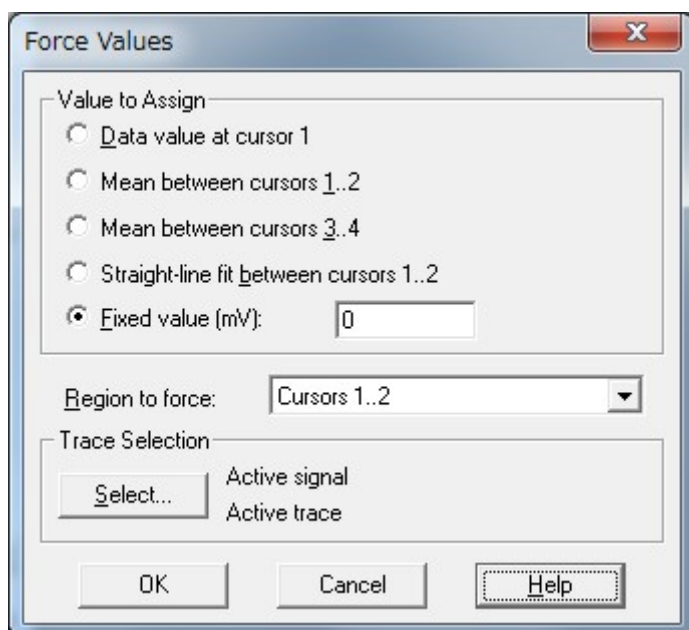
Trace Selection に適応する signal と sweep を設定できます。

Fixed value を選択して、0 に設定します。

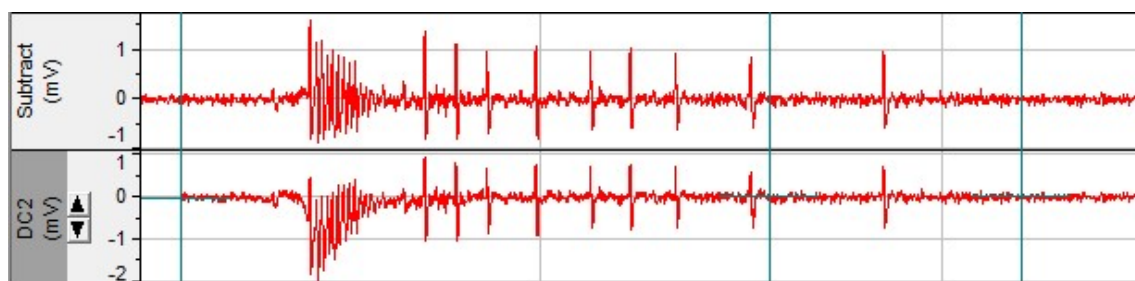
In Region to force は Cursors 1..2 に設定します。

OK をクリックします。





フィルタをかけられた波形は、sensillar 電位の急勾配な部分からなる残余があります。下方偏移を形成し、より速い活動電位が発生します。しかし、sensillar 電位の平らな領域は効果的に除去されました。



終端効果を避けるための他の方法は、フィルタの前にオフセットされたベースラインを除去することです。

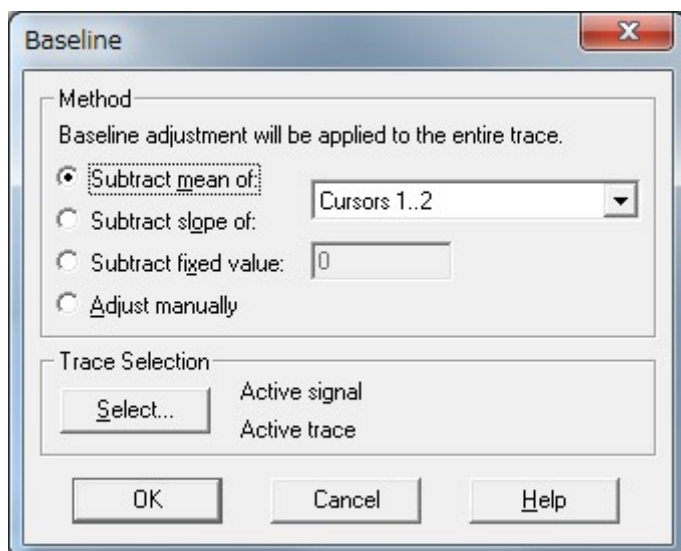
1. DC (mV)シグナルを選択します。
2. カーソル 1 を 0ms、カーソル 2 を 50ms に設定します。
3. Analyze > Adjust > Baseline を選択します。この機能は、オフセットまたはドリフトしているベースラインを修正し、4 の方法から 1 つを使用することができます。subtract mean と subtract sloop を使用する場合、ドロップダウンリストで領域をします。
  - Mean は 指定された領域で全データポイントの平均を計算します。
  - Sloop は、結果が全体の波形から  $y = 0$  で指定された領域がまっすぐなベース

ラインと一致するように取り去られる回帰線とフィットします。

- 固定値を入力できます。それは、選ばれた波形から除去される必要があります。
- 不規則なベースラインで修正できます。ピンク色の訂正ラインをクリックし、ドラッグできる区切点を作成し、不規則な曲線にフィットすることができます。

Sensillar 電位のベースラインを訂正する前に、データ値を仮定します。私達の目的に最も適当な選択は、カーソル 1..2 の間の平均です。

1. Subtract mean of を選択します。
2. Cursors 1..2 をリストから選択します。
3. Trace Selection で Active signal を選択して OK をクリックします。



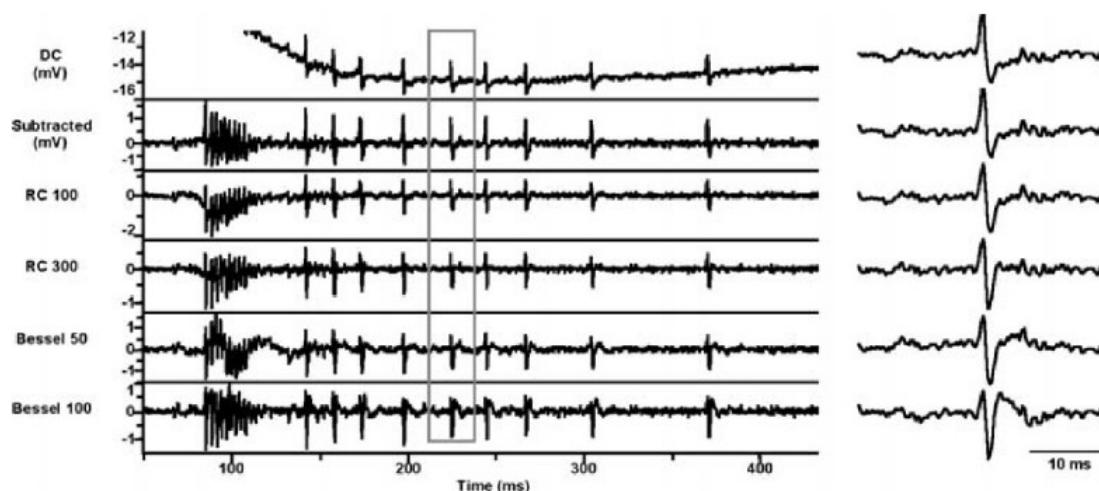
DC(mV)の複製を作成すると、波形が0から始まるのが確認でき、フィルタの終端効果は最小化されます。アプリケーションに依存するので、オリジナルのデータファイルにおいてオフセットされた振幅が関連している可能性があります。このケースにおいて、ベースラインを調整するか、または二重のシグナルでの調整を代わりに実行する前に、あなたはそれを測定するべきである。



ハイパスフィルタを次の二重のシグナルに適用すると、終端効果は発生しません。

Sensillar 電位を完全に見るためには、より高い周波数で RC フィルタを試す必要があります。RCfilter300Hz を使用すると、Sensillar 電位はほとんど除去されます、活動電位はより歪みます。50Hz と低い遮断頻度で 8-Pole Bessel high pass filter を使用すると、sensillar 電位の急勾配な部分で、シグナルの速い変化によって、リングングが発生します。遮断周波数を 100Hz まで増やすとリングングは消えますが、活動電位はより歪みます。

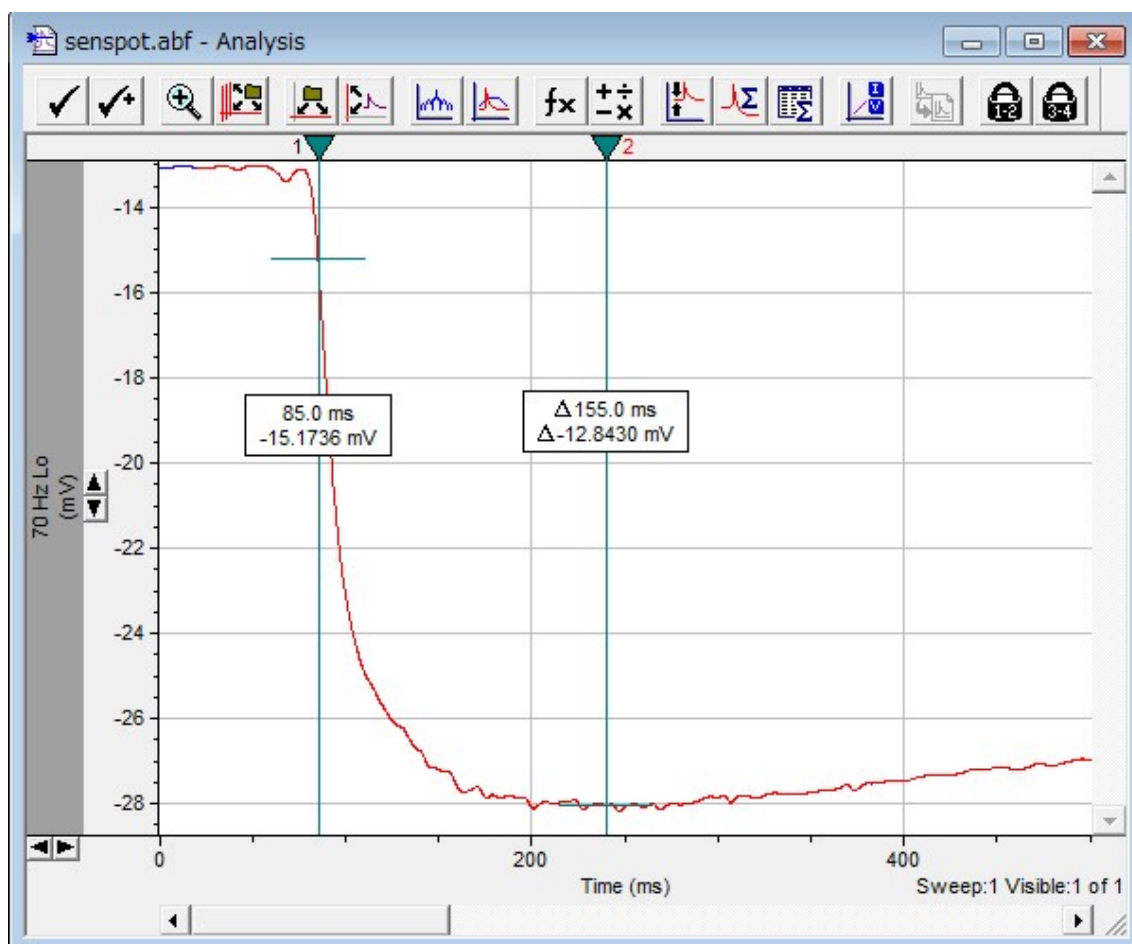
数値上記の右側は、種々のフィルタアルゴリズムと頻度の左の示されたセクションへの影響を説明する。アプリケーションに依存するので、適当なハイパスフィルタの選択はローパスフィルタにわたってよりずっと危険である。シグナルの使用種々のアルゴリズムまたは遮断頻度の個々の領域を染み込ませることは、具体的なアプリケーションに必要であるかもしれない



## 10.6. sensillar 電位のフィッティングカーブを描く

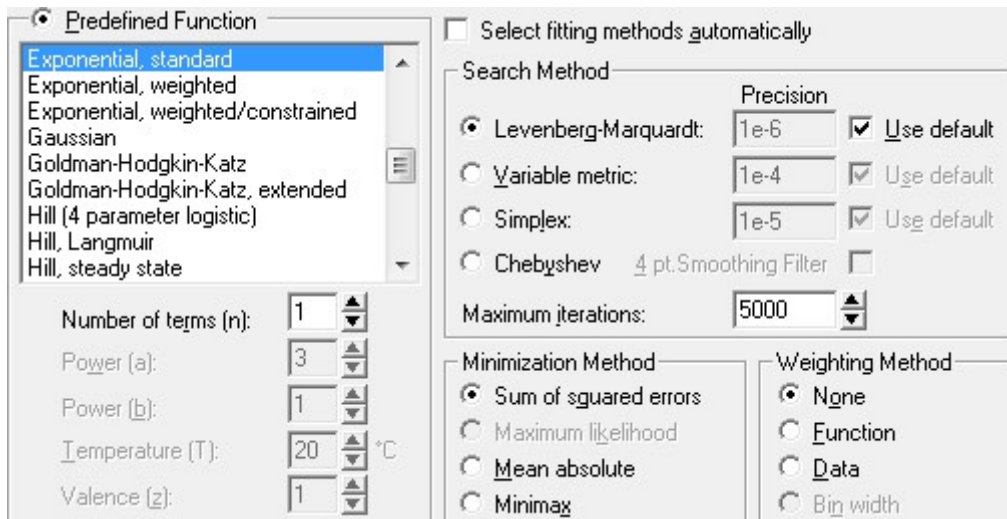
活動電位から sensillar 電位を分離したので、反応を説明するためのパラメータを評価します。Tools > cursors > White cursors を使用して、活動電位の時間を Result ウィンドウの Cursors シートに出力することが出来ます。または Analyze > Statistics で追加します。さらに、sensillar 電位を特徴付けるように、カーソル測定を使用できます。また、Analyze > Fitting を使用して、初期段階のタイムコースを数学的に解析することができます。

1. 70 Hz Lo シグナルを右クリックして、Maximize Signal を選択します。
2. X 軸の 0-500ms をクリックして拡大し、カーソルをドラッグします。
3. カーソル 1 と 2 をそれぞれ、85ms と 240ms に設定します。



4. Analyze > Fit を選択します。

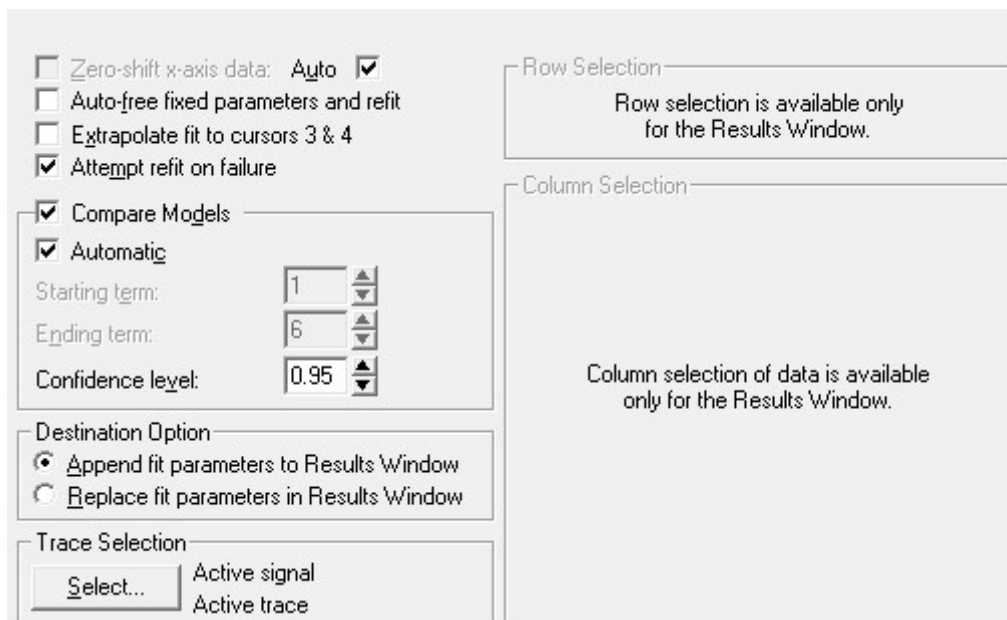
Clampfit は非常に洗練されたフィッティング機能を提供し、既存の関数から選択または、カスタム関数を指定することができます。4 つの検索手法があり、最小化法と重み付けの手法を組み合わせることができます。



The image shows the 'Fitting' dialog box in Clampfit. It is divided into several sections:

- Predefined Function:** A list of functions including 'Exponential, standard' (selected), 'Exponential, weighted', 'Exponential, weighted/constrained', 'Gaussian', 'Goldman-Hodgkin-Katz', 'Goldman-Hodgkin-Katz, extended', 'Hill (4 parameter logistic)', 'Hill, Langmuir', and 'Hill, steady state'.
- Parameters:** Number of terms (n): 1, Power (a): 3, Power (b): 1, Temperature (T): 20 °C, Valence (z): 1.
- Select fitting methods automatically:** A checkbox that is currently unchecked.
- Search Method:**
  - Levenberg-Marquardt:** Precision 1e-6, Use default (checked).
  - Variable metric:** Precision 1e-4, Use default (checked).
  - Simplex:** Precision 1e-5, Use default (checked).
  - Chebyshev:** 4 pt. Smoothing Filter (unchecked).
  - Maximum iterations:** 5000.
- Minimization Method:**
  - Sum of squared errors:** (selected)
  - Maximum likelihood
  - Mean absolute
  - Minimax
- Weighting Method:**
  - None:** (selected)
  - Function
  - Data
  - Bin width

多くの追加のオプションは Data/Options タブで設定可能で、Seed Values タブは、数値またはグラフィカルな表現で初期パラメータの推定値を確認することができます。Fitting ダイアログで設定可能なすべてのオプションは、すべてのデータセット、方法、関数に適応できるわけではありません。



The image shows the 'Data/Options' dialog box in Clampfit. It contains several sections:

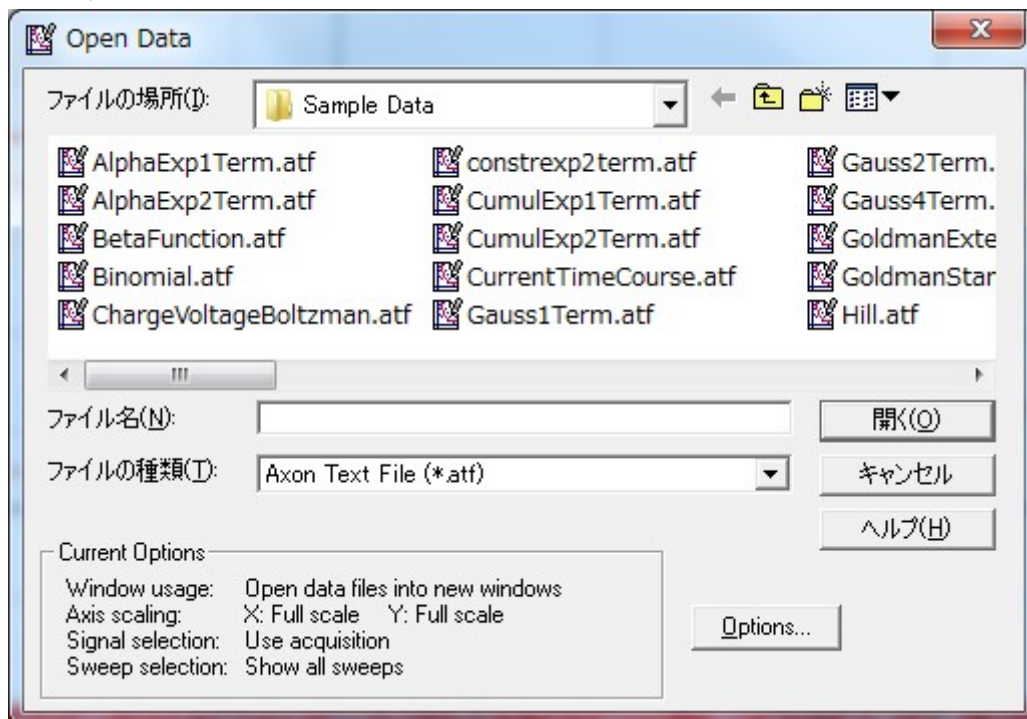
- Zero-shift x-axis data:** Auto (checked).
- Auto-free fixed parameters and refit:** (unchecked).
- Extrapolate fit to cursors 3 & 4:** (unchecked).
- Attempt refit on failure:** (checked).
- Compare Models:** (checked).
  - Automatic:** (checked). Starting term: 1, Ending term: 6, Confidence level: 0.95.
- Destination Option:**
  - Append fit parameters to Results Window:** (selected)
  - Replace fit parameters in Results Window
- Trace Selection:**
  - Select...** (button)
  - Active signal
  - Active trace
- Row Selection:** A message box stating 'Row selection is available only for the Results Window.'
- Column Selection:** A message box stating 'Column selection of data is available only for the Results Window.'

フィッティングはかなり複雑な問題ですので、チュートリアルではすべての詳細を説明しません。関数、アルゴリズム、およびトラブルシューティングなど詳細については、英語マニュアル P197 Curve Fitting を参照して下さい。



また、多くの ATF ファイルが下記のデータフォルダにあります。それらのファイル名は、関数に関連した名前になっています。

..¥Program Files¥Molecular Devices¥pCLAMP10.4¥Sample

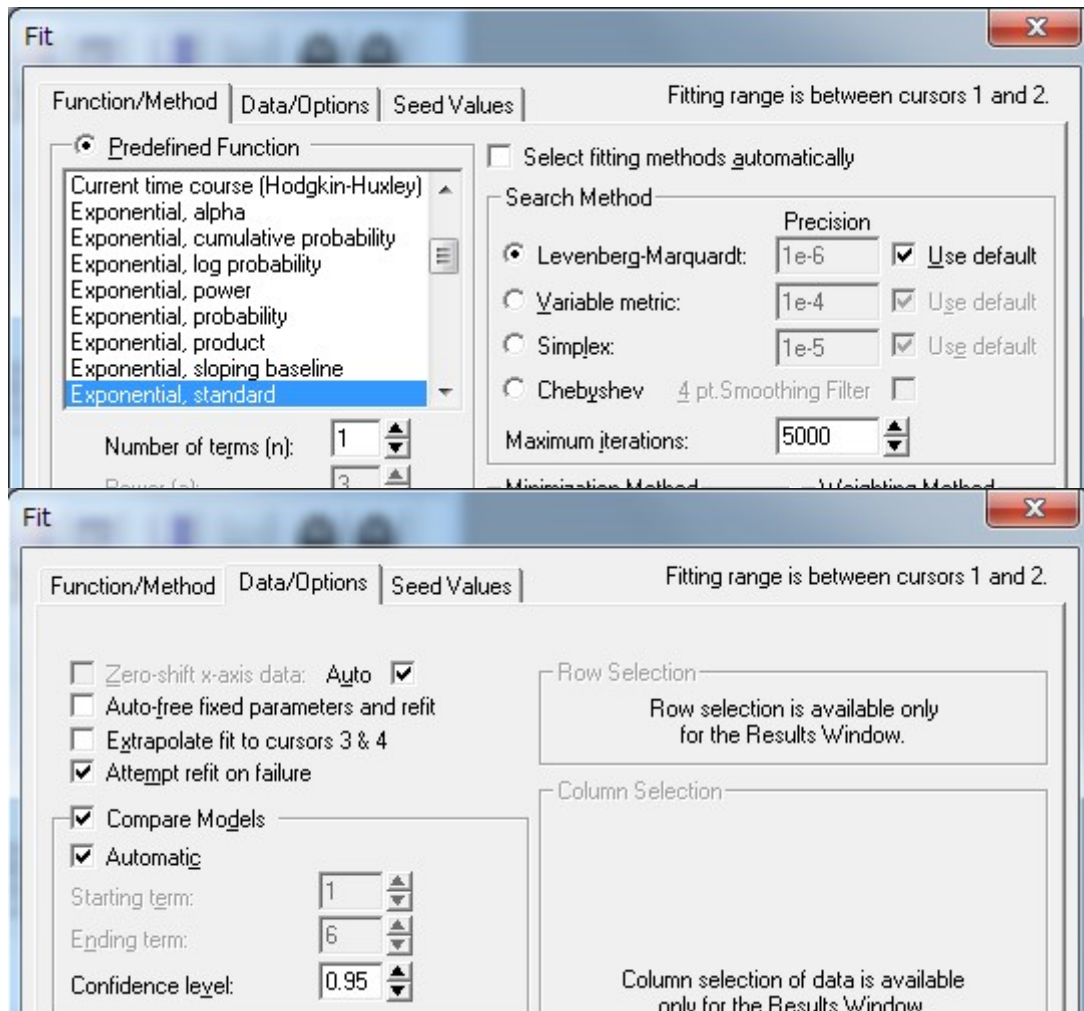


sensillar 電位の急勾配な初期のフェーズの指数関数を調査します。恐らく、この波形は種々の時定数を持ついくつかのプロセスが重なり合っています（1998 を Kaissling する Vermeulen&Rospars 1998）。よって、種々の次数で指数関数をテストし、これらのモデルを比較します。Clampfit はモデルを自動的に比較することができます。フィッティングは一般的に、カーソル 1 と 2 の間の領域で行います。すでに範囲は指定済みです。

1. Function/Method タブの Predefined Function で Exponential, standard を選択します。
2. Select fitting methods automatically を無効にし、Levenberg-Marquardt を選択して、Weighting Method は None を選択します。
3. Data/Options で Compare Models を有効にします。
4. Starting term と Ending terms は自動的に設定され、Confidence level は 95%が適切です。
5. Seed Values タブを確認すると、自動的に作成された推定値を確認、変更することができます。もしオリジナル推定値を変更した場合でも、Auto-Estimate ボタンで復元できます。



6. OK をクリックすると、フィッティングが開始されます。Compare Models の Automatic チェックボックスを有効にすると、高次モデルがフィッティングを改善しない場合は、停止します。もし Ending terms を手動で設定した場合、指定値まで継続します。



**Fit** [X]

Function/Method | Data/Options | **Seed Values** | Fitting range is between cursors 1 and 2.

Seed estimates apply only to the first term if comparing models.

☐ Force proportions positive    ☐ Force time constants positive

	A		tau					
Term 1	-0.0460345	<input type="checkbox"/> Fix	10.5242	<input type="checkbox"/> Fix	0	<input type="checkbox"/> Fix	0	<input type="checkbox"/> Fix
	0	<input type="checkbox"/> Fix	0	<input type="checkbox"/> Fix	0	<input type="checkbox"/> Fix	0	<input type="checkbox"/> Fix
	0	<input type="checkbox"/> Fix	0	<input type="checkbox"/> Fix	0	<input type="checkbox"/> Fix	0	<input type="checkbox"/> Fix
	0	<input type="checkbox"/> Fix	0	<input type="checkbox"/> Fix	0	<input type="checkbox"/> Fix	0	<input type="checkbox"/> Fix
	0	<input type="checkbox"/> Fix	0	<input type="checkbox"/> Fix	0	<input type="checkbox"/> Fix	0	<input type="checkbox"/> Fix
	0	<input type="checkbox"/> Fix	0	<input type="checkbox"/> Fix	0	<input type="checkbox"/> Fix	0	<input type="checkbox"/> Fix

☒ Absolute proportions    ☐ Normalized proportions

**C**

-13.0096	<input type="checkbox"/> Fix	0	<input type="checkbox"/> Fix
----------	------------------------------	---	------------------------------

Multiple Trace Seeding

☒ Seed independently for each trace    ☐ Use results of current trace to seed next

Auto-Estimate    Free All    Graphical

**Fitting Progress**

Status	
Total traces:	1
Trace number:	1
Number of terms:	5
Iteration:	501
Standard deviation:	0.0713838

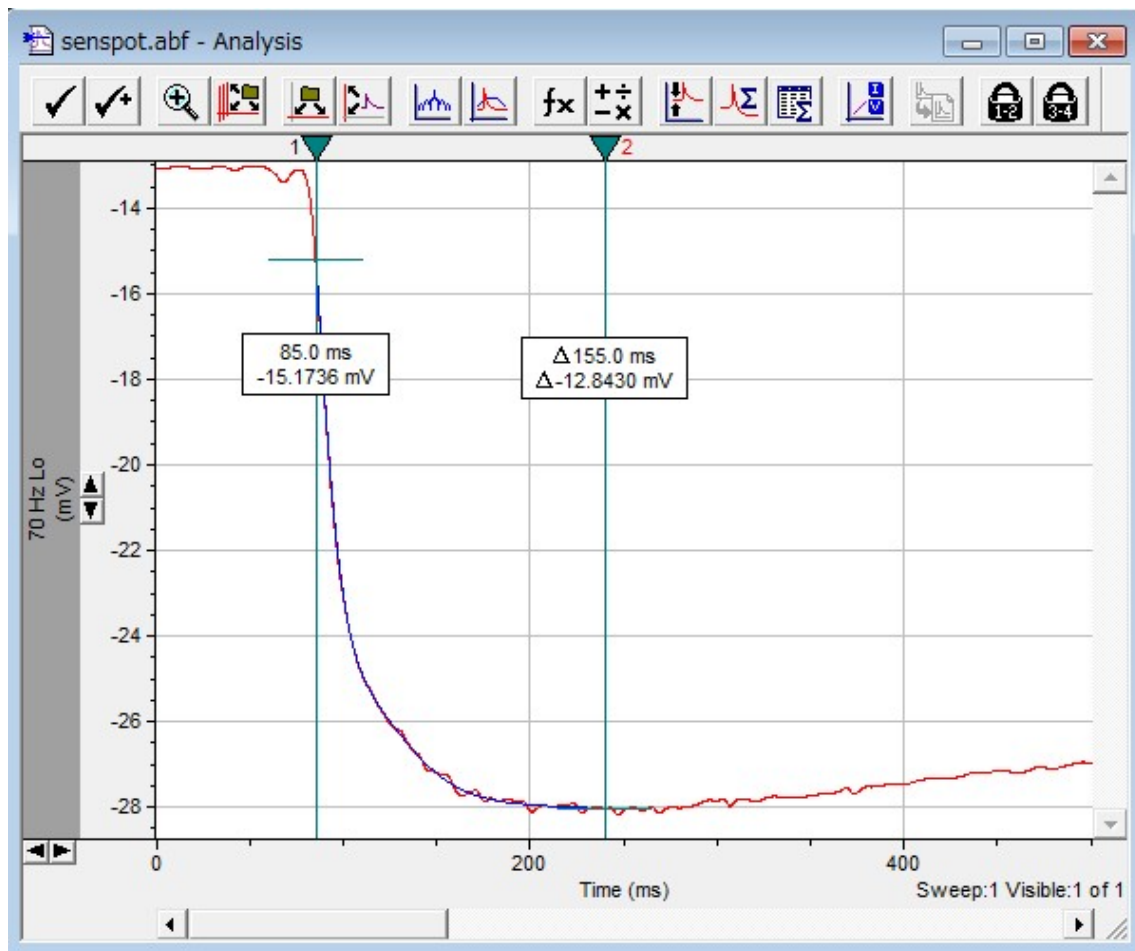
Close

Help

Pause

Skip

Finish



7. Analyze > Fitting Results を選択します。パラメータと統計値は2つのタブに表示されます。ダイアログの下の方にある、Model Number を変更して、各モデルの値を表示できます。Statistics タブの Best Model グループは指定されたフィッティング条件のもとで、2次指数関数がデータに適合していた部分を表示します。

Fitting Results
X

Parameters
Statistics

	A ± S.E.		tau ± S.E.					
Term 1	-5336.25	2.87567	14.2389	0.00609826	0	0	0	0
Term 2	-62.7463	0.481908	-32243.6	2983.16	0	0	0	0
Term 3	-23003	3.06226	12.1344	0.00178631	0	0	0	0
Term 4	15823.6	2.94759	13.3894	0.00313247	0	0	0	0
Term 5	21211.2	3.16984	11.0053	0.00209017	0	0	0	0
Term 6	-8683.05	3.23385	10.3613	0.00290465	0	0	0	0

☒ Absolute proportions  
☐ Normalized proportions

Y(x=0) Intercept = -15.1625  
 c1 Intercept = -15.1625  
 c2 Intercept = -28.0108

C ± S.E.  
 35.041    0.481914

Copy To  

Lab Book

Clipboard

Select  
 Trace number: 

1

  
 Model number: 

6

Close

Help

Fitting Results
X

Parameters
Statistics

Function/Method

Function = Exponential, standard  
 Method = Levenberg-Marquardt  
 Minimization = Sum of squared errors  
 Weighting = None  
 Num params = 13

Number of terms = 6  
 Power a = N/A  
 Power b = N/A  
 Temperature = N/A  
 Valence = N/A

General  
 Precision = 1e-6  
 Free parameters = 13  
 Number of iterations = 2416  
 Correlation coefficient = 0.998  
 Standard deviation = 0.0600916  
 Sum of squared errors = 2.79853  
 Sum of data squared = 544997  
 Number of points = 776  
 Fitting area = 4088.18

Maximum Likelihood  
 Log likelihood estimate = N/A  
 Schwartz criterion = N/A  
 Levenberg-Marquardt  
 Goodness of fit = 1  
 Parameters converged = 13  
 Number derivative calls = 2157  
 Number of SSE calls = 2416  
 Times lambda increased = 1

Fit Status

Successful

Best Model

Best number of terms = Not found  
 Confidence level = 0.95

Models	F-Value	Critical F
1->2	915.522	4.37024
2->3	3.7083	3.23569
3->4	53.0553	2.71314
4->5	31.2164	2.4114
5->6	23.9496	2.21379

Simplex

Max fractional error = N/A

Copy To  

Lab Book

Clipboard

Select  
 Trace number: 

1

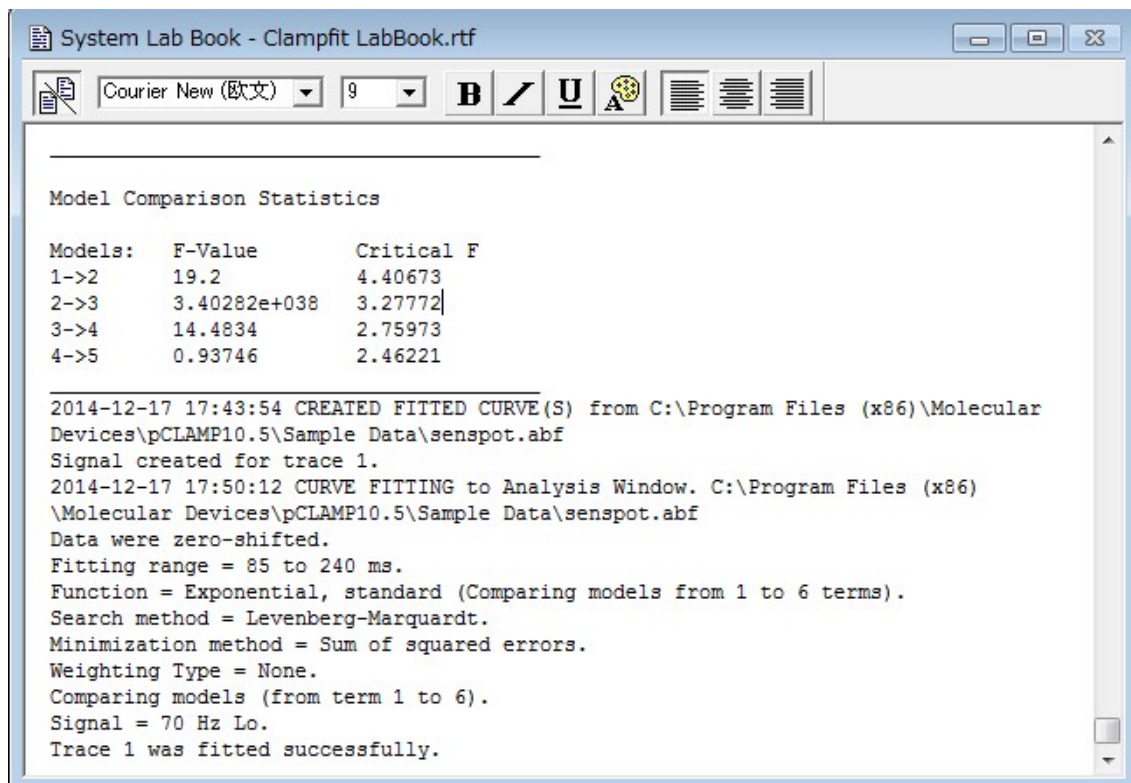
  
 Model number: 

6

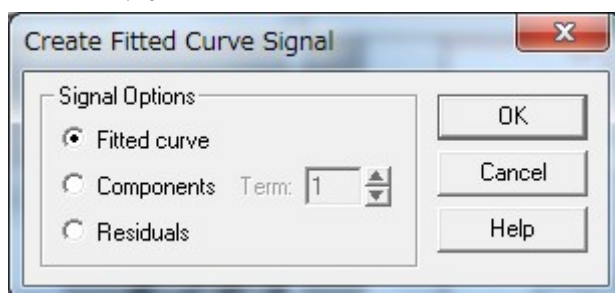
Close

Help

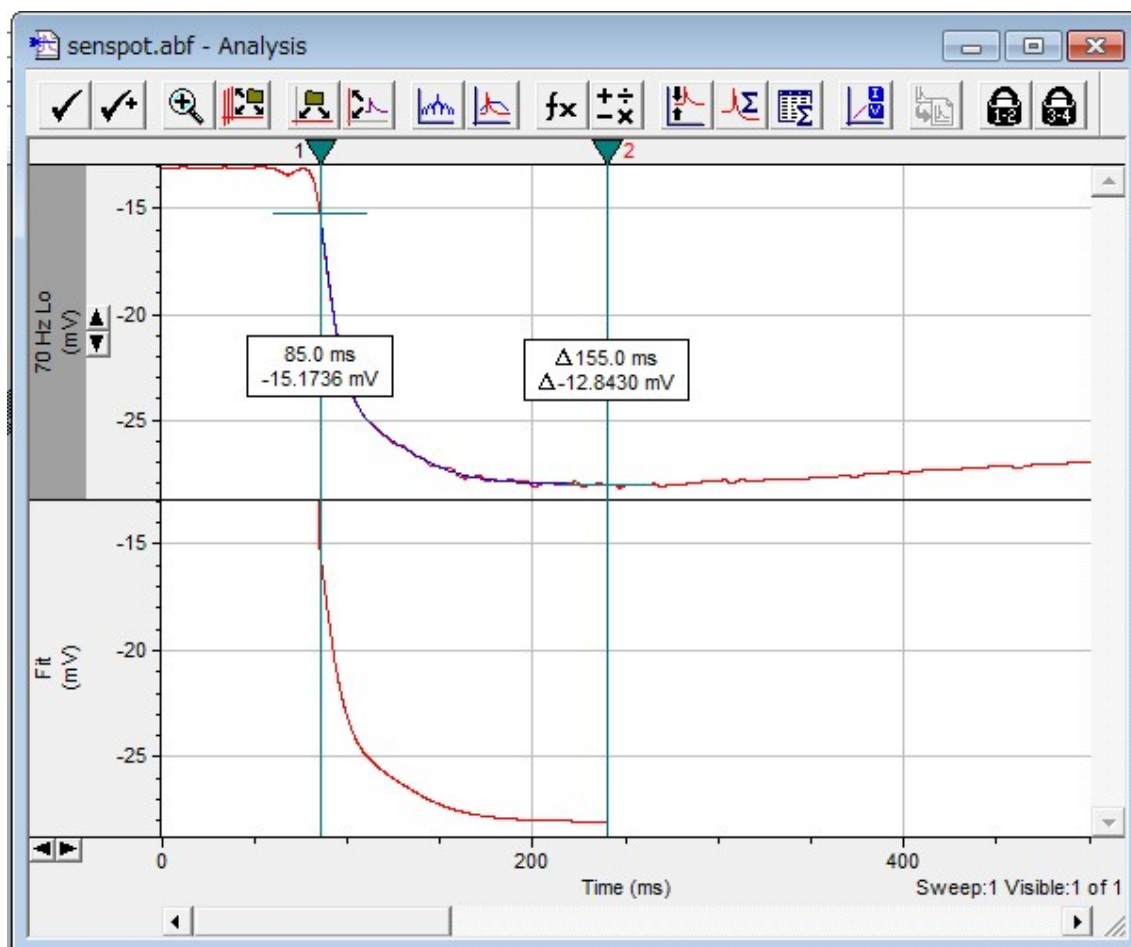
8. Copy to > Clipboard または Lab Book をクリックすると、ダイアログの結果をコピーすることができます。



9. Edit > Create Fitted Curve Signal を選択して、Fitted curve を選択して OK をクリックします。



10. Select Signal で Fit(mV)を表示します。





## 11. 活動電位を分類する (Tutorial - SEPARATING ACTION POTENTIALS BY THEIR SHAPE)

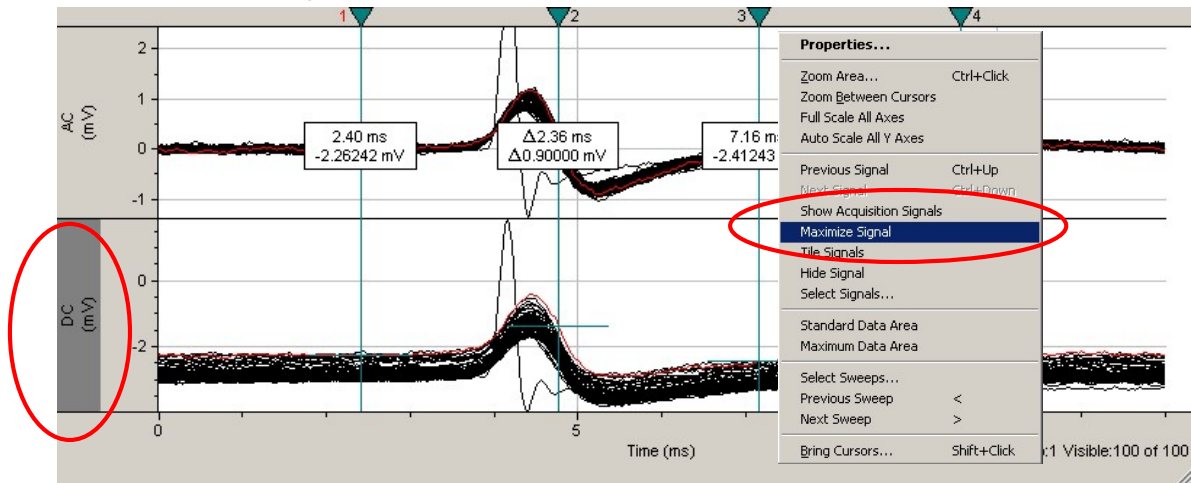
電気生理の記録データには、似たような信号が含まれていることが多く、振幅や反応速度などはわずかに異なります。これらの信号でよく知られている 1 例として、昆虫感覚器 (Frazier & Hanson 1986, Schnuch & Hansen 1990) から記録された、細胞外記録の活動電位があります。

このチュートリアルでは同様の信号において、Clampfit で違いを見分ける方法を示していきます。また、測定パラメータの違いから検定を行って、母集団の分配を行います。そして、最終的には更なる評価のため、2 個の別々のファイルに保存します。

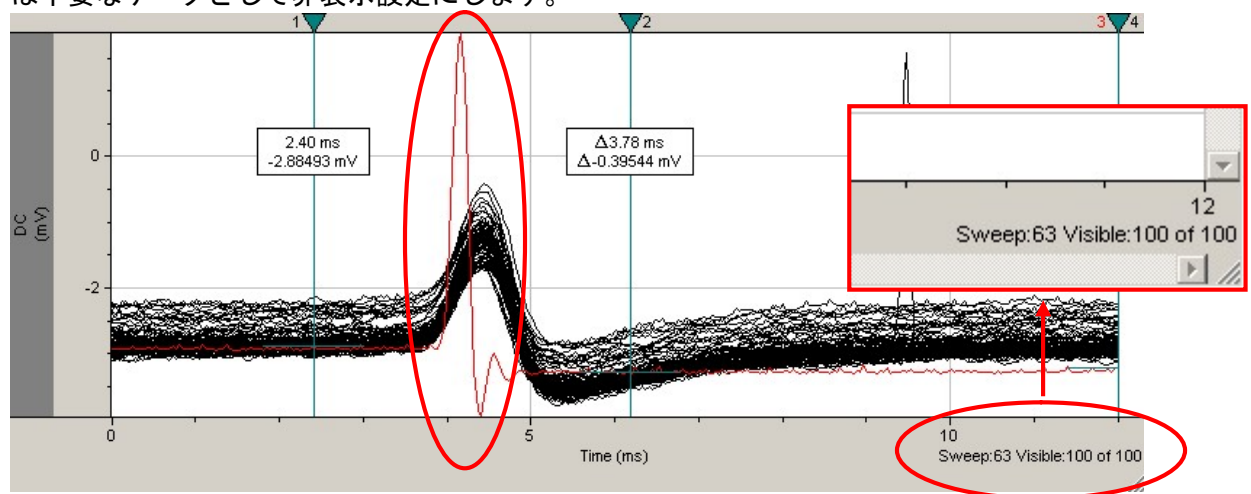
サンプルファイル spikes02.abf を開いてください。このファイルは 2 つの異なったタイプの自発性活動電位を含んでいます。昆虫嗅覚器小感覚体から細胞外で記録されたものです。高速オシロスコープモードで記録されています。Signal AC はハイパスフィルタを通した信号で、トリガーチャンネルとして使用したものです。波形解析において、Signal DC のみ使用します。

### 11.1. アーチファクトを除去する

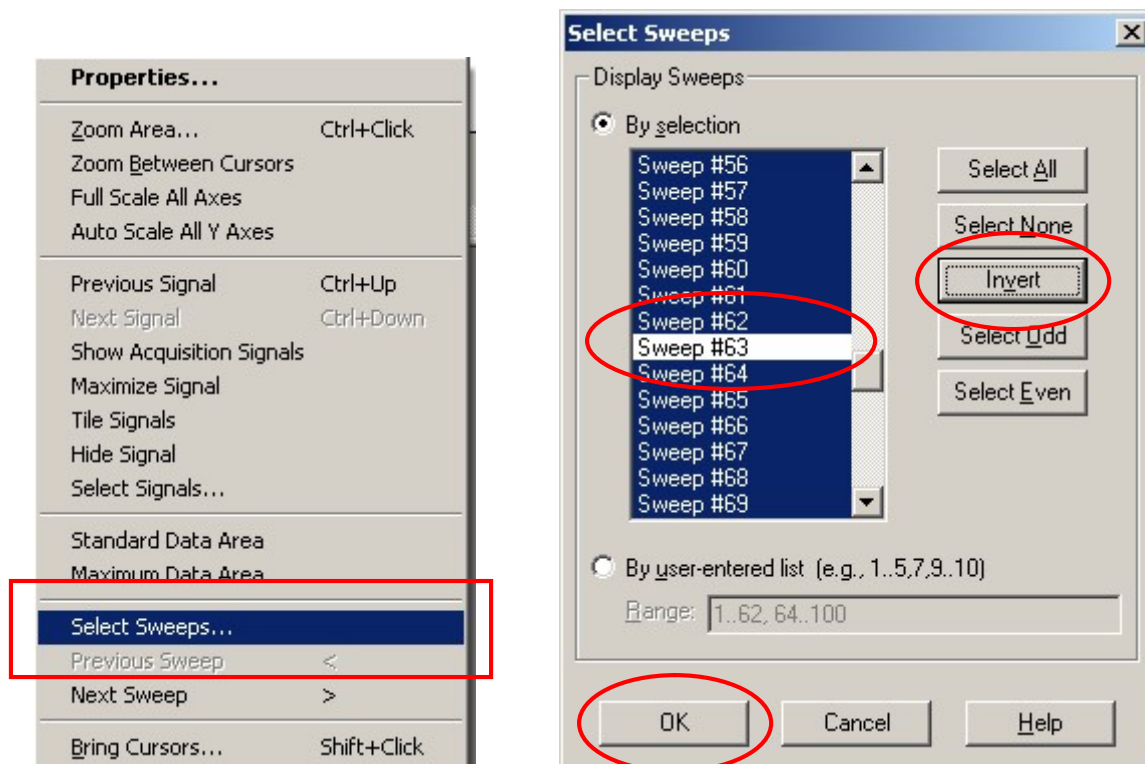
今回は signal DC を使用します。signal DC の波形上で右クリックして Maximize Signal を選択して下さい。signal DC が最大表示されます。



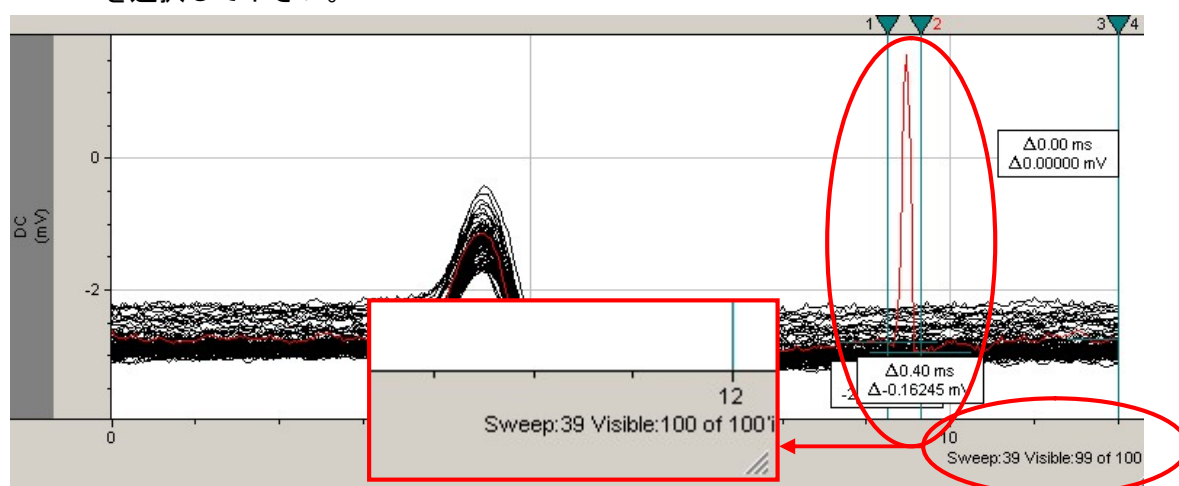
アーチファクトの波形を選択して下さい。右下に Sweep 番号が表示されます。Sweep63 は不要なデータとして非表示設定にします。



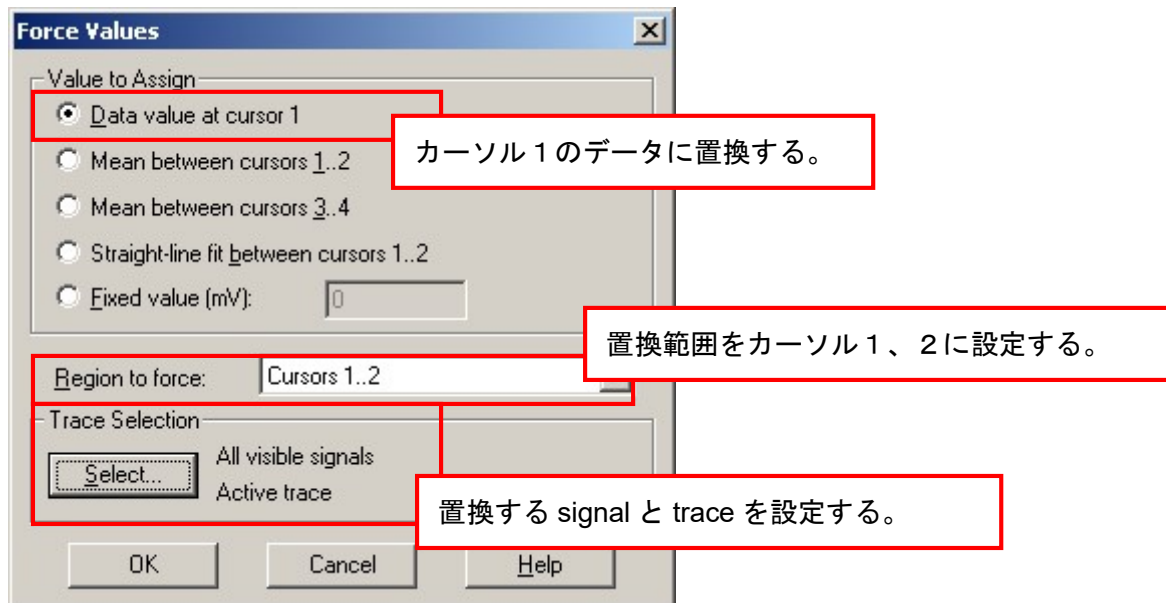
View > Select Sweeps を選択して下さい。もしくは、波形上で右クリックして、Select Sweeps を選択して下さい。Sweep63 を選択して、invert をクリックすると、Sweep63 以外が有効になります。OK をクリックして終了します。



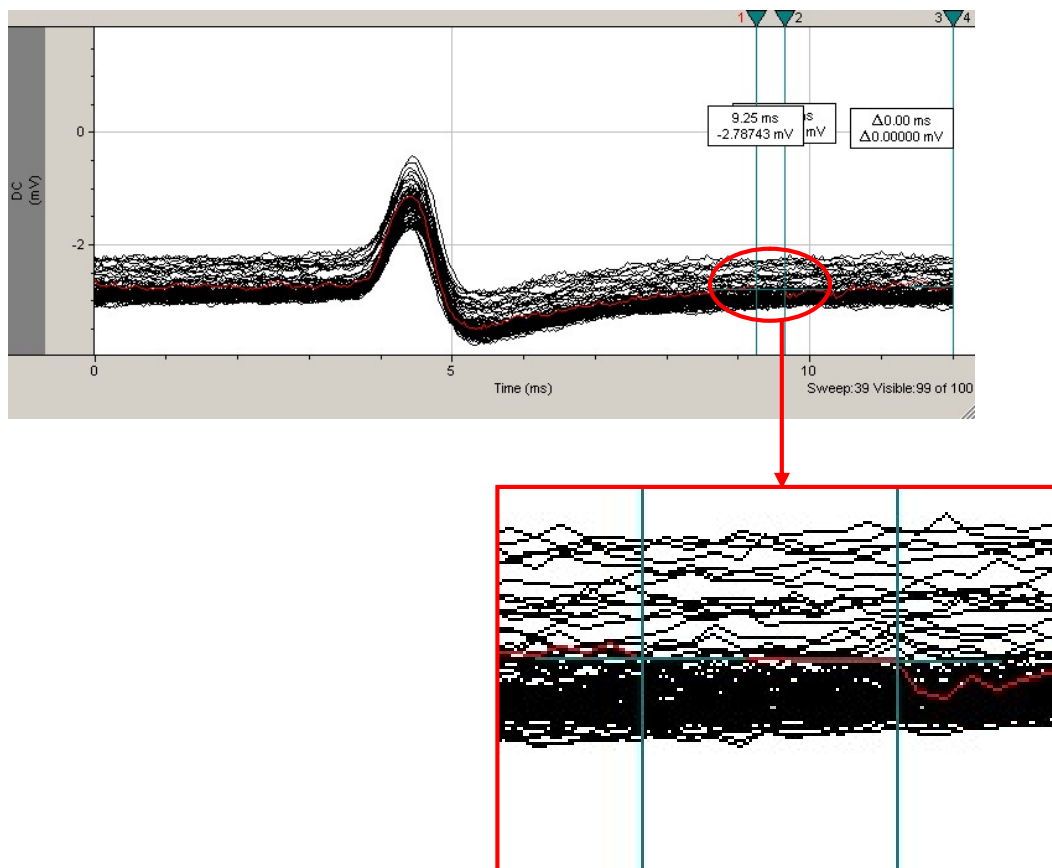
Sweep63 は非表示されます。また、Sweep39 のアーチファクトが Peak 検出の妨げになる場合は削除します。カーソル 1、2 をアーチファクトの範囲に設定し、Analyze > Force Values を選択して下さい。



Force Values はデータを置換する機能です。下図のように設定して、OK をクリックして下さい。

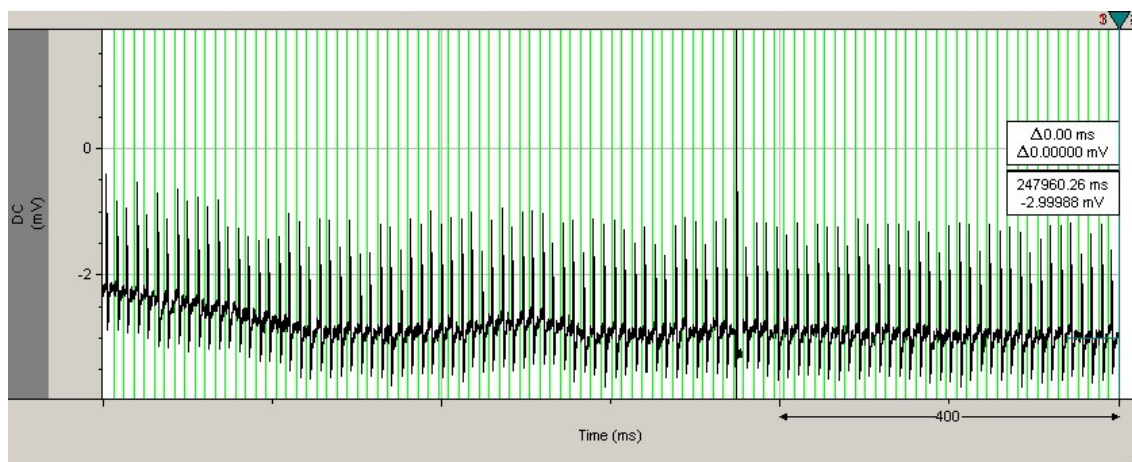


下図のように、Sweep39 のカーソル 1、2 の範囲がカーソル 1 のデータに置換されます。

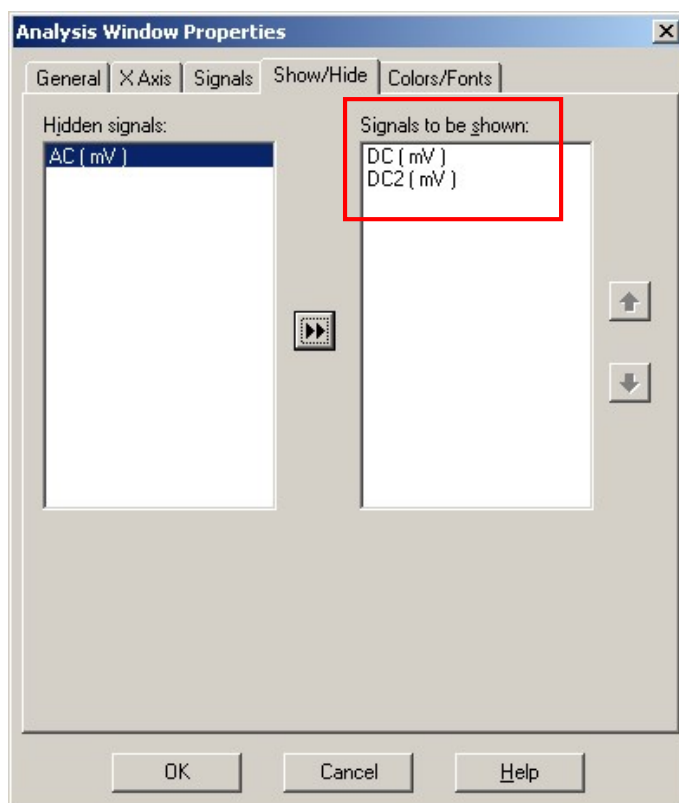


## 11.2. ベースラインの調整

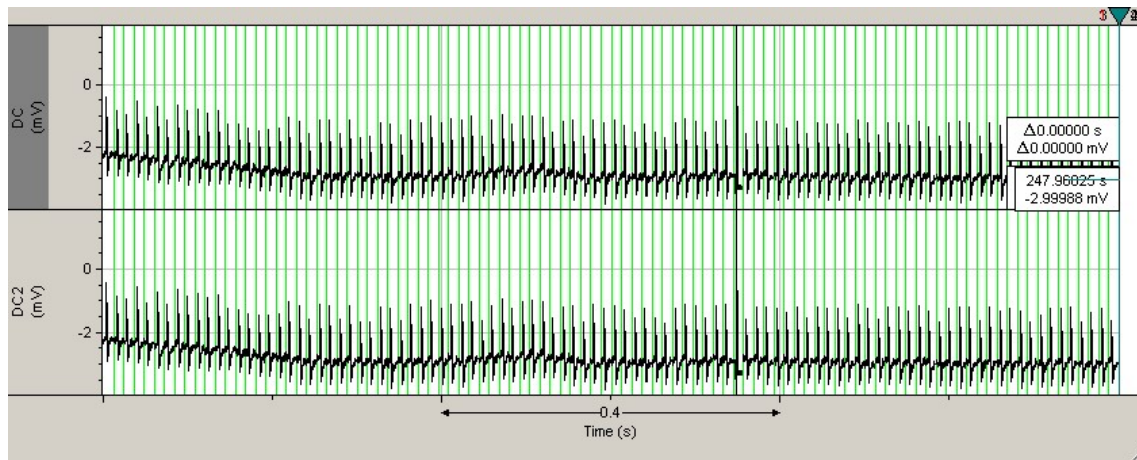
View > Data Display > Concatenated mode を選択して下さい。Sweep 波形が連続した波形表示に切り替わります。下図のようにドリフトしているのが確認できます。



ここではベースラインの調整方法を2つ紹介します。Edit > Create Duplicate Signal を選択して下さい。Create Duplicate Signal は波形のコピーを作成する機能です。波形上を右クリックして Select Signals を選択して下さい。Signals to be shown に DC と DC2 を選択して下さい。

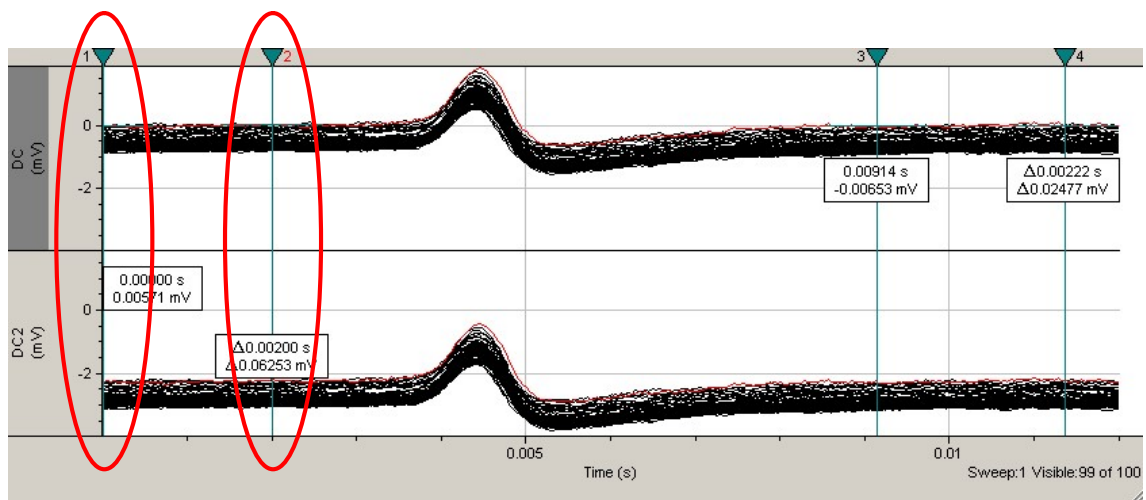


Signal DC は平均値でベースラインを調整し、Signal DC2 はマニュアル操作でベースラインを調整していきます。



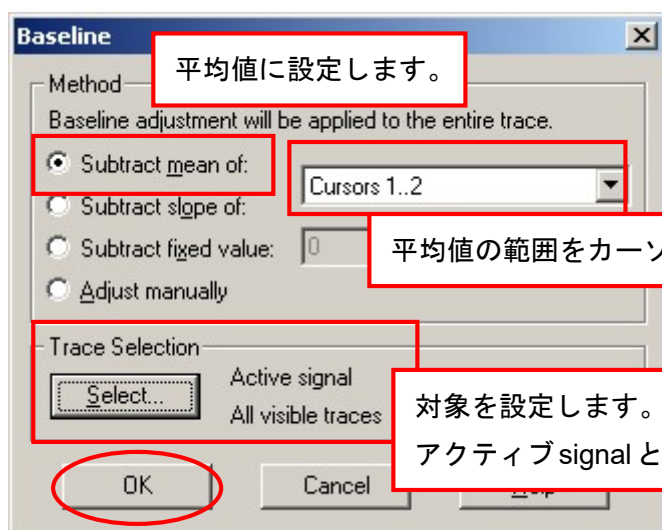
### 11.2.1. 平均値によるベースラインの調整

View > Data Display > Sweeps を選択して Sweep 表示にします。Signal DC を選択し、カーソル 1、2 を下図のように任意のベースライン領域に設定して下さい。

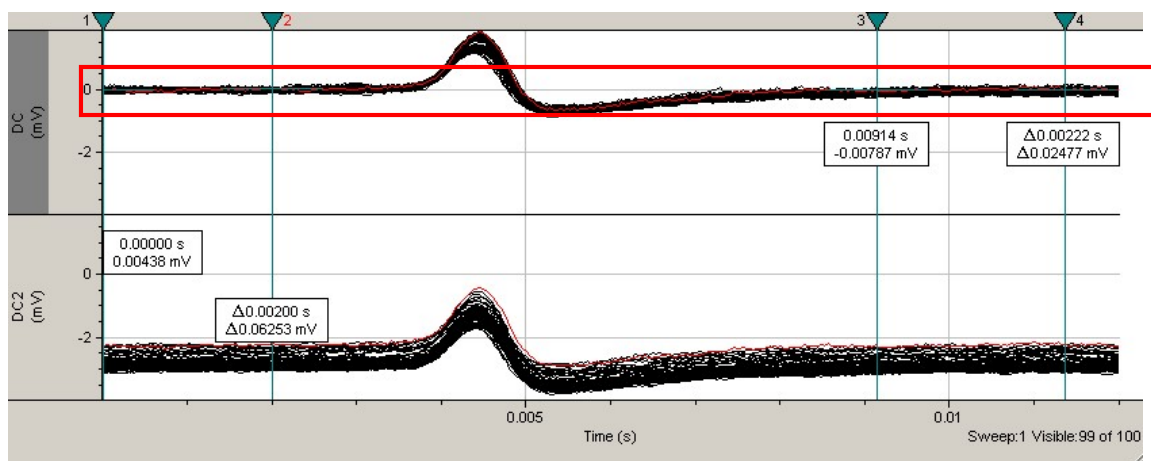




Analyze > Adjust > Baseline を選択して下さい。下図のように設定し、OK をクリックします。

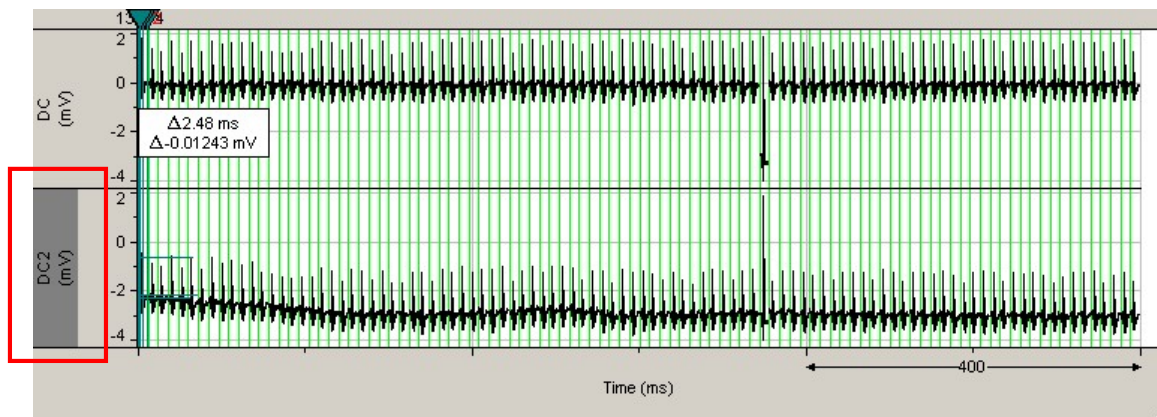


下図のように、ベースラインが調整されたのが確認できます。

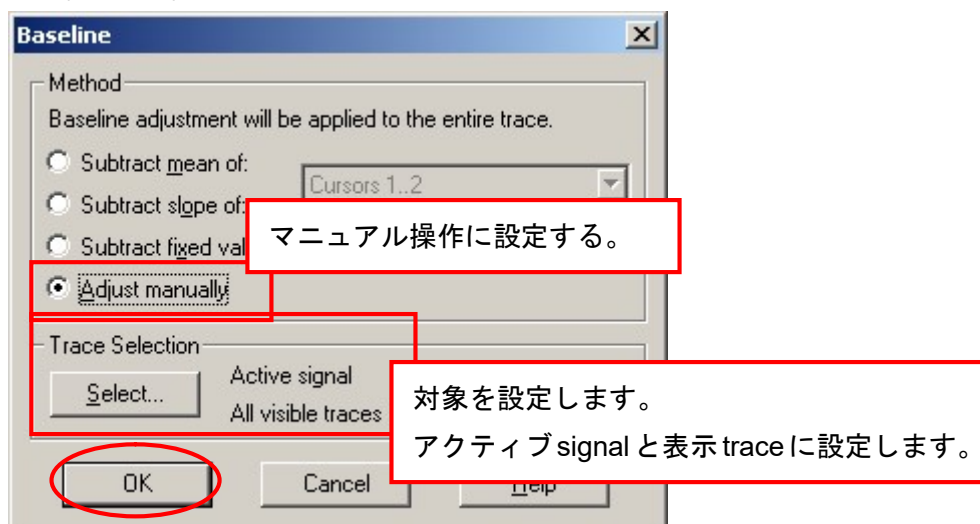


### 11.2.2. マニュアル操作によるベースラインの調整

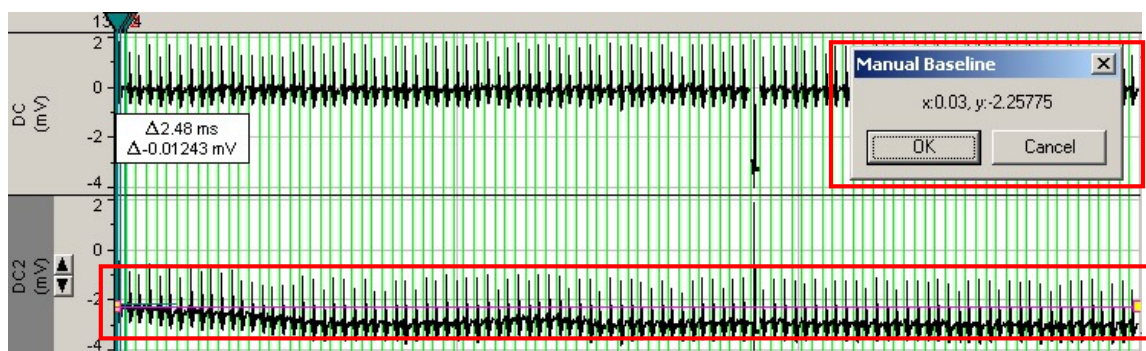
Signal DC2 を選択して、View > Data Display > Concatenated mode を選択して下さい。



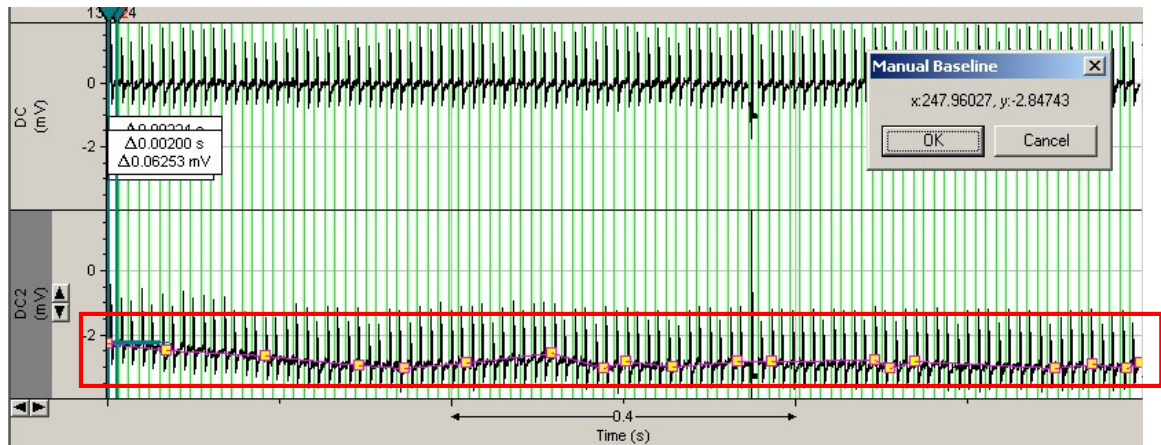
Analyze > Adjust > Baseline を選択し、下図のように設定して OK をクリックします。



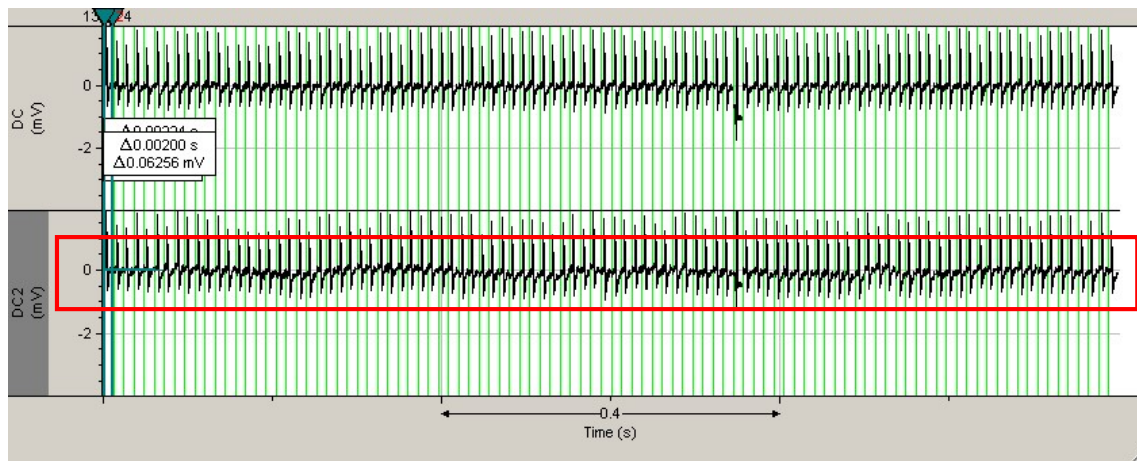
下図のように、ピンク線と座標ウィンドウが表示されます。



ピンク線を下図のように調整します。ピンク線をダブルクリックするとポイントを追加でき、ドラッグで移動することができます。

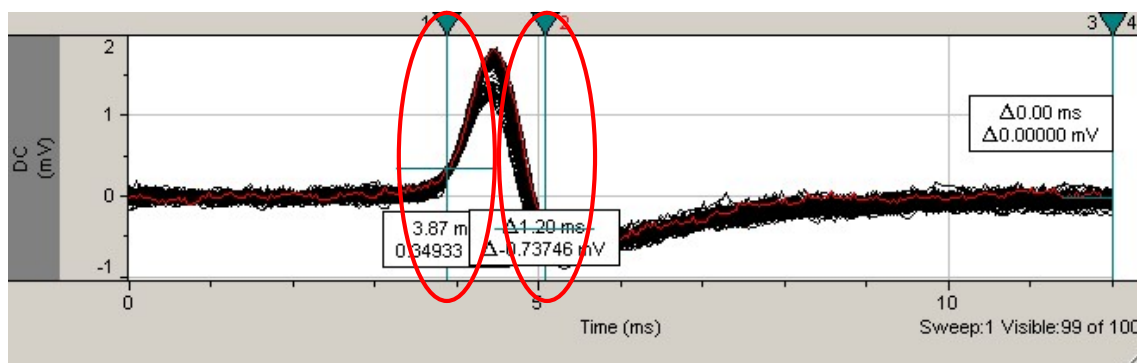


下図のように、ベースラインが調整されたのが確認できます。

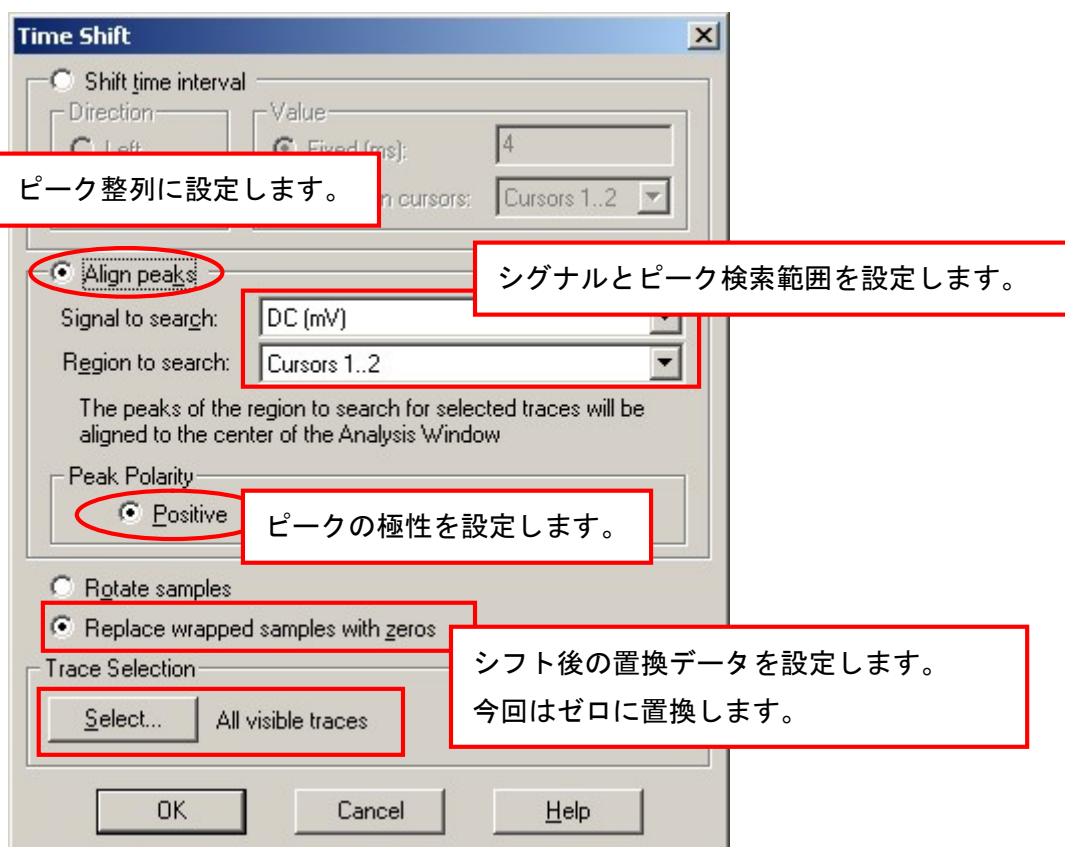


### 11.3. ピークを整列する

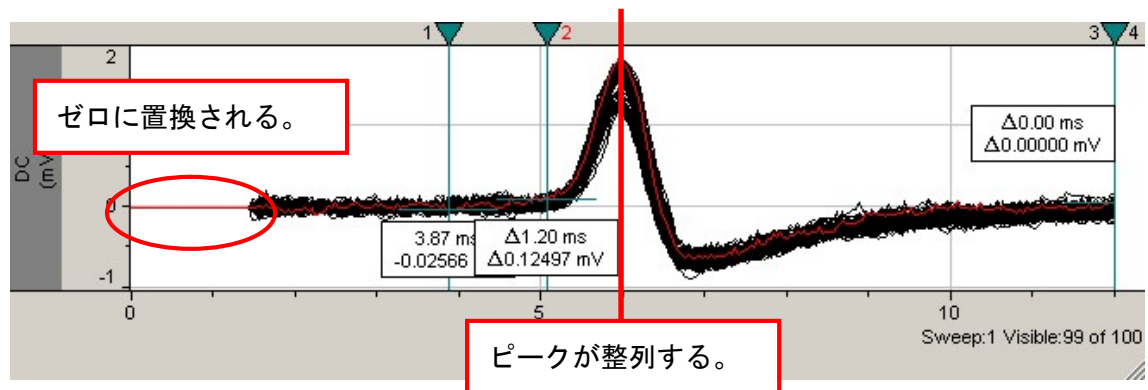
Time Shift でピークを一直線に合わせます。Time Shift は Sweep タイプのファイルをシフトすることができ、数値入力もしくはカーソルで設定できます。今回は Signal DC を使用します。カーソル 1、2 をピーク検索範囲に設定して下さい。



Analyze > Time Shift を選択し、下図のように設定して下さい。



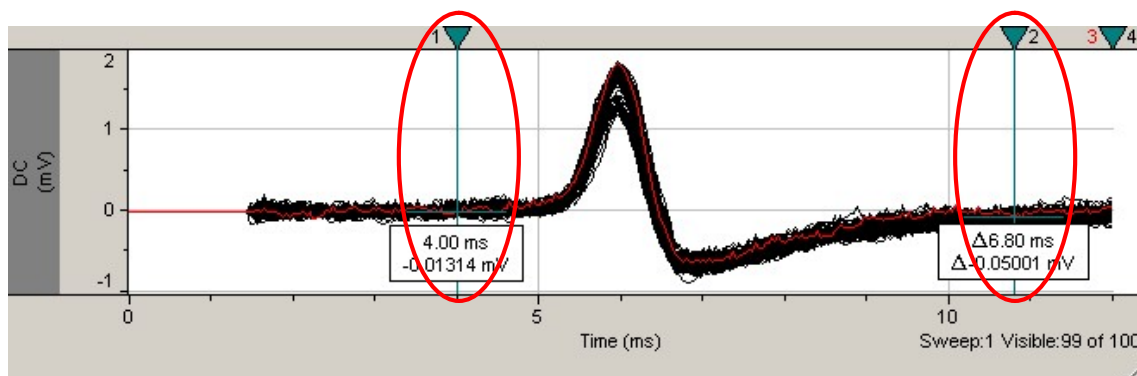
下図のようにピークが整列され、シフト後のデータはゼロに置換されます。





#### 11.4. Peak-to-Peak の計算

カーソル 1、2 を 4ms、10.8ms に設定し、Analyze > Statistics を選択して下さい。



下図のように設定し、OK をクリックして下さい。

Trace Selection

Select... All visible signals All visible traces

Peak Polarity: DC Apply to all signals

☒ Positive-going ☐ Negative-going ☐ Absolute

Baseline Region

☐ Mean level: Cursors 1..2

From (ms): 4 To (ms): 10.8

☒ Fixed at: 0 mV

☒ Search Region 1

Range: Cursors 1..2

From (ms): 4 To (ms): 10.8

Measurements

☒ Peak amplitude (mV)

☒ Time of peak (ms)

☒ Antipeak amplitude (mV)

☒ Time of antipeak (ms)

☐ Mean (mV)

☐ Standard deviation (mV)

☒ Area (mV · ms)

☒ Half-width (ms)

☒ Maximum rise slope (mV/ms)

☒ Time of maximum rise slope (ms)

☒ Maximum decay slope (mV/ms)

☒ Time of maximum decay slope (ms)

☐ Slope (mV/ms)

☐ Baseline (mV)

☐ Rise slope (mV/ms)

☐ Rise time (ms)

☐ Decay slope (mV/ms)

☐ Decay time (ms)

From Min 10 % To Max 90 %

From Max 90 % To Min 50 %

Destination Option

☐ Append results to sheet ☒ Replace results in sheet

Import from Data File Reset All

Column Order

☒ Measurement, Region, Signal

☐ Measurement, Signal, Region

☐ Signal, Region, Measurement

☐ Clampex-style statistics display

☐ Write signal and region information

Smoothing window (samples): 1 = 0.0 ms

OK Cancel Help



Results ウィンドウに解析結果がレポートされます。活動電位は2つのグループに分かれていると考えられます。まず、Peak-to-Peak を評価して2つのグループに分け、その後、他のパラメータを評価します。

Results1 - Results															
	File Name	Trace	Trace Sta	R1S1 Pea	R1S1 Tim	R1S1 Anti	R1S1 Tim	R1S1 Are	R1S1 Half	R1S1 Max	R1S1 Tim	R1S1 Max	R1S1 Tim	R1S1 Max	File Path
1	spikes02.abf	1	0.02	1.8367	5.96	-0.638156	7.04	0.18343	0.64924	4.99828	5.66	-6.24834	6.26	C:\Axon\WD	
2	spikes02.abf	2	823.46	1.41936	5.96	-0.617967	6.8	-0.103111	0.641987	3.4373	5.66	-5.00052	6.3	C:\Axon\WD	
3	spikes02.abf	3	1026.86	1.32358	5.96	-0.638784	7.12	-0.425594	0.65487	3.74816	5.66	-4.68737	6.26	C:\Axon\WD	
4	spikes02.abf	4	4481.1	1.75005	5.96	-0.637312	7.28	-0.153893	0.621163	5.31131	5.74	-6.8746	6.34	C:\Axon\WD	
5	spikes02.abf	5	5487.94	1.24063	5.96	-0.709303	6.84	-0.52583	0.643052	4.06124	5.66	-5.00046	6.26	C:\Axon\WD	
6	spikes02.abf	6	12710.6	1.73234	5.96	-0.692508	7.04	-0.505752	0.655633	4.68743	5.66	-6.56142	6.26	C:\Axon\WD	
7	spikes02.abf	7	15491.5	1.28629	5.96	-0.763652	6.84	-0.68346	0.631906	3.4373	5.66	-5.31355	6.26	C:\Axon\WD	
8	spikes02.abf	8	15746.8	1.72787	5.96	-0.722026	7	-0.333043	0.632154	4.68743	5.62	-6.56374	6.22	C:\Axon\WD	
9	spikes02.abf	9	20659.4	1.62768	5.96	-0.747165	6.96	-0.122212	0.664262	4.68743	5.54	-5.62447	6.34	C:\Axon\WD	
10	spikes02.abf	10	22236	1.66506	5.96	-0.697345	7.04	-0.556334	0.600166	5.31355	5.74	-7.18769	6.34	C:\Axon\WD	
11	spikes02.abf	11	24581.8	1.69389	5.96	-0.580947	6.96	0.14146	0.643876	4.37434	5.58	-7.50078	6.18	C:\Axon\WD	
12	spikes02.abf	12	27090.5	1.67837	5.96	-0.671516	7.4	-0.258115	0.641788	4.37434	5.54	-5.93756	6.34	C:\Axon\WD	
13	spikes02.abf	13	29636.6	1.26996	5.96	-0.642487	6.88	-0.585655	0.598389	3.4373	5.94	-5.31138	6.46	C:\Axon\WD	
14	spikes02.abf	14	36805.1	1.321	5.96	-0.629023	6.84	-0.382374	0.664632	3.12641	5.74	-5.62447	6.34	C:\Axon\WD	
15	spikes02.abf	15	45565.5	1.24227	5.96	-0.657654	6.96	-0.535965	0.674179	2.81335	5.66	-5.31131	6.26	C:\Axon\WD	

R1S1 Area を選択し、Edit > Insert > Columns を選択して下さい。下図のように Column が追加されます。

R1S1 Tim	R1S1 Are	R1S1 Half
7.04	0.18343	0.64924
6.8	-0.103111	0.641987
7.12	-0.425594	0.65487
7.28	-0.153893	0.621163
6.84	-0.52583	0.643052
7.04	-0.505752	0.655633
6.84	-0.68346	0.631906
7	-0.333043	0.632154
6.96	-0.122212	0.664262
7.04	-0.556334	0.600166
6.96	0.14146	0.643876
7.4	-0.258115	0.641788
6.88	-0.585655	0.598389
6.84	-0.382374	0.664632
6.96	-0.535965	0.674179

R1S1 Tim	H	R1S1 Are
7.04		0.18343
6.8		-0.103111
7.12		-0.425594
7.28		-0.153893
6.84		-0.52583
7.04		-0.505752
6.84		-0.68346
7		-0.333043
6.96		-0.122212
7.04		-0.556334
6.96		0.14146
7.4		-0.258115
6.88		-0.585655
6.84		-0.382374
6.96		-0.535965

Column H をダブルクリックして、名前を変更して下さい。

R1S1 Tim	Peak-to-Peak	R1S1 Are
7.04		0.18343
6.8		-0.103111
7.12		-0.425594
7.28		-0.153893
6.84		-0.52583
7.04		-0.505752
6.84		-0.68346
7		-0.333043
6.96		-0.122212
7.04		-0.556334
6.96		0.14146
7.4		-0.258115
6.88		-0.585655
6.84		-0.382374
6.96		-0.535965

Column Rename

Name of column H:

Peak-to-Peak

Previous

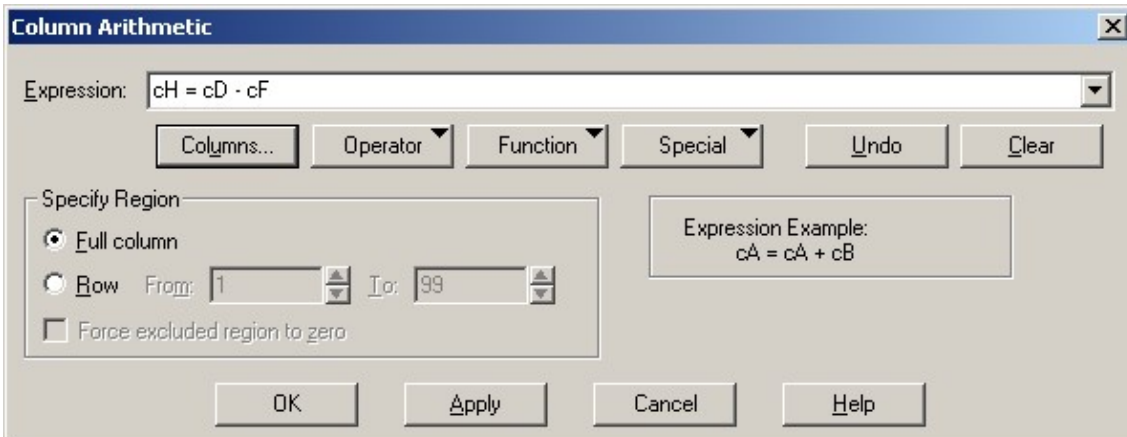
Next

OK

Cancel

Help

Analyze > Column を選択して、Peak-to-Peak = Peak Amplitude – Anti peak Amplitude を計算して下さい。



下図のように、計算結果がレポートされます。

R1S1 Tin	Peak-to-	R1S1 Are	Peak-to-	Peak-to-	R1S1 Are
7.04	2.47485	0.18343	2.47485	1.08	0.18343
6.8	2.03733	-0.103111	2.03733	0.84	-0.103111
7.12	1.96237	-0.425594	1.96237	1.16	-0.425594
7.28	2.38737	-0.153893	2.38737	1.32	-0.153893
6.84	1.94993	-0.52583	1.94993	0.88	-0.52583
7.04	2.42485	-0.505752	2.42485	1.08	-0.505752
6.84	2.04994	-0.68346	2.04994	0.88	-0.68346
7	2.44989	-0.333043	2.44989	1.04	-0.333043
6.96	2.37484	-0.122212	2.37484	1	-0.122212
7.04	2.36241	-0.556334	2.36241	1.08	-0.556334
6.96	2.27483	0.14146	2.27483	1	0.14146
7.4	2.34988	-0.258115	2.34988	1.44	-0.258115
6.88	1.91245	-0.585655	1.91245	0.92	-0.585655
6.84	1.95002	-0.382374	1.95002	0.88	-0.382374
6.96	1.89993	-0.535965	1.89993	1	-0.535965

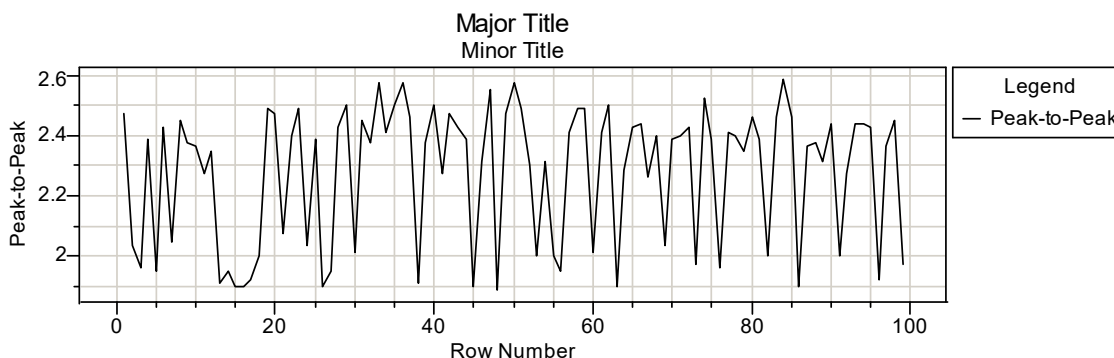
Peak-to-Peak

Peak-to-Peak Time

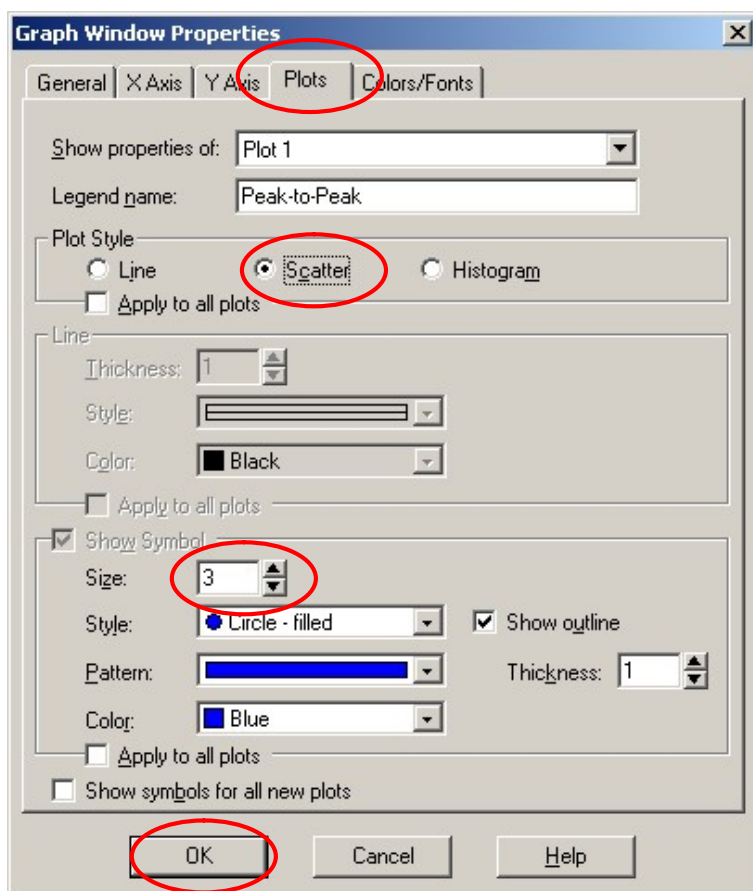
## 11.5. グラフの描画

### 11.5.1. 散布図を描画

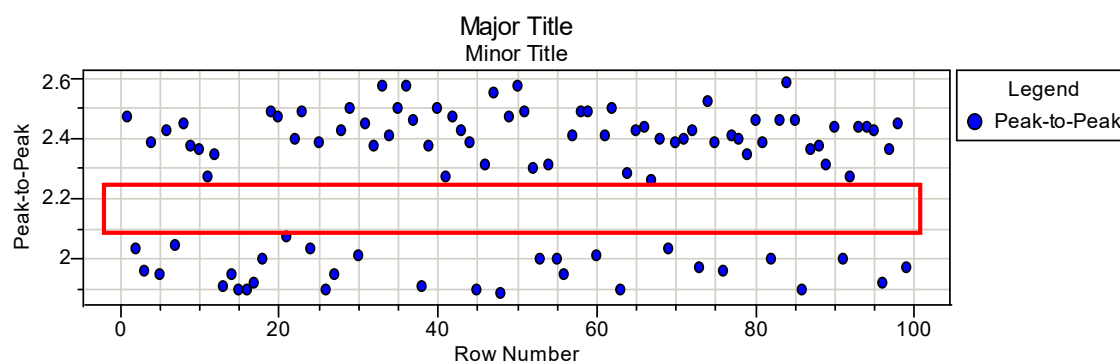
大きな活動電位と小さな活動電位に明確な違いがあれば、散布図で十分区別できます。Results ウィンドウの Statistics シートで「Peak-to-Peak」を選択し、Analyze > Statistics を選択して下さい。下図のようにグラフが表示されます。



View > Window Properties を選択し、Plots タブの Plot Style を Scatter に設定して下さい。見にくい場合は、サイズを変更して下さい。

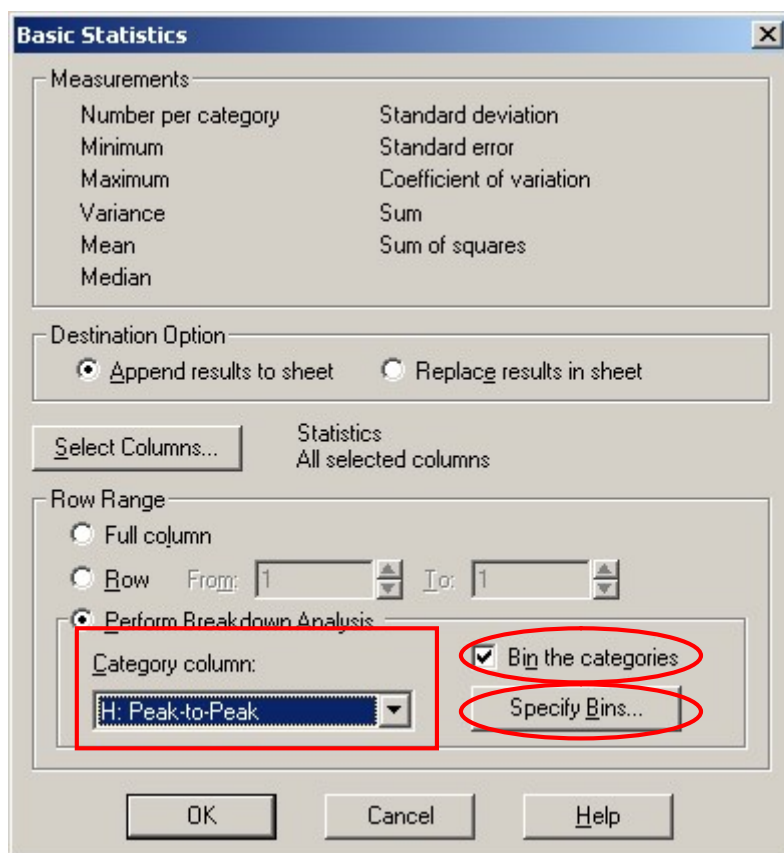


下図のように、ドット表示になります。Peak-to-Peak が 2.10 から 2.25mV 間にはないのは明らかです。散布図でも十分区別がつきます。

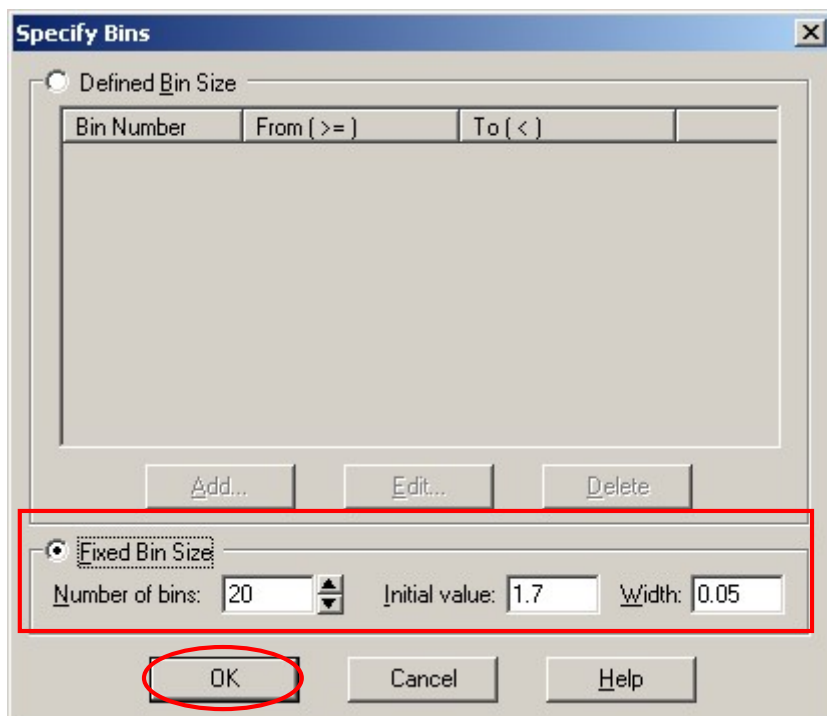


### 11.5.2. ヒストグラムを描画

散布図で区別がつかない場合は、ヒストグラムを作成します。Results ウィンドウの Statistics シートで「Peak-to-Peak」を選択し、Analyze > Basic Statistics を選択して下さい。下図のように設定し、Specify Bins をクリックして下さい。

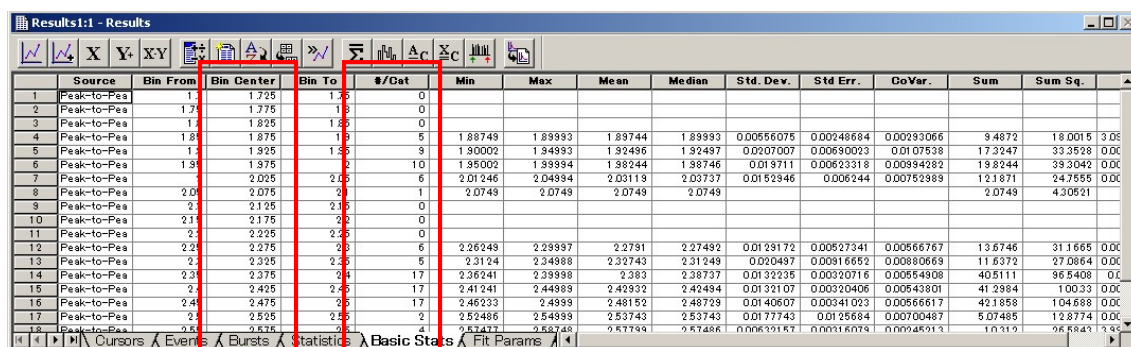


下図のように、Bin を設定し、OK をクリックします。



The 'Specify Bins' dialog box is shown. It has two radio buttons: 'Defined Bin Size' (selected) and 'Fixed Bin Size'. Below 'Defined Bin Size' is a table with columns 'Bin Number', 'From ( >= )', and 'To ( < )'. Below this table are buttons 'Add...', 'Edit...', and 'Delete'. Below the 'Fixed Bin Size' radio button are three input fields: 'Number of bins: 20', 'Initial value: 1.7', and 'Width: 0.05'. At the bottom are buttons 'OK', 'Cancel', and 'Help'. The 'Fixed Bin Size' section and the 'OK' button are highlighted with red boxes.

下図のように、Basic Stats シートに結果がレポートされます。Bin Center と#/Cat を使用してヒトグラムを作成します。#/Cat はカウント数です。



The 'Results:1 - Results' sheet is shown. It contains a table with columns: Source, Bin From, Bin Center, Bin To, #/Cat, Min, Max, Mean, Median, Std. Dev., Std. Err., CoVar., Sum, and Sum Sq. The data is organized into rows for different sources and bins. The 'Bin Center' and '#/Cat' columns are highlighted with red boxes.

Source	Bin From	Bin Center	Bin To	#/Cat	Min	Max	Mean	Median	Std. Dev.	Std. Err.	CoVar.	Sum	Sum Sq.
1 Peak-to-Pea	1.7	1.725	1.75	0									
2 Peak-to-Pea	1.7	1.775	1.8	0									
3 Peak-to-Pea	1.7	1.825	1.85	0									
4 Peak-to-Pea	1.8	1.875	1.9	5	1.88749	1.89993	1.89744	1.89993	0.00566075	0.00248684	0.00293066	9.4872	18.0015
5 Peak-to-Pea	1.8	1.925	1.95	9	1.90002	1.94993	1.92496	1.92497	0.0207007	0.00690023	0.0107538	17.3247	33.3528
6 Peak-to-Pea	1.9	1.975	2.0	10	1.95002	1.99994	1.98244	1.98746	0.019711	0.00623318	0.00994282	19.8244	39.3042
7 Peak-to-Pea	2.0	2.025	2.05	6	2.01246	2.04994	2.03119	2.03737	0.0152946	0.006244	0.00752989	12.1871	24.7555
8 Peak-to-Pea	2.0	2.075	2.1	1	2.0749	2.0749	2.0749	2.0749				2.0749	4.30521
9 Peak-to-Pea	2.1	2.125	2.15	0									
10 Peak-to-Pea	2.1	2.175	2.2	0									
11 Peak-to-Pea	2.2	2.225	2.25	0									
12 Peak-to-Pea	2.2	2.275	2.3	6	2.26248	2.29997	2.2791	2.27492	0.0128172	0.00527341	0.00566767	13.6746	31.1665
13 Peak-to-Pea	2.3	2.325	2.35	5	2.3124	2.34988	2.32743	2.31249	0.020487	0.00816652	0.00880669	11.6372	27.0864
14 Peak-to-Pea	2.3	2.375	2.4	17	2.36241	2.39998	2.383	2.38737	0.0132235	0.00320716	0.0054908	40.5111	86.5408
15 Peak-to-Pea	2.4	2.425	2.45	17	2.41241	2.44989	2.43092	2.42494	0.0132107	0.00320406	0.00543801	41.2984	100.33
16 Peak-to-Pea	2.4	2.475	2.5	17	2.46233	2.4999	2.48152	2.48729	0.0140607	0.00341023	0.00566617	42.1858	104.688
17 Peak-to-Pea	2.5	2.525	2.55	2	2.52486	2.54999	2.53743	2.53743	0.0177743	0.0125684	0.00700487	5.07485	12.8774
18 Peak-to-Pea	2.5	2.575	2.6	4	2.57471	2.58748	2.57999	2.57486	0.00632167	0.00316079	0.0048913	10.315	26.6643



ヒストグラムの X 軸を設定します。Bin Center を選択して、X をクリックして下さい。

**Results1:1 - Results**

Icons: [Line Graph] [Histogram] **X** [Y+] [XY] [List] [Print] [Zoom] [Reset]

	Source	Bin From	Bin Center (x)
1	Peak-to-Pea	1.7	1.725
2	Peak-to-Pea	1.75	1.775
3	Peak-to-Pea	1.8	1.825
4	Peak-to-Pea	1.85	1.875
5	Peak-to-Pea	1.9	1.925
6	Peak-to-Pea	1.95	1.975
7	Peak-to-Pea	2	2.025
8	Peak-to-Pea	2.05	2.075
9	Peak-to-Pea	2.1	2.125
10	Peak-to-Pea	2.15	2.175
11	Peak-to-Pea	2.2	2.225
12	Peak-to-Pea	2.25	2.275
13	Peak-to-Pea	2.3	2.325
14	Peak-to-Pea	2.35	2.375
15	Peak-to-Pea	2.4	2.425
16	Peak-to-Pea	2.45	2.475
17	Peak-to-Pea	2.5	2.525
18	Peak-to-Pea	2.55	2.575

Navigation: [Left] [Right] [Cursors] [Events] [Bursts] [Statistics]

ヒストグラムの Y 軸を設定します。#/Cat を選択して、Y をクリックして下さい。

**Results1:1 - Results**

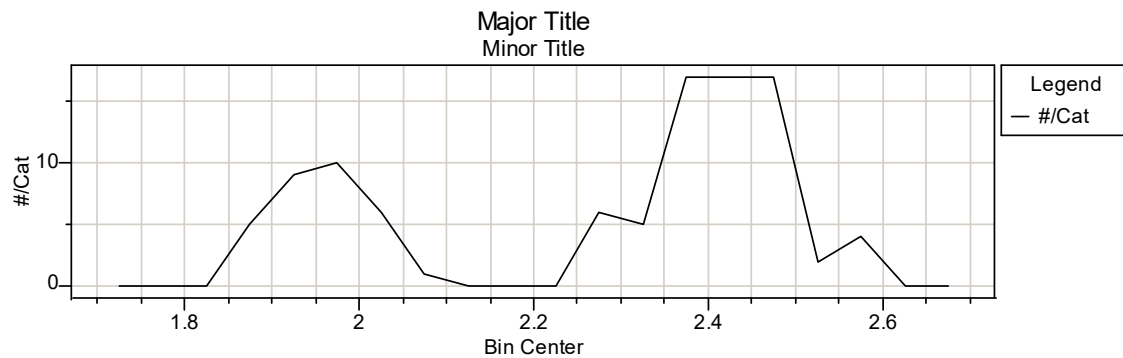
Icons: [Line Graph] [Histogram] [X] **Y+** [XY] [List] [Print] [Zoom] [Reset] [Sum] [Avg] [Max] [Min]

	Source	Bin From	Bin Center (x)	Bin To	#/Cat (y)
1	Peak-to-Pea	1.7	1.725	1.75	0
2	Peak-to-Pea	1.75	1.775	1.8	0
3	Peak-to-Pea	1.8	1.825	1.85	0
4	Peak-to-Pea	1.85	1.875	1.9	5
5	Peak-to-Pea	1.9	1.925	1.95	9
6	Peak-to-Pea	1.95	1.975	2	10
7	Peak-to-Pea	2	2.025	2.05	6
8	Peak-to-Pea	2.05	2.075	2.1	1
9	Peak-to-Pea	2.1	2.125	2.15	0
10	Peak-to-Pea	2.15	2.175	2.2	0
11	Peak-to-Pea	2.2	2.225	2.25	0
12	Peak-to-Pea	2.25	2.275	2.3	6
13	Peak-to-Pea	2.3	2.325	2.35	5
14	Peak-to-Pea	2.35	2.375	2.4	17
15	Peak-to-Pea	2.4	2.425	2.45	17
16	Peak-to-Pea	2.45	2.475	2.5	17
17	Peak-to-Pea	2.5	2.525	2.55	2
18	Peak-to-Pea	2.55	2.575	2.6	4

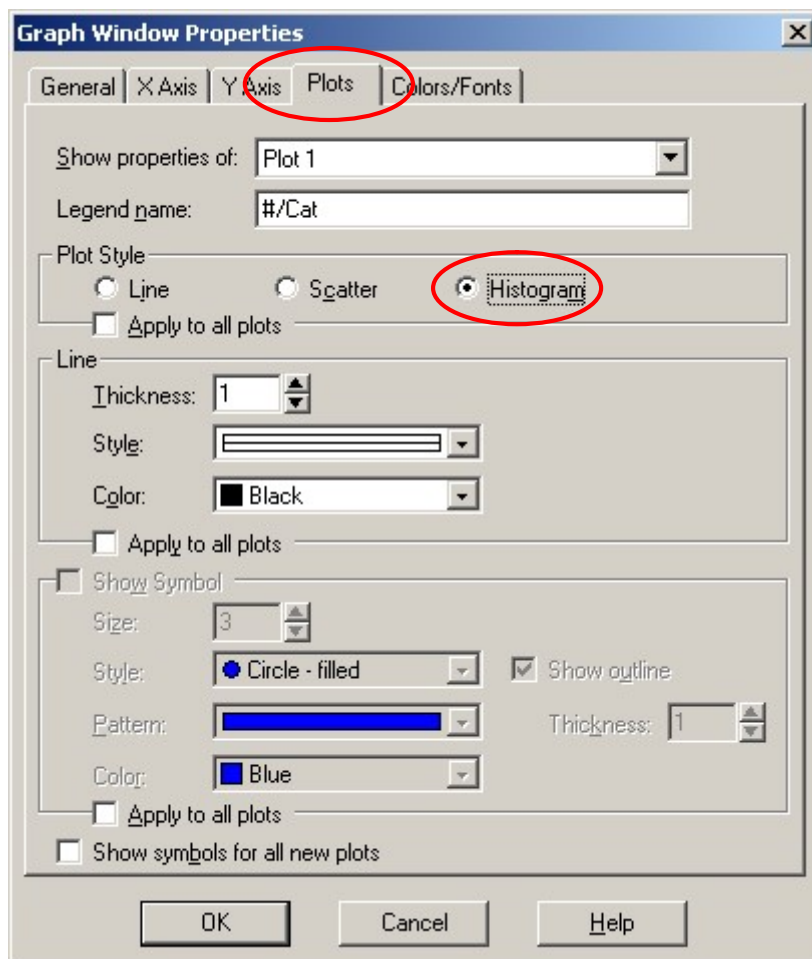
Navigation: [Left] [Right] [Cursors] [Events] [Bursts] [Statistics] **Basic Stats**



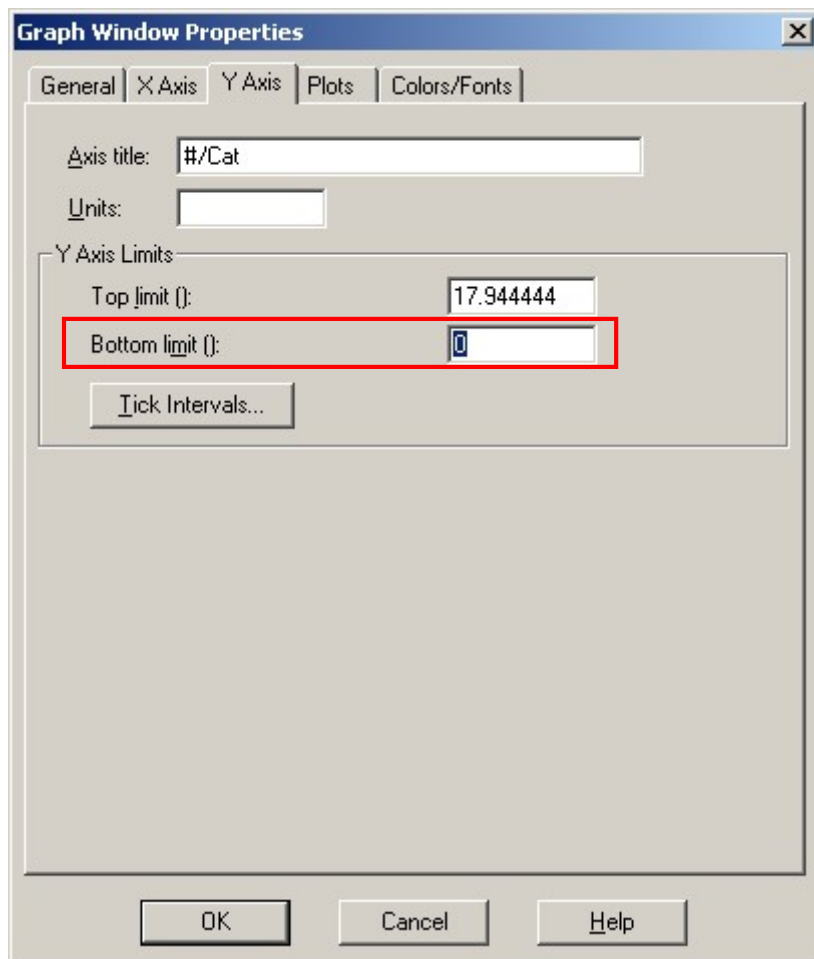
Analyze > Create Graph を選択すると、下図のようにヒストグラムが表示されます。



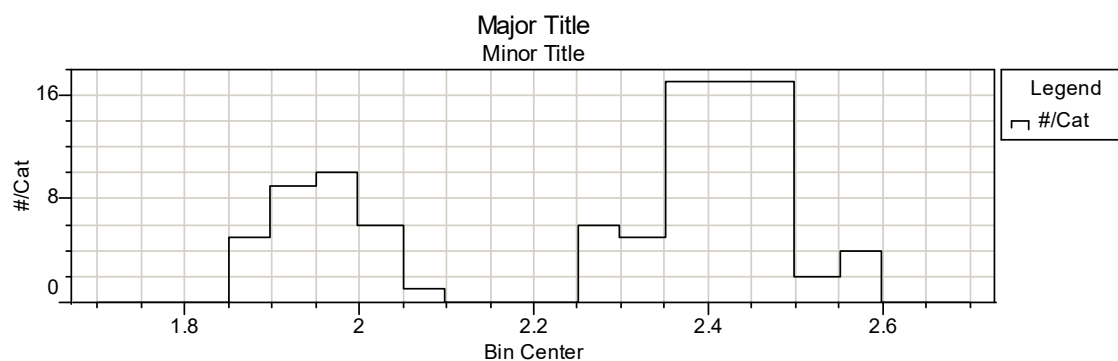
View > Window Properties を選択し、Plots タブの Plot Style を Histogram に設定して下さい。



Y Axis タブの Y Axis Limits の Bottom limits をゼロに設定して下さい。



下図のように表示されます。



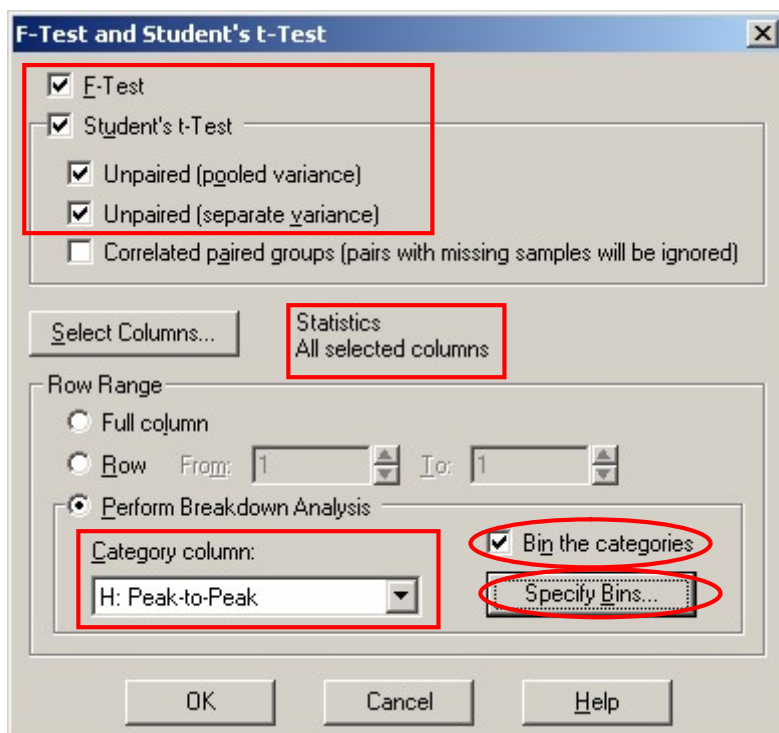
## 11.6. F-test & t-Test

2つの異なるサイズのサンプルを比較し、検定を行います。検定にはF-Test followed, Student's t-Test, Mann-Whitney U-Test, One-Way ANOVA (Sokal & Rohlf 1981)などがありますが、ここではF-Test followed, Student's t-Test を紹介します。

Results ウィンドウの Statistics シートの「R1S1 Peak Amp」から「R1S1 Half width」を選択し、Analyze > F-Test and Student's t-Test を選択して下さい。

Trace Start	R1S1 Peak	R1S1 Time	R1S1 Antip	R1S1 Time	Peak-to-P	R1S1 Area	R1S1 Half-	R1S1 Max R
0.00	1.83253	5.96	-0.642321	7.04	2.47485	0.154944	0.648302	4.99828
823.46	1.42628	5.96	-0.611048	6.8	2.03733	-0.0557836	0.644571	3.4373
1026.86	1.32123	5.96	-0.641138	7.12	1.96237	-0.441692	0.653848	3.74816
4481.1	1.7479	5.96	-0.639471	7.28	2.38737	-0.168659	0.620683	5.31131
5487.94	1.26047	5.96	-0.689459	6.84	1.94993	-0.390097	0.649466	4.06124
12710.6	1.73506	5.96	-0.689785	7.04	2.42485	-0.487126	0.656153	4.68743
15491.5	1.28121	5.96	-0.768732	6.84	2.04994	-0.718212	0.630266	3.4373
15746.8	1.73141	5.96	-0.718489	7	2.44989	-0.30885	0.632845	4.68743
20659.4	1.63479	5.96	-0.740057	6.96	2.37484	-0.0735915	0.667205	4.68743
22236.8	1.67177	5.96	-0.690641	7.04	2.36241	-0.51048	0.601417	5.31355
24581.8	1.68597	5.96	-0.588862	6.96	2.27483	0.0873211	0.642268	4.37434

下図のように設定し、Specify Bins をクリックして下さい。



**F-Test and Student's t-Test**

☒ F-Test

☒ Student's t-Test

☒ Unpaired (pooled variance)

☒ Unpaired (separate variance)

☐ Correlated paired groups (pairs with missing samples will be ignored)

Select Columns... **Statistics**  
All selected columns

Row Range

☐ Full column

☐ Row From: 1 To: 1

☒ Perform Breakdown Analysis

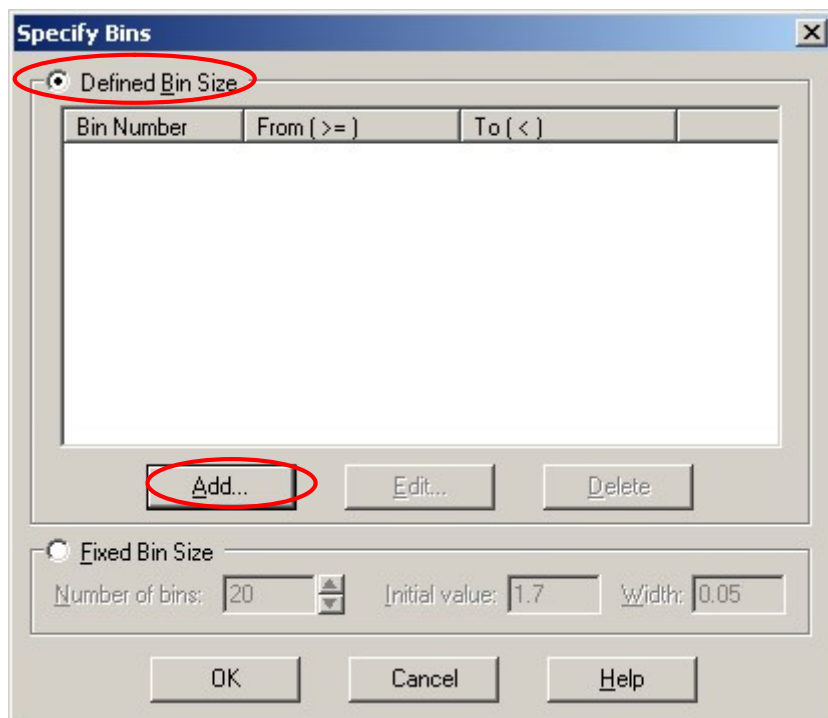
Category column:  
H: Peak-to-Peak

☒ Bin the categories

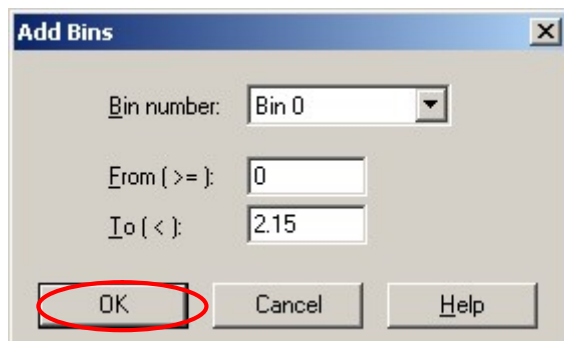
**Specify Bins...**

OK Cancel Help

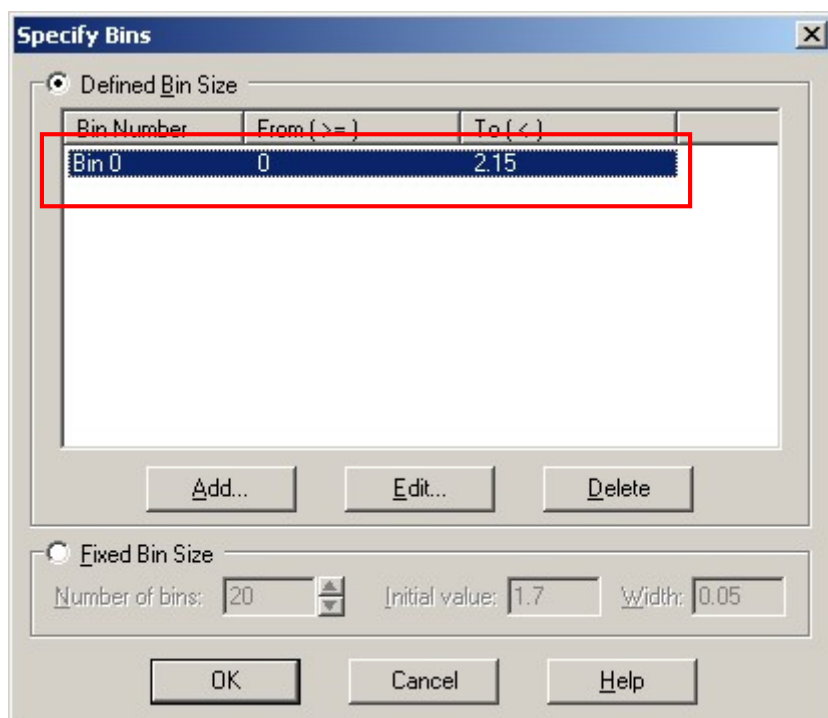
Defined Bin Size を選択し、Add をクリックして下さい。



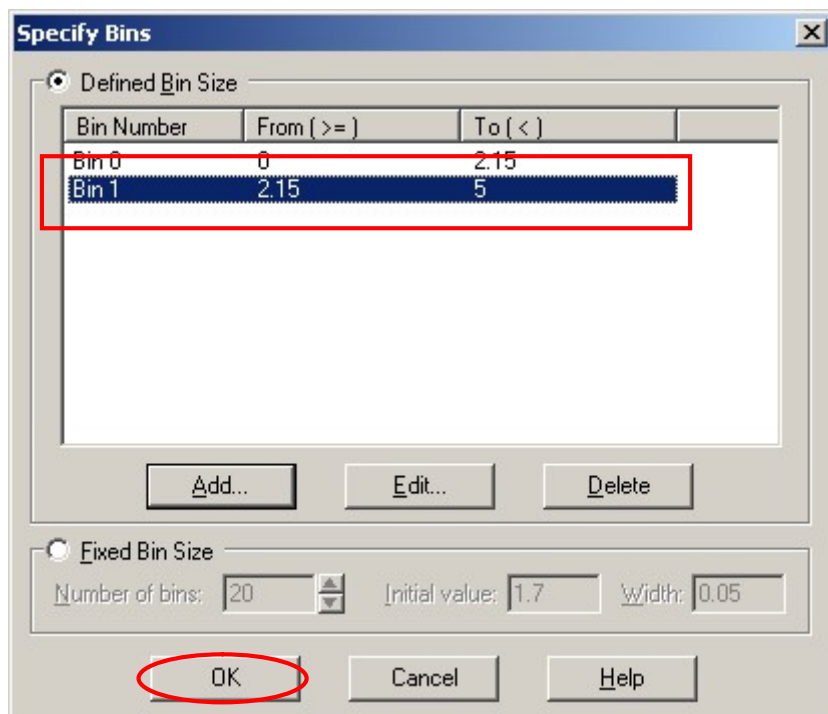
下図のように設定し、OK をクリックします。



Bin0 が追加されます。









同様に Bin1 を追加して、OK をクリックして下さい。



Lab Book に結果がレポートされます。

System Lab Book - clampfit LabBook.rtf

Courier New (欧文) 9 **B** / U      

\*\*\*\*\* F-Test and t-Test Results \*\*\*\*\*

D: RIsI Peak Amp (mV)	0<=Bin 0<2.15	2.15<=Bin 1<5
Sample size (unpaired)	31	68
Mean	1.3125	1.7044
Variance	0.0039	0.0048
Degrees of freedom	30	67

=====

F-Value	1.2437
Probability	0.5167

=====

	t-Value	Probability (2-tail)	Degrees of freedom
Unpaired (pooled var.)	-26.8643	0.0000	97
Unpaired (separate var.)	-27.9891	0.0000	64

=====

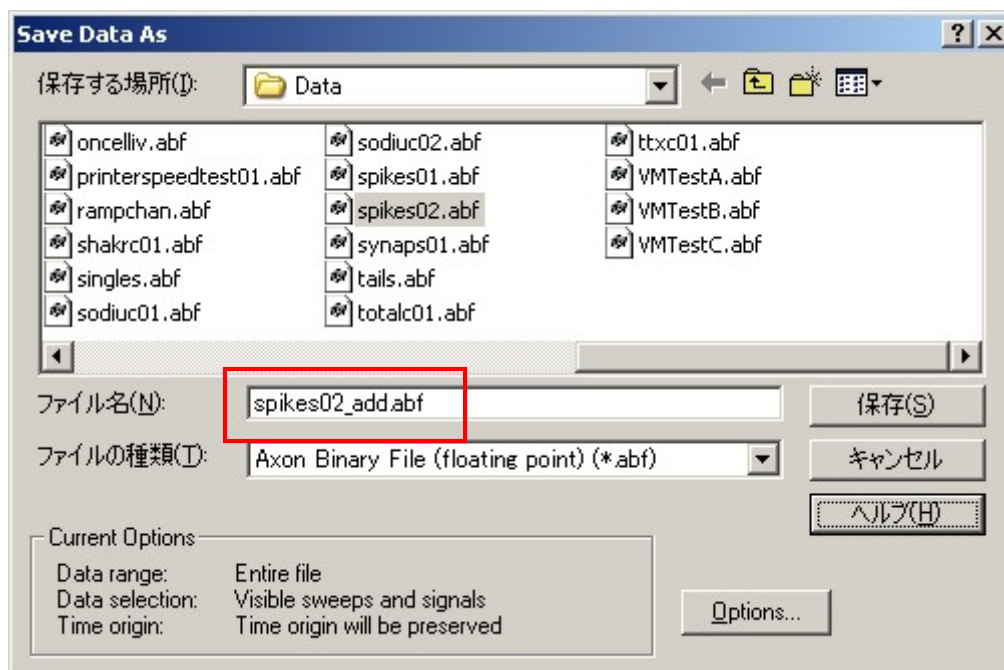
E: RIsI Time of Peak (ms)	0<=Bin 0<2.15	2.15<=Bin 1<5
Sample size (unpaired)	31	68
Mean	5.0600	5.0600



## 11.7. グループ分けデータの保存

2 つに分けられたサンプルを別ファイルに保存します。F-Test では 1-31, 32-99 の母集団に分けられたので、32 を区切りにして別ファイルに保存します。

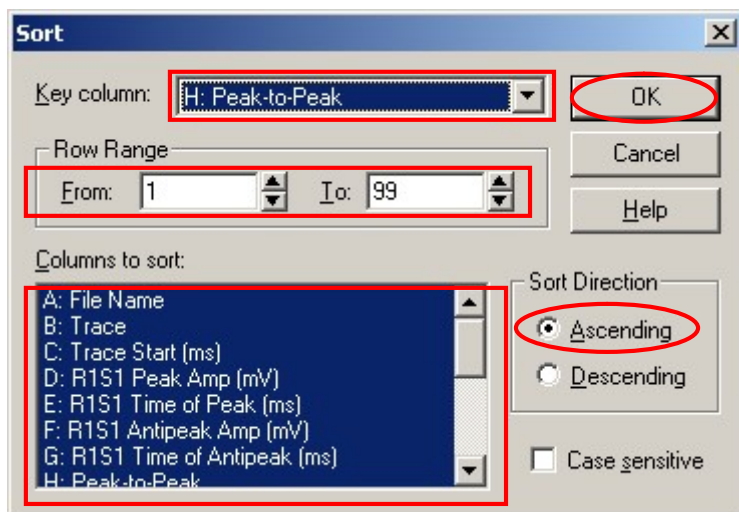
File > Save As を選択して、今までにベースラインなどを調整したデータを別名で保存しておきます。



Results ウィンドウの Statistics シートで Peak-to-Peak を選択します。

R1S1	Tim	Peak-to-	Peak-to-
7.04		2.47485	1.08
6.8		2.03733	0.84
7.12		1.96237	1.16
7.28		2.38737	1.32
6.84		1.94993	0.88
7.04		2.42485	1.08
6.84		2.04994	0.88
7		2.44989	1.04
6.96		2.37484	1
7.04		2.36241	1.08
6.96		2.27483	1
7.4		2.34988	1.44
6.88		1.91245	0.92
6.84		1.95002	0.88
6.96		1.89993	1

Analyze > Sort を選択します。下図のように設定して、OK をクリックします。



下図のように、並び替えられます。

R1S1 Tim	Peak-to-	Peak-to-
6.76	1.88749	0.8
6.84	1.89993	0.88
6.96	1.89993	1
6.96	1.89993	1
6.76	1.89993	0.8
6.76	1.90002	0.8
7.04	1.90002	1.08
6.88	1.91245	0.92
6.88	1.91245	0.92
7.04	1.92497	1.08
6.96	1.92497	1
6.84	1.94993	0.88
6.84	1.94993	0.88
6.76	1.94993	0.8
6.84	1.95002	0.88

Row 32 を選択し、Edit > Insert > Row を選択して下さい。

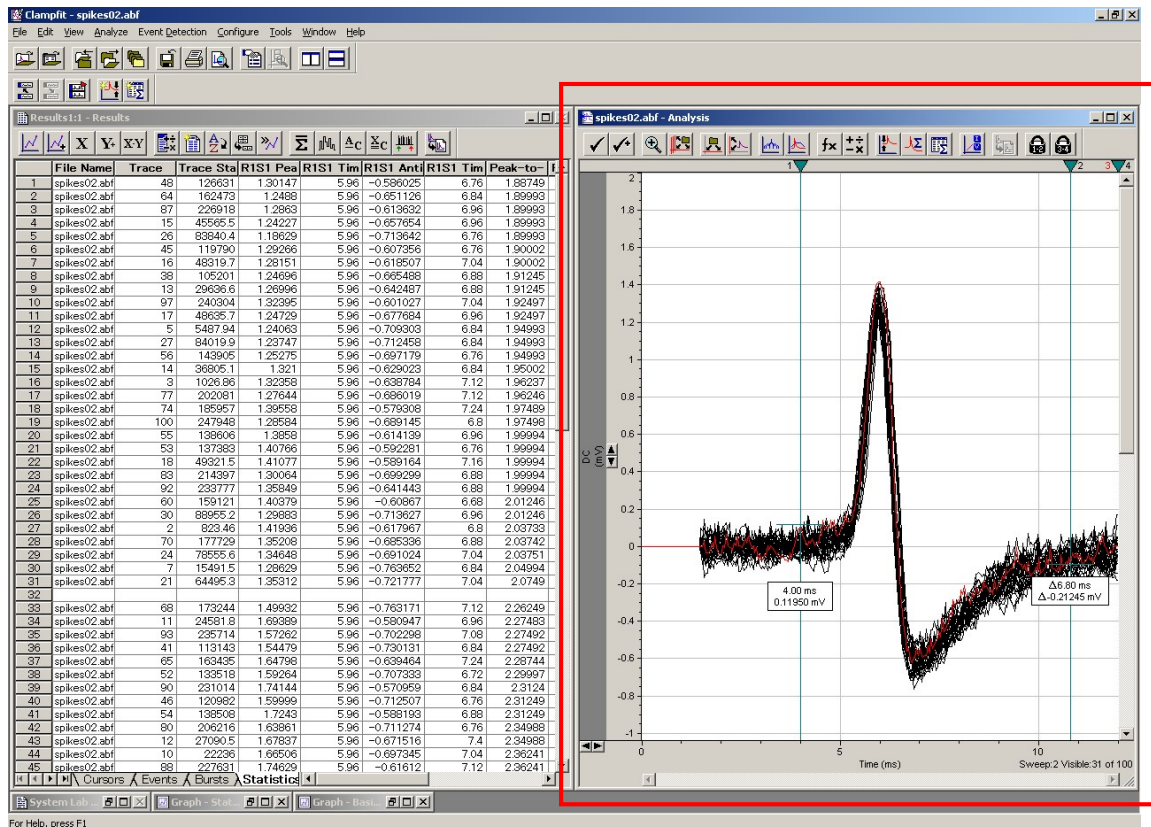
	File Name	Trace	Trace Sta	R1S1 Pea	R1S1 Tim	R1S1 Anti	R1S1 Tim	Peak-to-	Peak-to-
28	spikes02.abf	70	177729	1.35208	5.96	-0.685336	6.88	2.03742	0.92
29	spikes02.abf	24	78555.6	1.34648	5.96	-0.691024	7.04	2.03751	1.08
30	spikes02.abf	7	15491.5	1.28629	5.96	-0.763652	6.84	2.04994	0.88
31	spikes02.abf	21	64495.8	1.85812	5.96	-0.721777	7.04	2.0749	1.08
32	spikes02.abf	68	173244	1.49932	5.96	-0.763171	7.12	2.26249	1.16
33	spikes02.abf	11	24581.8	1.89589	5.96	-0.580947	6.96	2.27483	1
34	spikes02.abf	93	235714	1.57262	5.96	-0.702298	7.08	2.27492	1.12
35	spikes02.abf	41	113143	1.54479	5.96	-0.730131	6.84	2.27492	0.88
36	spikes02.abf	65	163435	1.64798	5.96	-0.639464	7.24	2.28744	1.28

170

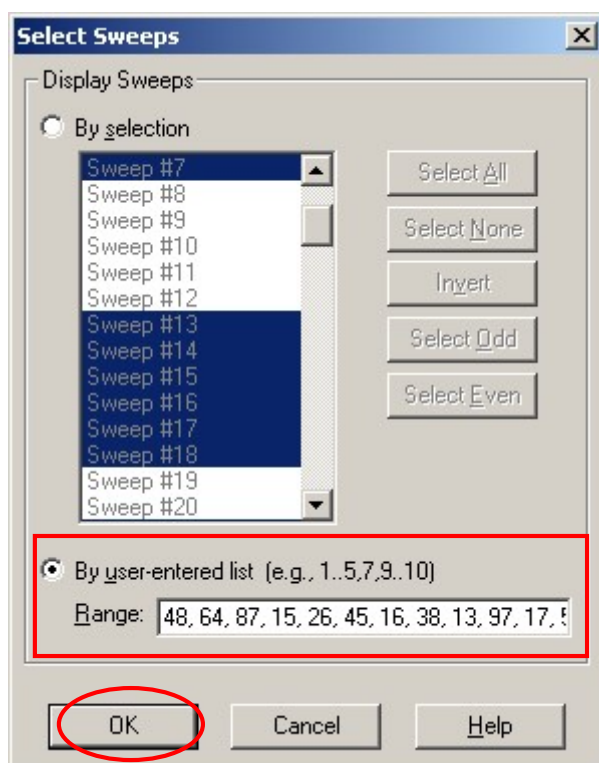
下図のように行が挿入されます。

	File Name	Trace	Trace Sta	R1S1 Pea	R1S1 Tim	R1S1 Anti	R1S1 Tim	Peak-to-	Peak-to-
28	spikes02.abf	70	177729	1.35208	5.96	-0.685336	6.88	2.03742	0.92
29	spikes02.abf	24	78555.6	1.34648	5.96	-0.691024	7.04	2.03751	1.08
30	spikes02.abf	7	15491.5	1.28629	5.96	-0.763652	6.84	2.04994	0.88
31	spikes02.abf	21	64495.3	1.35312	5.96	-0.721777	7.04	2.0749	1.08
32									
33	spikes02.abf	68	173244	1.40932	5.96	-0.763171	7.12	2.26240	1.16
34	spikes02.abf	11	24581.8	1.69389	5.96	-0.580947	6.96	2.27483	1
35	spikes02.abf	93	235714	1.57262	5.96	-0.702298	7.08	2.27492	1.12
36	spikes02.abf	41	113143	1.54479	5.96	-0.730131	6.84	2.27492	0.88
37	spikes02.abf	65	163435	1.64798	5.96	-0.639464	7.24	2.28744	1.28

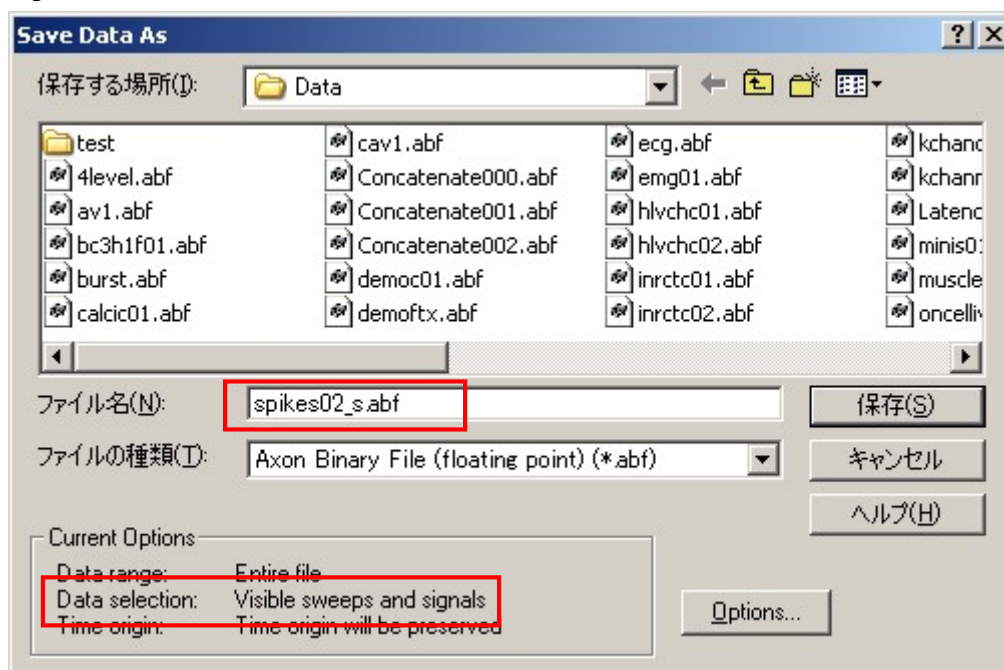
下図のように、Analysis ウィンドウと Results ウィンドウを表示します。Analysis ウィンドウを選択して、View > Sweep を選択してください。



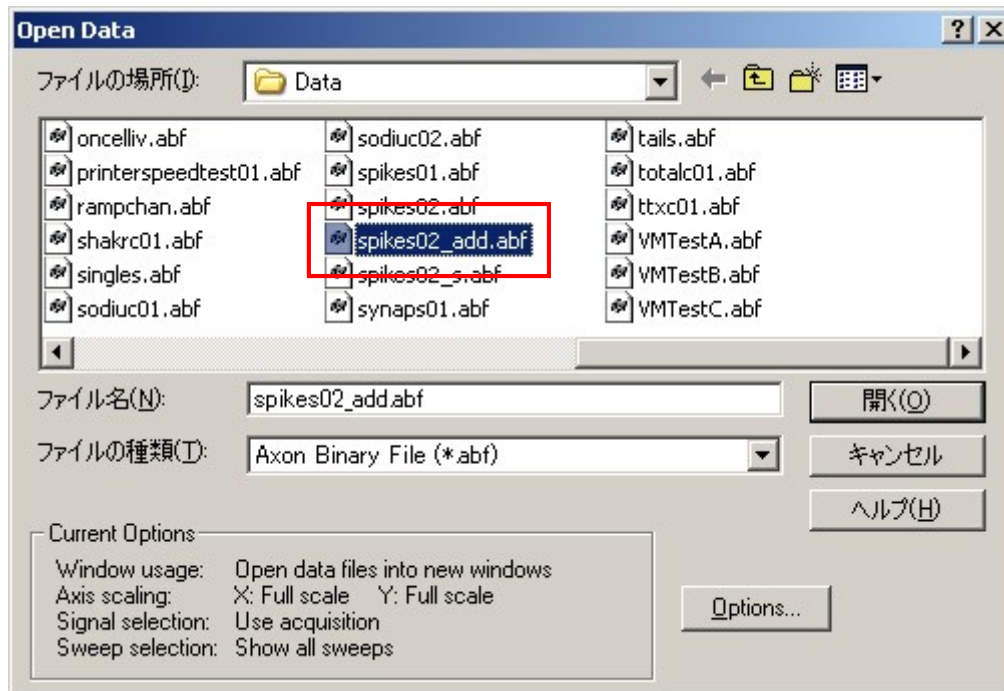
下図のように設定し、Results ウィンドウの Row1-31 の Trace 番号を入力して下さい。  
入力した数値をコピーして、OK をクリックして下さい。



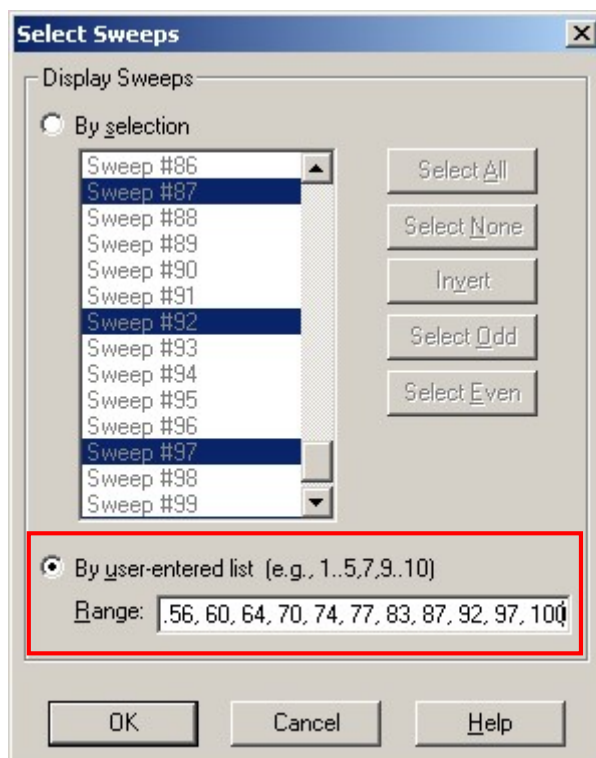
File > Save as を選択して、ファイルを保存します。Data selection が Visible sweeps and signal になっていること確認してください。



File > Open Data を選択して、spike02\_add.abf を開いてください。

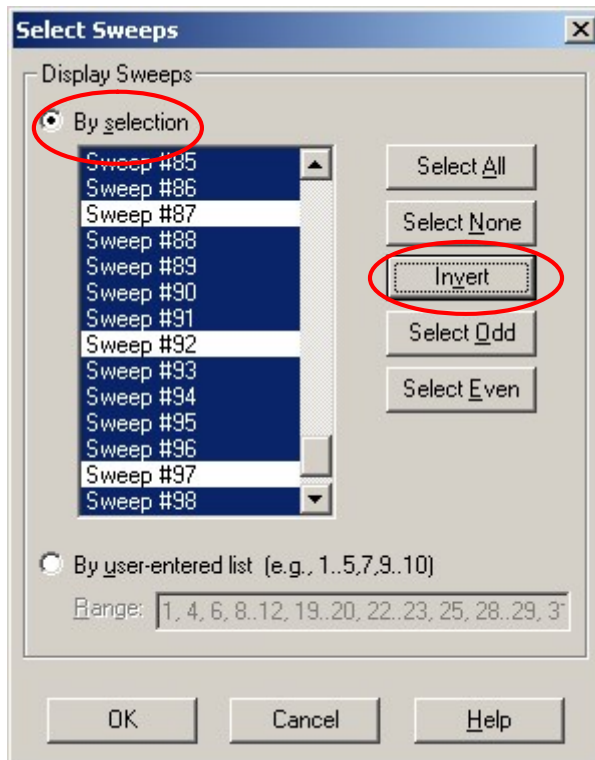


View > Select Sweep を選択して、Range にコピーした数値を貼り付けて下さい。

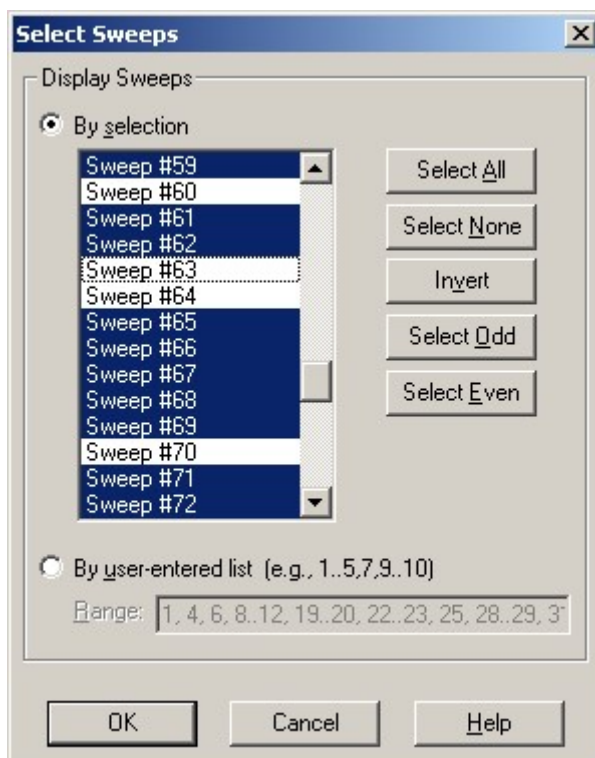




By selection を選択して、Invert をクリックして下さい。

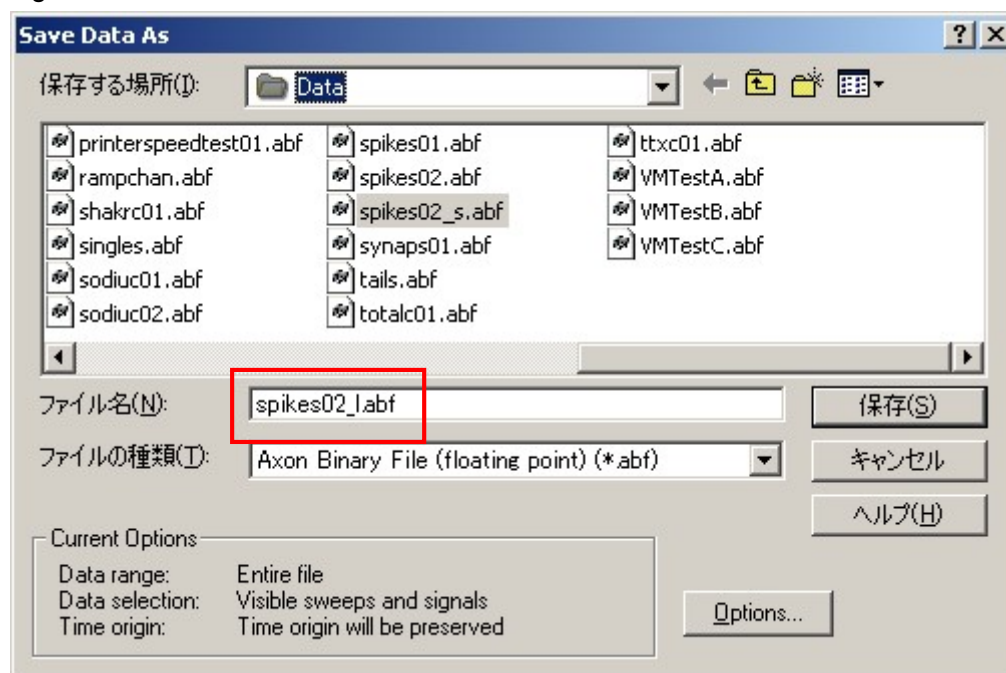


下図のように、選択が反転します。OK をクリックして下さい。





File > Save as を選択して、ファイルを保存します。Data selection が Visible sweeps and signal になっていること確認してください。



### III. Advanced Analysis

Advanced Analysis は、オプションのソフトウェアライセンス（白色 Dongle）によって有効になります。次の機能を利用できます。

- Batch Analysis
- Population Analysis
- Action Potential Search

#### 12. ファイルサーバーの設定 (Advanced Analysis - MDC File Server)

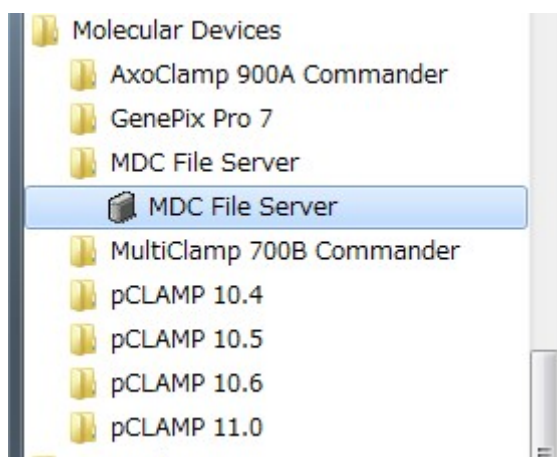
注意：以下の手順は、バッチ分析機能を含む Advanced Analysis Clampfit ソフトウェアのみの手順です。

Advanced Analysis Clampfit ソフトウェアを実行するには、Advanced Analysis Clampfit Software USB Dongle をコンピュータにインストールする必要があります。

MDC ファイルサーバーは、Windows 7 および 10 のコンピュータオペレーティングシステムで動作します。実行するコンピュータには、データファイルを格納するのに十分なハードディスク容量が必要です。記憶領域が満杯になり、データベースが複数の記憶場所にあるデータファイルを追跡する場合、記憶場所を変更することができます。新しい保存場所を設定する場合は、既存の保存場所を保存してください。はじめて Batch Analysis を実行する場合、Clampfit ソフトウェアを起動する前に、まず MDC File Server を設定する必要があります。MDC File Server は、インポートされたデータを管理するために必要です。Batch Analysis を使用している間、MDC File Server はバックグラウンドで実行されます。Batch Analysis を実行するには、MDC ファイルサーバーが実行されている必要があります。

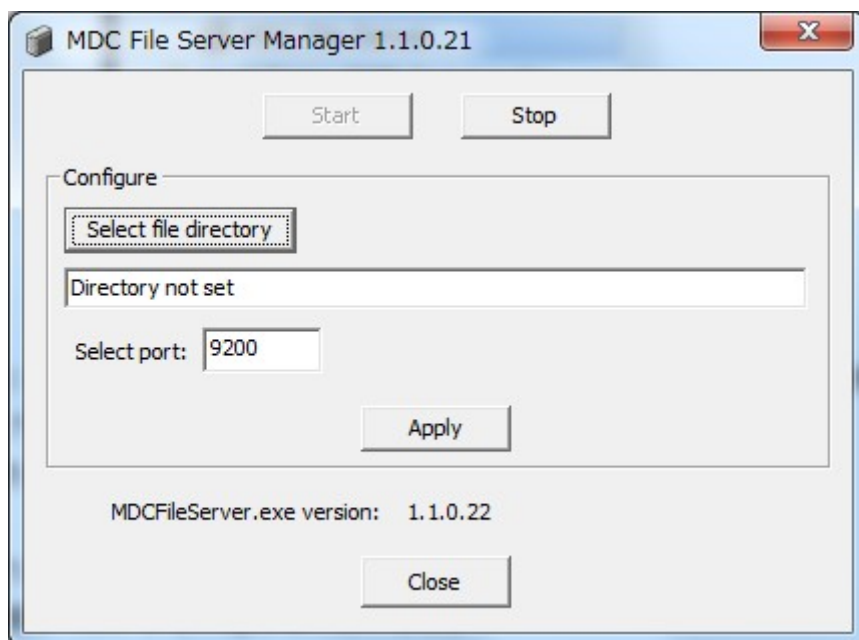
MDC ファイルサーバーを設定手順：

1. pCLAMP ソフトウェアをインストールした後、スタート>すべてのプログラム > Molecular Devices > MDC File Server > MDC File Server を右クリックして管理者として実行して、MDC File Server を起動します。



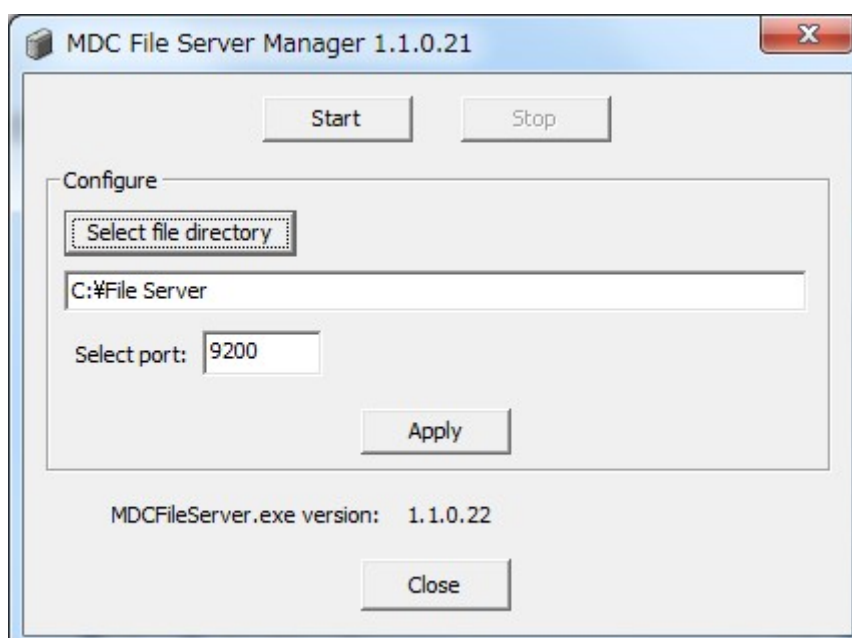
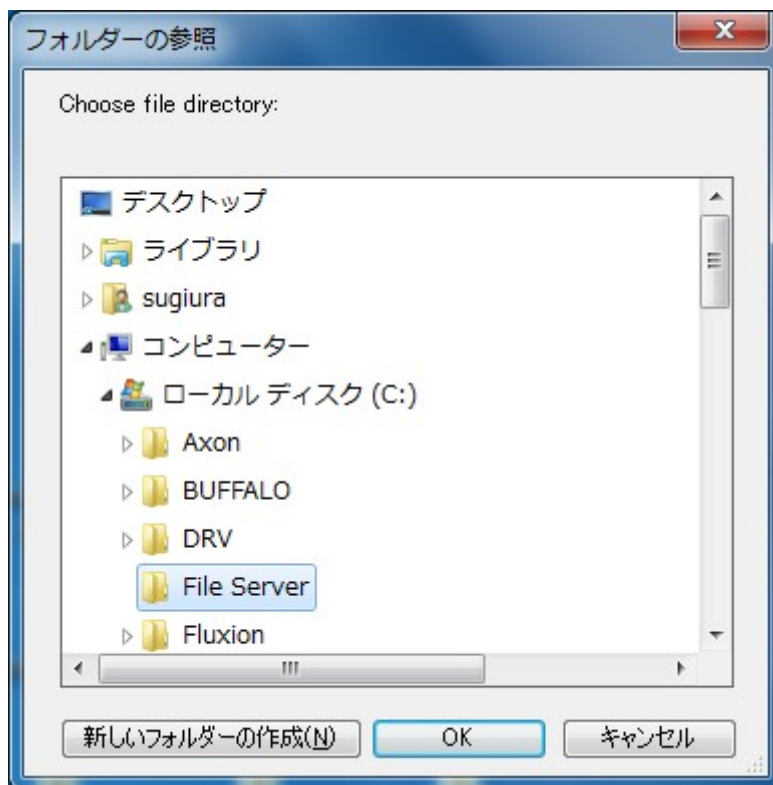
2. **MDC File Server Manager** ダイアログで、**Select file directory** ボタンをクリックしてブラウズを開きます。ダイアログを使用して、データファイルを保存するフォルダを選択します。

注意：ローカル以外のコンピュータを選択する場合は、常にフォルダの場所へのアクセス権が必要です。



3. **新しいフォルダの作成**をクリックし、“**FileServer**”と名前を入力して OK をクリックします。

ヒント：必要に応じて、新しいフォルダに“FileServer”以外の名前を付けることができます。



4. Select port に” 9200 “と入力し、Apply をクリックします。
5. **Start** ボタンをクリックし、**Start** ボタンが無効になるのを待ちます。
6. **Start** ボタンが無効になったら、**Close** をクリックします。

### 13. バッチ解析 (Advanced Analysis - Batch Analysis)

Clampex で同じプロトコルを使用して複数データを取得し、一括データセットの統計計算とグラフを生成する場合は、Batch Analysis 機能を使用します。

以下は、Batch Analysis とマクロを使用するためのクイックスタートガイドです。Advance Analysis には、いくつかのサンプルマクロが用意されています。インポートできるサンプルデータもあります。

以下のトピックが含まれています。

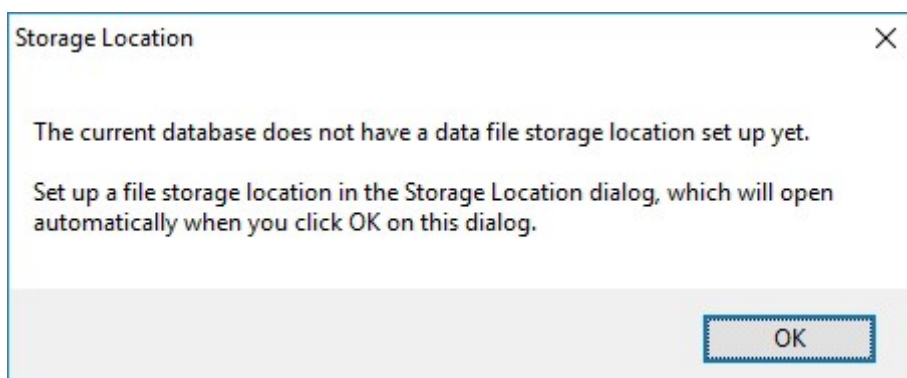
- データベース構成
- データファイルのインポート
- サンプルマクロの実行
- マクロの作成
- サンプルマクロの修正

ヒント： Clampfit Batch Analysis Electrophysiology Data Management and Analysis Software User Guid で、より多くの使用法に関する情報を入手できます。

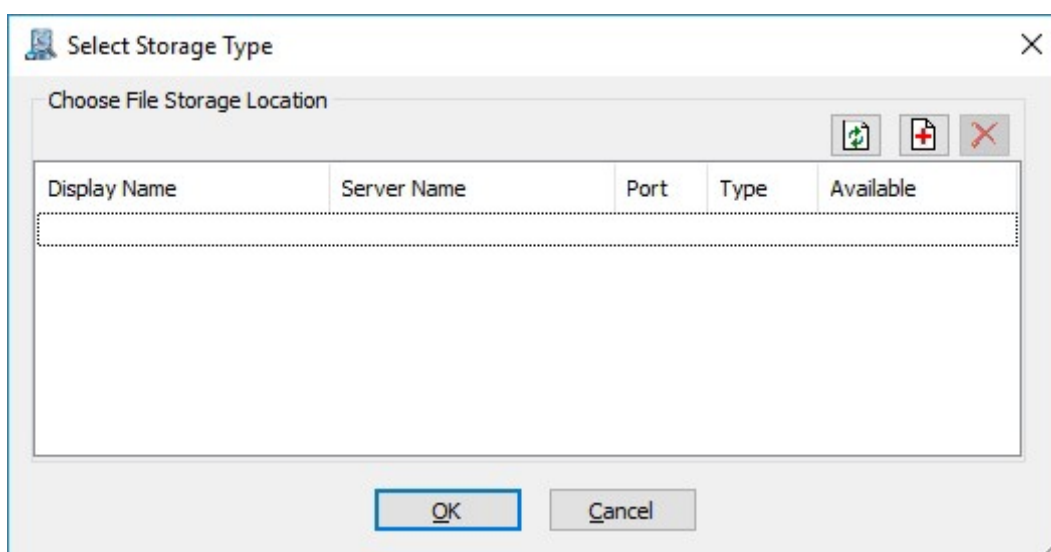
#### 13.1.1. データベース構成

Batch Analysis を初めて使用する場合は、次の手順を実行してフォルダを設定する必要があります。

1. Clampfit ソフトウェアのライセンスキードングルが、ソフトウェアがインストールされているコンピュータにインストールされていることを確認します。
2. Clampfit ソフトウェアを起動します。
3. Analysis > Batch Analysis を選択します。
4. Batch Analysis ウィンドウが表示されて、Storage Location メッセージが表示されたら、OK をクリックします。

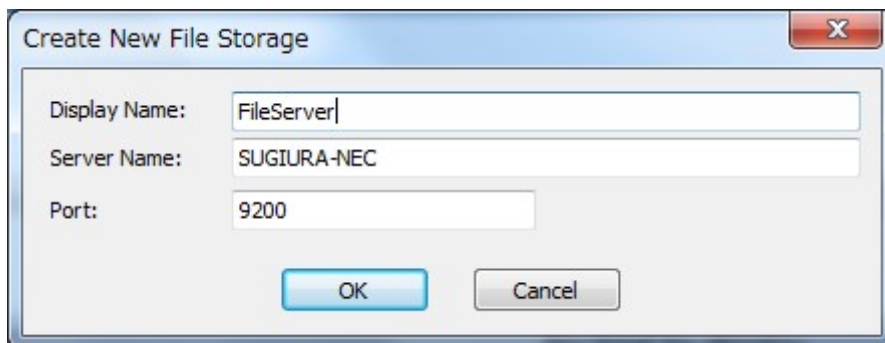


5. Storage Location Type ダイアログが表示されたら、”+“ボタンをクリックします。

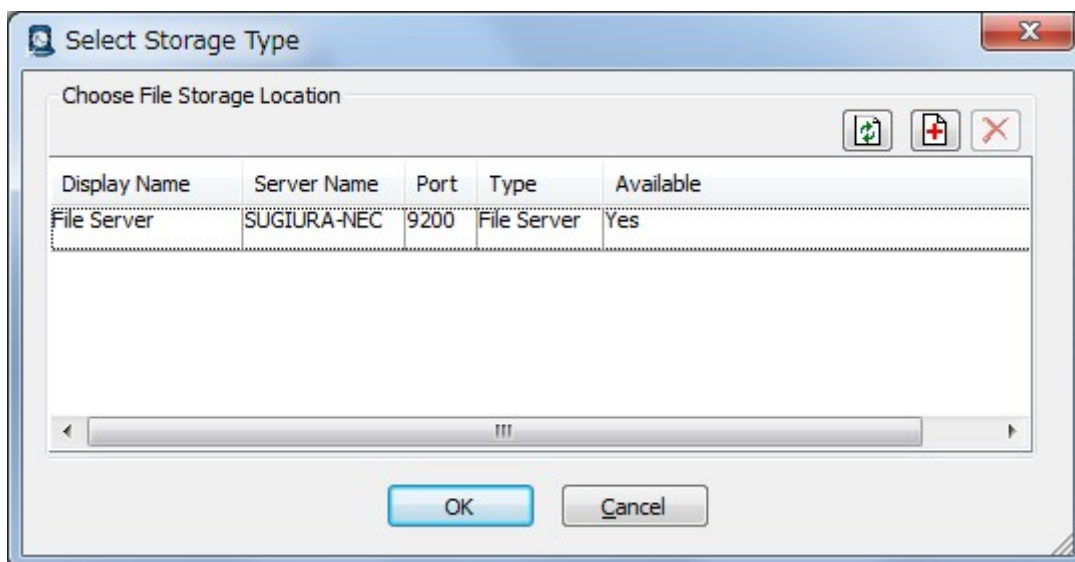


6. Create New File Storage ダイアログで、次の操作を行います。
- Display Name** フィールドに、データファイル格納フォルダの名前を入力します。  
MDC File Server のセクションを参照して下さい。
  - Server Name** フィールドで、コンピュータ名（ローカルコンピュータ名）が正しいことを確認します。
  - Port** フィールドでは、デフォルトの設定を 9200 に設定します。
  - 終了するには、OK をクリックします。





7. **Select Strage Type** ダイアログで、ファイルのストレージエントリを確認するには、**Available** が **Yes** と表示されます。



8. **Available** を更新するには、**Refresh** ボタンをクリックします。  
 9. 終了するには、ファイルストレージのエントリ行を選択し、**OK** をクリックします。

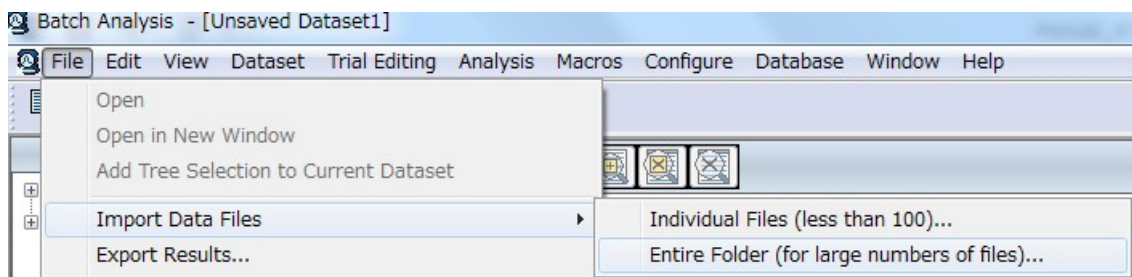
### 13.1.2. データファイルのインポート

Clampfit Advanced Analysis には、Batch Analysis の理解に役立つサンプルマクロが含まれています。これらのサンプルマクロを初めて使用するには、提供されたサンプルデータファイルをインポートする必要があります。インポートするデータファイルは、ABF ファイルである必要があります。

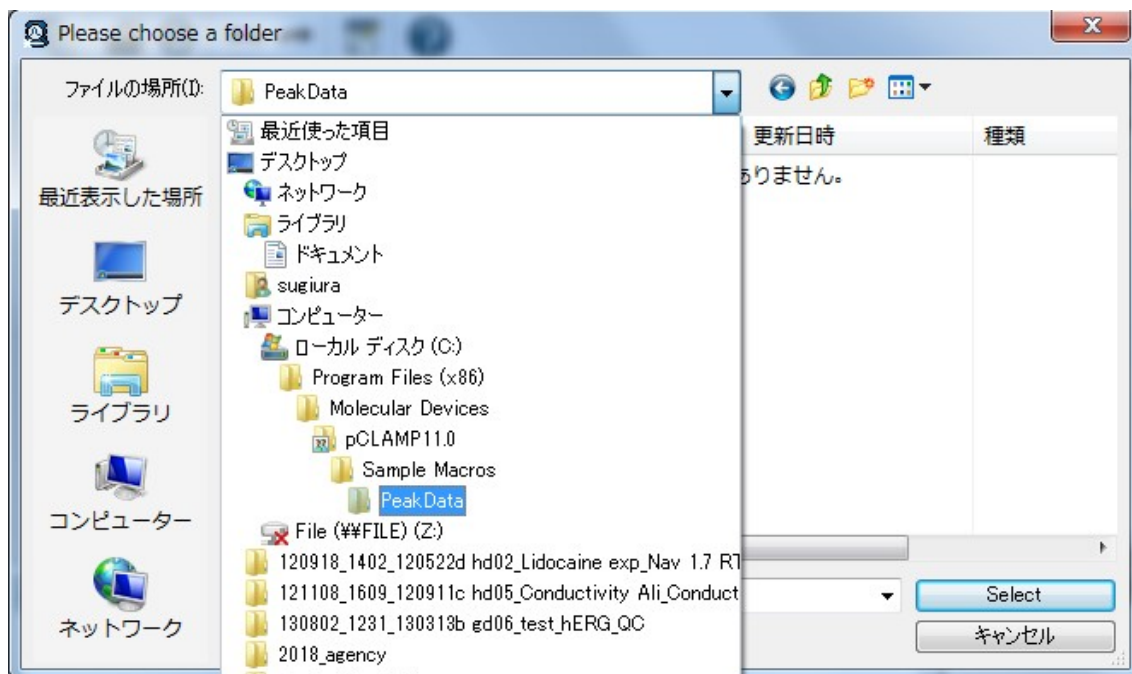
次の手順では、インポートされたサンプルデータ Peak Data を、サンプルマクロ DemoPeak と共に使用します。これらの手順は、他のサンプルマクロでも使用されます。次の手順でピークデータが表示されたら、代替データフォルダを選択できます。

データファイルをインポートするには：

1. Batch Analysis ダイアログで、File > Import Data > Entire Folder を選択します。



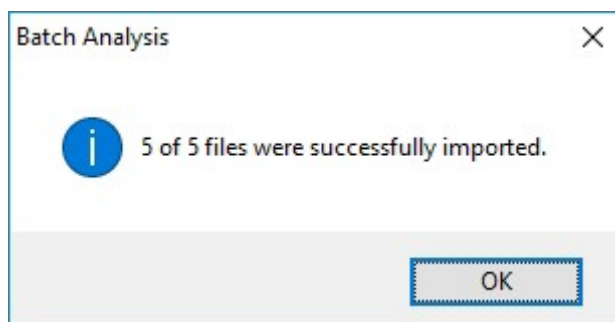
2. C : ¥Program Files¥Molecular Devices¥pCLAMP 11¥Sampl Macros¥Peak Data に移動して選択します。



3. Select (or Open)をクリックします。

ヒント：Windows 10 のユーザで **Open** をクリックして失敗する場合、**Peak Data** をダブルクリックします。

4. インポートの確認ダイアログが表示されたら、**OK** をクリックします。

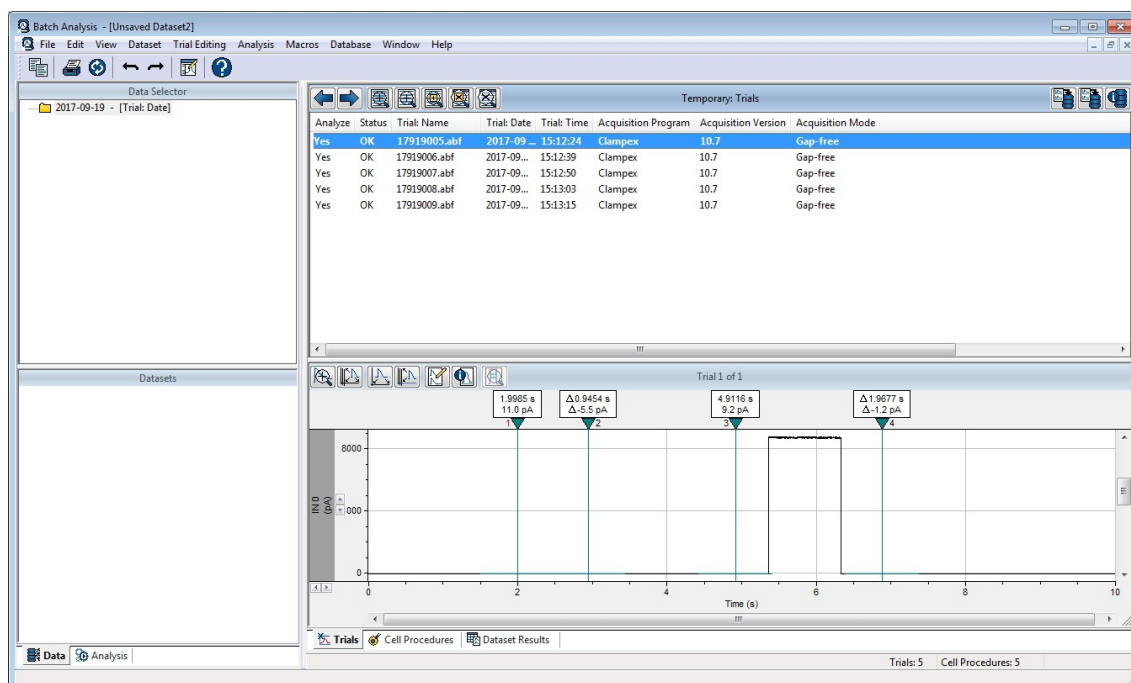


### 13.1.3. サンプルマクロの実行

次の手順では、インポートされたサンプルデータ Peak Data を、サンプルマクロ DemoPeak と共に使用します。これらの手順は、他のサンプルデータとサンプルマクロでも同じです。次の手順で DemoPeak が表示されたら、代替マクロを選択します。

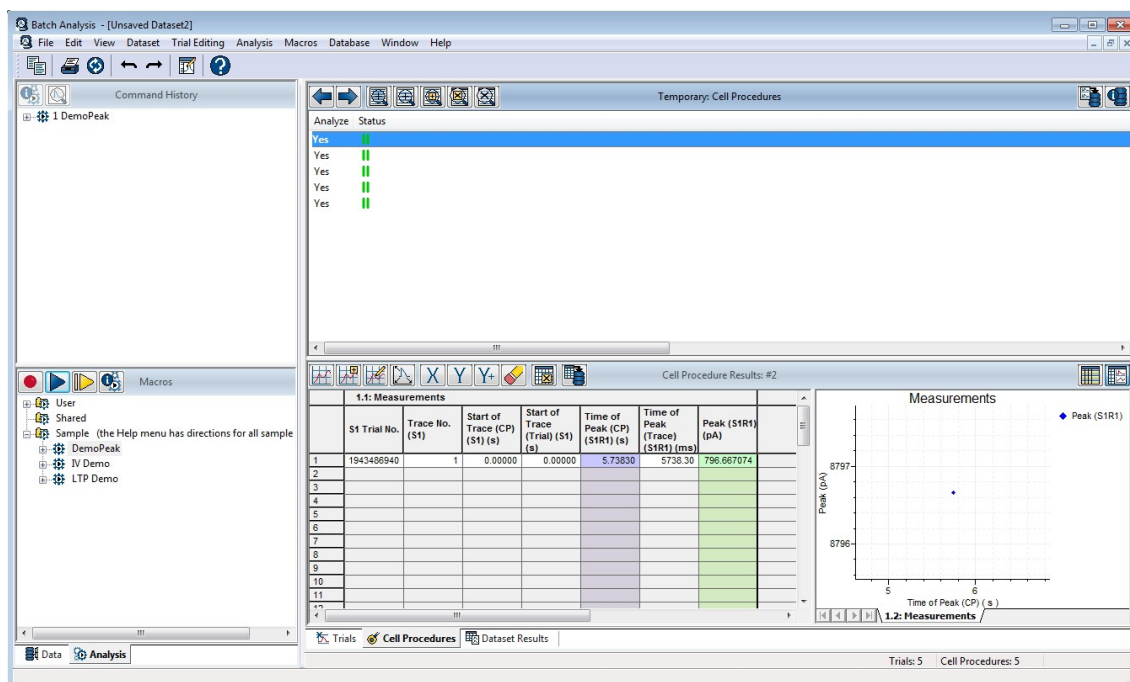
サンプルマクロを実行するには：

1. **Batch Analysis** ウィンドウの左上にある **Data Selector** パネルで、トライアルをロードするためにインポートしたデータフォルダをダブルクリックします。



2. 左下の **Analysis** タブをクリックします。
3. Macro パネルの Sample ツリーで、DemoPeak を右クリックし Run Macro を選択しま

す。マクロが正常に実行されると、右下のパネルに測定テーブルとグラフが表示されます。



#### 13.1.4. マクロの作成

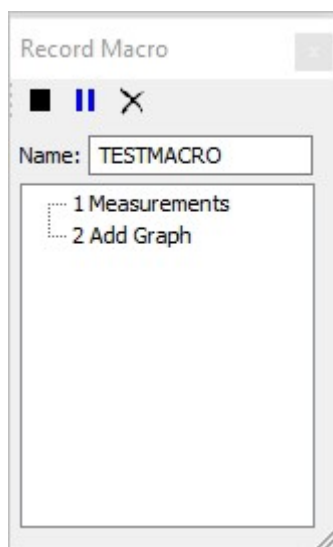
解析メニューの任意の数のコマンドを、単一の解析シーケンスとしてまとめてマクロに格納することができます。これらの新しいマクロは、Analysis タブの Macro パネルに保存されます。

マクロを作成するには：

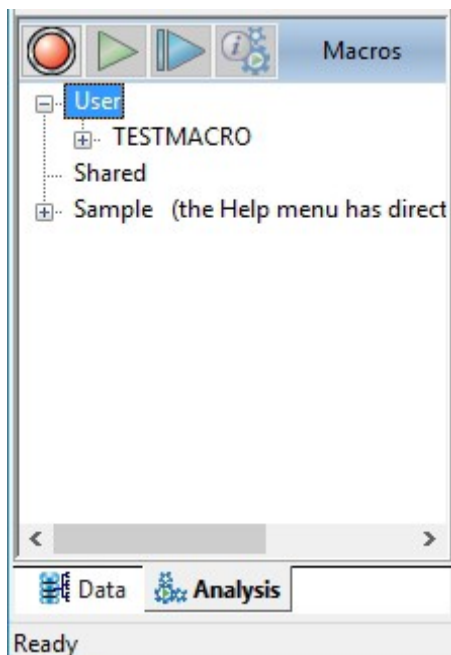
1. Batch Analysis ダイアログで、Macro > Record を選択します。
2. Macro Record ダイアログが表示されたら、Name フィールドに新しいマクロ名を入力します。Enter キーを押さないでください。



3. Analysis メニューに移動し、必要に応じてオプションを選択し、必要に応じて設定を指定します。 ステップが追加されると、Macro Record ダイアログにステップが表示されます。



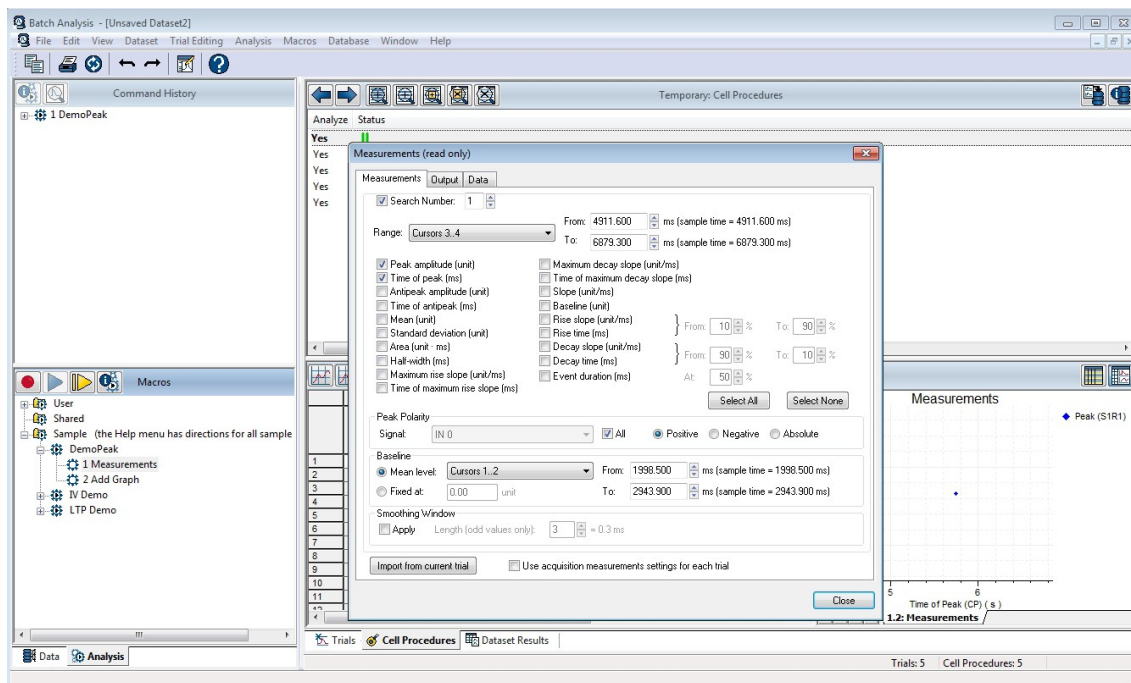
4. ステップの追加が終了したら、Macro Record ダイアログで Stop ボタンをクリックします。 新しいマクロが保存され、Analysis タブの Macro パネルの **User** の下に表示されます。



ヒント：ユーザツリーのマクロは編集可能です。

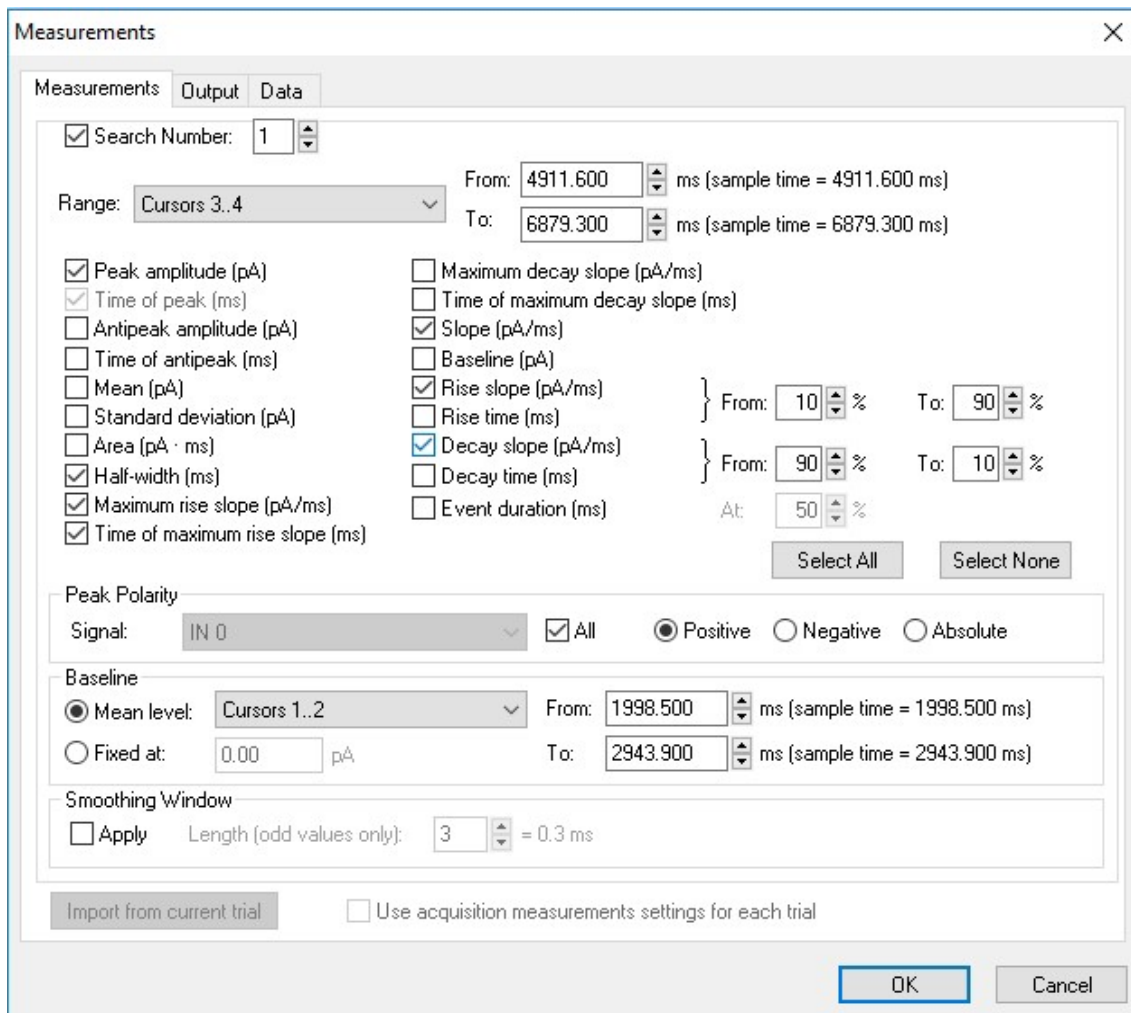
### 13.1.5. サンプルマクロの変更

サンプルツリーのマクロは読み取り専用です。マクロステップ設定を表示するには、Analysis タブの Macro パネルでマクロ名を展開し、ステップ名をダブルクリックします。





マクロを編集するには、サンプルマクロ名を右クリックし、**Make a user copy** を選択します。ユーザーマクロツリーにコピーされ、マクロ内の分析ステップを開いて再構成することができます。 **OK** をクリックして変更を保存します。



The **Measurements** dialog box is used to configure analysis parameters. It includes tabs for **Measurements**, **Output**, and **Data**. The **Measurements** tab is active, showing a list of measurement parameters with checkboxes. The **Range** is set to **Cursors 3..4**, with **From** at 4911.600 ms and **To** at 6879.300 ms. The **Peak Polarity** is set to **IN 0**, and the **Baseline** is set to **Mean level** at 1998.500 ms. The **Smoothing Window** is set to **Apply** with a length of 3 (0.3 ms). The **Import from current trial** checkbox is checked, and the **Use acquisition measurements settings for each trial** checkbox is unchecked. The **OK** and **Cancel** buttons are at the bottom right.

**Measurements** **Output** **Data**

☒ Search Number: 1

Range: Cursors 3..4 From: 4911.600 ms (sample time = 4911.600 ms) To: 6879.300 ms (sample time = 6879.300 ms)

☒ Peak amplitude (pA) ☐ Maximum decay slope (pA/ms)  
☒ Time of peak (ms) ☐ Time of maximum decay slope (ms)  
☐ Antipeak amplitude (pA) ☒ Slope (pA/ms)  
☐ Time of antipeak (ms) ☐ Baseline (pA)  
☐ Mean (pA) ☒ Rise slope (pA/ms) } From: 10 % To: 90 %  
☐ Standard deviation (pA) ☐ Rise time (ms) } From: 90 % To: 10 %  
☐ Area (pA · ms) ☒ Decay slope (pA/ms) } At: 50 %  
☒ Half-width (ms) ☐ Decay time (ms)  
☒ Maximum rise slope (pA/ms) ☐ Event duration (ms)  
☒ Time of maximum rise slope (ms)

Peak Polarity  
Signal: IN 0 ☒ All ☒ Positive ☐ Negative ☐ Absolute

Baseline  
☒ Mean level: Cursors 1..2 From: 1998.500 ms (sample time = 1998.500 ms) To: 2943.900 ms (sample time = 2943.900 ms)  
☐ Fixed at: 0.00 pA

Smoothing Window  
☐ Apply Length (odd values only): 3 = 0.3 ms

☐ Use acquisition measurements settings for each trial

**OK** **Cancel**

右クリックメニューからマクロの名前を変更し、コメントを変更することもできます。マクロを編集するときに、マクロにステップを追加または削除することはできません。これを行うには、新しいマクロを記録し、ステップを実行して既存のマクロから新しいマクロにステップをコピーします。必要でないステップをスキップするか、Analysis メニューのダイアログから新しいステップを追加します。ユーザーマクロツリーからマクロを削除するには、名前を選択して Delete キーを押します。

## 14. 集合スパイク検索 (Advanced Analysis - Population Spike Search)

### 14.1. Event Finding Tab Settings

### 14.2. Measurements Tab Settings

### 14.3. Population Spike Search を構成する方法

データファイルの Population Spike イベントを検索することができます。

次の手順では、検索を構成するための手順を段階的に説明します。

#### 14.3.1. Population Spike Search を構成する方法 :

1. 分析するデータファイルを開きます。**Analysis** ウィンドウが開きます。データファイルは一般的に\*.abf ファイルですが、\*.atf ファイルまたは\*.dat ファイルである場合もあります。
2. Population Spike Search ドッキングパネルを開きます。  
ヒント : Event Detection ツールバーも Analysis ウィンドウで開きます。
3. **Event Finding** タブで開始します。
4. **Event Polarity** セクションでは、Population Spike の極性を設定します。正しい極性の設定は、検索にとって重要です。一般的に、Population Spike 解析では、負の極性を使用します。
5. **Search Vector Length** を、正方向および負方向の傾斜ベクトルのサンプル数を設定します。データポイント振幅およびポイントツーポイントスロープと併せて、これらのベクトルを使用して、信号の輪郭および最小/最大を検査する。これらのベクトルが長すぎると、局所的な曲率が不正確に反映されます。短すぎると、ノイズの影響が大きくなります。
6. **Level Makers** セクションで、マーカーが表示されていない場合は、**Bring Makers** をクリックして水平マーカーを表示します。
7. 検索範囲を設定するには、**Upper Bound (U)**、**Baseline (B)**、**Lower Bound (L)**の水平レベルマーカーを設定する必要があります。必要に応じて、**Event Trigger (T)** レベルを設定します。正または負のピークがトリガーレベルを横切るイベントのみが受け入れられます。  
注意 : ベースラインはイベント測定には使用されませんが、ベースラインのノイズレベルを推定する際に使用されるため、正確に設定する必要があります。

8. **Marker Value Display Mode** セクションでは、表示モードを **Absolute** もしくは **Values relative to baseline** に設定できます。この設定はイベント検出には影響しません。
  - **Relative to baseline** - 検出ルーチンに影響はありません。選択すると、データウィンドウの縦軸に表示される絶対値が表示されます。
  - **Absolute** - 検出ルーチンに影響はありません。選択すると、ベースラインからの遠回り距離として、上部、下部、およびトリガーレベルのフィールドに値が表示されます。
9. Search Width c1-c2.を設定します。
10. 必要に応じて、**Ignore Regions** を選択し、カーソル 3 と 4 を使用して領域を設定してから **Ignore Region** を割り当て、“+”をクリックします。

ヒント：Population Spike Analysis では、シナプス前線維の活性化を表す初期の短く低振幅のイベントがしばしばあります。このイベントは重要ではないため、無視される領域に囲みます。

必要に応じて：

  - **Ignore Region** を追加するには、“+”をクリックする前に領域番号を増やし、カーソル 3 と 4 の位置を設定します。

ヒント：割り当てることができる **Ignore Regions** の数に制限はありません。
  - **Ignore Region** を削除するには、リージョン番号を選択し、“-”をクリックします。
  - すべての無視された領域をクリアするには、**Remove All** をクリックします。
11. 必要に応じて、**Noise Rejection** を設定します。これは、イベントを受け入れるための **Minimum Amplitude** と **Minimum Duration** を指定します。たとえば、イベントの最大値の検索中、**Noise Rejection** よりも小さい変化は無視されます。
12. **Minimum event amplitude** を設定します。この値以下の振幅を持つイベントは拒否されます。
13. **Minimum event duration** を設定します。この値を下回る期間のイベントは拒否されます。
14. Sweep Display は、All または Visible を選択します。
15. Measurements タブをクリックします。
16. 測定値を選択し、必要に応じて、**Results** ウィンドウでの検索の最後に表示する値を設定します。
17. 検索を開始するには：
  - a. **Select** をクリックします。
  - b. **Select Traces** ダイアログで、必要に応じて選択します。
  - c. **OK** をクリックします。

- d. 検索が終了したら、Accept, Reject, Enable, Enable Editing のいずれかをクリックする必要があります。

ヒント: 検索を完了した後で編集することはできません。Editing in Population Spike Search on pCLAMP11 Manual page 179.を参照してください。

**Event Viewer** には、承認された全トレースが表示され、別のファイルとして保存することが可能です。

分析が完了し、イベントが受け入れられると、**Results** ウィンドウに結果が表示されます。

#### 14.4. Population Spike Search の編集

検出された Population Spike イベントを編集する必要がある場合は、アクティブな検索プロセス中に実行する必要があります。手順は以下のとおりです。

- 検出されたイベントの調整
- イベントの地域を除く
- 編集プロセスを終了する

##### 14.4.1. 検出されたイベントを調整するには :

1. **OK** をクリックして検索を実行して検索が終了したら、検出されたイベントごとにツールバーの **Accept, Reject, Enable, Enable Editing** のいずれかをクリックする必要があります。
2. 編集を開始するには、**Enable Editing** ボタンをクリックします。
3. 編集するリージョンに近いトレースをクリックすると、編集カーソルが表示されます。
4. 編集カーソルを移動するには、次のいずれかを実行します。
5. 注意 : 編集の隆線の値は限られています。ピーク値や次のイベントの左峰值よりも遠ざけることはできません。
6. - 画面上で、編集カーソルをクリックして新しい位置にドラッグします。
7. - キーボードを使用して、右または左の矢印キーを押して、編集カーソルラインを一度に 1 ポジションずつ新しい位置に移動します。
8. - キーボードを使用して、<shift> + 右矢印または <shift> + 左矢印キーを押して、編集カーソル行を一度に複数の位置で新しい位置に移動します。
9. ヒント : 編集を元に戻すには、ツールバーの **Reset** ボタンをクリックします。
10. カーソルラインの移動が終了したら、ツールバーの **Accept edit and resume** ボタンをクリックします。
11. ヒント : または、検索領域外の任意の場所を左クリックして、編集したイベントを受け入れることもできます。

12. 必要に応じて手順 3～5 を繰り返します。
13. 編集を終了するには、ツールバーの Accept をクリックすると、検出された次のイベントが表示されます。
14. ヒント：検出されたイベントをスクロールするには、キーボードで<and>必要に応じてキーを押します。

#### 14.4.2. イベントの領域を除外するには：

1. 検出されたイベント内で無視すべき領域がある場合、グラフ上でその領域をクリックすると、編集カーソルが表示されます。
  2. 編集カーソル行を右クリックし、メニューから **Exclude event** を選択します。
- ヒント：Exclude event を元に戻すには、メニューから Event Detection > Restore Excluded Event を選択します。

#### 14.4.3. 編集を終了するには：

ツールバーの **Quick event editing** ボタンをクリックします。

## 15. 活動電位検索 (Advanced Analysis - Action Potential Search)

### 15.1. Tool panel settings

### 15.2. Action Potential Search を構成する方法

以下に、活動電位の検索を構成する手順を段階的に示します。

1. 分析するデータファイルを開きます。**Analysis** ウィンドウが開きます。データファイルは一般的に\*.abf ファイルですが、\*.atf ファイルまたは\*.dat ファイルである場合があります。
2. Action Potential Search ドックパネルを開きます。  
ヒント：Event Detection ツールバーも Analysis ウィンドウで開きます。
3. **Level Markers** セクションで、**Bring Markers** をクリックして水平レベルマーカを表示させます。2つの水平マーカが **Analysis** ウィンドウに表示されます。**Baseline** はラベル **B** で、**Trigge** はラベル **T** です。
4. 次のいずれかの方法でベースラインを設定します。  
注意：すべての測定はこの設定に関連して行われます。
  - **Baseline (B)**を適切なベースラインレベルにドラッグします。
  - **Baseline** フィールドに、数値を設定します。
5. 次のいずれかの方法でトリガを設定します。
  - **Trigger(T)**を適切なレベルまでドラッグします。
  - **Trigger** フィールドに、ベースラインを基準とした数値を設定します。
6. トリガーレベルを設定します。これは、イベントを検出するために使用されます。信号は、イベントとして受け入れるために、両方向でトリガ電位を交差する必要があります。
7. 必要に応じて、1つのイベントの終了と次のイベントの検索の再開を知らせる **Re-Arm (A)**を設定します。再アーム・レベルの時間と次の検出されたイベントの時間との間の情報は無視される。
8. 必要に応じて、**Reject (R)**を設定します。**Reject** レベルは、イベントを受け入れる最大レベルを指定します。信号が **Reject** レベルを横切ると、イベント検索が再び開始されます。**Reject** レベル以上の振幅を持つイベントは除外されます。  
ヒント：**Re-arm** マーカーと **Reject** マーカーは、対応するチェックボックスが選択されている場合にのみ表示されます。
9. Marker Value Display Mode セクションでは、表示方法を Absolute または Relative to baseline から選択できます。この設定はイベント検出には影響しません。



- **Relative to baseline** - 検出ルーチンに影響を与えません。選択すると、ベースラインからの相対値が Trigger フィールドに表示されます。
- **Absolute** - 検出ルーチンに影響はありません。選択すると、データウィンドウの縦軸に表示される絶対値が表示されます。

10. 必要に応じて、**Pre-trigger duration** と **Post-trigger duration** を設定します。これにより、イベントがトリガーレベルの交差によって検出される前後のデータ範囲が決まります。これらの期間内のデータとしきい値内のデータのみがイベントデータとして検出されます。

ヒント：**Pre-trigger duration** と **Post-trigger duration** の設定は、対応するチェックボックスが選択されている場合にのみ使用されます。

これらのオプションが使用されない場合、イベント分析範囲は、一方向または両方向のベースライン交差、および/またはその後のトリガーレベル交差によって決定され、イベント終了が後続のイベントの検出によって通知される。

11. 必要に応じて、**Noise Rejection** を設定します。これは、イベント測定を受け入れるための **Minimum amplitude** と **Minimum duration** を指定します。イベントの最大値を検索している間に、**Noise Rejection** 設定よりも小さい変化は無視されます。

ヒント：最小振幅と最小時間の設定は、対応するチェックボックスが選択されている場合にのみ使用されます。

12. Measurements セクションで、Results ウィンドウに表示する測定項目を選択します。

ヒント：Threshold Potential の位置の近似は、活動ポテンシャルの上昇位相とその開始に至る勾配との交差を見出すことによって見出される。スロープが 10mV / ms 以上の初期領域の位置を見つけるには、3 点接平面傾斜ベクトルを使用します。

13. パネルの下部にある Search Region のドロップダウンリストで、選択したトレースの検索範囲を選択します。

- the full trace : 全トレース
- a cursor-defined region : カーソル領域
- an epoch region : エポック領域

ヒント：指定した検索範囲外のイベントは無視されます。

14. 検索用に現在選択されている signal と Sweep が正しいかどうかを確認します。そうでない場合は、**Select** ボタンをクリックして選択します。

15. 検索を実行する準備ができたなら、**OK** をクリックして検索設定を有効にし、検索を開始し、設定パネルを閉じて **Event Viwer** ウィンドウを開きます。ピーク位置および持続時間マーカーは、検出された事象の上に位置し、勾配マーカーが配置される。これらのイベントマーカーは点線で表示されます。

16. 点線のイベントマーカーを確認し、必要に応じて Accept または Reject ツールバーボタンをクリックします。

受け入れられたイベントマーカーは、青色の実線に変わり、受け入れられたイベントはイ **Event Viwer** に表示され、次のイベントが検出され、マークされます。スロープマーカーは濃い青色の線で表示されます。

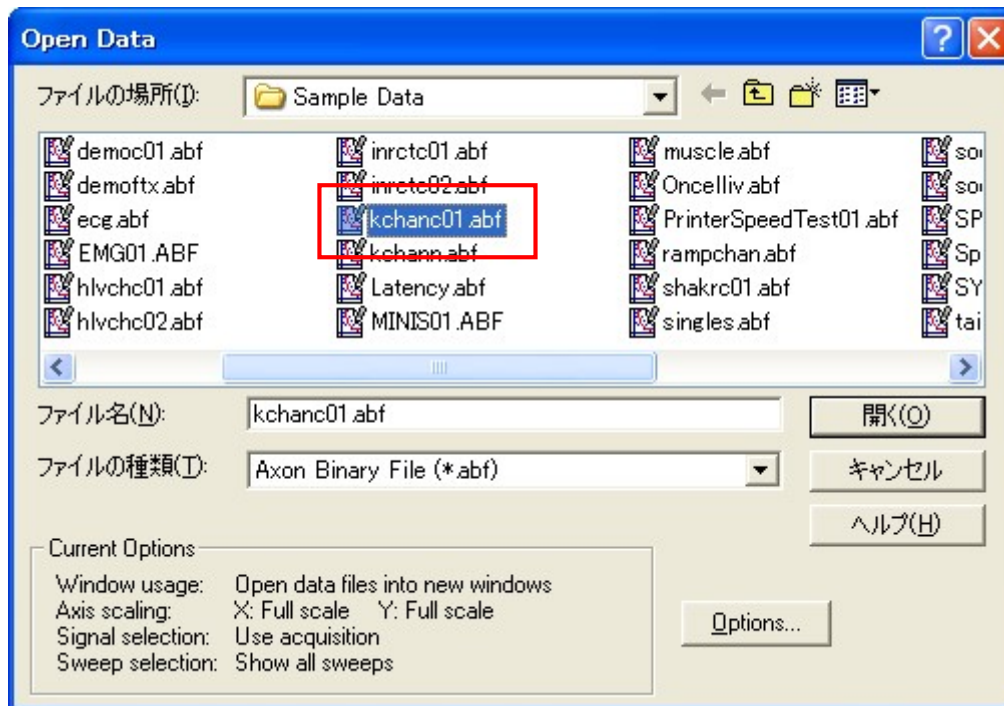
ヒント：None Stop ツールバーボタンをクリックすると、後続のすべてのイベントが検出され、検索領域の終わりに達するまで受け入れられます。

コントロールパネルで最初に選択された **Mesurments** は自動的に **Results** ウィンドウに表示されます。

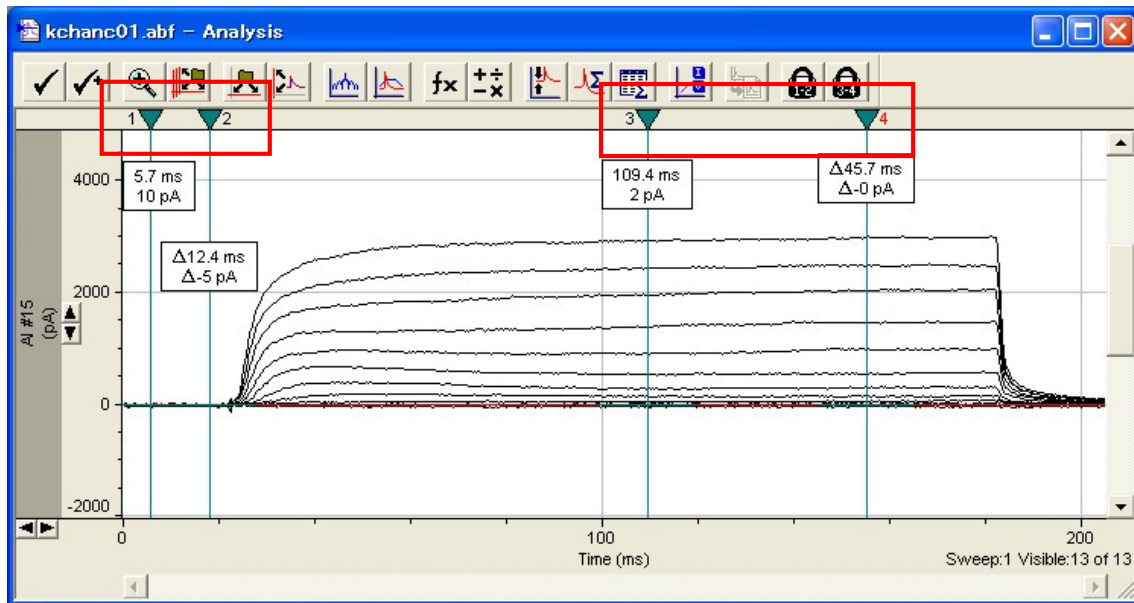
## IV. その他

### 16. 統計解析をする (Statistics)

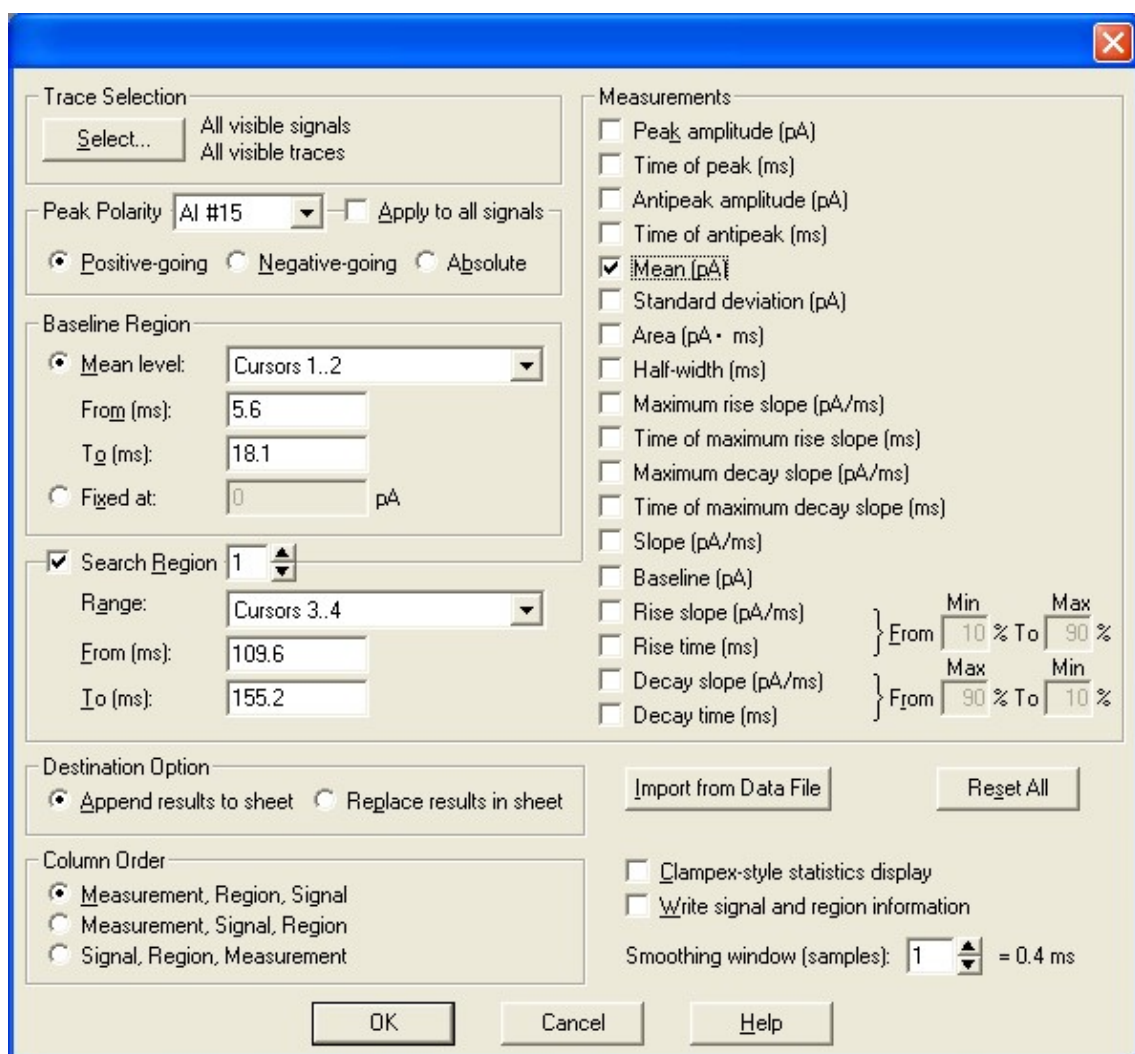
Analyze > Statistics は平均値、ピーク値などの統計解析を行う機能です。例として、サンプルデータの kchanc01.abf を使用して解析を行います。File > Open Data からデータを開きます。



Cursor 1, 2 をベースライン、Cursor 3, 4 を解析範囲に設置します。



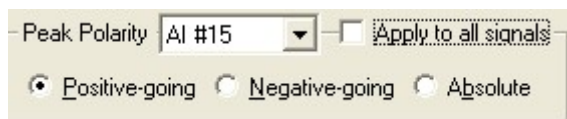
Analyze > Statistics を選択して、Statistics ウィンドウを開きます。



Trace Selection に解析する波形を設定します。デフォルトでは全ての表示しているシグナル・波形が選択されています。特定のシグナル・波形のみを解析する場合は、Select ボタンをクリックして、シグナル・波形を選択します。

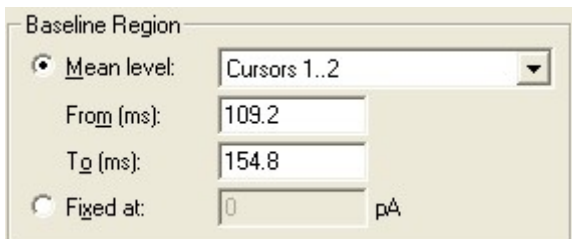


Peak Polarity は Peak 値計算の極性を設定します。複数のシグナルがある場合、シグナルごとに極性を選択できます。すべてのシグナルを同じ設定にする場合、Apply all signals をチェックします。



Baseline Region にベースラインを設定します。今回は、Mean level をチェックして Cursors

1...2 に選択します。カーソル 1-2 間の平均値をベースラインとして解析されます。ベースラインを任意値に設定する場合、Fixed at をチェックし、任意の数値を設定します。



Baseline Region

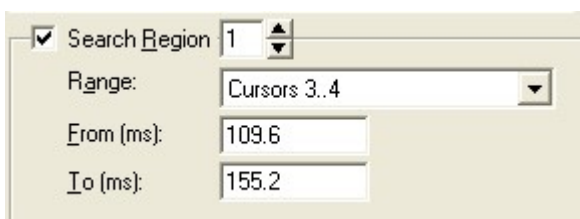
☒ Mean level: Cursors 1..2

From (ms): 109.2

To (ms): 154.8

☐ Fixed at: 0 pA

Search Region に解析範囲を設定します。今回は、Range を Cursors 3...4 に選択し、カーソル 3-4 間を解析範囲に設定します。



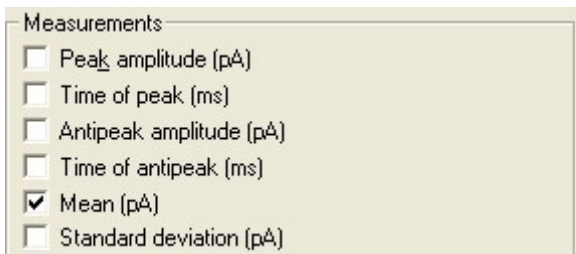
☒ Search Region 1

Range: Cursors 3..4

From (ms): 109.6

To (ms): 155.2

Measurements に解析項目を設定します。今回は Mean のみ選択します。



Measurements

☐ Peak amplitude (pA)

☐ Time of peak (ms)

☐ Antipeak amplitude (pA)

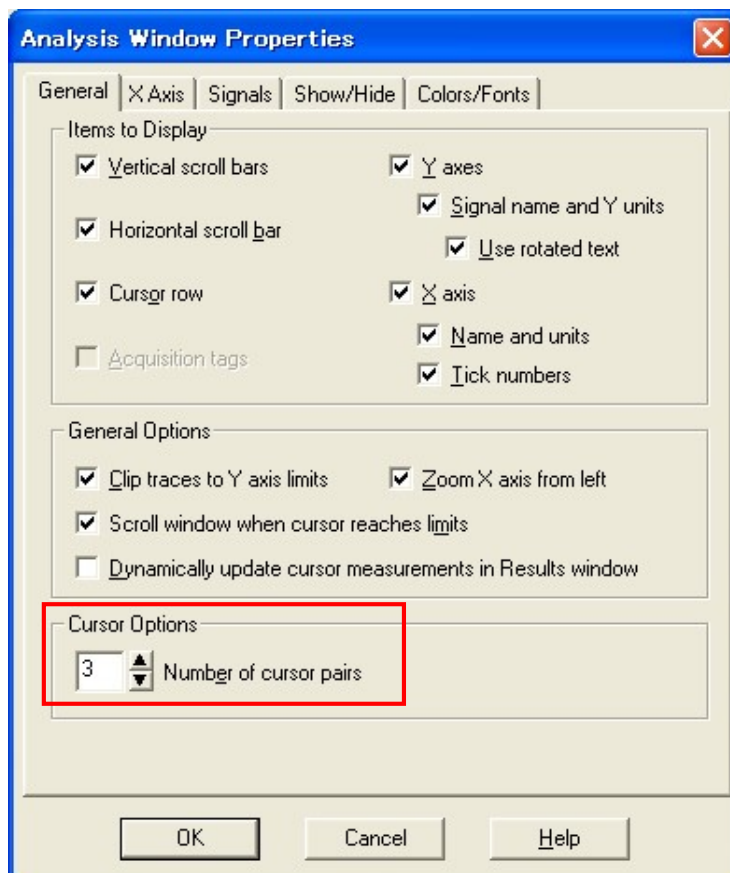
☐ Time of antipeak (ms)

☒ Mean (pA)

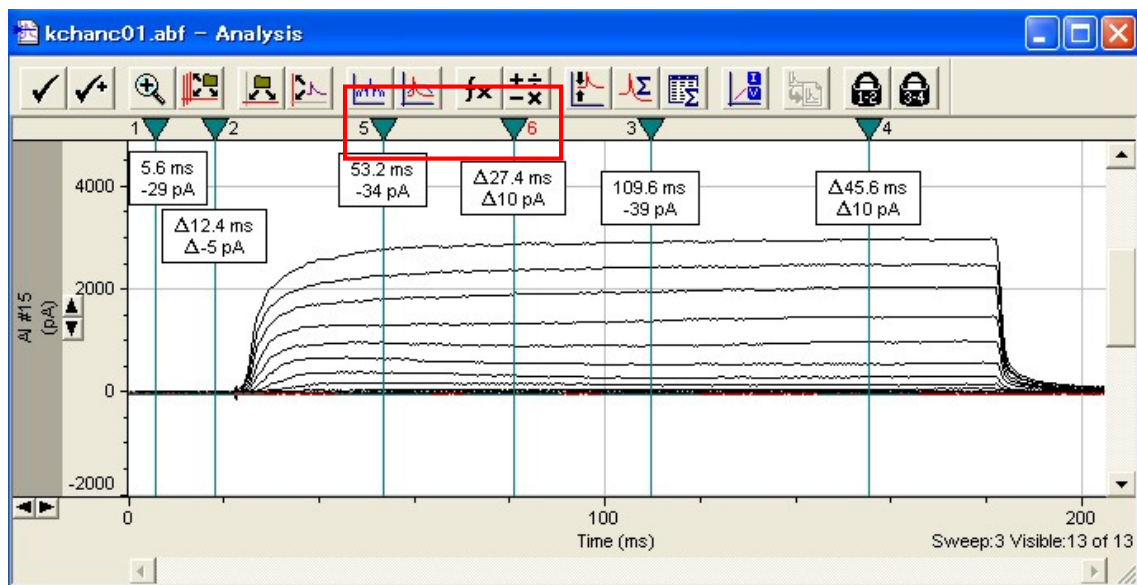
☐ Standard deviation (pA)

複数の解析範囲を設定する場合、カーソルを追加します。View > properties を選択し、Number of cursor pairs にカーソル数を設定します。最大 8 組まで設定できます。





カーソル 5,6 を任意の位置に設置します。



Search Region 右にある矢印ボタンをクリックします。最大 8 箇所まで設定することができます。Range に新たな解析範囲として、Cursor5..6 を設定し、Measurements も選択します。

The screenshot shows the CLAMPFIT 11 software interface. The 'Measurements' list on the right includes parameters such as Peak amplitude (pA), Time of peak (ms), Antipeak amplitude (pA), Time of antipeak (ms), Mean (pA), Standard deviation (pA), Area (pA · ms), Half-width (ms), Maximum rise slope (pA/ms), Time of maximum rise slope (ms), Maximum decay slope (pA/ms), Time of maximum decay slope (ms), Slope (pA/ms), Baseline (pA), Rise slope (pA/ms), Rise time (ms), Decay slope (pA/ms), and Decay time (ms). The 'Search Region' section on the left shows 'Search Region' set to 2, 'Range' set to 'Cursors 5..6', 'From (ms)' set to 53.2, and 'To (ms)' set to 80.8. Red boxes highlight the 'Search Region' and 'Range' settings.

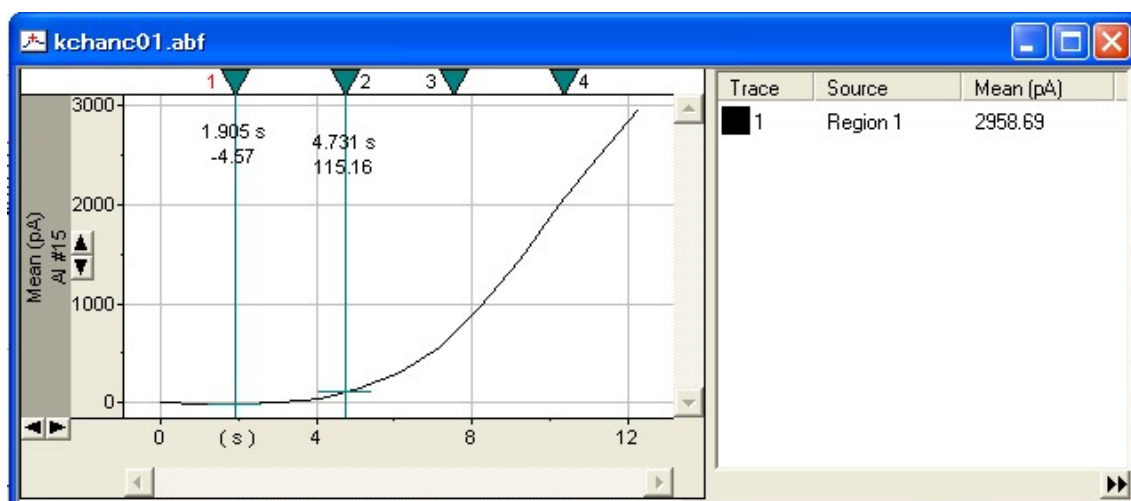
Destination Option は解析結果を追加するか、置き換えるかを選択します。解析結果は Results ウィンドウの Statistics タブにレポートされます。

The 'Destination Option' dialog box shows two radio buttons: 'Append results to sheet' (selected) and 'Replace results in sheet'.

その他の設定として、White signal and region information はシグナル名と解析範囲をレポートに追加します。Smoothing window はノイズを除去して解析するためのフィルタです。1-21 まで設定でき、数値が大きいほど、ノイズが除去されます。通常は 1 に設定します。

The screenshot shows the 'Clampex-style statistics display' and 'Write signal and region information' options. The 'Smoothing window (samples)' is set to 1, which is equivalent to 0.4 ms.

Clampex-style statistics display は Clampex スタイルのグラフを表示します。



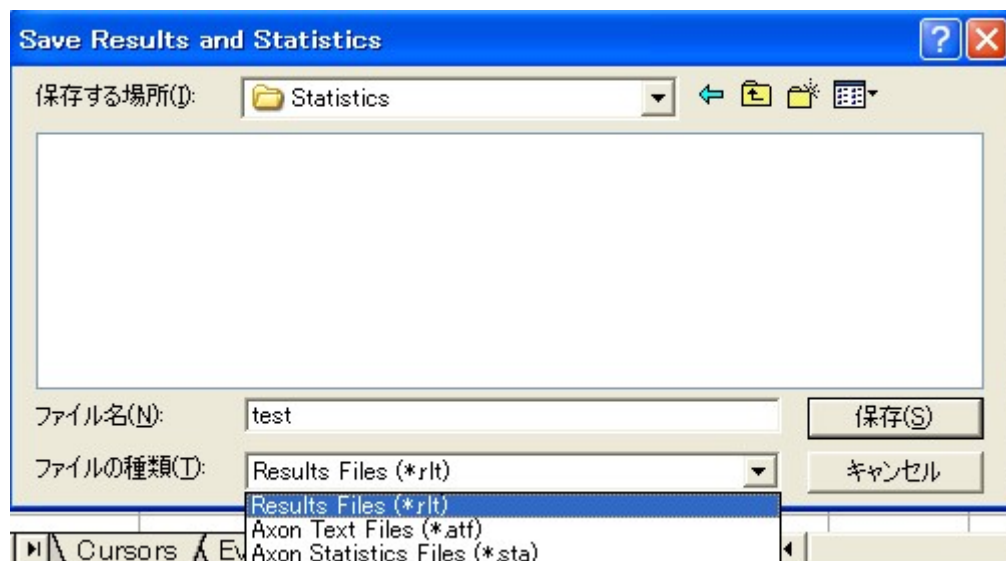
OK ボタンをクリックすると、Results ウィンドウの Statistics タブに解析結果がレポートされます。

The Results1 - Results window displays a table of data. The table has the following columns: File Name, Trace, Trace St, R1S1 Mean, File Path, F, G, H. The table lists 15 rows of data. The Statistics tab is selected at the bottom.

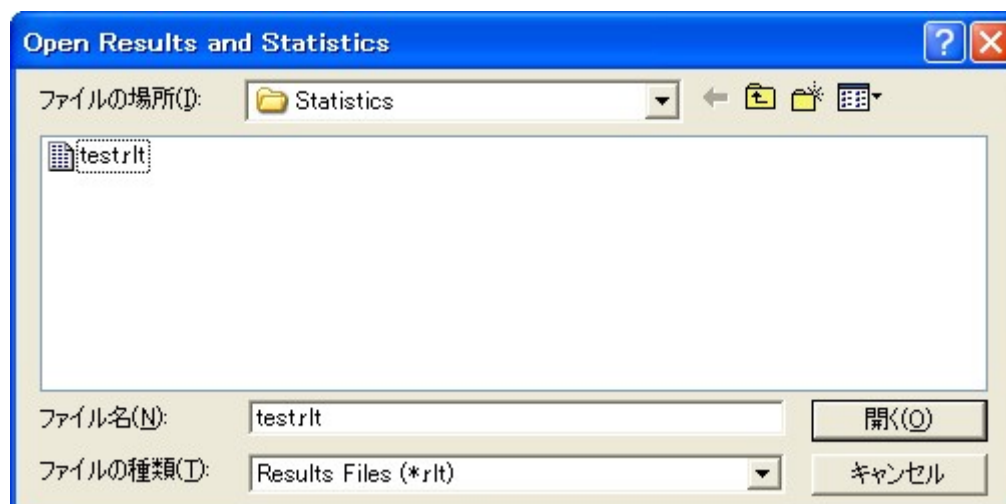
	File Name	Trace	Trace St	R1S1 Mean	File Path	F	G	H
1	kchanc01.abf	1	0	-2.30872	C:\Program File			
2	kchanc01.abf	2	1024	-7.54846	C:\Program File			
3	kchanc01.abf	3	2048	-4.0867	C:\Program File			
4	kchanc01.abf	4	3072	8.7068	C:\Program File			
5	kchanc01.abf	5	4096	47.829	C:\Program File			
6	kchanc01.abf	6	5120	156.42	C:\Program File			
7	kchanc01.abf	7	6144	315.775	C:\Program File			
8	kchanc01.abf	8	7168	555.567	C:\Program File			
9	kchanc01.abf	9	8192	954.587	C:\Program File			
10	kchanc01.abf	10	9216	1444.05	C:\Program File			
11	kchanc01.abf	11	10240	1999.37	C:\Program File			
12	kchanc01.abf	12	11264	2477.72	C:\Program File			
13	kchanc01.abf	13	12288	2958.69	C:\Program File			
14								
15								

File > Save As でデータを保存します。Clampfit で使用する場合は Results ファイル、

エクセルなど他のソフトウェアで使用する場合は、Axon Text File で保存します。



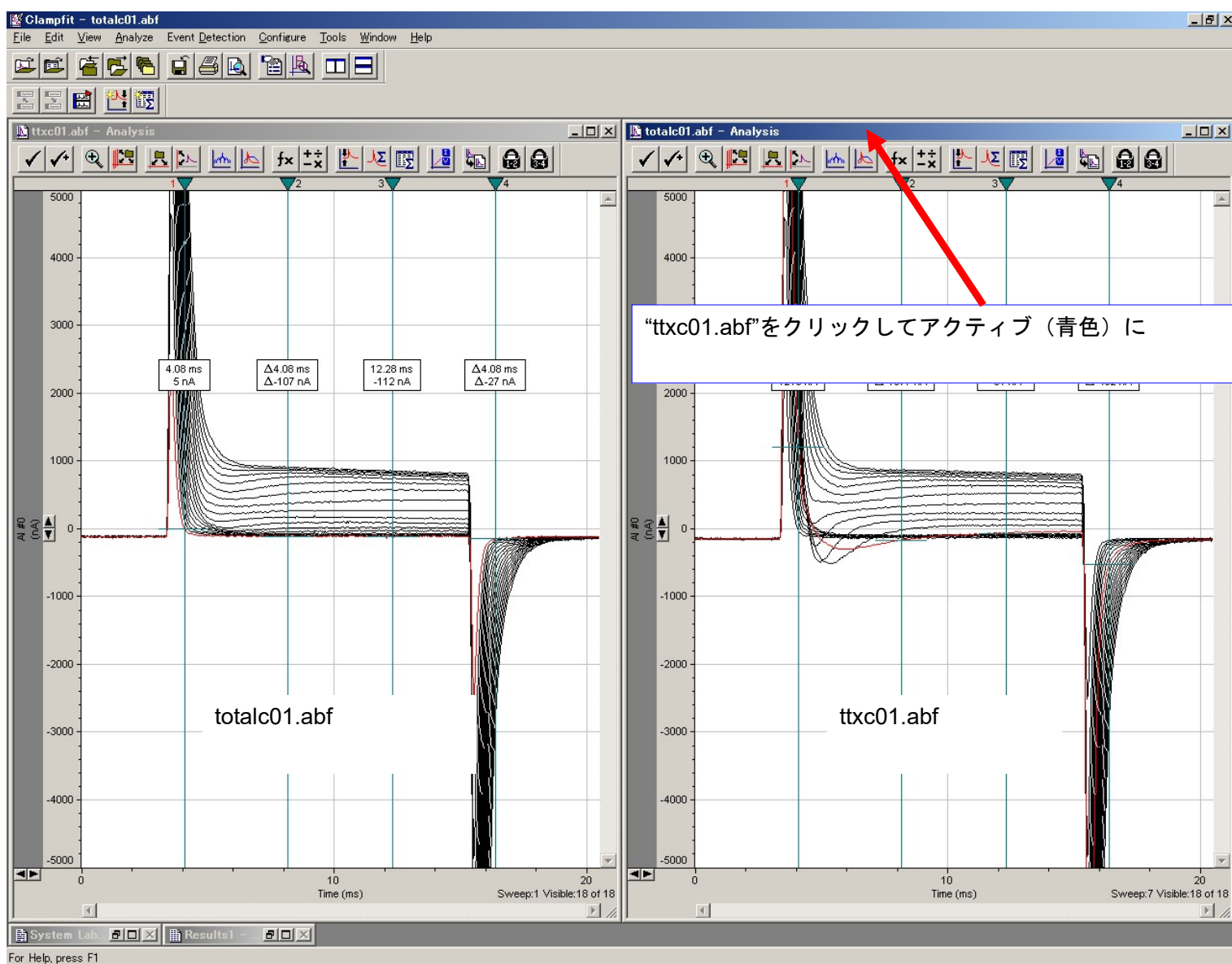
Results ファイルを開く場合、File > Open Other > Results & Statistics を選択します。



## 17. 波形の演算 (Arithmetic)

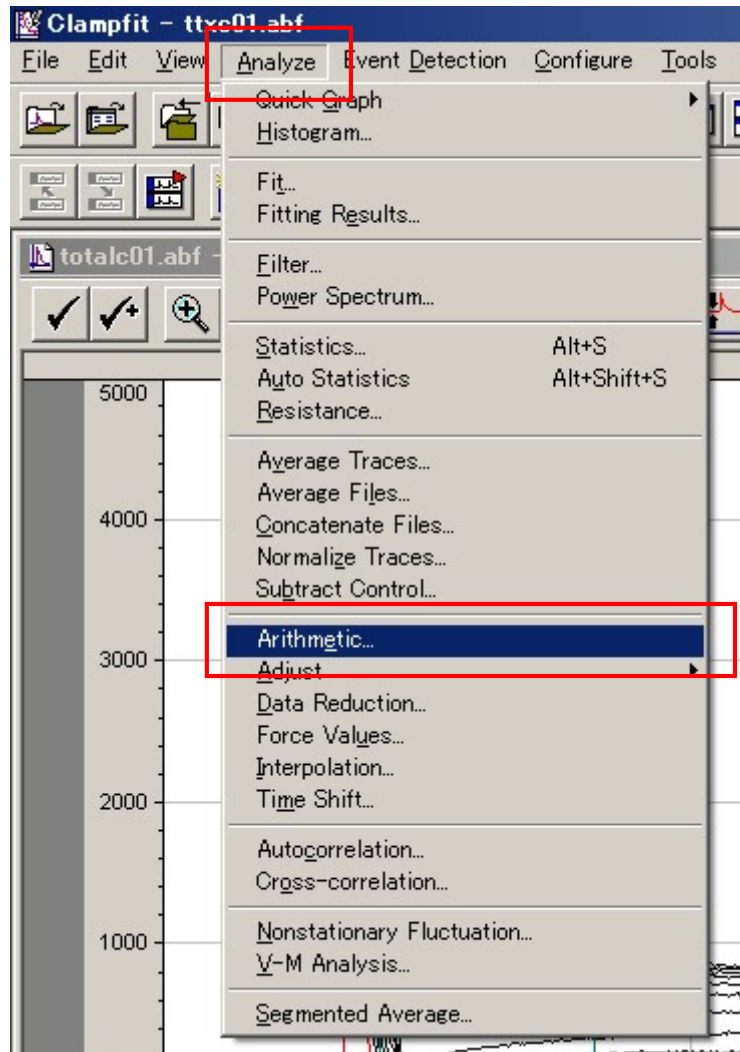
Arithmetic は波形同士の演算を行う機能です。例として、サンプルファイルの totalc01.abf (control のデータ) と ttxc01.abf を使用します。File > Open Data から totalc01.abf と ttxc01.abf のファイルを開き下さい。

初めに、演算結果の入れる領域を作成しておく必要があります。データファイルの中に作りますので totalc01 と ttxc01 のどちらでも良いので、ファイル名の記されているバーをクリックして、アクティブにします。(今回は ttxc01 側につくります)

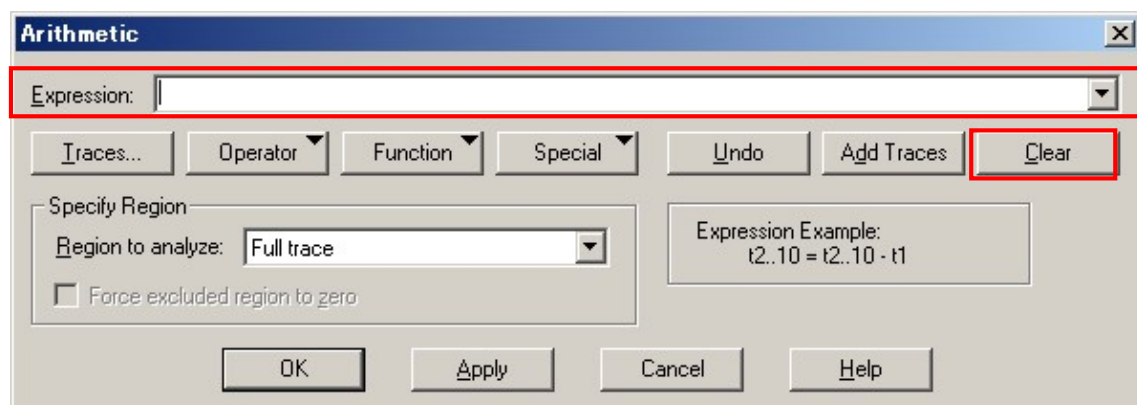




Analyze > Arithmetic を選択します。

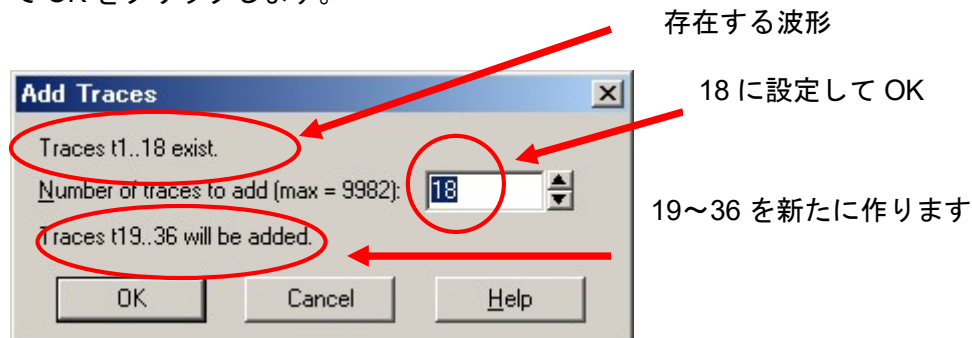


Arithmetic ウィンドウが開きます。(Expression のところに何か記してあるかもしれませんが、それは下図のように消しておいてください。Clear で消せます。)

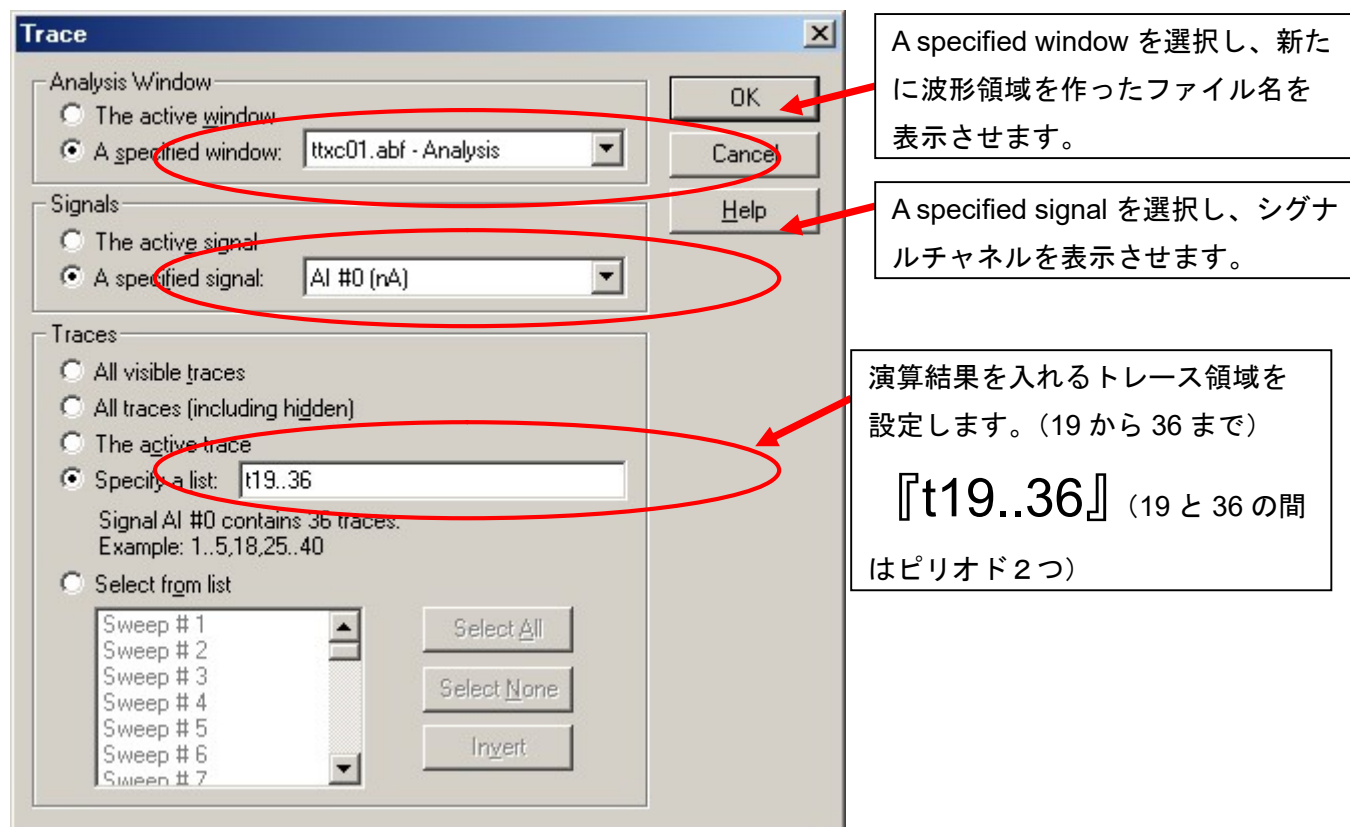




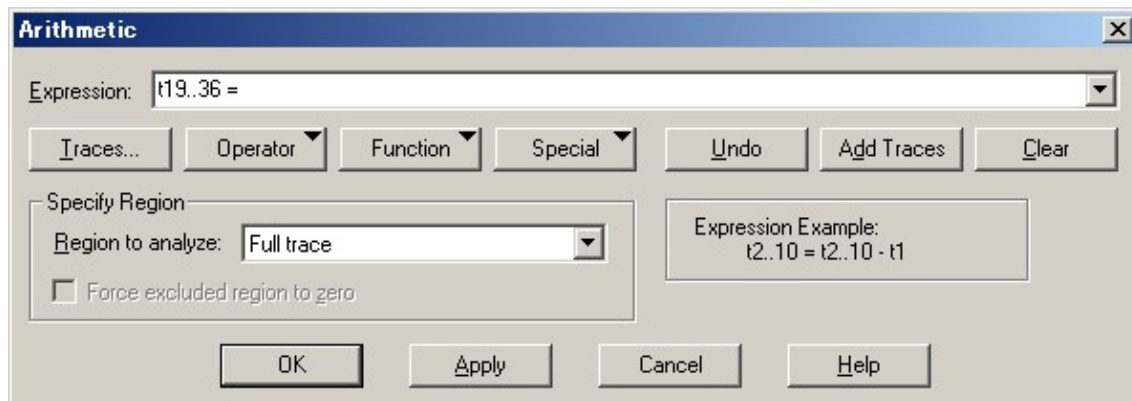
Add Traces をクリックすると、下図のように Add Traces ダイアログが表示されます。No.1~18の波形がすでに存在します。その後ろに演算結果を格納するスペースを作るため、新たに 18 波形分の領域 (No.19~36) を作ります。Number of traces to add に 18 と入力して OK をクリックします。



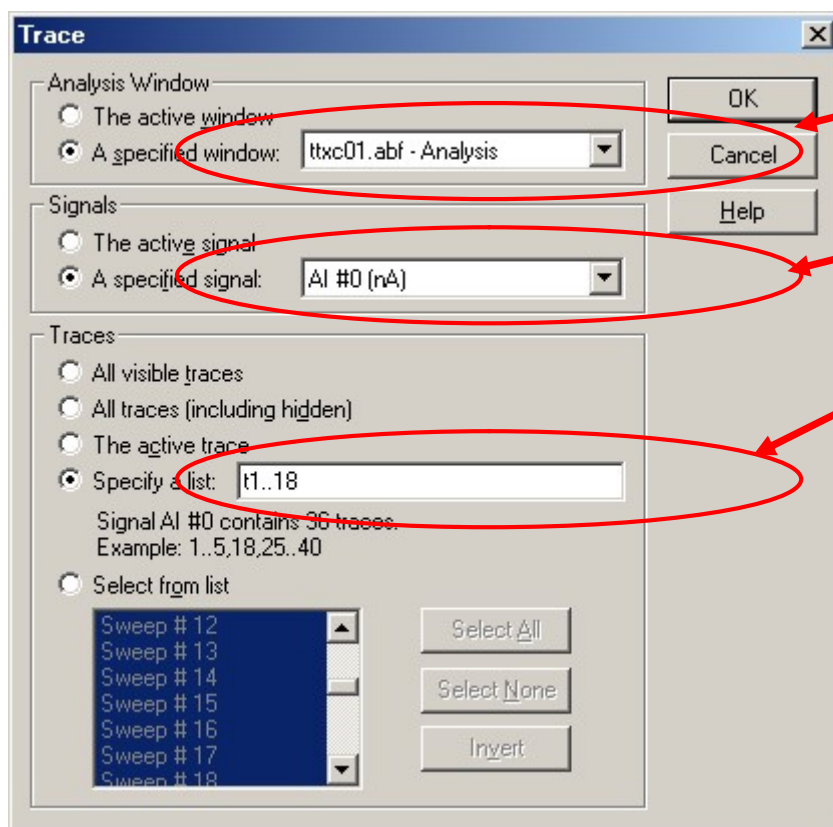
Arithmetic のウィンドウに戻り、次に Traces...をクリックします。下図のように、Trace ダイアログが表示されます。下図のように設定し終えたらウィンドウ右上の OK をクリックします。



下図のように、Expression に波形が追加されます。Expression の部分は最終的に、『(演算結果) = (演算式)』という形にします。現在は『(演算結果) =』のみになっていますので、これから演算式を入れていきます。



今回は例として減算を行います。Traces をクリックして減算される波形を選択します。設定し終わったら、ウィンドウ右上の OK をクリックします。

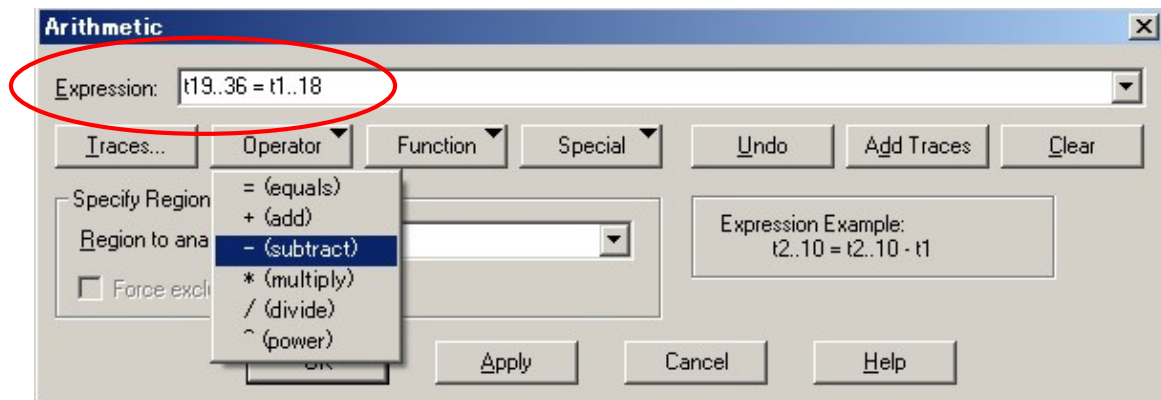


減算されるファイルを選択します。

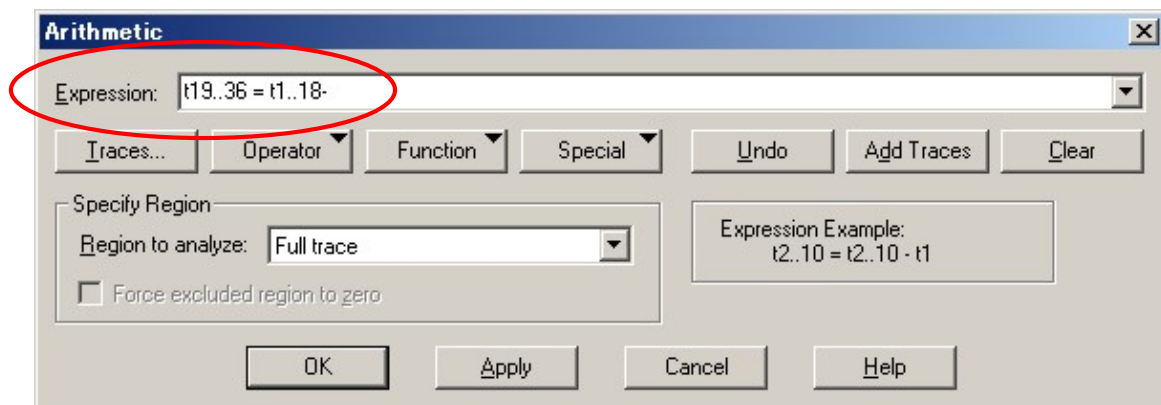
減算されるシグナルを選択します。

減算されるトレースを選択します。  
『t1..18』

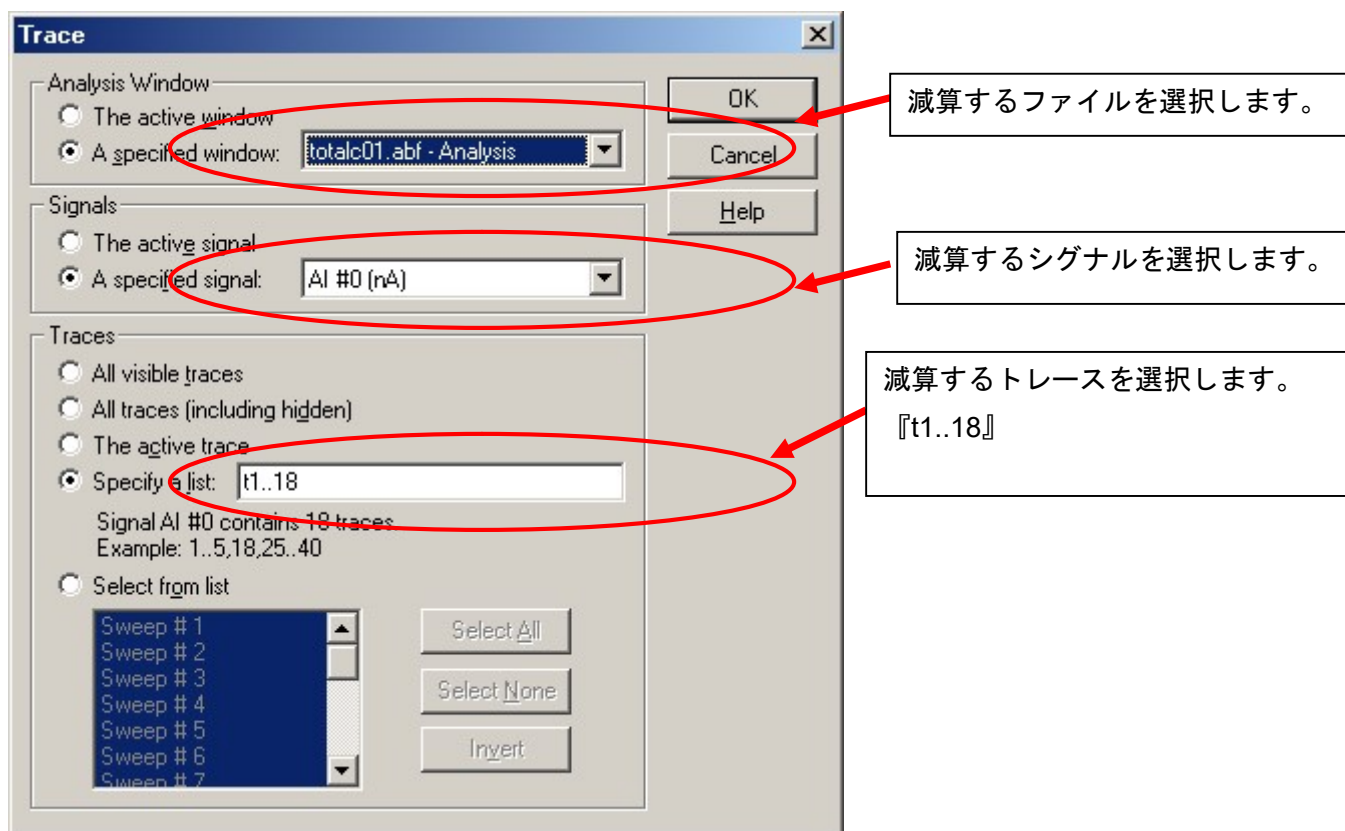
下図のように、波形が追加されます。今回は減算なので、Operation をクリックして -(subtract)を選択します。



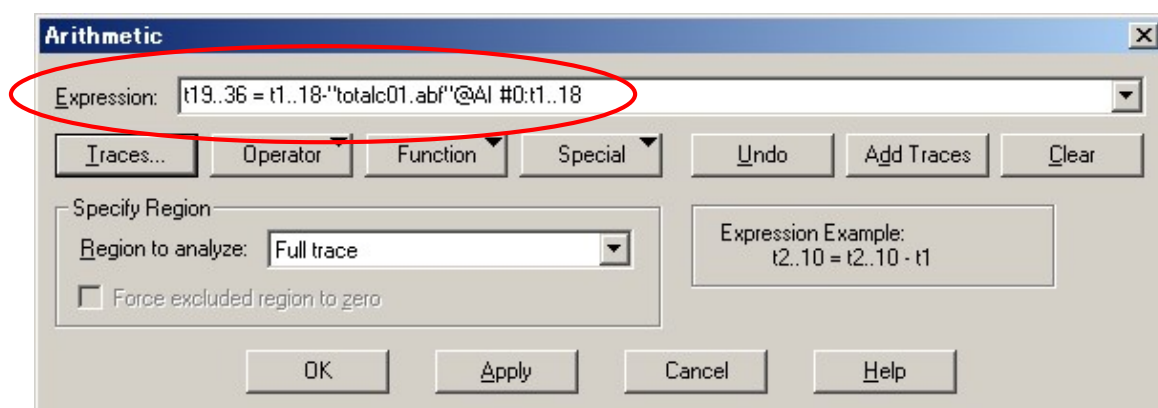
下図のように、演算子-(subtract)が追加されます。



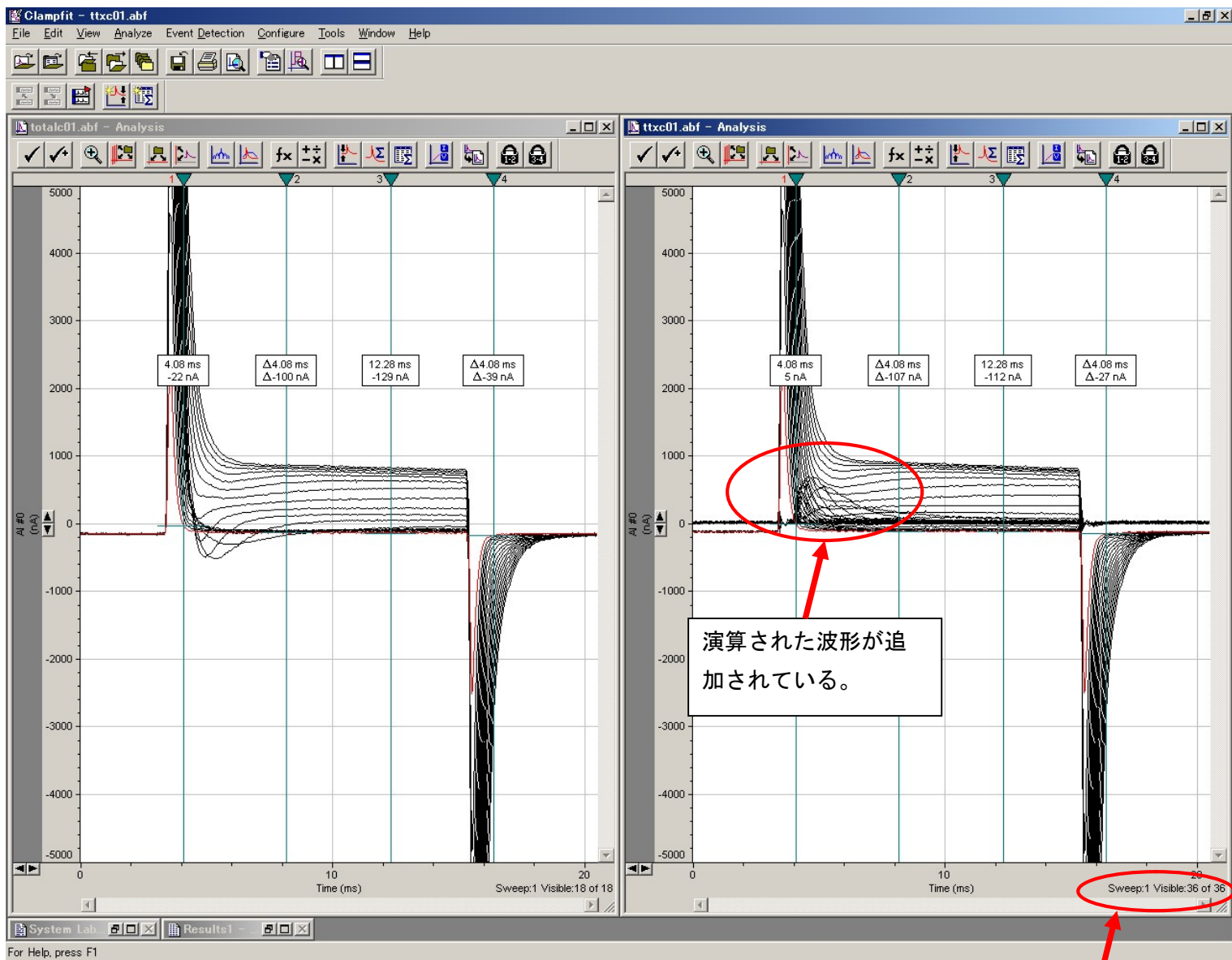
Traces をクリックして減算する波形を選択します。設定し終わったら、ウィンドウ右上の OK をクリックします。



下図のように波形が追加されます。『(演算結果) = (演算式)』ができたので、OK をクリックして演算を開始します。

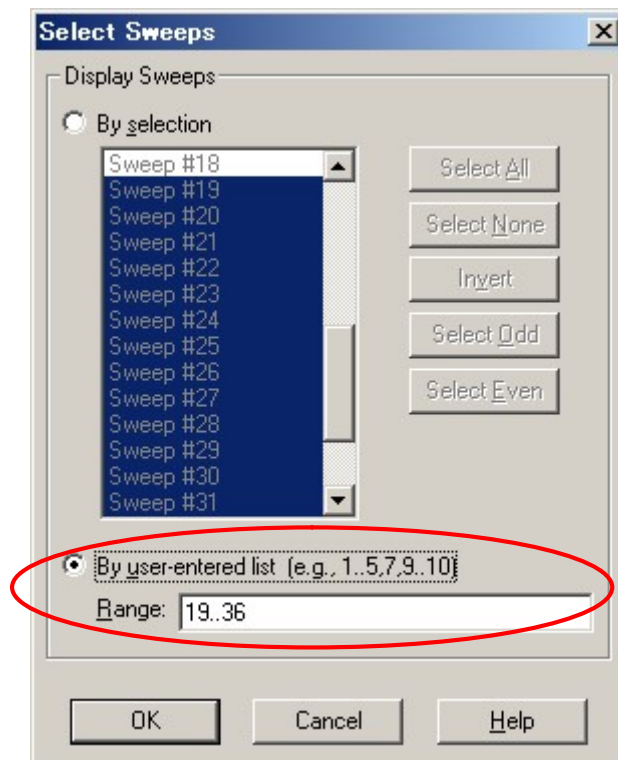
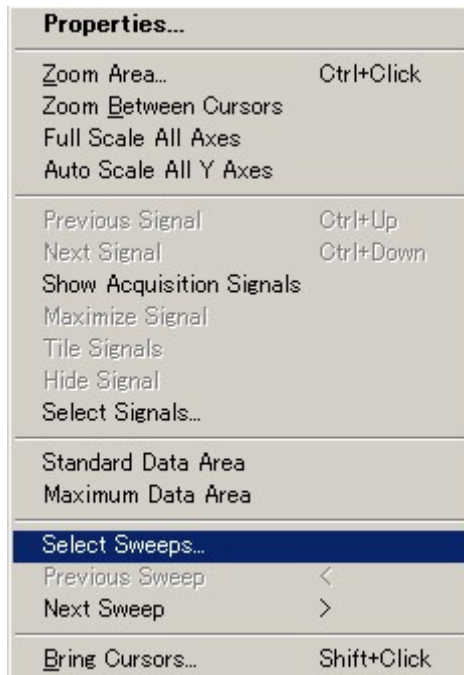


下図のように、演算された波形が追加され、Sweep 数が増えているのが確認できます。



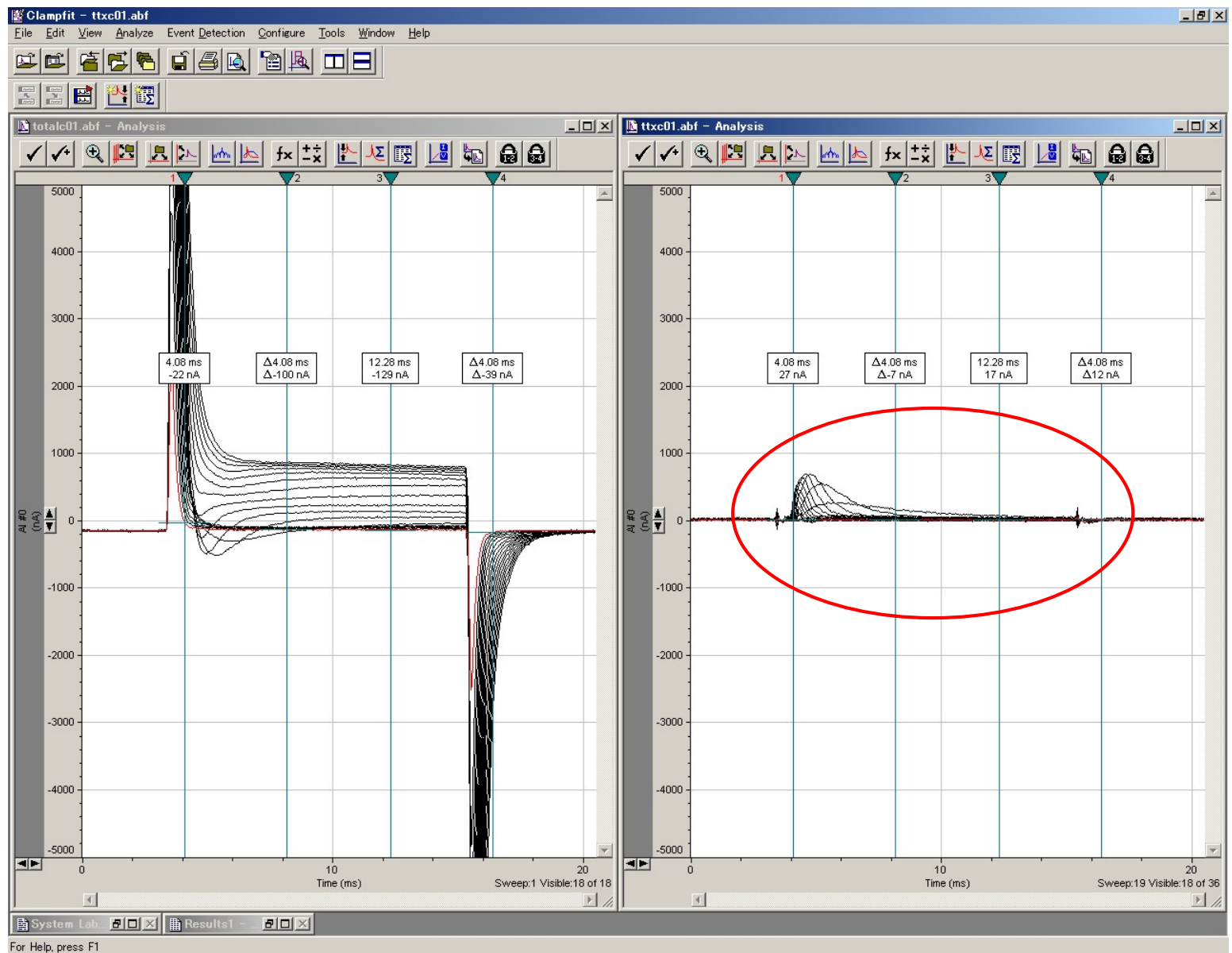
Sweep の数が増える。

Select sweep を選択して、演算結果の波形のみを表示させてみましょう。



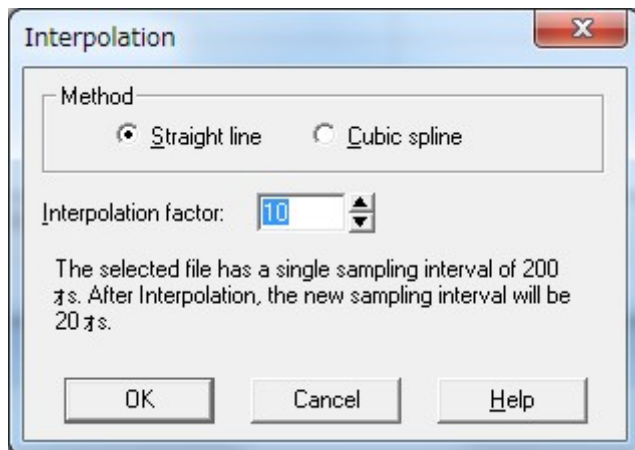


下図のように、演算された波形のみが確認できます。

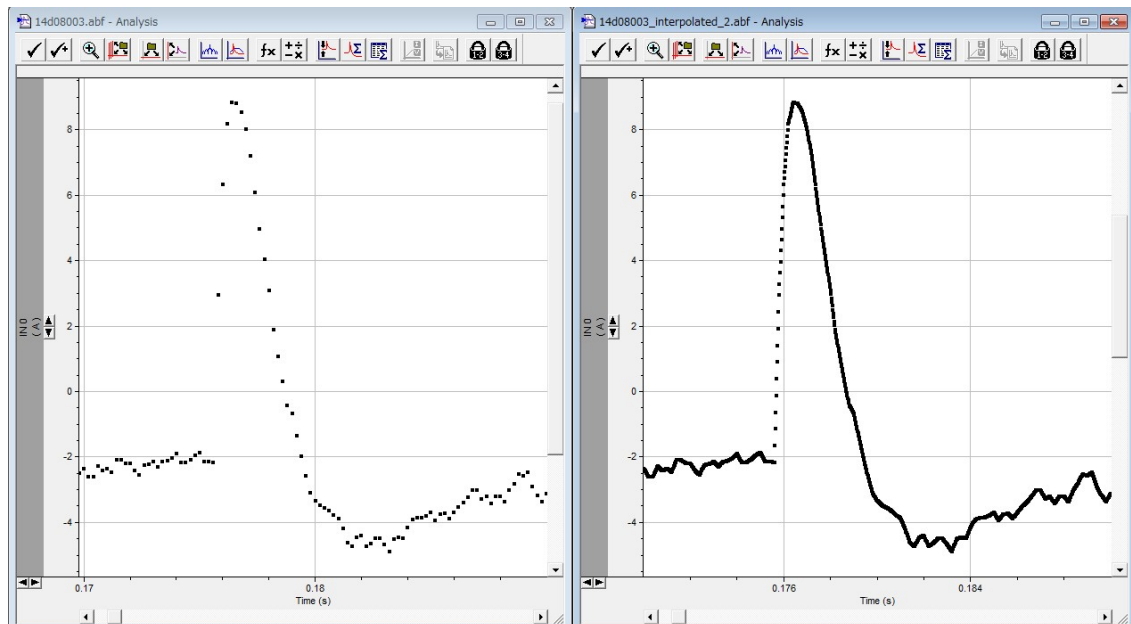


## 18. サンプリングレートを速くする (Interpolation)

強制的にサンプリングレートを速くすることができます。例えば Concatenate Files はサンプリングレートが同じでないと使用できませんが、Analyze > Interpolation でサンプリングレートを速くして、合わせることができます。下図は 200us から 20us に変更した例です。Method を Straight line に設定すると、サンプル数が増えた分は直線で補完します。

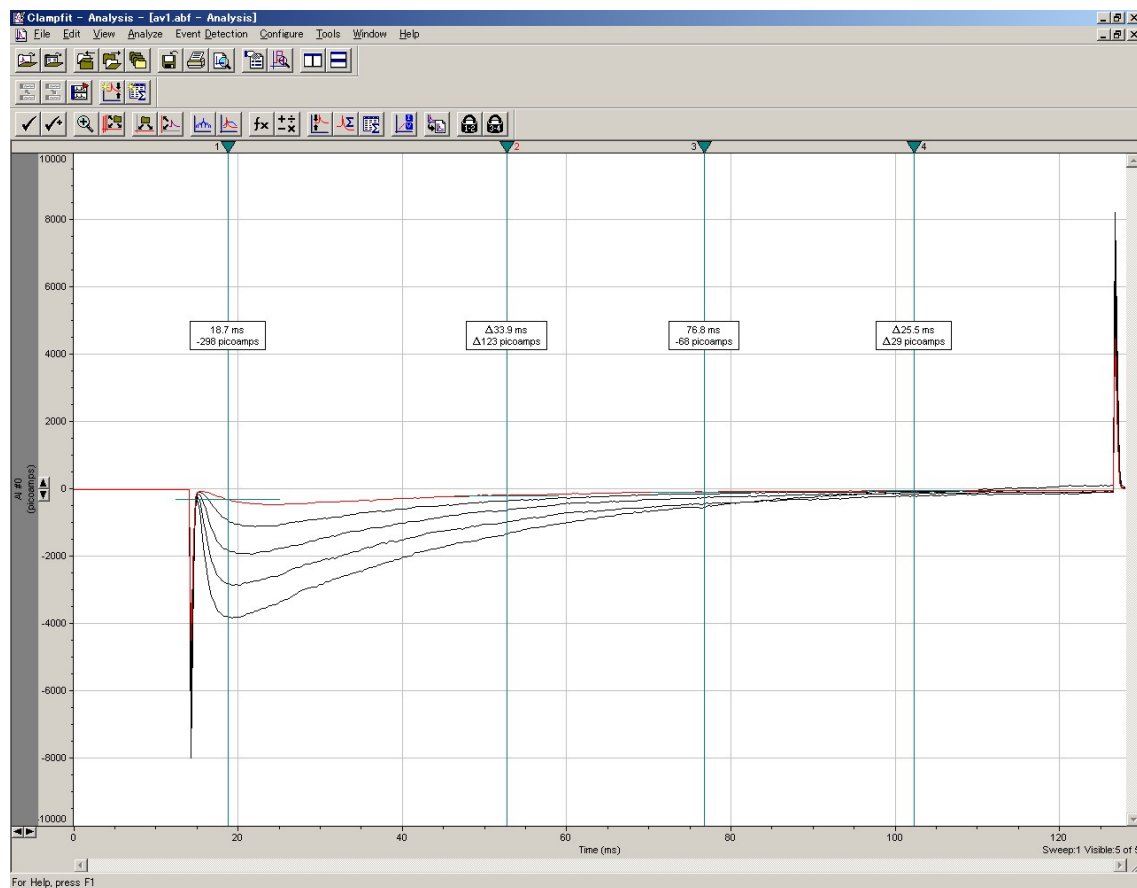


下図は変更前後のデータで、左が変更前で、右が変更後です。

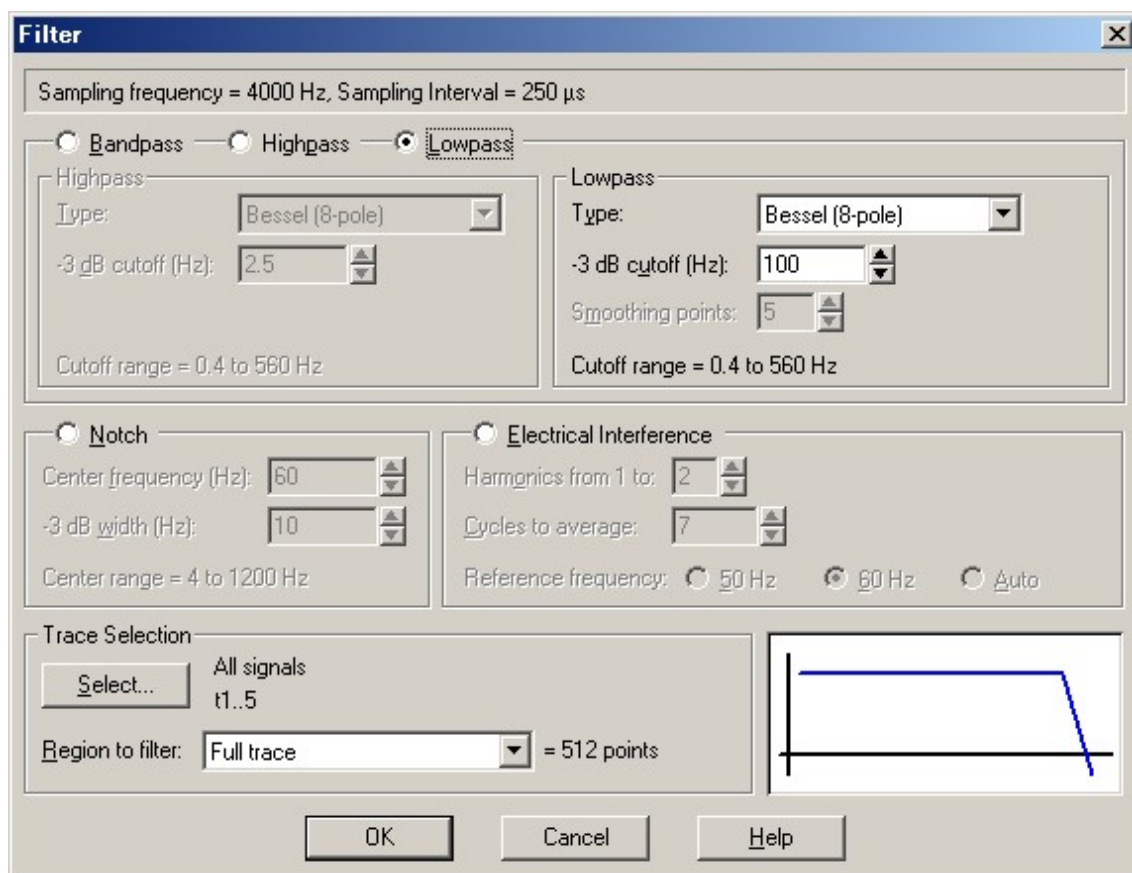


## 19. フィルターの種類 (Filter)

メニューの File/Open File からデータを開きます。例として、サンプルデータの av1.abf を使用します。



メニューの Analyze/Filter を選択すると、Filter ダイアログが開きます。



フィルターの種類は5種類あります。各フィルターのラジオボタンをチェックすると、各設定セクションが有効になります。

Lowpass : 高域遮断周波数より高速をカットするフィルター

Highpass : 低域遮断周波数より低速をカットするフィルター

Bandpass : 低域遮断周波数と高域遮断周波数の間を通過するフィルター

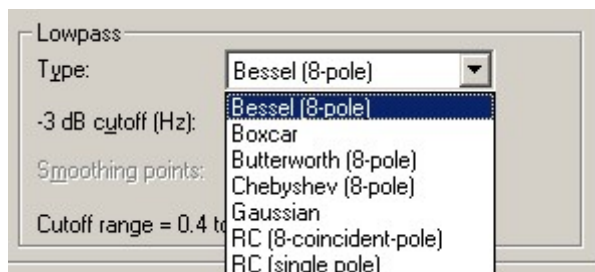
Notch : 特定の周波数をカットするフィルター

Electric Interference : 高調波成分をカットするフィルター

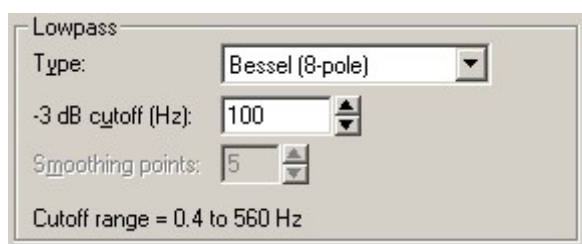
Trace Selection セクションには Sweep と範囲を設定します。Select ボタンを押して Sweep を設定します。Region to filter に範囲を設定します。

また、Filter ダイアログの1番上にはファイルのサンプリング周波数とサンプリング間隔は表示されていて、遮断数周波数を設定する参考になります。

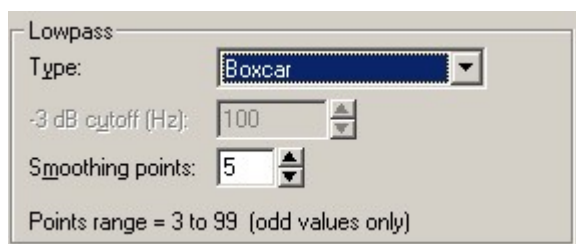
まずは、Lowpass を設定してみましょう。Lowpass をチェックすると、Lowpass セクションが有効になります。



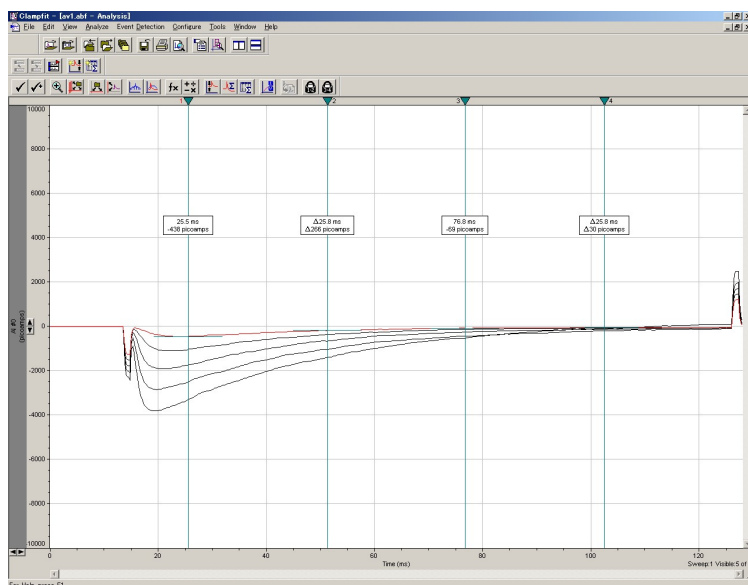
Type にフィルターの種類を設定します。  
8 種類のフィルターから選択できます。  
Bessel (8-pole)を選択して下さい。



-3dB cutoff(Hz)には高域遮断周波数を設定します。また、設定可能範囲は下の方に Cutoff range = 0.4 to 560Hz と表示されています。この範囲はフィルターの種類によってとなります。



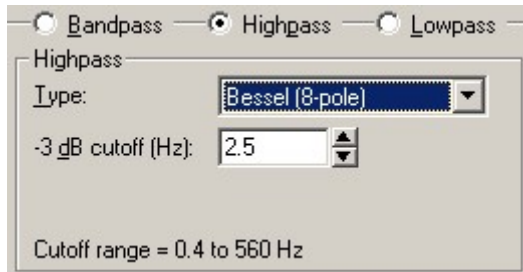
Type に Boxcar を選択して下さい。この関数は平滑フィルターなので周波数の設定はありません。代わりに、Smoothing points に平滑化指数を設定します。設定範囲は下の方に Points range = 3 to 99 と表示されています。



Type に Bessel (8-pole)を選択して、OK ボタンを押して下さい。

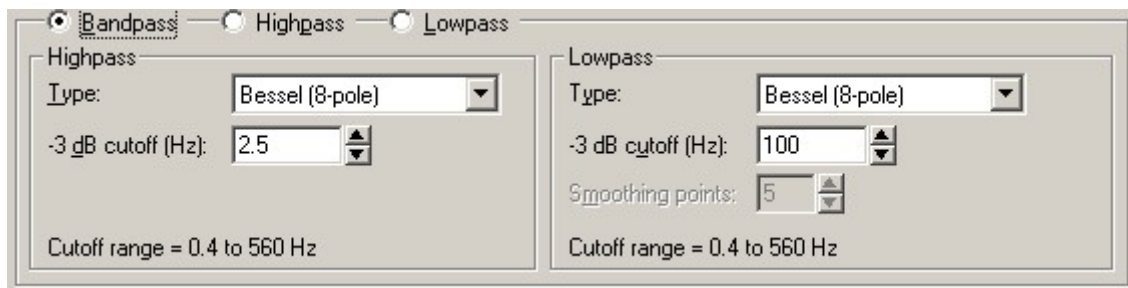
右図のように高域がカットされます。必要であれば、メニューの File/Save As から別名で保存して下さい。

次に、Highpass を設定してみます。Highpass をチェックすると、Highpass セクションが有効になります。

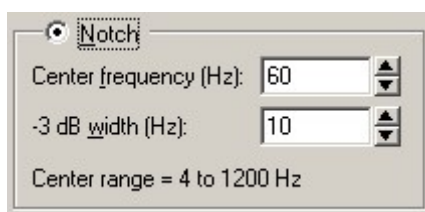


Lowpass と同様で Type と -3 dB cutoff (Hz) を設定します。Highpass の Type には平滑化フィルターがないため、Smoothing points の設定項目はありません。

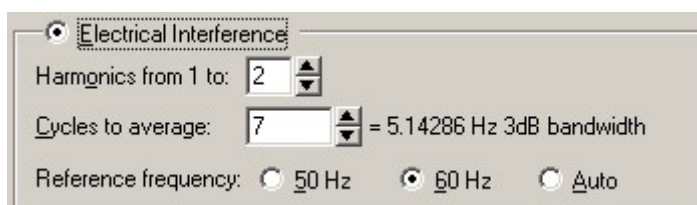
同様に、Bandpass をチェックすると Highpass と Lowpass の両方が有効になります。設定項目は同じです。



notch は特定の周波数をカットするフィルターです。設定項目は中心周波数と帯域幅です。Center frequency に中心周波数を設定します。-3dB width に帯域幅を設定します。



Electrical Interference は高調波をカットするフィルターです。設定項目は高調波の数と時定数と基準周波数です。



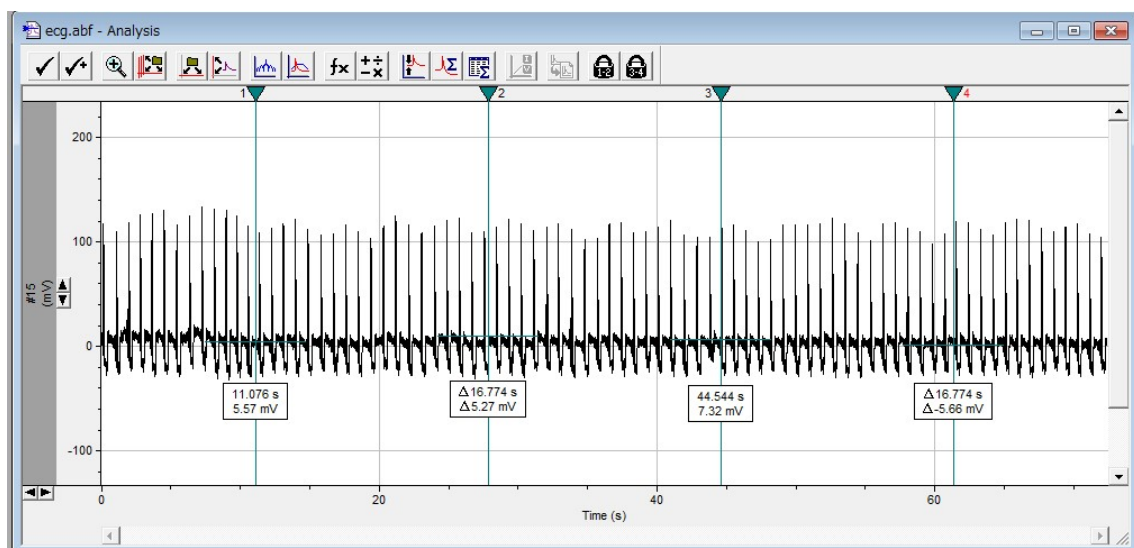
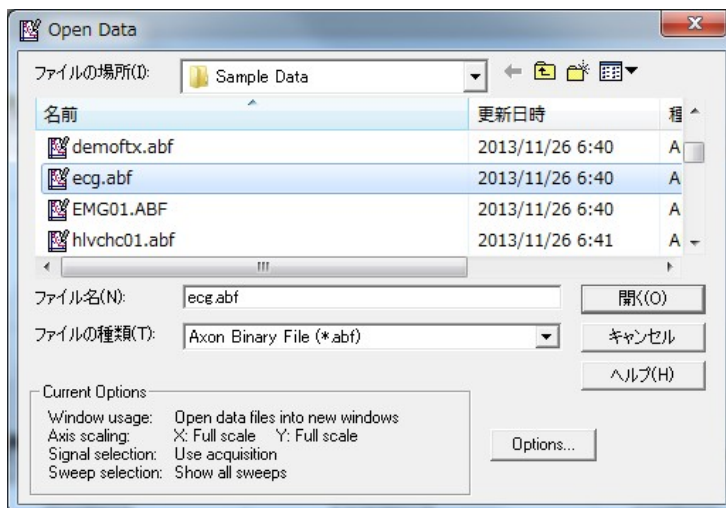


## 20. 活動電位の解析 (Workshop 2013- )

### 20.1. イベント検索

Threshold Search でイベント波形を検索して、活動電位の部分だけの波形を抽出することができます。

File > Open Data から ecg.abf を開きます。



メニューの Event Detection > Threshold Search を選択します。Threshold Search を設定して OK をクリックします。

**Threshold Search**

☒ Category 1 Reset All

☒ Positive-going ☐ Negative-going

Event finding

Bring Markers Level marker

Baseline: (mV) (0) 5.887

☐ to Re-arm (mV): (1)  $\Delta$  7.743

☐ to Trigger (mV): (2)  $\Delta$  64.91

☐ to Rejection (mV): (3)  $\Delta$  64.38

☐ Noise rejection (ms): 0

Pretrigger and post-trigger lengths

☒ Pretrigger (ms): 50

☒ Post-trigger (ms): 50

Event rejection

☐ Min allowed duration (ms): 0

☐ Max allowed duration (ms): 5

☐ Fitting

☒ Product of exponentials

☐ Sum of exponentials: 2 terms

Calculate taus from 0 % of peak

Search Region

Select... All visible signals One continuous trace

Full trace = 36197 samples

OK Cancel Help

検索条件の数を設定します。今回は1にします。

波形の極性を設定します。

Baseline を設定します。波形のカーソル"0"を設定します。

閾値を設定します。波形のカーソル"2"を設定します。

波形を抽出する範囲を設定します。

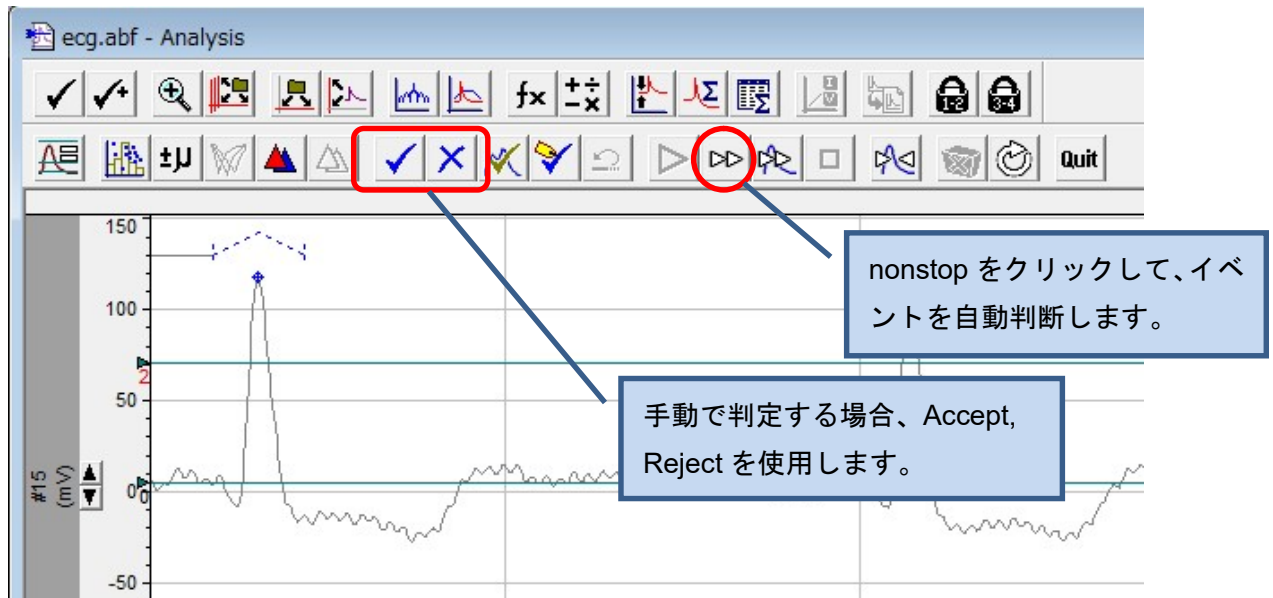
閾値のカーソル

Baseline のカーソル

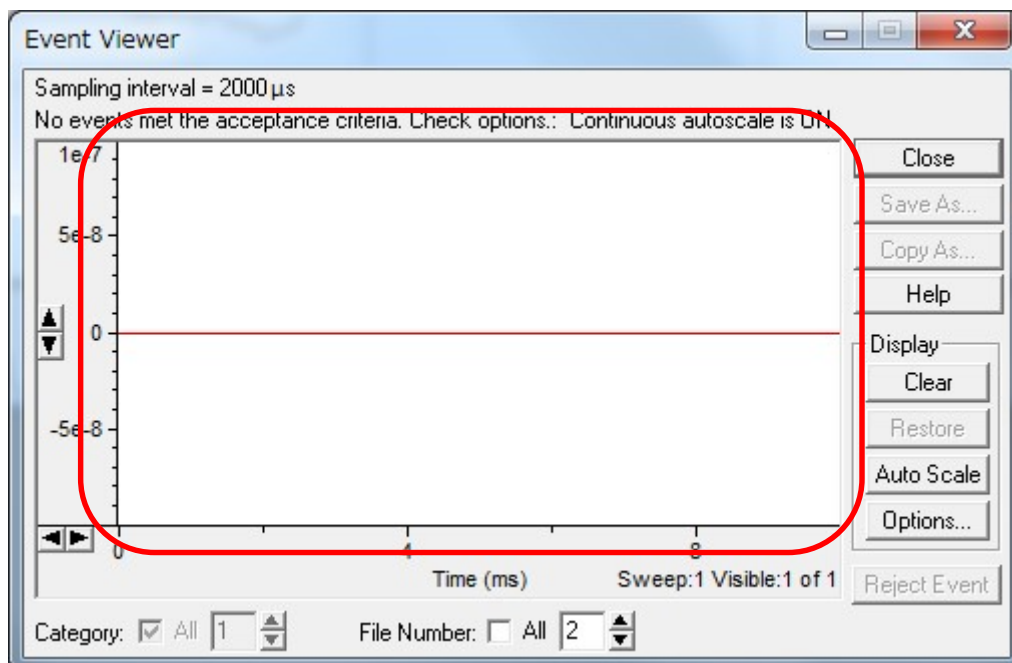
検索範囲を設定します。

OK をクリックします。

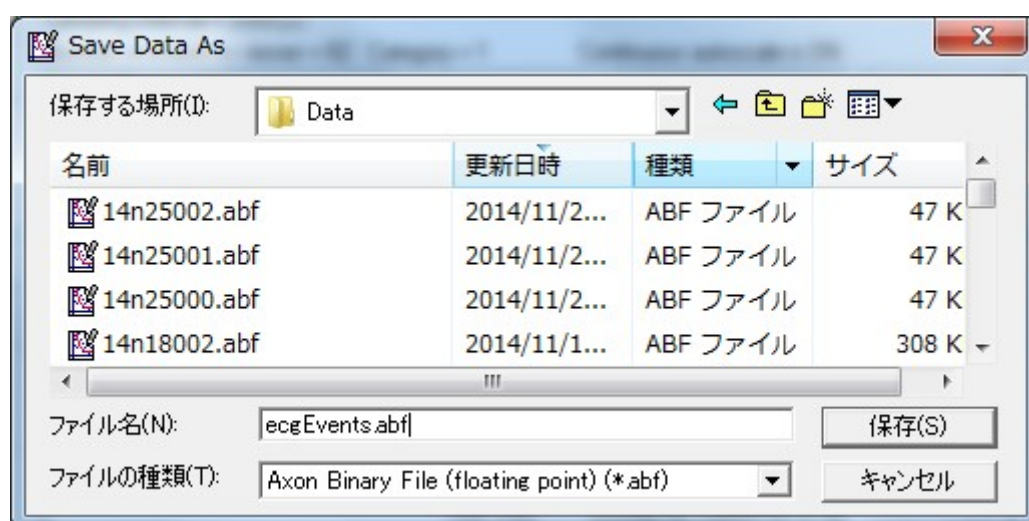
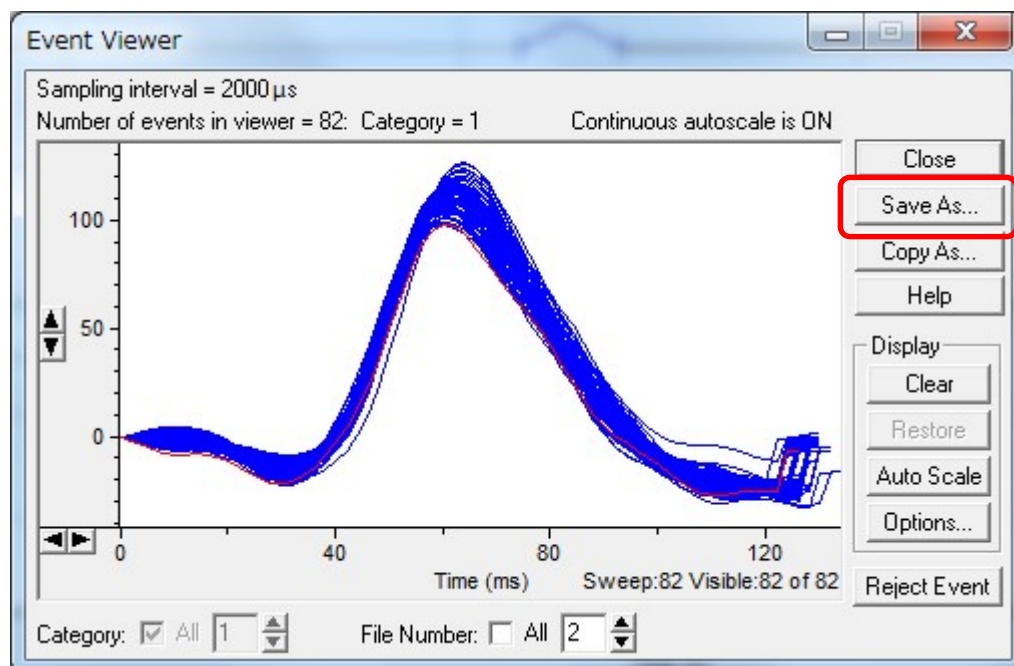
今回は none stop を使用して自動検索します。自分で確認して手動で検索する場合は、Accept, Reject を使用して下さい。



同時に Event Viewer が表示されます。ここに検索されたイベント波形が表示されていきます。

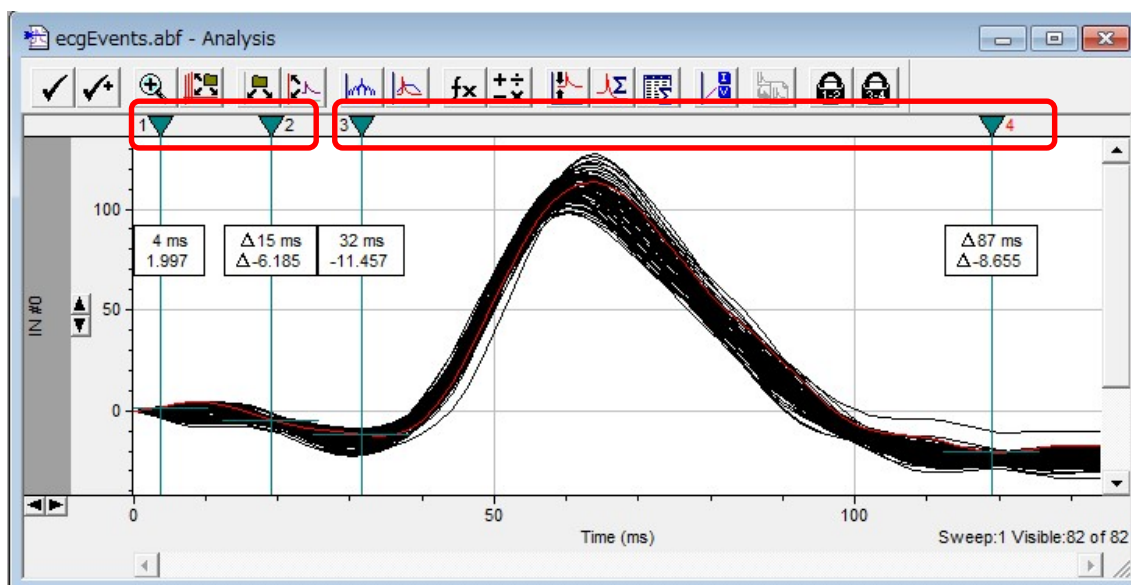


イベント検索が終了したら、Save As をクリックして波形を保存します。

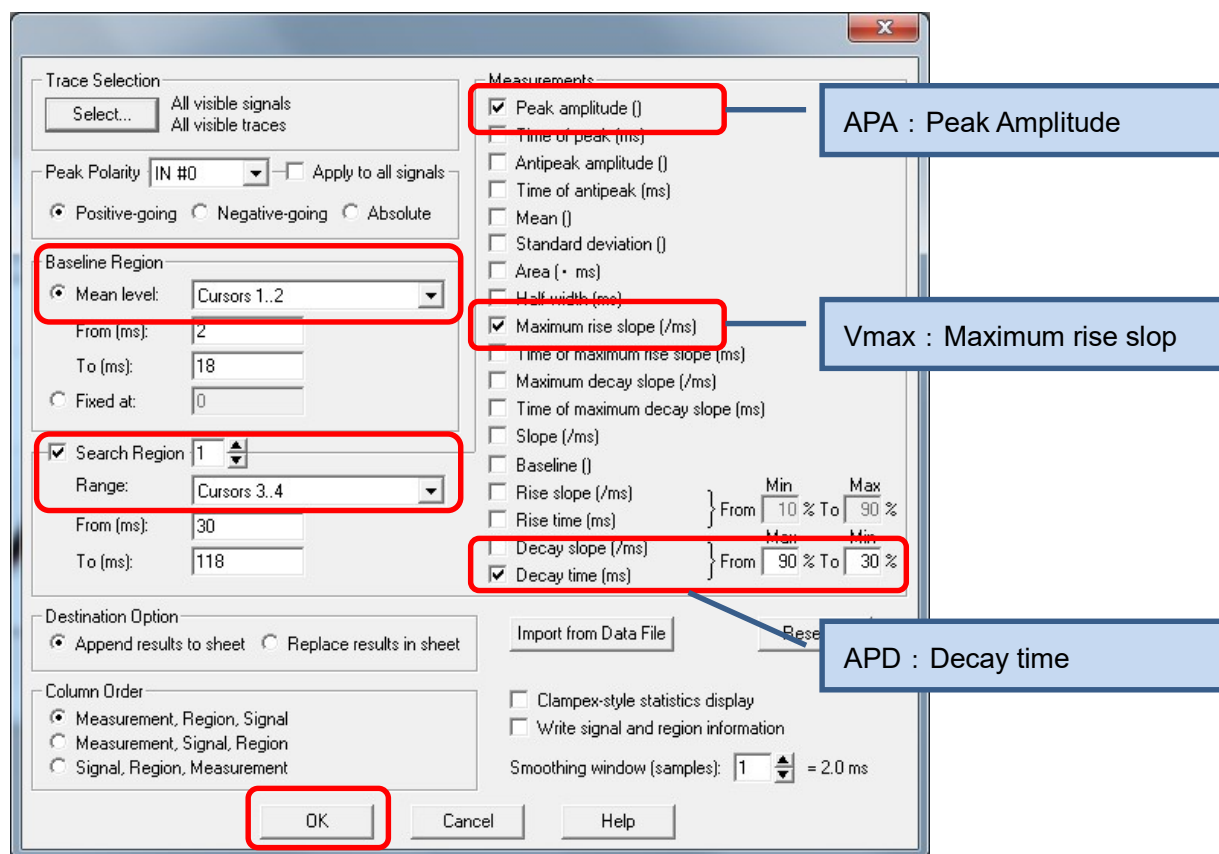


## 20.2. Vmax, APD, APA の解析

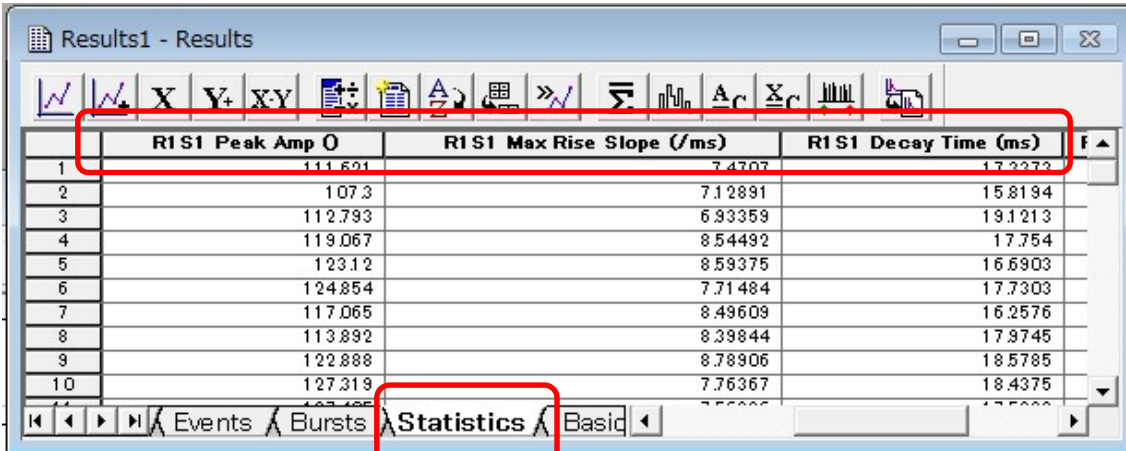
Event Viewer で保存したデータを開き、カーソル 1-2 をベースライン、カーソル 3-4 を解析範囲に設定します。



メニューの Analyze > Statistics を選択します。下図のようにベースラインと解析範囲をカーソルに設定し、必要な解析項目を選択して、OK をクリックします。



Result ウィンドウの Statistics タブに結果がレポートされます。



Results1 - Results

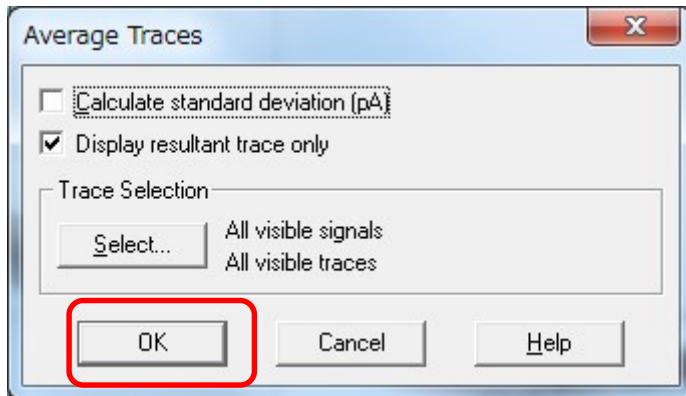
	R1 S1 Peak Amp O	R1 S1 Max Rise Slope (/ms)	R1 S1 Decay Time (ms)	F ▲
1	111.621	7.4707	17.2272	
2	107.3	7.12891	15.8194	
3	112.793	6.93359	19.1213	
4	119.067	8.54492	17.754	
5	123.12	8.59375	16.6903	
6	124.854	7.71484	17.7303	
7	117.065	8.49609	16.2576	
8	113.892	8.39844	17.9745	
9	122.888	8.78906	18.5785	
10	127.319	7.76367	18.4375	

Events / Bursts / **Statistics** / Basic

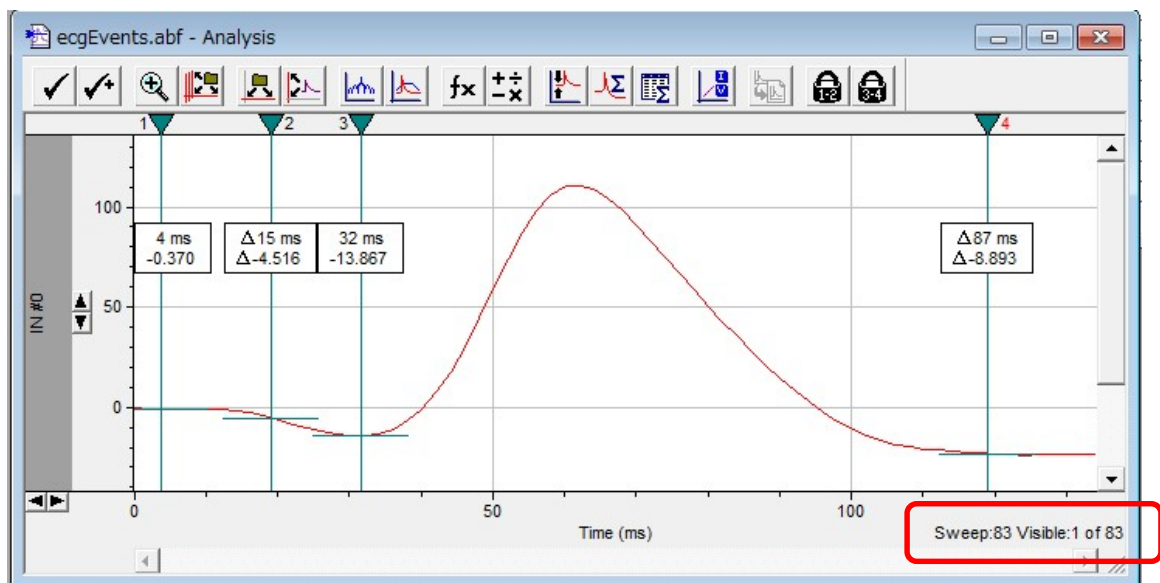


### 20.3. 平均波形の作成

メニューの Analyze > Average Trace を選択します。OK をクリックして平均波形を作成します。



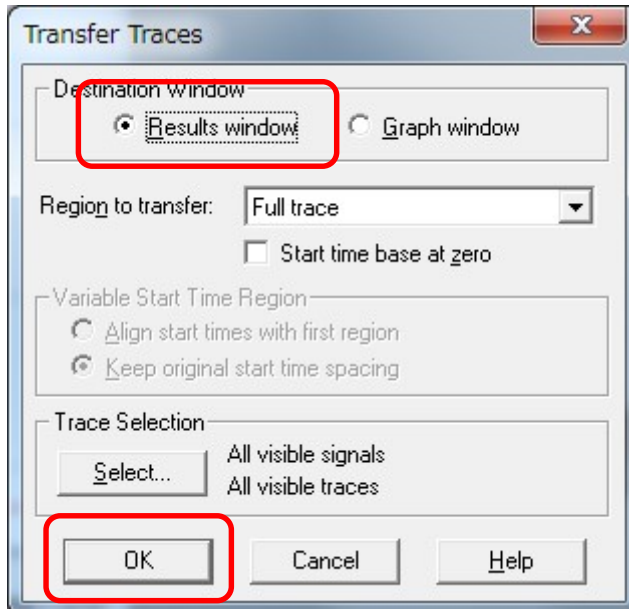
Sweep の末尾に平均波形が表示されます。



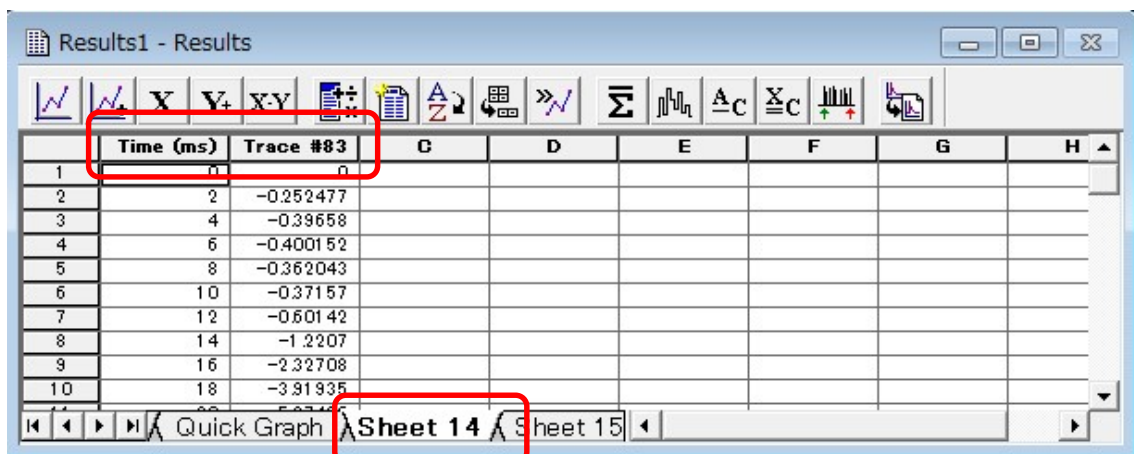
この波形を Analyze > Statistics で解析すれば、平均波形の Vmax, APD, APA の結果が得られます。

#### 20.4. dV/dt の作成

メニューの Edit > Transfer Trace を選択します。下図のように設定し、OKをクリックします。



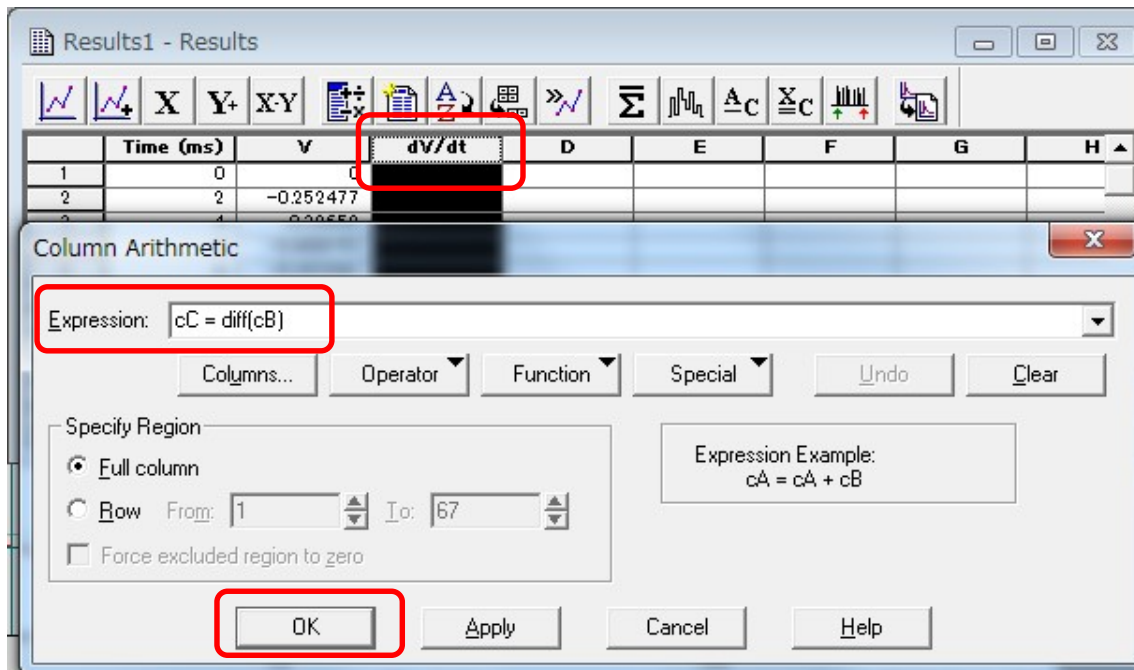
Result ウィンドウの Sheet14 に平均波形のデータが格納されます。



カラムをダブルクリックして名前を変更します

Time (ms)	V	dV/dt
0	0	

dV/dt を選択して、メニューの Analyze > Column Arithmetic を選択します。下図のような式を入力して OK をクリックします。



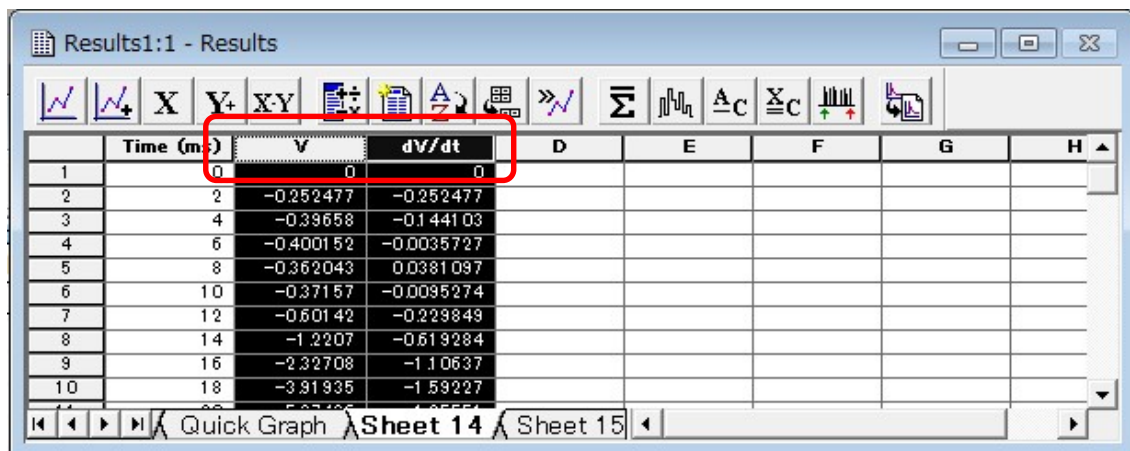
dV/dt がレポートされます。

The screenshot shows the 'Results1 - Results' window. The table has the following data:

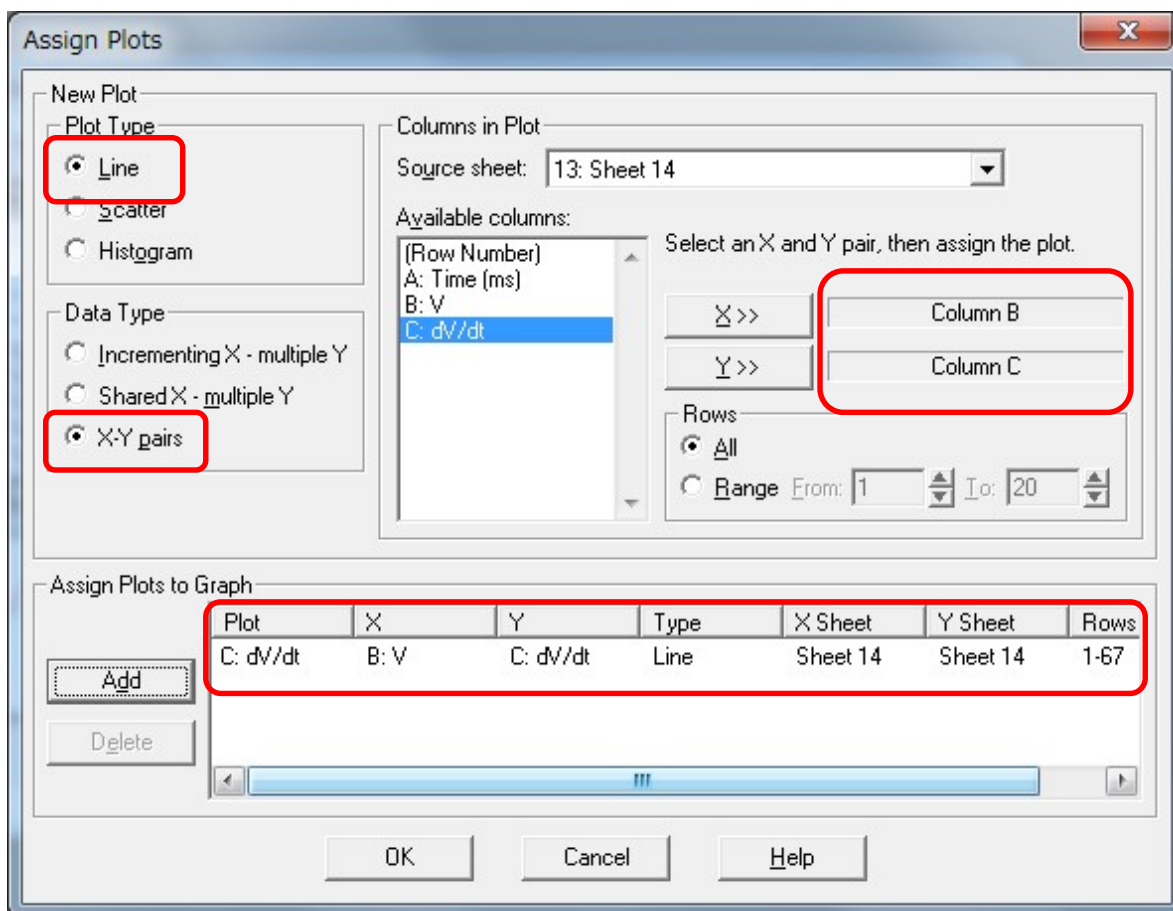
	Time (ms)	V	dV/dt	D	E	F	G	H
1	0	0	0					
2	2	-0.252477	-0.252477					
3	4	-0.39658	-0.144103					
4	6	-0.400152	-0.0035727					
5	8	-0.362043	0.0381097					
6	10	-0.37157	-0.0095274					
7	12	-0.60142	-0.229849					
8	14	-1.2207	-0.619284					
9	16	-2.32708	-1.10637					
10	18	-3.91935	-1.59227					

## 20.5. Phase プロットの作成

V と dV/dt を選択します。

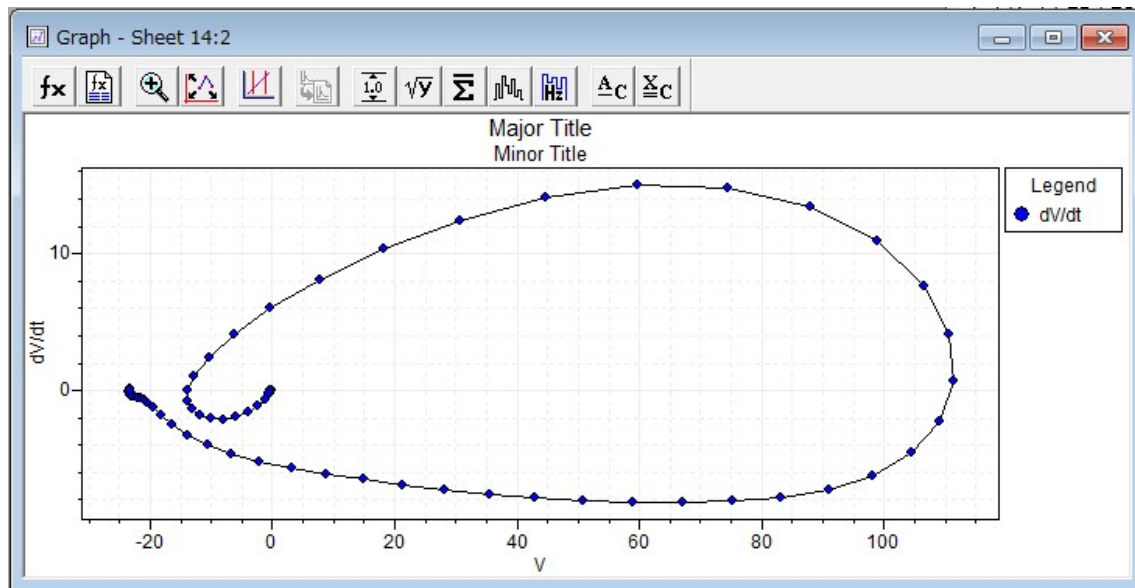


メニューの Analyze > Assign Plot を選択します。下図のように設定してOKをクリックします。



226

プロットが作成されます。

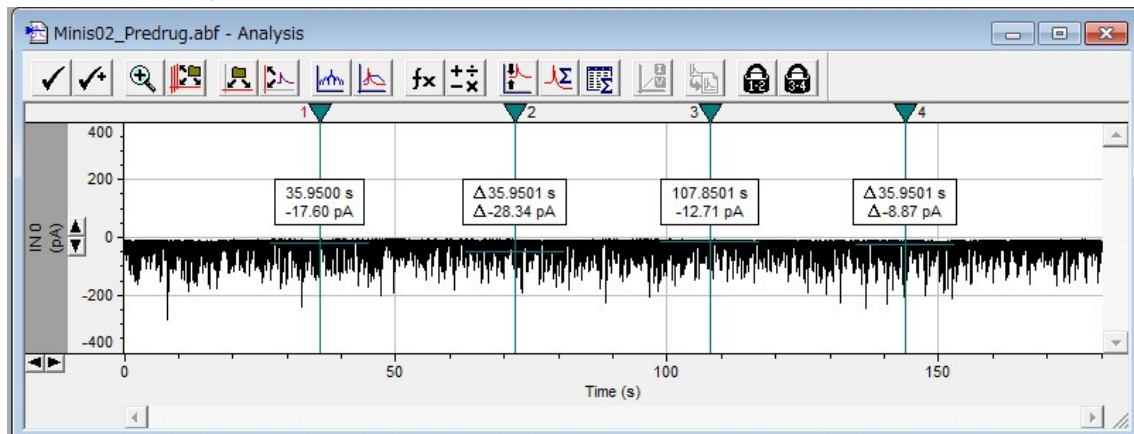


## 21. シナプス電位の解析 (Workshop 2013- )

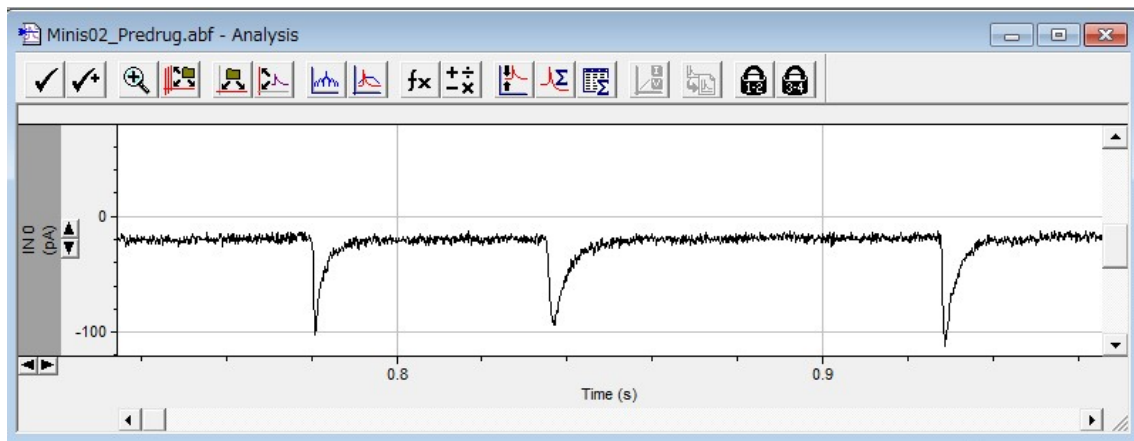
### 21.1. Template Search のテンプレートを作成する

シナプス電位をイベントとして検出するためには、最初に基準となるテンプレートを作成する必要があります。

Minis02\_Predrug.abf を開きます。

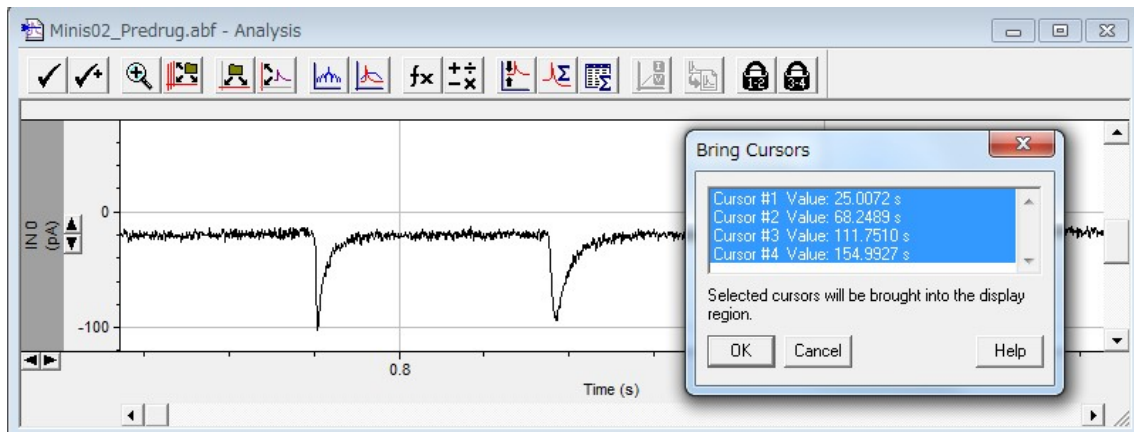


最初の数ミリ秒を拡大します。

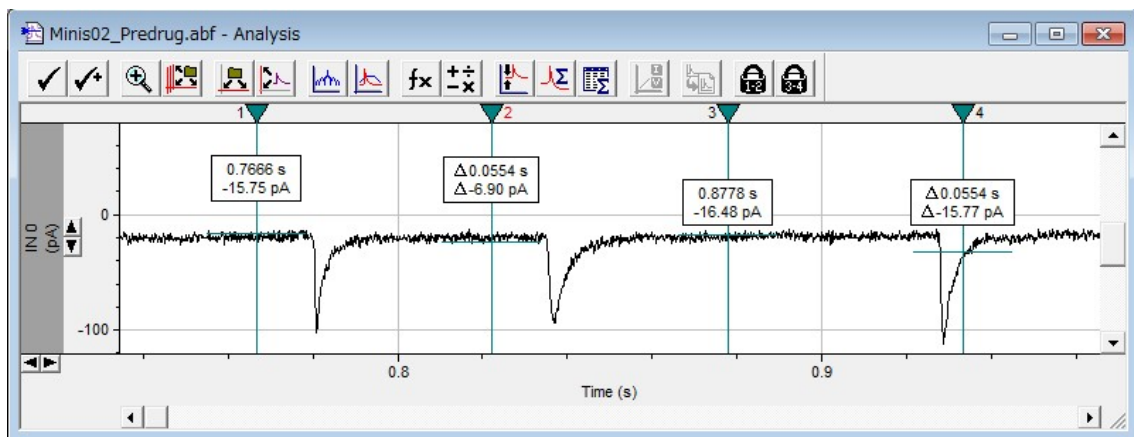




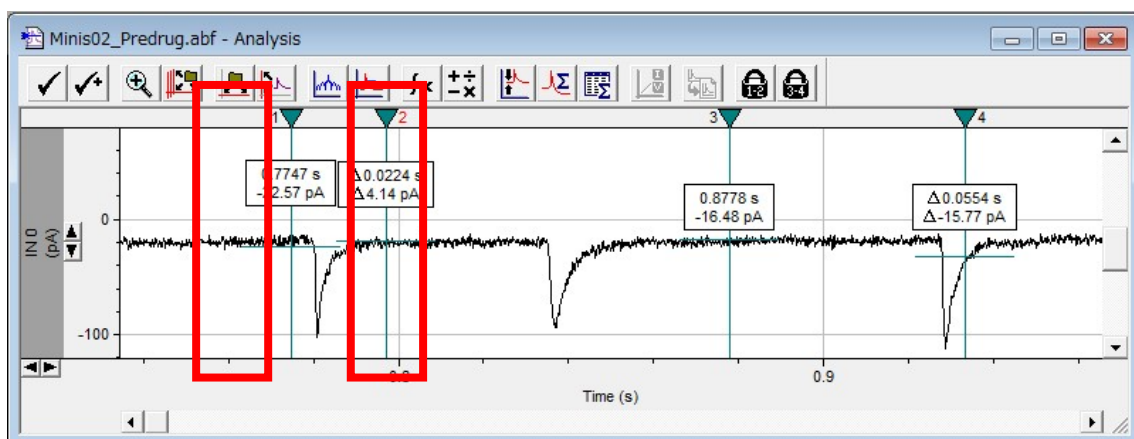
Tools > Cursors > Bring Cursors でカーソルを呼び出します。



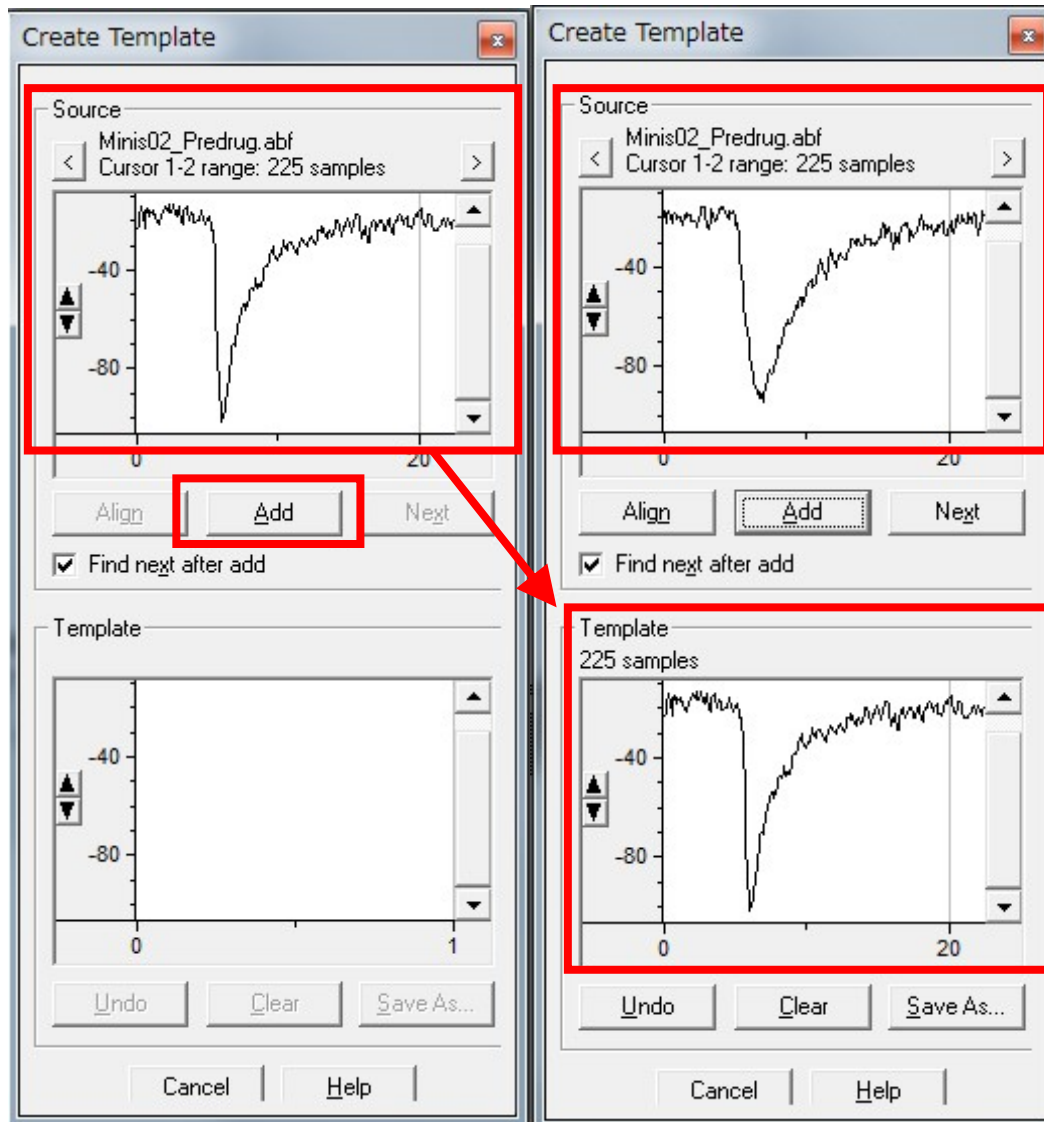
カーソルが呼び出されます。



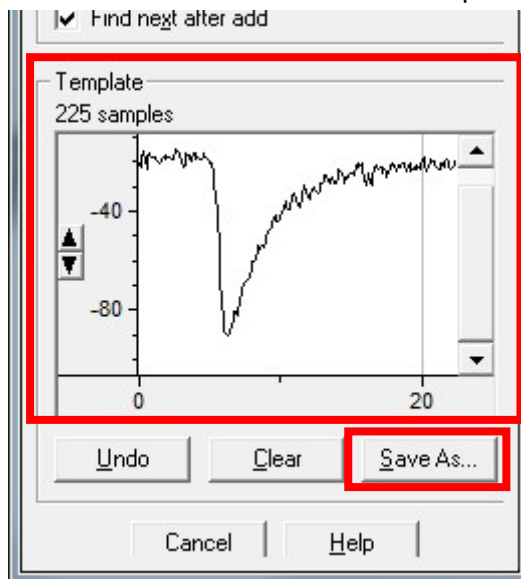
テンプレートにするイベントをカーソルで指定します。



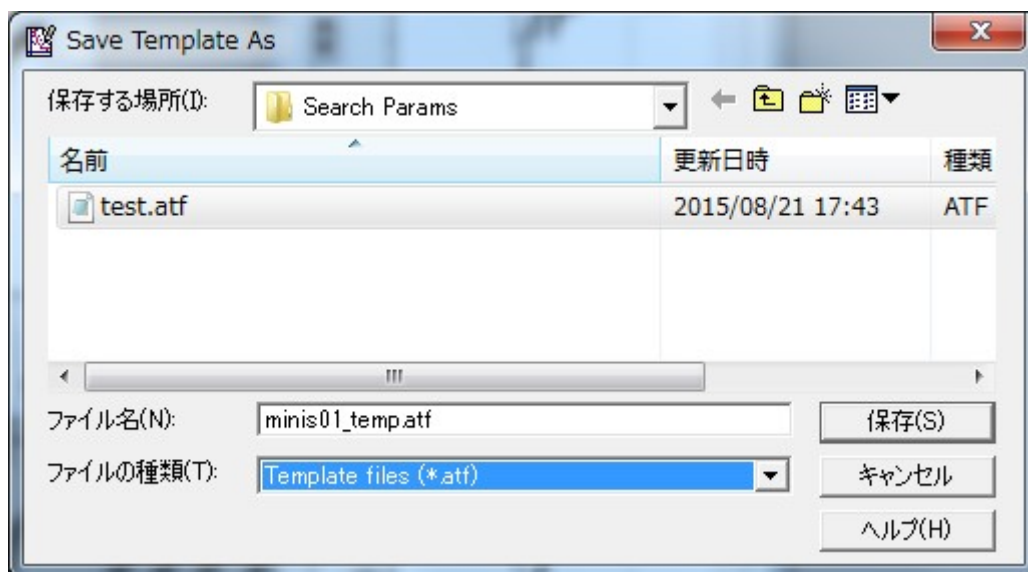
Event Detection > Create Template を選択します。Source にカーソルで挟まれたイベントがテンプレート候補として表示されます。Add をクリックすると、Template に追加されます。Source には次のテンプレート候補が表示されます。



さらに Add をクリックすると、Template は平均されて、スムーズな波形になります。

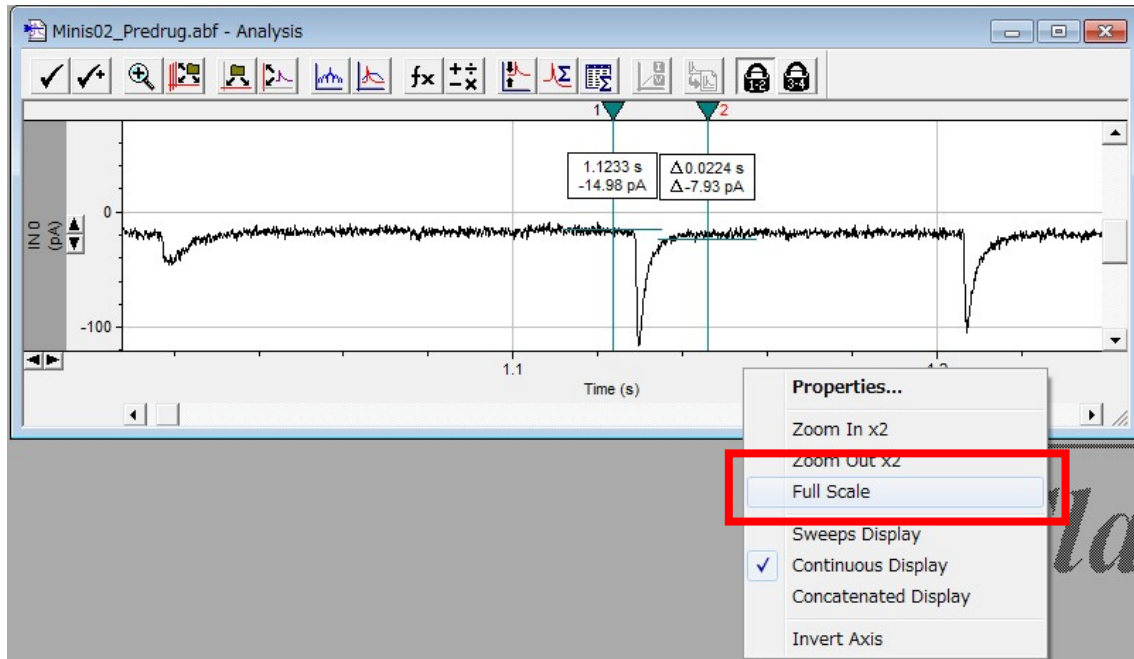


Save As をクリックして、Template を保存します。

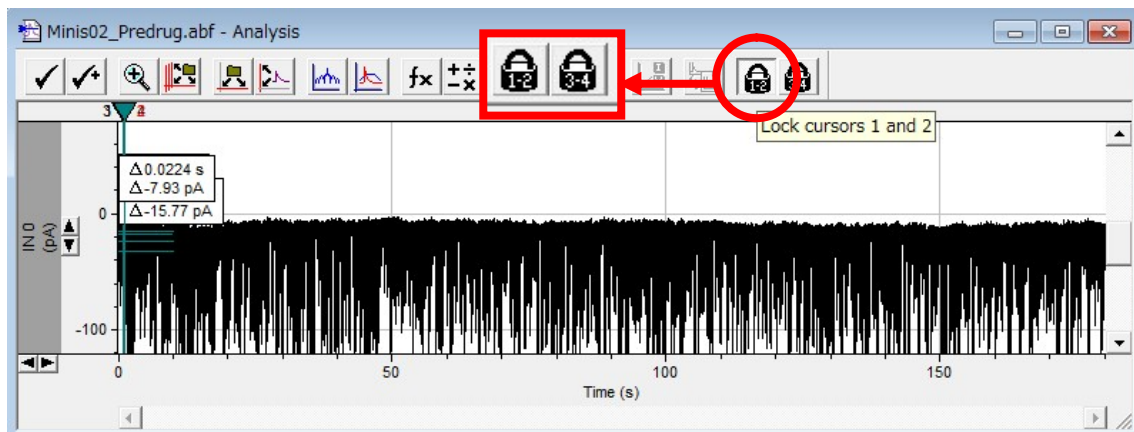


## 21.2. Template Search の検索範囲を設定する

X 軸を右クリックして、Full Scale を選択します。



カーソル 1-2 のロックを解除します。



232

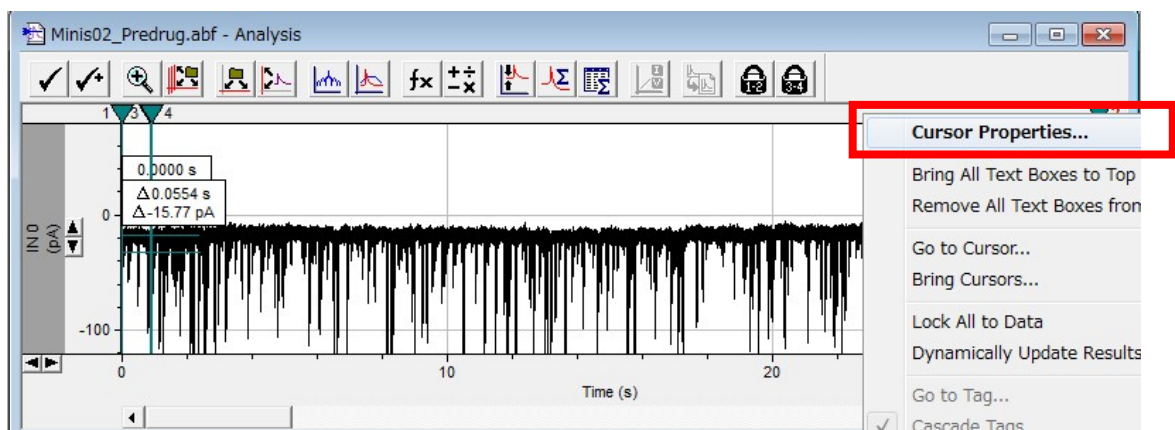
1 キーを押して、カーソル 1 を選択します。



Home キーを押して、カーソル 1 を 0ms に移動します。

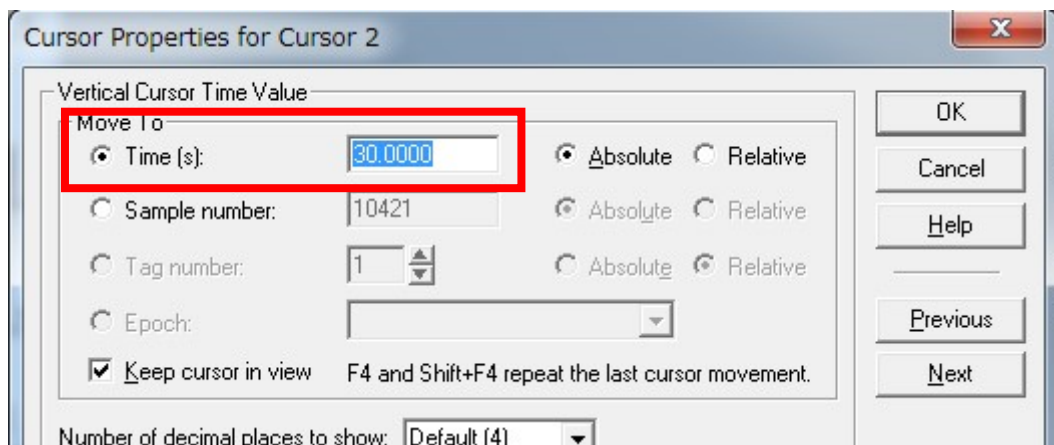


2 キーを押して、カーソル 2 を選択し、カーソル領域を右クリックして、Cursors Properties を選択します。

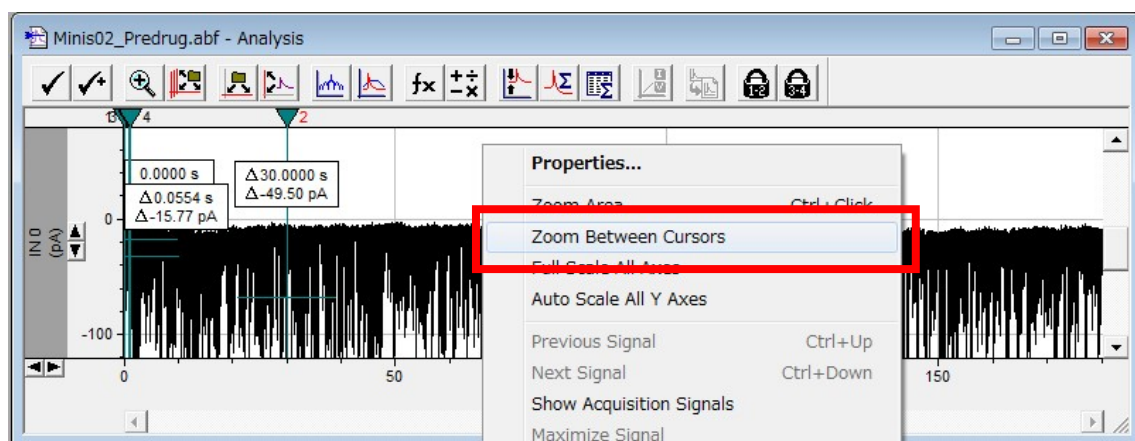




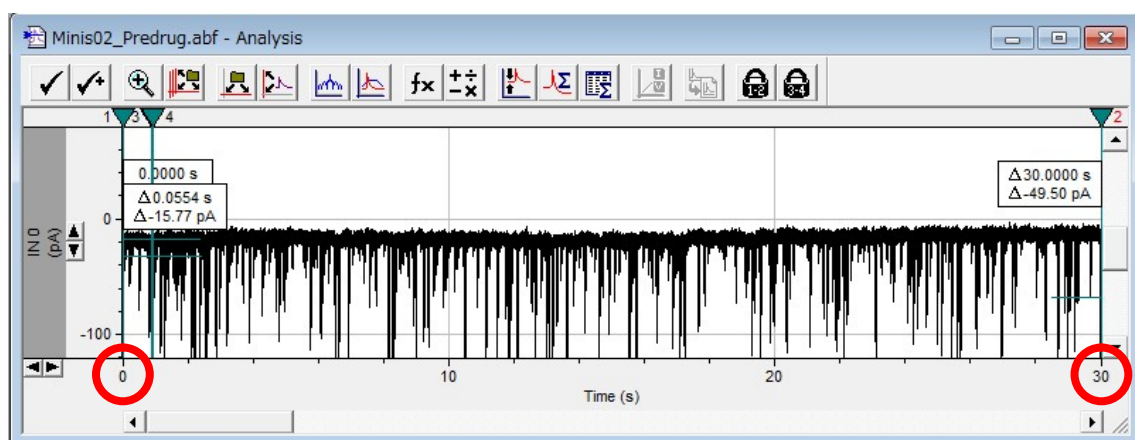
Time を 30s に設定します。



波形領域を右クリックして、Zoom Between Cursors を選択します。



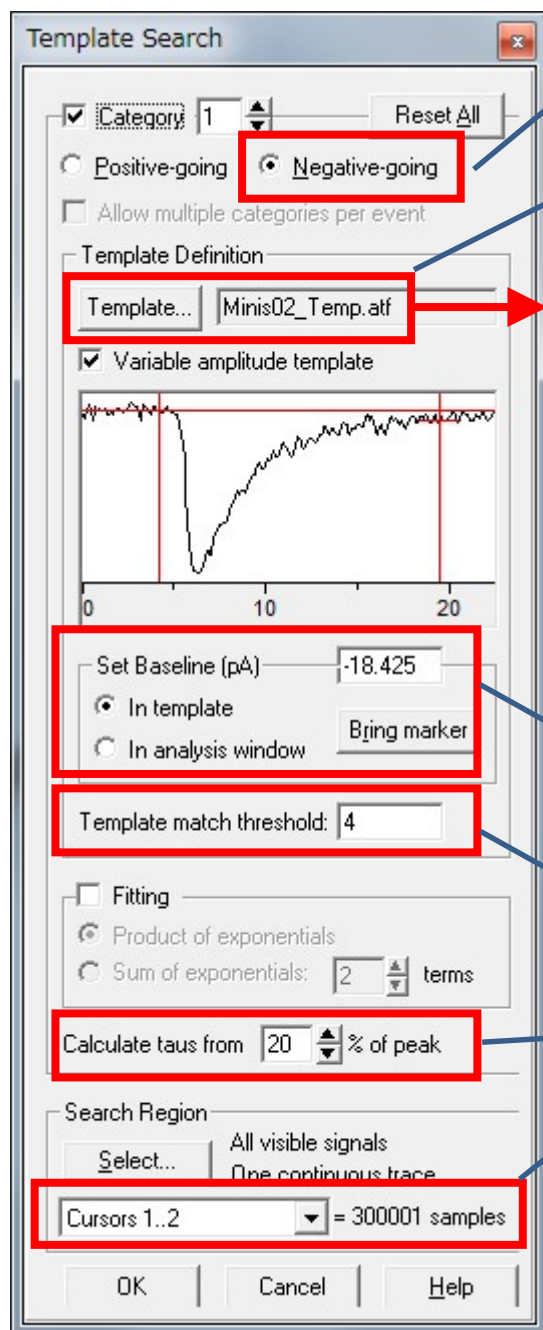
0-30ms が表示されます。





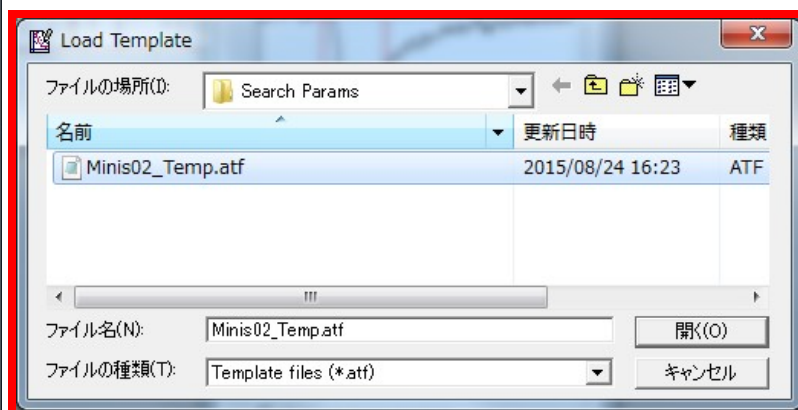
### 21.3. Template Search でイベント検出する

作成した Template を使用して、イベントを検出します。Event Detection > Create Template を選択します。



検出するピーク極性を設定します。

テンプレートファイルを設定します。



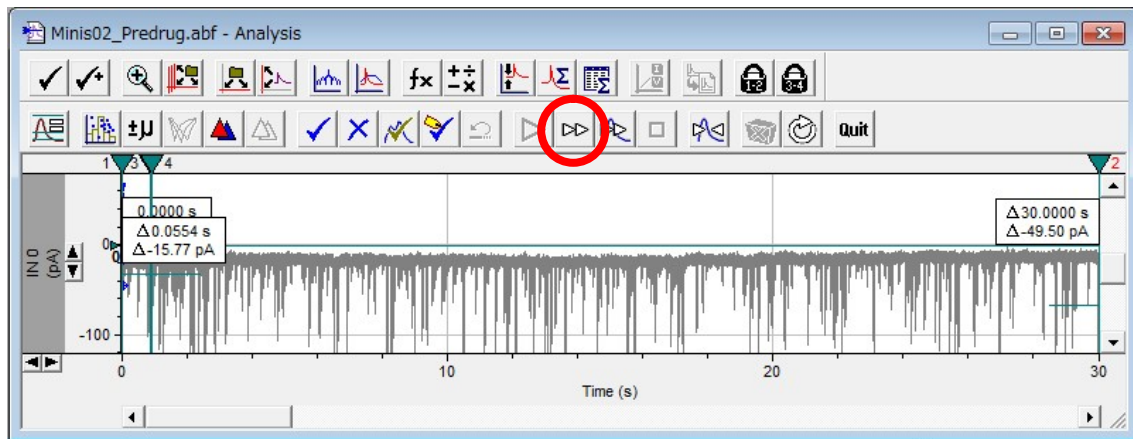
ベースラインを設定します。テンプレートのベース、波形の任意ベースを選択できます。

検出パラメータで、通常はデフォルトの4が最適値です。

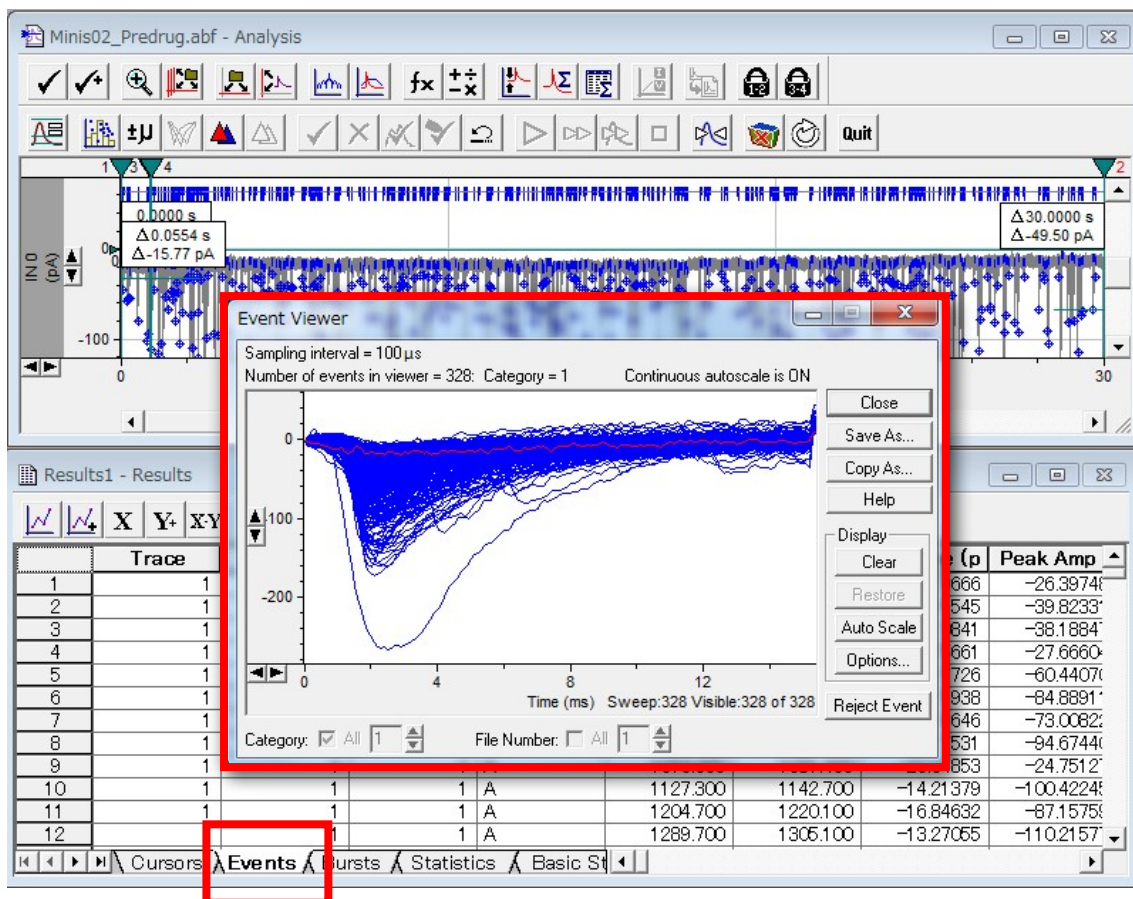
ピークの許容範囲を設定します。

検索範囲を設定します。

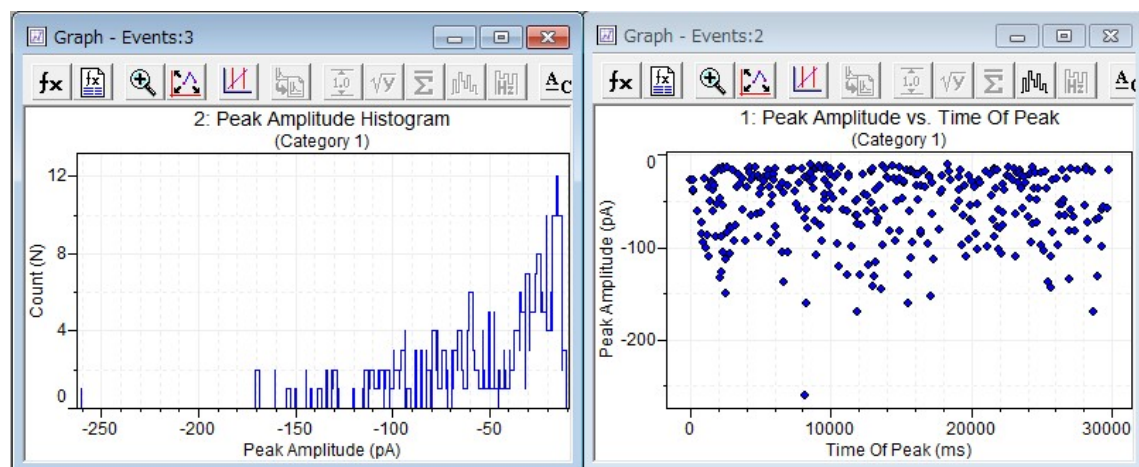
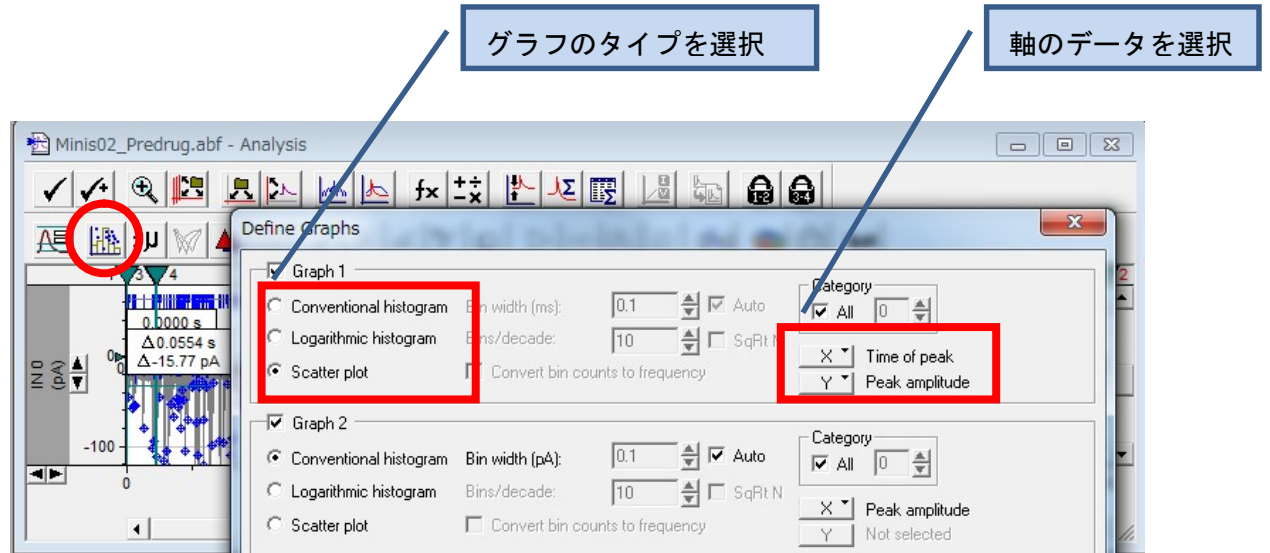
Nonstop をクリックして、イベントを自動検出します。



Event Viewer に検出されたイベントが表示され、Results ウィンドウの Event タブにイベントデータが表示されます。

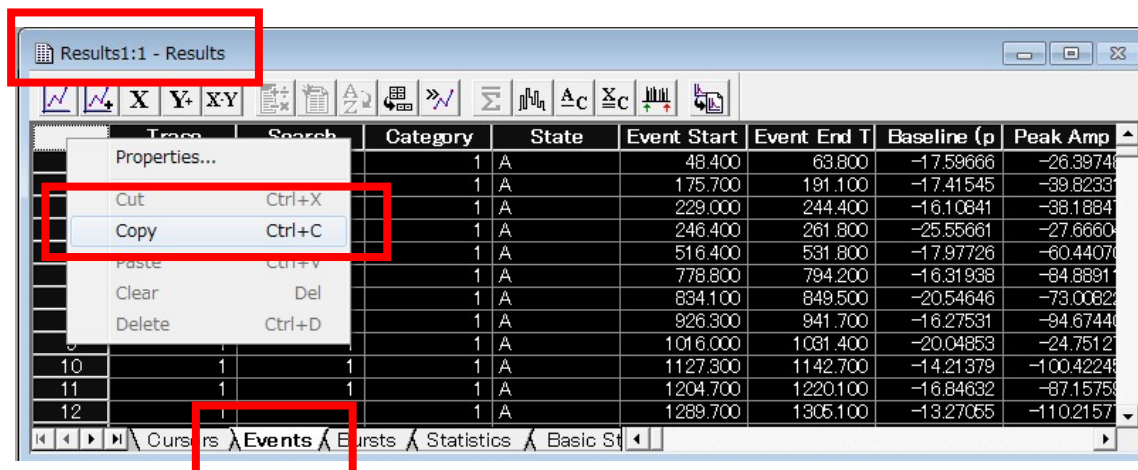


Event Detection > Define Graph または Define Graph ツールボタンを選択して、様々なヒストグラムを作成することができます。

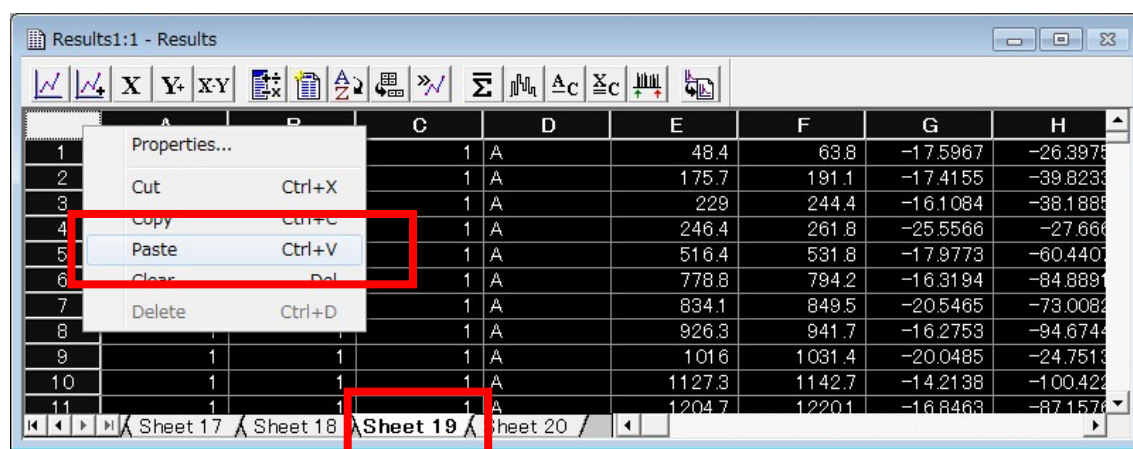


## 21.4. Cumulative Histogram を作成する

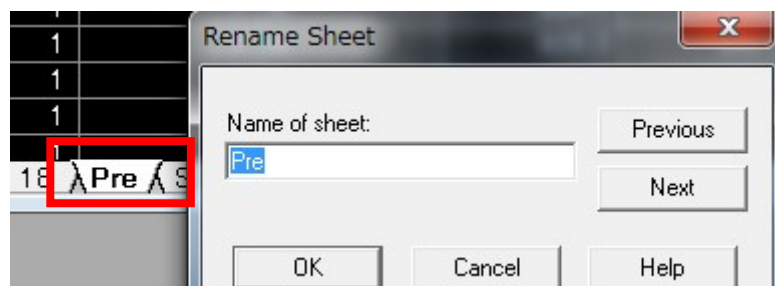
Results ウィンドウの Event タブのデータをコピーします。左上をクリックしてシート全体を選択し、さらに右クリックして Copy を選択します。もしくは、Edit > Select All と Edit > Copy を使用します。



Sheet19 タブにペーストします。左上をクリックしてシート全体を選択し、さらに右クリックして Paste を選択します。もしくは、Edit > Select All と Edit > Paste を使用します。

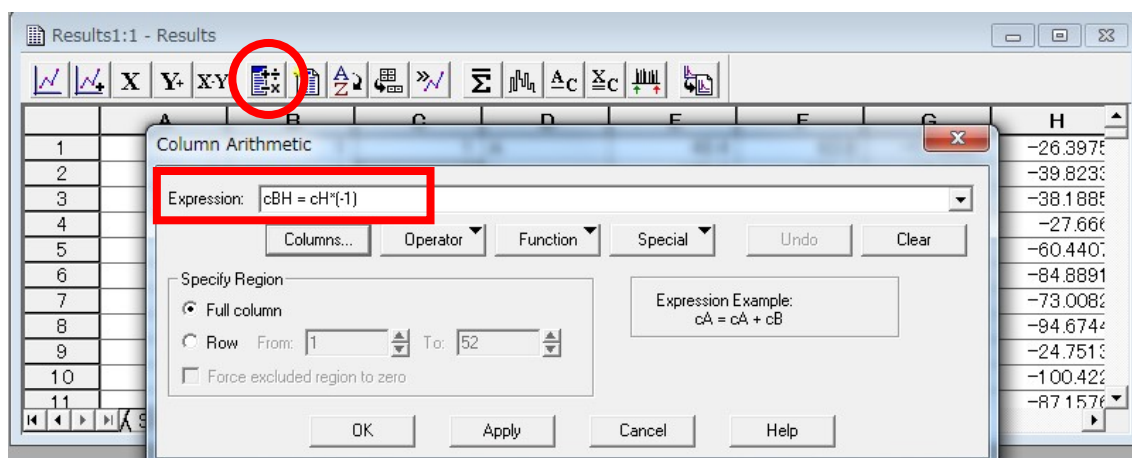


タブ名をわかりやす名前に変更します。Sheet19 タブをダブルクリックして、タブ名を Pre に変更します。





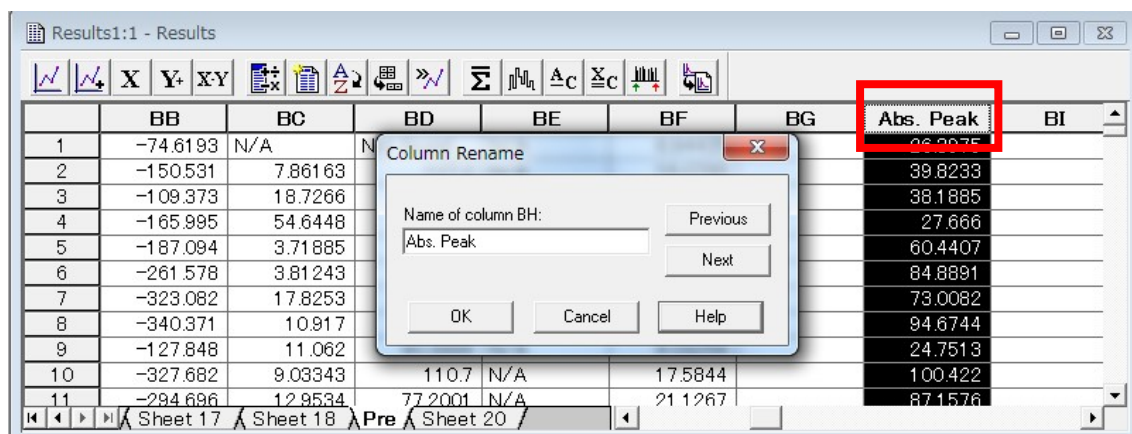
Analyze > Column Arithmetic を選択、もしくは Column Arithmetic ツールボタンをクリックして、H 列（ピーク振幅）の絶対値を BH 列に計算します。



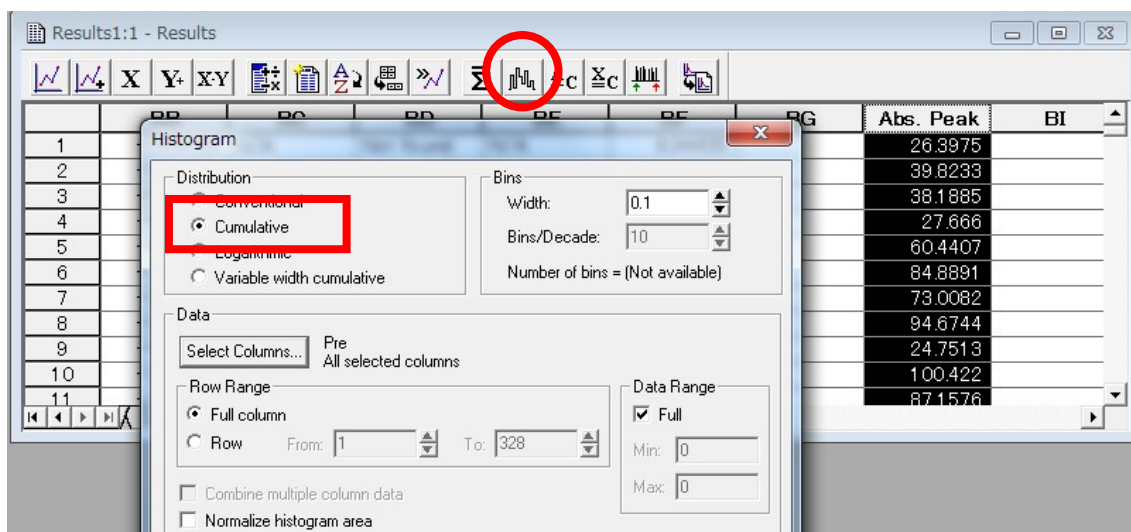
列 BH に絶対値が計算されます。

	BB	BC	BD	BE	BF	BG	BH	BI
1	-74.6193	N/A	Not found	N/A	6.94435		26.3975	
2	-150.531	7.86163	127.2	N/A	16.0788		39.8233	
3	-109.373	18.7266	53.4	N/A	8.99565		38.1885	
4	-165.995	54.6448	18.3	N/A	5.22139		27.666	
5	-187.094	3.71885	268.9	N/A	9.90401		60.4407	
6	-261.578	3.81243	262.3	N/A	16.583		84.8891	
7	-323.082	17.8253	56.1	N/A	20.2083		73.0082	
8	-340.371	10.917	91.6	N/A	24.5103		94.6744	
9	-127.848	11.062	90.3999	N/A	9.03256		24.7513	
10	-327.682	9.03343	110.7	N/A	17.5844		100.422	
11	-294.696	12.8534	77.2001	N/A	21.1267		87.1576	

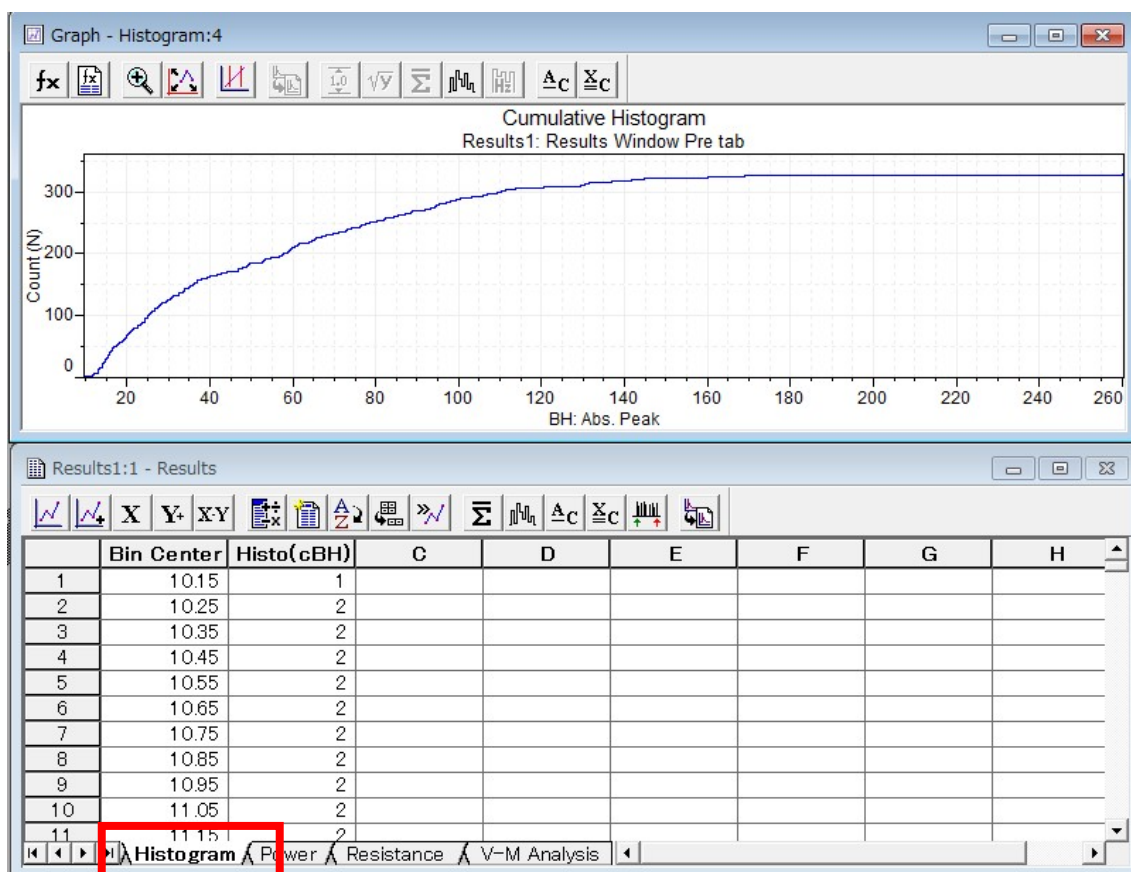
列 BH ダブルクリックして、名前を Abs. Peak に変更します。



Analyze > Histogram または Histogram ツールボタンを選択して、Cumulative ヒストグラムを作成します。

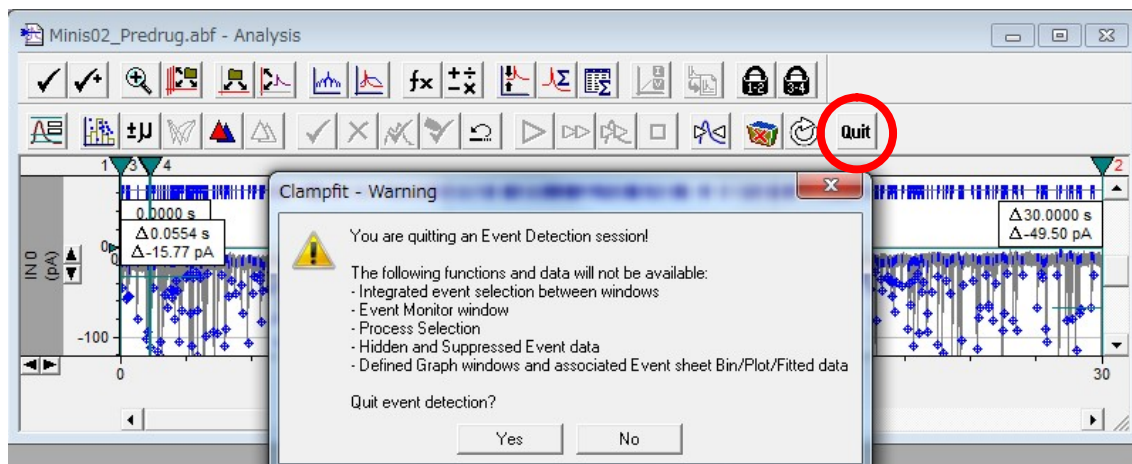


Cumulative ヒストグラムが作成され、Histogram タブにデータが出力されます。

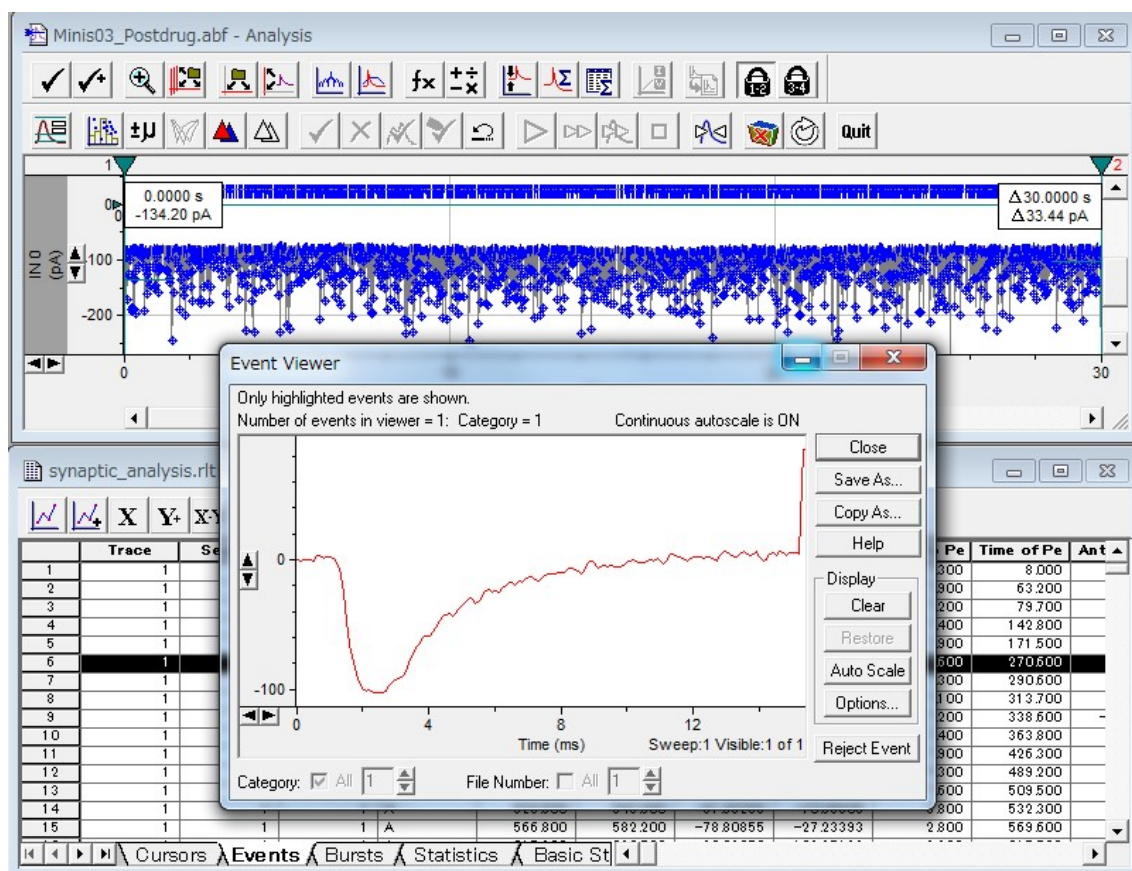




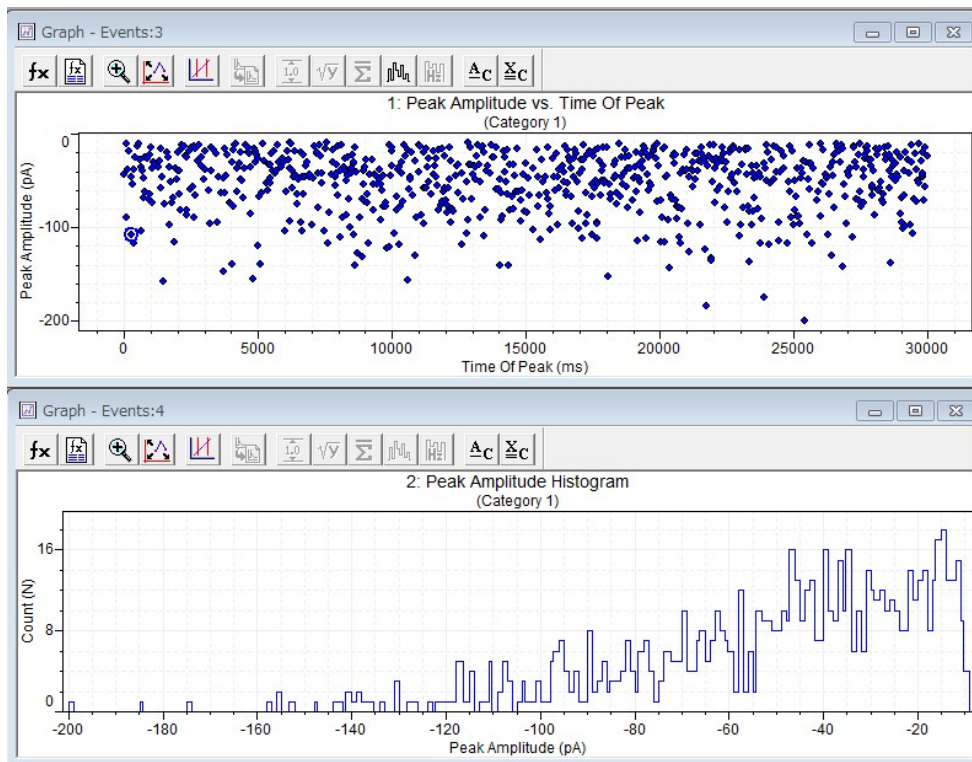
Sheet20 を使用して、Post データも同様に Cumulative ヒストグラムを作成します。Event Detection > Quit Event Detection または Quit ツールボタンをクリックして、警告メッセージの Yes をクリックして終了します。



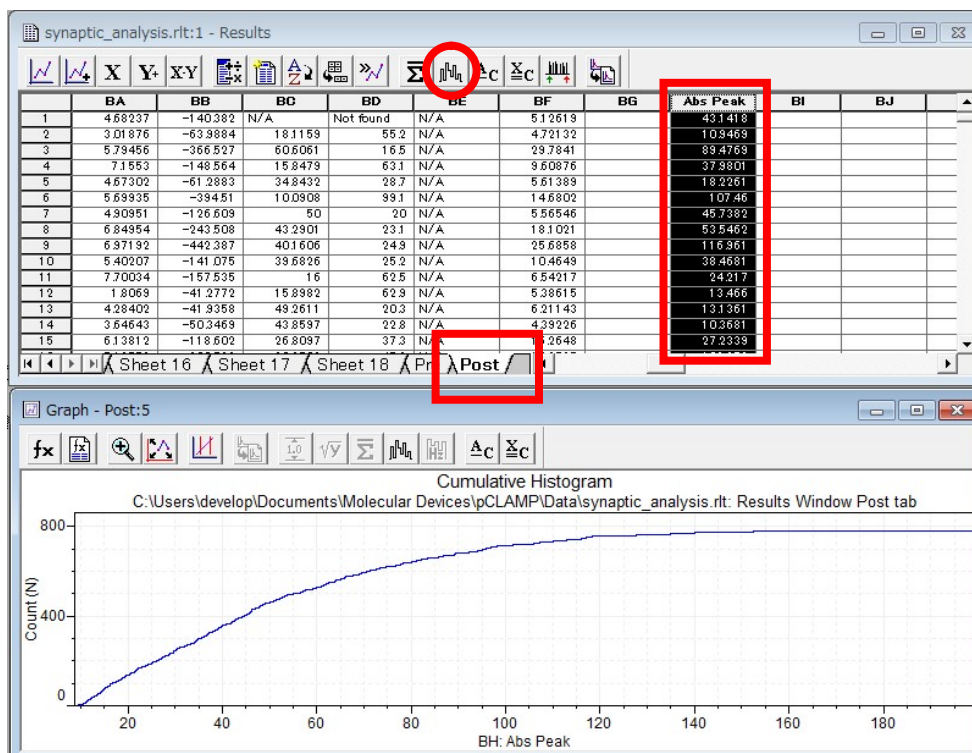
Minis03\_Postdrug.abf を開いて、同様に Event Detection を行います。



Define Graph で同様にヒストグラムを作成します。

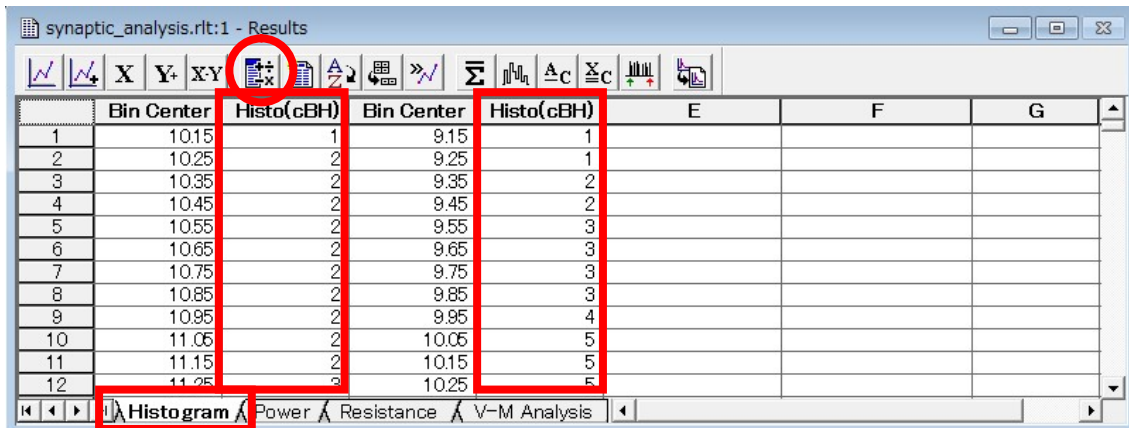


Sheet20 を使用して、同様に Cumulative ヒストグラムを作成します。



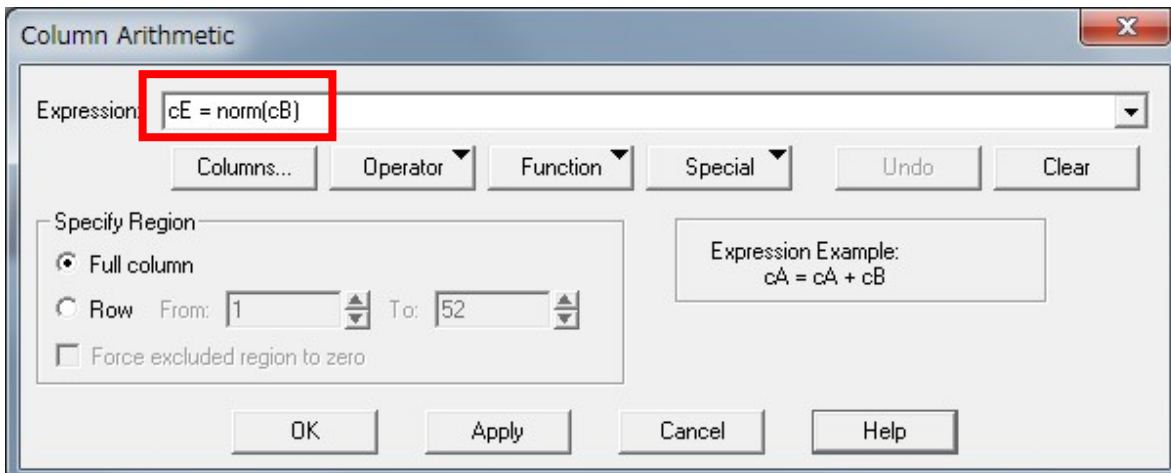
## 21.5. ノーマライズされた Cumulative Histogram を作成する

Column Arithmetic を使用して、Histogram タブのデータをノーマライズします。B 列のノーマライズデータを E 列、D 列のノーマライズデータを F 列に計算します。



	Bin Center	Histo(cBH)	Bin Center	Histo(cBH)	E	F	G
1	10.15	1	9.15	1			
2	10.25	2	9.25	1			
3	10.35	2	9.35	2			
4	10.45	2	9.45	2			
5	10.55	2	9.55	3			
6	10.65	2	9.65	3			
7	10.75	2	9.75	3			
8	10.85	2	9.85	3			
9	10.95	2	9.95	4			
10	11.05	2	10.05	5			
11	11.15	2	10.15	5			
12	11.25	3	10.25	5			

下図のように、norm()関数を使用します。



Column Arithmetic

Expression: `cE = norm(cB)`

Columns... Operator Function Special Undo Clear

Specify Region

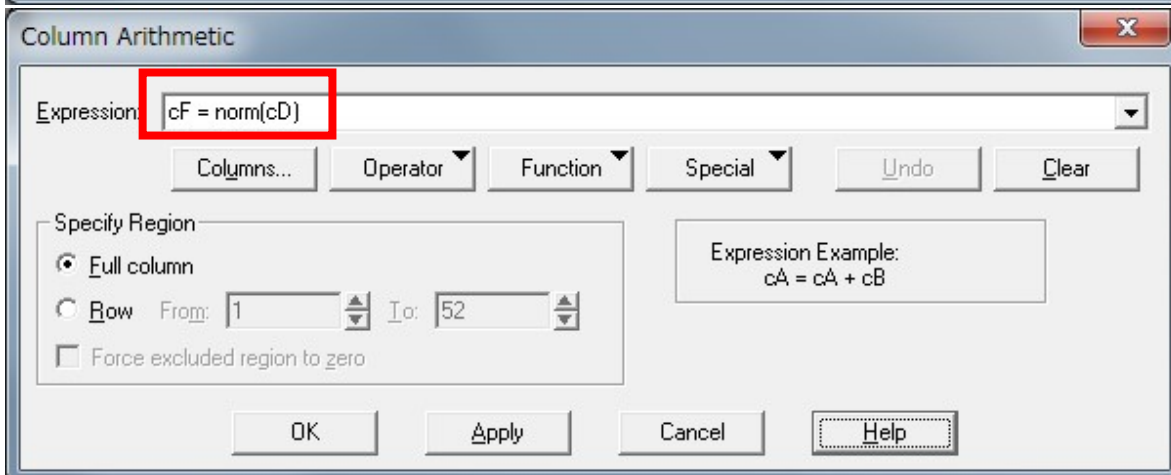
☒ Full column

☐ Row From: 1 To: 52

☐ Force excluded region to zero

Expression Example: `cA = cA + cB`

OK Apply Cancel Help



Column Arithmetic

Expression: `cF = norm(cD)`

Columns... Operator Function Special Undo Clear

Specify Region

☒ Full column

☐ Row From: 1 To: 52

☐ Force excluded region to zero

Expression Example: `cA = cA + cB`

OK Apply Cancel Help

ノーマライズデータが計算されます。

synaptic\_analysis.rlt:1 - Results

	Bin Center	Histo(cBH)	Bin Center	Histo(cBH)	E	F	G
1	10.15	1	9.15	1	0	0.00127551	
2	10.25	2	9.25	1	0.0090581	0.00127551	
3	10.35	2	9.35	2	0.0090581	0.00255102	
4	10.45	2	9.45	2	0.0090581	0.00255102	
5	10.55	2	9.55	3	0.0090581	0.00882653	
6	10.65	2	9.65	3	0.0090581	0.00882653	
7	10.75	2	9.75	3	0.0090581	0.00882653	
8	10.85	2	9.85	3	0.0090581	0.00882653	
9	10.95	2	9.95	4	0.0090581	0.00510204	
10	11.05	2	10.05	5	0.0090581	0.00637755	
11	11.15	2	10.15	5	0.0090581	0.00637755	
12	11.25	3	10.25	5	0.00611621	0.00637755	

Navigation: Histogram | Power | Resistance | V-M Analysis

列の名前を Norm Pre Peak, Norm Post Peak に変更します。

synaptic\_analysis.rlt:1 - Results

	Bin Center	Histo(cBH)	Bin Center	Histo(cBH)	Norm Pre Peak	F	G
1	10.15	1	9.15	1	0	0.00127551	
2	10.25	2	9.25	1	0.0090581	0.00127551	
3	10.35	2	9.35	2	0.0090581	0.00255102	
4	10.45	2	9.45	2	0.0090581	0.00255102	
5	10.55	2	9.55	3	0.0090581	0.00882653	
6	10.65	2	9.65	3	0.0090581	0.00882653	
7	10.75	2	9.75	3	0.0090581	0.00882653	
8	10.85	2	9.85	3	0.0090581	0.00882653	
9	10.95	2	9.95	4	0.0090581	0.00510204	
10	11.05	2	10.05	5	0.0090581	0.00637755	
11	11.15	2	10.15	5	0.0090581	0.00637755	
12	11.25	3	10.25	5	0.00611621	0.00637755	

Navigation: Histogram | Power | Resistance | V-M Analysis

Column Rename

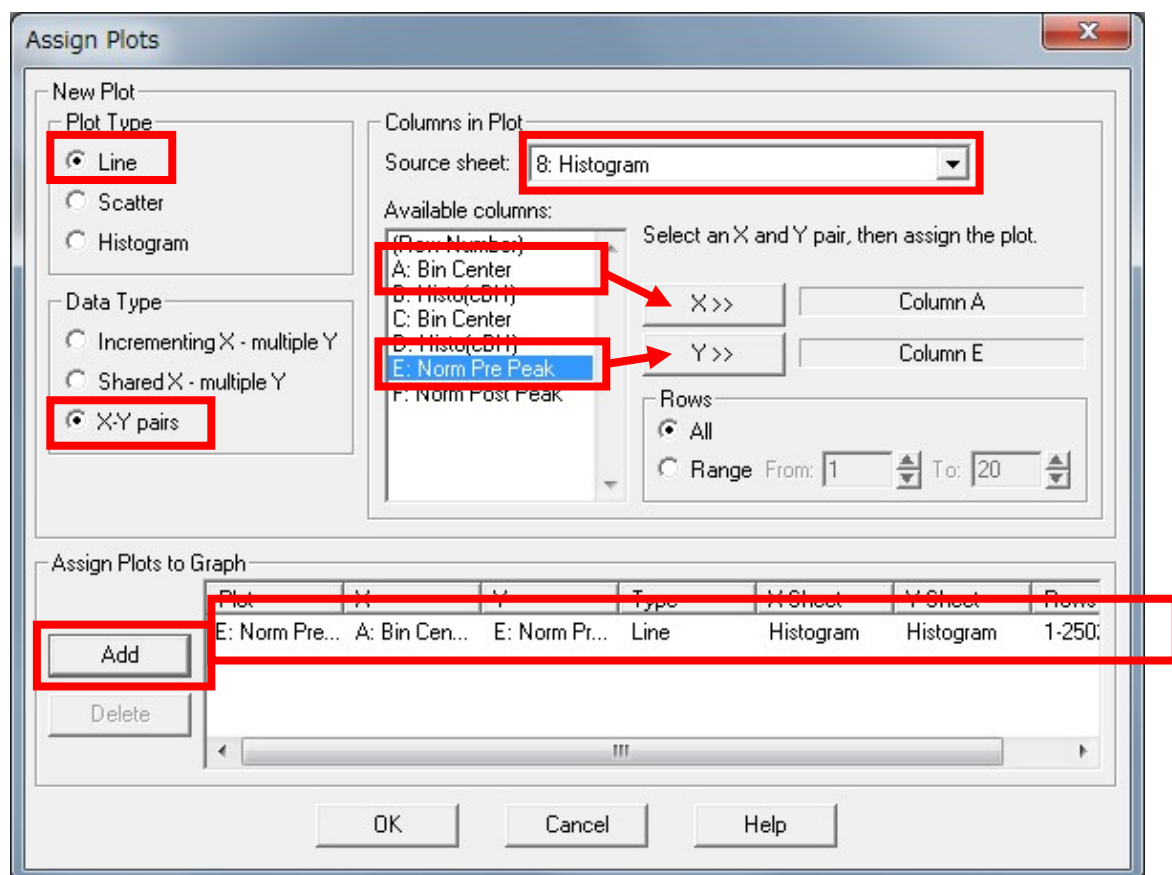
Name of column F:

Norm Post Peak

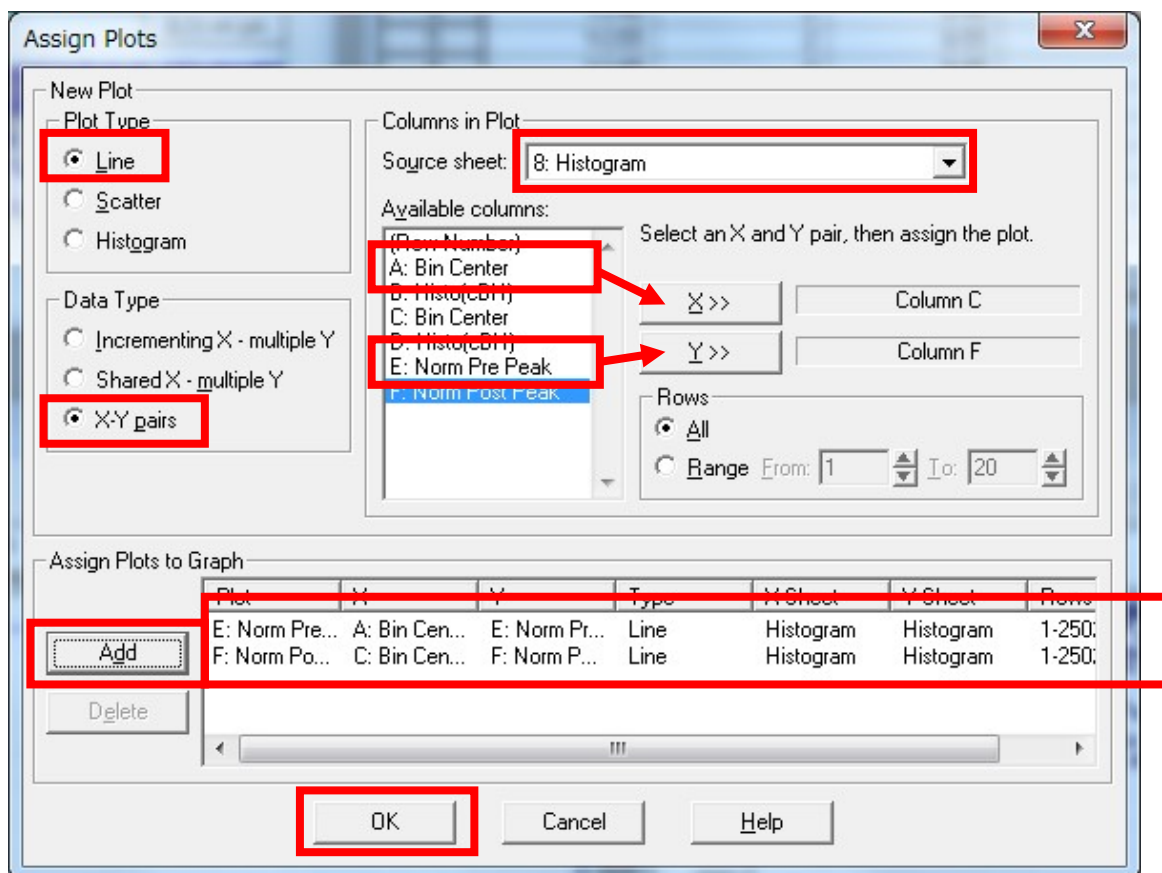
Previous Next OK Cancel Help



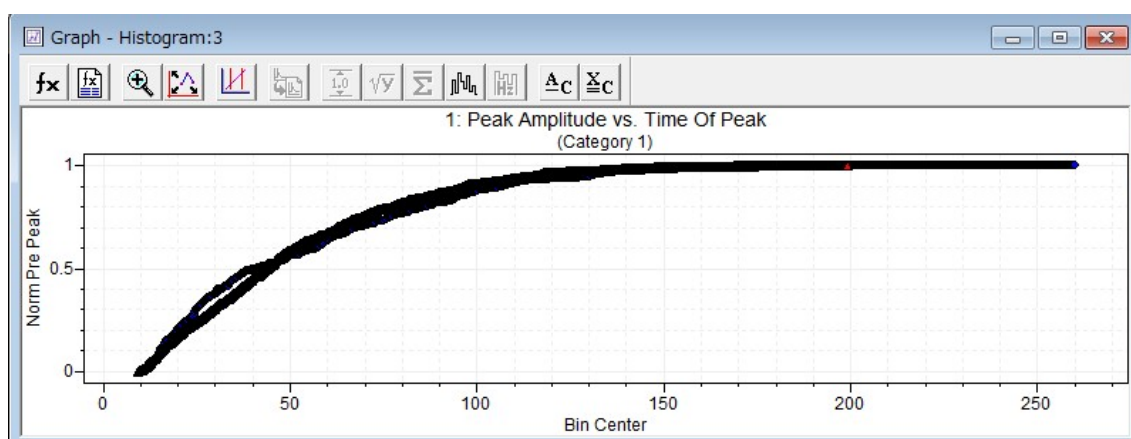
Analyze > Assing Plots で X-Y グラフを作成します。Pre データの X 軸と Y 軸を指定して Add をクリックします。



Post データの X 軸と Y 軸を指定して Add をクリックします。OK をクリックしてグラフを作成します。



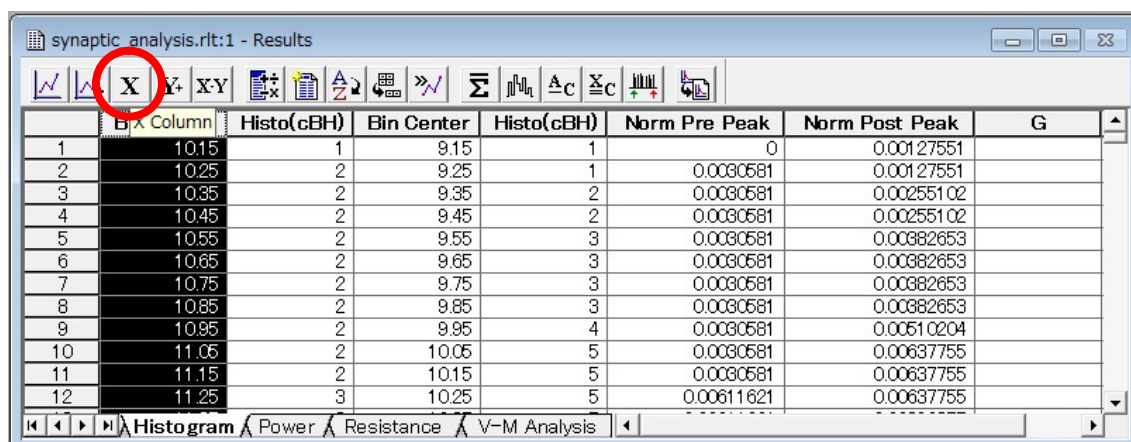
ノーマライズされたグラフが作成されます。



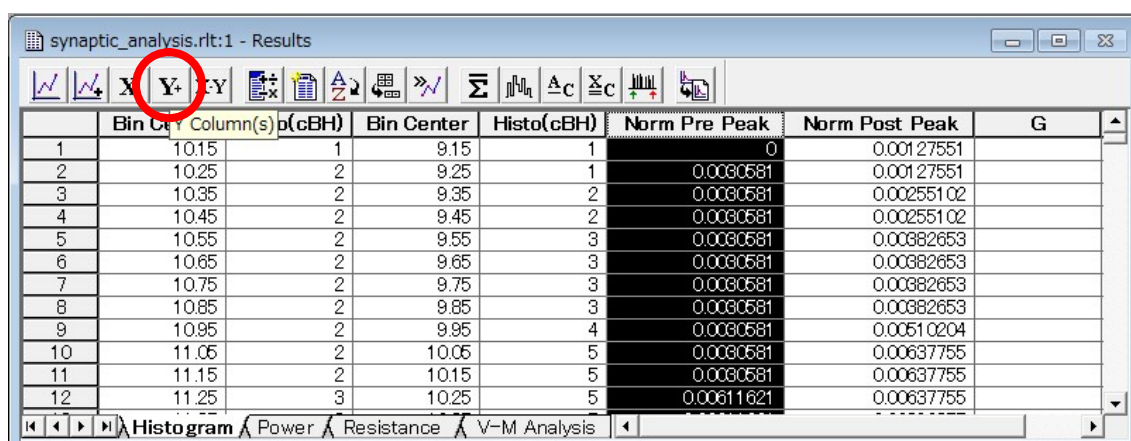


ツールボタンを使用して作成することも可能です。

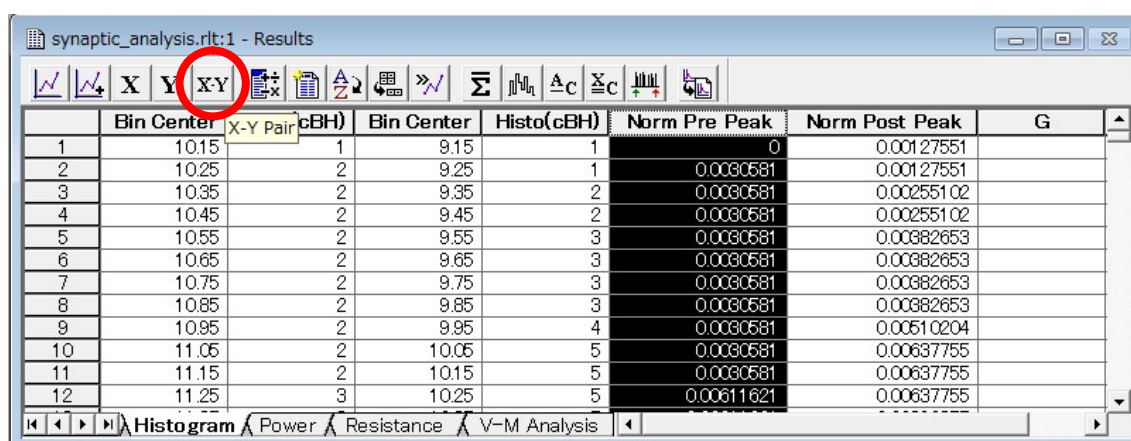
列 A を選択して、X Column ツールボタンをクリックします。



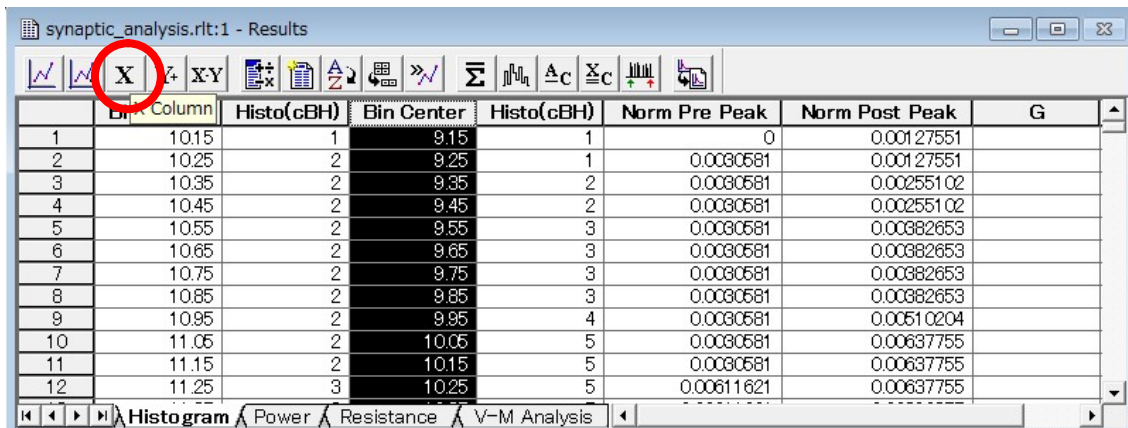
E 列を選択して、Y Column(s)ツールボタンを選択します。



X-Y Pair ツールボタンを選択します。

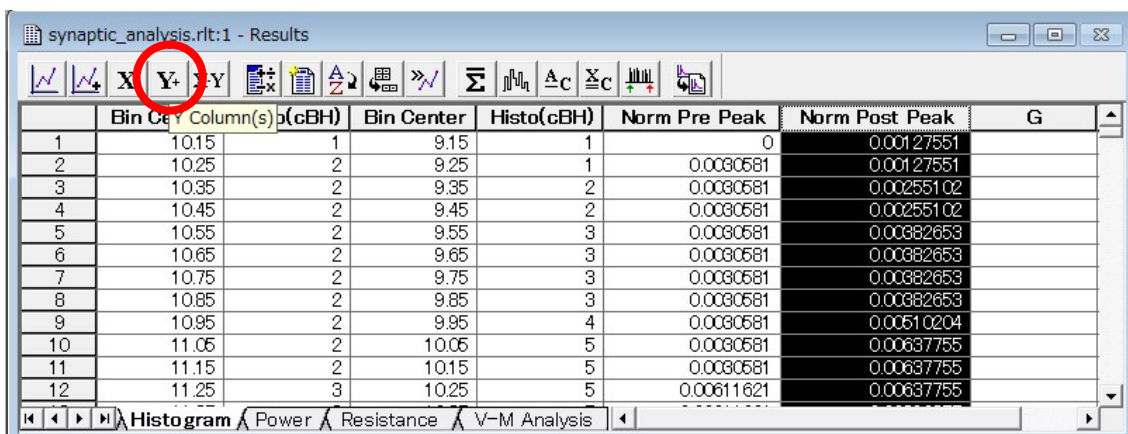


C 列を選択して、X Column ツールボタンをクリックします。



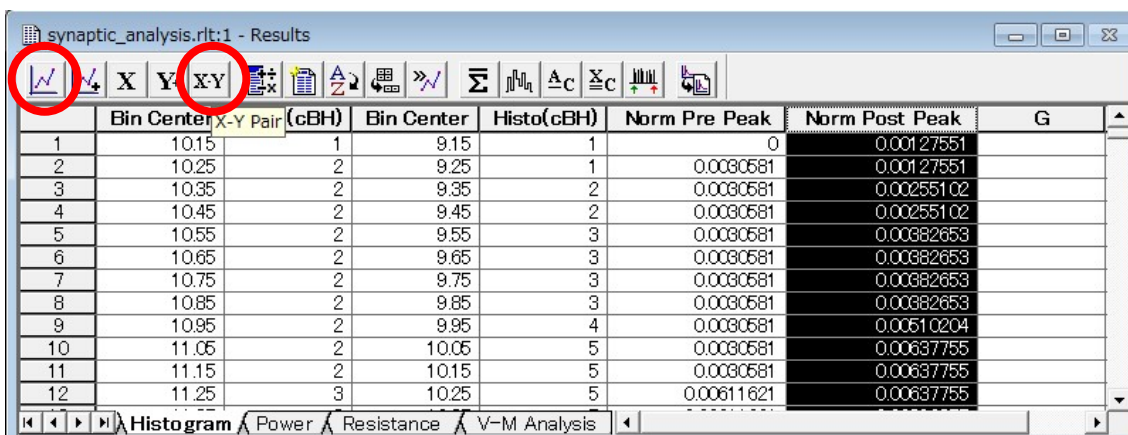
	Bin Center	Histo(cBH)	Bin Center	Histo(cBH)	Norm Pre Peak	Norm Post Peak	G
1	10.15	1	9.15	1	0	0.00127551	
2	10.25	2	9.25	1	0.0080581	0.00127551	
3	10.35	2	9.35	2	0.0080581	0.00255102	
4	10.45	2	9.45	2	0.0080581	0.00255102	
5	10.55	2	9.55	3	0.0080581	0.00882653	
6	10.65	2	9.65	3	0.0080581	0.00882653	
7	10.75	2	9.75	3	0.0080581	0.00882653	
8	10.85	2	9.85	3	0.0080581	0.00882653	
9	10.95	2	9.95	4	0.0080581	0.00510204	
10	11.05	2	10.05	5	0.0080581	0.00637755	
11	11.15	2	10.15	5	0.0080581	0.00637755	
12	11.25	3	10.25	5	0.00611621	0.00637755	

F 列を選択して、Y Column(s)ツールボタンを選択します。



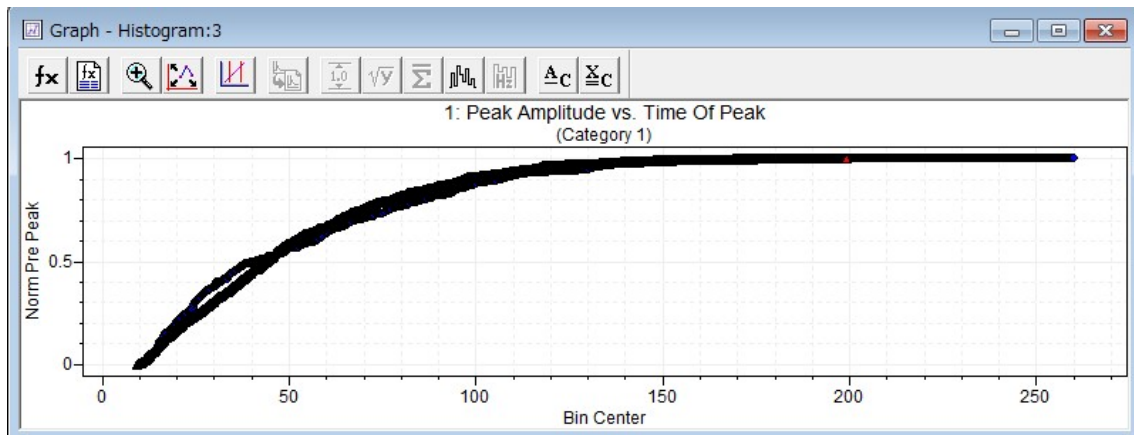
	Bin Center	Y Column(s)	Histo(cBH)	Bin Center	Histo(cBH)	Norm Pre Peak	Norm Post Peak	G
1	10.15	1	9.15	1	1	0	0.00127551	
2	10.25	2	9.25	1	1	0.0080581	0.00127551	
3	10.35	2	9.35	2	2	0.0080581	0.00255102	
4	10.45	2	9.45	2	2	0.0080581	0.00255102	
5	10.55	2	9.55	3	3	0.0080581	0.00882653	
6	10.65	2	9.65	3	3	0.0080581	0.00882653	
7	10.75	2	9.75	3	3	0.0080581	0.00882653	
8	10.85	2	9.85	3	3	0.0080581	0.00882653	
9	10.95	2	9.95	4	4	0.0080581	0.00510204	
10	11.05	2	10.05	5	5	0.0080581	0.00637755	
11	11.15	2	10.15	5	5	0.0080581	0.00637755	
12	11.25	3	10.25	5	5	0.00611621	0.00637755	

X-Y Pair ツールボタンを選択し、Create Graph ツールボタンをクリックします。

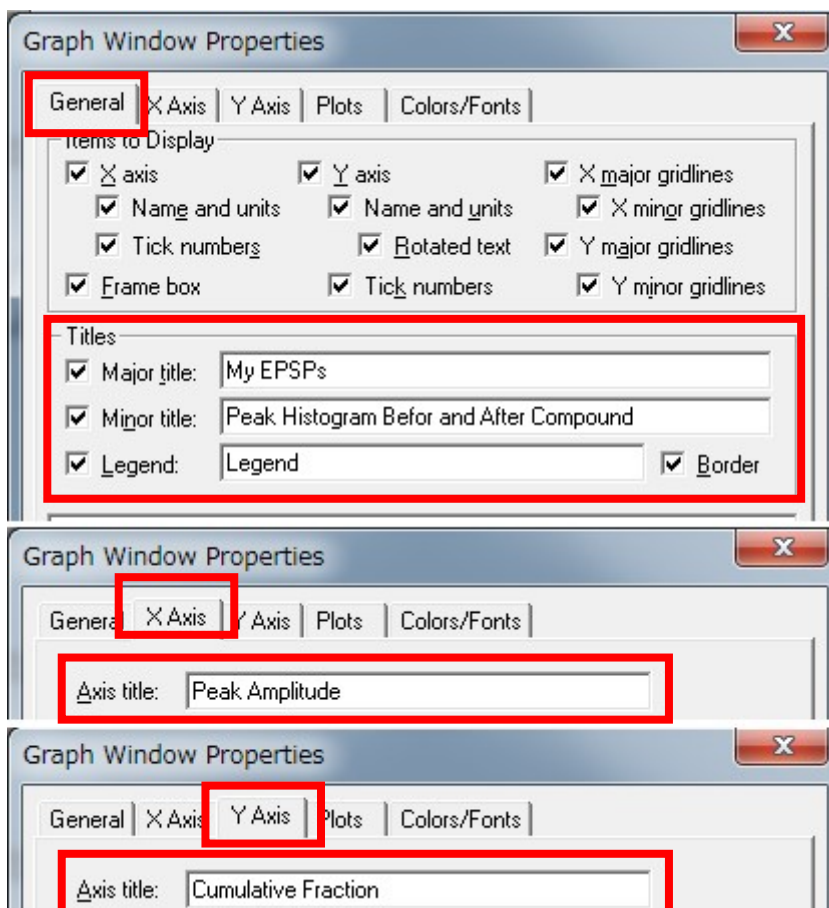


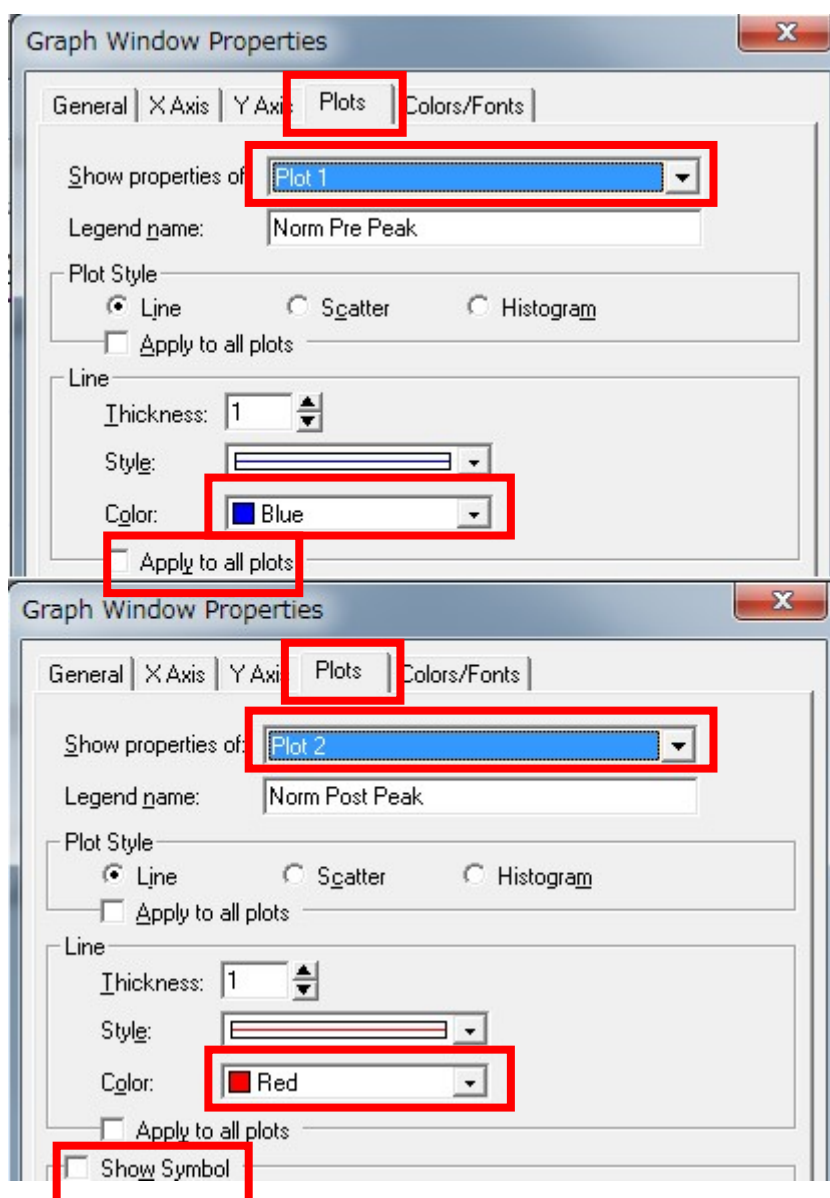
	Bin Center	X-Y Pair	Histo(cBH)	Bin Center	Histo(cBH)	Norm Pre Peak	Norm Post Peak	G
1	10.15	1	9.15	1	1	0	0.00127551	
2	10.25	2	9.25	1	1	0.0080581	0.00127551	
3	10.35	2	9.35	2	2	0.0080581	0.00255102	
4	10.45	2	9.45	2	2	0.0080581	0.00255102	
5	10.55	2	9.55	3	3	0.0080581	0.00882653	
6	10.65	2	9.65	3	3	0.0080581	0.00882653	
7	10.75	2	9.75	3	3	0.0080581	0.00882653	
8	10.85	2	9.85	3	3	0.0080581	0.00882653	
9	10.95	2	9.95	4	4	0.0080581	0.00510204	
10	11.05	2	10.05	5	5	0.0080581	0.00637755	
11	11.15	2	10.15	5	5	0.0080581	0.00637755	
12	11.25	3	10.25	5	5	0.00611621	0.00637755	

同様に、ノーマライズされた Cumulative Histogram が作成されます。

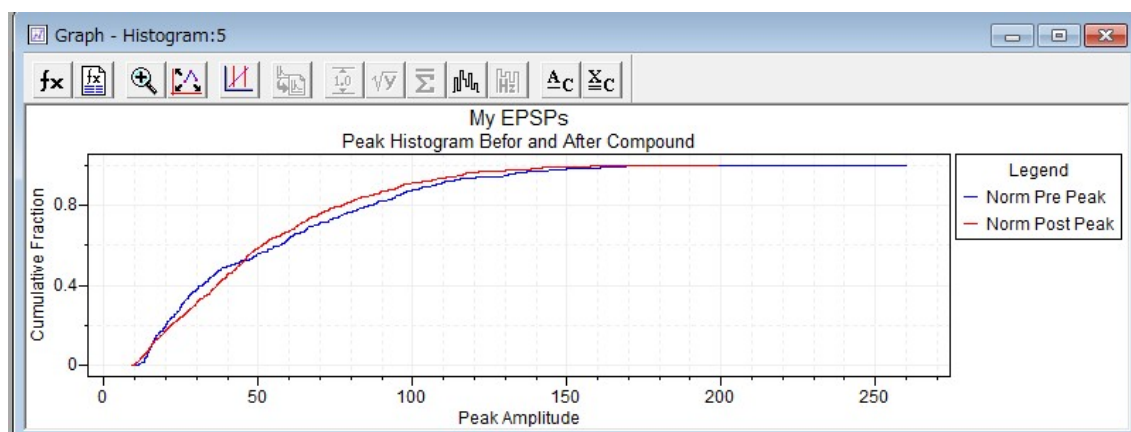


グラフを右クリックして、Properties を選択して、タイトル、軸タイトル、プロットスタイルなどをカスタムできます。





タイトル、軸タイトル、プロットスタイルなどが変更されます。





## 21.6. Peak の Kolmogorov-Smirnov Test を行う

コルモゴロフ・スミルノフ検定で2つのデータ分布が同一の集団に属する確率を評価します。

Sheet18 に Pre と Post の Abs. Peak をコピーします。

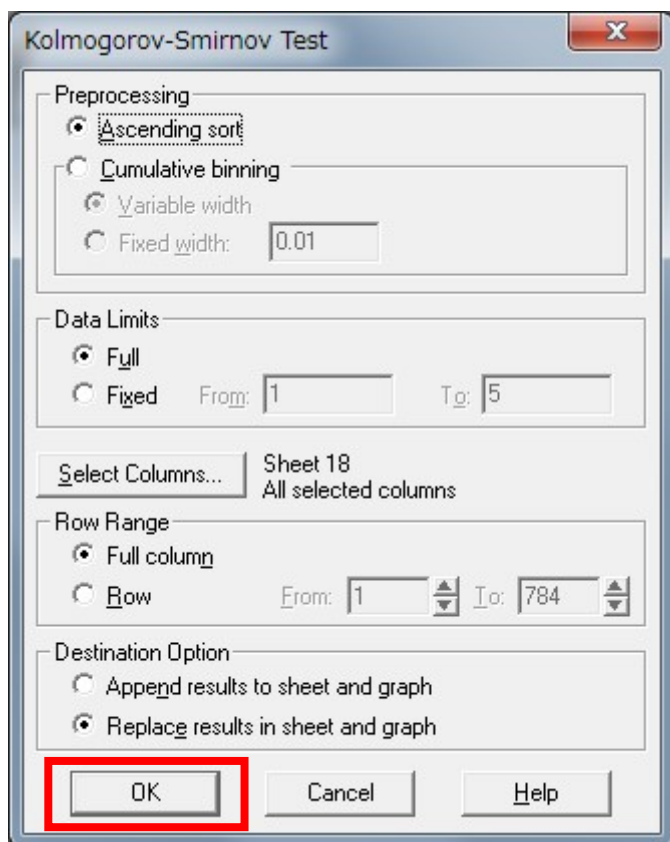
	A	B	C	D
1	26.3975	43.1418		
2	39.8233	10.9469		
3	38.1885	89.4769		
4	27.666	37.9801		
5	60.4407	18.2261		
6	84.8891	107.46		
7	73.0082	45.7382		
8	94.6744	53.5462		
9	24.7513	116.961		
10	100.422	38.4681		
11	87.1576	24.217		
12	110.216	13.466		
13	33.9838	13.1361		
14	50.1521	10.3681		
15	28.7615	27.2339		

	Abs. Peak	G	Abs Peak
1	26.3975		43.1418
2	39.8233		10.9469
3	38.1885		89.4769
4	27.666		37.9801
5	60.4407		18.2261
6	84.8891		107.46
7	73.0082		45.7382
8	94.6744		53.5462
9	24.7513		116.961
10	100.422		38.4681
11	87.1576		24.217
12	110.216		13.466
13	33.9838		13.1361
14	50.1521		10.3681
15	28.7615		27.2339

列名を Pre Peak, Post Peak に変更して、両方のデータを選択します。

	Pre Peak	Post Peak	C	D	E	F	G	H
1	26.3975	43.1418						
2	39.8233	10.9469						
3	38.1885	89.4769						
4	27.666	37.9801						
5	60.4407	18.2261						
6	84.8891	107.46						
7	73.0082	45.7382						
8	94.6744	53.5462						
9	24.7513	116.961						
10	100.422	38.4681						
11	87.1576	24.217						
12	110.216	13.466						

Analyze > Kolmogorov-Smirnov Test を選択して、OK をクリックして解析します。



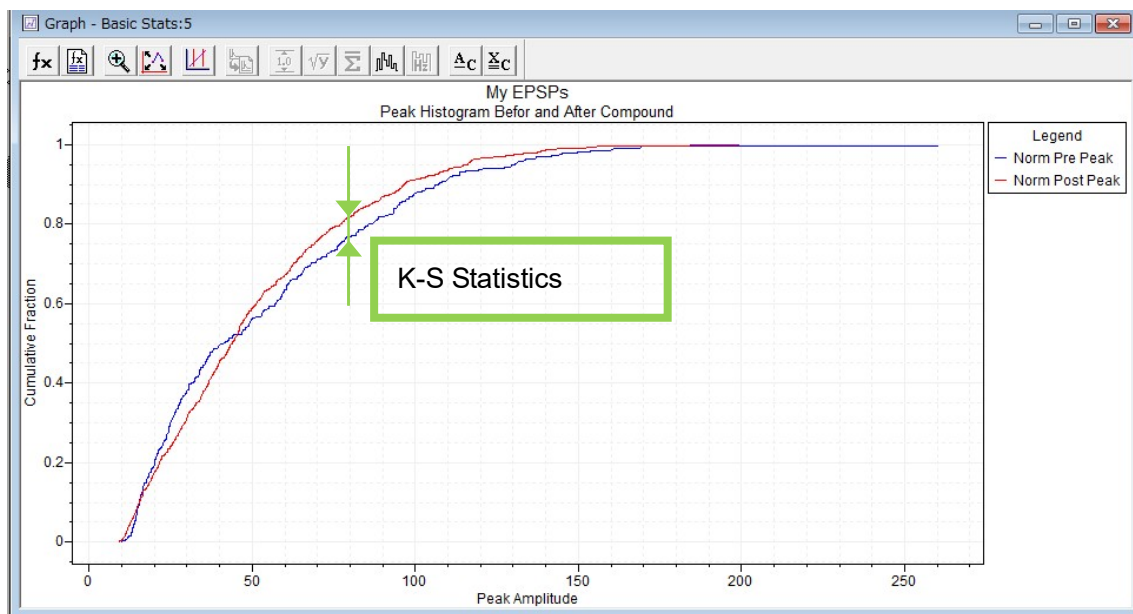
Basic Status タブに解析結果がレポートされます。

	Source She	Source Colu	n1	n2	K-S Statisti	Probability	Num Bins 1	Num Bins 2
1	Sheet 18	Pre Peak vs.	328	784	0.07983	0.11289	N/A	N/A
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								

K-S Statistic は 2 つのグラフで最も差がある Y の値です。

P 値 11% は同じ母集団といえます。2 つのデータのピーク振幅は統計的に大きな違いはありません。

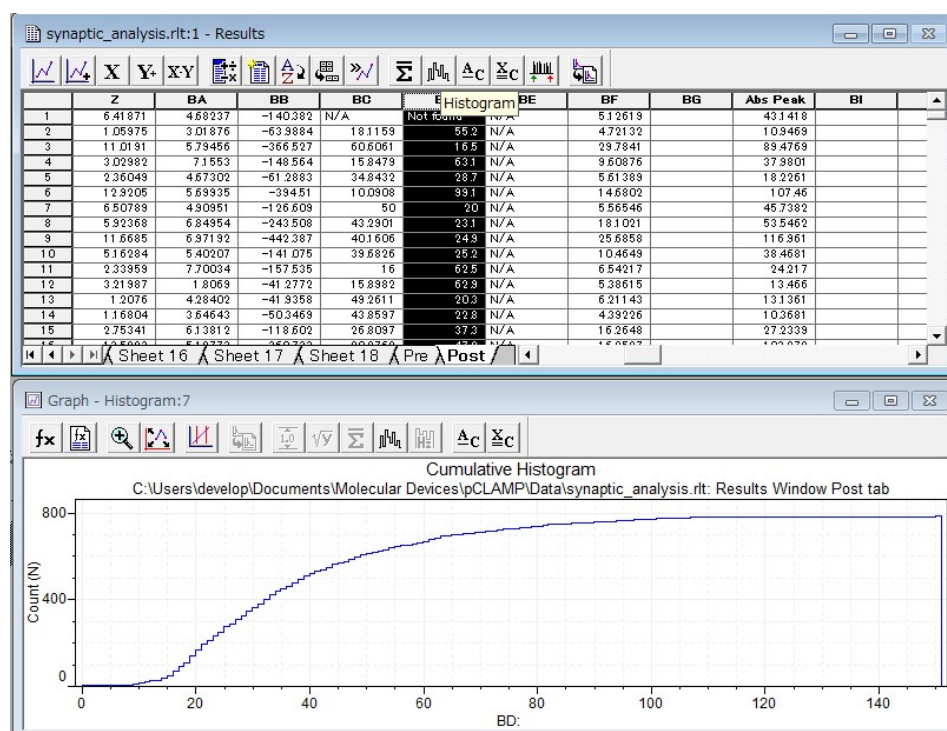
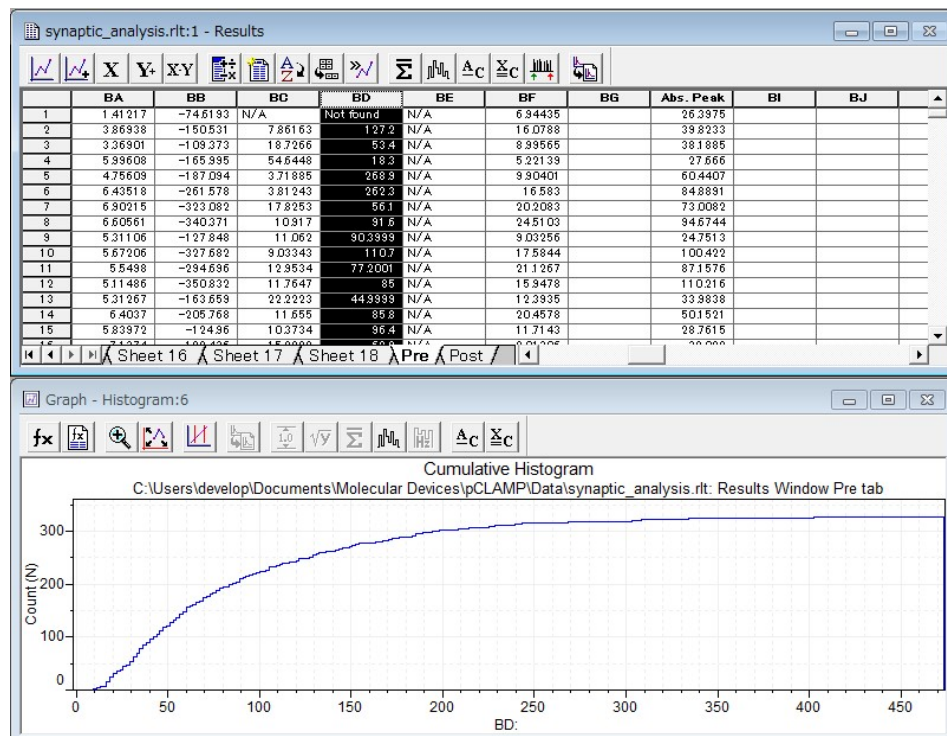




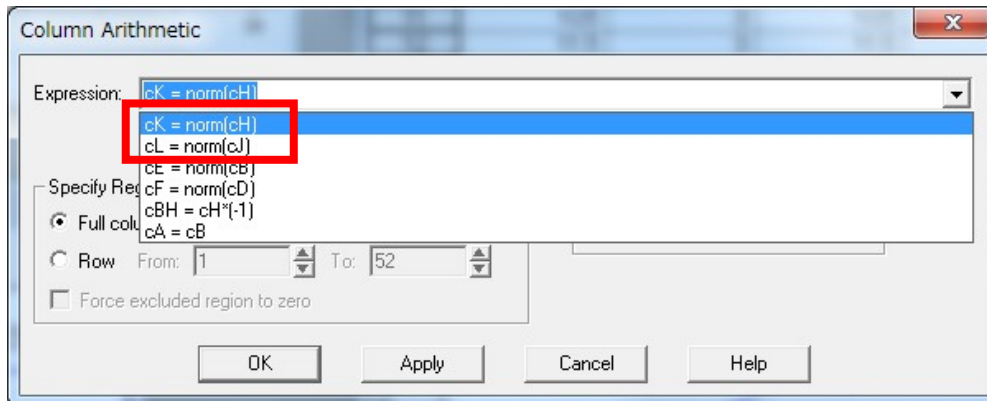
## 21.7. Inter-event Interval の Kolmogorov-Smirnov Test を行う

Pre と Post 両方の Inter-event Interval のノーマライズヒストグラムを作成します。

まず、通常のヒストグラムを作成します。



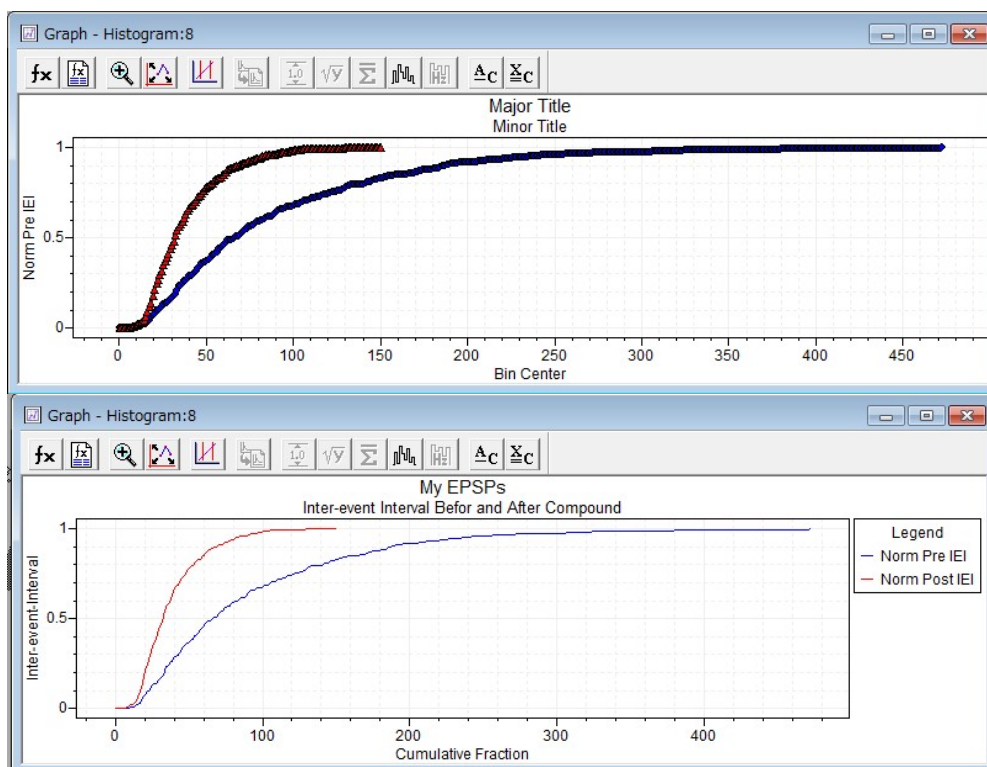
ヒストグラムデータをノーマライズし、ヒストグラムを作成します。



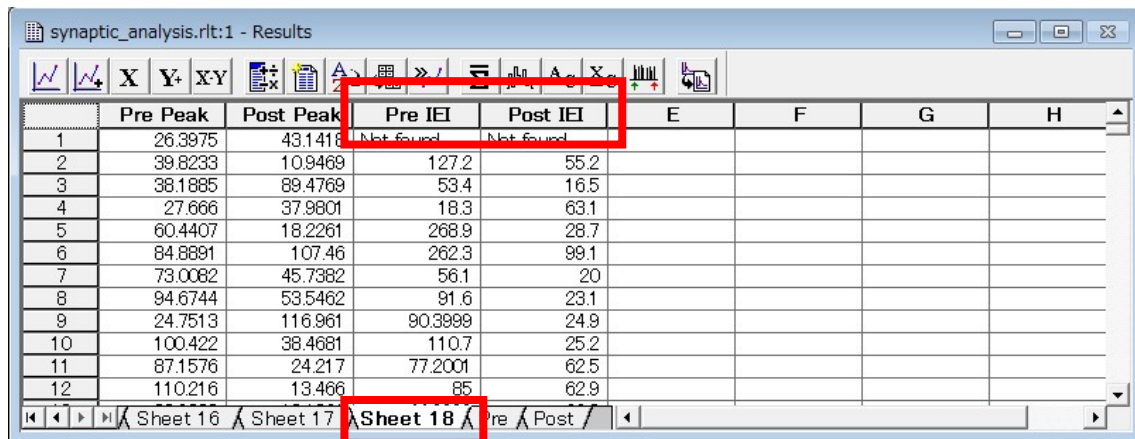
synaptic\_analysis.rlt:1 - Results

	Bin Center	Histo(cBD)	Bin Center	Histo(cBD)	Norm Pre IEI	Norm Post IEI	M
1	0.5	1	0.5	4	0.00804878	0.00510204	
2	1.5	1	1.5	4	0.00804878	0.00510204	
3	2.5	1	2.5	4	0.00804878	0.00510204	
4	3.5	1	3.5	4	0.00804878	0.00510204	
5	4.5	1	4.5	4	0.00804878	0.00510204	
6	5.5	1	5.5	4	0.00804878	0.00510204	
7	6.5	1	6.5	4	0.00804878	0.00510204	
8	7.5	1	7.5	6	0.00804878	0.00765306	
9	8.5	1	8.5	8	0.00804878	0.0102041	
10	9.5	1	9.5	12	0.00804878	0.0153061	
11	10.5	3	10.5	16	0.00814634	0.0204082	
12	11.5	3	11.5	20	0.00814634	0.0255102	

Buttons: Histogram, Power, Resistance, V-M Analysis

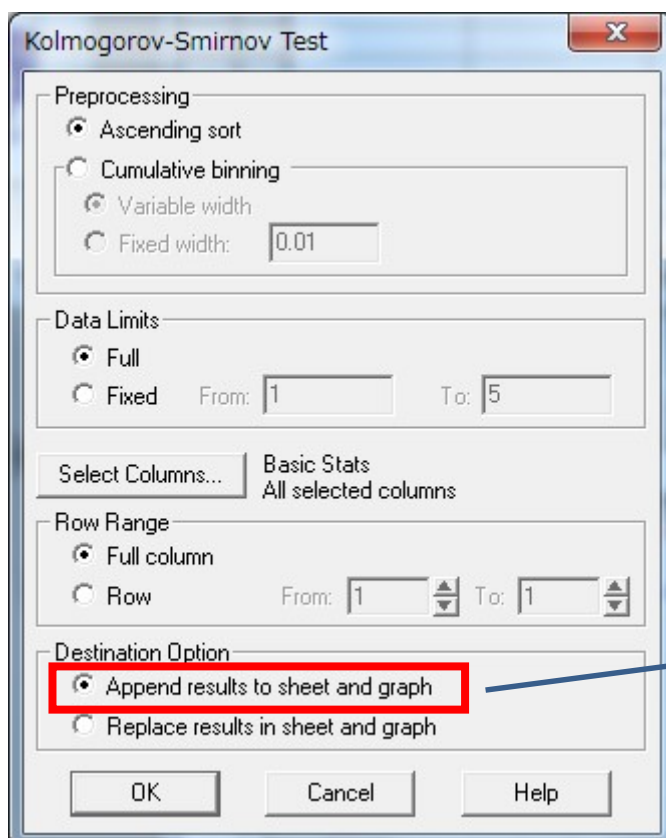


Sheet18 に Inter-event Interval をコピーして、名前を変更します。



	Pre Peak	Post Peak	Pre IEI	Post IEI	E	F	G	H
1	26.3975	43.1416	Not found	Not found				
2	39.8233	10.9469	127.2	55.2				
3	38.1885	89.4769	53.4	16.5				
4	27.666	37.9801	18.3	63.1				
5	60.4407	18.2261	268.9	28.7				
6	84.8891	107.46	262.3	99.1				
7	73.0082	45.7382	56.1	20				
8	94.6744	53.5462	91.6	23.1				
9	24.7513	116.961	90.3999	24.9				
10	100.422	38.4681	110.7	25.2				
11	87.1576	24.217	77.2001	62.5				
12	110.216	13.466	85	62.9				

Analyze > Kolmogorov-Smirnov Test を行います。



**Kolmogorov-Smirnov Test**

Preprocessing

- ☒ Ascending sort
- ☐ Cumulative binning
  - ☒ Variable width
  - ☐ Fixed width:

Data Limits

- ☒ Full
- ☐ Fixed From:  To:

Select Columns... Basic Stats  
All selected columns

Row Range

- ☒ Full column
- ☐ Row From:  To:

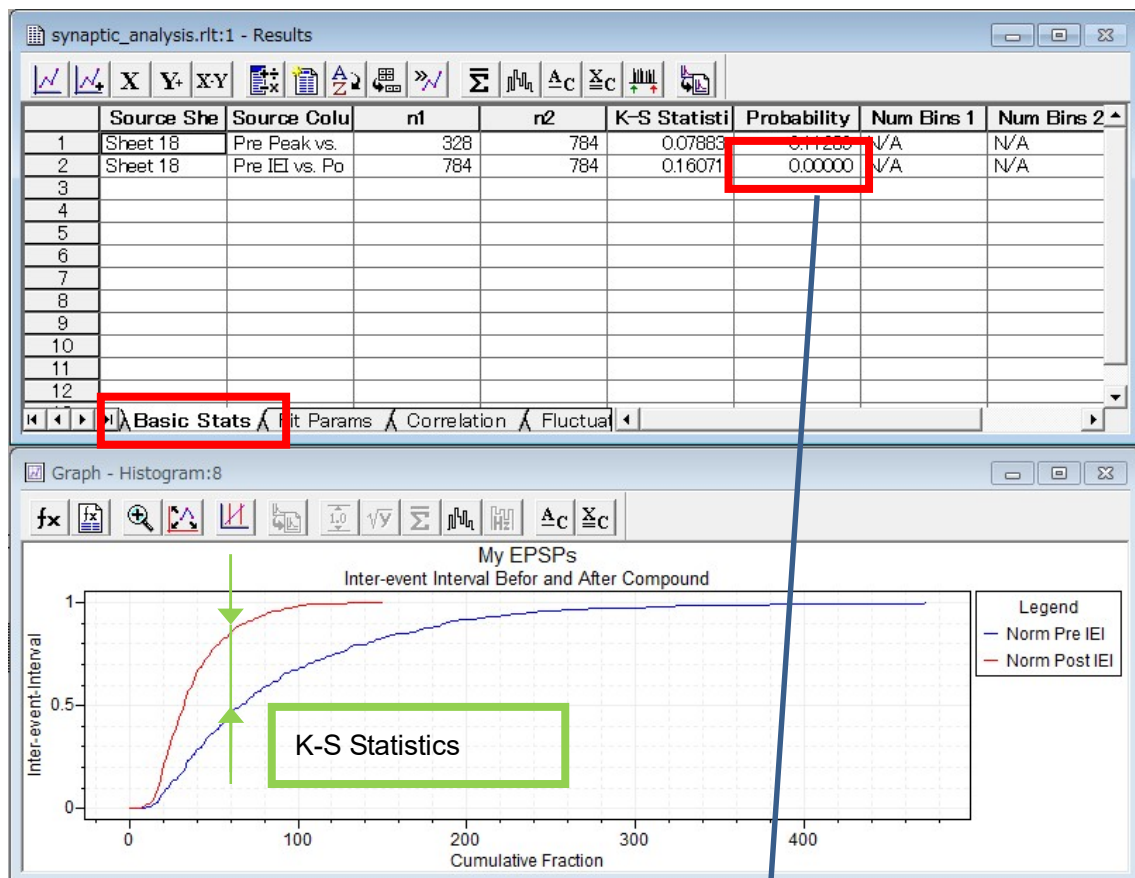
Destination Option

- ☒ Append results to sheet and graph
- ☐ Replace results in sheet and graph

OK Cancel Help

解析結果は追加を選択します。

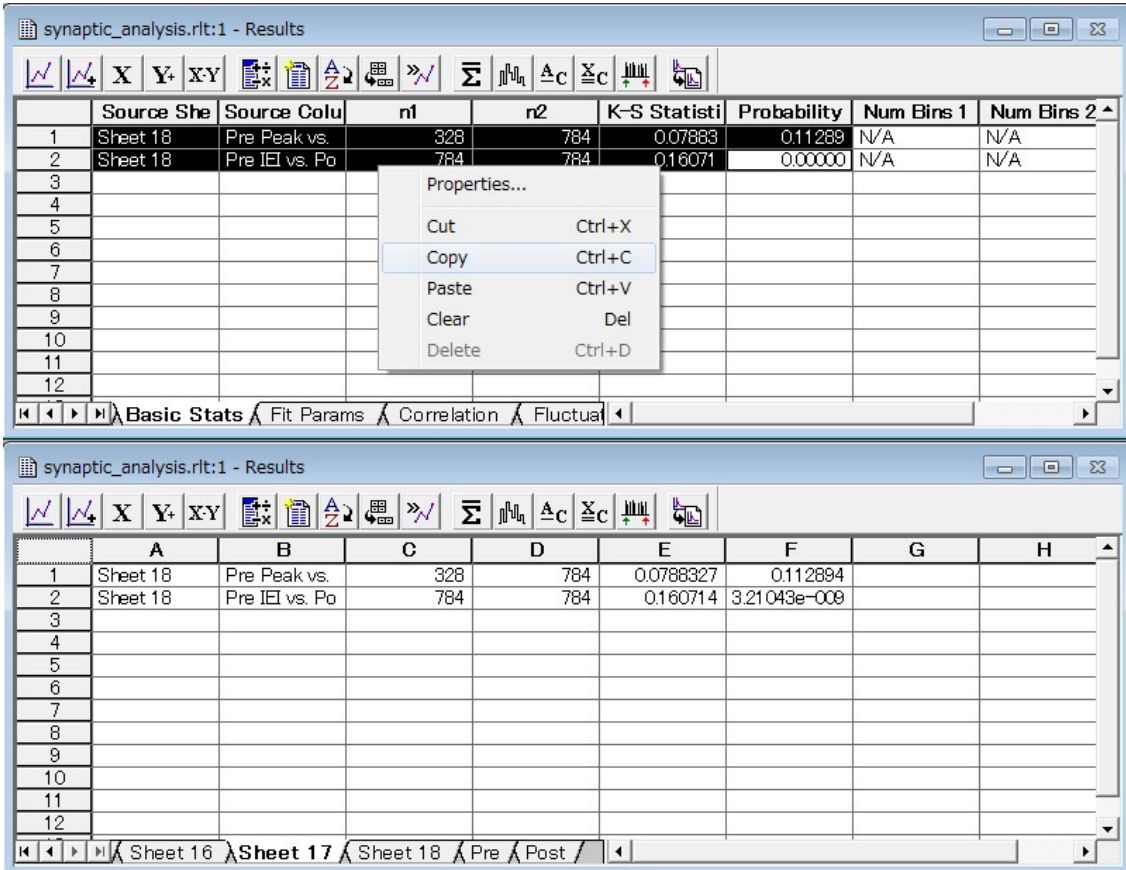
解析結果がレポートされます。



Probability 0 は別の母集団のデータといえます。  
 よって、2つのデータの Inter-event Interval は異なる母集団といえます。

## 21.8. Peak と Inter-event Interval の基本的な統計解析

基本的な統計解析は Anlayze > Basic Statistics で行い、解析結果は Basic Statistics にレポートされます。Kolmogorov-Smirnov Test の解析結果を Sheet17 にコピーしておきます。



The screenshot displays two windows from the CLAMPFIT 11 software. The top window, titled 'synaptic\_analysis.rlt:1 - Results', shows the 'Basic Stats' tab. A context menu is open over the data, with 'Copy' selected. The data is as follows:

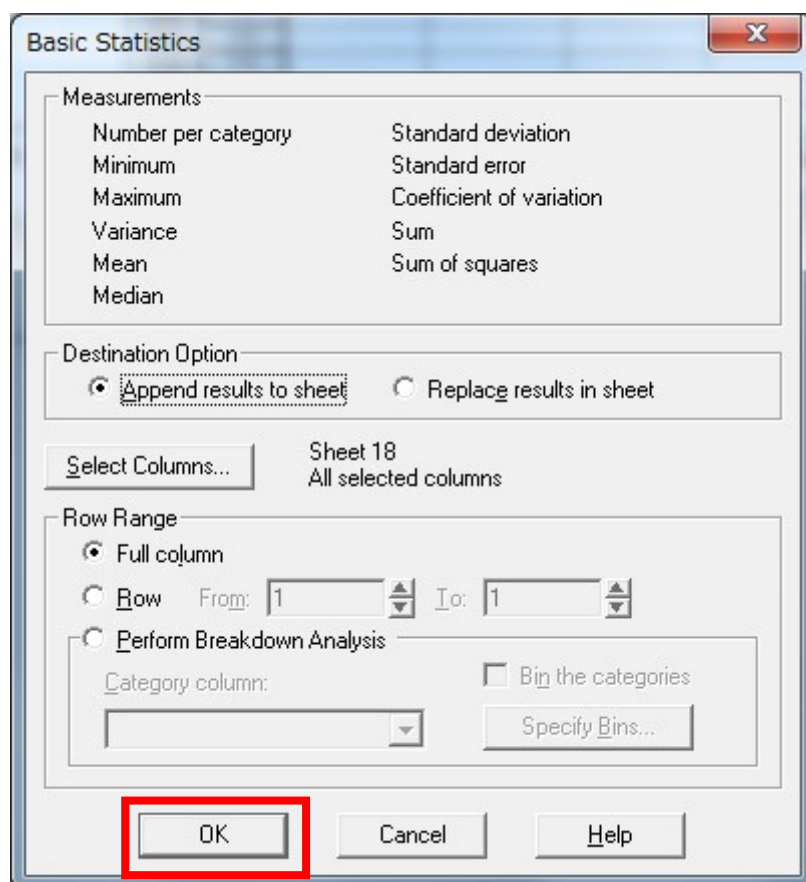
	Source She	Source Colu	n1	n2	K-S Statisti	Probability	Num Bins 1	Num Bins 2
1	Sheet 18	Pre Peak vs.	328	784	0.07883	0.11288	N/A	N/A
2	Sheet 18	Pre IEI vs. Po	784	784	0.16071	0.00000	N/A	N/A

The bottom window, also titled 'synaptic\_analysis.rlt:1 - Results', shows the same data copied into Sheet 17. The data is as follows:

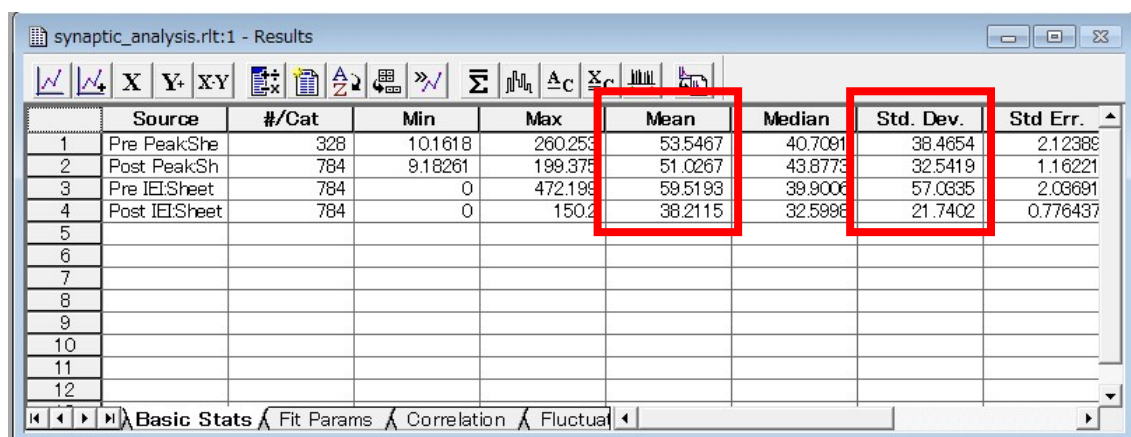
	A	B	C	D	E	F	G	H
1	Sheet 18	Pre Peak vs.	328	784	0.0788327	0.112884		
2	Sheet 18	Pre IEI vs. Po	784	784	0.160714	3.21043e-009		



Sheet 18 を選択した状態で、Anlayze > Basic Statistics 選択します。OK をクリックして解析を行います。



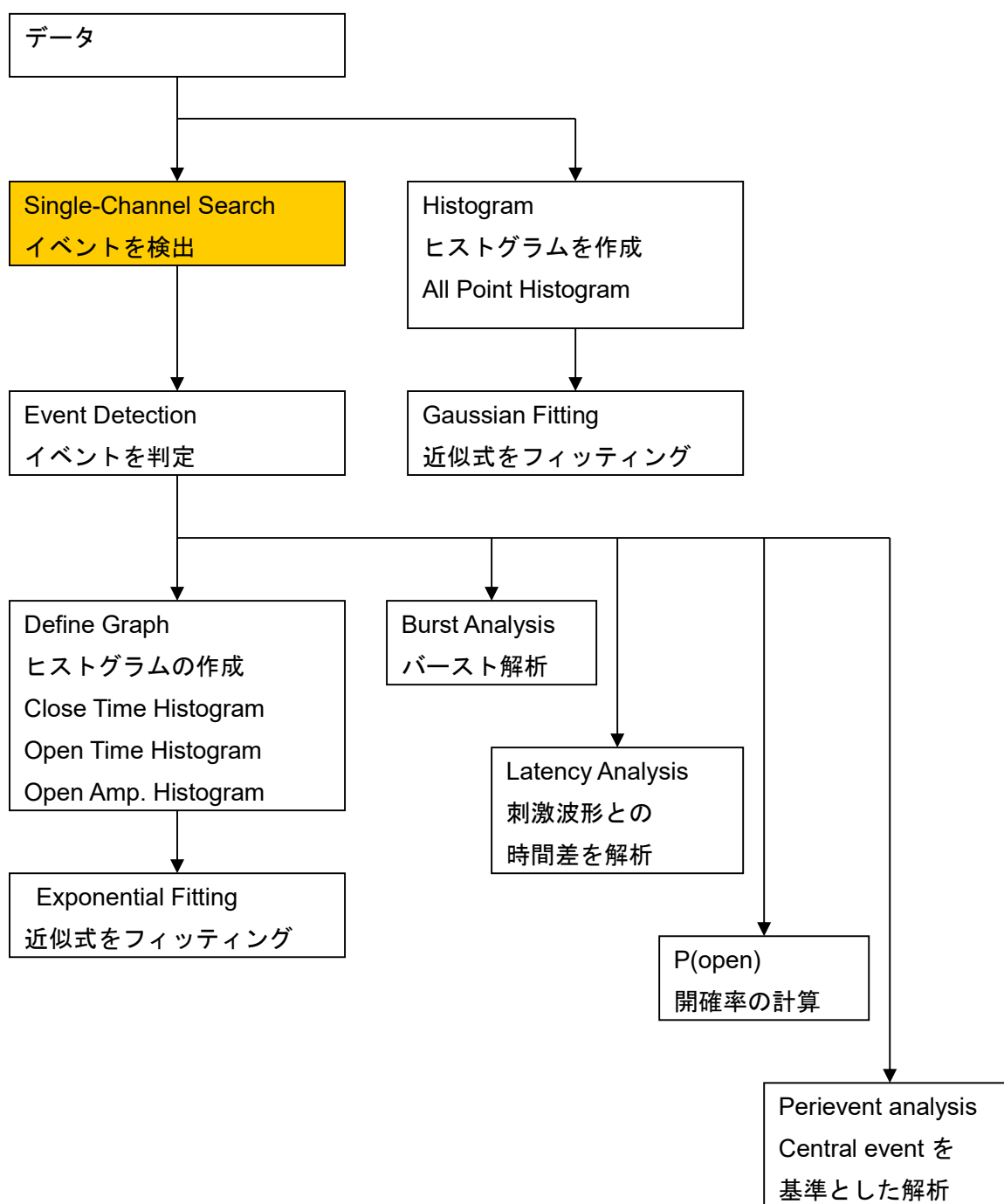
Basic タブに解析結果がレポートされます。



	Source	#/Cat	Min	Max	Mean	Median	Std. Dev.	Std Err.
1	Pre PeakShe	328	10.1618	260.253	53.5467	40.7091	38.4654	2.12389
2	Post PeakSh	784	9.18261	199.375	51.0267	43.8773	32.5419	1.16221
3	Pre IEISheet	784	0	472.199	59.5193	39.9006	57.0335	2.03691
4	Post IEISheet	784	0	150.2	38.2115	32.5996	21.7402	0.776437
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								

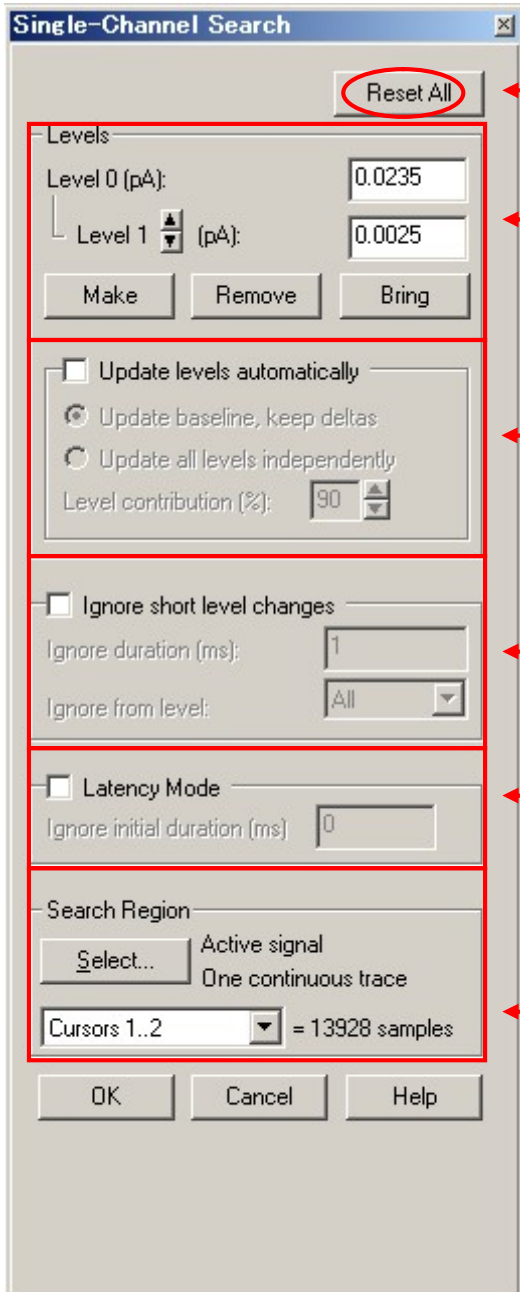
## 22. イベントを検出する (Single-Channel, Template, Threshold Search)

イベントの検出は様々な解析に使用することができます。下図はシングルチャンネルの解析の手順です。



## 22.1. Single-Channel Search

File > Open Data から解析するデータを開きます。Event Detection > Single-Channel Search を選択すると、Single-Channel Search ウィンドウが開きます。各項目を設定して、OK ボタンをクリックして検索を開始します。



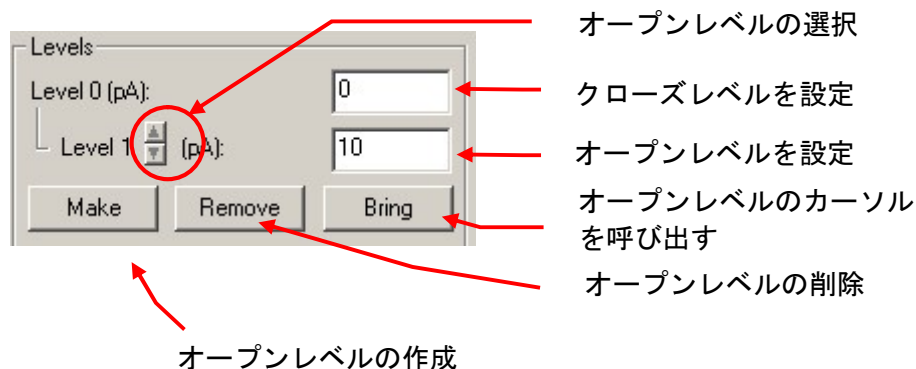
The image shows the 'Single-Channel Search' dialog box with several sections highlighted by red boxes and arrows pointing to Japanese annotations on the right.

- Reset All:** A button at the top right, circled in red. Annotation: 設定をリセットします。
- Levels:** A section containing input fields for 'Level 0 (pA):' (0.0235) and 'Level 1 (pA):' (0.0025), along with 'Make', 'Remove', and 'Bring' buttons. Annotation: クローズレベルとオープンレベルを設定するセクションです。
- Update levels automatically:** A section with radio buttons for 'Update baseline, keep deltas' (selected) and 'Update all levels independently', and a 'Level contribution (%)' slider set to 90. Annotation: レベルの自動補正を設定するセクションです。
- Ignore short level changes:** A section with a checkbox, 'Ignore duration (ms):' (1), and 'Ignore from level:' (All). Annotation: ノイズ除去を設定するセクションです。
- Latency Mode:** A section with a checkbox and 'Ignore initial duration (ms)' (0). Annotation: Stimulation file において刺激波形と反応波形の時間差を計算するオプション機能です。
- Search Region:** A section with a 'Select...' button, radio buttons for 'Active signal' and 'One continuous trace', and a 'Cursors 1..2' dropdown showing '= 13928 samples'. Annotation: 検索範囲を設定するセクションです。

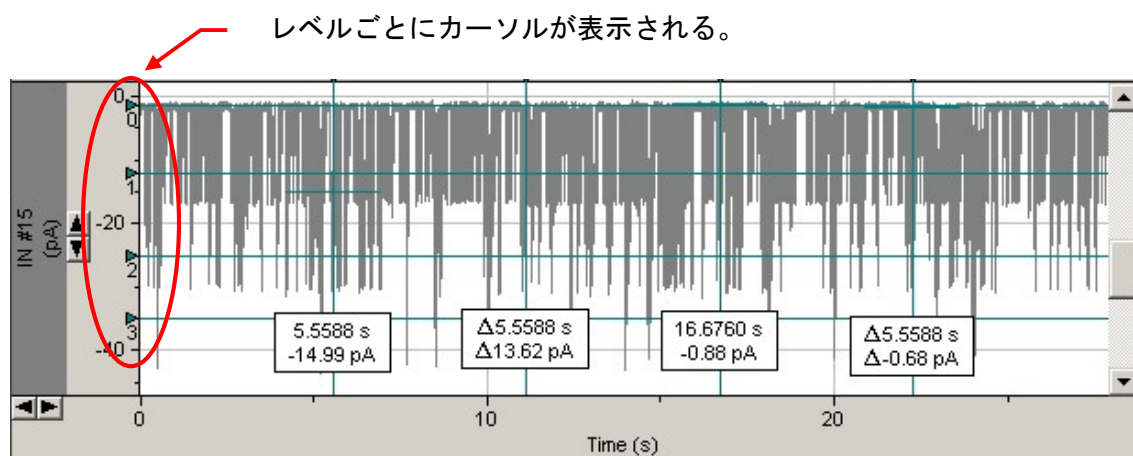
At the bottom of the dialog are 'OK', 'Cancel', and 'Help' buttons.

## Levels

クローズレベルとオープンレベルを設定するセクションです。Level 0 にクローズレベルを設定し、Level 1 にオープンレベルを設定します。Level 1 がグレー表示になっている場合は Make ボタンで追加して下さい。最大 Level 8 まで作成することができます。複数のオープンレベルを作成したい場合は、矢印ボタンで選択して下さい。不要なオープンレベルは Remove ボタンで削除できます。



グラフ上に表示されるカーソルをマウスで操作することもできます。カーソルが表示されていない場合は、Bring ボタンで呼び出して下さい。



### Update levels automatically

レベルの自動補正を設定するセクションです。「Update baseline, keep deltas」はクローズレベルを補正し、オープンレベルも同量だけ変化させます。よって、クローズレベルとオープンレベルの差は変化しません。

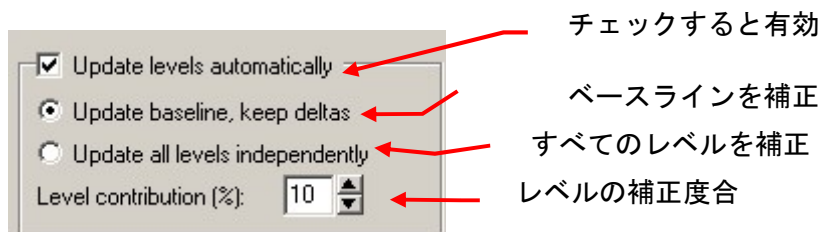
一方、「Update all levels independency」はイベントが発生する度に、レベルを補正します。よって、全てのレベルを補正します。補正する度合いを「Level contribution」に設定します。

### 計算式

$$\text{補正レベル} = (1 - (\text{Level contribution} / 100)) \times A + \text{Level contribution} \times B$$

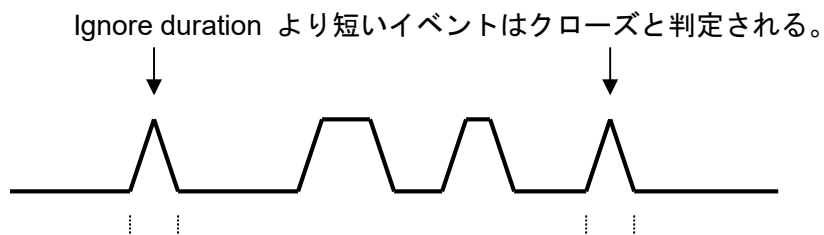
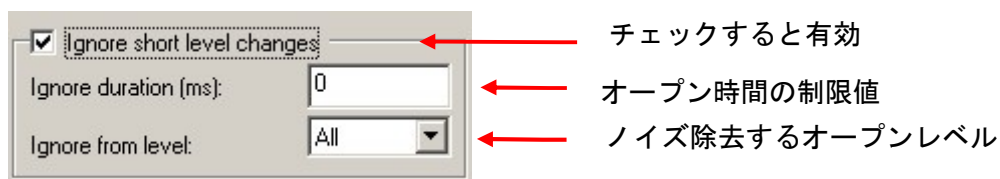
A：現在のイベント振幅

B：新しく発生したイベントの振幅



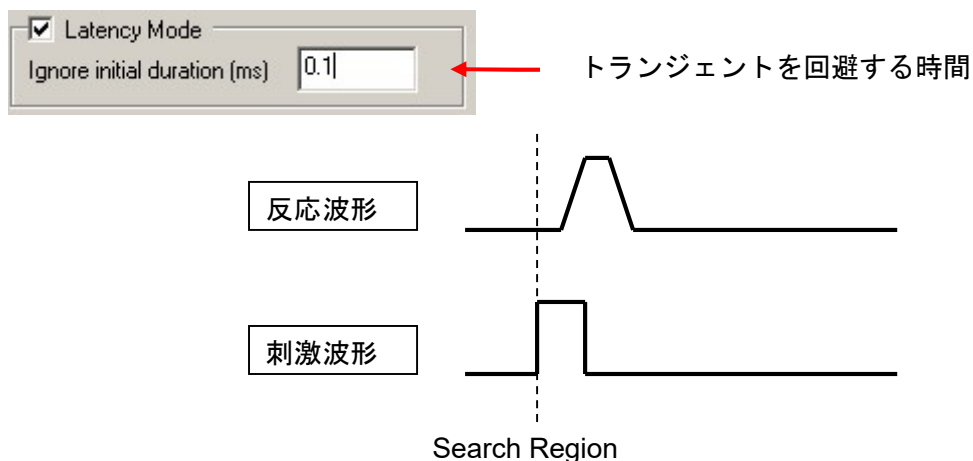
### Ignore short level changes

ノイズ除去を設定するセクションです。オープン時間に制限値を設定して、ノイズを除去することができます。イベントのオープン時間が、設定した「Ignore from level」以内の場合は、クローズとして判定されます。制限時間を「Ignore duration」、ノイズ除去するオープンレベルを「Ignore from level」に設定して下さい。



## Latency mode

Stimulation file において、刺激波形と反応波形の時間差を測定することができます。時間の測定は Sweep の始めからではなく、Search Region で設定した時間から開始します。また、最初と最後のイベントも計算されます。Ignore initial duration はイベント検索の開始を無効にする時間です。刺激波形を加えた直後は反応波形に容量成分（トランジェント）が発生します。この容量成分を無視したいときに使用します。



設定は下記の手順になります。

カーソル 1 を刺激波形の開始位置に設定する。

カーソル 2 を検索の終了位置に設定します。

Latency Mode をチェックします。Stimulation file の場合、イベント開始時間の測定は Sweep の開始から始まりますが、search region からに変更されます。また、最初と最後のイベントも追加されます。

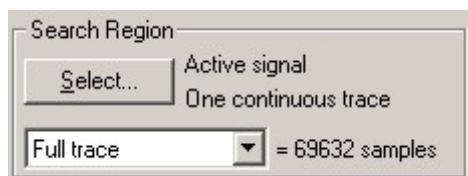
トランジェントを避けるために「Ignore initial duration」を設定します。

Search Region で「Cursors 1..2」選択します。

「OK」をクリックして検索を実行します。

## Search Region

「Search Region」では探索する信号と範囲を設定します。Select ボタンをクリックして、探索する信号を選択します。リストボックスに探索範囲を設定します。



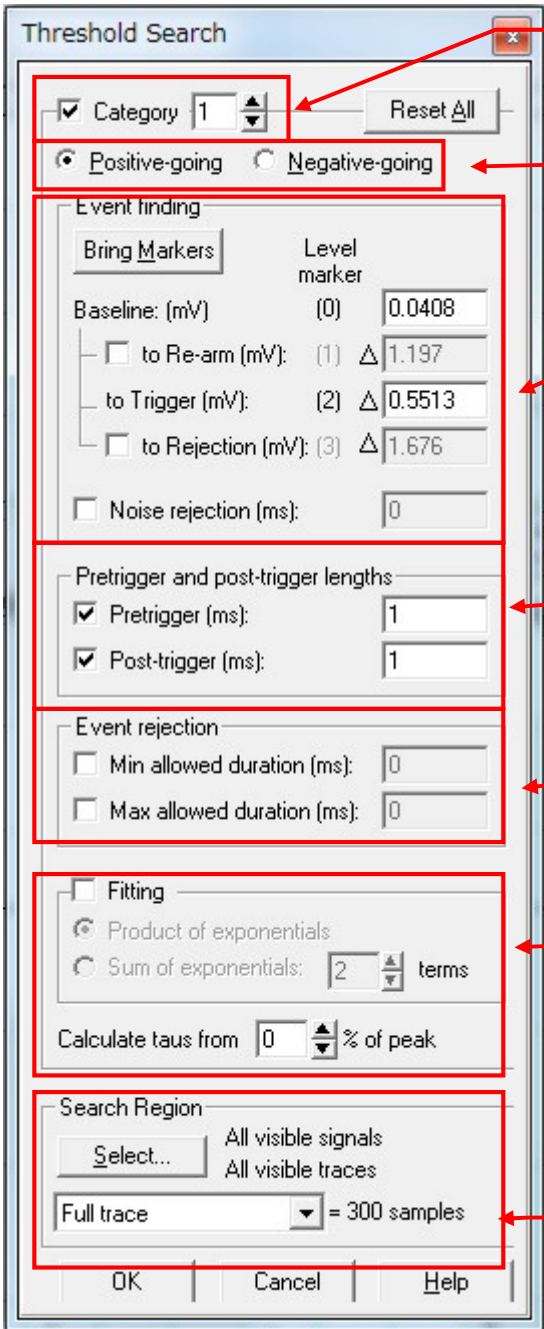


**22.2. Template Search**

### 22.3. Threshold Search

Threshold Search は閾値を設定して、閾値に交差したイベントを検索します。

File > Open Data から解析するデータを開きます。Event Detection > Threshold Search を選択すると、Threshold Search ウィンドウが開きます。各項目を設定して、OK ボタンをクリックして検索を開始します。

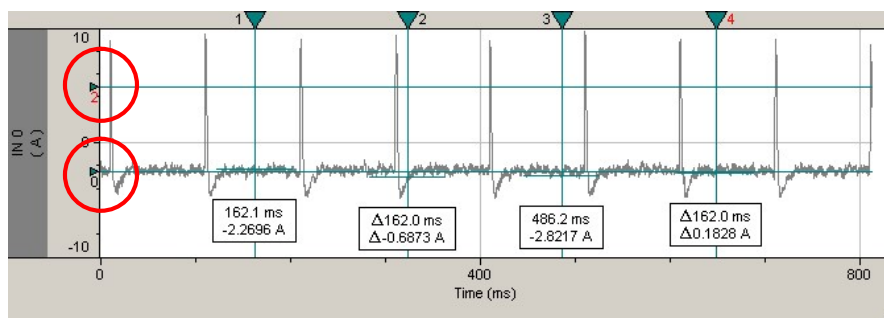


The screenshot shows the 'Threshold Search' dialog box with several sections highlighted by red boxes and arrows pointing to Japanese annotations on the right.

- Category:** Set to 1. Annotation: 検索する設定は 1-9 まで設定することができます。今回は 1 のみを使用します。
- Polarity:** Radio buttons for 'Positive-going' (selected) and 'Negative-going'. Annotation: 検索する極性を設定します。
- Event finding:** Includes 'Bring Markers', 'Level marker', 'Baseline: (mV)' (0.0408), 'to Re-arm (mV): (1) Δ 1.197', 'to Trigger (mV): (2) Δ 0.5513', 'to Rejection (mV): (3) Δ 1.676', and 'Noise rejection (ms): 0'. Annotation: ベースラインや閾値など、検索条件を設定するセクションです。
- Pretrigger and post-trigger lengths:** Checkboxes for 'Pretrigger (ms): 1' and 'Post-trigger (ms): 1'. Annotation: 波形の抽出範囲を設定するセクションです。
- Event rejection:** Checkboxes for 'Min allowed duration (ms): 0' and 'Max allowed duration (ms): 0'. Annotation: イベントとして検出する時間範囲を設定するセクションです。
- Fitting:** Radio buttons for 'Product of exponentials' (selected) and 'Sum of exponentials: 2 terms'. 'Calculate taus from 0 % of peak'. Annotation: フィルタを設定できます。
- Search Region:** Includes 'Select...' buttons for 'All visible signals' and 'All visible traces', and a dropdown for 'Full trace = 300 samples'. Annotation: 検索 Sweep を設定するセクションです。

Buttons at the bottom: OK, Cancel, Help.

1. Event Detection > Threshold Search を選択します。
2. グラフにバーが表示されるので、ベースライン (0) と閾値 (2) を設定します。



3. 下図のように設定して、「OK」をクリックします。

**Threshold Search**

☒ Category 1 Reset

☒ Positive-going ☐ Negative-going 極性を設定します。

Event finding

Bring Markers Level marker

Baseline: (A) (0) -2.088 ベースラインを設定します。(バーと同期しています)

☐ to Re-arm (A): (1) Δ 3.358

☐ to Trigger (A): (2) Δ 7.472 閾値を設定します。(バーと同期しています)

☐ to Rejection (A): (3) Δ 65.43

☐ Noise rejection (ms): 0

Pretrigger and post-trigger lengths

☒ Pretrigger (ms): 5

☒ Post-trigger (ms): 5 波形の抽出範囲を設定します。

Event rejection

☐ Min allowed duration (ms): 0

☐ Max allowed duration (ms): 0

☐ Fitting

☒ Product of exponentials

☐ Sum of exponentials: 2 terms

Calculate taus from 0 % of peak

Search Region

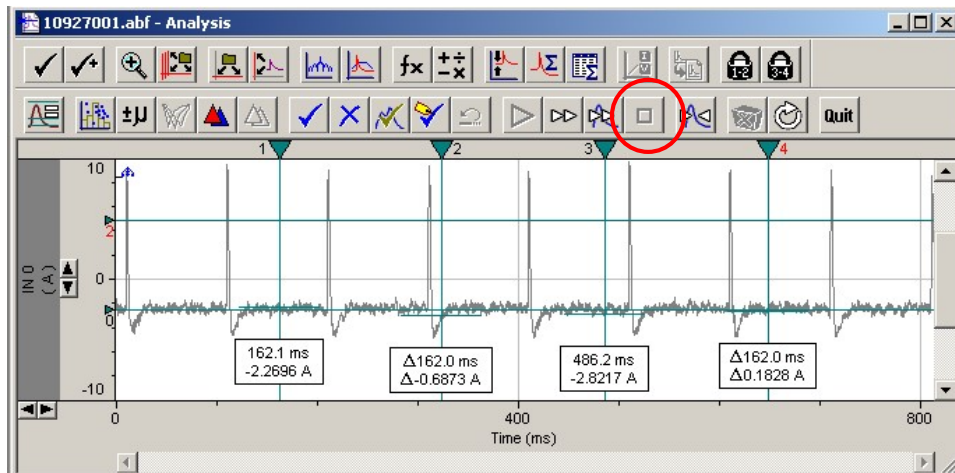
Select... All signals

One continuous trace

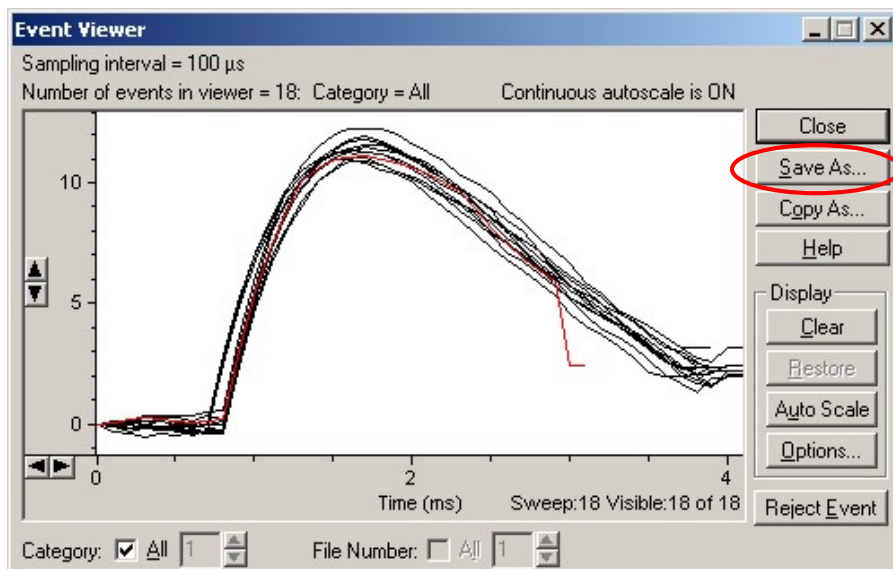
Full trace = 8120 samples Signal と Sweep を設定します。

OK Cancel Help

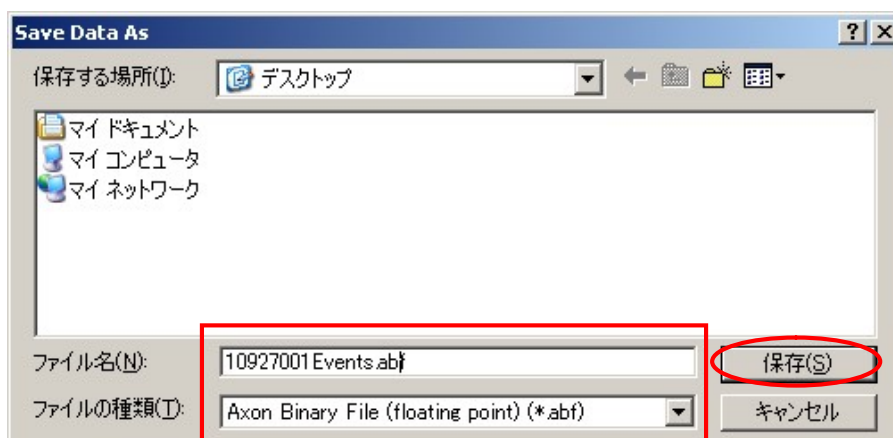
4. 下図のように検索モードになり、「Nonstop」をクリックします。



5. Event View ウィンドウに検索波形が表示され、「Save As」をクリックします。



6. データを保存します。



☒ Category

☒ Positive-going ☐ Negative-going

Event finding

	Level marker	
Baseline: (mV)	(0)	<input type="text" value="0.0408"/>
<input type="checkbox"/> to Re-arm (mV):	(1) $\Delta$	<input type="text" value="1.197"/>
<input type="checkbox"/> to Trigger (mV):	(2) $\Delta$	<input type="text" value="0.5513"/>
<input type="checkbox"/> to Rejection (mV):	(3) $\Delta$	<input type="text" value="1.676"/>
<input type="checkbox"/> Noise rejection (ms):		<input type="text" value="0"/>

Pretrigger and post-trigger lengths

☒ Pretrigger (ms):

☒ Post-trigger (ms):

Event rejection

☐ Min allowed duration (ms):

☐ Max allowed duration (ms):

☐ Fitting

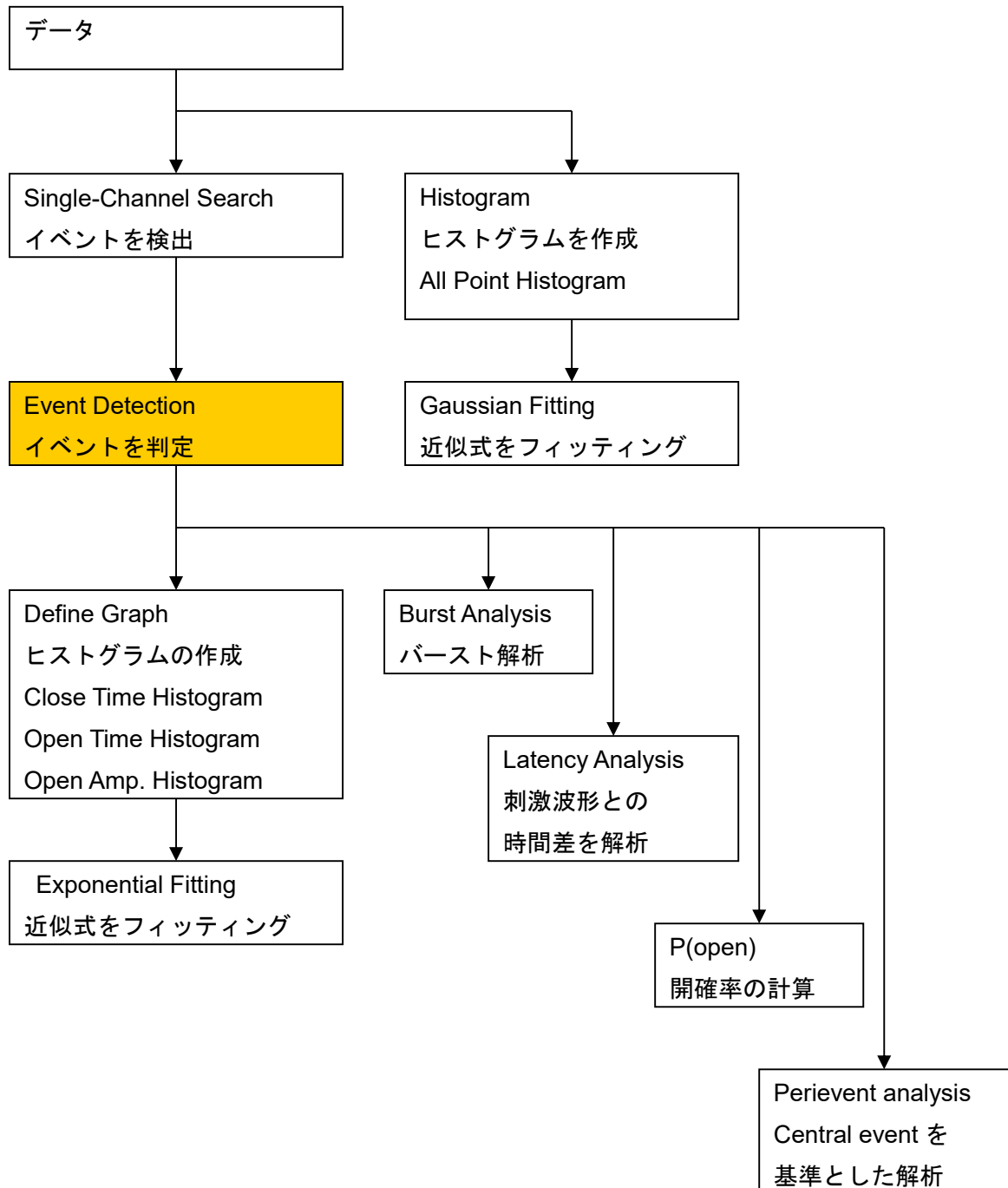
☒ Product of exponentials

☐ Sum of exponentials:  terms

Calculate taus from  % of peak

## 23. イベントを判定する (Event Detection Searches)

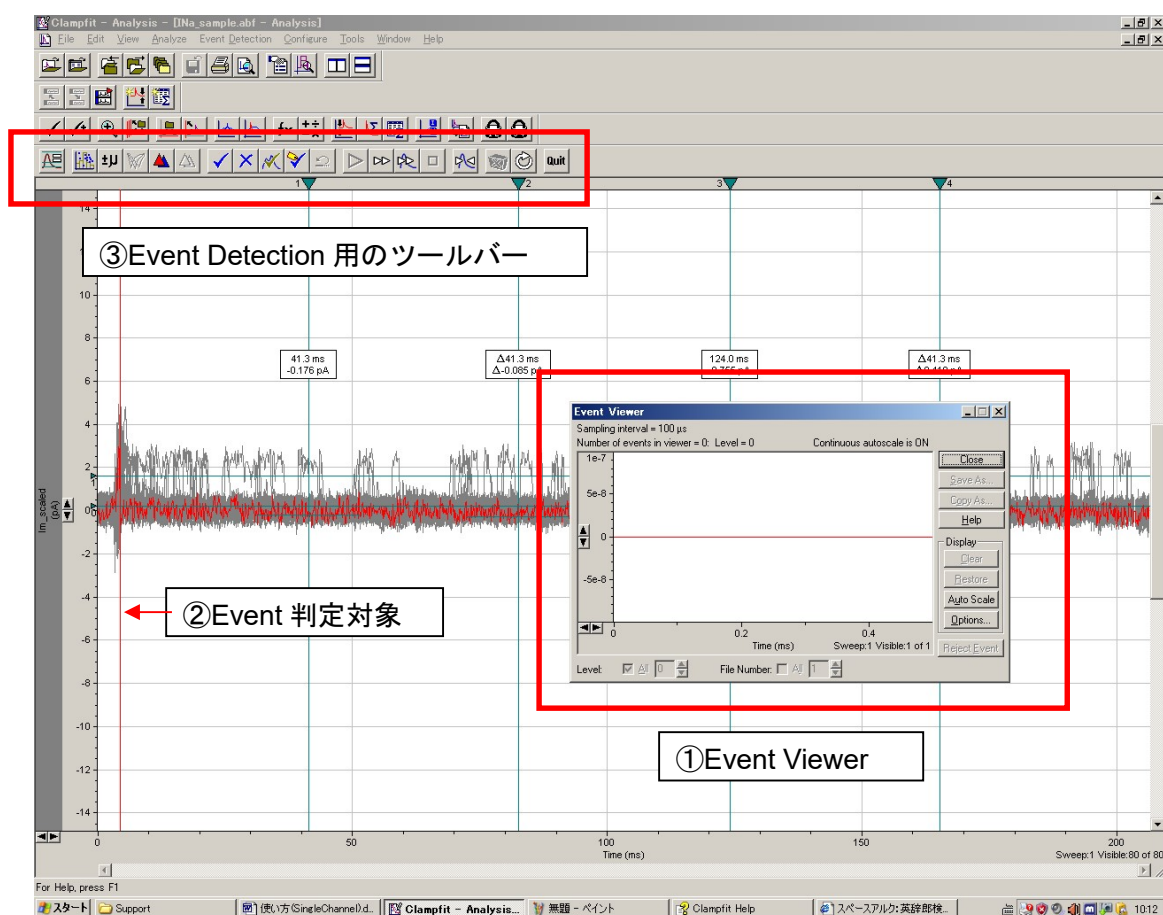
イベントを判定します。





Template Search, Threshold Search, Single-Channel Search を開始すると、下図の画面が表示されます。①Event Viewer ウィンドウが表示され、②イベント判定対象が表示され、③Event Detection ツールバーが表示されます。

イベント判定は Event Detection ツールバーで操作していきます。メニューの「Event Detection」にも同様のコマンドがありますが、今回は便利なツールバーを使用します。



### 23.1. Event Detection ツールバー

Event Detection ツールバーの各コマンドは下表のようになります。



アイコン	コマンド名	動作
	Search Parameters	探索パラメータを表示します。
	Define Graphs	グラフを作成します。
	Event Monitor	イベントの振幅と時間を表示します。
	Event Viewer	イベントの波形を表示します。
	Process Selected Events	イベント判定を編集します。
	Deselect All	イベント選択を解除します。
	Accept	イベントを承認します。
	Reject	イベントを否認します。
	Suppress	イベントを無効にします。
	Accept and Tag	イベントを承認し、タグを入れます。
	Undo	操作を戻します。
	Find Event	自動判定を停止後、マニュアル判定を行います。
	Nonstop	イベントを自動判定します。
	Accept Entire Category	イベントを承認し、それ以降は自動で同じレベルのイベントを承認します。別レベルのイベントを見つけると停止します。
	Stop	自動判定を停止します。
	Go to Current Event	最新イベントに画面を移動します。
	Clear All	イベント判定をクリアします。
	Restart	イベント探索を再度開始します。
	Quit Event Detection	イベント探索を終了します。





Event Detection ツールバーに表示されていない項目があります。それらはメニューの[「Event Detection」]から選択する必要があります。


コマンド名	動作
Restore all Hidden Events	Process Selected Events で非表示に編集したイベントをすべて表示します。
Show Suppressed Events	無効にしたイベントを Event Viewer に表示します。
Event Statistics	イベントの平均値や標準偏差を表示します。

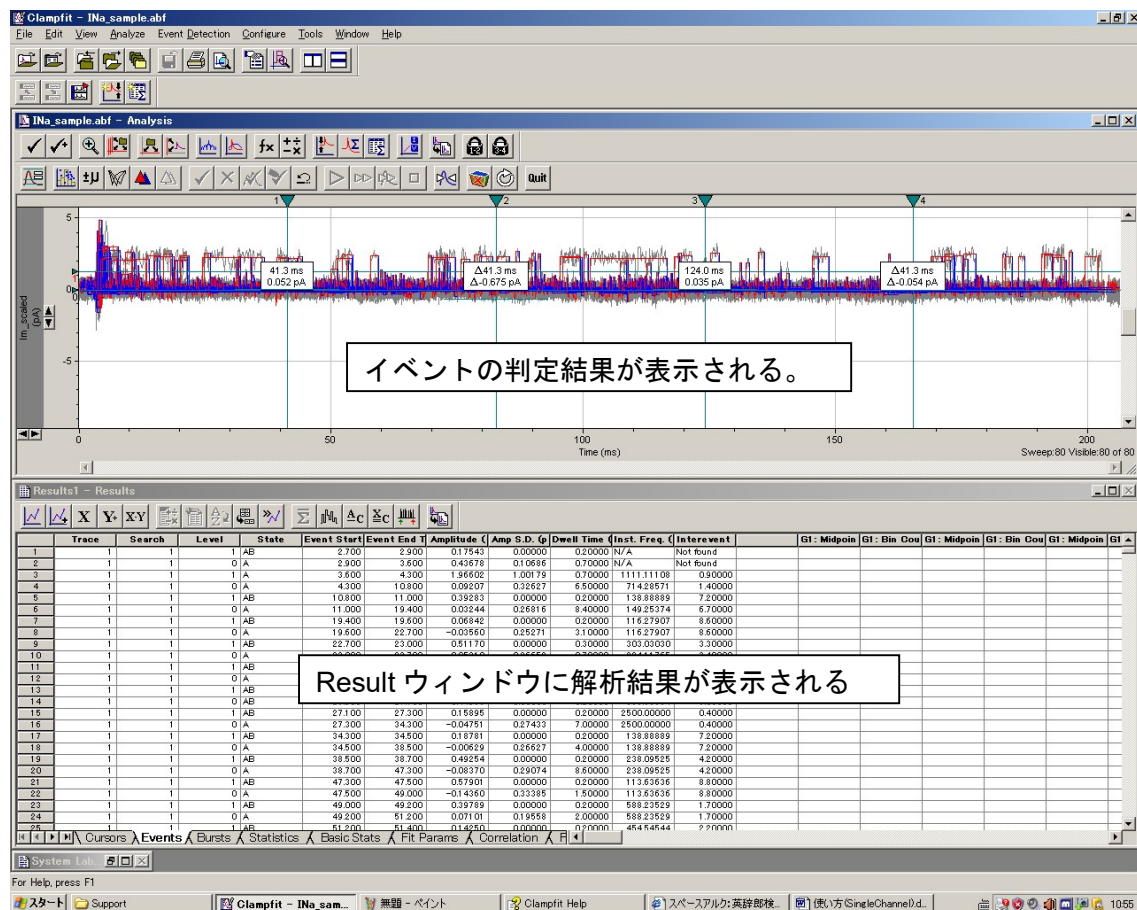
## 23.2. 自動イベント判定

下図のコマンドを使用して自動判定を行います。



 リックして自動判定を開始します。下図のように、解析結果は Result File の Event タブに表示されます。自動判定を途中で停止したい場合は、 をクリックします。さらに、それ以降、マニュアル操作で判定を行いたい場合は、 をクリックします。自動判定を再開したい場合は、 リックします。

また、 でイベントを承認すると、それ以降は承認した同レベルのイベントを自動判定で承認します。別レベルのイベントを見つけると停止します。



### 23.3. 手動イベント判定

下図のコマンドを使用して、手動でイベント判定します。

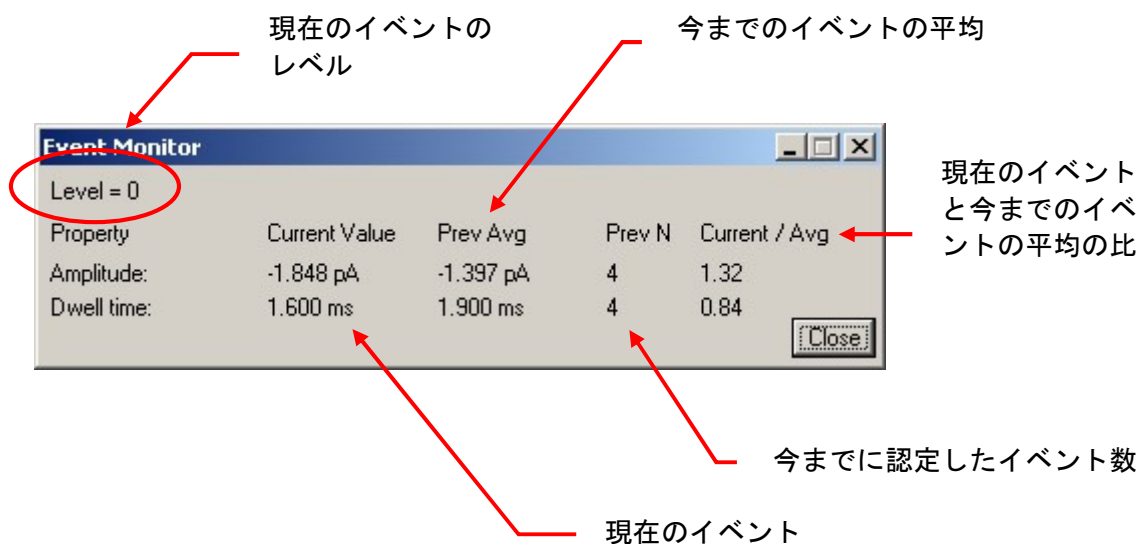


発生したイベントを承認する場合は ☒ 否認する場合は ☒ 無効にする場合は ☒ は ☒ 、承認してタグを入れる場合は ☒ 、をクリックします。また、操作を戻したい場合は、☒ をクリックします。

下図のコマンドを使用して、イベントのステータスを確認できます。

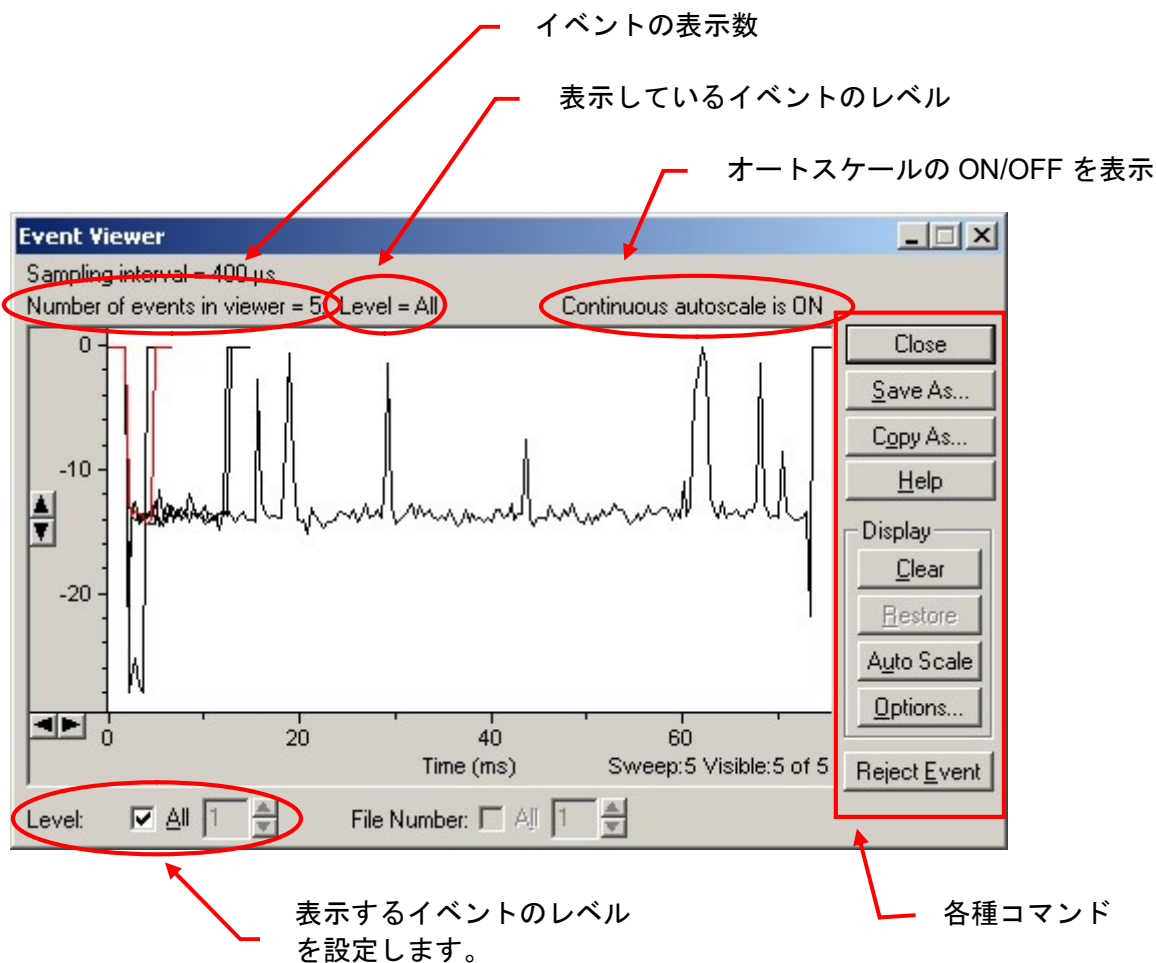


☒ Event Monitor はイベントの振幅と時間を表示します。マニュアル判定の参考値として使用します。





Event Viewer はイベントの波形を表示します。





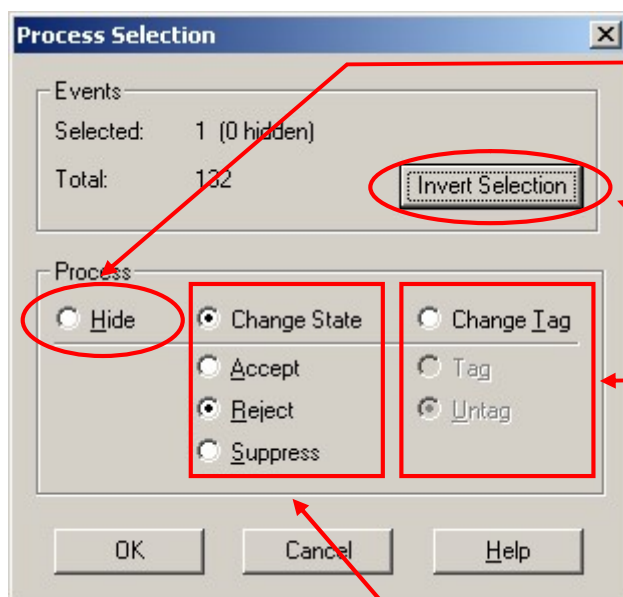
Event Viewer のコマンドは以下のようになります。

コマンド名	動作
Close	Event Viewer ウィンドウを閉じます。
Save As...	ABF File として保存します。
Copy As...	Save As...と同じです。
Help	ヘルプを開きます。
Clear	すべての波形をクリアします。
Restore	クリアした波形を再表示します。
Auto Scale	波形を自動スケールで表示します。
Option	オプションを設定します。
Reject Event	選択しているイベントを削除します。

下図のコマンドを使用して、イベントを編集できます。



Event Viewer や Results File の Event Sheet で編集するイベントを選択し、 をクリックします。下図のように Process Selection ウィンドウが表示され、ステータスを編集することができます。また、イベントの選択を解除する場合は、 をクリックします。



イベントを非表示にします。

選択しているイベントを反転します。

タグの有無を選択できます。

タグの認定、否認、無効を選択できます。

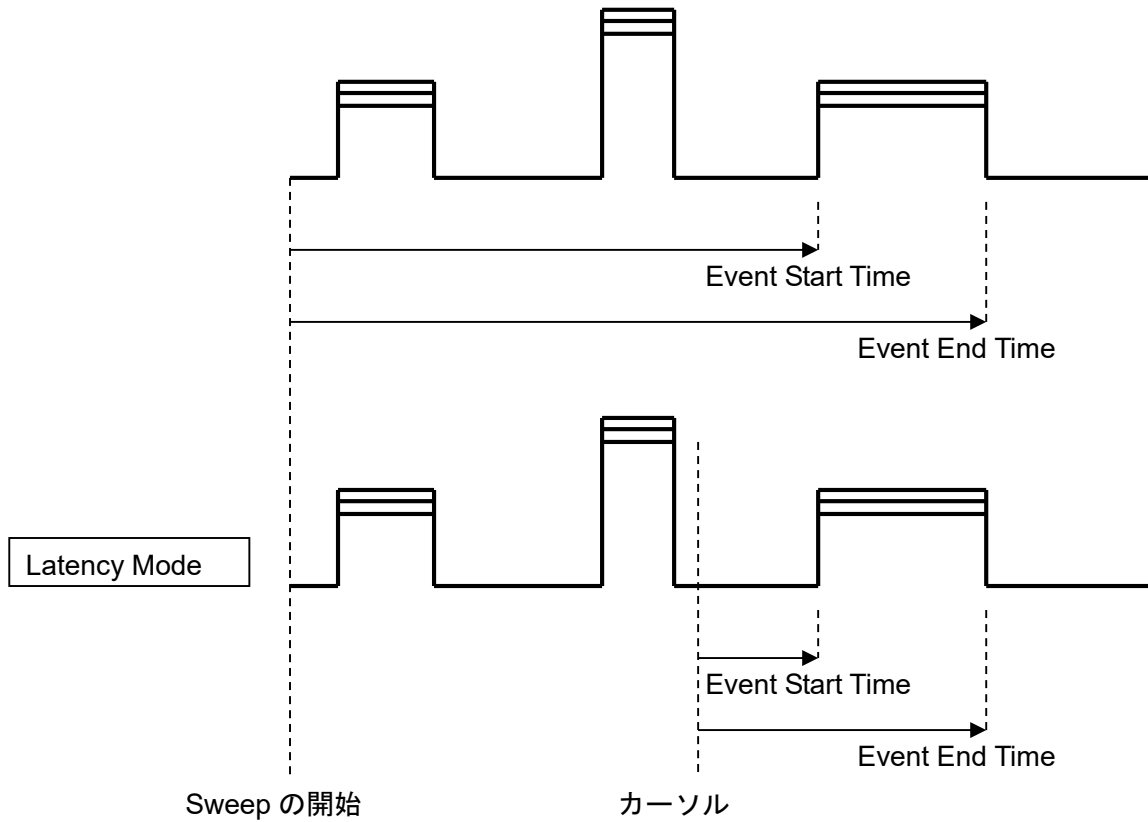
その他に、Event Detection > Restore all Hidden Events を選択すれば、非表示にしたすべてのイベントを表示することができます。また、メニューの Event Detection > Show Suppressed Events を選択すれば、無効にしたイベントを表示・非表示できます。



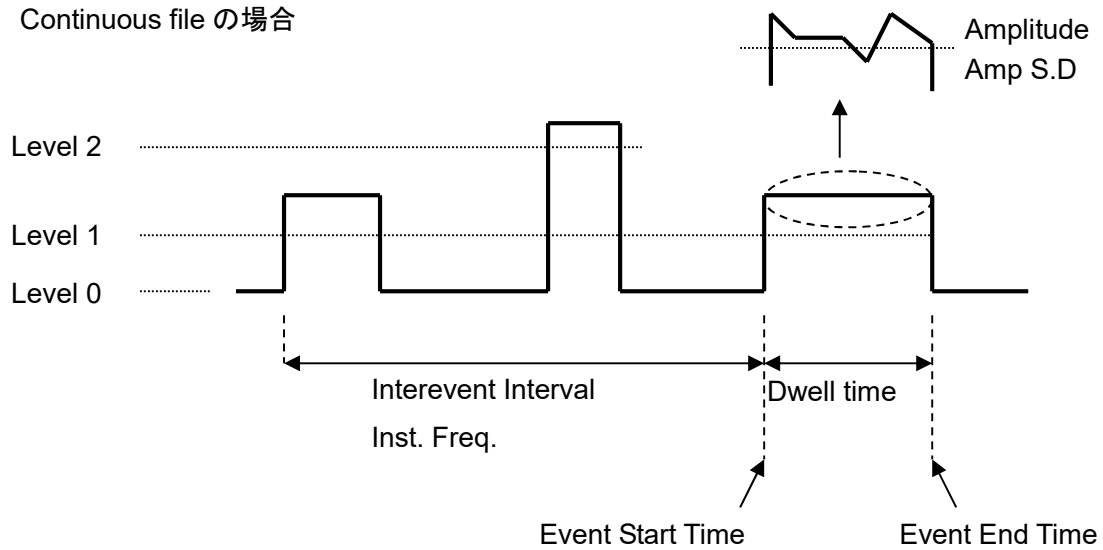
#### 23.4. Event Detection の解析項目

解析項目	内容
Trace	イベントを見つけた Sweep 番号
Search	イベントを見つけた検索回数 Restart で再検索すると、増えていきます。
Level	イベントのレベル
State	イベントのステータス A: Accepted (承認) AB: Dwell time が 0.5ms 以下で短いと警告された承認イベント、Amp S.D が計算できない。 AT: Accepted and tagged (タグ付き承認) S: Suppressed (無効) B: Brief event (承認したが、短い) M: Manually adjusted event (マニュアルで調整された)
Event Start Time	Episodic モード : Sweep の開始からの時間 その他のモード : イベントの開始時間 Latency mode の場合は、search region の開始からの時間
Event End Time	Episodic モード : Sweep の開始からの時間 その他のモード : イベントの終了時間 Latency Mode オンのとき : カーソルからの時間
Amplitude	イベント期間での振幅の平均値
Amp S.D	イベント期間での振幅の標準偏差
Dwell Time	イベントの長さ
Inst. Freq.	現在のイベント開始時間と 1 つ前の同じレベルのイベント開始時間までの周期
Interevent Interval	現在のイベント開始時間と 1 つ前の同じレベルのイベント開始時間までの時間

Stimulation file の場合

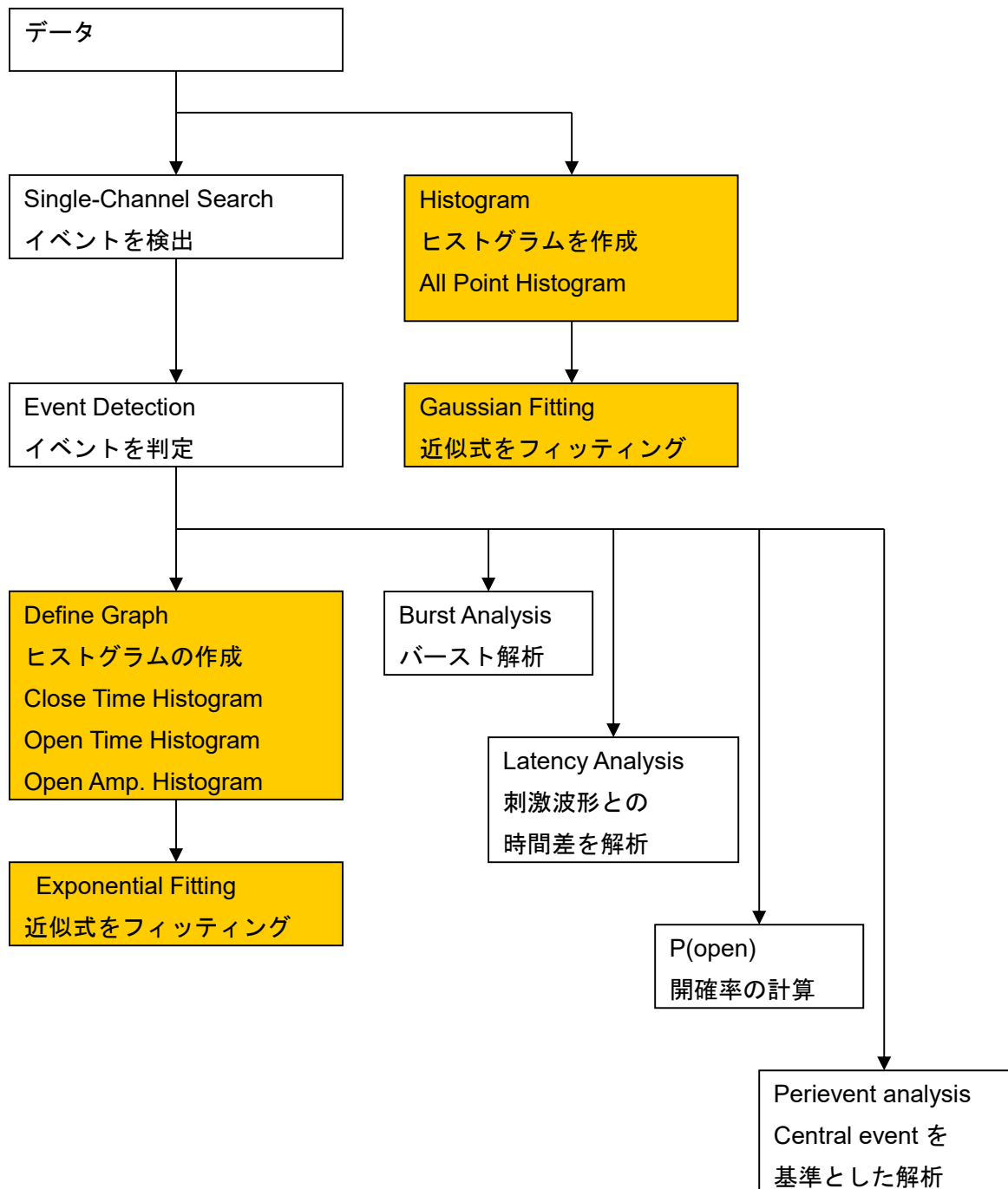


Continuous file の場合




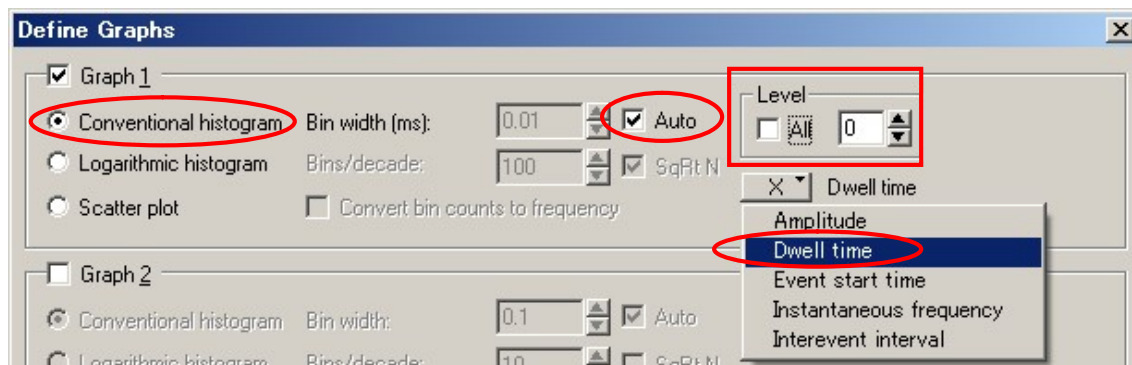
## 24. シングルチャンネルの解析

イベントデータからヒストグラムを作成し、ヒストグラムにフィッティングを行います。



## 24.1. Close Time, Open Time, Open Amp. Histogram

イベントデータからヒストグラム作成します。Event Detection ツールバーの  をクリックすると、下図のように Define Graphs ウィンドウが表示されます。



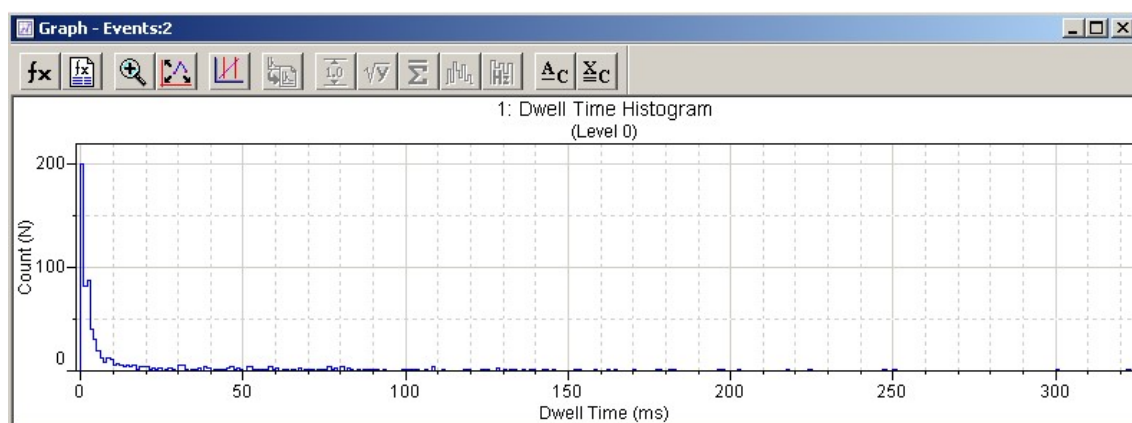
グラフタイプを選択します。今回はスタンダードなY軸がカウント数の「Conventional histogram」を選択します。

Bin width を設定します。Bin width はX軸の間隔です。今回は「Auto」を設定します。

Level を選択します。0 と 1 を同時に表示したい場合は All を選択します。別々に表示したい場合はレベルを選択して下さい。今回は「0」を選択します。

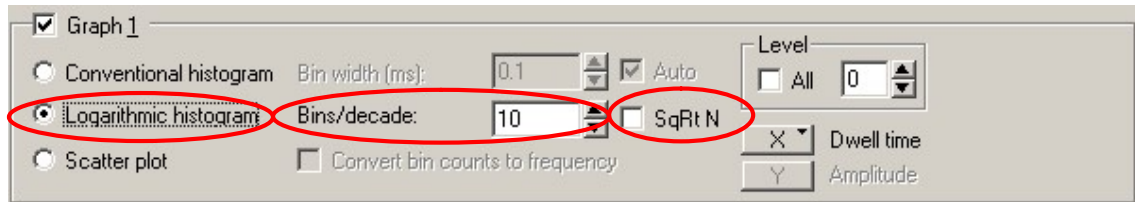
X軸を選択します。今回は「Dwell time」を選択します。

OK ボタンをクリックします。

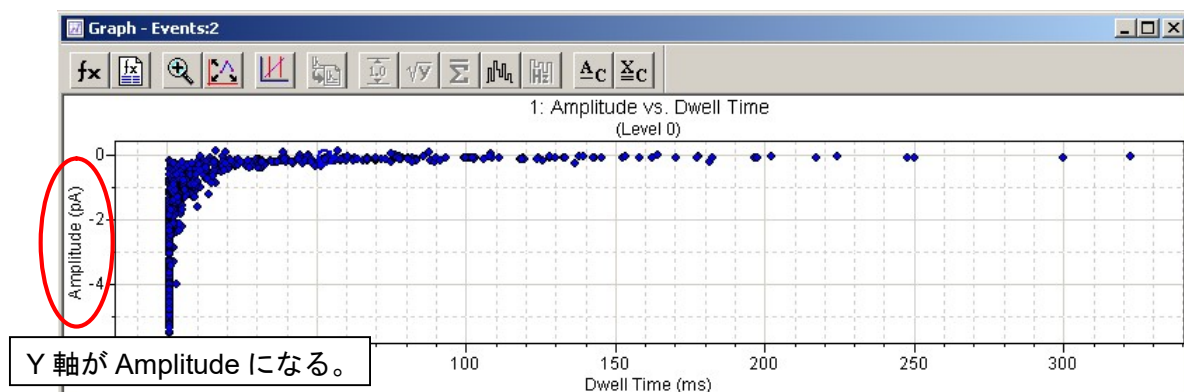
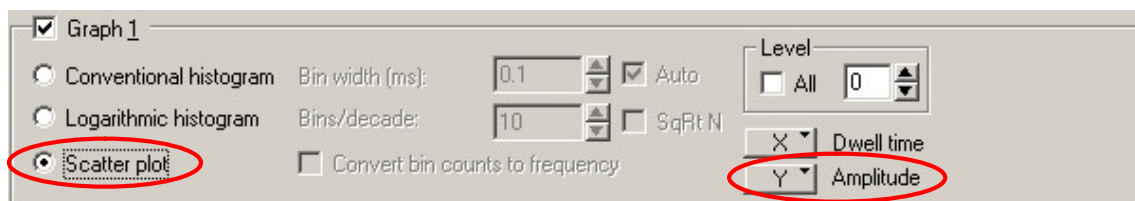


上図のようにヒストグラムのウィンドウが表示されます。今回は Level0, Dwell time を選択したので、closed time histogram です。Level1, Dwell time を選択すれば、open time histogram となります。Level1, Amplitude を選択すれば、open amplitude histogram となります。

X 軸を対数表示にしたい場合は「 Logarithmic histogram 」を選択します。Bin/decade は X 軸の間隔、SqRt N はカウント数を 2 乗します。



Y 軸も設定したい場合は、Scatter plot を選択します。X 軸と同様に、Y 軸も設定します。



## 24.2. Exponential Fitting

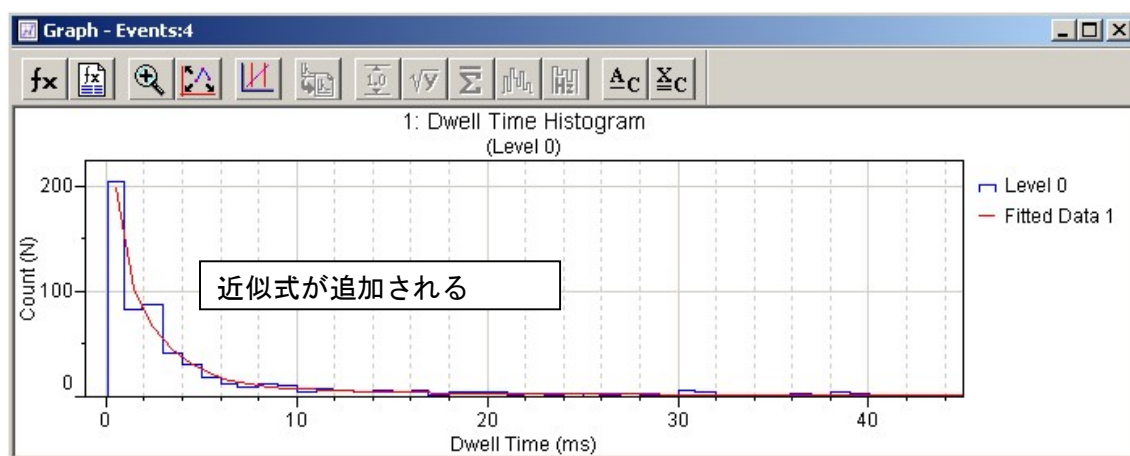
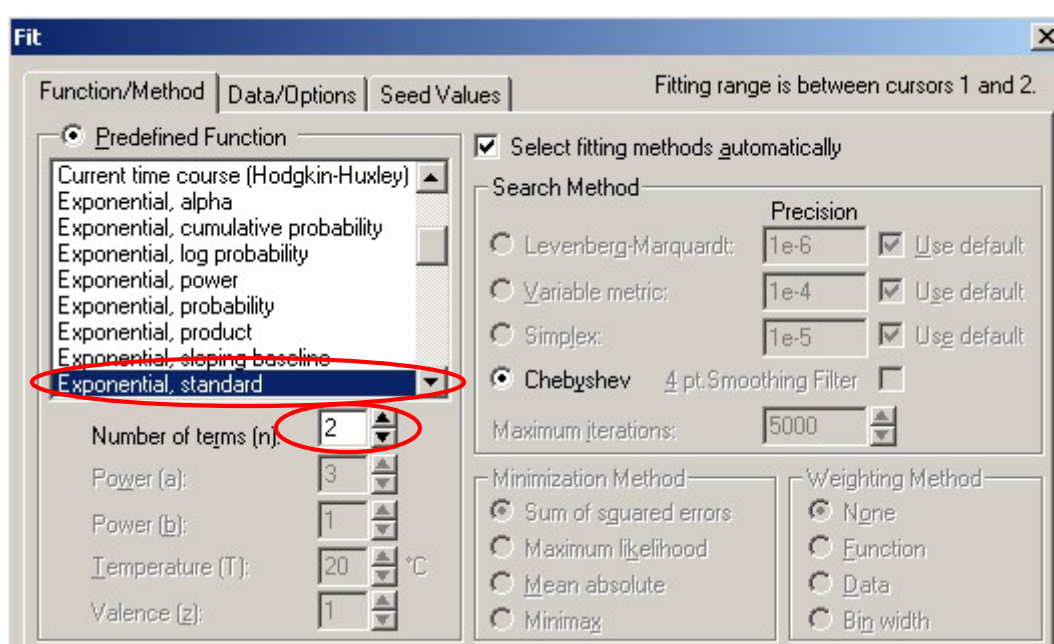
closed time histogram や open time histogram には Exponential Fitting を使用します。

フィッティングする Graph ウィンドウを選択します。

メニューの「Analyze/ fit」を選択します。

下図のように各設定を行います。「Number of terms」に次数を設定します。今回は2次関数なので「2」に設定します。

OK ボタンをクリックします。



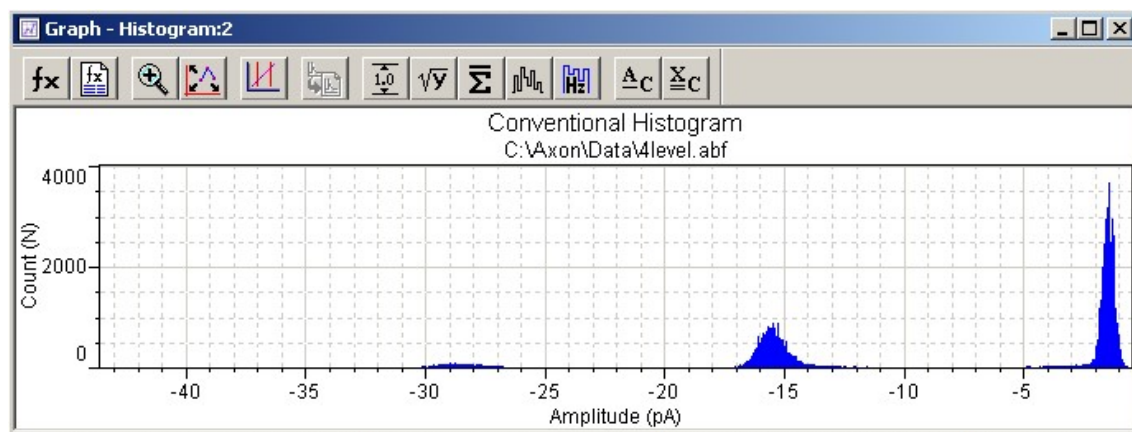
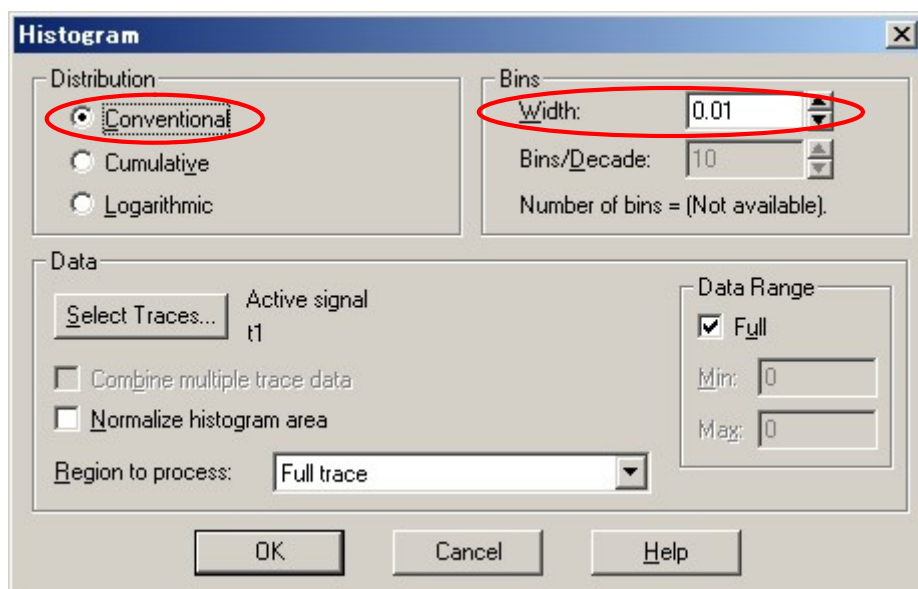


### 24.3. All point Histogram

All point histogram を作成します。All point histogram の作成には Event Detection は使用しません。

1. View > Data Display > Continuous を選択して波形を連続表示します。(Sweep ごとに行う場合、この操作は不要です)
2. Analyze > Histogram を選択して、Histogram ウィンドウを表示します。
3. Distribution セクションで分布タイプを選択します。今回は Conventional を選択します。
4. Bins セクションで X 軸の間隔を設定します。今回は Width を最小値に設定します。
5. OK ボタンをクリックします。

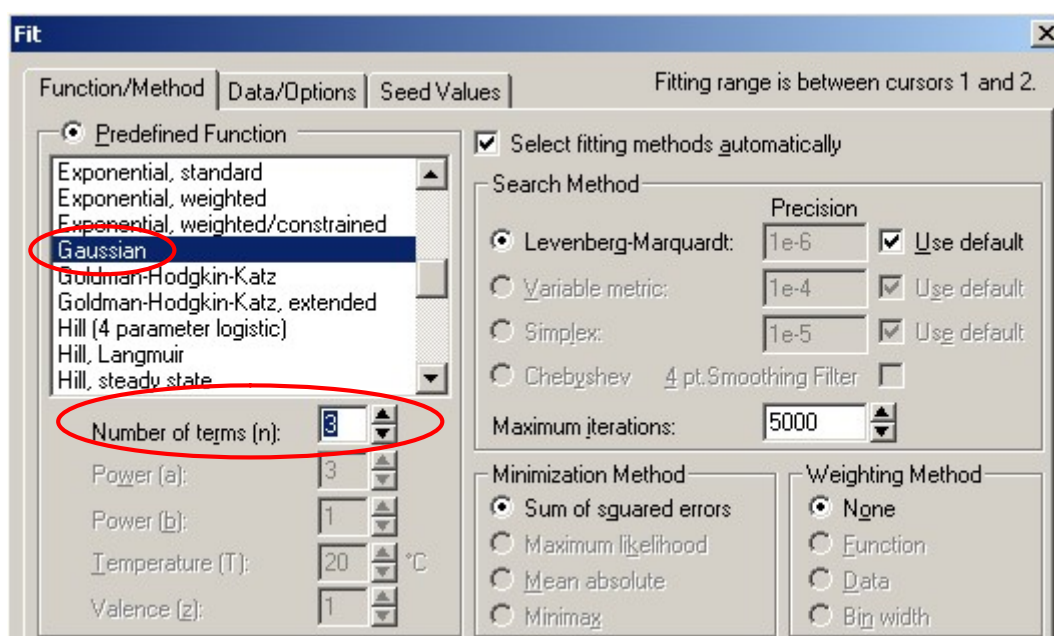
Sweep 表示している場合、Combine multiple trace data をオンすると、各 Sweep のヒストグラムを混合されます。



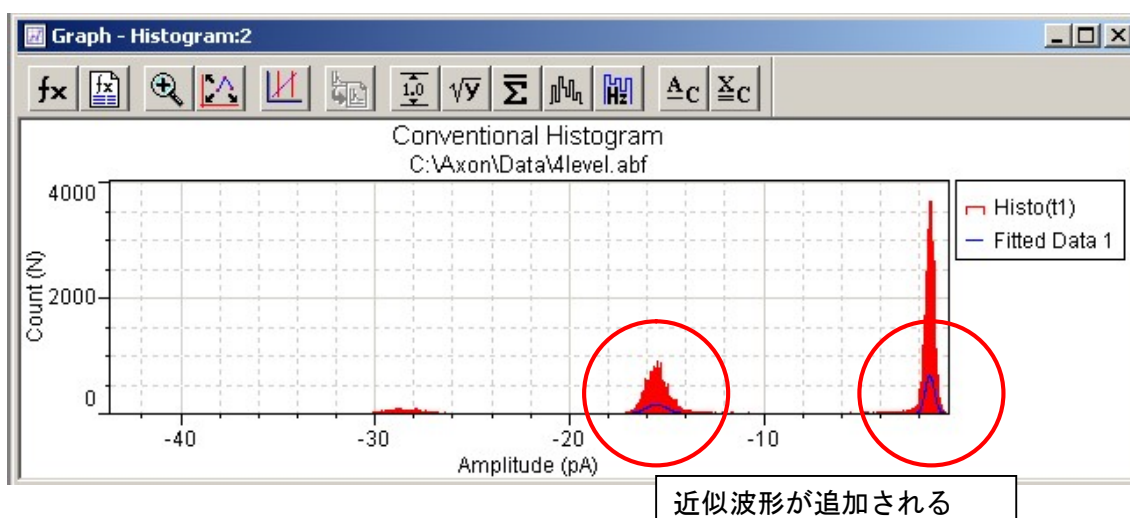
## 24.4. Gaussian fitting

All point histogram には Gaussian fitting を使用します。

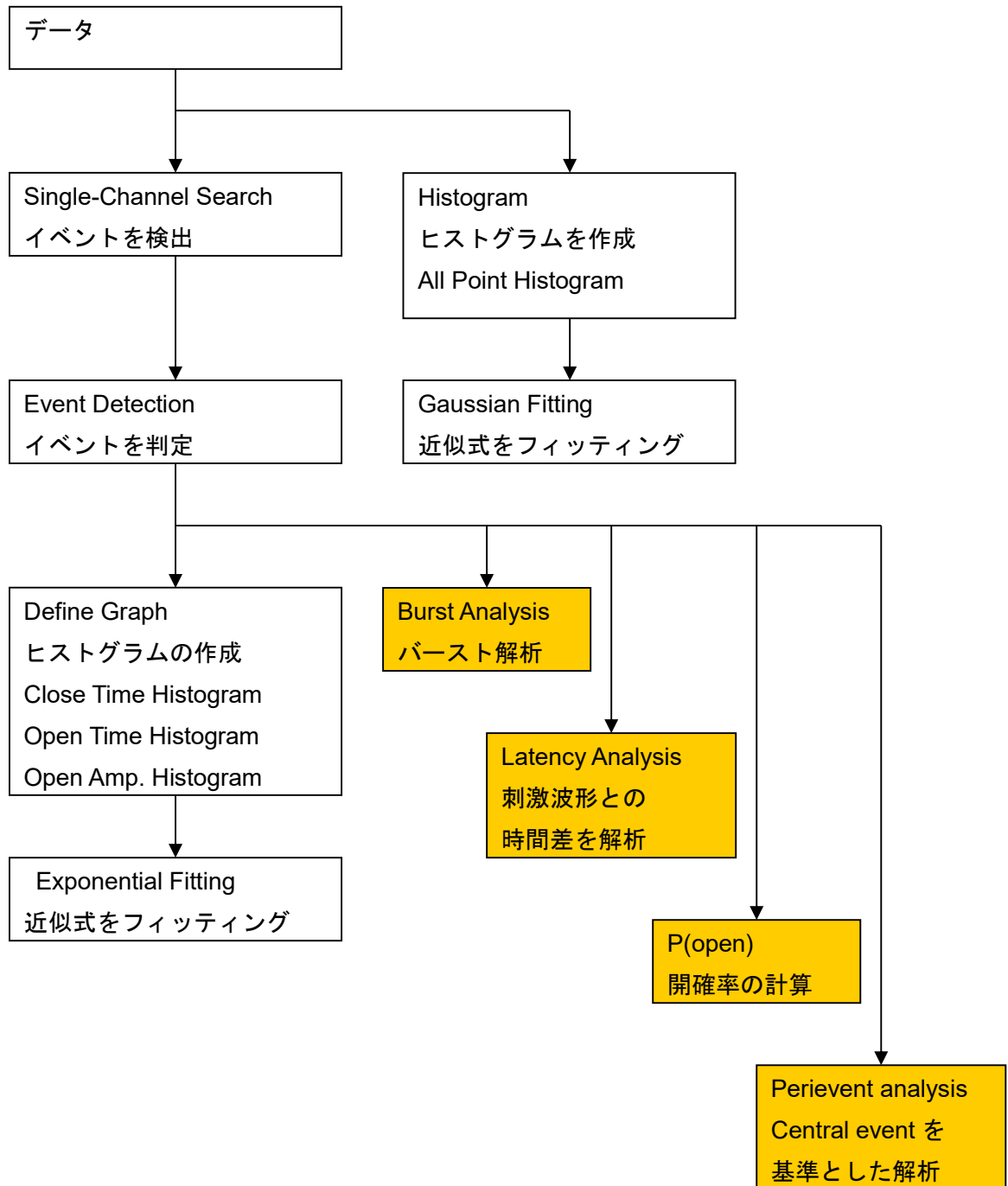
1. All point histogram の Histogram ウィンドウを選択します。
2. Analyze > fit を選択します。
3. 下図のように設定します。Number of terms はヒストグラムの起伏の数に合わせて設定して下さい。今回は3に設定しました。フィットできない場合は、Number of terms を増やして下さい。
4. OK ボタンをクリックします。



5. 下図のように、近似波形が表示されます。



## 25. イベントを解析する (Event Analysis)

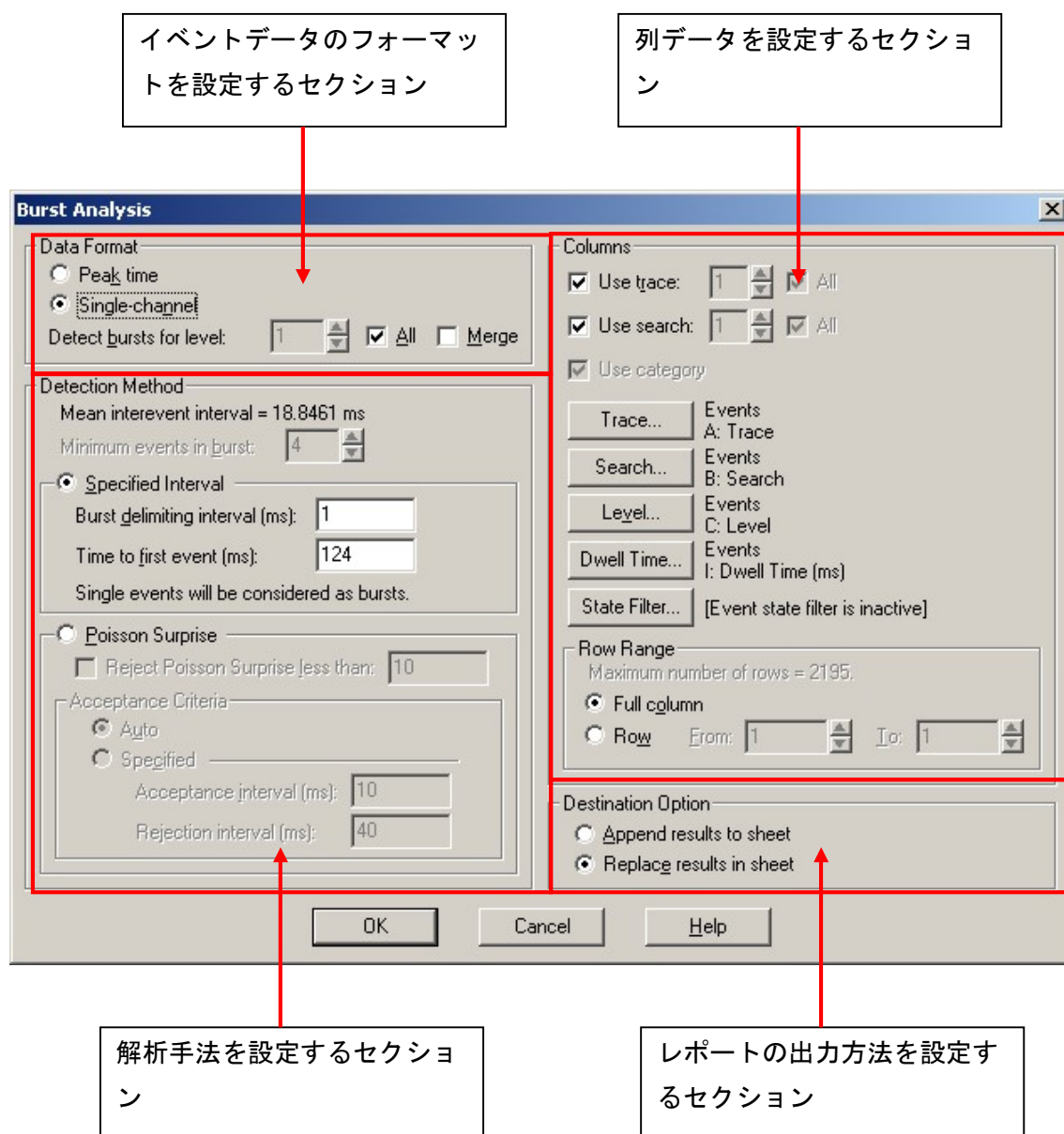


Result ウィンドウの Event Sheet を選択し、Analyze > Event Analysis を選択すると、下表の解析項目が表示されます。

解析項目	内容
Burst Analysis	イベントを分類
Burst Statistics	発火の統計レポート
Latency	Latency（刺激と反応の時差）を解析
Latency Statistics	Latency の統計レポート
P(open)	開確率を解析
P(open) Statistics	開確率の統計をレポート
Perievent Analysis	Central イベントのヒストグラムとラスタグラフを作成
Fast Graph	Event シート用に最適化されたグラフ機能

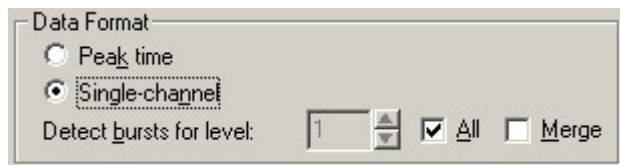
## 25.1. Burst Analysis

イベントをグループ分けする解析機能です。Results ウィンドウの Event シートを選択して、Analyze > Event Analysis > Burst Analysis を選択して下さい。以下のように Burst Analysis ウィンドウが表示されます。解析結果は Result ウィンドウの Burst シートにレポートされます。



## Data Format

イベントデータのフォーマットを選択するセクションです。Single-Channel Search で Single-Channel イベントを検索した場合は Single-Channel を選択します。解析するレベルを Detect bursts for level に設定します。All をチェックすると全レベルを解析します。レベルごとに結果がレポートされます。Merge をチェックすると、全レベルを混合して結果をレポートします。Single-channel イベントのみ有効です。



Data Format

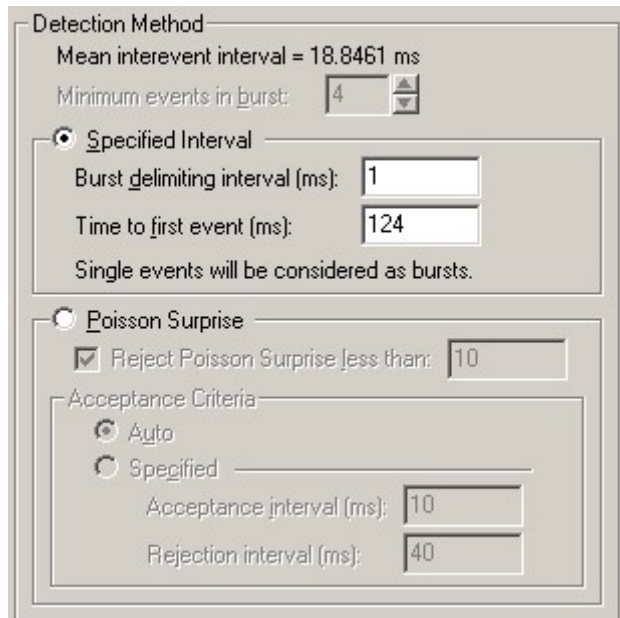
☐ Peak time

☒ Single-channel

Detect bursts for level:  ☒ All ☐ Merge

## Detection Method

解析手法を設定するセクションです。Specified Interval は Event シートの Interevent interval と Burst delimiting interval を比較してグループ分けを行います。Poisson Surprise はポアソン分布によってグループ候補をスキャンし、Acceptance Criteria の設定でグループ分けを行います。Minimum event in burst は Peak time イベントのみ有効で、グループを構成するイベントの最小数を設定します。



Detection Method

Mean interevent interval = 18.8461 ms

Minimum events in burst:

☒ Specified Interval

Burst delimiting interval (ms):

Time to first event (ms):

Single events will be considered as bursts.

☐ Poisson Surprise

☒ Reject Poisson Surprise less than:

Acceptance Criteria

☒ Auto

☐ Specified

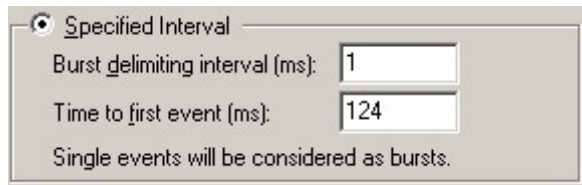
Acceptance interval (ms):

Rejection interval (ms):



## Specified Interval

Event シートの Interevent interval と Burst delimiting interval を比較してグループ分けします。Burst delimiting interval 以下であれば、発火として承認します。Burst delimiting interval は閾値を設定します。Time to first event は初のイベントの開始時間を設定します。自動的に Event シートの値が入力されるので、通常は設定する必要はありません。



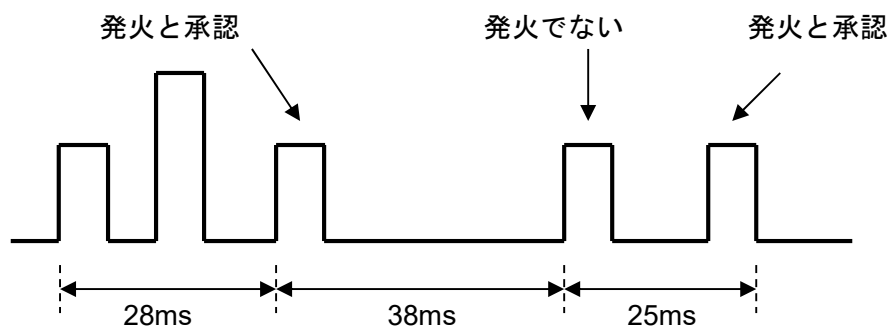
☒ Specified Interval

Burst delimiting interval (ms):

Time to first event (ms):

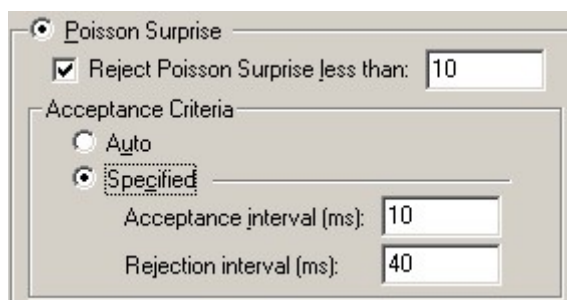
Single events will be considered as bursts.

Burst delimiting interval=30m のとき



## Poisson Surprise

Interevent interval が Reject Poisson Surprise less than 以下のイベントは、発火の候補としてスキャンされ、更に Acceptance Criteria によってグループ分けされます。Acceptance Criteria は Auto で自動解析、Specified で任意に設定できます。Specified は Acceptance interval と Rejection interval によって発火に追加・削除されます。



☒ Poisson Surprise

☒ Reject Poisson Surprise less than:

Acceptance Criteria

☐ Auto

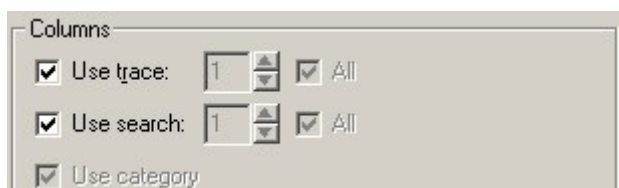
☒ Specified

Acceptance interval (ms):

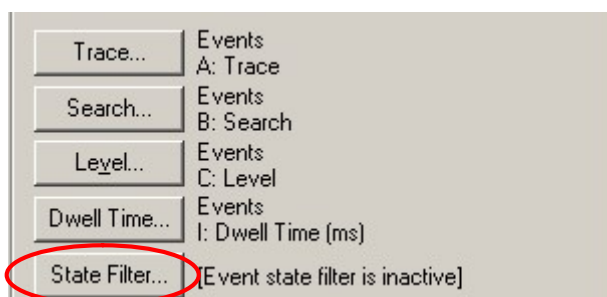
Rejection interval (ms):

## Columns

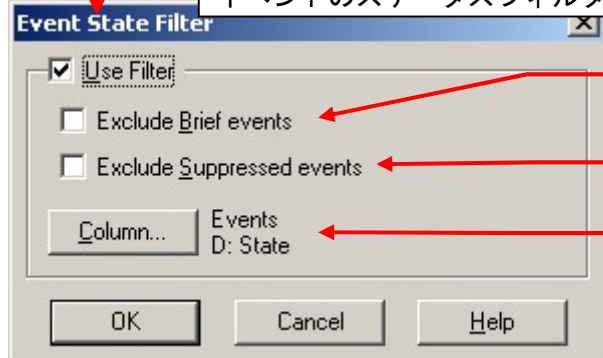
列データを設定するセクションです。Use trace と Use search をチェックすると、Event シートの Trace と Search が有効になり、Trace と Search を選択することができます。今回は 1sweep しかないのので、trace を選択できません。例えば、データが 10sweep ある場合は trace を All もしくは 1~10 に設定できます。また、今回は Single-channel Search も 1 回しか行っていないので、search も選択できません。例えば、Search ( ) で 3 回の検索をしている場合は search を All もしくは 1~3 に設定できます。Use category は Peak time のみ有効なので使用しません。



Trace, Search, Level, Dwell Time ボタンをクリックして列を選択することができます。通常はデフォルトのままに設定して下さい。別シートにある Trace, Search, Level, Dwell Time 選択したいときは変更します。



イベントのステータスフィルターを設定できます。



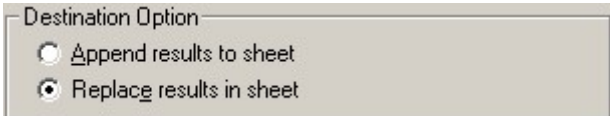
Brief イベントは描画しない。

Suppressed イベントは描画しない。

State の列を選択する。通常はデフォルトのままに設定します。

**Destination Option**

レポートの出力方法を設定するセクションです。Append results to sheet を選択するとレポートが追加されます。Replace results in sheet を選択すると、レポートは上書きされます。



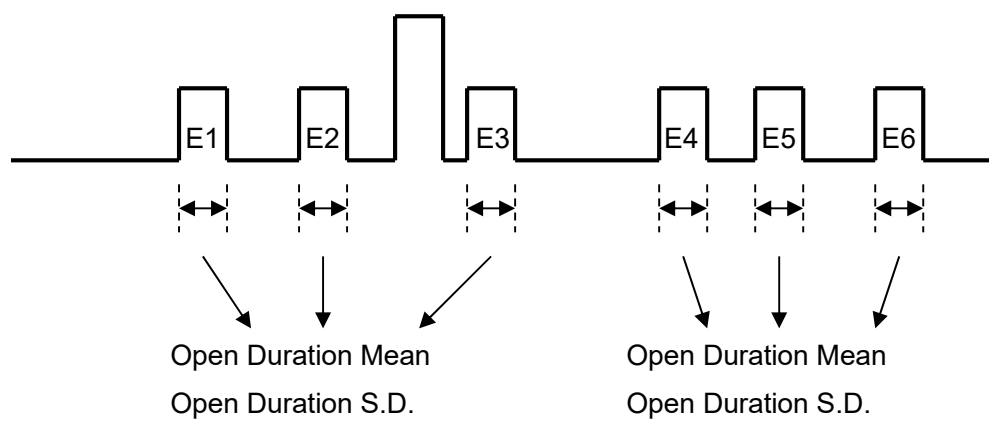
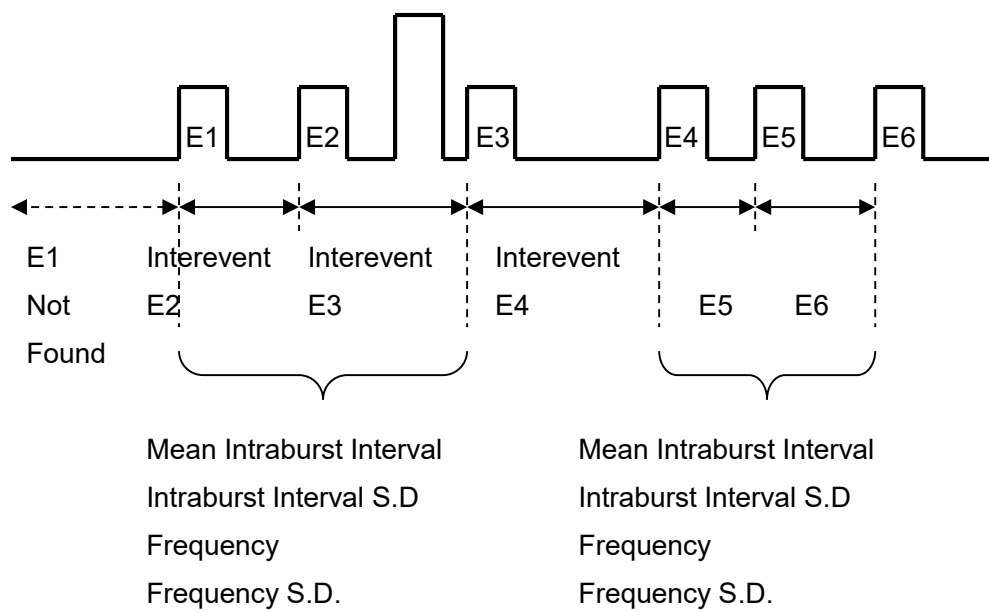
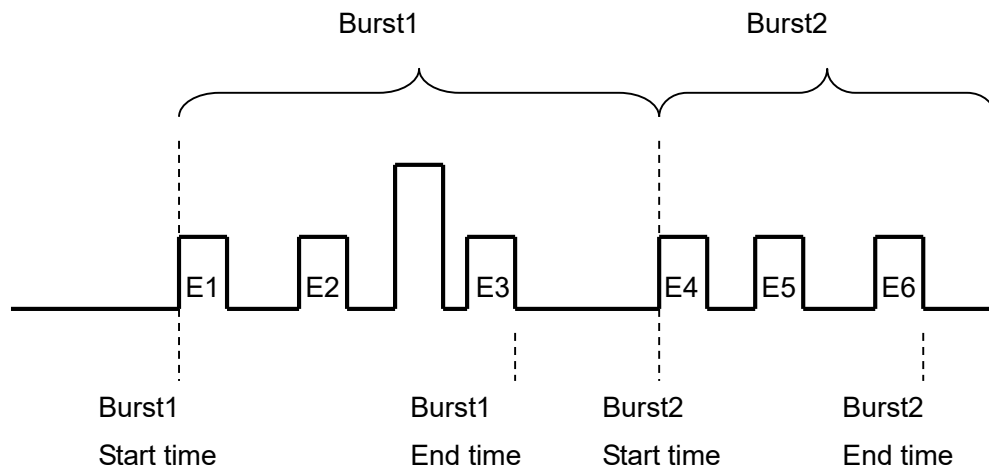
Destination Option

☐ Append results to sheet

☒ Replace results in sheet

## Burst Analysis の解析項目

Burst	バースト（グループ）に割り当てられた識別番号。
Trace	バーストの見つかった Trace 番号。 「Use trace」を無効にすると、「n/a」と表示されます。
Search	バーストの見つかった Search 番号。 「Use search」を無効にすると、「n/a」と表示されます。
Category or Level	single-channel events のとき バーストのレベル 「Merged」を無効にすると、「Merged」と表示されます。 Peak time events のとき バーストのカテゴリ 「Use category」を無効にすると、「n/a」と表示されます。
Events in Burst:	バースト内にあるイベント数
Poisson Surprise detection method was used.	「Poisson Surprise」を使用した場合の「Poisson surprise」
Start Time	single-channel events のとき バースト内にある最初のイベントの開始時間 Peak time events のとき バースト内にある最初のピーク時間
End Time	single-channel events のとき バースト内にある最後のイベントの終了時間 Peak time events のとき バースト内にある最後のピーク時間
Duration	End Time - Start Time
Mean Intraburst Interval.	バースト内にあるイベントの 間隔の平均値。 但し、最初のイベントは含めない。例えば、4つのイベントがある場合は、2つ目以降の3つで計算する。
Intraburst Interval S.D	バースト内にあるイベントの interevent intervals の標準偏差。
Frequency	バースト内にあるイベントの周期の平均値 $1 / \text{Mean Intraburst Interval.}$
Frequency S.D.	バースト内にあるイベントの周期の標準偏差
Open Duration Mean	バースト内にあるイベントの open time の平均値 open time はオープンイベントの dwell time のことです。
Open Duration S.D.	バースト内にあるイベントの open time の標準偏差
Sheet	解析に使用した Result ウィンドウのシート



## 25.2. Burst Statistics

Burst Analysis で解析した結果の平均値と標準偏差をレポートする機能です。Analyze > Event Analysis/ Burst Statistics を選択すると、以下の Burst Statistics ウィンドウが表示されます。

レポートする Trace, Search, Level を設定できます。

バーストの数がレポートされる。

Burst Analysis の平均値と標準偏差がレポートされる。

解析項目	平均値±標準偏差
Events in burst	バースト内にあるイベント数
Poisson Surprise	「Poisson Surprise」 値 Values over 10 are considered to be significant.
Duration	Single-channel events のとき : バースト内にある最初のイベントの開始から最後のイベントの終了までの時間 Peak time events のとき : バースト内にある最初のピーク時間から最後のピークまでの時間
Intraburst interval	バースト内にあるイベントの間隔
Frequency	バースト内にあるイベントの周期



### 25.3. Latency Analysis

刺激と反応の遅れ時間を解析します。ファイル形式は Stimulation File である必要があります。解析は「search region」から開始し、「search region」の始まりを刺激の開始時間に設定する必要があります。Single-Channel Event の場合は、最初のオープンレベルの「Start Time」が測定され、それ以外の場合は、Peak Time Event が測定されます。

Single-Channel Event の場合は、Dwell Time, Trace, Level の行データが必要で、Peak Time Event の場合は、Peak Time, Trace, Category の行データが必要です。

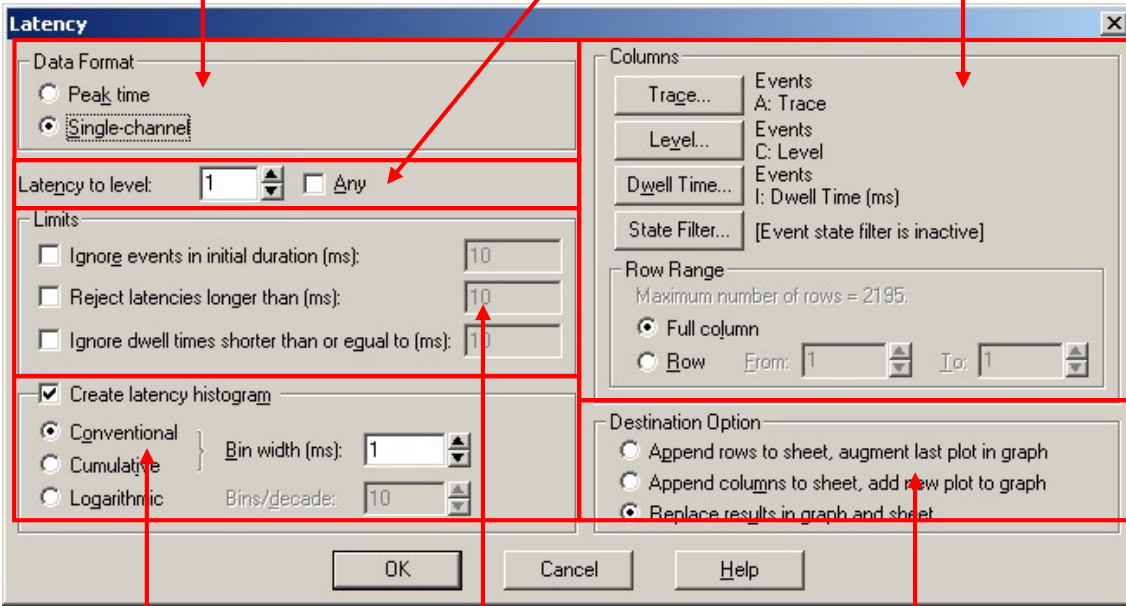
もし、Peak Time Event のデータが Clampfit のデータでない場合は、Category の行データがないので、Category の行データを追加してすべて「1」に設定して下さい。

オプションでヒストグラムを作成することができます。また、解析結果は専用のシートがないため、空シートにレポートされます。

データ形式を設定する  
セクションです。

解析する Level, Category  
を設定するセクション

列データを設定するセ  
クション



グラフの設定をする  
セクション

時間のリミットを設  
定するセクション

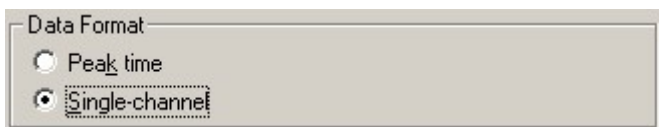
レポートの出力方法を設定  
するセクション

## Data Format

データ形式を選択するセクションです。

Peak Time : Peak Time イベントの場合に選択する。

Single-Channel : Single-Channel イベントの場合に選択する。



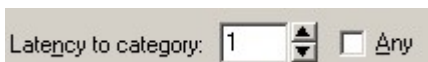
The dialog box titled 'Data Format' contains two radio buttons. The first is 'Peak time' and the second is 'Single-channel', which is selected with a black dot.

## Latency to Level, Category

Single-Channel イベントの場合は解析する「Level」を設定します。Peak Time イベントの場合は解析する「Category」を設定します。



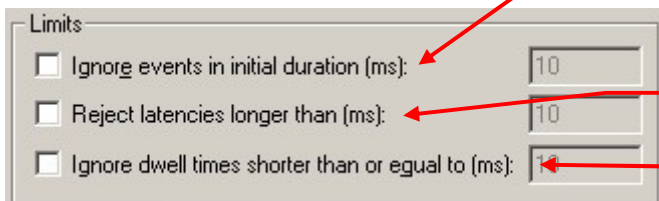
A control for 'Latency to level' featuring a numeric input field with the value '1', a small up/down arrow button, and an unchecked checkbox labeled 'Any'.



A control for 'Latency to category' featuring a numeric input field with the value '1', a small up/down arrow button, and an unchecked checkbox labeled 'Any'.

## Limits

時間のリミットを設定するセクションです。

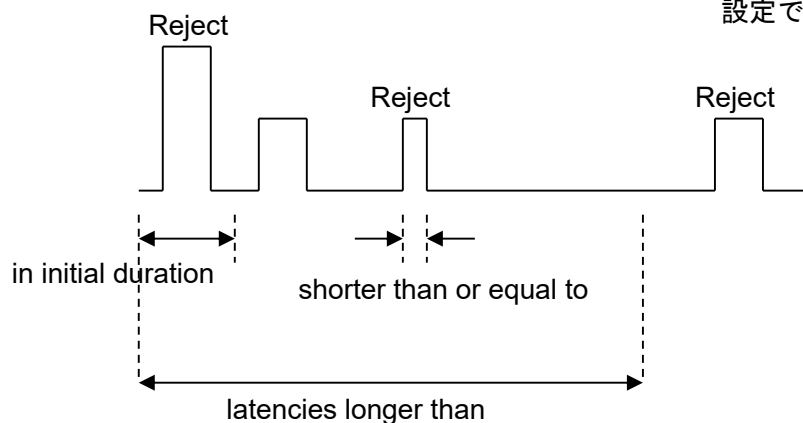


The 'Limits' dialog box contains three unchecked checkboxes, each followed by a numeric input field. The first is 'Ignore events in initial duration (ms):' with a value of '10'. The second is 'Reject latencies longer than (ms):' with a value of '10'. The third is 'Ignore dwell times shorter than or equal to (ms):' with a value of '1'.

設定した時間までのイベントは無視します。

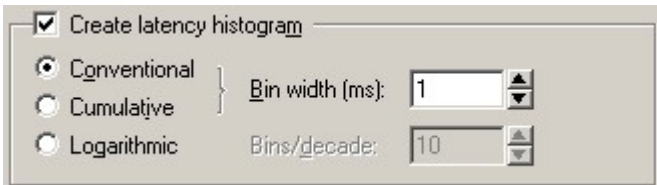
設定値より長いイベントは無視します。

Dwell Time が設定値以下の場合は無視します。Peak Event の場合は設定できません。



### Create latency histogram

ヒストグラムを設定するセクションです。



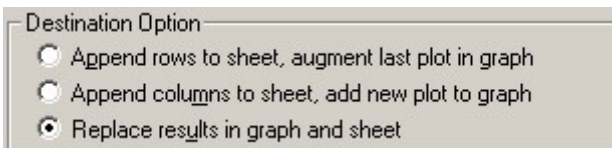
The dialog box titled "Create latency histogram" contains the following controls:

- A checked checkbox labeled "Create latency histogram".
- Three radio buttons for graph type: "Conventional" (selected), "Cumulative", and "Logarithmic".
- A bracket groups the "Conventional" and "Cumulative" options, pointing to a "Bin width (ms):" input field with a value of "1" and a spinner.
- The "Logarithmic" option is grouped with a "Bins/decade:" input field with a value of "10" and a spinner.

Graph Type	内容
Conventional	Y 軸 : カウント数 X 軸 : 時間 X 軸の幅 : Bin width
Cumulative	Y 軸は累積したカウント数 (左から右へ) X 軸 : 時間 X 軸の幅 : Bin width
Logarithmic	Y 軸はカウント数、X 軸は 10 底対数スケール X 軸 : 任意に設定 X 軸の幅 : Bins/decade

### Destination Option

レポートの出力方法を設定するセクション

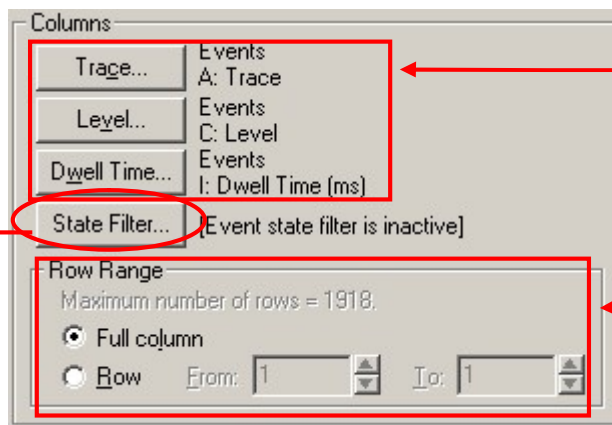


The dialog box titled "Destination Option" contains three radio buttons:

- ☐ Append rows to sheet, augment last plot in graph
- ☐ Append columns to sheet, add new plot to graph
- ☒ Replace results in graph and sheet

## Columns

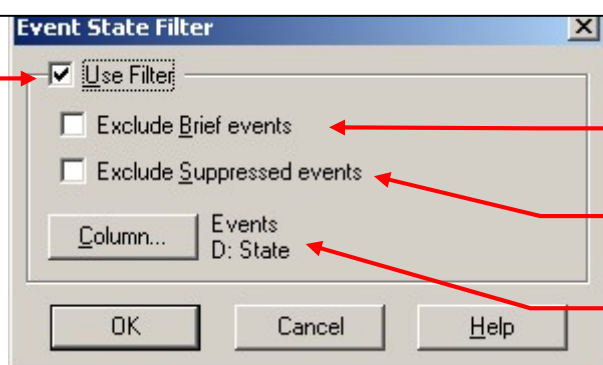
行データの設定を行うセクションです。



Trace, Level, Dwell Time の列を選択できます。

行の範囲を設定できます。

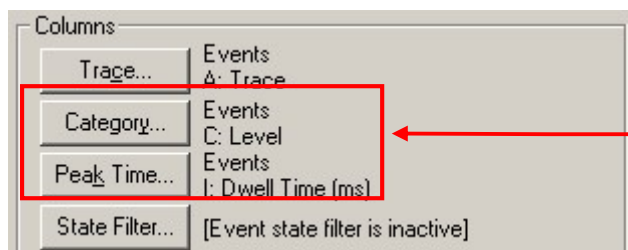
イベントのステータスフィルターを設定できます。



Brief イベントは描画しない。

Suppressed イベントは描画しない。

State の列を選択する。

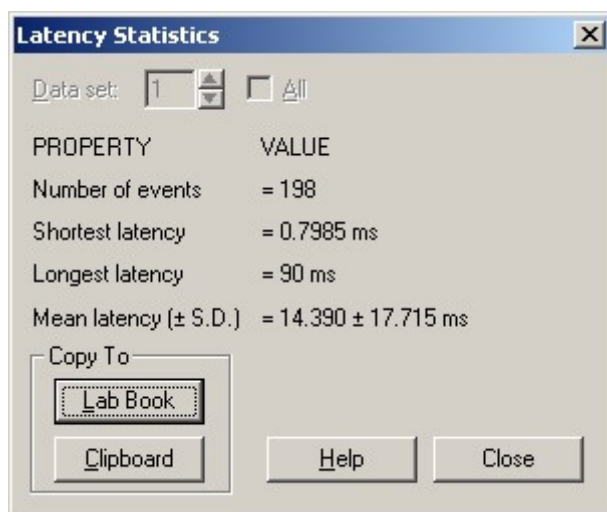


Peak Time Event の場合は、Category, Peak Time になります。

## Latency Analysis の解析項目

標準でレポートされるデータ（行データ A から D）	
Trace	Trace(Sweep)番号
To Level/Category	single-channel events : レベル peak-time events : カテゴリー
Latency	single-channel : イベントの開始までの時間 peak-time : ピークまでの時間
Sheet:	解析に使用した Result ウィンドウのシート
ヒストグラムのデータ（行データ E から F）	
(Log) Bin Center 1	レポートされたヒストグラムの X 軸幅の中央値
Bin Count 1	カウント数

## 25.4. Latency Statistics



解析項目	内容
Number of events	イベント数
Shortest latency	最短時間
Longest latency	最長時間
Mean latency	平均時間（平均値±標準偏差）



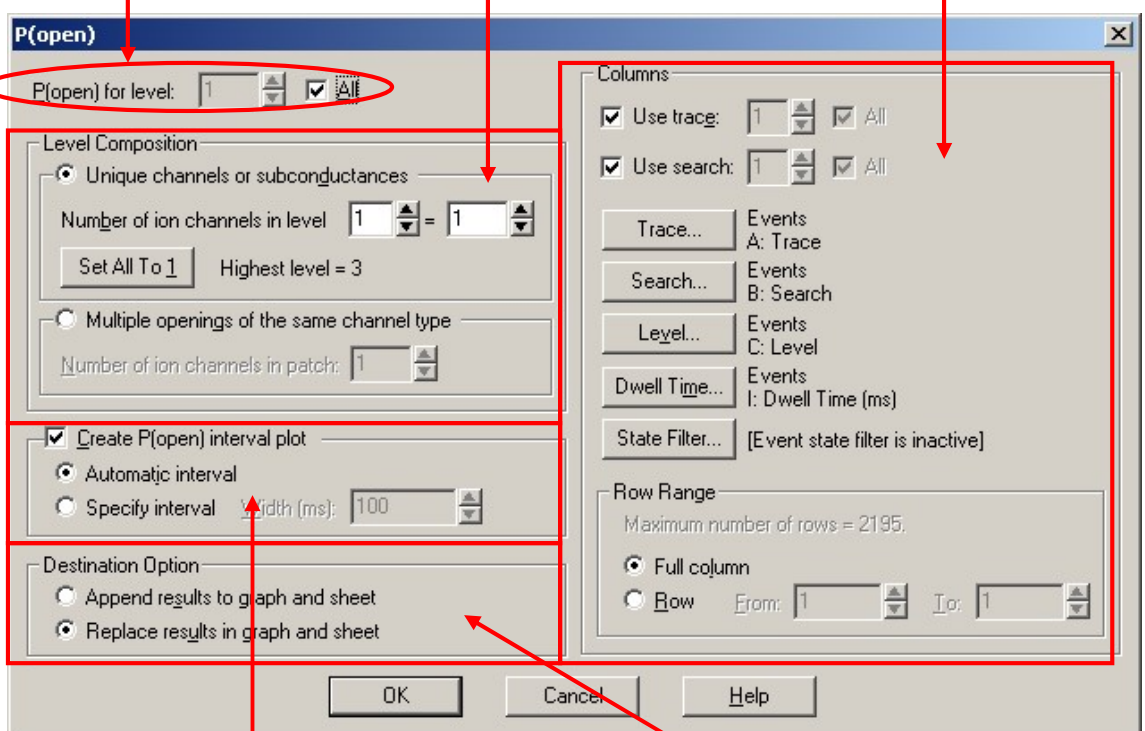
## 25.5. P(open)

Single-Channel の開確率を計算します。通常、Results ウィンドウの Event シートのデータを使用しますが、別シートのデータを使用することも可能です。また、解析結果は専用のシートがないため、空のシートにレポートされます。

解析するレベルを  
設定します。

解析手法を設定するセクショ  
ン

列データを設定するセクショ  
ン



インターバルプロットの描画  
を設定するセクション

レポートの出力方法を設定す  
るセクション

## Level Composition

解析手法を設定するセクションです。

各レベルの確率を  
計算する

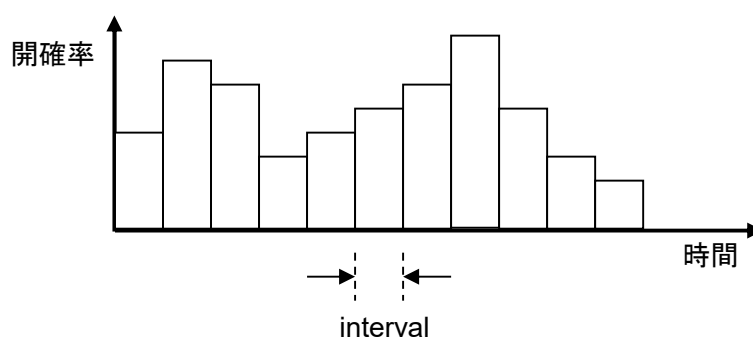
各レベルに存在する  
チャンネル数を  
設定する。特殊な  
チャンネルでない  
限りは1を設定し  
ます。

レベルを混合して  
確率を計算する

混合するチャンネル数を設定しま  
す。

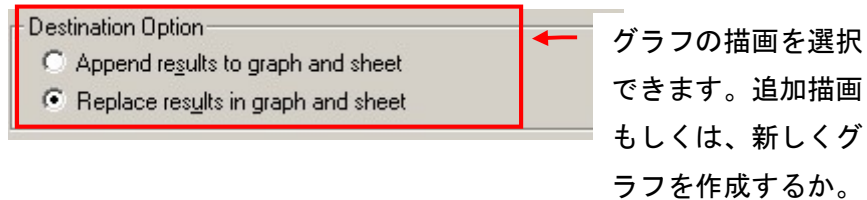
## Create P(open) interval plot

x 軸を時間、y 軸を開確率のインターバルプロットを作成する機能です。「Automatic interval」は自動で x 軸の幅を設定し、「Specify interval」は任意に設定することができます。



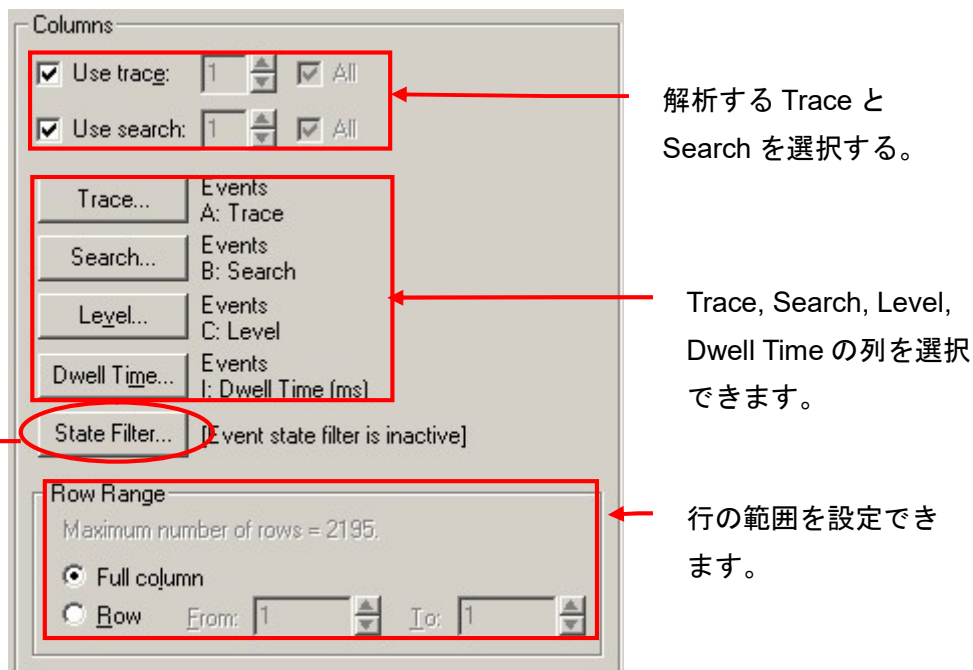
## Destination Option

レポートの出力方法を設定するセクションです。「Append results to sheet」を選択するとレポートが追加されます。「Replace results in sheet」を選択すると、レポートは書き直されます。

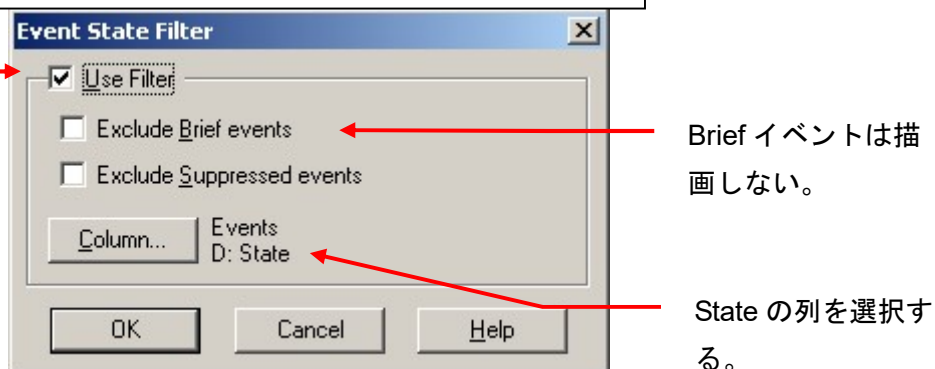


## Columns

列データを設定するセクションです。



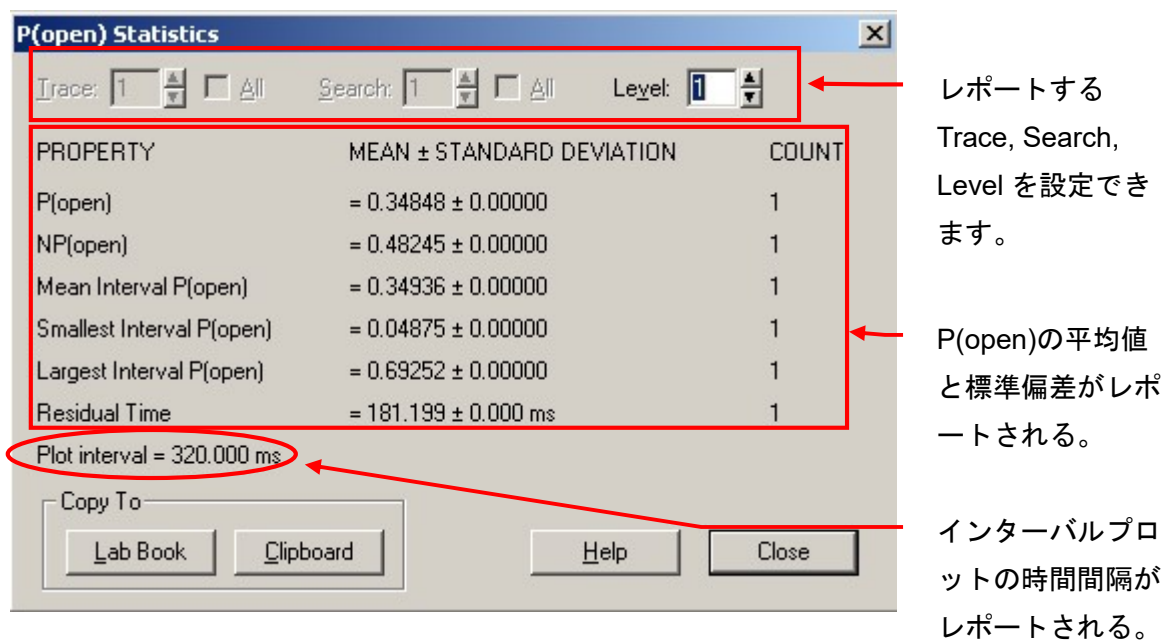
イベントのステータスフィルター設定できます。



# P(open)の解析結果

標準で計算されるデータ	
Trace	解析した Trace
Search	解析した Search
Level	解析した Level
Total Time	イベントデータの長さ
No. Events	イベントの数
No. Channels	The total number of ion channels in the patch, or in the level if you have chosen to treat each level as the opening of a unique channel-type. Values in this column are as entered by the user in the dialog.
P(o)	チャンネルの開確率（各レベル）
NP(o)	チャンネルの開確率（どのレベルでもよい。1, 2, 3, ...）
インターバルプロットを作成すると計算されるデータ	
Interval Width	開確率を計算する時間間隔
Interval P(o) Mean:	各時間間隔の開確率の平均値
Interval P(o) S.D.	各時間間隔の開確率の標準偏差
Smallest Interval P(o)	各時間間隔の開確率の最小値
Largest Interval P(o)	各時間間隔の開確率の最大値
No. Events in Plot:	インターバルプロットで使われるイベントの数
Residual Time	時間間隔が短すぎてインターバルプロットに含まれなかった時間。割り算のあまりみたいなものです。
Level Col	「Level」に設定した行データ
Dwell Col	「Dwell Time」に設定した行データ。
Sheet:	解析に使用した Result ウィンドウのシート
グラフデータ	
Interval Midpoint:	時間間隔の中央値
Lev [ ] P(o)	各時間間隔における開確率（各レベル）

## 25.6. P(open) Statistics



レポートする Trace, Search, Level を設定できます。

P(open)の平均値と標準偏差がレポートされる。

インターバルプロットの時間間隔がレポートされる。

解析項目	平均値±標準偏差
P(open)	開確率（各レベル）
NP(open)	開確率（どのレベルでもよい。1, 2, 3, ...）
Mean Interval P(open)	各時間間隔の開確率の平均値
Smallest Interval P(open)	各時間間隔の開確率の最小値
Largest Interval P(open)	各時間間隔の開確率の最大値
Residual Time	時間間隔が短すぎてインターバルプロットに含まれなかった時間

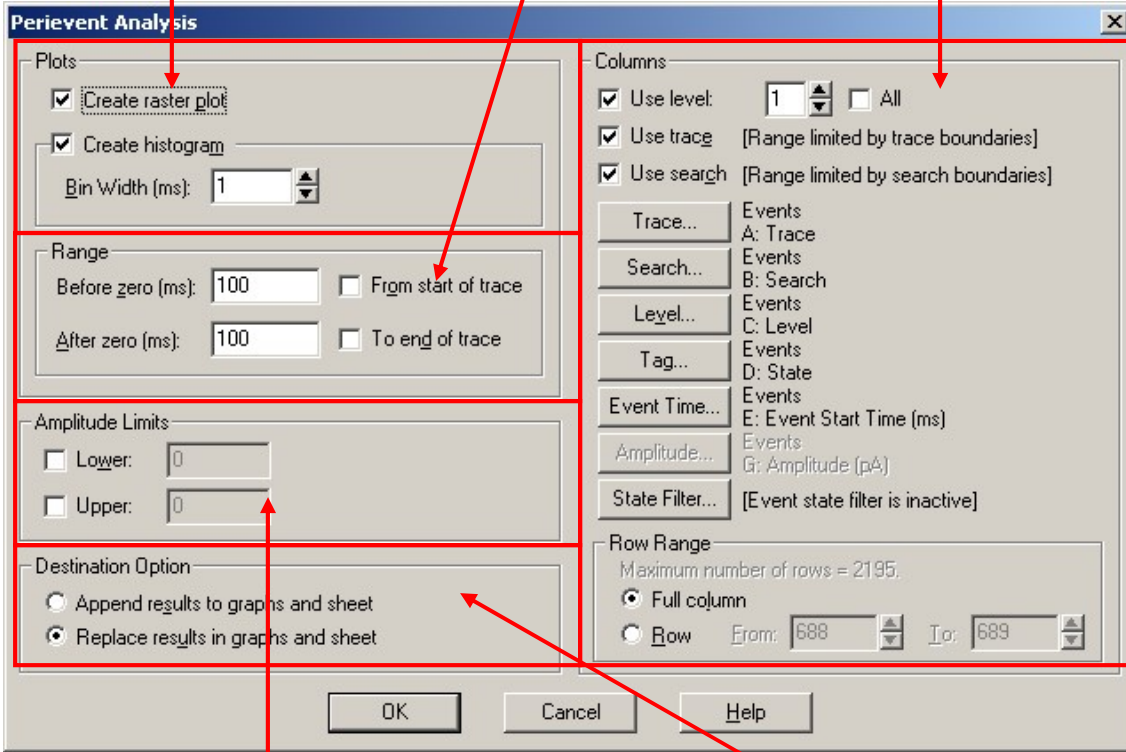
## 25.7. Perievent Analysis

「Central」イベントを基準にして、前後のイベントとの時間間隔を計算し、カウントを行います。通常、Results ウィンドウの Event シートのデータを使用しますが、別のシートのデータを使用することも可能です。また、解析結果は専用のシートがないため、空のシートにレポートされます。

グラフの設定をするセクション

解析する範囲を設定するセクション

列データを設定するセクション



The screenshot shows the 'Perievent Analysis' dialog box. Red arrows point from the labels above to specific sections of the dialog:


- グラフの設定をするセクション (Graph Settings Section):** Points to the 'Plots' section, which includes checkboxes for 'Create raster plot' and 'Create histogram', and a 'Bin Width (ms)' field set to 1.
- 解析する範囲を設定するセクション (Analysis Range Setting Section):** Points to the 'Range' section, which includes fields for 'Before zero (ms)' (100) and 'After zero (ms)' (100), and checkboxes for 'From start of trace' and 'To end of trace'.
- 列データを設定するセクション (Column Data Setting Section):** Points to the 'Columns' section, which includes checkboxes for 'Use level', 'Use trace', and 'Use search', and a list of columns (Events, A: Trace, B: Search, C: Level, D: State, E: Event Start Time (ms), G: Amplitude (pA)) with buttons for 'Trace...', 'Search...', 'Level...', 'Tag...', 'Event Time...', 'Amplitude...', and 'State Filter...'.
- 振幅のリミットを設定するセクション (Amplitude Limit Setting Section):** Points to the 'Amplitude Limits' section, which includes checkboxes for 'Lower' and 'Upper' with input fields set to 0.
- レポートの出力方法を設定するセクション (Report Output Method Setting Section):** Points to the 'Destination Option' section, which includes radio buttons for 'Append results to graphs and sheet' and 'Replace results in graphs and sheet'.

At the bottom of the dialog, there are buttons for 'OK', 'Cancel', and 'Help'.




## Central イベントの設定

Perievent Analysis を行うには「Central」イベントを設定する必要があり、Status を「Accept and Tag」に設定する必要があります。設定する方法は3つあります。

Event Detection のとき、「Accept and Tag」() で設定する。

Event Detection のとき、「Process Selected Events」() で再設定する。

Event シートを直接編集する。但し「Quite Event Detection」() で Event Detection を終了する必要があります。

Process Selected Events

☒ Change Tag  
☒ Tag  
☐ Untag

Event Sheet

rel	State	Even
0	A	
1	A	
0	A	
1	AT	
2	A	

## Plots

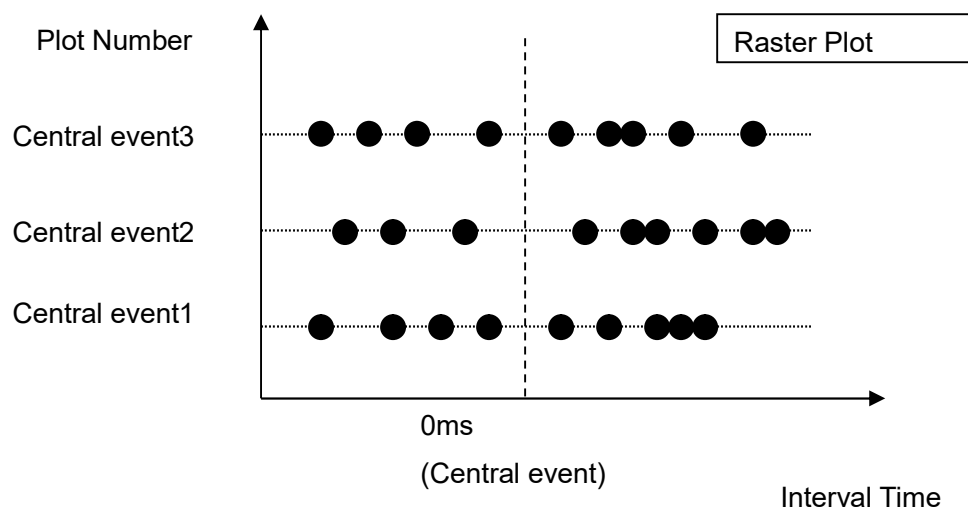
グラフの描画を設定するセクションです。「Create raster plot」をチェックにするとラスタープロットを作成します。「Create histogram」をチェックするとヒストグラムを作成します。「Bin width」にX軸の幅を設定します。

Plots

☒ Create raster plot

☒ Create histogram

Bin Width (ms):



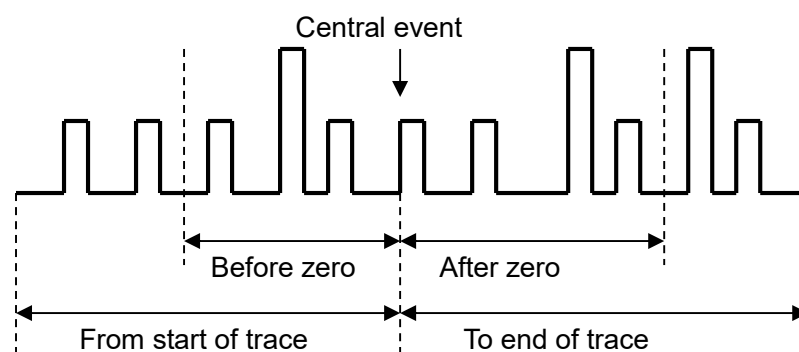
## Range

解析範囲を設定するセクションです。「Central」イベントから解析する前後の時間を設定します。「Before zero」に前の時間を設定します。「From start of trace」をチェックすると、Trace の始めからに設定されます。「After zero」に後の時間を設定します。「To end of trace」をチェックすると「Trace の終わりまで」に設定されます。

Range

Before zero (ms): 
☐ From start of trace

After zero (ms): 
☐ To end of trace



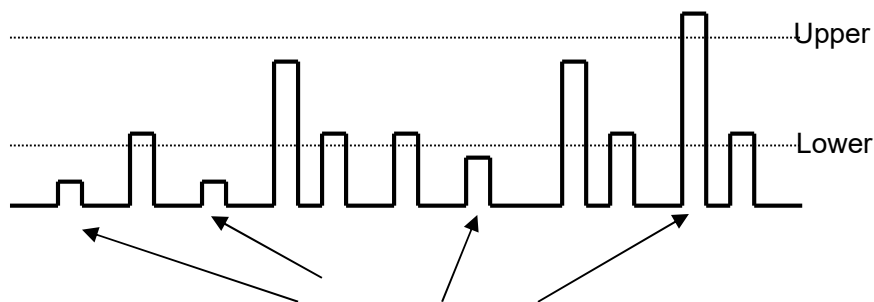
## Amplitude Limits

振幅のリミットを設定するセクションです。リミットを越えるイベントはカウントされません。「Lower」に最小値、「Upper」に最大値を設定します。

Amplitude Limits

☐ Lower:

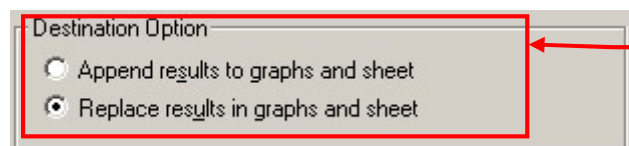
☐ Upper:



カウントされない

## Destination Option

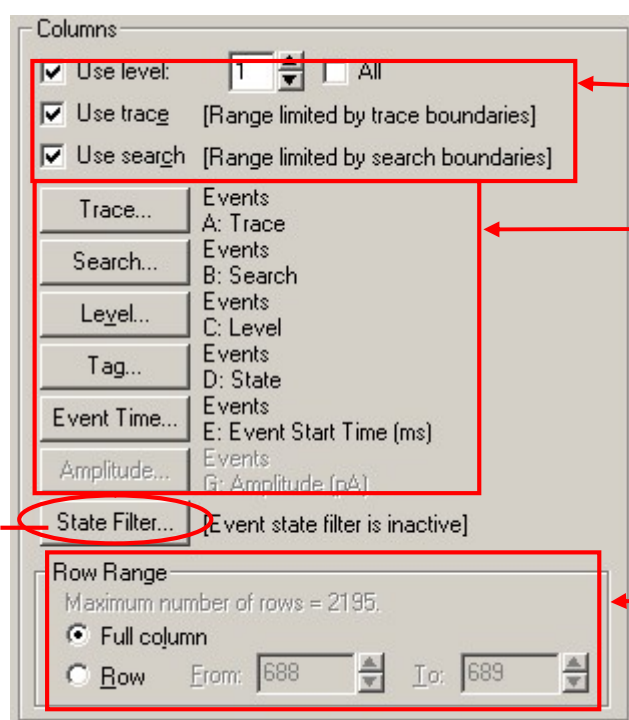
レポートの出力方法を設定するセクションです。「Append results to sheet」を選択するとレポートが追加されます。「Replace results in sheet」を選択すると、レポートは書き直されます。



グラフの描画を選択できます。追加描画もしくは、新しくグラフを作成するか。

## Columns

列データを設定するセクションです。

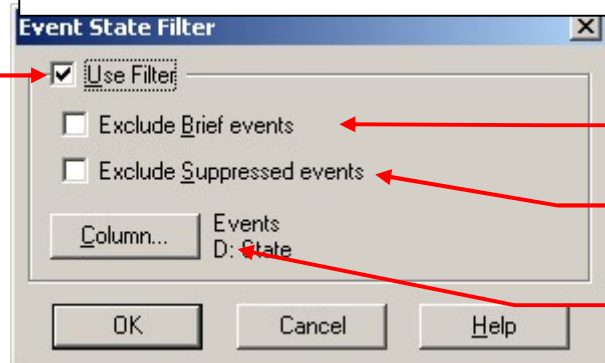


解析する Level, Trace, Search を選択する。

Trace, Search, Level, Tag, Event Tim, Amplitude の列を選択できます。Amplitude は Amplitude Limit を有効にすると選択できます。

行の範囲を設定できます。

イベントのステータスフィルターを設定できます。



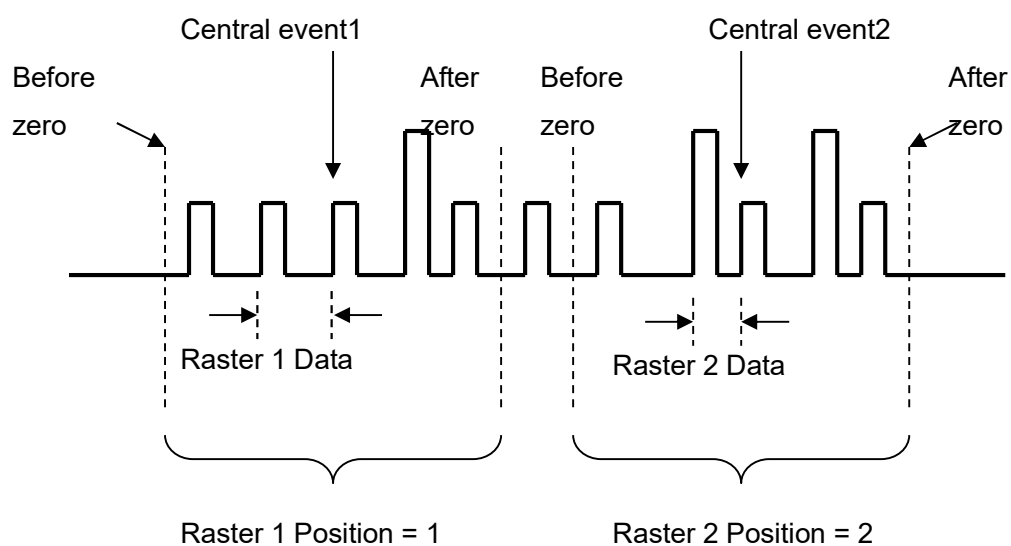
Brief イベントは描画しない。

Suppressed イベントは描画しない。

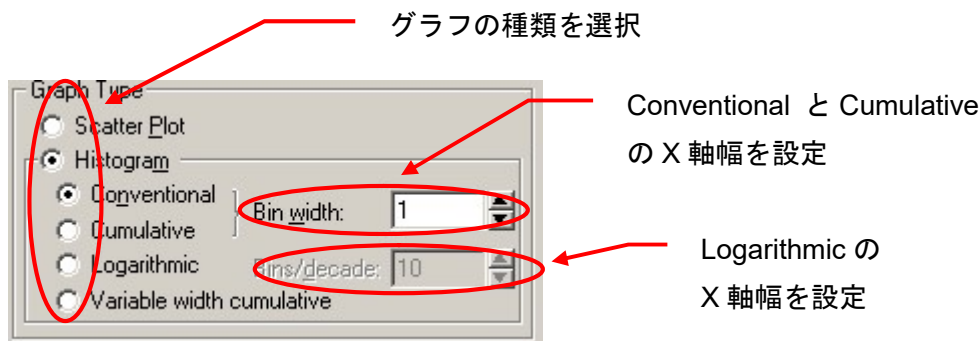
State の列を選択する。

# Perievent Analysis の解析項目

解析項目	内容
Bin Center [ ]	「Central」 イベントからの時間
Bin Count [ ]	時間間隔ごとのカウント数 複数の「Central」 イベントがあるときは、その合計のカウント数
Raster [ ] Data	「Central」 イベントとイベントの時間間隔
Raster [ ] Position	ラスター番号

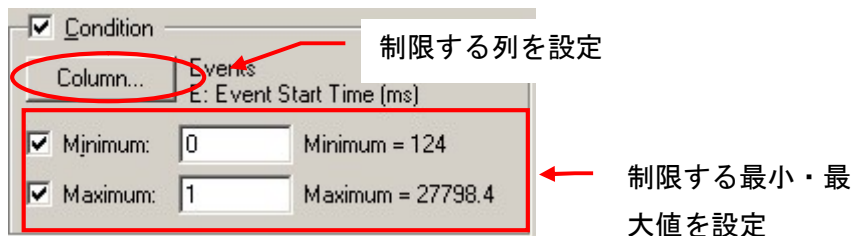


## 25.8. Fast Graph



Graph Type	内容
Scatter Plot	Y 軸：任意に設定 X 軸：任意に設定
Histogram Conventional	Y 軸：カウント数 X 軸：任意に設定 X 軸の幅：Bin width
Histogram Cumulative	Y 軸は累積したカウント数（左から右へ） X 軸：任意に設定 X 軸の幅：Bin width
Histogram Logarithmic	Y 軸はカウント数、X 軸は 10 底対数スケール X 軸：任意に設定 X 軸の幅：Bins/decade
Histogram Variable width cumulative	Y 軸：カウント数 X 軸：任意に設定 X 軸の幅：自動

列の範囲を制限する場合は「Condition」をチェックします。



Trace, Search, Level,の選択をします。

trace, search, level の項目を使用する場合はチェックする。

グラフ描画する  
trace, search, level  
を設定する。

trace, search, level  
の列を選択する。

X 軸と Y 軸を設定す  
る。Y 軸は Scatter  
Prot のときのみ。

イベントのステータスフィルターを設定できます。

Brief イベントは描画しない。  
Suppressed イベントは描画しない。

State の列を選択す  
る。

X 軸の範囲を設定で  
きます。

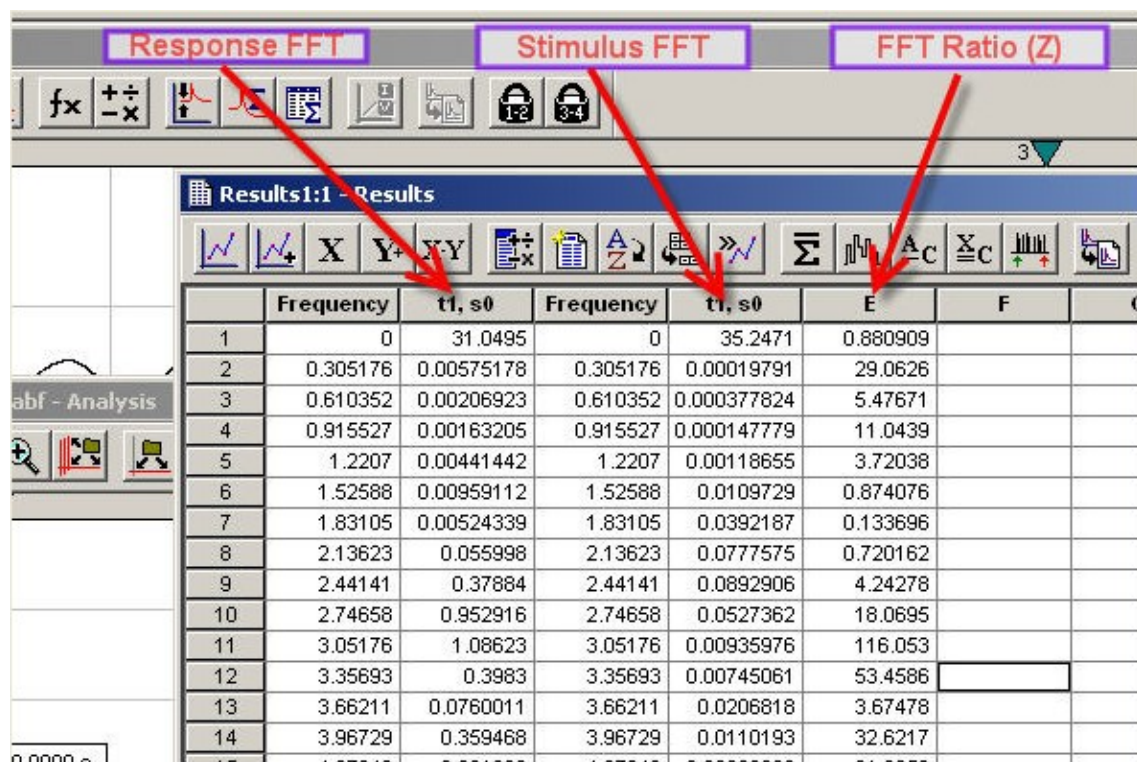
行の範囲を設定でき  
ます。

グラフの描画を選択  
できます。追加描画  
もしくは、新しくグ  
ラフを作成するか。



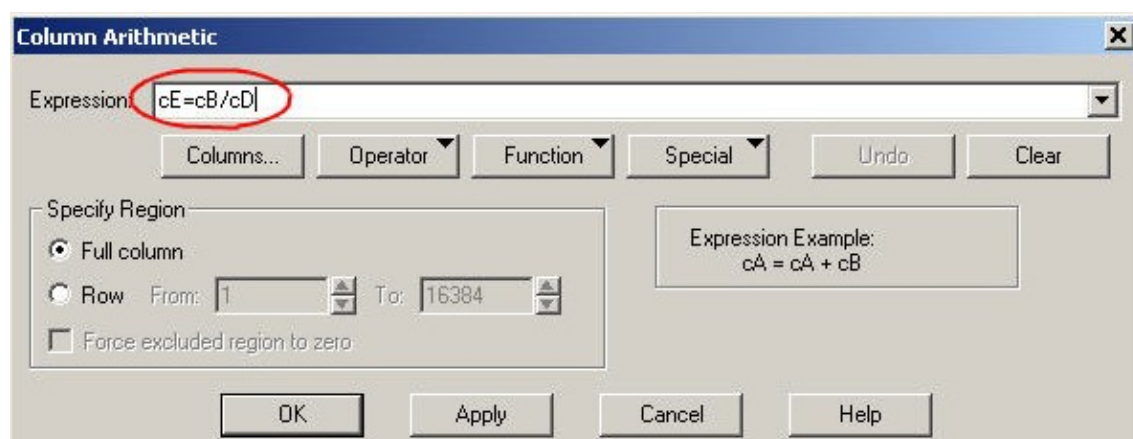
## 26. インピーダンス - 周波数グラフの作成

電流波形と電圧波形の周波数解析を行います。この例では A, B 行は電圧波形の FET、C, D 行は電流の FET、E 行は手順 3 で取得するインピーダンスの結果です。



	Response FFT		Stimulus FFT		FFT Ratio (Z)	
	Frequency	t1, s0	Frequency	t1, s0	E	F
1	0	31.0495	0	35.2471	0.880909	
2	0.305176	0.00575178	0.305176	0.00019791	29.0626	
3	0.610352	0.00206923	0.610352	0.000377824	5.47671	
4	0.915527	0.00163205	0.915527	0.000147779	11.0439	
5	1.2207	0.00441442	1.2207	0.00118655	3.72038	
6	1.52588	0.00959112	1.52588	0.0109729	0.874076	
7	1.83105	0.00524339	1.83105	0.0392187	0.133696	
8	2.13623	0.055998	2.13623	0.0777575	0.720162	
9	2.44141	0.37884	2.44141	0.0892906	4.24278	
10	2.74658	0.952916	2.74658	0.0527362	18.0695	
11	3.05176	1.08623	3.05176	0.00935976	116.053	
12	3.35693	0.3983	3.35693	0.00745061	53.4586	
13	3.66211	0.0760011	3.66211	0.0206818	3.67478	
14	3.96729	0.359468	3.96729	0.0110193	32.6217	

インピーダンスの計算は電圧波形の FFT (V) と電流波形の FFT(I) の除算で計算できます。Analyze > Column Arithmetic を使用して、E 行にインピーダンスを計算します。



**Column Arithmetic**

Expression: cE=cB/cD

Columns... Operator Function Special Undo Clear

Specify Region:

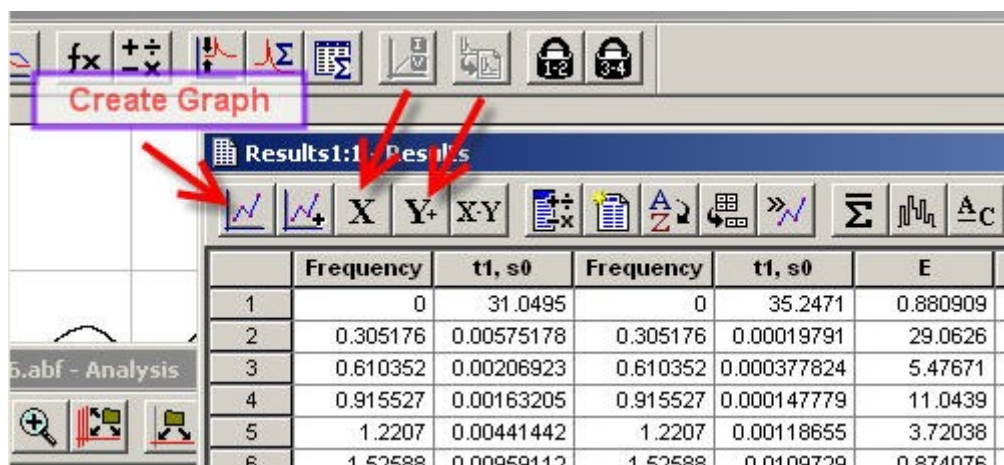
- ☒ Full column
- ☐ Row From: 1 To: 16384
- ☐ Force excluded region to zero

Expression Example:  
cA = cA + cB

OK Apply Cancel Help

Results ウィンドウの Graph ボタンを使用して、インピーダンス - 周波数グラフをプロットします。

- E 列を選択して、"X"ボタンをクリックします。
- A か C 列を選択して、"Y+"ボタンをクリックします。
- Create Graph ボタンをクリックします。
- グラフを右クリックして Properties を選択し、Y 軸のグラフラベルを Impedance(Z)に変更します。



**27. お問い合わせ**

本社

〒464-0850

愛知県名古屋市千種区今池 3 丁目 40-4

TEL : 052-731-8000

FAX : 052-731-5050

E-mail : support@intermedical.co.jp （テクニカルサポート）

E-mail : patch@intermedical.co.jp （販売サポート）