

Multiclamp 700B

日本語マニュアル

株式会社インターメディカル

目次

1. イントロダクション	4
2. インストールと基本操作	6
2.1. インストール	6
2.1.1. 付属品	6
2.1.2. MultiClamp 700B の接続	8
2.1.3. MultiClamp 700B の認識	8
2.2. ファンクションチェック	10
2.2.1. MultiClamp 700B の通信	10
2.2.2. MultiClamp 700B Commander のパラメータ設定	10
2.2.3. MultiClamp 700B Commander の設定ファイル	12
2.2.4. ノイズテスト	12
2.2.5. キャリブレーション	13
3. チュートリアル	15
3.1. Tutorial 1 - Electrode in the BATH: Voltage Clamp	15
3.2. Tutorial 2 - Electrode in the BATH: Current Clamp	16
3.3. Tutorial 3 - Giga Seal Configuration	17
3.4. Tutorial 4 - Whole-cell Configuration: Voltage Clamp	20
3.5. Tutorial 5 - Whole-Cell Configuration: Current Clamp	24
3.6. Tutorial 6 - Whole-Cell Configuration: Automatic Mode Switching	29
4. リファレンス	32
4.1. パネルの説明	32
4.1.1. フロントパネル	32
4.1.2. リアパネル	33
4.2. 画面の説明	35
4.3. ツールボタン	36
4.4. Option ツール	37
4.4.1. General タブ	37
4.4.2. Gains タブ	40
4.4.3. Auto タブ	42
4.4.4. Audio タブ	45
4.4.5. Quick Select タブ	46
4.4.6. Advanced タブ	47
4.4.7. About タブ	48

4.5.	メータ表示とモード設定	49
4.6.	ボルテージクランプモード設定	50
4.7.	カレントクランプモードの設定	57

1. イントロダクション

Multiclamp 700B は電気生理と電気化学のための、コンピュータ制御の微小電極増幅器です。シングチャンネルとホールセルのボルテージパッチクランプ、パッチクランプと微小電極の高速カレントクランプ、イオン選択電極の記録ができ、オプションのヘッドステージを使用して、アンペロメトリー・ボルタンメトリー、バイレイヤーの記録など有能で多用途な増幅器です。

Multiclamp 700B は2つのプライマリーヘッドステージ(CV-7 ヘッドステージ)を使用可能で、加えて2つの補助ヘッドステージ(オプションの HS-, VG-ヘッドステージ)を使用することができます。各 CV-7 ヘッドステージはボルテージクランプ専用の電流-電圧コンバータと、カレントクランプ専用のボルテージフォロワを搭載しています。よって、ユーザが低ノイズのパッチクランプ記録と高速カレントクランプ記録を切り替えることができます。また、オプションの CV-7 ヘッドステージを使用して、バイレイヤー記録も可能です。

Multoclamp 700B は従来の Axon Instruments の増幅器と同様に、アナログ入出力装置です。よって、BNC タイプの入出力端子を使用して、デジタルインターフェース、オシロスコープ、その他記録機器と接続して通信します。フロントパネルにはつまみとスイッチが全くありません。代わりに、Multiclamp 700B Commander を使用し操作され、コンピュータ上で動作し、USB ケーブルで通信します。

コンピュータ制御はスマートな自動機能を可能にします。例えば、容量補正、ブリッジバランス、オフセットなどです。テレグラフ情報はソフトウェアメッセージで通信され、ゲイン、フィルター、容量、入出力スケールリング、記録モードを含みます。

Multiclamp 700B Commander のインターフェースは記録ソフトウェアと完全に独立しています。よって、様々なデータ記録パッケージと一緒に使用することが可能です。例えば、Digidata 1200A 以降のデジタイザと pCLAMP7 以降のソフトウェアに対応します。ただし、テレグラフ機能は pCLAMP9 以降でサポートします。サードパーティーソフトウェアについては、Web ページの Development Kit を参照して下さい。

増幅器のソフトウェア制御がいくつかのユーザにとって使用しにくい機能だと認識しています。コンピュータ上のマウスで制御したくない場合は、オプションの Soft Panel デバイスで Multiclamp 700B を制御できます。Soft Panel は Multiclamp 700B Commander の拡張ハードウェアです。マウスやキーボード制御をつまみやボタンで置き換えることが可能です。

Multoclamp 700B は洗練された増幅器です。経験豊かな研究者も経験がない研究者も、このマニュアルを完全に読み、機器に慣れることをお奨めします。以下の章のファンクションチェックとチュートリアルでは、Patch-1U モデルセルによる抵抗と RC 回路を使用して、電極、ギガシール、ホールセル記録を模擬し、段階的に使用方法について解説します。

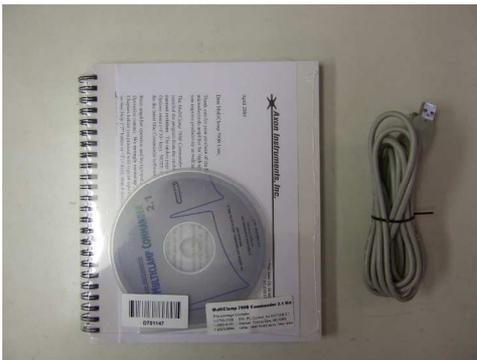
2. インストールと基本操作

2.1. インストール

2.1.1. 付属品



- 日本国内専用 AC 電源ケーブル



- Multiclamp Commander 700B ソフトウェア
Multiclamp 700B を制御するソフトウェアです。
- USB2 ケーブル
PC と Multiclamp 700B を接続するための USB2 ケーブルです。



- CV-7B ヘッドステージ(2個)
Multiclamp700B に接続するヘッドアンプです。
- 1mm-2mm ピンコード(2本)
PATCH 1U モデルセルと CV-7B ヘッドステージの GND を接続するためのコードです。
- 1mm(2本)
CV-7B ヘッドステージの GND 端子に接続できます。リファレンス用などご自由にお使い下さい。



- PATCH 1U モデルセル(2 個)
抵抗とコンデンサを内蔵した模擬細胞で、動作チェックなどに使用します。
- 2mm-2mm ピンコード(2 本)
特に必要ありません。ご自由にお使い下さい。



- ベースプレートと六角ドライバ(2 個)
マニピュレータなどに CV-7B ヘッドステージ取り付けのためベースプレートと六角ドライバです。



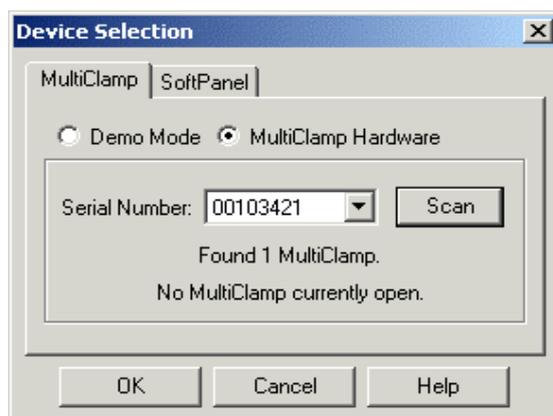
- 電極ホルダー(2 個)
CV-7B ヘッドステージに電極を取り付けるための電極ホルダーです。

2.1.2. MultiClamp 700B の接続

1. Multiclamp 700B のリアパネルにある USB コネクタと PC の USB ポートを USB ケーブルで接続します。
2. CV-7 ヘッドステージ をリアパネルにある D-SUB コネクタの#1 と#2 にそれぞれ接続します。電源を入れる前に接続して下さい。また、リアパネルの D-SUB コネクタには白色のキャップが付いています。これは接続ミスを防止するために取り付けられています。
3. 電源ケーブルを接続し、電源スイッチを”I”にして電源を On にします。フロントパネルの POWER LED が点灯、各チャンネルの VOLTAGE CLAMP LED が点灯します。Windows は自動的に新しい Device として認識します。
4. オプションの Soft Panel を使用する場合は、別の USB ポートに Soft Panel を接続します。

2.1.3. MultiClamp 700B の認識

1. CD もしくは Web サイトからダウンロードした Multiclamp 700B Commander のインストーラーを起動します。インストールが完了するとデスクトップに MultiClamp 700B のショートカットが作成されます。
2. MultiClamp 700B のアイコンをダブルクリックして MultiClamp 700B Commander を起動します。最初に MultiClamp 700B Commander のアップデートを行うか聞かれます。もし、CD からインストールした場合は、最新版をダウンロードすることをお勧めします。
3. 次に Device Selection ダイアログが開きます。MultiClamp Hardware を選択して Scan ボタンをクリックします。認識されると MultiClamp 700B のシリアル番号が表示されます。もし、認識されない場合は別の USB ポートで試して下さい。



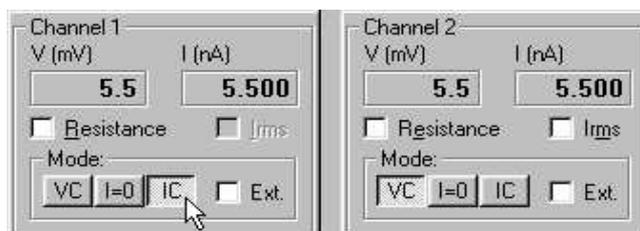
4. オプションの Soft Panel を使用する場合は、Soft Panel タブをクリックして Scan ボタンをクリックします。認識したら、OK ボタンをクリックして完了です。

5. MultiClamp 700B Commander のウィンドウのタイトルバーに MultiClamp 700B のシリアル番号が表示されます。SoftPanel が認識された場合は Soft Panel アイコン () がグレー表示からカラー表示になります。

2.2. ファンクションチェック

2.2.1. MultiClamp 700B の通信

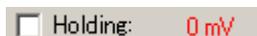
1. MultiClamp 700B のフロントパネルの STATUS LED が点滅するのを確認して下さい。これは、MultiClamp 700B Commander から MultiClamp 700B へのポーリングを示しています。
2. Channel 1 Mode と Channel 2 Mode の Voltage Clamp (VC) と Current Clamp (I=0, IC) のボタンを押して、モードを切り替えて下さい。MultiClamp 700B のフロントパネルにある VOLTAGE CLAMP と CURRENT CLAMP の LED が連動して点灯するのを確認して下さい。



2.2.2. MultiClamp 700B Commander のパラメータ設定

グリッド制御

1. Holding の電圧パラメータをマウスで左ドラッグし、マウスを上下に移動させて下さい。1mV 単位で数値が変化することを確認して下さい。ホイールマウスの場合は、ホイールを動かして数値を変化することもできます。



2. Shift キーを押しながら Holding の電圧パラメータをマウスで左ドラッグし、マウスを上下に移動させて下さい。5mV 単位で数値が変化することを確認して下さい。
3. Ctrl キーを押しながら Holding の数値パラメータをマウスで左ドラッグし、マウスを上下に移動させて下さい。20mV 単位で数値が変化することを確認して下さい。
4. Cp Fast の黒点ボタンをマウスの左ボタンでドラッグし、マウスを上下に移動させて下さい。キャパシタンスパラメータ(pF)が変化することを確認して下さい。さらに、マウスを左

右に移動させて下さい。時定数パラメータ(τ)が変化することを確認して下さい。

Cp Fast: 0.000 pF  0.500 μs

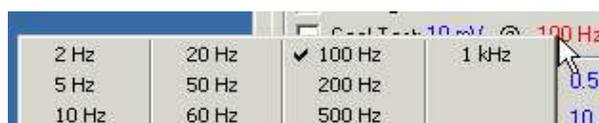
直接入力

5. Holding の数値パラメータをマウスの左ボタンでダブルクリックして下さい。直接に数値パラメータを入力できることを確認して下さい。

Holding:

リスト選択

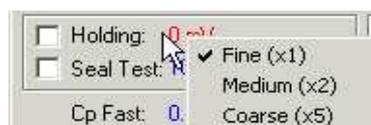
6. Seal Test の周波数パラメータを右クリックして下さい。リスト選択ができることを確認して下さい。



7. Primary Output (もしくは Secondary Output) フィールドを右クリックして下さい。出力信号のリスト選択ができることを確認して下さい。



8. Holding の数値パラメータをマウスで右クリックして下さい。グリッド設定の感度を設定できることを確認して下さい。



2.2.3. MultiClamp 700B Commander の設定ファイル

1. MultiClamp 700B Commanderを任意に設定し、Save Setting ボタン()を押して下さい。Save Setting ダイアログでファイル名を入力して設定を保存して下さい。ファイル拡張子は MCC です。
2. Option ボタン()を押し、Quick Select タブを選択して下さい。Browse ボタンを押して MCC ファイルを選択して下さい。
3. MultiClamp Commander パネルに戻り、右上にある Quick Select ボタン()にマウスを移動させて下さい。MCC ファイル名がポップアップで表示されます。Quick Select ボタンを押して下さい。設定した MCC ファイルが読み込まれることを確認して下さい。

2.2.4. ノイズテスト

1. CV-7 ヘッドステージの入力を開放して下さい。
2. CV-7 ヘッドステージをアルミ缶やアルミホイルでシールドして、アルミ缶やアルミホイルをグラウンドに落として下さい。
3. 場合によっては、シグナルグラウンドとケースグラウンドを接続して下さい。
4. Irms チェックボックスをチェックして下さい。


5. Option ボタン()の Gain タブからフィードバック抵抗を変更して、各抵抗における Irms を測定して下さい。それらの値が許容範囲内であることを確認して下さい。

フィードバック抵抗	ノイズ
50MΩ	2.0 pArms
500MΩ	0.8 pArms
5GΩ	0.5 pArms
50GΩ	0.15 pArms

6. 1~5 をもう1つのヘッドステージで行って下さい。

2.2.5. キャリブレーション

1. フロントパネルの SCALED OUTPUT もしくは SCOPE OUTPUT をオシロスコープに接続して下さい。
2. オシロスコープはリアパネルの SYNC OUTPUT と接続して同期して下さい。
3. Reset to Program Default ボタン()を押して、MultiClamp 700B をデフォルト設定にして下さい。

50G Range

4. Option ボタンの Gain タブにおいて、Voltage Clamp セクションのフィードバック抵抗を 50G Ω に設定して下さい。MultiClamp 700B Commander のメイン画面に戻して下さい。
5. CV-7 ヘッドステージに PATCH-1U モデルセルの PATCH を接続して下さい。
6. Seal Test のチェックボックスをチェックし、振幅 100mV、周波数 50Hz に設定して下さい。

Seal Test: 100 mV 50 Hz

7. Auto Cp Fast ボタンを押して、電極容量のトランジェントをキャンセルして下さい。

Cp Fast: 3.331 pF 1.00 μ s

8. オーバーシュートの立ち上がり時間が 50 μ s 以下であることを確認して下さい。また、矩形波の振幅が 500mVp-p \pm 50mV であることを確認して下さい。

5G Range

9. Option ボタンの Gain タブにおいて、Voltage Clamp セクションのフィードバック抵抗を 5G Ω に設定して下さい。MultiClamp 700B Commander のメイン画面に戻して下さい。
10. Auto Cp Fast ボタンを押して下さい。
11. 矩形波の振幅が 50mVp-p \pm 5mV であることを確認して下さい。

500M Range

12. Option ボタンの Gain タブにおいて、Voltage Clamp セクションのフィードバック抵抗を 500M Ω に設定して下さい。MultiClamp 700B Commander のメイン画面に戻して下さい。
13. Seal Test のチェックボックスをチェックし、振幅 25mV に設定して下さい。
14. CV-7A ヘッドステージに PATCH-1U モデルセルの CELL を接続して下さい。
15. Auto Whole Cell ボタンと Auto Cp Fast ボタンを押して下さい。
16. 矩形波の振幅が約 25mVp-p であることを確認して下さい。

50M Range

17. Option ボタンの Gain タブにおいて、Voltage Clamp セクションのフィードバック抵抗を 50M Ω に設定して下さい。MultiClamp 700B Commander のメイン画面に戻して下さい。
18. Output Gain を 10 に設定して下さい。



Output Gain: 10

19. Auto Whole Cell ボタンと Auto Cp Fast ボタンを押して下さい。
20. 矩形波の振幅が約 25mVp-p であることを確認して下さい

3. チュートリアル

3.1. Tutorial 1 - Electrode in the BATH: Voltage Clamp

1. Multiclamp Comannder の Reset to Program Defaults をクリックして、設定をリセットして下さい。また、F6 キーで設定をリセットできます。

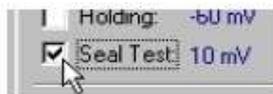


Multiclamp 700B は V-Clamp モードに設定され、フロントパネルの The Primary Output BNC は Membrane Current (0.5V/nA)に設定されているはずですが。

2. Channel 1 のヘッドステージにモデルセルの BATH を接続し、1mm-2mm コードをヘッドステージとモデルセルに接続して下さい。ヘッドステージはアルミホイールか金属ボックスでシールドして下さい。
3. フロントパネルの Channel 1 の Primary Output をオシロスコープに接続して下さい。オシロスコープを 0.5V/division, 2ms/division, トリガーは Line に設定して下さい。
4. Pipette Offset ボタンをクリックして、オシロスコープの波形を確認して下さい。簡単に電流値をゼロにすることができます。このとき、Pipette Offset ボタンはグレー表示になりロックされます。



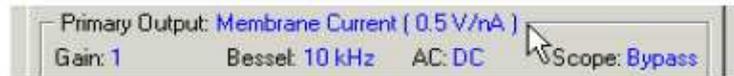
5. Seal Test チェックボックスをチェックして下さい。



オシロスコープに周期的なパルス波形を確認できます。このとき、リアパネルの SYNC Output からトリガー信号が出力されています。Seal Test のパルスの振幅を

10mV に設定して下さい。オシロスコープには 0.5V が確認できます。

10MΩの BATH 抵抗に 10mV が印加され、電流 1nA が流れます。Primary Output のスケールは Membrane Current 0.5V/nA なので 0.5V が出力されます。



Multiclamp Commander の Channel 1 のメータの下にある Resistance チェックボックスをチェックすると、Channel 1 のメータにモデルセルの 10MΩが確認できます。



6. Seal Test の振幅と周波数をマウスで変更することができるか確認して下さい。



3.2. Tutorial 2 - Electrode in the BATH: Current Clamp

1. Tutorial 1 のステップ 1-3 を行って下さい。
2. Multiclamp Commnader の Mode で IC ボタンをクリックして下さい。タブが I-Clamp に変わり、Multiclamp700B のフロントパネルの Current Clamp ランプが点灯します。



3. Pipette Offset ボタンをクリックします。Tutorial 1 のステップ4と同様になります。
4. Tuning チェックボックスをチェックして下さい。



オシロスコープに周期的なパルス波形が確認できます。Tuning の振幅は 1nA に設定して下さい。オシロスコープには 100mV が確認できます。

10M Ω の BATH 抵抗に 1nA が流され、10mV が発生します。Primary Output のスケールリングは Membrane Potential 10mV/mV なので 100mV が出力されます。

Channel 1 のメータの下にある Resistance チェックボックスをチェックすると、Channel 1 のメータにモデルセルの 10M Ω が確認できます。

5. Tuning の振幅と周波数をマウスで変更することができるか確認して下さい。

3.3. Tutorial 3 - Giga Seal Configuration

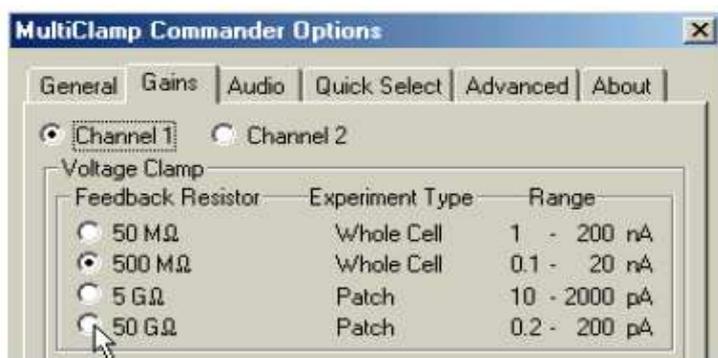
1. Tutorial 1 のステップ 1-3 を行って下さい。また、ヘッドステージにはモデルセルの PATCH を接続して下さい。
2. オシロスコープで Primary Output を確認して下さい。約 5mV peak-to-peak のノイズが確認できるはずです。Primary Output のスケールリングが 0.5V/nA なので 10pA の電流が流れていることとなります。
3. Option toolbar ボタンを押します。



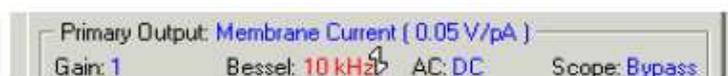
Channel 1 ヘッドステージのフィードバック抵抗はデフォルトで 500M Ω に設定されています。

す。ヘッドステージのフィードバック抵抗の値を大きくすると、ヘッドステージのゲインが大きくなりより小さい信号を測定することができます。

科学的に証明されていませんが、経験上、フィードバック抵抗の値が大きいとノイズは小さくなります。よって、大きい値のフィードバック抵抗は Patch 測定で使用されます。50GΩを選択して下さい。

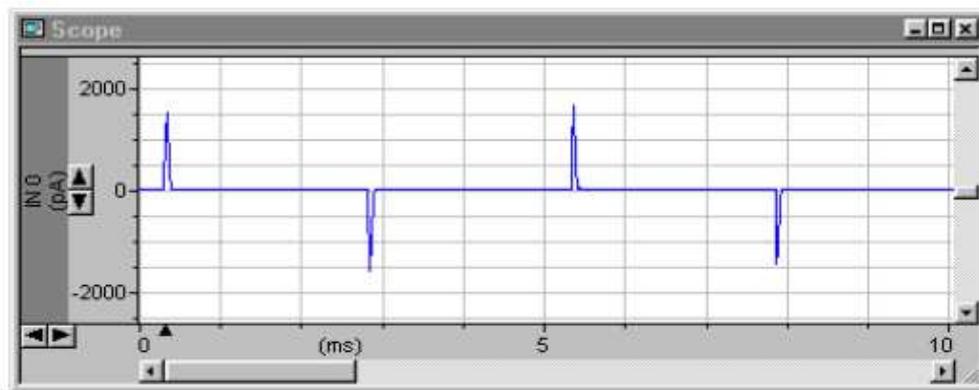


4. オシロスコープに約 150mV が確認できます。このとき、Primary Output のスケーリングは 0.05V/pA となっているので、ノイズは 3pAp-p となります。変更前と比較して3分の1に縮小されます。ですが、数 pA のシングルチャンネルの測定には、大きなノイズです。小さい電流値をはっきり見るには、Primary Output をフィルターに通す必要があります。
5. Primary Output のフィルターは Muliclamp Commander の Bessel:10kHz から選択できます。2kHz に設定すると、Primary output の peak-to-peak ノイズを約 0.5pA に縮小できます。これは、ほとんどのシングルチャンネル測定に十分な値です。



6. このセクションでは MultiClamp Commander の3つの調整パラメータを紹介します。(Output Gain, AC, Scope)
 - Output Gain は Primary Output の出力ゲインを調整します。フィードバック抵抗のレンジ変更とは異なり、ノイズ振幅の縮小には効果がありません。
 - AC は Primary Output をハイパスフィルタに通します。これは DC オフセットや低周波数を削除するのに使用します。

- ・ Scope は MultiClamp700B のフロントパネルの SCOPE BNC に対してフィルターを有効にします。初期設定では、SCOPE BNC は Primary Output と同じ信号が出力されます。しかし、状況によって SCOPE Output 信号のフィルターを Primary Output 信号よりさらにフィルタリングしたいときなどに使用できます。
7. フィードバック抵抗を $500\text{M}\Omega$ に設定し、Bessel filter 10kHz に設定して下さい。Gain は 1 に設定します。Seal Test の周波数を 200Hz に設定します。Seal Test チェックボックスをチェックします。オシロスコープには 1V 程度、もしくはもっと大きなトランジェントが確認できます。



このトランジェントはモデルセルの 5pF を充電している結果で、パッチ電極の容量を再現しています。実際の実験ではこれらのトランジェントは好まれません。というのは、トランジェントが増幅器の測定範囲を飽和して、測定電流にひずみを引き起こす可能性があるからです。これらのトランジェントは、Multiclamp700B Commander のメインウィンドウの Cp Fast と Cp Slow を調整して除去することができます。

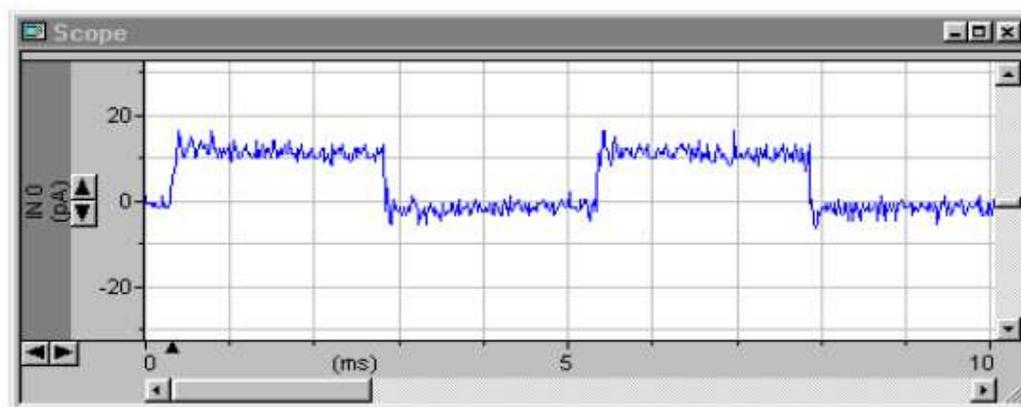
8. マウスカーソルを Cp Fast ボタンの上に移動します。カーソルは十字カーソルに変わります。Shift キーを押しつつ、マウスを垂直と平行にスライドさせます。すると、時間定数と容量の値がそれぞれ変化します。また、マウスカーソルを各パラメータの上に移動して直接入力することで、個別に調整することができます。



オシロスコープ上には、振幅とわずかなトランジェントの減衰変化を確認することができます。Cp Fast capacitance が 5pF に向かうとともに、トランジェントは小さくなります。

9. トランジェントを除去する他の方法として、Cp Fast Auto ボタンを押すことで可能です。約 5pF と 1 μ s の最適値を探してくれます。しかし、実際の実験では、マニュアル操作で最適に除去する必要があります。
10. 時には PATCH 状態でも、Fast トランジェントを除去した後に、より遅い容量トランジェントが見られることがあります。これは Cp Slow で補正することができます。遅いトランジェントが小さくなります。
11. すでに、容量トランジェントは補正してあります。Multiclampo700B がオーバーローしない場合は Seal Test パルスの振幅を増加することができます。Seal Test の振幅を 10mV から 100mV に設定します。ダブルクリックして 100 と入力して下さい。オシロスコープの表示がクリアされて、振幅が約 5mV になるはずですが。

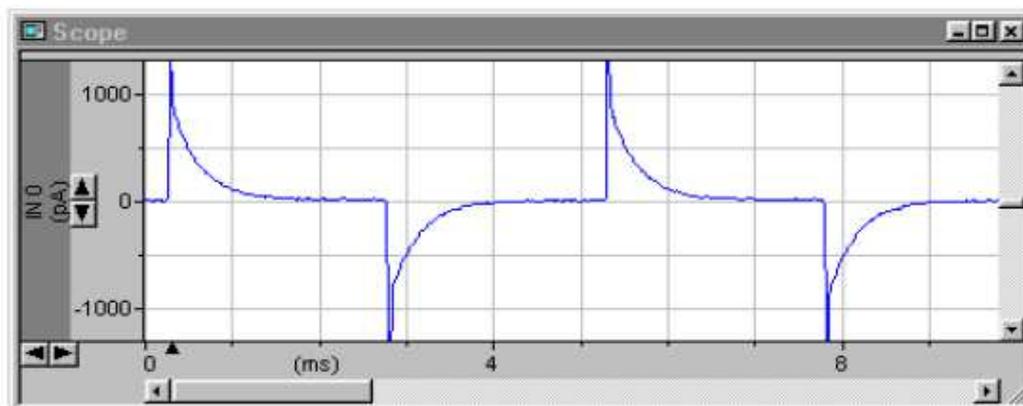
Primary Output の Membrane Current gain は 0.5V/nA に設定してあれば、10pA に相当します。よって、モデルセルの抵抗は $R=V/I=100\text{mV}/10\text{pA}=10\text{G}\Omega$ と計算されます。Resistance チェックボックスをチェックするとそれが確認できます。



3.4. Tutorial 4 - Whole-cell Configuration: Voltage Clamp

1. Multiclamp Commander をデフォルトにリセットして、シールテスト周波数を 200Hz に設定して下さい。モデルセルの CELL を CV-7B ヘッドステージに接続して下さい。
2. Seal Test チェックボックスをチェックして下さい。2ms を超えると減衰する 0.5V のトラン

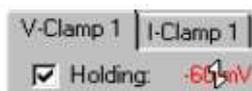
ジェントが Primary Output に現れます。(オシロスコープが Multi clamp700B の SYNCN output を使用して同期すれば、これらを再現するのは簡単です。)



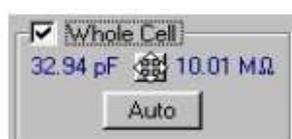
トランジェントの速い成分は擬似電極(5pF)を反映し、遅い成分は擬似容量(33pF)を反映しています。さらに、10mV のシールテストのステップによって、トランジェントは 20pA に相当する 10mV の水平域まで減衰します。

これはモデルセルの入力抵抗、 $10\text{mV}/20\text{pA}=500\text{M}\Omega$ の抵抗が引き起こしているものです。これはメータの下の Resistance チェックボックスをチェックすることによって確認できます。

3. 実際の細胞では、Whole-Cell モードに行く前に、Holding 電圧を設定します。Holding チェックボックスをチェックして、Holding 電圧を設定します。Glider control によって負の Holding 電圧を印加します。(例えば-60mV)



4. 速い要素のトランジェントをキャンセルしたいことがあります。Whole Cell チェックボックスをチェックし、容量補正(pF)と直列抵抗(MΩ)のパラメータを調整するためのトグルボタンを使用します。マウス操作の効果を促進させるには、シフトキーを押しながら調整します。



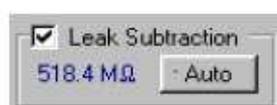
遅い反応は完全に補正できるでしょう。最適値としては 33pF(モデルセル容量)と 10M Ω (モデルセル電極抵抗)付近になるはずです。

遅いトランジェントをキャンセルした後に小さくて速いトランジェントを再現することがあります。Cp Fast Auto ボタンを押すことによって削除することができます。

5. 遅いトランジェントをキャンセルする代替的方法としては Auto ボタンがあります。試してみましよう。glider control で 100pF と 100M Ω のように不適切な値に設定した後、Auto ボタンを押すと、33pF と 10M Ω 付近の数値に変更してくれます。実際の実験においては、遅いトランジェントを適切にキャンセルするためにはマニュアルで調整することが必要です。
6. Cp Fast の Auto ボタンを押して下さい。トランジェントの速い要素をキャンセルしてください。

残りのステップ波形は、モデルセルの入力抵抗を通した電流量になるはずで、Multiclamp700B の Leak Subtraction 機能を使用してキャンセルすることができます。この減算は Primary Output に有効で、voltage command と直線性があります。(Chapter5 の Leak Subtractionを参考)Leak Subtraction チェックボックスをチェックし、Auto ボタンを押すか、glider control で設定して下さい。

この最適値はモデルセルの入力抵抗であり、約 500M Ω です。完全に反応を補正するためには、Whole Cell と Cp Fast の手動調整が必要です。



Leak Subtraction のすぐ左に Output Zero ボタンがあります。これは Leak Subtraction と少し異なるオフセット削除機能です。Output Zero はハイパスフィルタの動作をし、Voltage Command と直線性はなく、一定の DC オフセットを減算します。例えば、Leak Subtraction をオフにして、Output Zero をオンにして下さい。ベースラインを変化しても、ステップ波形の振幅は変化しません。

7. 直列抵抗(R_s)は、通常は電極の先端付近にある不要な抵抗成分と考えられ、ヘッドステージ回路と細胞膜との間に介入しています。 R_s (直列抵抗のことで電極抵抗など)は V-Clamp モードにおいて問題を引き起こし、可能な限り小さくする必要があります。これ

は機械的または電氣的の両方で可能です。詳細は Chapter5 で説明しますが、以下に電氣的な Rs 補正を前もって説明します。

8. Seal Test を 10mV,100Hz で加え、Cp Fast と Whole Cell 補正をステップ 6 のように調整し、Output Zero と Leak Subtraction はオフにして Seal Test の振幅を 50mV に増やして下さい。Primary Output current 信号(~1ms)において遅い立ち上がりの関連性が抵抗の問題というのは明らかです。目的は Rs 補正で立ち上がり 時間を速めることです。
9. Rs Compensation チェックボックスをチェックし、Bandwidth を 5kHz に設定して、Prediction と Correction コントロールを連動して変更します。



Glider コントロールを使い、オシロスコープで Primary Output 信号を確認しながら、ゆっくりと目標を目指して Prediction もしくは Correction のパーセントを設定します。トレースはノイズが大きくなり、立ち上がりエッジは速くなり、トランジェントの立ち上がりが大きくなります。設定が 80%付近を超えるとトランジェントは大きくなり、急激に増減して本格的に発振します。この Rs 補正の方法は Bandwidth との連携を上手に行えば、Prediction と Correction は振動がなければ最高の補正を提供します。詳細は Chapter 5 の SERISE RESISTANCE COMPENSATION で説明します。

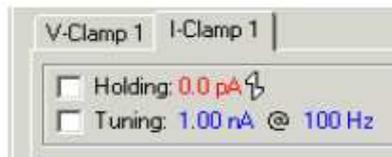
10. Multiclamp700B は V-Clamp と I-Clamp のコマンドステップを、外部パルスジェネレータもしくはコンピュータから使用できるように設計されています。同時に、Multiclamp Commander の Pulse ボタンは、on-off ステップの振幅と遅延を設定して、パルスを印加することもできます。



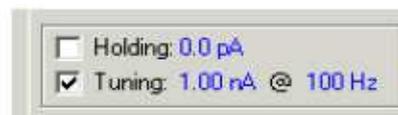
いろいろなパルスの設定を試してみましょう。Primary Output 信号を確認しながら Pulse ボタンを繰り返して押して試して下さい。ここで、パルス遅延はリストから選択します。(マウスの位置を duration 領域の上で右クリックするとリストが表示されます)。

3.5. Tutorial 5 - Whole-Cell Configuration: Current Clamp

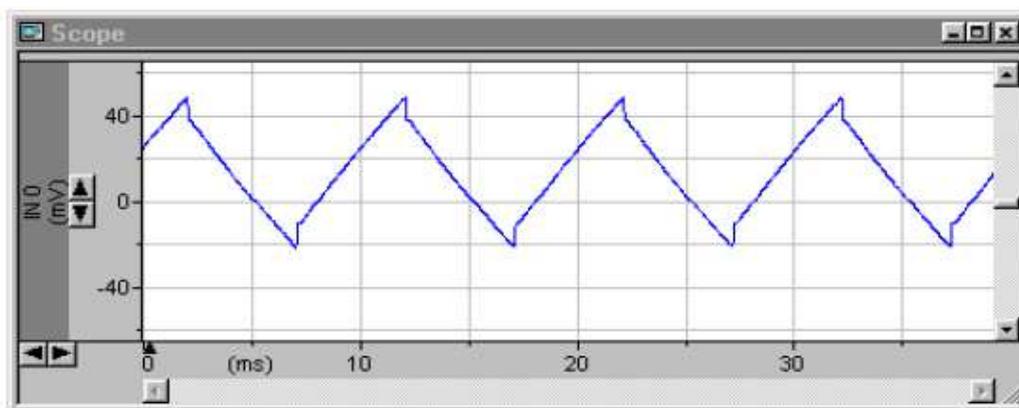
1. Multiclmap Commander をリセットして下さい。I-Clamp モードにおいて、Option メニューの Gain タブで 50M Ω レンジを選択して下さい。
2. モデルセルの CELL ポジションをヘッドステージに接続して、Auto Pipette Offset ボタンをクリックして下さい。
3. Channel1 で IC ラベルのボタンを押します。タブは I-Clamp 1 になり、Mulicmap700B のフロントパネルの Current Clamp ライト(緑)が点灯し、Primary Output は Membrane Potential を表示します。
4. 次に Holding チェックボックスをチェックし、glider コントロールを使用して Holding 電流 (pA)を変更して下さい。このときに、オシロスコープで Primary Output 信号、Multiclamp 700B Commander の電圧メータを確認して下さい。Holding 電流とともに擬似膜の電圧はスムーズに変化する。



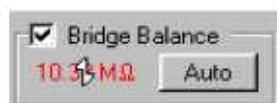
5. Holding をオフにして Tuning チェックボックスをチェックして、Primary Output をモニタして下さい。これは I-Clamp 回路に連続した矩形波の電流パルスを注入します。Primary Output に鋸歯文(きよしもん)が確認できます。



鋸歯文の各セグメントは実際のところ、急上昇を完全に落ち着かせることができません。



6. Tuning 周波数を 50Hz に設定して下さい。ここで注目すべきことは、オシロスコープのタイムベースが広がり、鋸歯文の各セグメントの始まりにおいてステップが見られることです。このステップは擬似電極の抵抗が原因です。Whole-Cell V-Clamp のように電極抵抗は問題を引き起こし、電氣的に補正する必要があります。I-Clamp モードでは、Bridge Balance を使用して R_s を補正します。



Bridge Balance チェックボックスをチェックし、glider コントロールを使用してステップが除去できるまで $M\Omega$ を変更します。もう一つの方法は、Auto Bridge Balance ボタンを押して自動調整することです。モデルセルの電極抵抗は $10M\Omega$ ですが、CELL ポジションでは若干高い値 ($14M\Omega$ 付近) が記録されるかもしれません。なぜなら、直列抵抗は cell の容量と抵抗も含まれているからです。

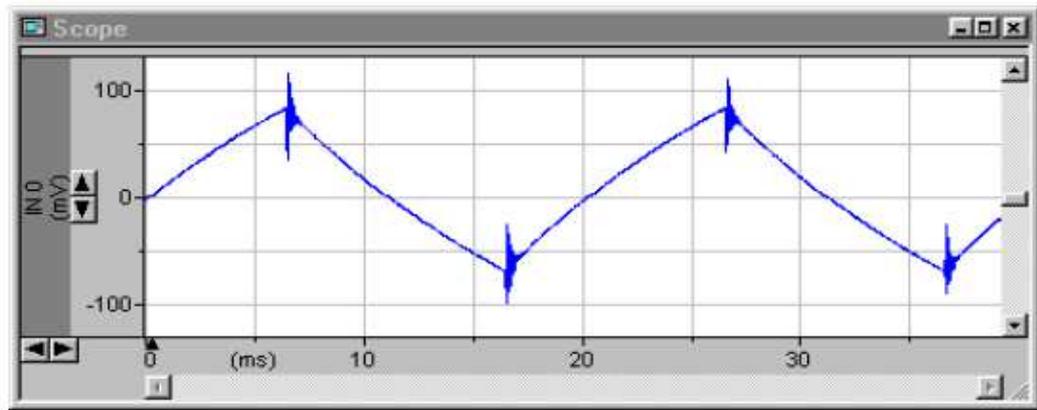
Bridge Balance の左に Output Zero ボタンがあります。これは V-Clamp の場合と全く同じに機能します。DC オフセットを除去します。

7. カレントクランプでは、電極浮遊容量が加わる可能性があります。この問題は pipette capacitance の電氣的補正によって除去することができます。

Glider コントロール使って、Pipette Capacitance Neutralization(pF)の値を増加させ、Ctrl キーを押しながらマウスを移動させてさらに拡大します。このとき、オシロスコープで Primary Output を確認して下さい。



ここで注目すべきことは、約 3pF 以上に増加すると各鋸歯文の始まりで減衰発振が起こることです。さらに進めると、フルスケールの振動になります。振動をいっぱいまで増加させると、下図に見られるようになります。



8. V-Clamp の R_s 補正のように pipette capacitance neutralization の方法は、細胞の害になる好ましくない発振を発生することはなく、中和できる範囲まで増やすことです。しかし、実験でどんなに注意深く容量補正をしても、また後で発振する可能性があります。なぜなら、電極特性（抵抗値や液間電位など）は変わることがあるからです。Multiclamp700B は I-Clamp のとき、Capacitance Neutralization を自動的に無効にする（もしくは軽減する）ことよって、減衰発振から細胞を守るオプションがあります。（同じように、V-Clamp で R_s 補正を無効もしくは軽減することができます）

Pipette Capacitance Neutralization の真下にある”Disable if oscillation detected”をチェックして下さい。

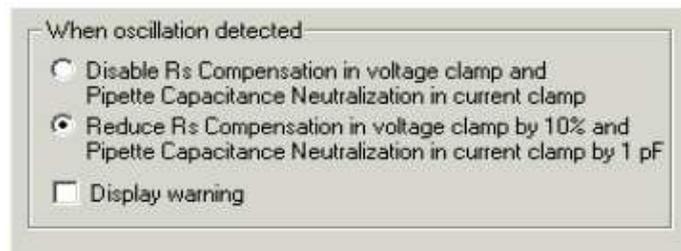


9. 今、完全に発振を再現する範囲でまで Pipette Capacitance Neutralization を増加して下さい。自動保護回路はすばやく Pipette Capacitance Neutralization を無効にするように動作し、下記の現象が見られます。

- "Disable if oscillation detected"の右領域に小さいアイコンが少しの間見られます。正弦波の画像が表示され、フラットラインに変化します。
- Pipette Capacitance Neutralization 機能は無効になります。(チェックボックスは解除されます)
- 音が聞こえます。
- 振動の検出と Pipette Capacitance Neutralization の無効が示される警告メッセージが表示されます。



10. 警告メッセージの出現は回避することもできます。Option/Auto メニューの Display warning チェックボックスを無効にします。

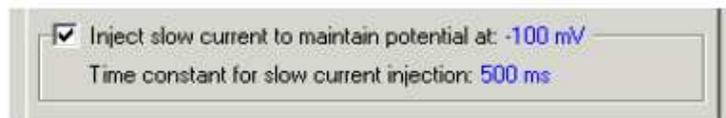


また、Option/Auto メニューで IC モードにおける、Pipette Capacitance Neutralization の「無効」ではなく、「軽減」を選択することもできます。

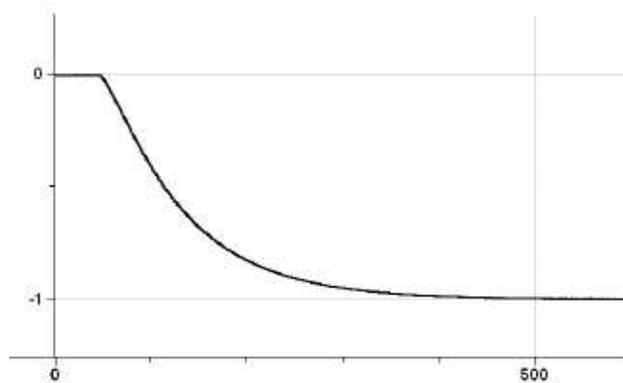
Neutralization は振動が検出されなくなるまで 1pF ずつ繰り返して軽減することができます。(同様に VC モードで振動を検出したときには Series Resistance 補正の効果を軽減します)

11. Option/Auto メニューの"Reduce Rs Compensation..."チェックボタンをチェックして下さい。メニューを閉じてステップ8から繰り返して下さい。(ここで Pipette Capacitance Neutralization の自動軽減した後、警告メッセージは表示されません。なぜなら、Option メニューで警告メッセージの表示機能を無効にしたからです。)

12. Tuning Pulse をオフにして下さい。Holding を 0pA に設定して下さい。オシロスコープの時間スケールを 1sweep が見えるように設定して下さい。
13. Holdin/Tuning セクションの下に”Inject slow current to maintain potential at:”とラベルされた機能があります。電圧を-100mV、時間を 500ms に設定して下さい。

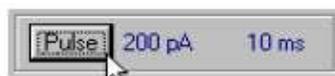


14. チェックボックスをチェックして slow current injection 機能を起動させ、Primary Output Membrane Potential をオシロスコープで確認して下さい。0V から-1V の偏差を確認できるはずですが(スケーリングは 10mV/mV)。この偏差は約 500ms で定常状態になります。



この時間はフィードバック抵抗とヘッドステージに依存した電圧が選択されるように決まっています。Multiclamp commander 700B のオンラインヘルプに詳細が記載されています。

15. カレントクランプでは Pulse ボタンによって、振幅と遅延を可変できる電流ステップを使用することができます。異なる振幅と遅延を設定してパルスを試して、Primary Outputを確認してみてください。

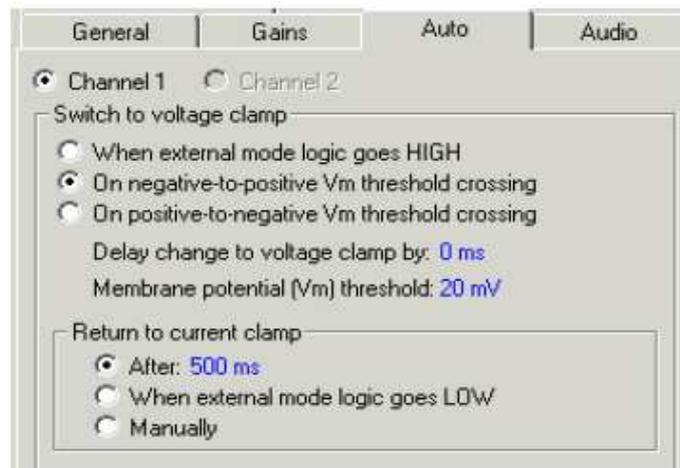


16. Holding と Tuning 機能をオンにしてください。I=0 ボタンを押して、オシロスコープで Primary Output を観察してください。I=0 はカレントクランプの特別なモードで、すべての入力コマンドと切断されています。モデルセルを接続し I=0 を押すと、Primary Output Membrane Potential 信号は 0mV に近い値が返ってきます。実際の細胞では Membrane Potential は細胞の静止電位が返ってきます。実際の細胞でのカレントクランプ実験の詳細情報が Chapter4 の IMPALING CELL に記載されています。

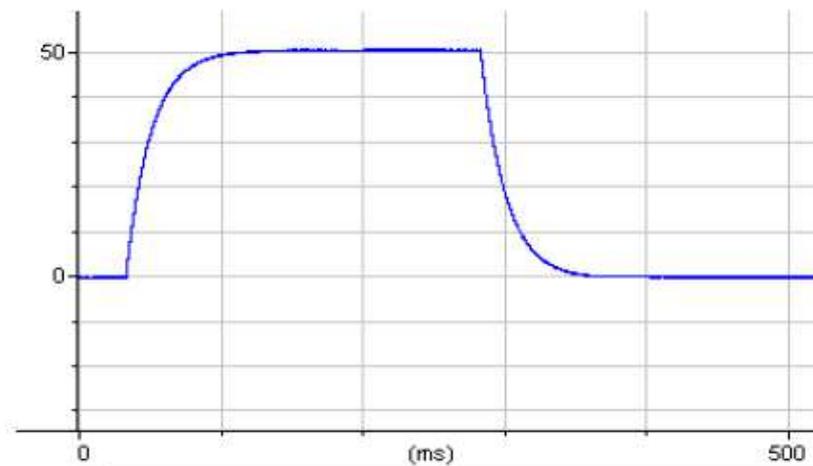


3.6. Tutorial 6 - Whole-Cell Configuration: Automatic Mode Switching

1. Multiclamp Commander をリセットし、ヘッドステージにモデルセルの CELL を接続して下さい。
2. VC モードで下記の通りに変更して下さい。
 - A) Auto Pipette Offset をクリックして下さい。
 - B) Seal Test チェックボックスをオンにしてください。
 - C) Auto Cp Fast をクリックして下さい。
 - D) ホルディング電圧を 20mV に設定し、チェックボックスをオンにしてください。
 - E) Primary Output 信号を Membrane Potential(10mV/mV)に変更して下さい。
3. IC ボタンを押してカレントクランプモードに変更して下さい。Tune Pulse を 100pA,2Hz に設定して、チェックボックスをオンにしてください。
4. メニューの Option/Auto タブをクリックして下さい。Switch to the voltage clam セクションで、On Positive-to-negative Vm threshold crossing ラジオボタンをクリックして下さい。Delay change to voltage clamp = 0ms、Membrane Potential(Vm) threshold = 20mV に設定して下さい。次に、Return to current clamp セクションの After のラジオボタンをクリックして、値を 500ms に設定して下さい。Option メニューを閉じて、IC モードのウィンドウに戻して下さい。



5. オシロスコープで Primary Output をモニタして下さい。少なくとも 1sweep 当たり2秒は表示されます。電流ステップの注入によって、ゆっくりした充電と放電の電圧反応が確認できるはずです。



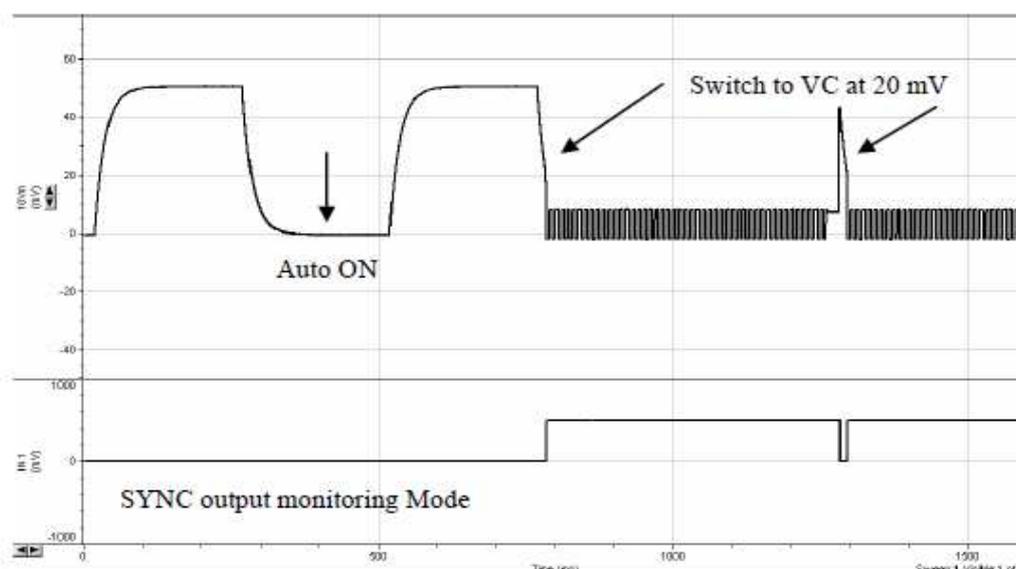
6. Mode セクションの Auto チェックボックスをオンにします。自動制御すると VC,I=0,IC ボタンはグレー無効状態になります。



7. Primary Output をオシロスコープでモニタして下さい。下記の現象を確認できます。

- A) membrane potential の範囲差 (振幅) が負の方向で 20mV になると、IC モードから VC モードに切り替わります。
- B) Multiclamp700B は 500ms の間 VC モードを持続し、IC モードに戻ります。モードが変わるとトランジェントが現れ、電圧が減衰を始めます。
- C) 再び電圧が 20mV になると、Multiclamp700b は IC から VC に変更されます。このプロセスは Auto モードをオフにするまで続きます。

8. 下図の波形は Multiclamp700B のリアパネルのある SYNC output を測定したものです。メニューの Option/General タブにおいて、次に続くものとして、"Mode Channel 1" を選択して下さい。VC モードでは 5V、IC モードでは 0V を示します。



9. 実際の実験で、Multiclamp700B の external command input (例えば Digidata の出力) を使用する場合は、Auto モードがオンの間は external command が OFF になることに気をつけて下さい。使わなければ、受信コマンドは Auto モードと矛盾します。external command を無効にするには、Option/Gain タブで VC と IC の External Command Sensitivity セクションの OFF ラジオボタンをクリックして下さい。

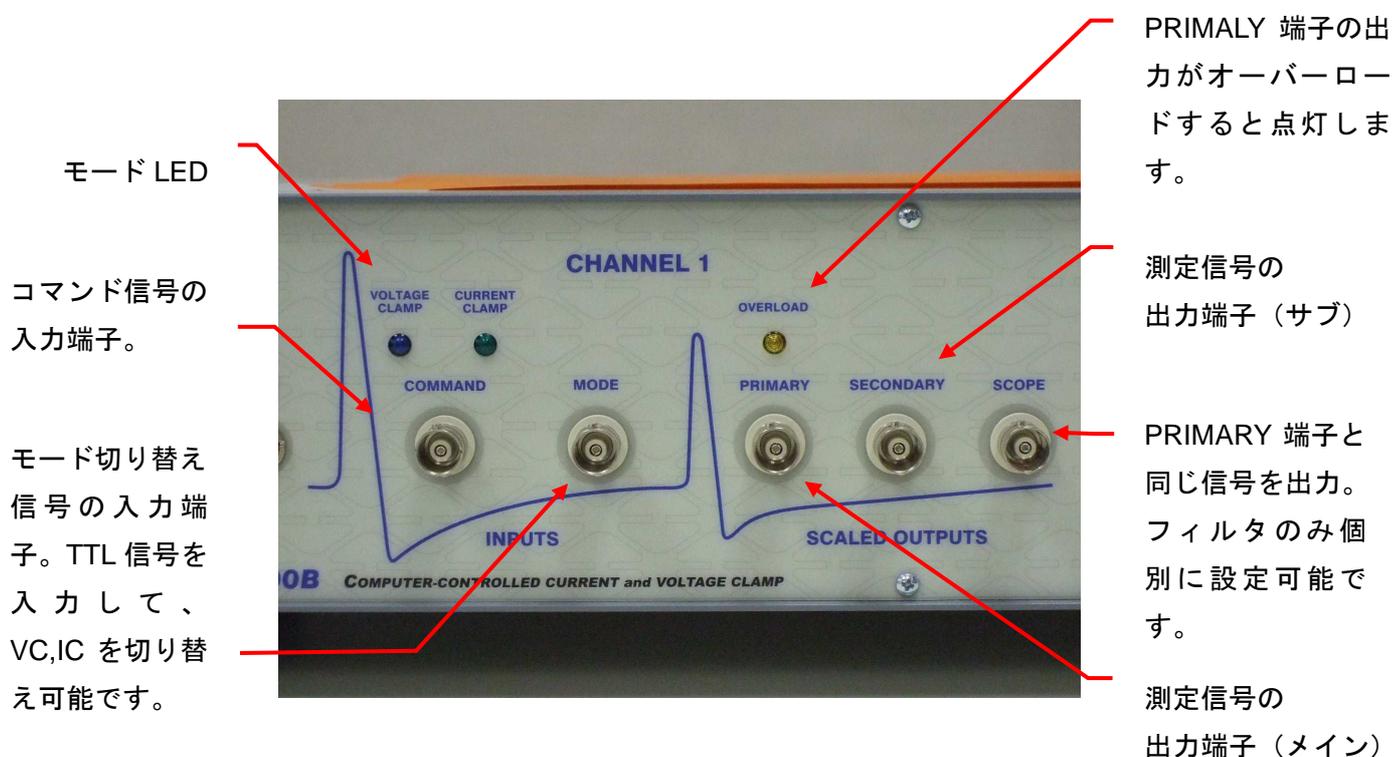
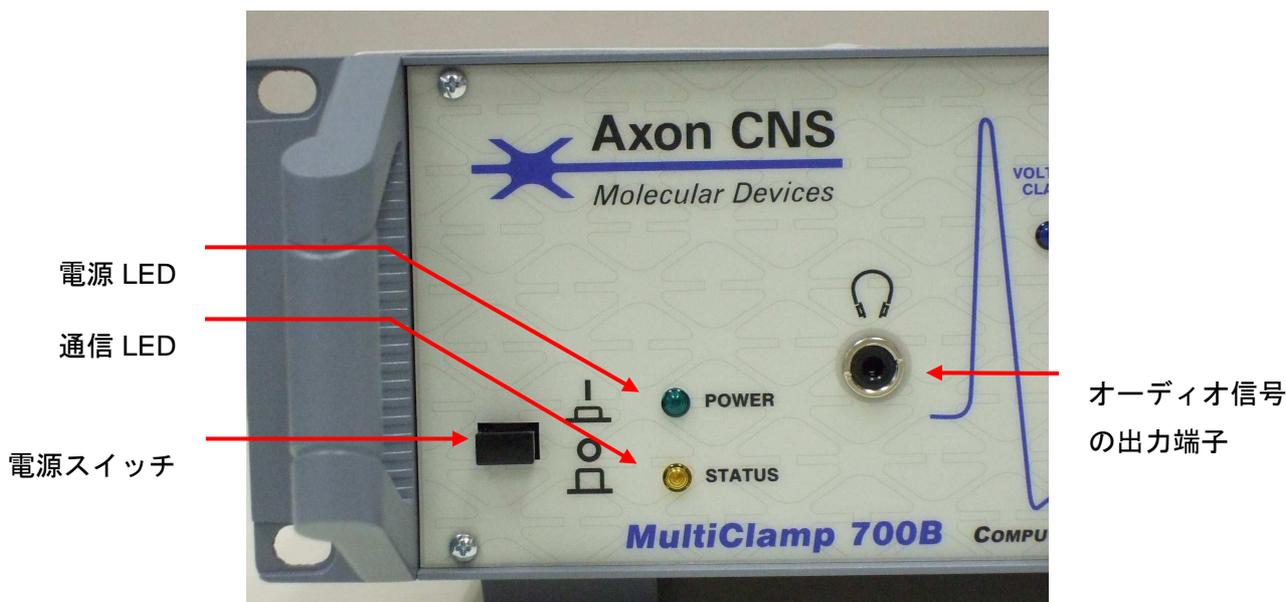


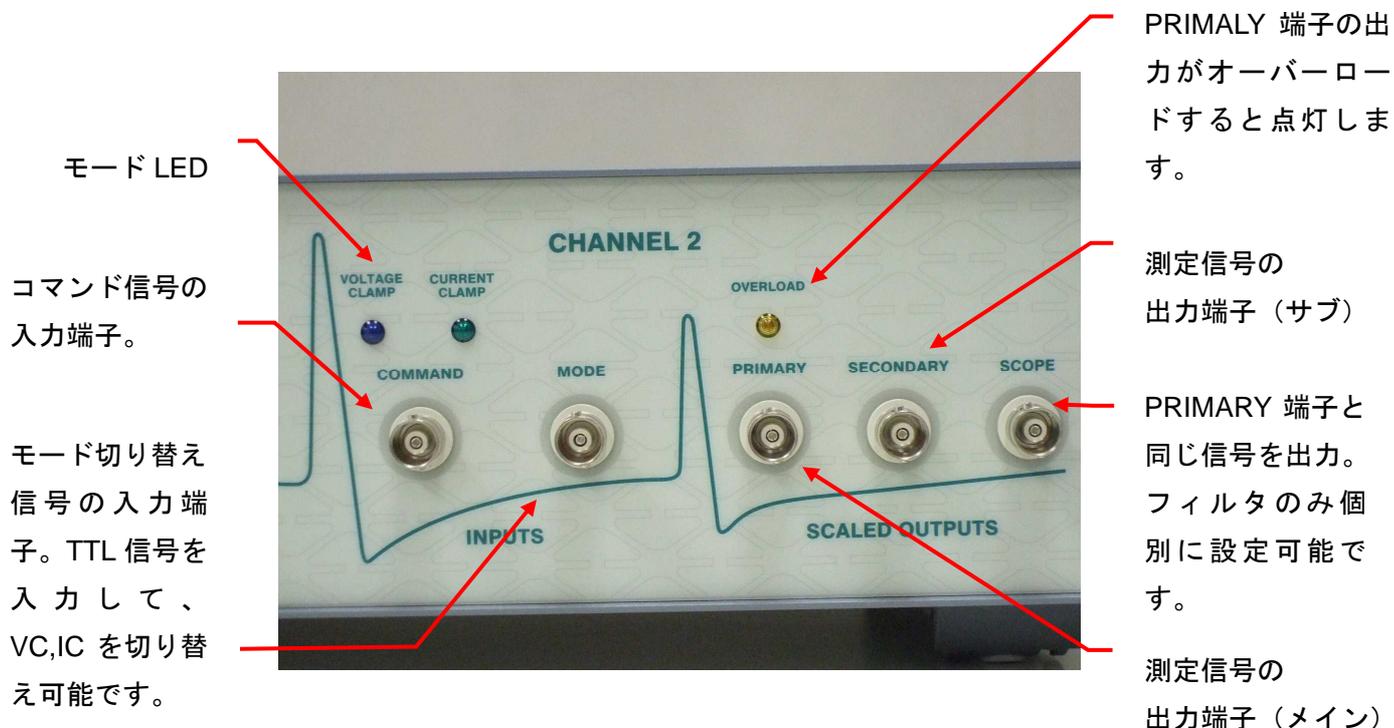
10. Option/Auto タブで様々な設定を試して下さい。

4. リファレンス

4.1. Multiclamp 700B のパネル

4.1.1. フロントパネル



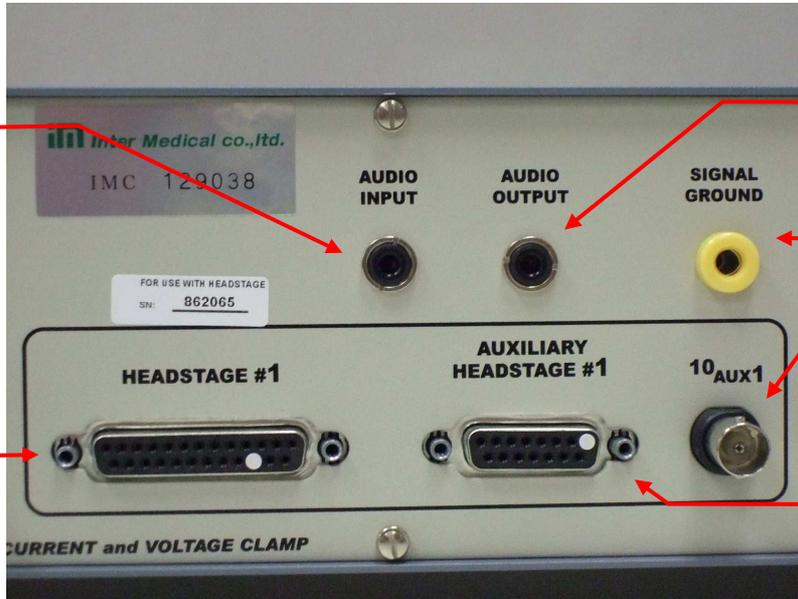


4.1.2. リアパネル



オーディオ信号の入力端子。外部信号をミックスして AUDIO OUT 出力することが可能。

CH1 ヘッドステージの接続コネクタ



オーディオ信号の出力端子

シグナルグランド

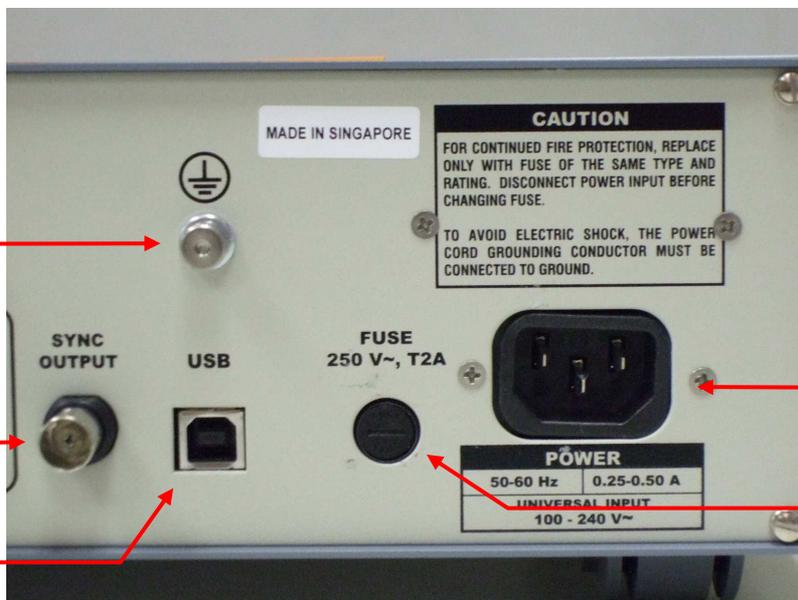
CH1 追加ヘッドステージの測定信号の出力端子

CH1 追加ヘッドステージの接続コネクタ。HS, VG シリーズを使用できます。

アース端子

トリガー信号の出力端子

Multiclamp700B を制御する USB コネクタ



AC 電源コネクタ

ヒューズホルダー

4.2. Multiclamp 700B Commander のパネル

The screenshot shows the 'MultiClamp 700B (Demo)' software window. It features a toolbar at the top with icons for file operations, execution, and help. Below the toolbar are two channel control panels, Channel 1 and Channel 2, each with voltage (V [mV]) and current (I [pA]) settings, checkboxes for Resistance and I_{rms}, and a Mode selector (VC, I=0, IC, Ext). The main area is divided into tabs for V-Clamp 1, I-Clamp 1, V-Clamp 2, and I-Clamp 2. The V-Clamp 1 tab is active, showing settings for Holding (0 mV), Seal Test (10 mV @ 100 Hz), Pipette Offset (0.00 mV), Cp Fast (0.000 pF / 0.500 μs), Cp Slow (0.00 pF / 10.0 μs), Whole Cell (33.03 pF / 9.995 MΩ), Rs Compensation, Bandwidth (1.02 kHz), Correction (0%), Prediction (0%), and Disable if oscillation detected. The Primary Output is Membrane Current (0.5 V/nA) with Gain 1, Bessel 10 kHz, AC: DC, and Scope: Bypass. The Secondary Output is Membrane Potential (10 mV/mV) with Gain 1 and Lowpass Filter 10 kHz. At the bottom, there are Pulse (10 mV, 10 ms), Zap (500 μs), and Rf (500 MΩ) settings.

ツールボタン

メータ表示とモード設定のセクションです。

コマンドや補正など、実験の設定をするセクションです。

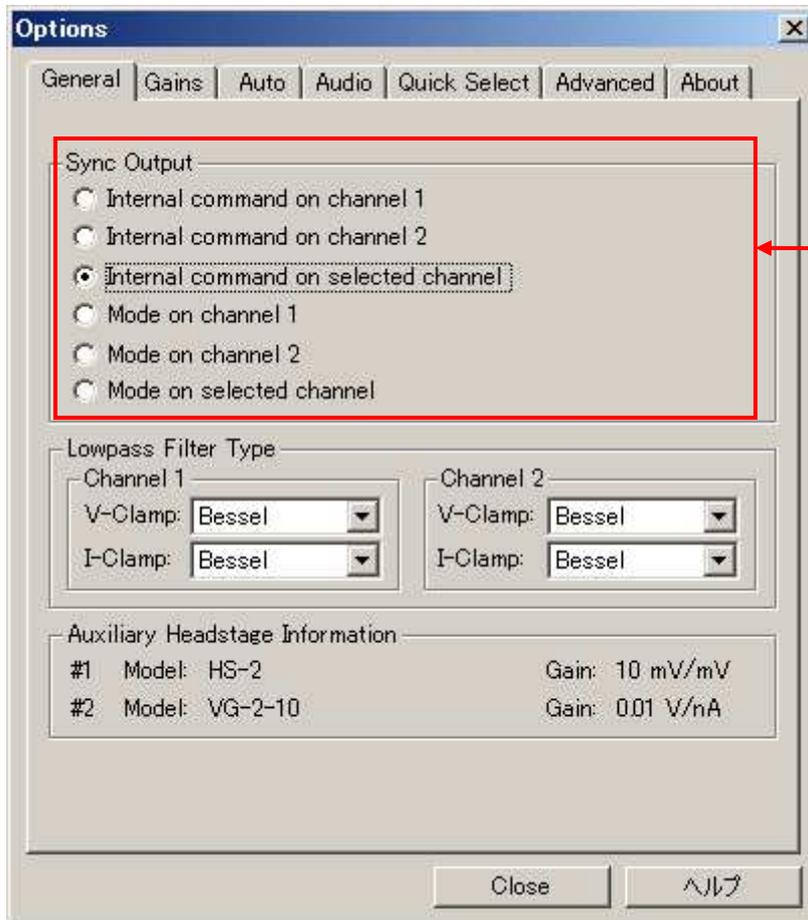
4.3. ツールボタン



アイコン	メニュー名	ショート カットキー	説明
	Resize windows	(F2)	ウィンドウを小型化する。
	Always on Top	(F3)	常に他のウィンドウの手前に表示する。
	Load Configuration	(F4)	設定ファイルを開く。
	Save Configuration	(F5)	設定ファイルを保存する。
	Reset to Program Defaults	(F6)	デフォルト設定にする。
	Select Device	(F7)	Multiclamp700B と Soft Panel を認識させる。
	Configure Soft Panel	(F8)	Soft Panel を設定する。
	Audio Options	(F9)	オーディオ機能を設定する。
	Options	(F10)	測定電流範囲など、各種項目を設定する。
	Quick Select	—	保存した設定ファイルへのショートカット。
	Help	(F1)	ヘルプを開く。

4.4. Option ツール

4.4.1. General タブ



Sync Output 端子から出力する 5V TTL トリガー信号を選択します。

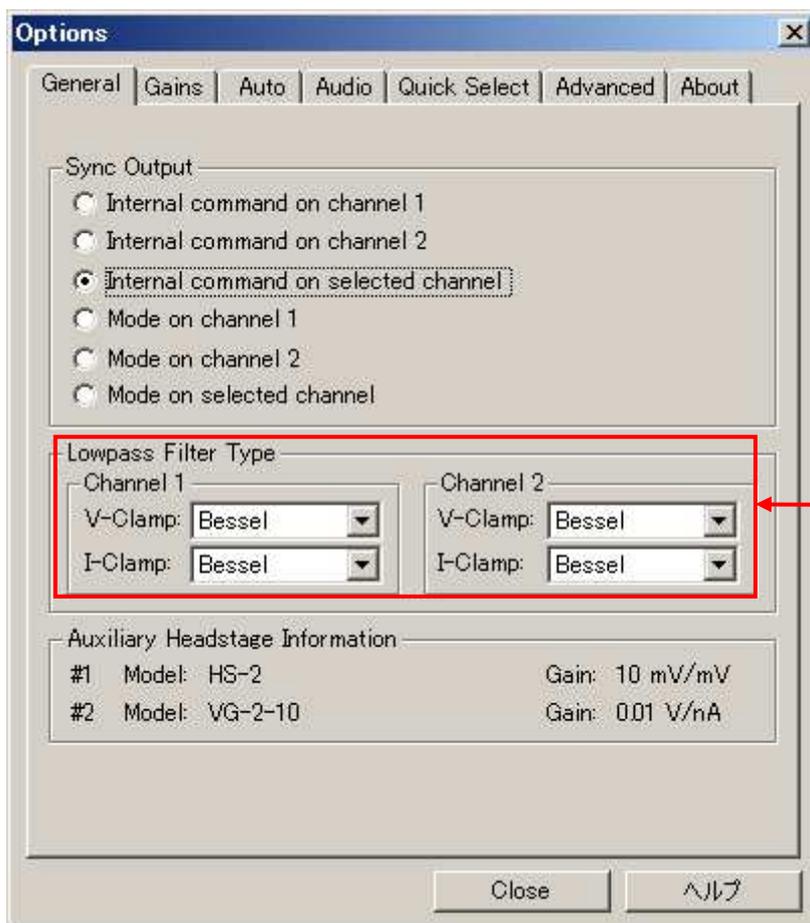
Sync Output

Sync Output 端子から出力する 5V TTL トリガー信号を選択します。

Sync Output の設定	Sync Output の出力信号
Internal Command on channel 1	チャンネル1の内部コマンドに同期した信号
Internal Command on channel 2	チャンネル2の内部コマンドに同期した信号
Internal Command on selected channel	タブで選択しているチャンネルの内部コマンドに同期した信号
Mode on channel 1	チャンネル1のモードに同期した信号
Mode on channel 2	チャンネル2のモードに同期した信号
Mode on selected channel	タブで選択しているチャンネルのモードに同期した信号

内部コマンドに同期した信号 : Seal Test, Turning, Pulse, Clear, Zap に同期した信号

モードに同期した信号 : VC のとき HIGH, IC のとき LOW



各チャンネル、各モードのローパスフィルタを設定します。Bessel か Butterworth を選択できます。

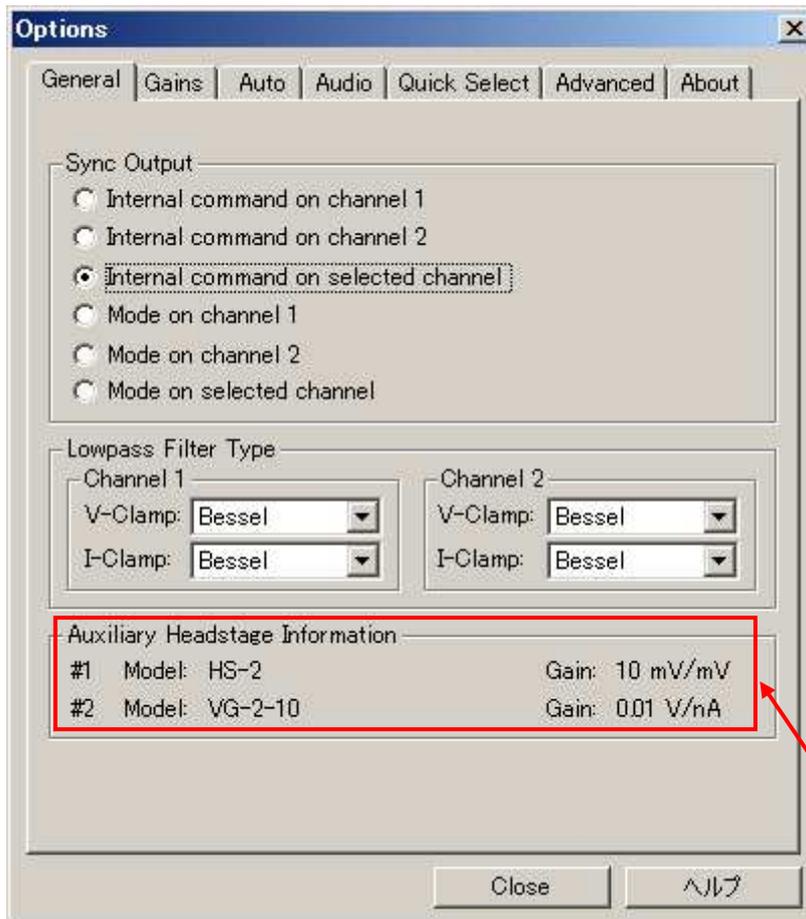
Lowpass Filter Type

各チャンネル、各モードのローパスフィルタを設定します。Bessel か Butterworth を選択できます。

フィルターの種類	特徴
Bessel	時間領域の解析に使用される。位相差が少なく、波形のかたちを保つ。
Butterworth	周波数領域の解析に使用される。Bessel と比較してノイズが少ない。オーバーシュートが発生する。

時間領域の解析: 信号が時間と共にどう変化するか解析する。

周波数領域の解析: 信号にどれだけの周波数成分が含まれているか解析する。



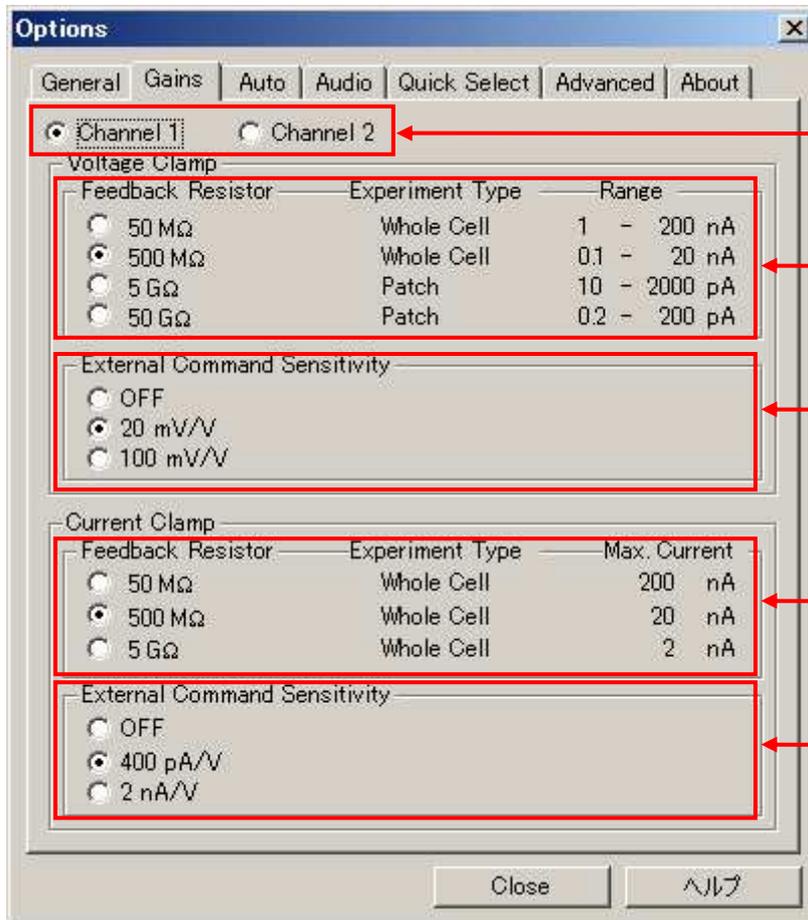
追加ヘッドステージの情報が表示されます。

Auxiliary Headstage Information

AUXILIARY 1 HEADSTAGE と AUXILIARY 2 HEADSTAGE コネクタに接続された、追加ヘッドステージの情報が表示されます。HS-, VG-のヘッドステージを使用できます。

4.4.2. Gains タブ

測定レンジや外部コマンドのスケールを設定するタブです。



設定するチャンネルを選択します。

VC モードの測定電流レンジを設定します。

VC モードの外部コマンドスケールを設定します。

IC モードの注入電流レンジを設定します。

IC モードの外部コマンドスケールを設定します。

Voltage Clamp Feedback Resistance

ボルテージクランプの測定レンジを設定します。

Feedback Resistor	Experiment Type	Range
<input type="radio"/> 50 MΩ	Whole Cell	1 - 200 nA
<input checked="" type="radio"/> 500 MΩ	Whole Cell	0.1 - 20 nA
<input type="radio"/> 5 GΩ	Patch	10 - 2000 pA
<input type="radio"/> 50 GΩ	Patch	0.2 - 200 pA

Voltage Clamp External Command Sensitivity

ボルテージクランプの外部コマンドスケールを設定します。

External Command Sensitivity

OFF

20 mV/V

100 mV/V

スケール	最大電圧
20mV/V	±200mV
100mV/V	±1000mV

Current Clamp External Command Sensitivity

カレントクランプの測定レンジを設定します。

Feedback Resistor	Experiment Type	Max. Current
<input type="radio"/> 50 M Ω	Whole Cell	200 nA
<input checked="" type="radio"/> 500 M Ω	Whole Cell	20 nA
<input type="radio"/> 5 G Ω	Whole Cell	2 nA

Current Clamp External Command Sensitivity

カレントクランプの外部コマンドスケールを設定します。

External Command Sensitivity

OFF

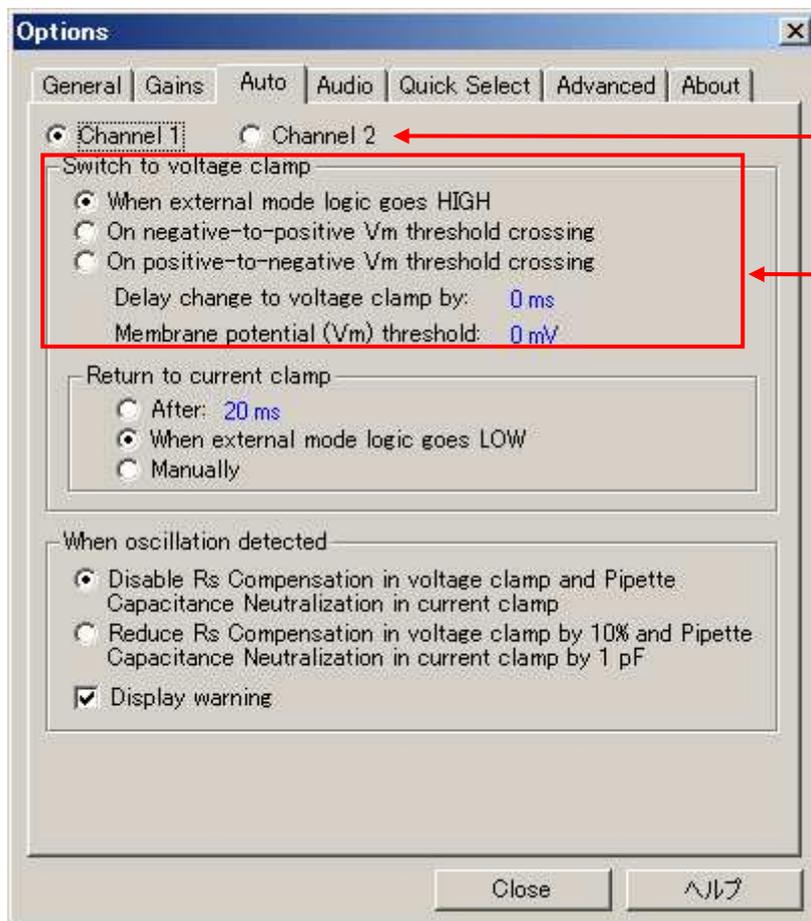
400 pA/V

2 nA/V

Feedback Resistor	スケール	最大電流
50M Ω	4nA/V	±40nA
	20nA/V	±200nA
500M Ω	400pA/V	±4000pA
	2nA/V	±20nA
5G Ω	40pA/V	±400pA
	200pA/V	±2000pA

4.4.3. Auto タブ

自動機能の条件を設定するタブです。



設定するチャンネルを選択します。

自動モード変換機能で IC モードから VC モードに切り換わる条件を設定します。

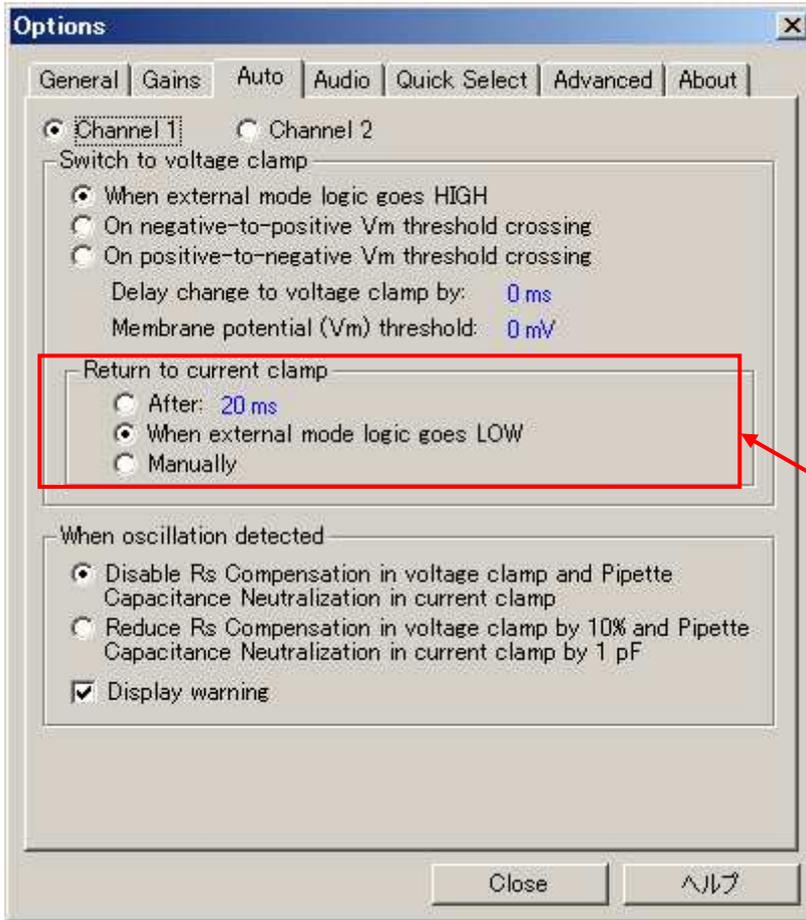
Switch to voltage clamp

IC モードから VC モードに切り換わる条件を設定します。

Switch to voltage clamp の設定	IC から VC へ切り換わる条件
When external mode logic goes HIGH	MODE 端子に入力されている信号が HIGH になったとき
On negative-to-positive Vm threshold crossing	測定電圧が閾値 Vm をマイナス方向からプラス方向へ変化したとき
On positive-to-negative Vm threshold crossing	測定電圧が閾値 Vm をプラス方向からマイナス方向へ変化したとき

Delay change to voltage clamp by: IC から VC へ切り換わるまでの待ち時間

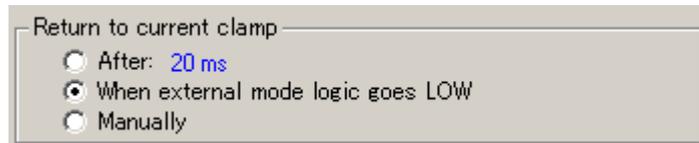
Membrane potential (Vm) threshold: 閾値 Vm



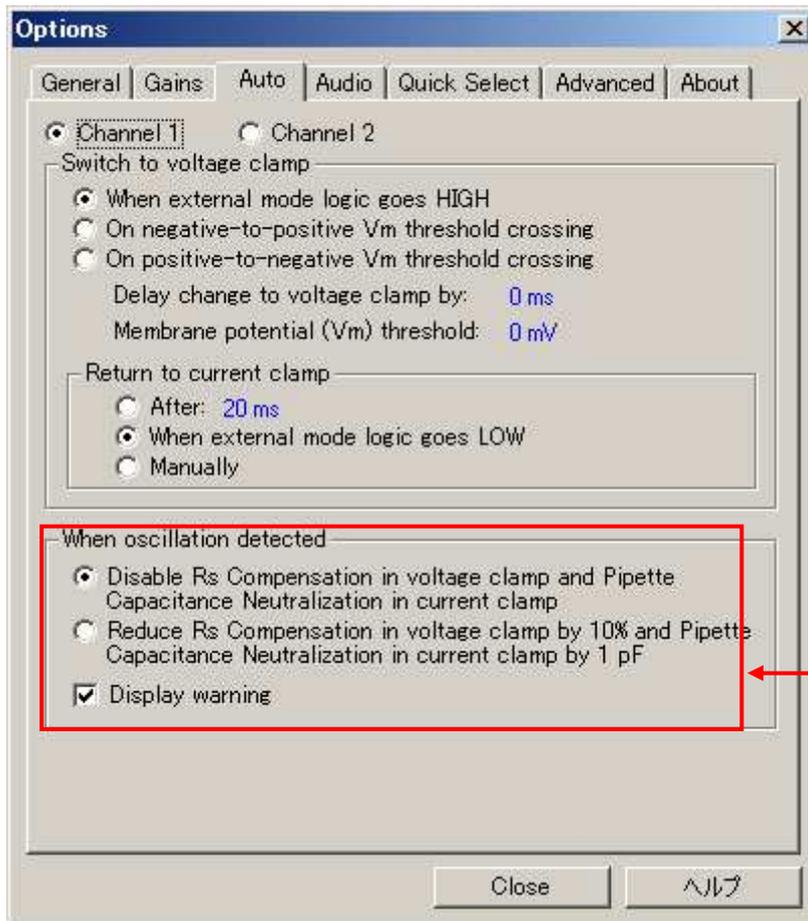
自動モード変換機能で VC モードから IC モードに戻る条件を設定します。

Return to current clamp

VC モードから IC モードに戻る条件を設定します。



Return to current clamp の設定	VC から IC へ戻る条件
After xx ms	設定した時間が経過したとき
When external mode logic goes LOW	MODE 端子に入力されている信号が LOW になったとき
Manually	手動で IC ボタンをクリックしたとき



発振検出機能の動作を設定します。

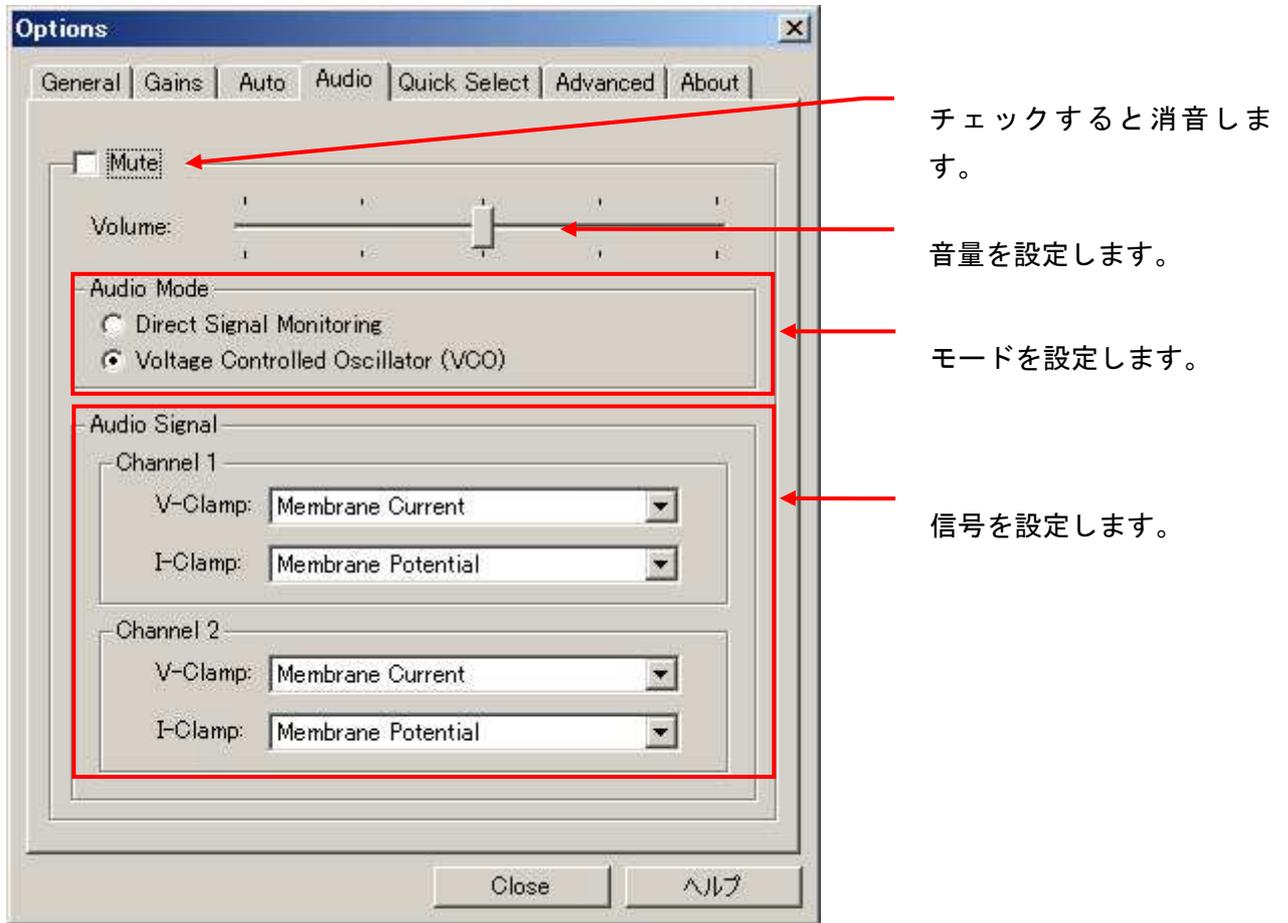
When oscillation detected

発振検出機能の動作を設定します。

When oscillation detected の設定	発振検出機能の動作
Disable	無効にする。
Reduce	有効のままで下記の設定に変更する。 Rs Compensation: 10% Pipette Capacitance Neutralization: 1pF
Display warning	Warning メッセージの表示/非表示を設定する。

4.4.4. Audio タブ

オーディオ機能を設定するタブで、AUDIO OUTPUT の出力信号を設定します。



Audio Mode

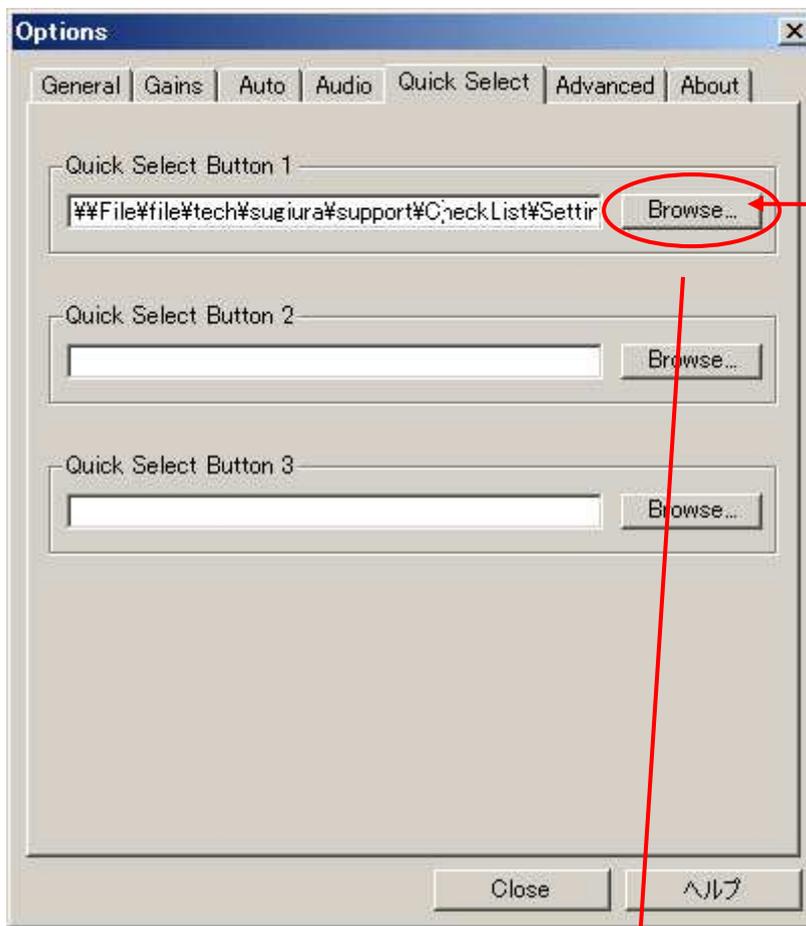
オーディオ信号のモードを設定します。

Audio Mode の設定	動作
Direct Signal Monitoring	測定信号をダイレクトにスピーカで鳴らすモード 例) EMG, 中枢神経のレコーディング
Voltage Controlled Oscillator(VCO)	測定信号を周波数変換してスピーカで鳴らすモード 例) 細胞内記録(シールテスト、膜電位 DC モニター)

* Axopatch 1D は VCO モードを使用しています。

4.4.5. Quick Select タブ

Quick Select ボタンに設定ファイルを指定するタブです。

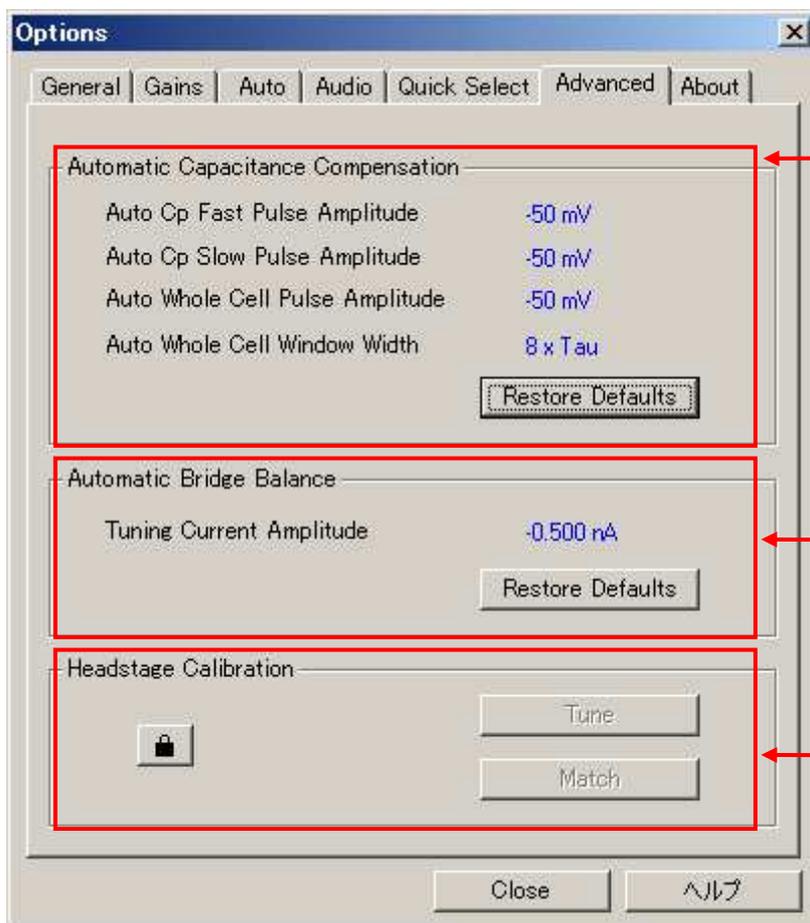


保存した設定ファイルを指定する。



クリックすると指定した設定ファイルが読み込まれる。

4.4.6. Advanced タブ

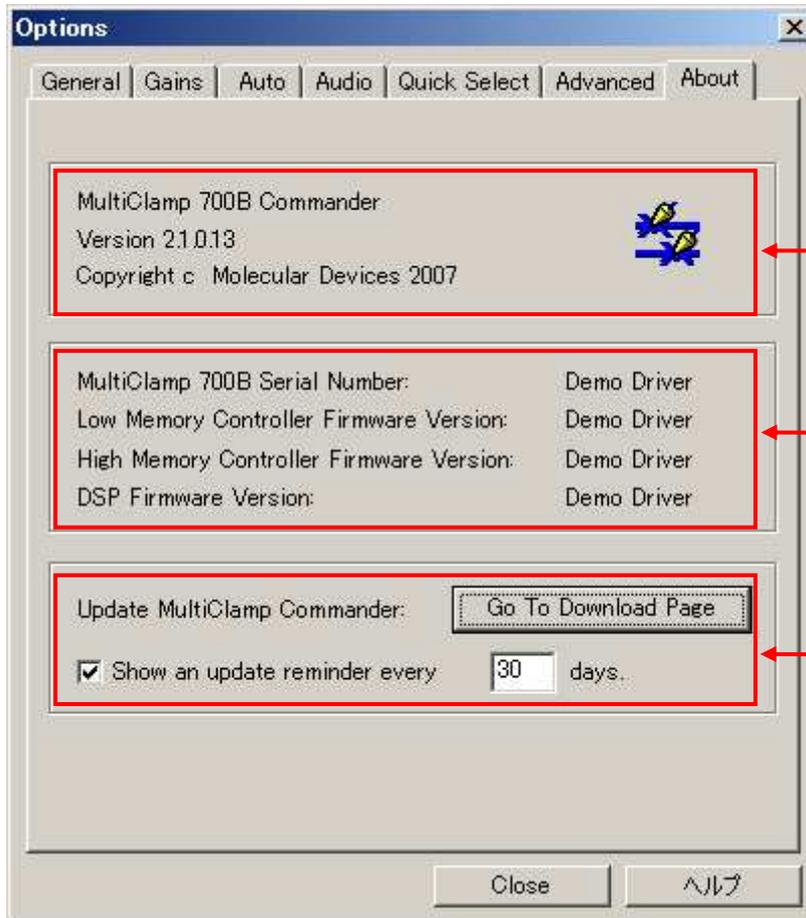


自動容量補正機能はテストパルスを加えて電流値を読み込んで計算しています。使用するテストパルスの設定を行います。電圧が大きいほど細胞へのダメージも大きいです。

自動ブリッジバランス補正機能で使用するテストパルスの設定をする。

ヘッドステージのチューニングとマッチングを行うセクションです。

4.4.7. About タブ

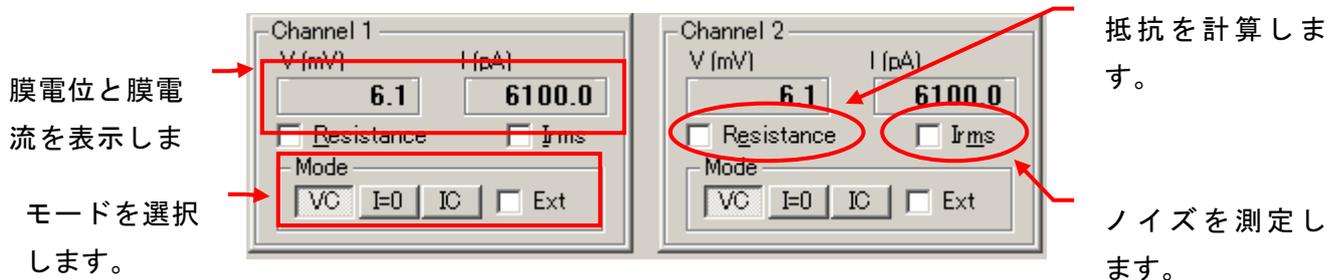


MCC700B のバージョンを
表示します。

Multiclamp 700B のハード
ウェア情報を表示します。

MCC700B のアップデート
を行います。現在、この機
能は廃止されています。

4.5. メータ表示とモード設定



V(mV), I(pA)

V は膜電位、I は膜電流を表示します。

Mode

VC はボルテージクランプ、IC はカレントクランプです。I=0 はカレントクランプと同じで膜電位を測定しますが、内部・外部コマンドが完全に遮断されます。静止膜電位の測定に便利です。

Ext は自動モード切替えの有効 / 無効を設定します。詳細は Option ツールの Auto タブで設定します。

Resistance

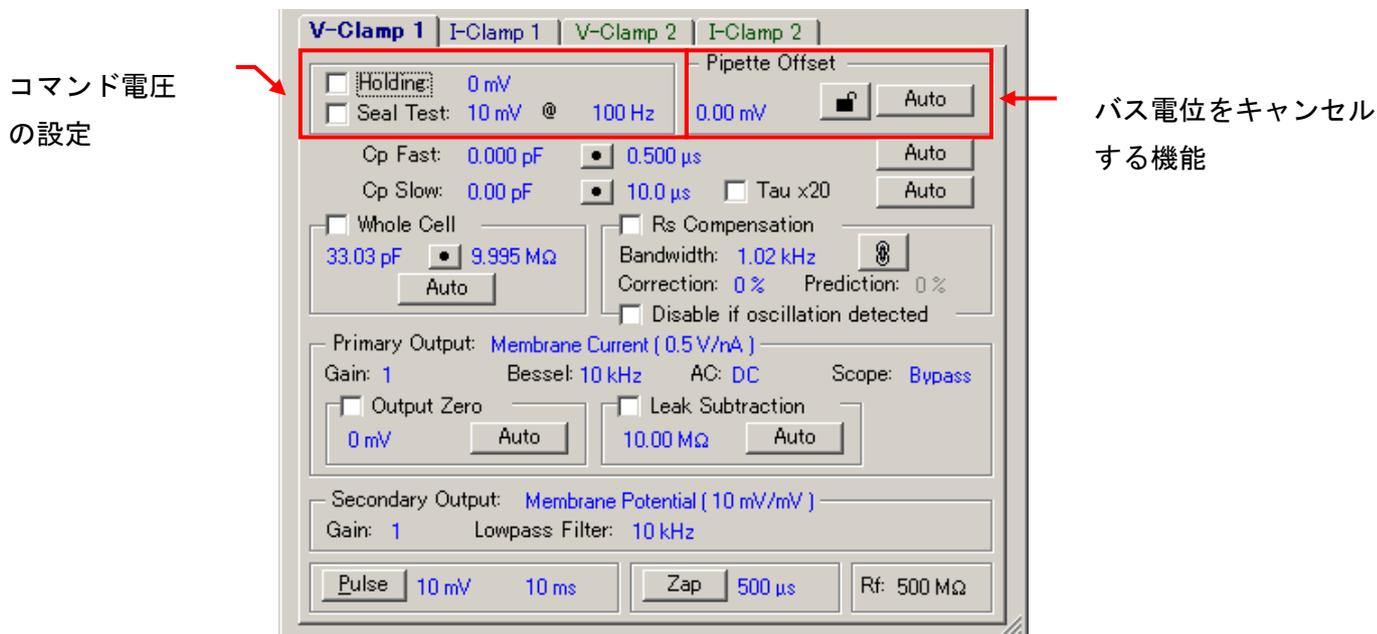
VC モードで抵抗値を計算します。BATH 状態で使用すれば電極抵抗を計算できます。

Irms

ノイズはレンジとフィルターによって異なります。下表はヘッドステージをオープン状態で測定した場合の規定値です。

レンジ	Bessel	Butterworth
50G	0.28 pArms 以下	0.15 pArms 以下
5G	0.9 pArms 以下	0.5 pArms 以下
500M	1.4 pArms 以下	0.8 pArms 以下
50M	3.0 pArms 以下	2.0 pArms 以下

4.6. ボルテージクランプモード設定



Holding, Seal Test

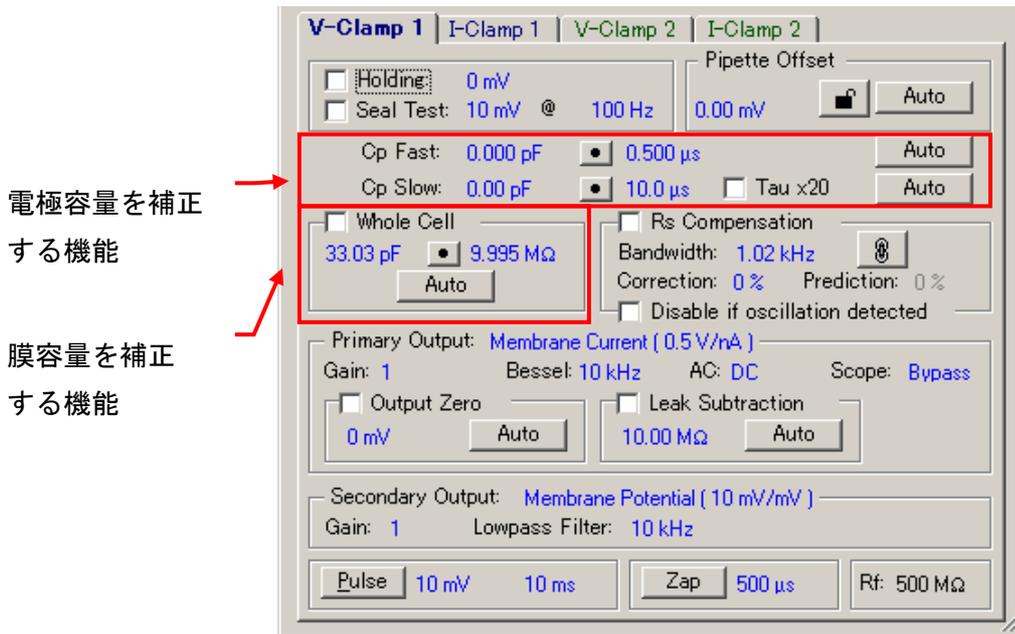
コマンド電圧を設定します。チェックボックスをチェックすると有効になります。

設定項目	機能
Holding	DC コマンド電圧 ±1000mV
Seal Test	ステップコマンド電圧 振幅: ±1000mV 周波数: 2Hz - 1kHz

Pipette Offset

バス電位をキャンセルする機能で、Auto ボタンをクリックすれば自動でキャンセルすることが可能です。手動で調整する場合は鍵マークをクリックして下さい。

設定項目	機能
Pipette Offset	バス電位のキャンセル ±100mV



電極容量を補正する機能

膜容量を補正する機能

Cp Fast, Slow

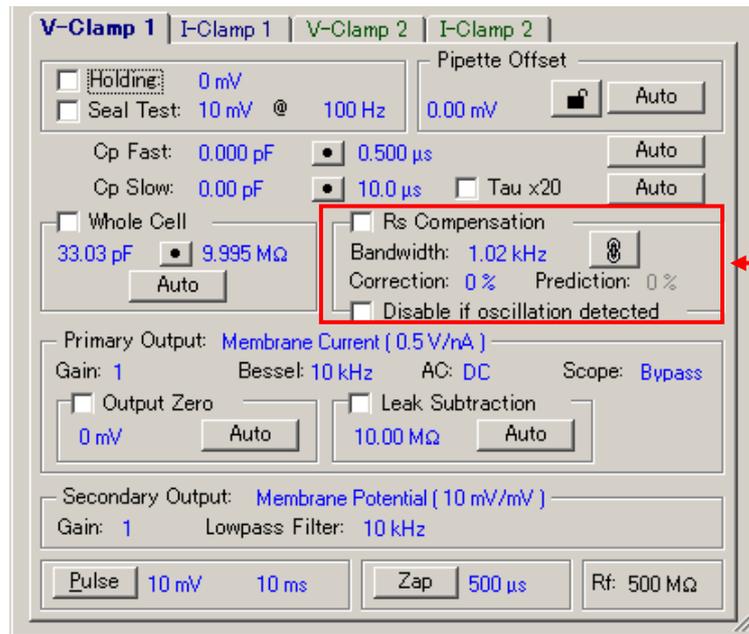
電極容量の補正機能です。速い成分と遅い成分を個別に設定できます。Auto ボタンをクリックすれば自動で補正することができます。

設定項目	機能
Cp Fast	電極容量の補正(速い成分) 補正容量:0-36pF, 0-12pF (Rf=50G) 時定数:0.5-1.8 μs
Cp Slow	電極容量の補正(遅い成分) 補正容量:0-3pF, 0-1pF (Rf=50G) 時定数:10 μs-200 μs, 200 μs-4000 μs (Tau x20)

Whole Cell

膜容量の補正機能です。Auto ボタンをクリックすれば自動で補正することができます。

設定項目	機能
Whole Cell	膜容量の補正 容量成分:1p-100pF(500M), 2.5-1000pF(50M) 抵抗成分:400k-1000M Ω(500M), 100k-100M Ω(50M)



直列抵抗を補正する機能

Rs Compensation

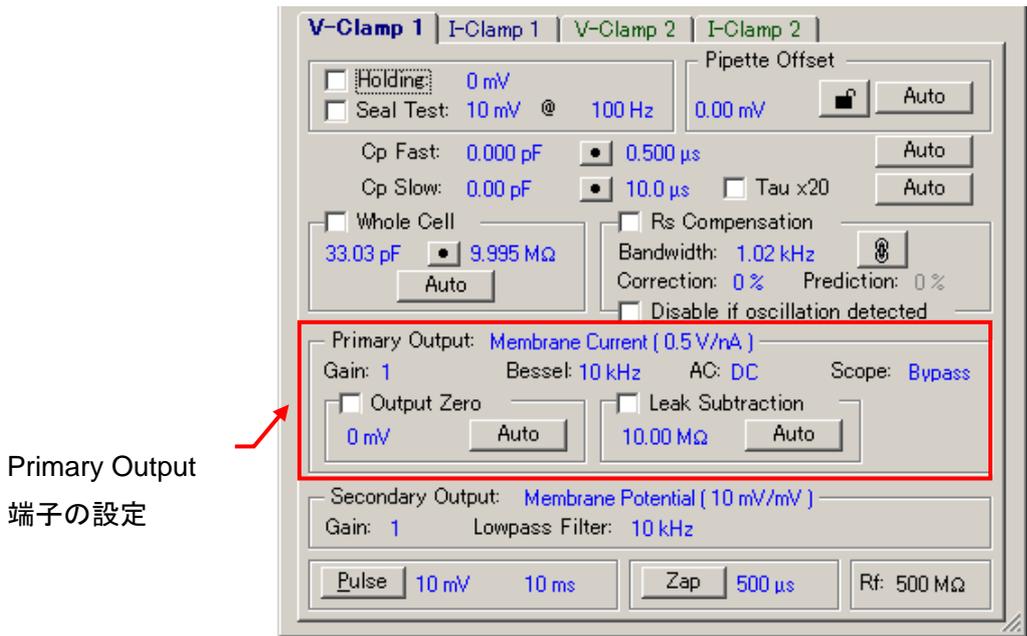
直列抵抗(電極など)による反応速度の低下と電圧降下を補正する機能です。

Correction は測定電流に比例した電位を印加することで電圧降下分を補正します。Correctionを増やすと発振するので、Bandwidth を調整して発振を除去して下さい。

Prediction は Whole Cell が有効のときに使用でき、反応速度を補正することができます。

Disable if oscillation detected をチェックしておくくと、波形が大きく発振した場合、自動的に Rs Compensation を無効にして、細胞へのダメージを最小限に抑えることができます。

設定項目	機能
Rs Compensation	直列抵抗の補正 0.4-1000MΩ(500M), 0.1-100MΩ(50M)



Primary Output
端子の設定

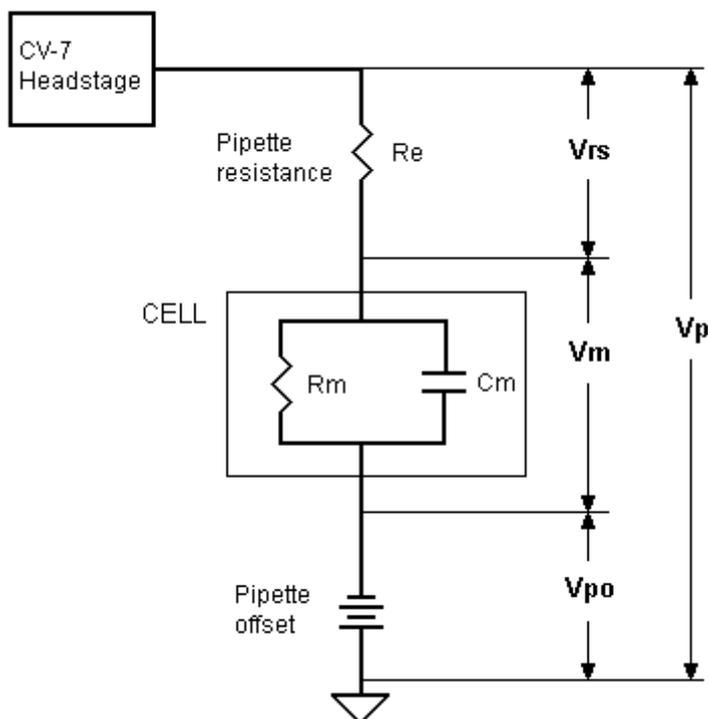
Primary Output

Primary Output 端子から出力する信号を選択し、ゲインやフィルターなどを設定します。また、この設定はメータ表示には反映されません。



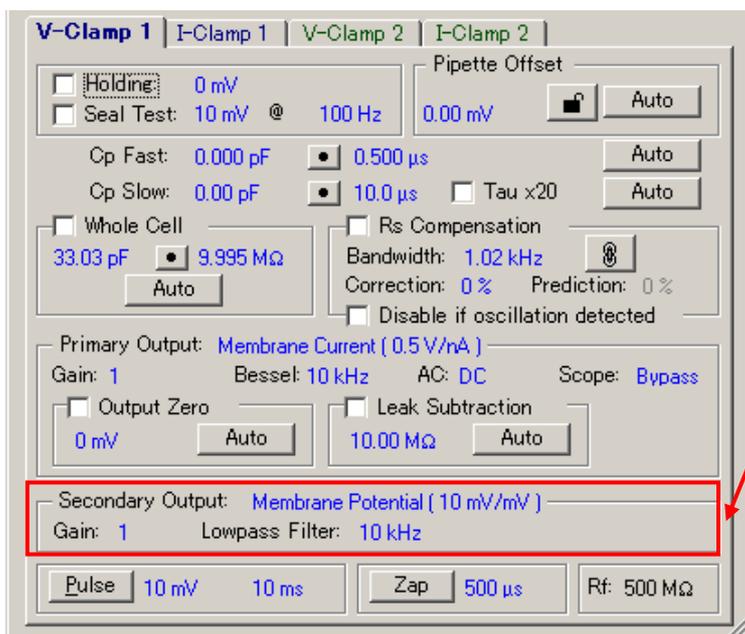
Primary Output の出力信号

Primary Output	信号
Membrane Current	膜電流
Membrane Potential	膜電位 ($V_m + V_{rs}$)
Pipette Potential	膜電位 ($V_m + V_{po}$)
100x AC Membrane Potential	膜電位 ($100x V_m$)
External Command Potential	外部コマンド電圧
Auxiliary 1 Potential/Current	追加ヘッドステージ1の膜電流 / 膜電位
Auxiliary 2 Potential/Current	追加ヘッドステージ2の膜電流 / 膜電位



Primary Output の設定

設定項目	機能
Gain	Primary Output 端子の出力ゲイン 1-2000
Bessel / Butterworth	Primary Output 端子の4次ローパスフィルタ Bessel: 2-30kHz, Bypass Butterworth: 3-45kHz, Bypass
AC	Primary Outputs 端子の1次ハイパスフィルタ DC, 0.1, 1, 3, 10, 30, 100, 300Hz
Scope	Scope 端子の2次ローパスフィルタ 1k, 3k, 10k, Bypass Scope 端子は Primary Output と同じ信号を出力しますが、フィルターのみ個別に設定することができます。
Output Zero	Primary Output 端子の DC キャンセル機能 ±3000mV
Leak Subtraction	Primary Output 端子のリークキャンセル機能 1M-4G(50M), 10M-40G(500M), 100M-400G(5G), 1-4000G(50G)



Secondary Output
端子の設定

Secondary Output

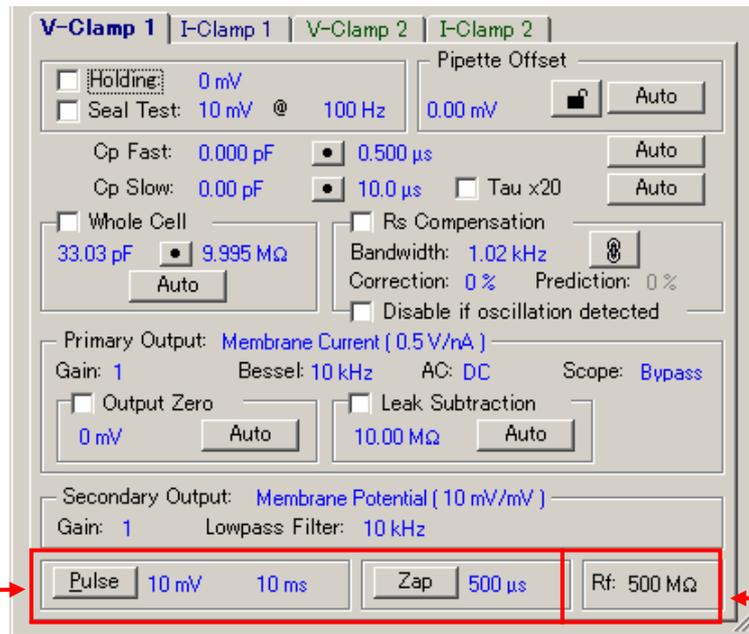
Secondary Output 端子から出力する信号を選択し、ゲインとフィルターを設定します。

Secondary Output の出力信号

Secondary Output	信号
Membrane Current	膜電流
Membrane Potential	膜電位 (Vm)
Pipette Potential	膜電位 (Vm + Vpo)
100x AC Membrane Potential	膜電位 (100x Vm)
External Command Potential	外部コマンド電圧
Auxiliary 1 Potential/Current	追加ヘッドステージ1の膜電流 / 膜電位
Auxiliary 2 Potential/Current	追加ヘッドステージ2の膜電流 / 膜電位

Secondary Output の設定

設定項目	機能
Gain	Secondary Output 端子の出力ゲイン 1-100
Lowpass Filter	Secondary Output 端子の1次ローパスフィルタ 10kHz / Bypass



単一パルス
コマンドの機能

フィードバック
抵抗の設定表示

Pulse, Zap

シングルのコマンドパルスを設定で、各ボタンをクリックするとコマンドが印加されます。



設定項目	機能
Pulse	シングルのパルスコマンド電圧 電圧: ±1000mV 時間: 0.1-500ms
Zap	+1V シングルのパルスコマンド電圧 時間: 0.1-50ms

4.7. カレントクランプモードの設定

コマンド電流の設定

ベースラインの補正機能

Primary Output 端子の設定

単一パルスコマンドの機能

バス電位をキャンセルする機能

電極容量を補正する機能

Secondary Output 端子の設定

フィードバック抵抗の設定表示

Holding, Tuning

コマンド電流の設定で、チェックボックスをチェックすると有効になります。

設定項目	機能
Holding	DC コマンド電流 ±20nA (50M), ±2nA (500M), ±0.2nA (5G)
Tuning	ステップコマンド電流 振幅: ±200nA (50M), ±20nA (500M), ±2nA (5G) 周波数: 2Hz - 1kHz

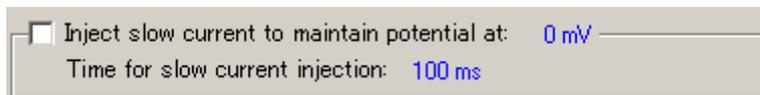
Pipette Offset

バス電位をキャンセルする機能で、Auto ボタンをクリックすれば自動でキャンセルすることが可能です。手動で調整する場合は鍵マークをクリックして下さい。

設定項目	機能
Pipette Offset	バス電位のキャンセル ±100mV

Inject slow current to Maintain potential at

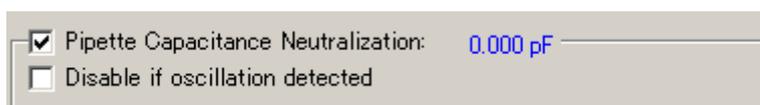
ベースラインを補正する機能で、チェックすると有効になります。



設定項目	機能
Inject slow current to Maintain potential at	ベースラインの補正機能(トラック機能) 電圧: ±1000mV 速度: 20ms, 60ms, 200ms, 600ms, 2s

Pipette Capacitance Neutralization

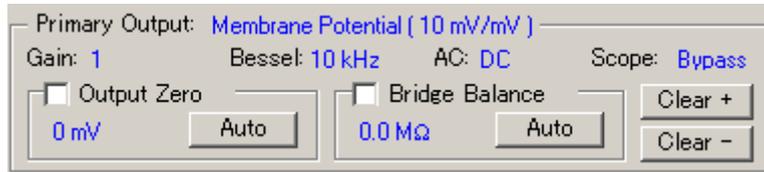
電極容量を補正する機能で、チェックすると有効になります。また、発振を自動で検出する機能を設定することもできます。



設定項目	機能
Pipette Capacitance Neutralization	電極容量の補正機能 -8 ~ 16 pF (50M, 500M), -3 ~ 6 pF (5G)
Disable if oscillation detected	発振の検出機能 検出後の動作は Option ツールの Auto タブで設定

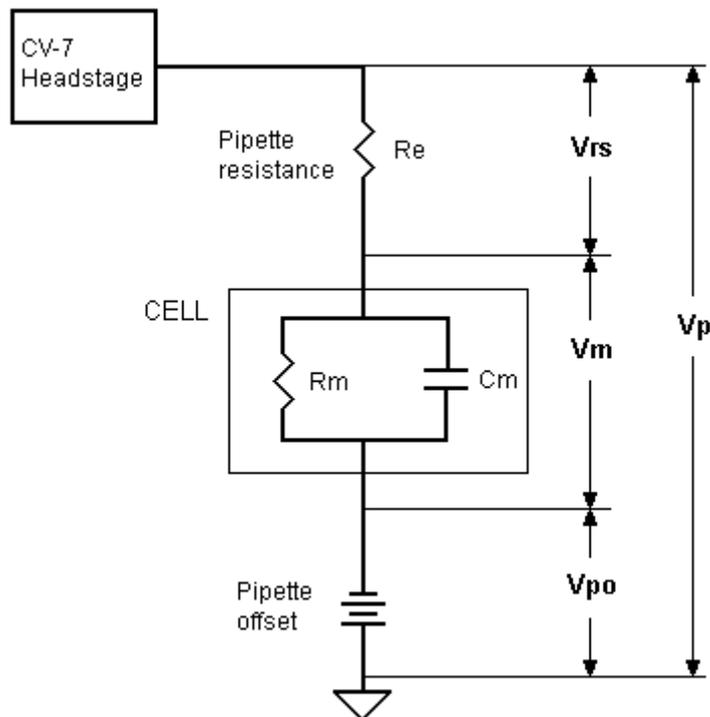
Primary Output

Primary Output 端子から出力する信号を選択し、ゲインやフィルターなどを設定します。また、この設定はメータ表示には反映されません。



Primary Output の出力信号

Primary Output	信号
Membrane Potential	膜電位 V_m
Membrane Current	膜電流
Command Current	コマンド電流
100x AC Membrane Potential	膜電位 $100x (V_m + V_{rs})$
External Command Current	外部コマンド電流
Auxiliary 1 Potential/Current	追加ヘッドステージ1の膜電流 / 膜電位
Auxiliary 2 Potential/Current	追加ヘッドステージ2の膜電流 / 膜電位



Primary Output の設定

設定項目	機能
Gain	Primary Output 端子の出力ゲイン 1-2000
Bessel / Butterworth	Primary Output 端子の4次ローパスフィルタ Bessel: 2-30kHz, Bypass Butterworth: 3-45kHz, Bypass
AC	Primary Outputs 端子の1次ハイパスフィルタ DC, 0.1, 1, 3, 10, 30, 100, 300Hz
Scope	Scope 端子の2次ローパスフィルタ 1k, 3k, 10k, Bypass Scope 端子は Primary Output と同じ信号を出力しますが、フィルターのみ個別に設定することができます。
Output Zero	Primary Output 端子の DC キャンセル機能 ±3000mV
Bridge Balance	電極抵抗の補正機能 25MΩ(50M), 250MΩ(500M), 2.5GΩ(5G)
Clear + / -	大電流コマンド 電極が詰まったとき、細胞に差し込むときに使用します。

Secondary Output

Secondary Output 端子から出力する信号を選択し、ゲインとフィルターを設定します。

Secondary Output: Membrane Current (0.5V/nA)
Gain: 1 Lowpass Filter: 10 kHz

Secondary Output の出力信号

Secondary Output	信号
Membrane Potential	膜電位 (Vm + Vrs)
Membrane Current	膜電流
Pipette Potential	$V_p = V_m + V_{rs} + V_{po}$
100x AC Membrane Potential	膜電位 100x (Vm + Vrs)
External Command Current	外部コマンド電流
Auxiliary 1 Potential/Current	追加ヘッドステージ1の膜電流 / 膜電位
Auxiliary 2 Potential/Current	追加ヘッドステージ2の膜電流 / 膜電位

Secondary Output の設定

設定項目	機能
Gain	Secondary Output 端子の出力ゲイン 1-100
Lowpass Filter	Secondary Output 端子の1次ローパスフィルタ 10kHz / Bypass

Pulse, Zap

シングルのコマンドパルスの設定で、各ボタンをクリックするとコマンドが印加されます。



設定項目	機能
Pulse	シングルのパルスコマンド電圧 電流: $\pm 200\text{nA}$ (50M), $\pm 20\text{nA}$ (500M), $\pm 2\text{nA}$ (5G) 時間: 0.1-500ms
Zap	大電流コマンド 時間: 0.1-50ms 電極が詰まったとき、細胞に差し込むときに使用します。