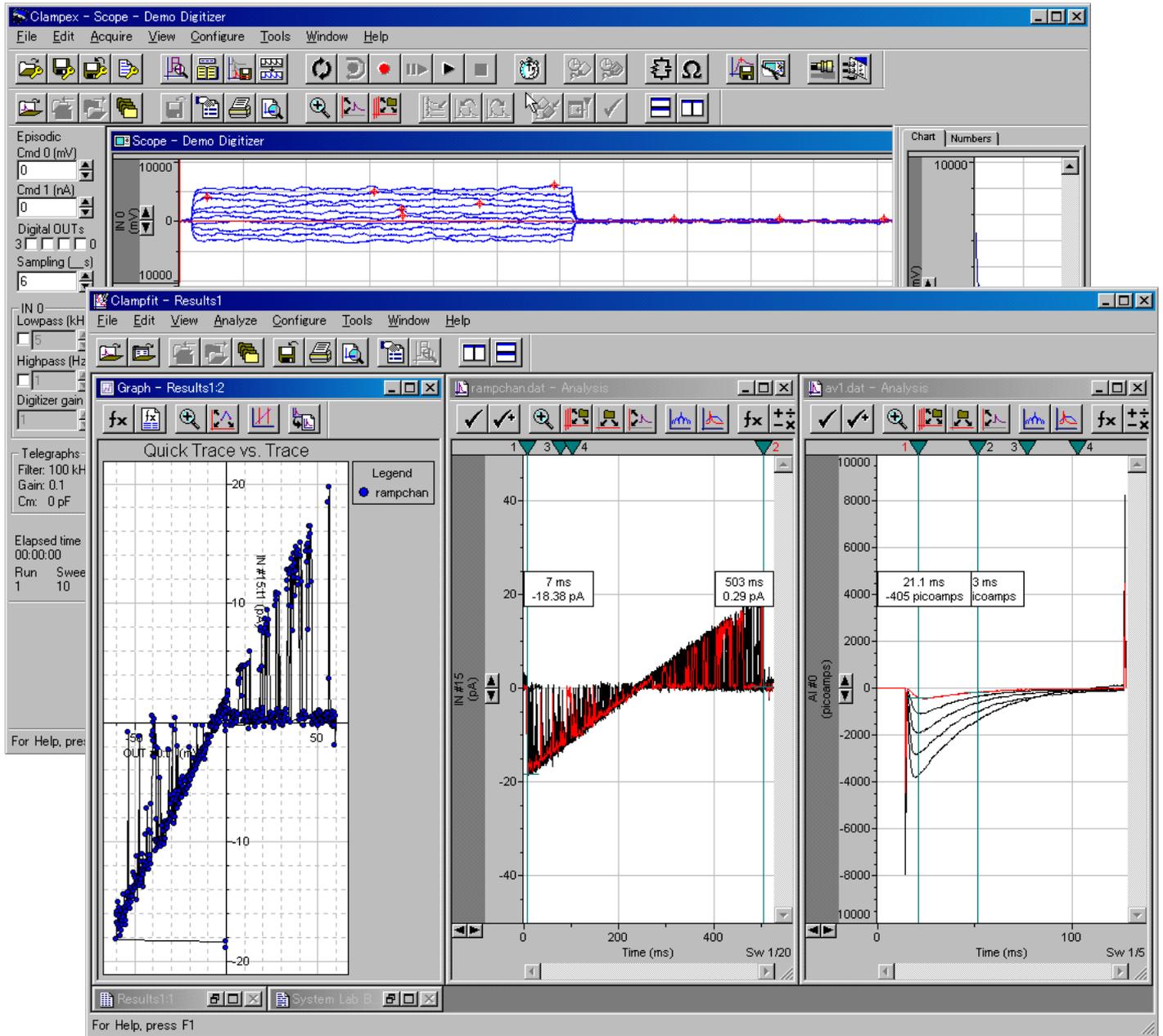


pCLAMP8マニュアル AxoPatch偏



目次

第 1 章	注意事項	1
第 2 章	配線	3
2.1	Digidata1322A の端子説明	3
2.1.1	フロントパネル (表面)	3
2.1.2	リアパネル (裏面)	4
2.2	AxoPatch200B の端子説明	5
2.2.1	フロントパネル (表面)	5
2.2.2	リアパネル (裏面)	5
2.3	AxoPatch1D の端子説明	6
2.3.1	フロントパネル (表面)	6
2.3.2	リアパネル (裏面)	7
2.4	配線例	8
2.4.1	VoltageCLAMP のみ	8
2.4.2	CurrentCLAMP のみ	8
2.4.3	VoltageCLAMP , CurrentCLAMP	9
2.4.4	ダブルパッチ	9
第 3 章	電源の投入・切断	11
3.1	電源の投入順序	11
3.2	電源の切断順序	11
第 4 章	データ刺激・取得ソフトウェア : Clampex	13
4.1	Digidata1322A の認識	13
4.2	AxoPatch200B に関する設定	15
4.2.1	Telegraph	15
4.2.2	LabBench	16
4.2.3	刺激	16
4.3	AxoPatch1D に関する設定	18
4.3.1	Telegraph	18
4.3.2	LabBench	19
4.3.3	刺激	19

4.4	データ取得	21
4.5	シールテスト機能	22
4.5.1	SealTest の設定	22
4.5.2	SealTest の測定	23
4.5.3	MembraneTest の設定	24
4.5.4	MembraneTest の測定	25
4.6	データ取得の各種設定・保存方法	26
4.6.1	データ取得モードの設定	27
	Gap-free モード	28
	Fixed-length events モード	29
	Episodic stimulation モード	31
	Variable-length events モード	33
	High-speed oscilloscope モード	35
	データ取得 (入力) チャンネルの設定	36
	刺激 (出力) チャンネルの設定	37
4.6.2	刺激波形の作成	38
	刺激波形作成例 (矩形波)	39
	刺激波形作成例 (複数の矩形波)	42
	刺激波形作成例 (複数の矩形波 + 矩形波)	44
	刺激波形作成例 (時間幅の変化のある矩形波)	46
	刺激波形作成例 (ランプ波)	48
	刺激波形作成例 (複数のランプ波)	50
4.6.3	データ取り込み	52
	データの保存フォルダー	52
	画面で確認	52
	ファイルへデータを書き込む	52
	繰り返し	53
第 5 章	データ解析ソフトウェア : Clampfit	55
5.1	解析	55
5.1.1	I-V カーブ	55
5.1.2	Trace vs. Trace カーブ	59
5.1.3	Fitting	63
5.2	印刷	65
第 6 章	パッチクランプ増幅器 : AxoPatch200B	69
6.0.1	フロントパネル (表面)	69
6.0.2	リアパネル (裏面)	70
6.0.3	モデルセル	70
6.1	操作方法	71

6.1.1	BATH	72
6.1.2	PATCH	74
6.1.3	WHOLE CELL	75
6.2	その他の機能	77
6.2.1	MODE	77
6.2.2	ZAP	77
6.2.3	OUTPUT GAIN(α),LOWPASS BESSEL FILTER	77
第 7 章	パッチクランプ増幅器 : AxoPatch1D	79
7.0.4	フロントパネル (表面)	79
7.0.5	リアパネル (裏面)	80
7.0.6	モデルセル	81
7.1	操作方法	82
7.1.1	BATH	83
7.1.2	PATCH	85
7.1.3	WHOLE CELL	86
7.2	その他の機能	88
7.2.1	MODE	88
7.2.2	ZAP	88
7.2.3	GAIN(α),-3dB FREQ.(Hz)	88
7.2.4	STEP COMMAND	89
第 8 章	トラブルシューティング・Q & A	91
8.1	トラブルシューティング	91
8.1.1	Digidata1322A が動作しない場合は。	91
8.1.2	Clampex で Digidata1322A の設定が行えない場合	92
8.1.3	Clampex で AxoPatch200B の制御が行えない場合	92
8.2	Q & A	93
8.2.1	pCLAMP 用のコンピュータに MO などの外部記憶装置を増設したい。	93

第 1 章

注意事項

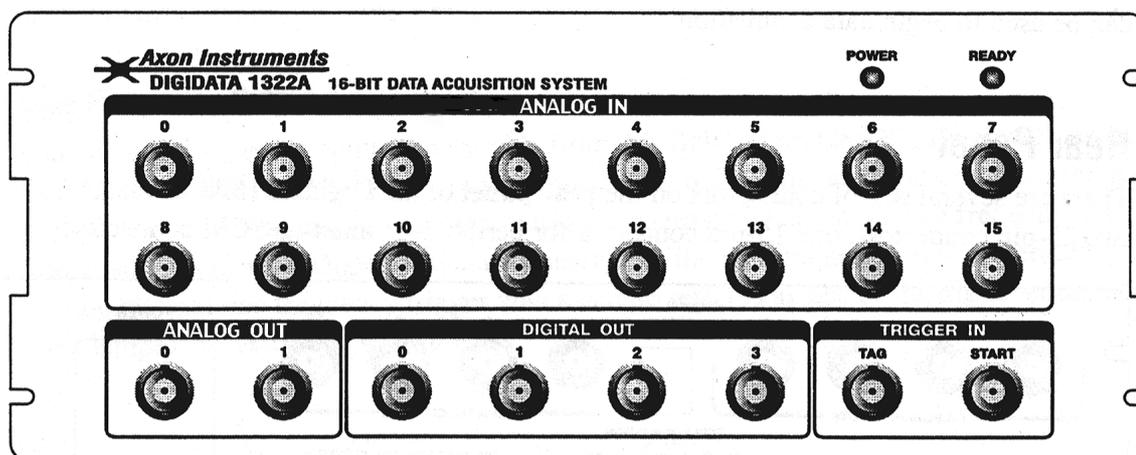
1. コンピュータの電源が入っている時に、Digidata のケーブルを外したり、電源を切ったりしないで下さい。
2. データ測定中は、できる限り Clampex だけを御利用下さい。
3. 増幅器の電源が入っている時に、裏面のヘッドステージ端子を抜き差ししないで下さい

第2章

配線

2.1 Digidata1322A の端子説明

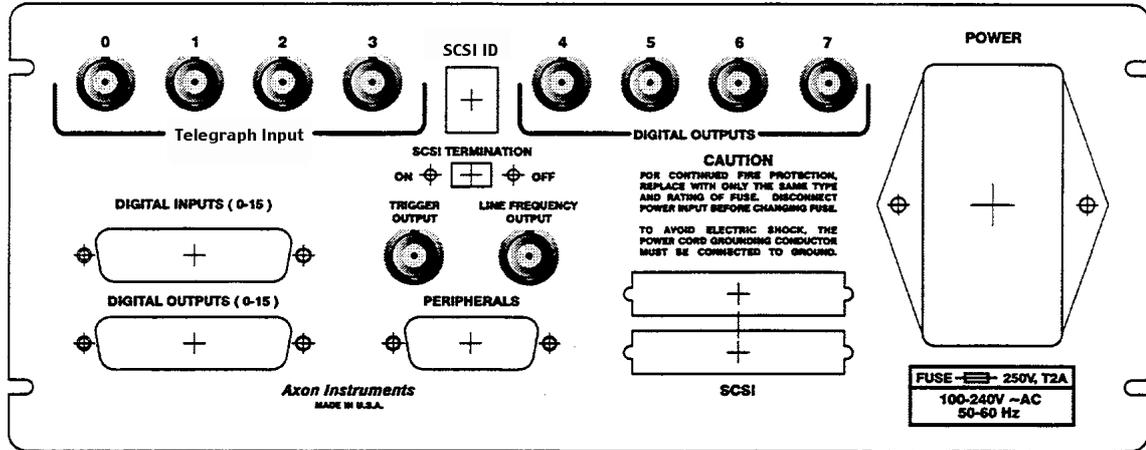
2.1.1 フロントパネル (表面)



接続に利用する端子は、次の端子です。

- ANALOG IN 0,1,2,3...,14,15
- ANALOG OUT 0,1
- DIGITAL OUT 0,1,2,3
- TRIGGER IN TAG,START

2.1.2 リアパネル(裏面)

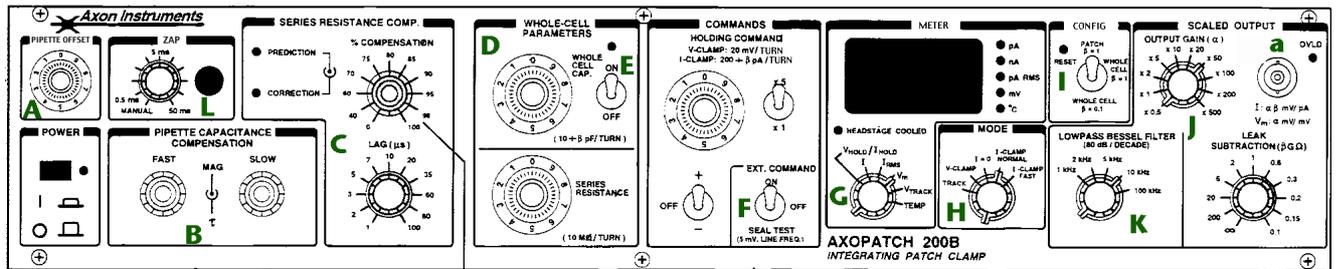


接続に利用する端子は、次の端子です。

- Telegraph Input 0,1,2,3
- DIGITAL OUTPUTS 4,5,6,7

2.2 AxoPatch200B の端子説明

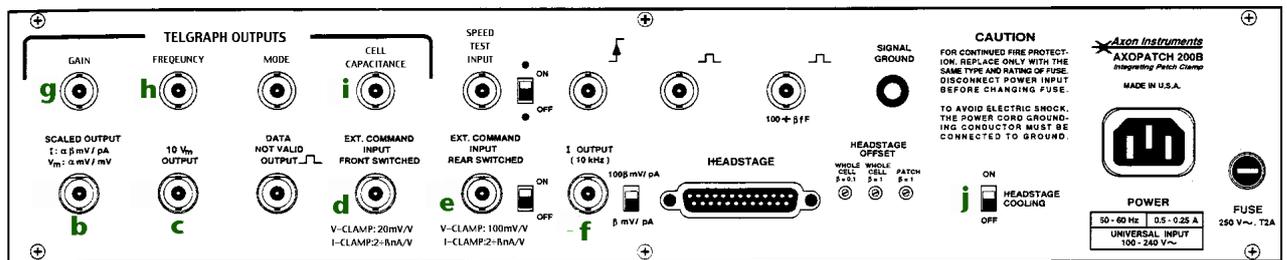
2.2.1 フロントパネル (表面)



接続に利用する端子は、次の端子です。

a SCALED OUTPUT

2.2.2 リアパネル (裏面)

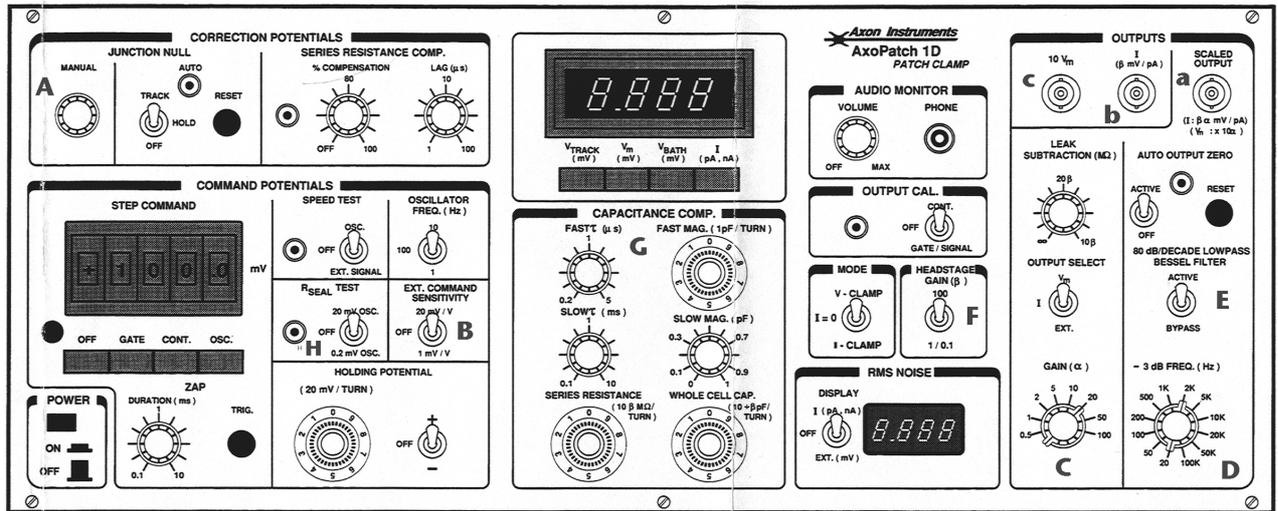


接続に利用する端子は、次の端子です。

- b SCALED OUTPUT
- c $10V_m$ OUTPUT
- d EXT. COMMAND INPUT FRONT SWITCHED
- e EXT. COMMAND INPUT REAR SWITCHED
- f I OUTPUT
- g GAIN
- h FREQUENCY
- i CELL CAPACITANCE

2.3 AxoPatch1D の端子説明

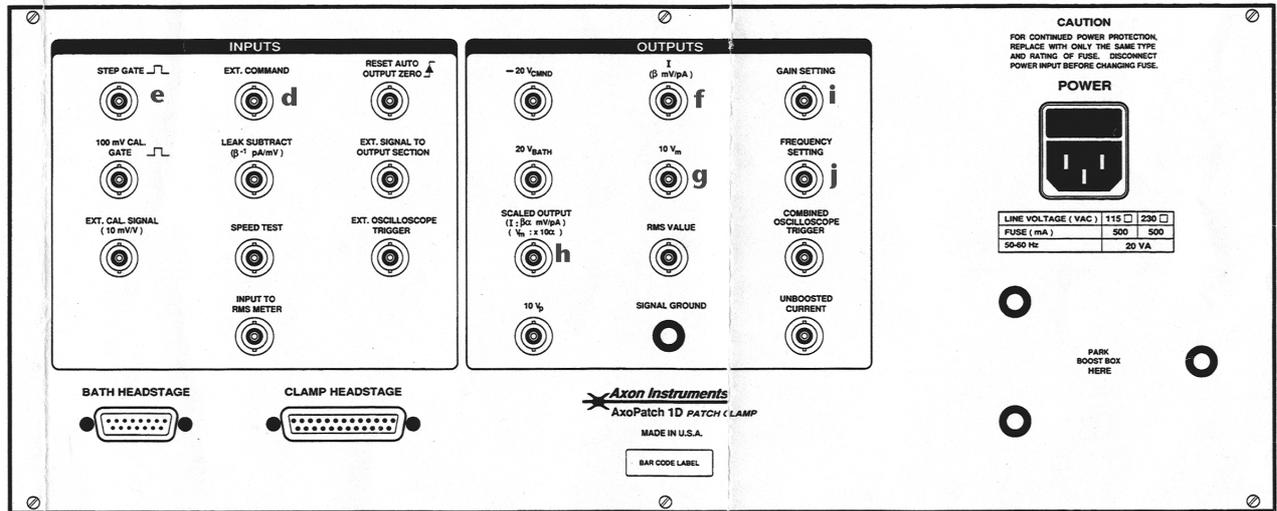
2.3.1 フロントパネル (表面)



接続に利用する端子は、次の端子です。

- a SCALED OUTPUT
- b I
- c 10Vm
- B EXT. COMMAND SENSITIVITY

2.3.2 リアパネル(裏面)



接続に利用する端子は、次の端子です。

- d EXT. COMMAND
- e STEP GATE
- f I ($\beta mV/pA$)
- g 10V_m
- h SCALED OUTPUT
- i GAIN SETTING
- j FREQUENCY SETTING

2.4 配線例

- AxoPatch200B と AxoPatch1D は、端子説明で記載したアルファベットで記載しています。
- この例では、Digidata1322A の DIGITAL OUT や IN、TRIGGER IN は利用しません。これらの端子は、他の機器と同期をとりたい時のために利用します。
- AxoPatch200B の EXT.COMMAND スイッチ (F) を ON(上側) にして下さい。
- AxoPatch1D の EXT.COMMAND SENSITIVITY スイッチ (B) を 20mV/V(標準) または 1mV/V にして下さい。
- オシロスコープで観察したい場合は、T 管などで接続してください。

2.4.1 VoltageCLAMP のみ

Digidata1322A	AxoPatch200B	AxoPatch1D	用途
ANALOG OUT 0	d	d	電圧刺激 (必須)
ANALOG IN 0	b	h(a)	反応した膜電流取得 (必須)
ANALOG IN 1	c	g(c)	実際の電圧刺激取得
Telegraph Input 0	g	i	ゲインを PC で認識するため
Telegraph Input 1	h	j	遮断周波数を PC で認識するため
Telegraph Input 2	i	/	膜容量を PC で認識するため

2.4.2 CurrentCLAMP のみ

Digidata1322A	AxoPatch200B	AxoPatch1D	用途
ANALOG OUT 0	d	d	電流刺激 (必須)
ANALOG IN 0	b	h(a)	反応した膜電位取得 (必須)
ANALOG IN 1	f	f(b)	実際の電流刺激取得
Telegraph Input 0	g	i	ゲインを PC で認識するため
Telegraph Input 1	h	j	遮断周波数を PC で認識するため
Telegraph Input 2	i	/	膜容量を PC で認識するため

2.4.3 VoltageCLAMP , CurrentCLAMP

Digidata1322A	AxoPatch200B	AxoPatch1D	用途
ANALOG OUT 0	d	d	刺激 (必須)
ANALOG IN 0	b	h(a)	反応した信号取得 (必須)
ANALOG IN 1	c	g(c)	膜電位取得
ANALOG IN 2	f	f(b)	膜電流取得
Telegraph Input 0	g	i	ゲインを PC で認識するため
Telegraph Input 1	h	j	遮断周波数を PC で認識するため
Telegraph Input 2	i	/	膜容量を PC で認識するため

2.4.4 ダブルパッチ

Digidata1322A	AxoPatch200B No1	AxoPatch200B No2	用途
ANALOG OUT 0	d	d	刺激
ANALOG IN 0	/	b	反応した信号取得
Telegraph Input 0	/	g	ゲインを PC で認識するため
Telegraph Input 1	/	h	遮断周波数を PC で認識するため
Telegraph Input 2	/	i	膜容量を PC で認識するため

第3章

電源の投入・切断

3.1 電源の投入順序

1. Digidata1320 シリーズの電源を入れます。
2. コンピュータ周辺機器の電源を入れます。
3. ディスプレイの電源を入れます。
4. コンピュータの電源を入れます。
5. アンプの電源を入れます。
6. その他必要な電源を入れます。

3.2 電源の切断順序

基本的には、電源投入順序の逆となります。

1. アンプの電源を切ります。
2. コンピュータを終了します。
3. コンピュータの電源を切ります。
4. コンピュータ周辺機器の電源を切ります。
5. ディスプレイの電源を切ります。
6. Digidata1320 シリーズの電源を切ります。

第 4 章

データ刺激・取得ソフトウェア：Clampex

Clampex は、データ刺激取得用ソフトウェアです。

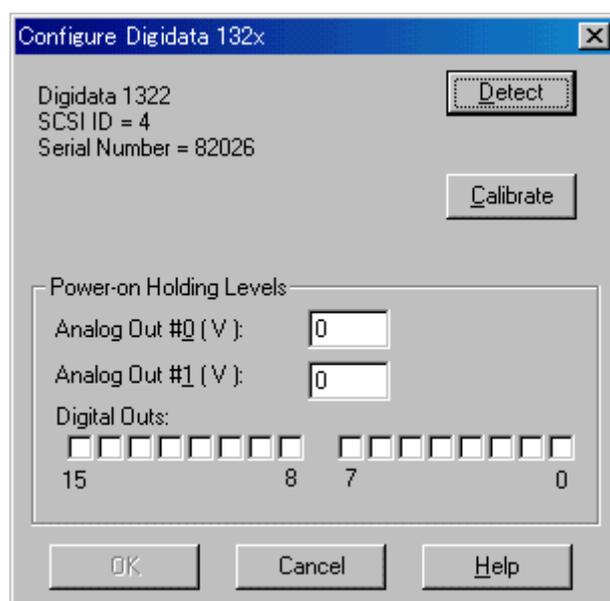
4.1 Digidata1322A の認識

Configure/Select Digitizer メニューを選択しますと、次の画面が表示されます。

ここで、画面上に No dongle と表示されている場合は、プリンタポートにきちんと dongle (パラレルポートキー) につけて下さい。

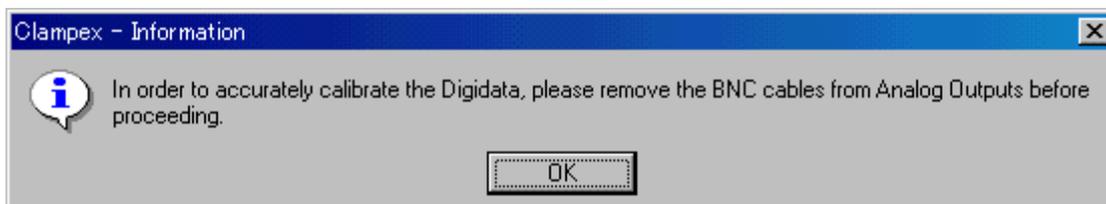


Digitizer を Digidata1320 を選択し、**Configure...** を押して下さい。左のような画面が表示されます。

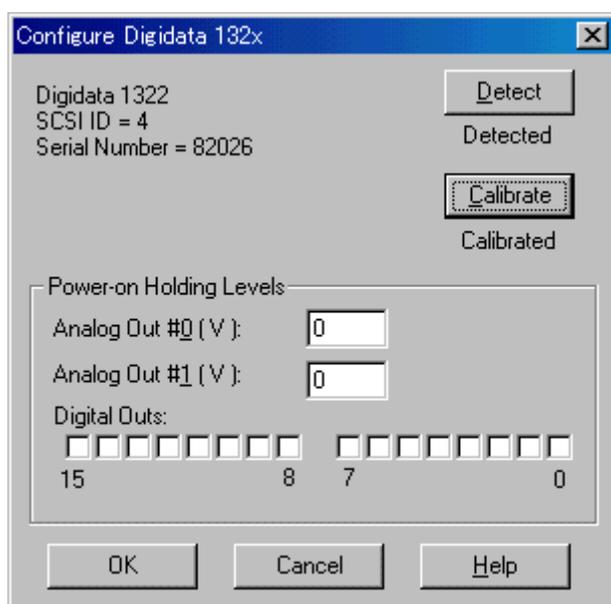


キャリブレーションを行うため、Digidata1322A の Analog OUT 端子に接続されているものを外して下さい。**Detect** を押し、**Calibrate** を押して下さい。

次のような画面が表示された場合は、**OK**を押して下さい。



問題ないようでしたら、次のような画面になります。



OKが有効になりますので、**OK**を押して下さい。

認識しない場合は、次の項目を確認し、コンピュータを再起動して、再度設定し直して下さい。

- Digidata1320 の電源は入っていますか？
- SCSI ボードは認識されていますか？
- SCSI ケーブルが外れていませんか？

4.2 AxoPatch200B に関する設定

Digidata と AxoPatch200B との接続によって設定が違います。ここでは、9 頁の 2.4.3 の接続を例の設定していきます。

4.2.1 Telegraph

AxoPatch200B の OUTPUT GAIN(α)[J]、LOWPASS BESSEL FILTER[K]、WHOLE CELL CAP.[D] を Clampex で認識する機能です。この設定をしますと、OUTPUT GAIN(α) を変更しても、Clampex が自動で変換率を変更してくれます。

「Configure/Telegraphed Instruments...」メニューを選択しますと、右のような画面が表示されます。

Telegraphs をチェックし、Telegraph 機能が有効状態として下さい。もし不要ならば、チェックを外して下さい。

Instrument type

アンプの種類を選択します。

該当する AxoPatch200 を選択して下さい。

- AxoPatch200 CV201
- AxoPatch200 CV202
- AxoPatch200B

The Analog IN channel ... connected.

Scaled OUTPUT と接続している端子を選択します。

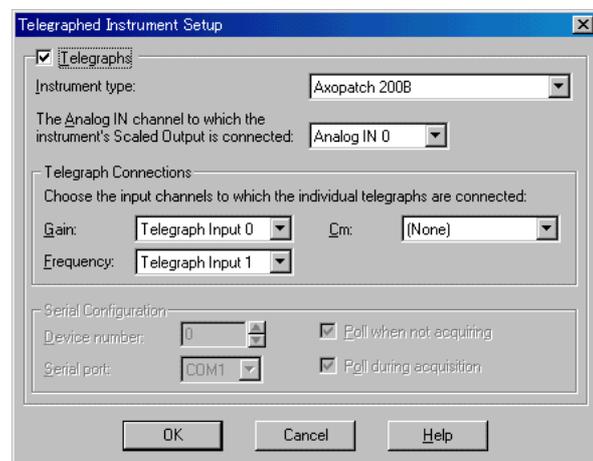
Analog IN 0 を選択します。

Telegraph Connections TELEGRAPH OUTPUTS 端子が Digidata のどこに接続されているかを選択します。

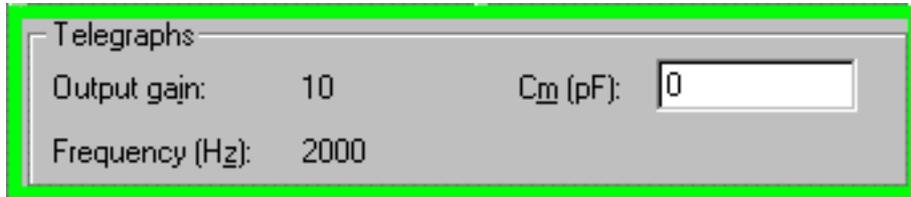
Gain GAIN[g] と接続されている端子を選択します。

Frequency Frequency[h] と接続されている端子を選択します。

Cm Cell Capacitance[i] と接続されている端子を選択します。



Telegraph 機能が有効になっているかの確認方法は、Configure/LabBench メニューを選択し、Input タブを選択しますと、次のような画面が一番下に表示されます。



それぞれの意味は、次の通りです。

Output gain OUTPUT GAIN(α)[J] の値

Cm(pF) WHOLE CELL CAP.[D] の値

Frequency(Hz) LOWPASS BESSEL FILTER[K] の値

4.2.2 LabBench

単位の設定と単位変換率の設定を行います。



Configure/LabBench メニュー () を選択してください。

4.2.3 刺激

LabBench ウィンドウの Output Signals タブを選択しますと、右のような画面が表示されます。

ここで、Digidata の出力チャンネルと出力信号名を設定します。

使用したい信号名がなければ、**Add...** を押し、新規に信号名を追加して下さい。不要な信号名は、**Delete...** で削除し、信号名を変更したい場合は、**Rename...** を利用し、変更して下さい。

Digitizer Channels

Digidata の Analog OUT チャンネルの設定。

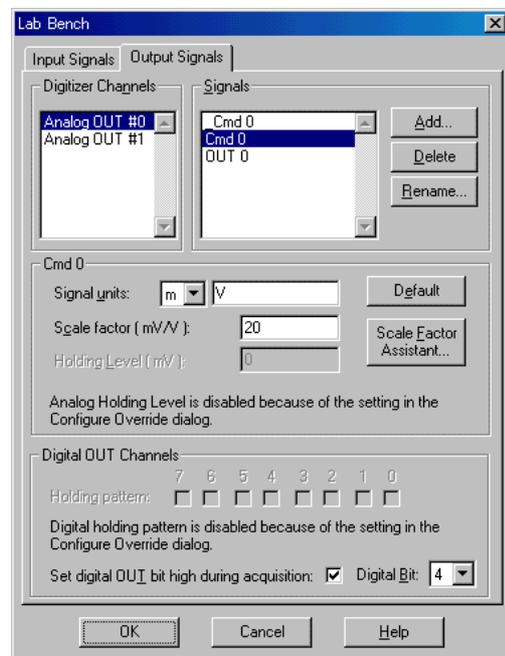
Analog OUT #0 を選択します。

Signals 出力信号名の設定。

Cmd 0 とします。

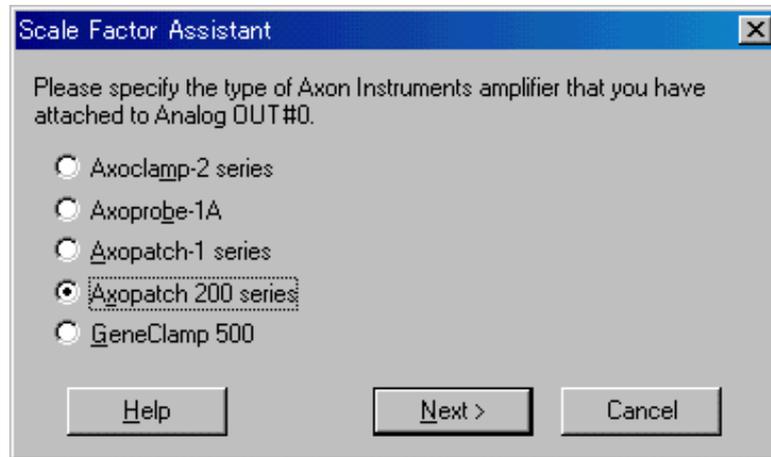
次に、出力信号名に該当する変換式を設定します。

Signal units 測定単位を設定します。



Scale factor 変換率を設定します。

計算して、設定を入力しても良いのですが、AxoPatch200B は、**Scale Factor Assistant...** を利用する事により、簡単に設定できます。



Scale Factor Assistant... を押しますと、左のような画面が表示されます。

AxoPatch200B ですから、AxoPatch 200 series を選択し、**Next** を押して下さい。

次の設定を行っていきます。

1. Mode Setting モードの設定を行います。
AxoPatch200B と同じ設定にして下さい。
2. Config Setting アンプの Config. 設定を行います。
Mode Setting で、CurrentClamp を選択した場合有効になります。
3. Ext. Command Input 接続端子を設定します。
Ext Command Input Front Switched
20mV/V
Ext Command InputRear Switched
100mV/V(AxoPatch200B only)

設定が終わりましたら、**Finish** を押して下さい。
これで、

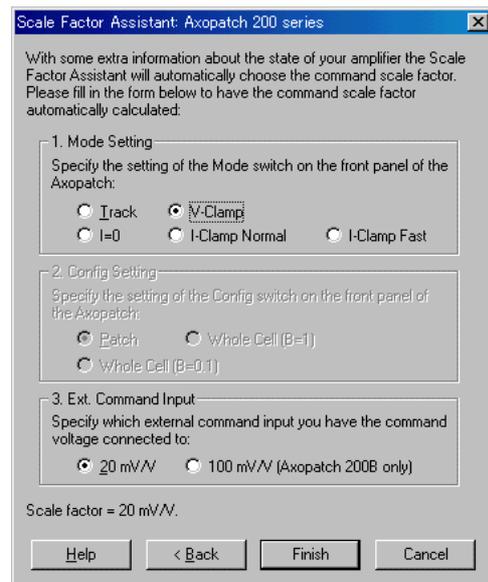
- Signal units
- Scale factor

が設定されます。

ちなみに、Scale factor の計算方法は、

$$\text{コンピュータへの入力電圧 [V]} \div \text{アンプからの刺激電圧 [Signalunits]} = \text{Scalefactor}$$

となります。



4.3 AxoPatch1D に関する設定

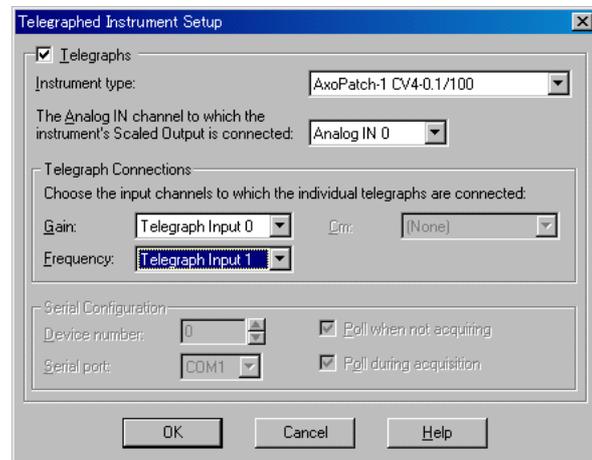
Digidata と AxoPatch1D との接続によって設定が違います。ここでは、9 頁の 2.4.3 の接続を例の設定していきます。

4.3.1 Telegraph

AxoPatch1D の OUTPUT GAIN(α)[C]、LOWPASS BESSEL FILTER[D] を Clampex で認識する機能です。この設定をしますと、OUTPUT GAIN(α) を変更しても、Clampex が自動で変換率を変更してくれます。

「Configure/Telegraphed Instruments...」メニューを選択しますと、右のような画面が表示されます。

Telegraphs をチェックし、Telegraph 機能が有効状態として下さい。もし不要ならば、チェックを外して下さい。



Instrument type

アンプの種類を選択します。
該当する AxoPatch1 の選択して下さい。

- AxoPatch-1 CV4-0.1/100
- AxoPatch-1 CV4-1/100
- AxoPatch-1B CV4-0.1/100(inv)
- AxoPatch-1B CV4-1/100(inv)

The Analog IN channel ... connected.

Scaled OUTPUT と接続している端子を選択します。

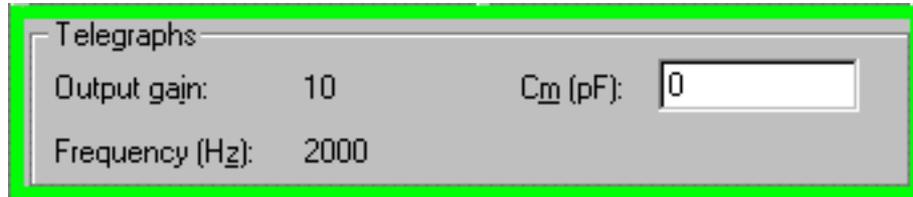
Analog IN 0 を選択します。

Telegraph Connections TELEGRAPH OUTPUTS 端子が Digidata のどこに接続されているかを選択します。

Gain GAIN[i] と接続されている端子を選択します。

Frequency Frequency[j] と接続されている端子を選択します。

Telegraph 機能が有効になっているかの確認方法は、Configure/LabBench メニューを選択し、Input タブを選択しますと、次のような画面が一番下に表示されます。



それぞれの意味は、次の通りです。

Output gain GAIN(α)[C] の値

Frequency(Hz) -3dB FREQUENCY(Hz)[D] の値

4.3.2 LabBench

単位の設定と単位変換率の設定を行います。

Configure/LabBench メニュー () を選択してください。

4.3.3 刺激

LabBench ウィンドウの Output Signals タブを選択しますと、右のような画面が表示されます。

ここで、Digidata の出力チャンネルと出力信号名を設定します。

使用したい信号名がなければ、**Add...** を押し、新規に信号名を追加して下さい。不要な信号名は、**Delete...** で削除し、信号名を変更したい場合は、**Rename...** を利用し、変更して下さい。

Digitizer Channels

Digidata の Analog OUT チャンネルの設定。

Analog OUT #0 を選択します。

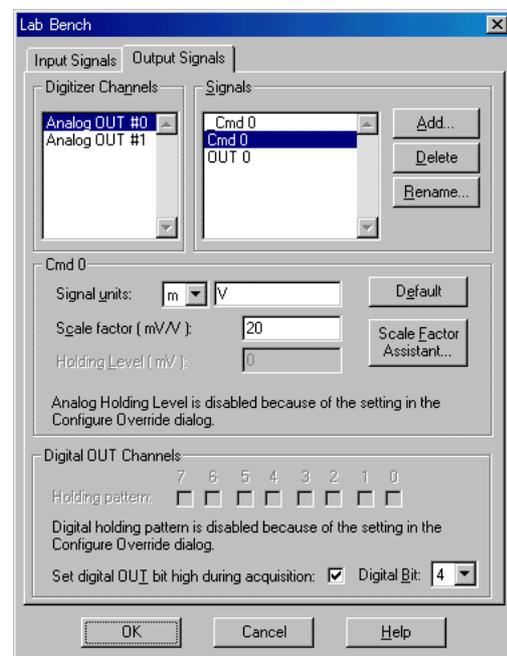
Signals 出力信号名の設定。

Cmd 0 とします。

次に、出力信号名に該当する変換式を設定します。

Signal units 測定単位を設定します。

Scale factor 変換率を設定します。



計算して、設定を入力しても良いのですが、AxoPatch1D は、Scale Factor Assistant... を利用する事により、簡単に設定できます。



Scale Factor Assistant... を押しますと、左のような画面が表示されます。

AxoPatch1D ですから、AxoPatch 1 series を選択し、Next を押して下さい。

次の設定を行っていきます。

1. Mode Setting モードの設定を行います。
AxoPatch1D と同じ設定にして下さい。
2. Config Setting アンプの Config. 設定を行います。
Mode Setting で、CurrentClamp を選択した場合有効になります。
3. Ext. Command Input EXT.COMMAND SENSITIVITY

設定が終わりましたら、Finish を押して下さい。

これで、

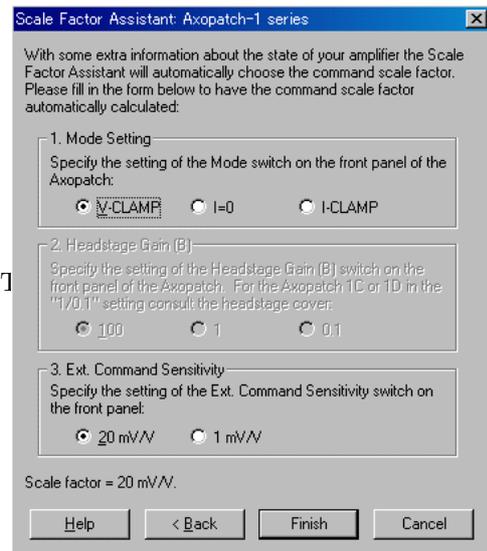
- Signal units
- Scale factor

が設定されます。

ちなみに、Scale factor の計算方法は、

$$\text{コンピュータへの入力電圧 [V]} \div \text{アンプからの刺激電圧 [Signalunits]} = \text{Scale factor}$$

となります。



4.4 データ取得



Configure/LabBench メニュー () を選択し、Input Signals タブを選択しますと、右のような画面となります。

まずは、Digidata の入力チャンネルと入力信号名を設定します。

使用したい信号名がなければ、**Add...** を押し、新規に信号名を追加して下さい。不要な信号名は、**Delete...** で削除し、信号名を変更したい場合は、**Rename...** を利用し、変更して下さい。

Digitizer Channels

Digidata の Analog IN チャンネルの設定

Analog IN #0 を選択します。

Signals 入力信号名の設定

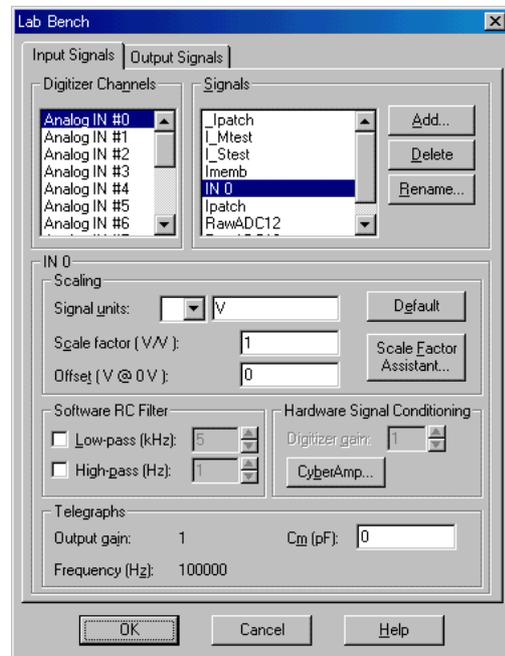
Imemb とします。

次に、入力信号名に該当する変換式を設定します。

Signal units 測定単位を設定します。

Scale factor 変換率を設定します。

計算して、設定を入力しても良いのですが、AxoPatch200B は、**Scale Factor Assistant...** を利用する事により、簡単に設定できます。



1. Mode Setting モードの設定を行います。

AxoPatch200B と同じ設定にして下さい。

2. Config Setting アンプの Config. 設定を行います。

AxoPatch200B と同じ設定にして下さい。

3. Preferred Signal Units

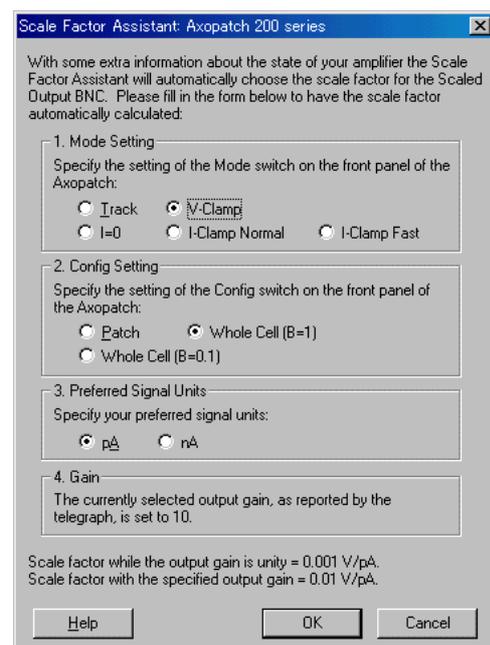
利用したい単位を選択します。

4. Gain テレグラフの GAIN の表示

設定が終わりましたら、**OK** を押して下さい。これで、

- Signal units
- Scale factor

が設定されます。



4.5 シールテスト機能

VoltageCLAMP でのみ利用できます。

矩形波の刺激電圧を出力し、その反応電流を測定し、膜抵抗や電極抵抗を測定します。

4.5.1 SealTest の設定

Configure/SealTestSetup メニューを選択しますと、次の画面が表示されます。

次の項目を設定してください。

Input signal

膜電流の信号名。

Imemb を選択します。

Seal Test signal

刺激波形の信号名。

Cmd0 を選択します。

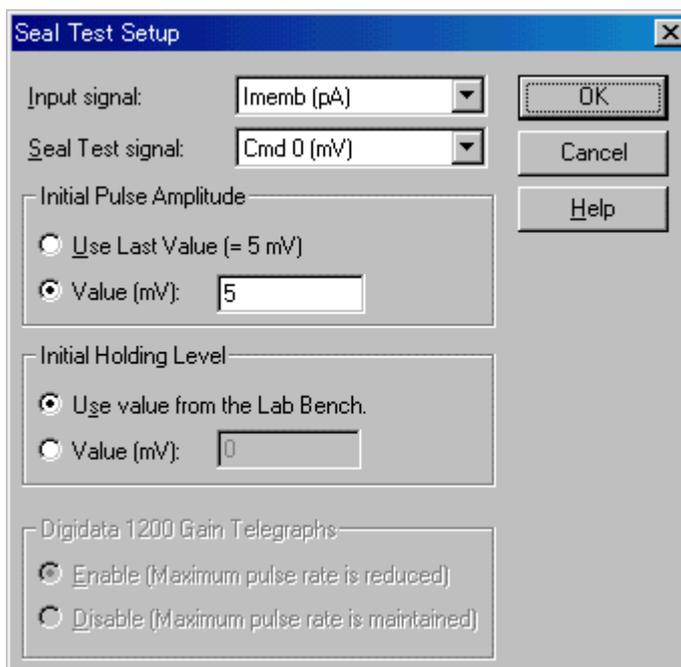
Initial Pulse Amplitude

矩形波の振幅を設定します。

5mV とします。

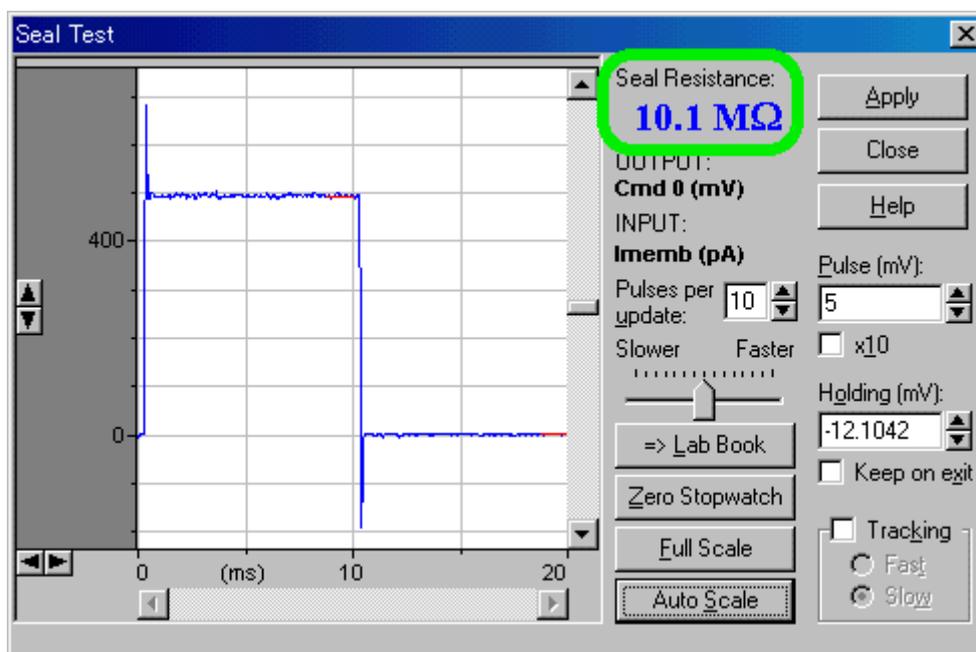
設定を終わりましたら、

OK を押して下さい。



4.5.2 SealTest の測定

Tools/SealTest... メニュー () を選択しますと、次の画面が表示されます。



Seal Resistance と書かれた所に、計算された抵抗が表示されます。

4.5.3 MembraneTest の設定

Configure/MembraneTestSetup メニューを選択しますと、次の画面が表示されます。

次の項目を設定してください。

Input signal

膜電流の信号名。

Imemb を選択します。

Membrane Test signal

刺激波形の信号名。

Cmd0 を選択します。

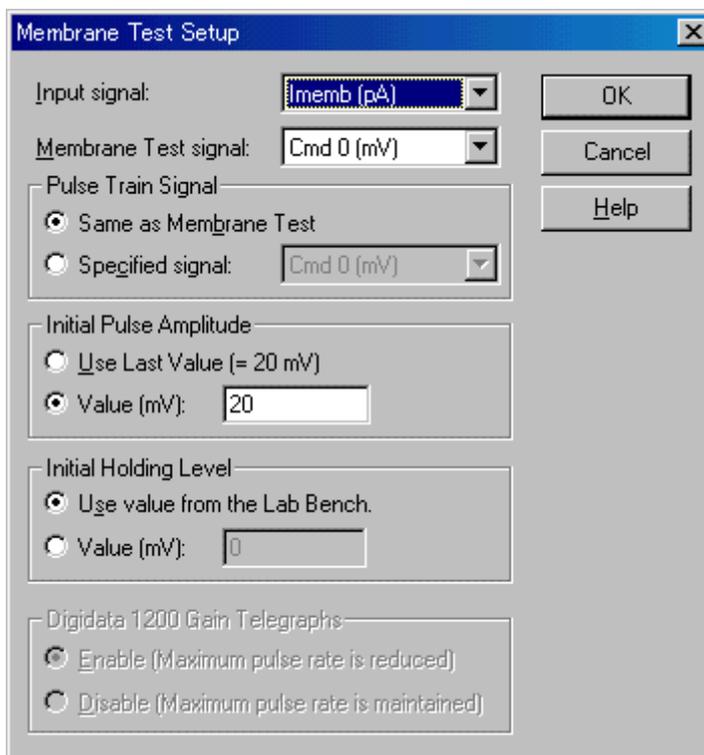
Initial Pulse Amplitude

矩形波の振幅を設定します。

5mV とします。

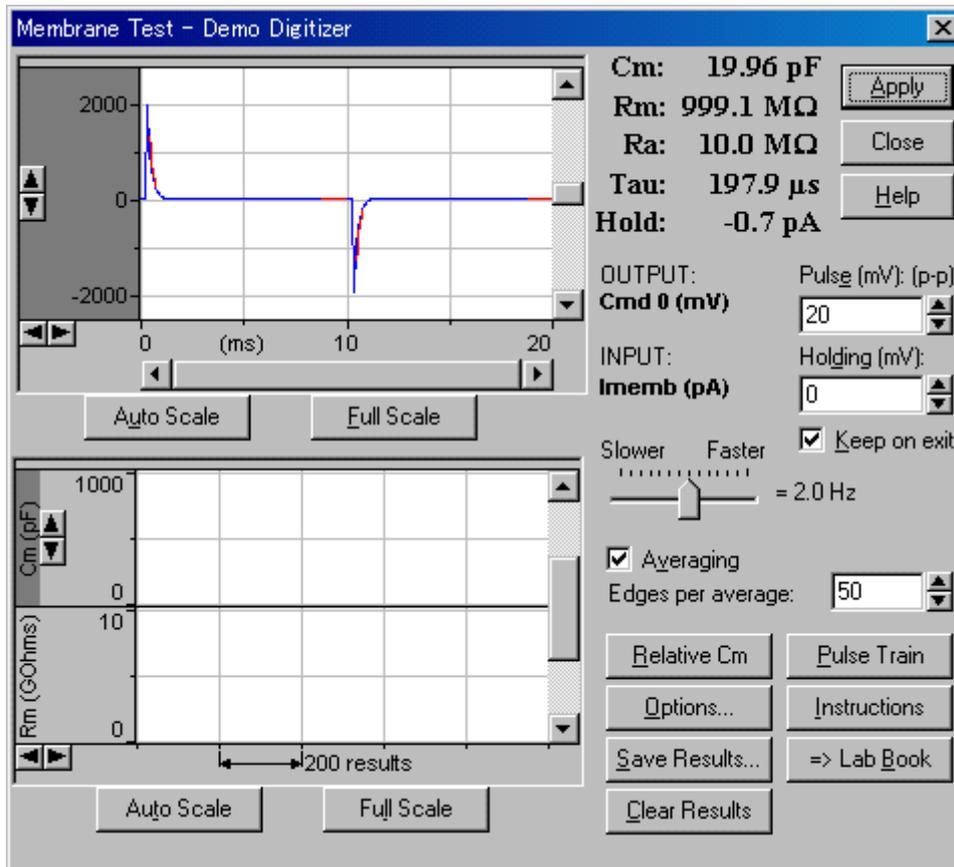
設定を終わりましたら、

OK を押して下さい。



4.5.4 MembraneTest の測定

Tools/MembraneTest... メニュー () を選択しますと、次の画面が表示されます。



次の項目を計算されます。

Cm 膜容量 (membrane capacitance)

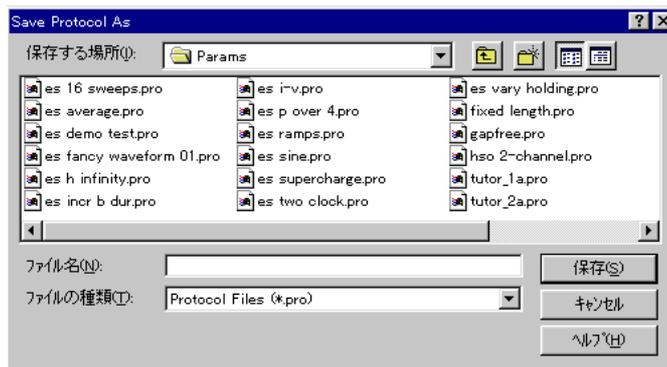
Rm 膜抵抗 (membrane resistance)

Ra 電極抵抗

Tau 時定数

4.6 データ取得の各種設定・保存方法

ここで設定する項目は、Acquire/Save Protocol メニュー () や Acquire/Save Protocol As...
メニュー () を選択しますと、次の画面が表示されます。ファイル名を指定し **OK** を押すと、プ

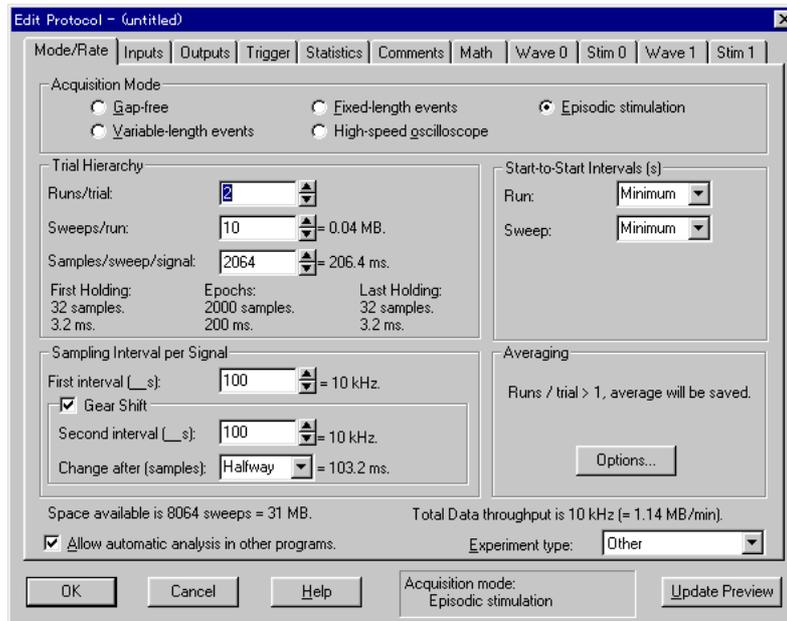


ロトコルファイルとして保存する事が出来ます。

また、保存しておいたプロトコルファイルは、Acquire/Open Protocol... メニュー () で読み出す事が出来ます。

4.6.1 データ取得モードの設定

Acquire/Edit Protocol メニュー () を選択し、Mode/Rate タブを選択します。



ここで、データ取得モード・サンプリングレートなどを設定します。

Acquisition Mode では、データの取得方法を選択(チェック)します。

Gap-free チャートレコーダのような全データ取り込みモード

Variable-length events, Fixed-length events 一定レベルの前後のみのデータ取り込みモード

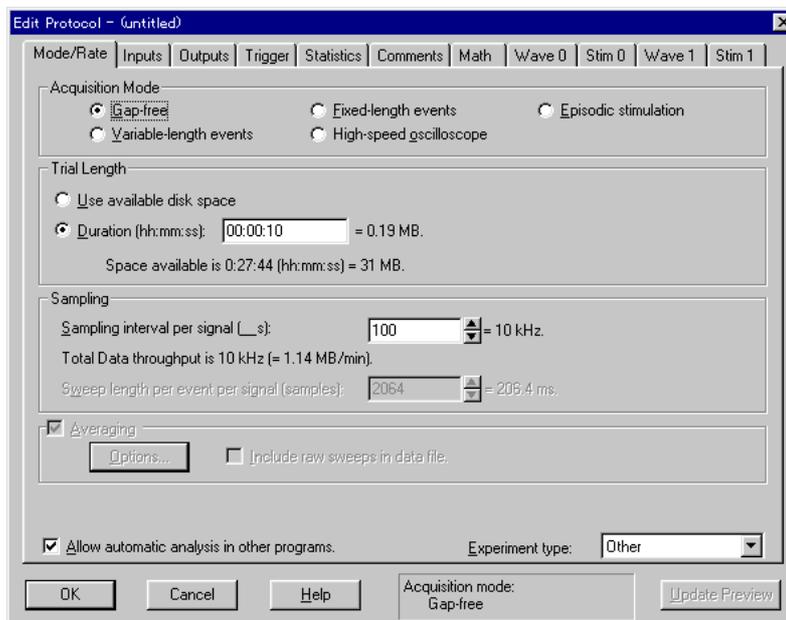
High-speed oscilloscope オシロスコープモード

Episodic stimulation 刺激を加えながら、データを取得するモード

データを取得しながら、解析する場合は、Allow automatic analysis in other programs. をチェックして下さい。

Gap-free モード

データ取得モードを Gap-free に設定しますと、次のような設定画面となります。



データ測定時間、サンプリングインターバルの設定を行います。

Trial Length データ測定時間の設定

Use available disk space ディスク容量の許す限りデータを取得します。

2行下に Space available is xx:xx:xx(hh:mm:ss)=yyMB と測定可能時間とディスク容量が表示されます。

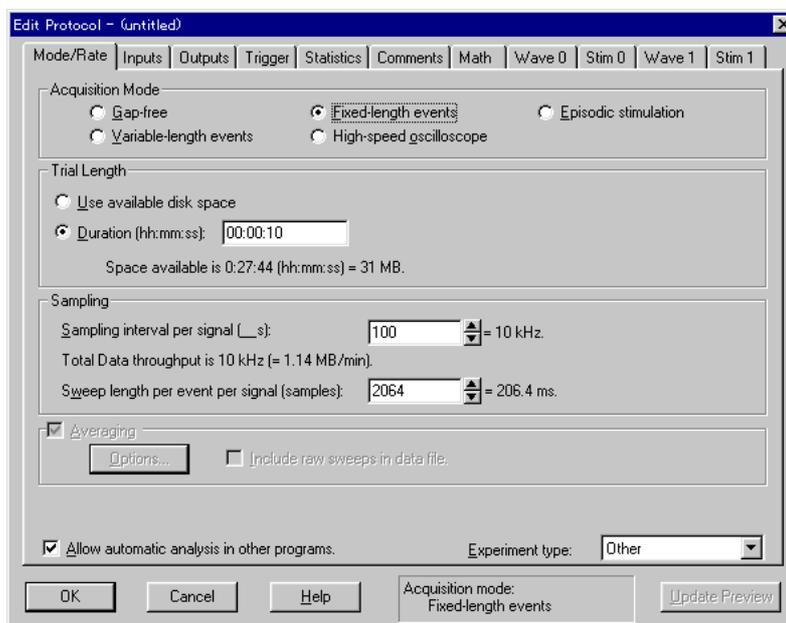
Duration(hh:mm:ss) データを測定する時間を入力します。

Sampling

Sampling Interval per Signal(μ s) サンプリングレートを設定します。

Fixed-length events モード

データ取得モードを Fixed-length events モードに設定しますと、次のような設定画面となります。



データの測定は、次のように行われます。

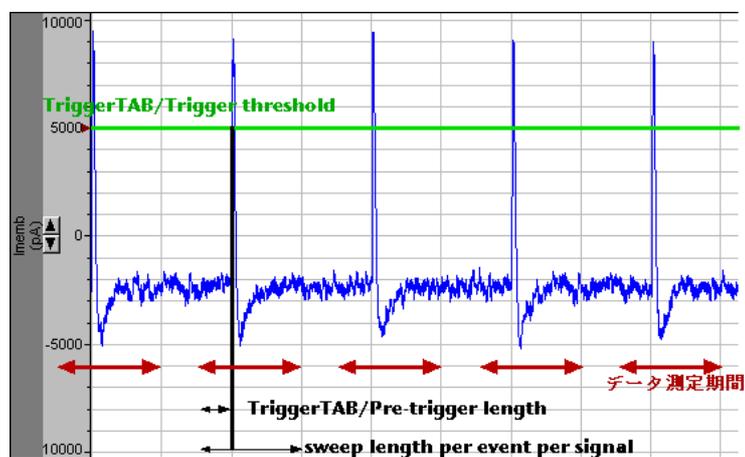


図 4.1: Fixed-length events モードのデータ取得例

データ測定時間、サンプリングインターバルの設定を行います。

Trial Length データ測定時間の設定

Use available disk space ディスク容量の許す限りデータを取得します。

2 行下に Space available is xx:xx:xx(hh:mm:ss)=yyMB と測定可能時間とディスク容量が表示されます。

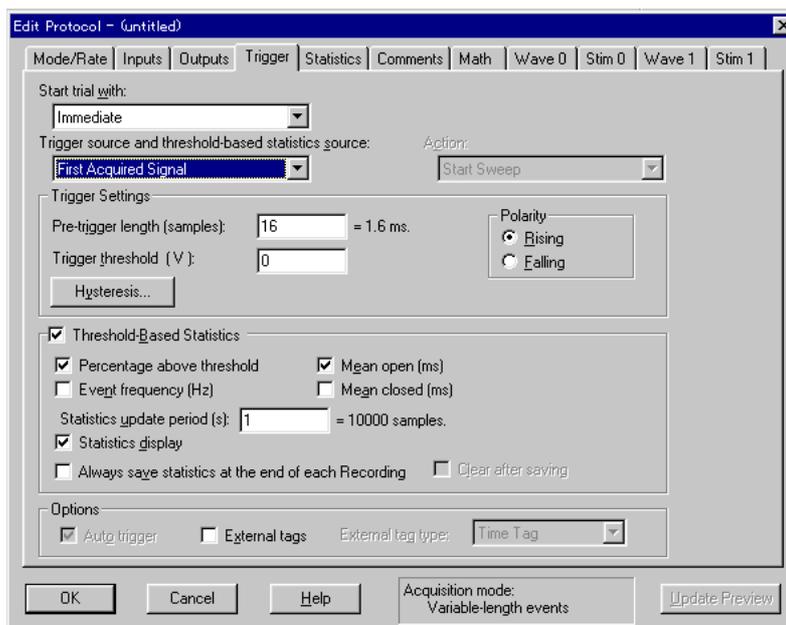
Duration(hh:mm:ss) データを測定する時間を入力します。

Sampling

Sampling Interval per Signal(μ s) サンプリングレートを設定します。

Sweep length per event per signal(samples) 図 4.1 を参照の事

Trigger タブを選択すると、次の画面が表示されます。



トリガー、データの測定時間の設定のために、Trigger Setting 項目の次の設定を行います。

Pre-trigger length (samples) 図 4.1 を参照の事

Trigger threshold 図 4.1 を参照の事

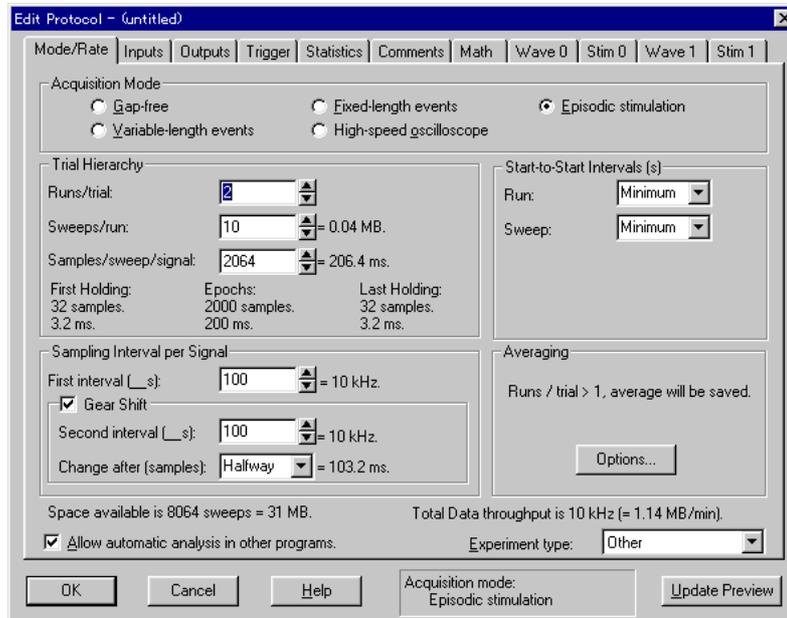
Polarity トリガーの動作するタイミングを指定します。

Rising 立ち上がり

Falling 立ち下がり

Episodic stimulation モード

データ取得モードを Episodic stimulation に設定しますと、次のような設定画面となります。



刺激波形の回数設定や待ち時間設定、サンプリングインターバルの設定を行います。

Trial Hierarchy sweep , run , trial 数の設定を行います。

Runs/trial 1trial 中の run 数を設定します。

Sweeps/run 1run 中の sweep 数を設定します。

Samples/sweep/signal 一回の sweep のサンプル数を設定します。

Start-to-Start Intervals(s)

Run 複数の Run を測定する時、Run の始まりから次の Run の始まりまでの時間を設定します

Sweep 複数の Sweep を測定する時、Sweep の始まりから次の Sweep の始まりまでの時間を設定します

Sampling Interval per Signal

First interval(μ s) サンプリングレートを設定します。

実際の刺激波形は、Waveform0 タブや Waveform1 タブで設定します。

刺激波形を加える場合は、通常、刺激波形例のように、複数の刺激を加えていきます。

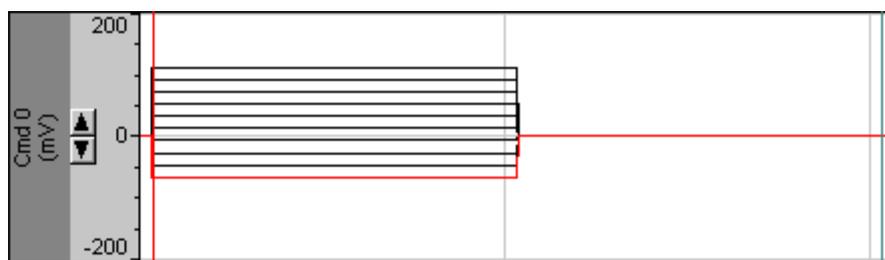


図 4.2: 刺激波形例

ここで、Clampex8 では、この中の一つの波形を Sweep と呼びます。刺激波形例のように sweep が

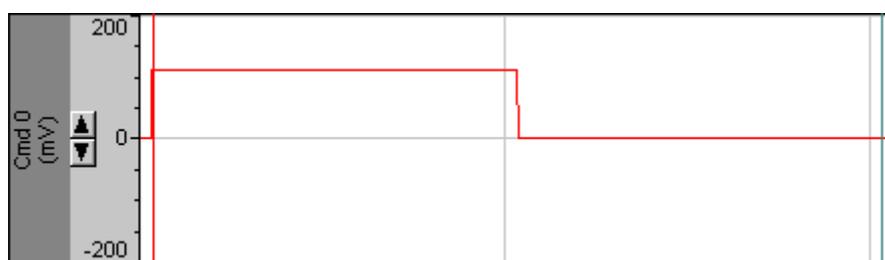


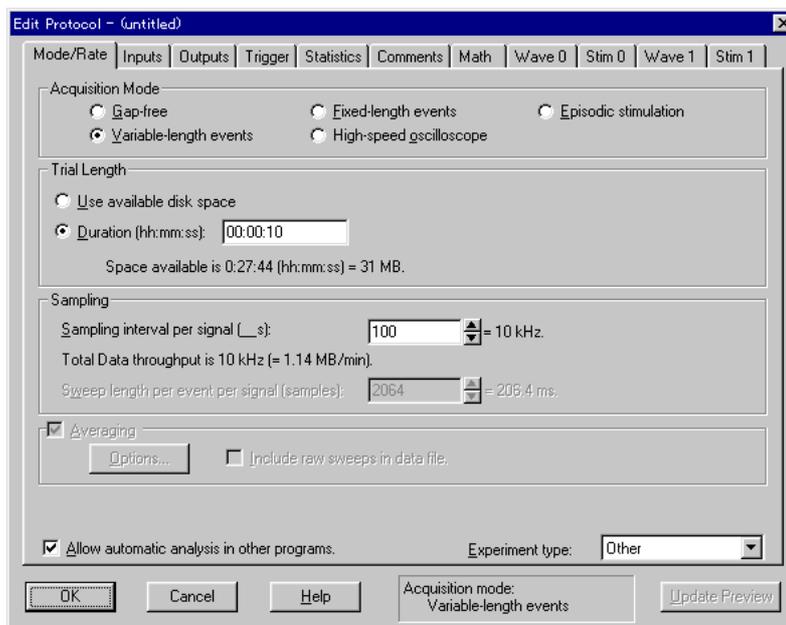
図 4.3: 1sweep

集団となっているものを Run と呼びます。

また、Run を複数個集めたグループを Trial と呼びます。(sweep < run < trial といった関係となります)

Variable-length events モード

データ取得モードを Variable-length events モードに設定しますと、次のような設定画面となります。



データの測定は、次のように行われます。

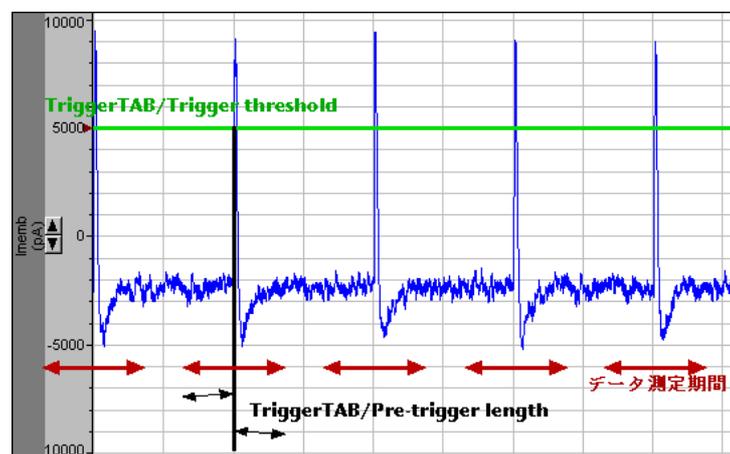


図 4.4: Variable-length events モードのデータ取得例

データ測定時間、サンプリングインターバルの設定を行います。

Trial Length データ測定時間の設定

Use available disk space ディスク容量の許す限りデータを取得します。

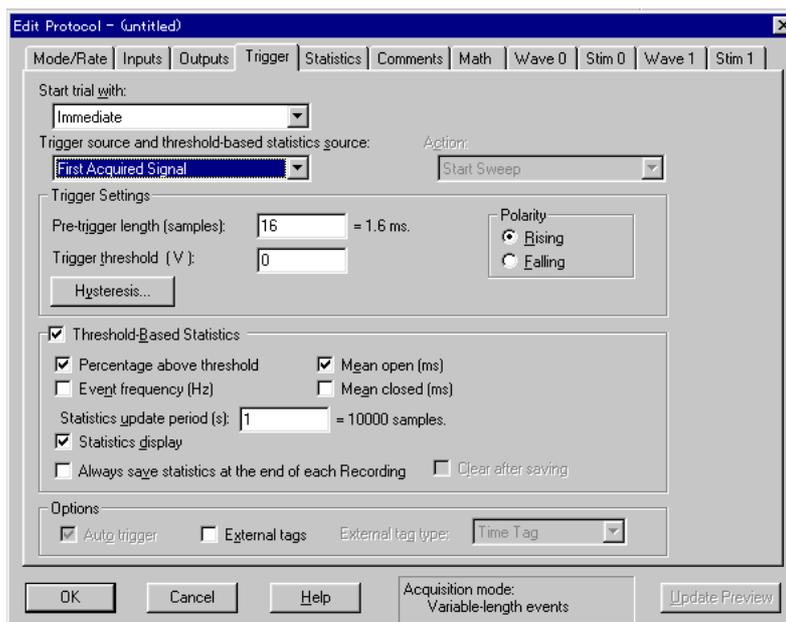
2行下に Space available is xx:xx:xx(hh:mm:ss)=yyMB と測定可能時間とディスク容量が表示されます。

Duration(hh:mm:ss) データを測定する時間を入力します。

Sampling

Sampling Interval per Signal(μ s) サンプリングレートを設定します。

Trigger タブを選択すると、次の画面が表示されます。



トリガー、データの測定時間の設定のために、Trigger Setting 項目の次の設定を行います。

Pre-trigger length (samples) 図 4.4 を参照の事

Trigger threshold 図 4.4 を参照の事

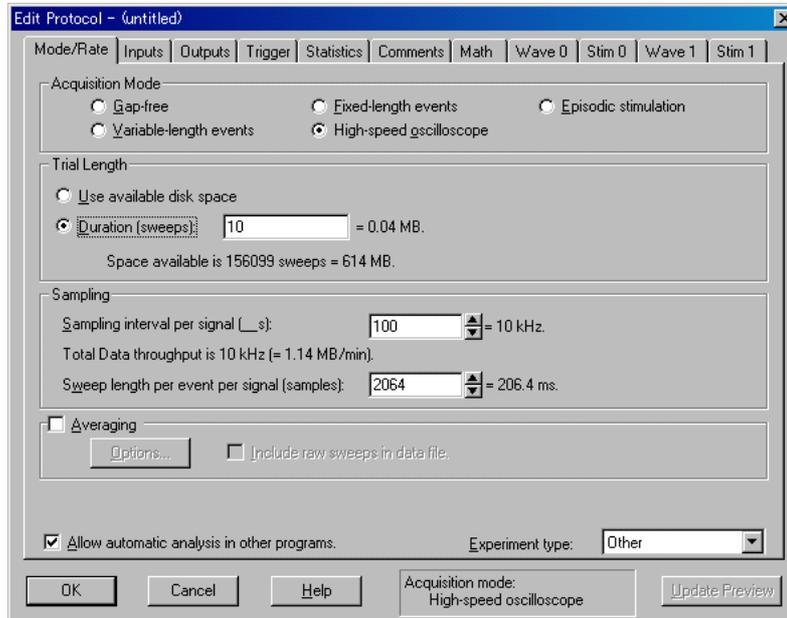
Polarity トリガーの動作するタイミングを指定します。

Rising 立ち上がり

Falling 立ち下がり

High-speed oscilloscope モード

データ取得モードを High-speed oscilloscope に設定しますと、次のような設定画面となります。



データ測定時間、サンプリングインターバルの設定を行います。

Trial Length データ測定時間の設定

Use available disk space ディスク容量の許す限りデータを取得します。

2行下に Space available is xx:xx:xx(hh:mm:ss)=yyMB と測定可能時間とディスク容量が表示されます。

Duration(hh:mm:ss) 何画面分データを取り込むか設定します。。

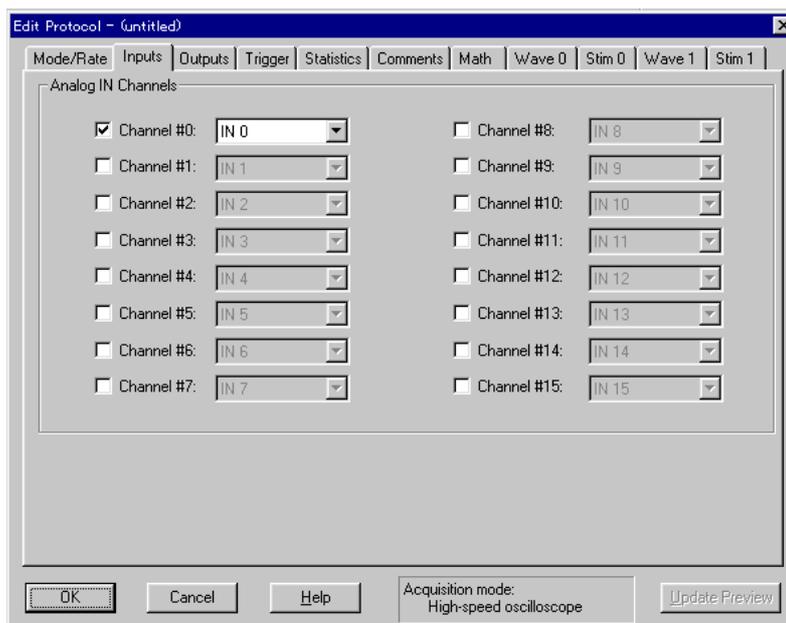
Sampling

Sampling Interval per Signal(μ s) サンプリングレートを設定します。

Sweep length per event signal(samples) 一画面で表示するサンプル数を設定します。

データ取得 (入力) チャンネルの設定

Acquire/Edit Protocol メニュー () を選択し、Inputs タブを選択しますと、次のような画面となります。

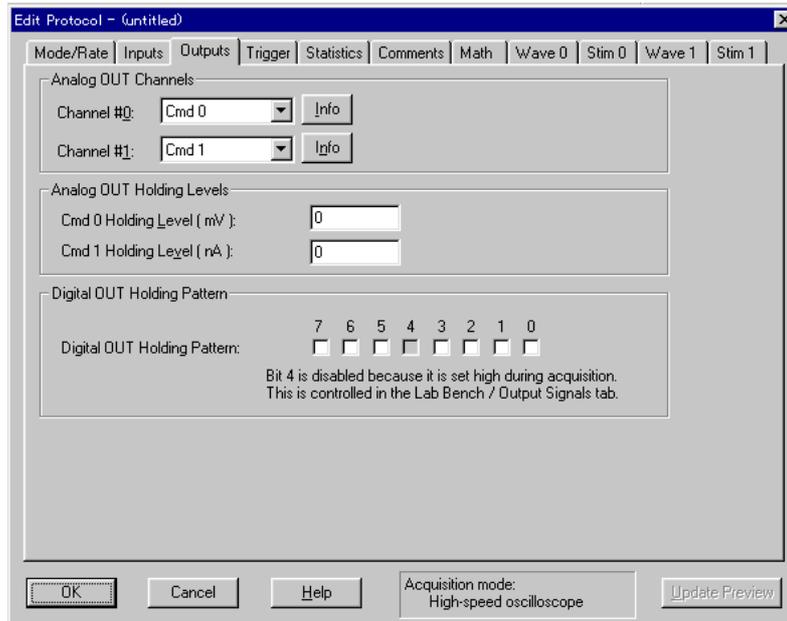


次の設定を行って下さい。

- 取り込みを行いたいアナログチャンネルをチェックします。
AnalogIN 0 をチェックします。
- LabBench で設定した入力信号名を選択します。
Imemb を選択します。

刺激 (出力) チャンネルの設定

Acquire/Edit Protocol メニュー () を選択し、Outputs タブを選択します。



次の設定を行って下さい。

Analog OUT Channels 刺激チャンネルの設定。

Channel #0 Analog OUT#0 で刺激を行う LabBench で設定した出力信号名を選択します。

Cmd0 を選択します。

Channel #1 Analog OUT#1 で刺激を行う LabBench で設定した出力信号名を選択します。

Analog OUT Holding Levels 刺激チャンネルへ通常出力する値の設定。

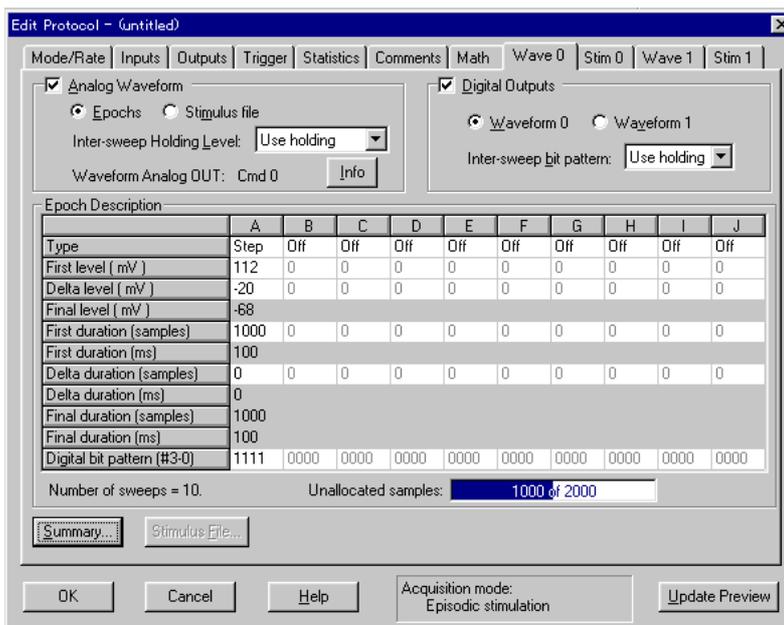
Cmd 0 Holding Level Analog OUT#0 へ通常出力する値を設定します。

Cmd 1 Holding Level Analog OUT#1 へ通常出力する値を設定します。

4.6.2 刺激波形の作成



Acquire/Edit Protocol メニュー () を選択し、Wave 0 タブを選択します。刺激チャンネルが Analog OUT#1 の場合は、Wave 1 タブを選択します。



まず、刺激の方法を設定します。

Analog Waveform 刺激波形を行う場合はチェックして下さい。

Epochs 刺激波形に、Epoch Description で作成したものを利用します。(通常設定)

Stimulus file 刺激波形に、取り込んだデータを利用します。

Inter-sweep Holding Level Sweep と Sweep との間の刺激値をいくつにするかを設定します。

Use holding Analog OUT Holding Levels の値を設定します。(通常設定)

Use last epoch 最後の epoch で指定した値を設定します。

Digital Outputs デジタル出力を利用したい場合はチェックして下さい。

Waveform 0 デジタル出力パターンを Wave 0 タブで設定します。(通常設定)

Waveform 1 デジタル出力パターンを Wave 1 タブで設定します。

Inter-sweep bit pattern Sweep と Sweep との間のデジタル出力パターンを設定します。

Use holding Digital OUT Holding Levels の値を設定します。(通常設定)

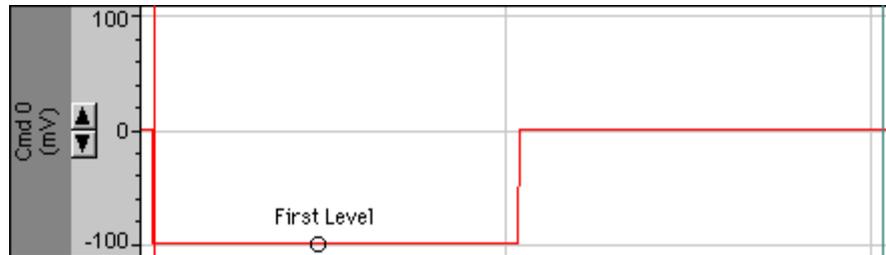
Use last epoch 最後の epoch で指定したデジタル出力パターンを設定します。

次に、刺激波形の設定を行います。Epoch Description に Epoch A ~ Epoch J まで設定する事が出来ます。基本的には、Epoch A ~ Epoch J の順に刺激波形として出力していきます。

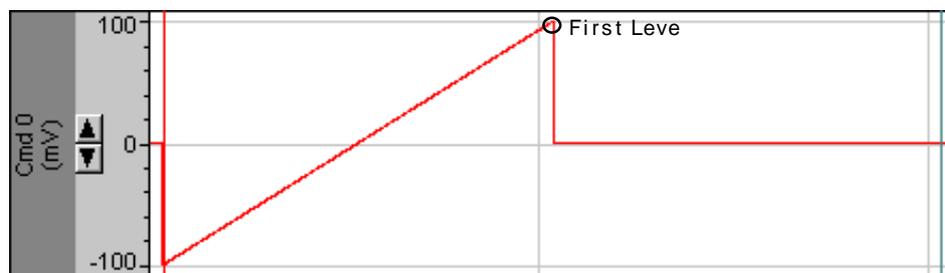
Type 刺激波形の形を選択します。

Off 「刺激波形設定なし」の設定です。

Step ステップ波形 (矩形波) の設定です。



Ramp ランプ波形の設定です。



First level

Type が Step の場合 刺激電圧を設定します。

Type が Ramp の場合 ランプ波形の最終値を設定します。

Delta level 次の sweep で、First level と異なったデータを出力したい場合に設定します。相対値で記入して下さい。

Final level 自動的に計算されます。

First duration (samples) 各刺激波形を加えている時間をサンプル数で設定します。

First duration (ms) 自動的に計算されます。

Delta duration (samples) 次の sweep で、First duration と異なるサンプル数にしたい場合設定します。

Delta duration (ms) 自動的に計算されます。

Final duration (samples) 自動的に計算されます。

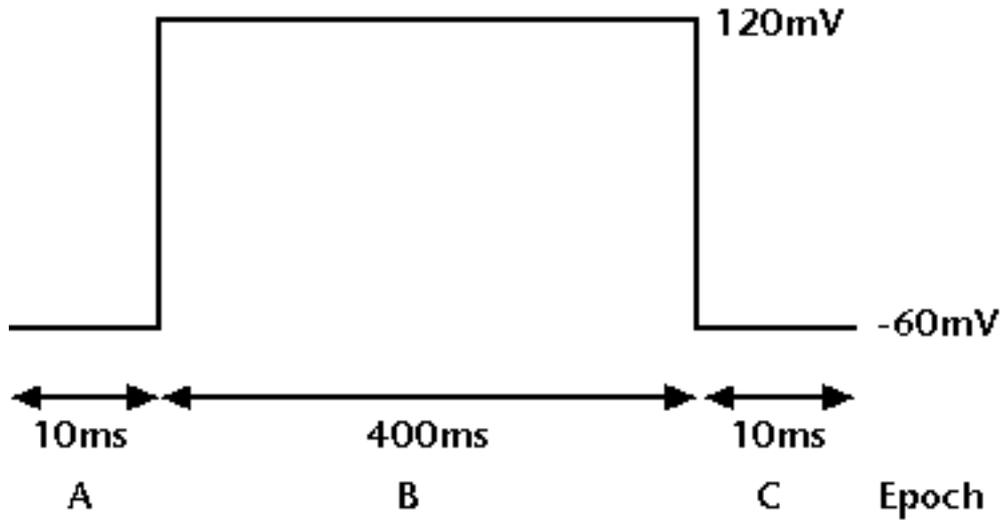
Final duration (ms) 自動的に計算されます。

Digital bit pattern (#3-0) デジタル出力パターンを設定します。

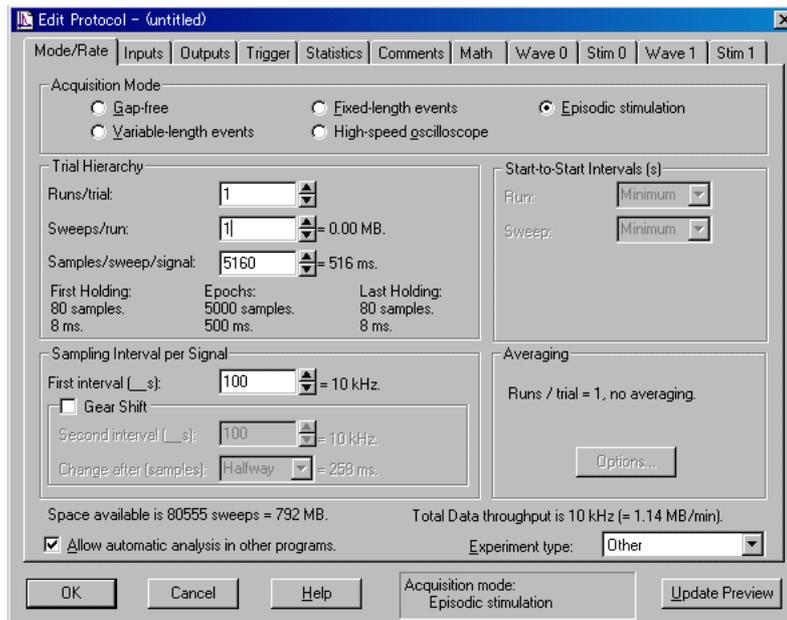
設定した刺激波形は、Update preview ボタン () を押すと、画面上で見ることが出来ます。

刺激波形作成例 (矩形波)

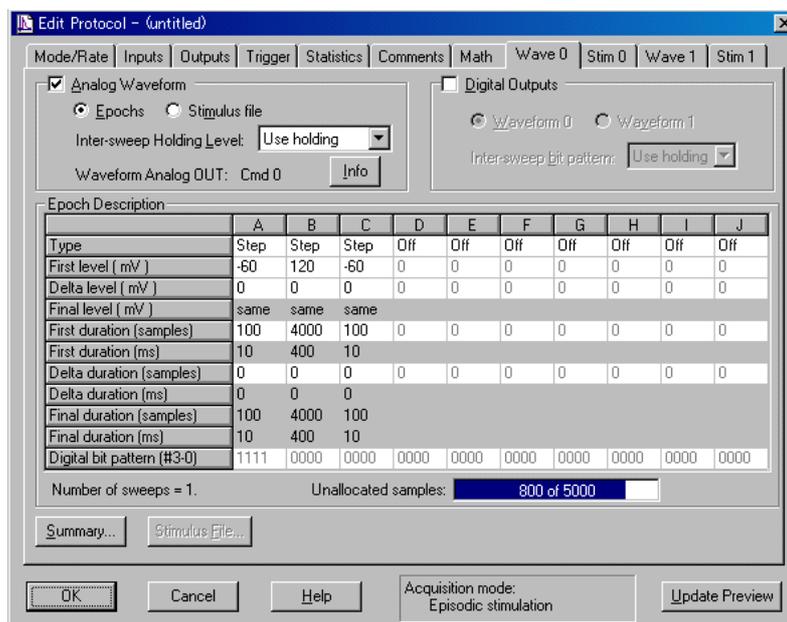
下のような波形を出力する場合の設定例を示します。



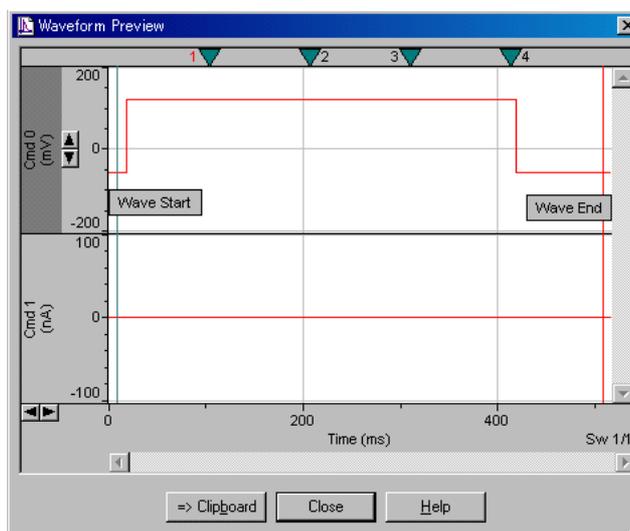
Acquire/Edit Protocol メニュー () の ModeRate タブは、次のように設定します。



Acquire/Edit Protocol メニュー () の Wave0 タブは、次のように設定します。

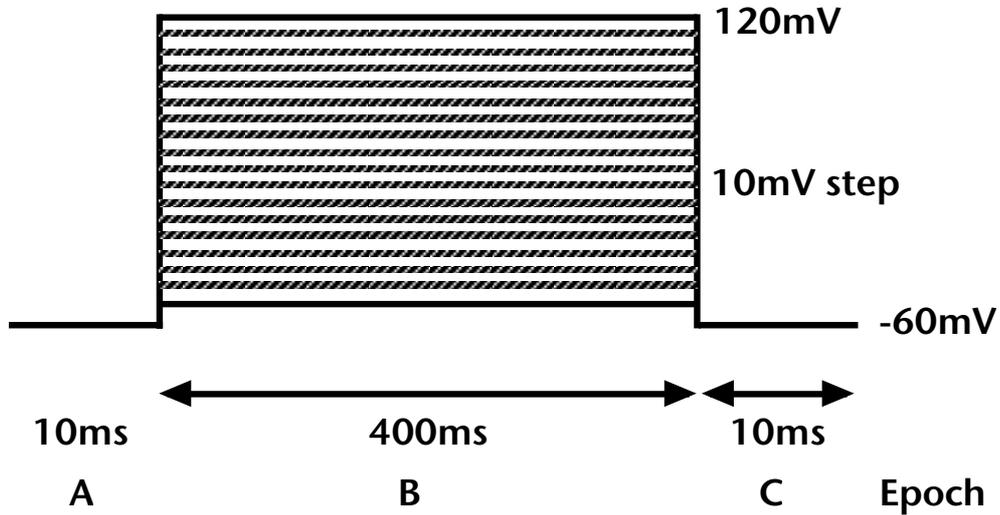


Update preview ボタン () を押すとは、下のような刺激波形が確認できます。

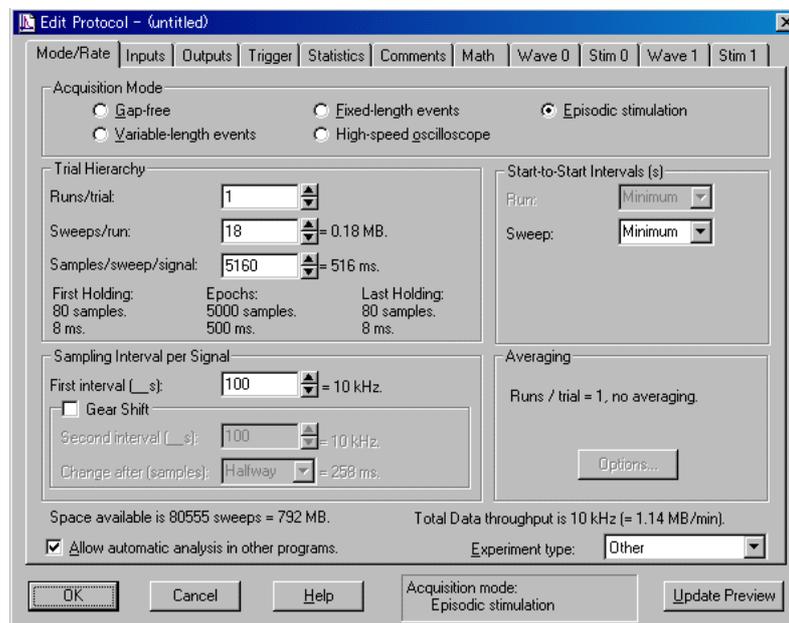


刺激波形作成例 (複数の矩形波)

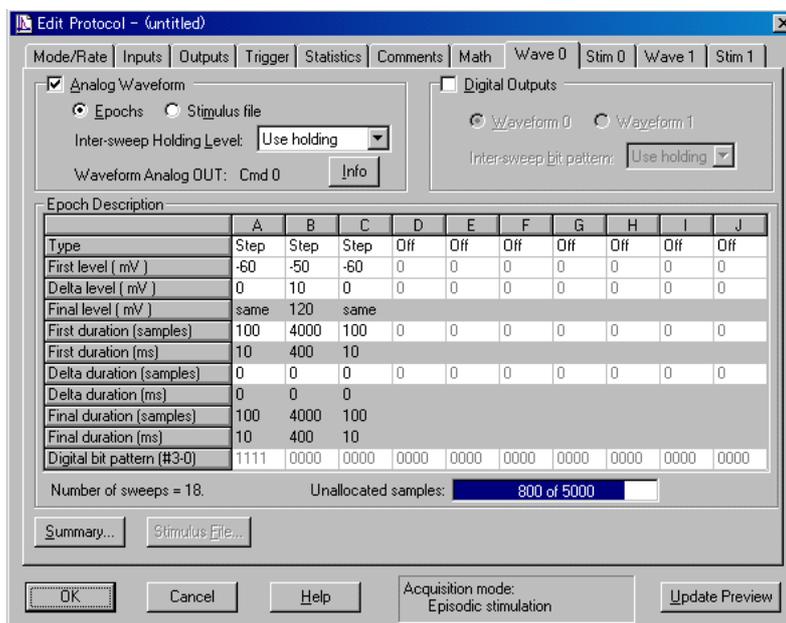
下のような波形を出力する場合の設定例を示します。



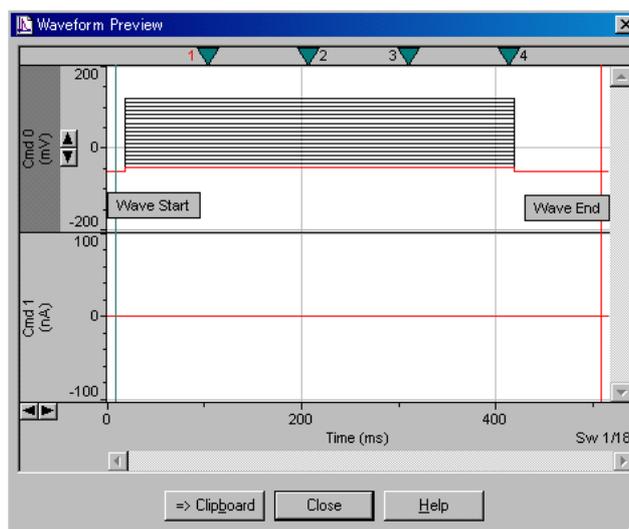
Acquire/Edit Protocol メニュー () の ModeRate タブは、次のように設定します。



Acquire/Edit Protocol メニュー () の Wave0 タブは、次のように設定します。

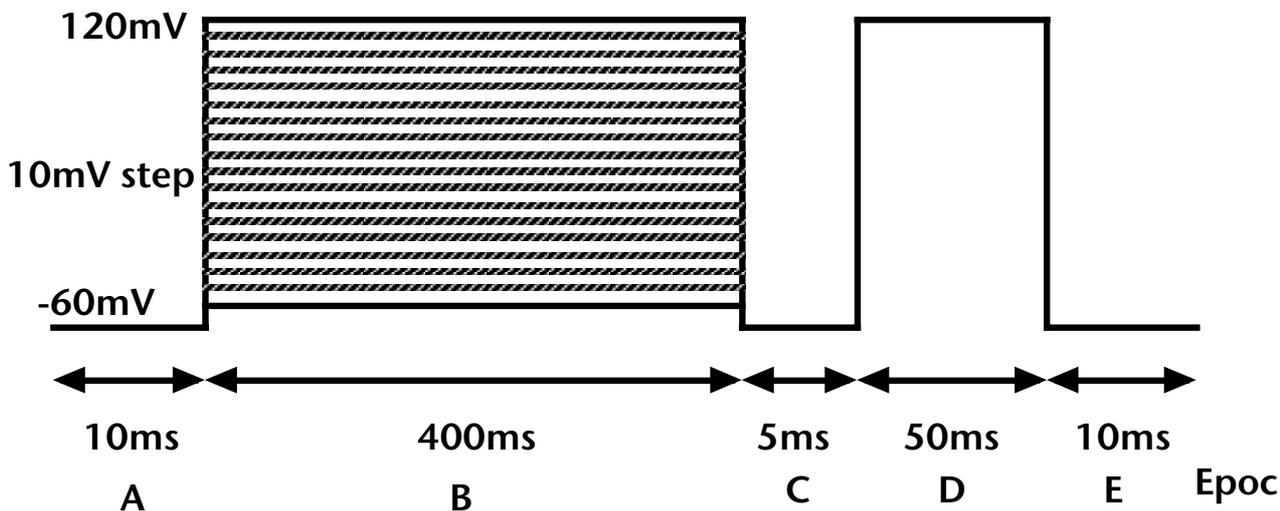


Update preview ボタン () を押すとは、下のような刺激波形が確認できます。

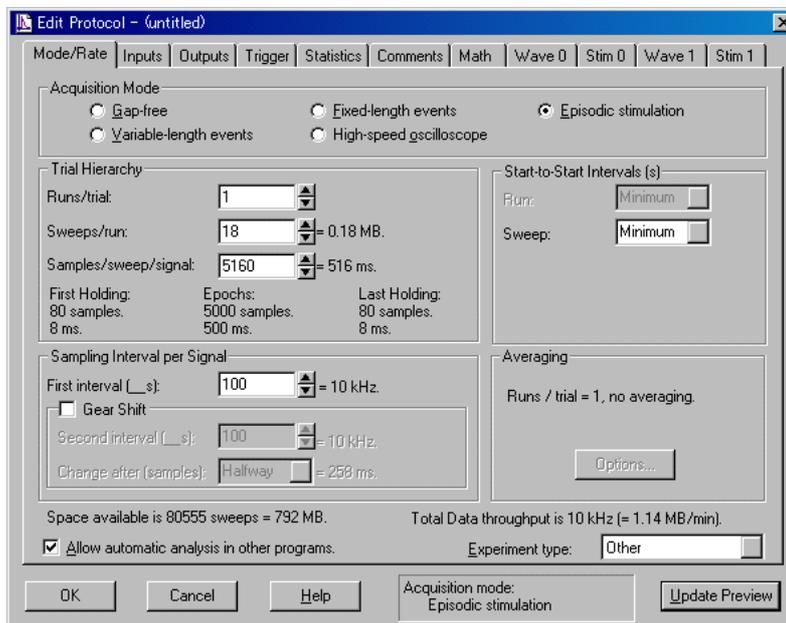


刺激波形作成例 (複数の矩形波 + 矩形波)

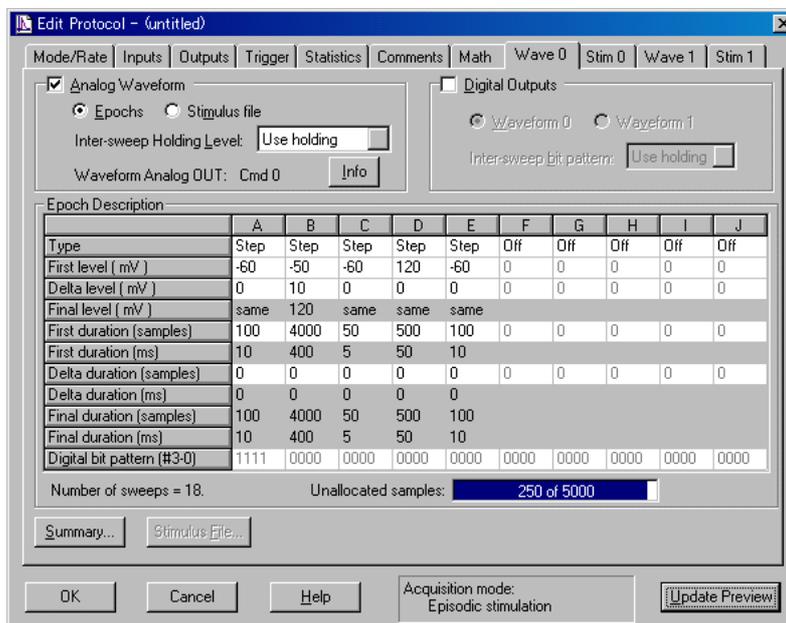
下のような波形を出力する場合の設定例を示します。



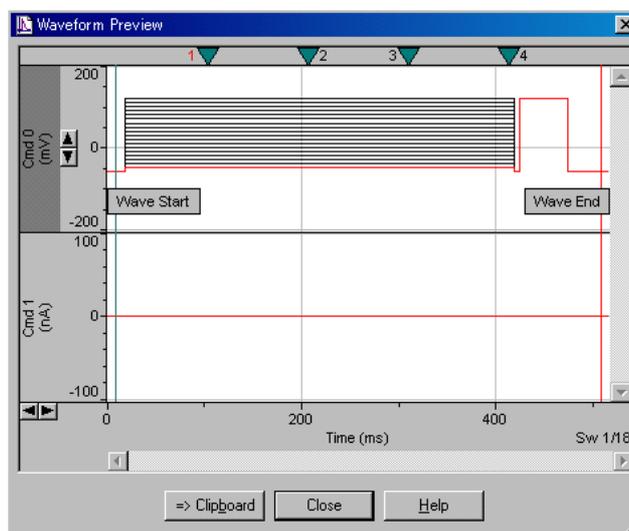
Acquire/Edit Protocol メニュー () の ModeRate タブは、次のように設定します。



Acquire/Edit Protocol メニュー () の Wave0 タブは、次のように設定します。

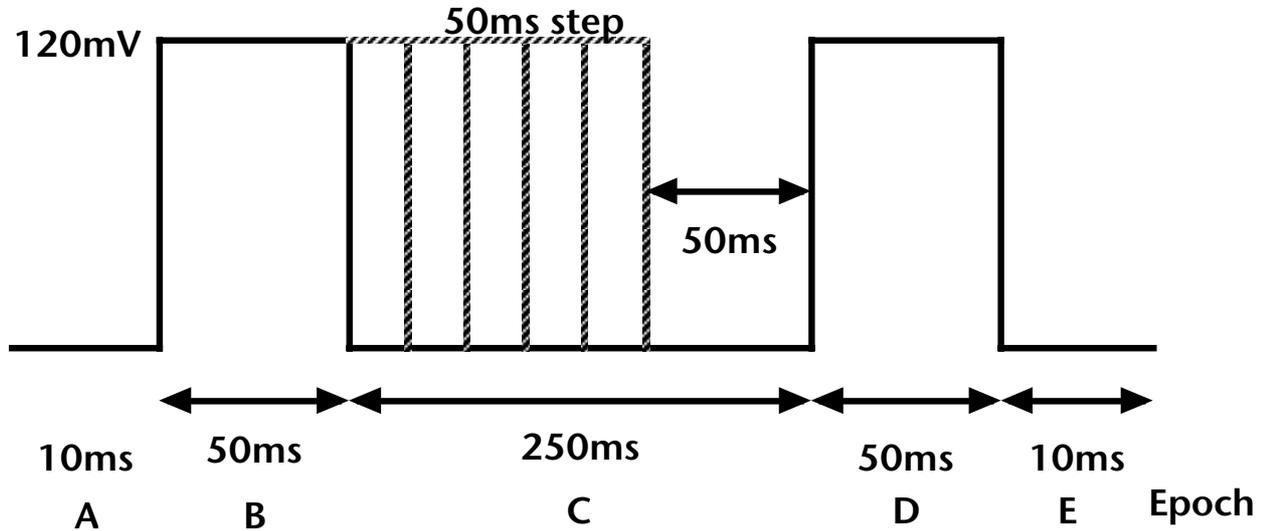


Update preview ボタン () を押すとは、下のような刺激波形が確認できます。

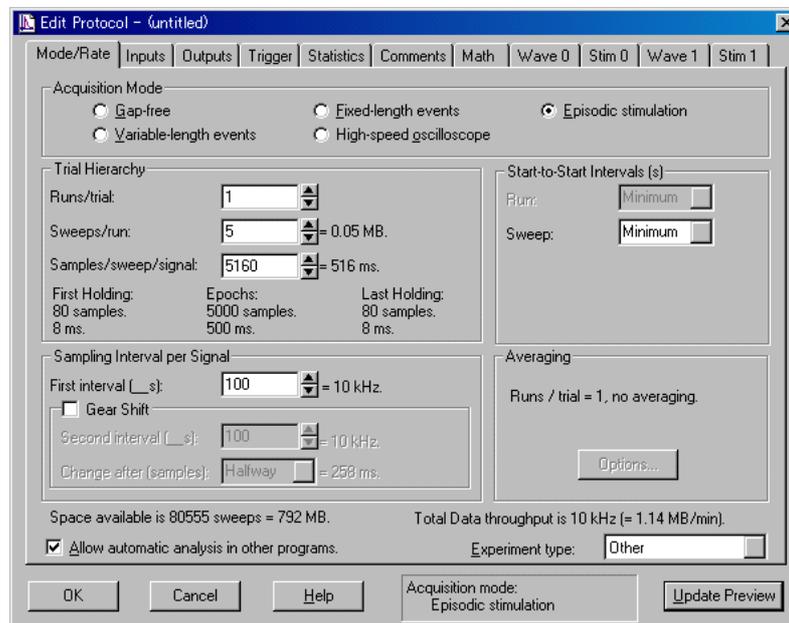


刺激波形作成例 (時間幅の変化のある矩形波)

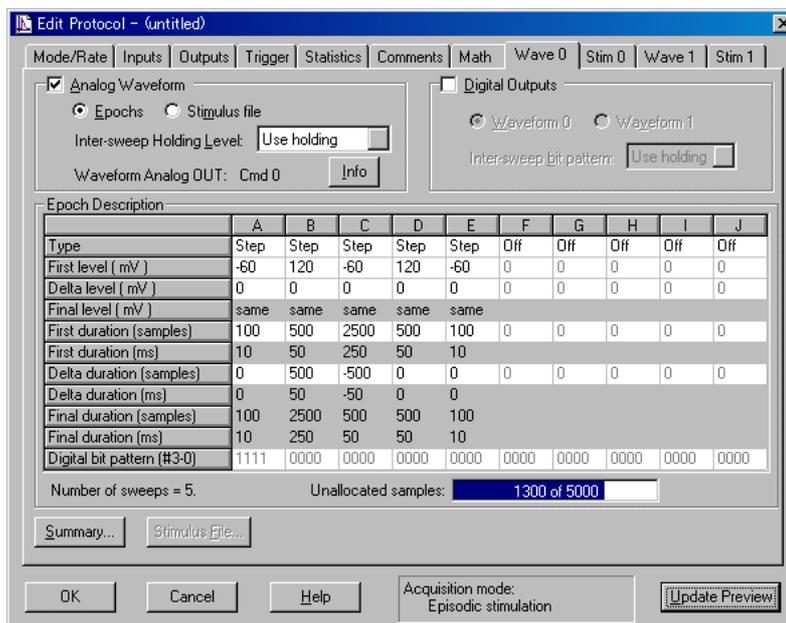
下のような波形を出力する場合の設定例を示します。



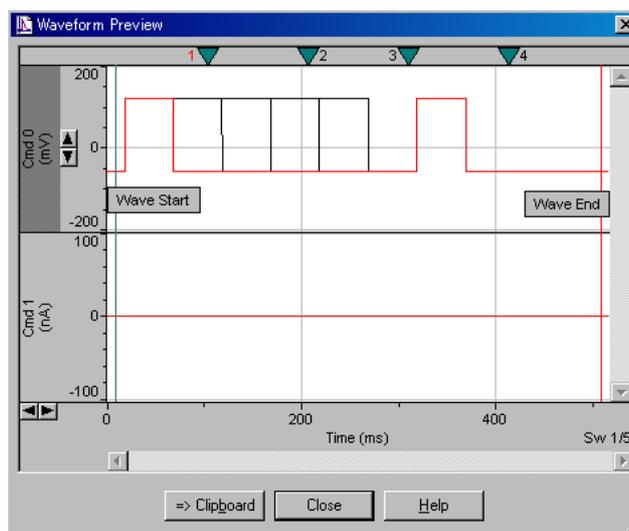
Acquire/Edit Protocol メニュー () の ModeRate タブは、次のように設定します。



Acquire/Edit Protocol メニュー () の Wave0 タブは、次のように設定します。

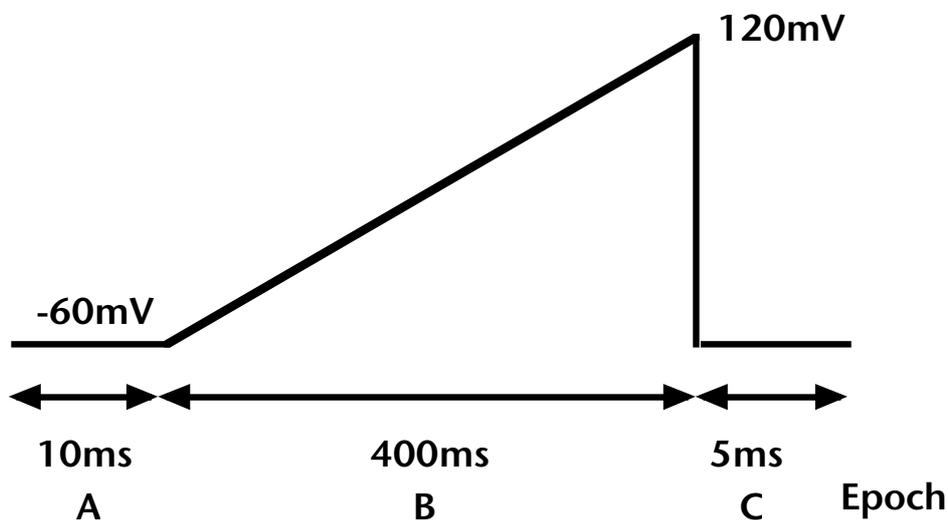


Update preview ボタン () を押すとは、下のような刺激波形が確認できます。

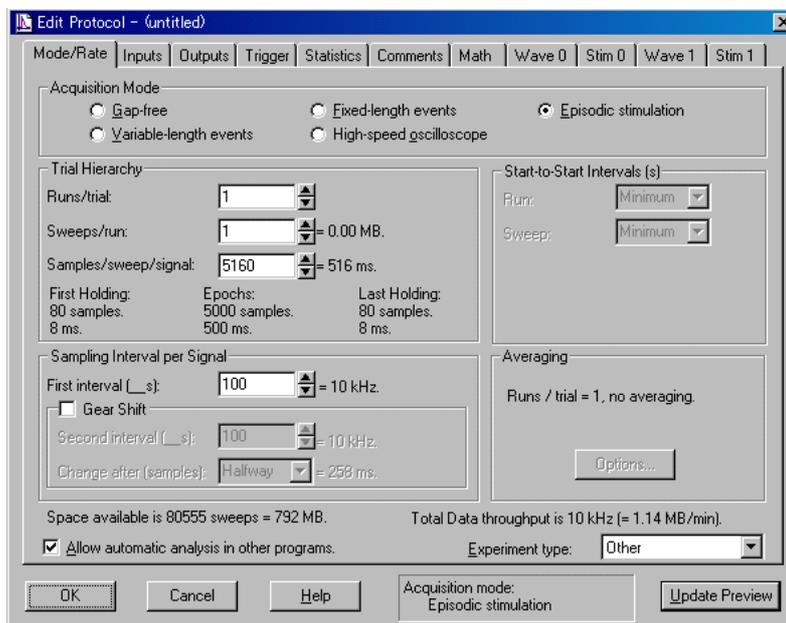


刺激波形作成例 (ランプ波)

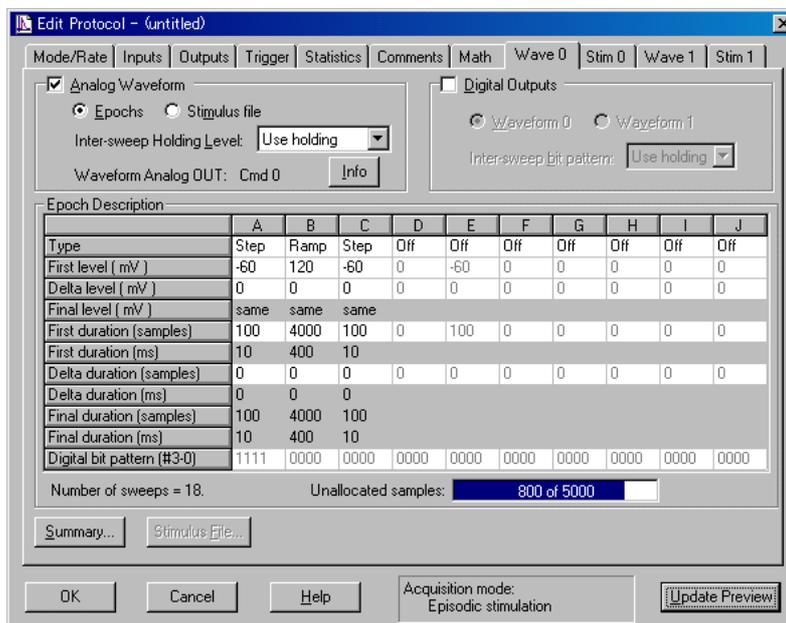
下のような波形を出力する場合の設定例を示します。



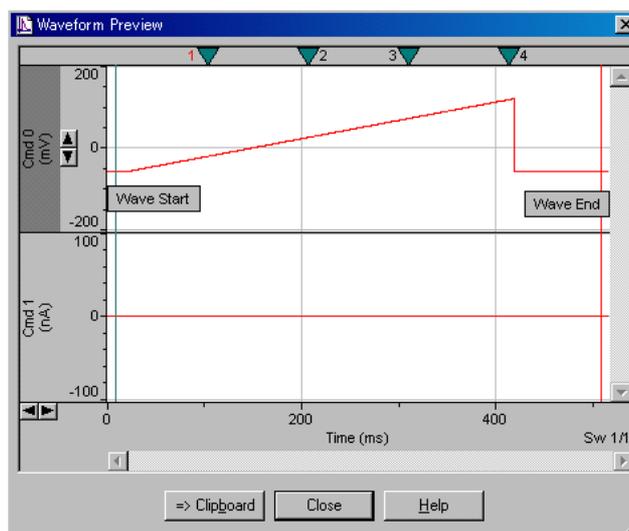
Acquire/Edit Protocol メニュー () の ModeRate タブは、次のように設定します。



Acquire/Edit Protocol メニュー () の Wave0 タブは、次のように設定します。

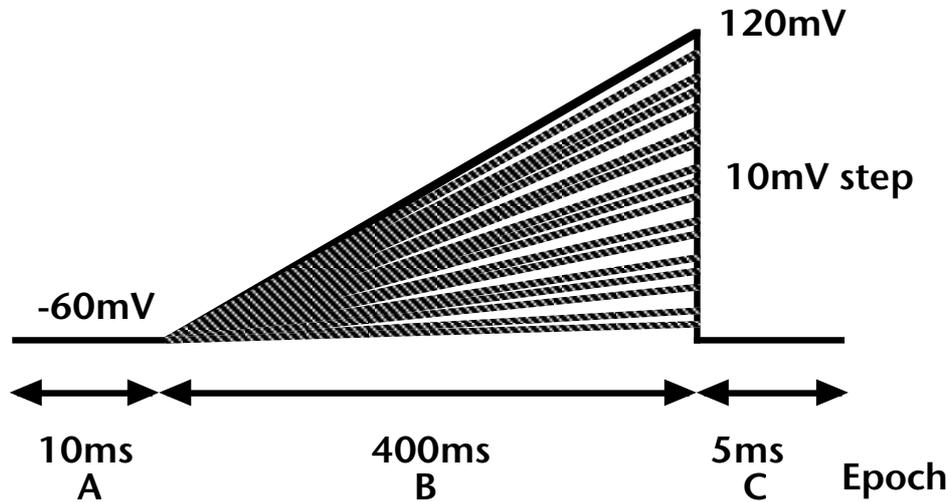


Update preview ボタン () を押すとは、下のような刺激波形が確認できます。

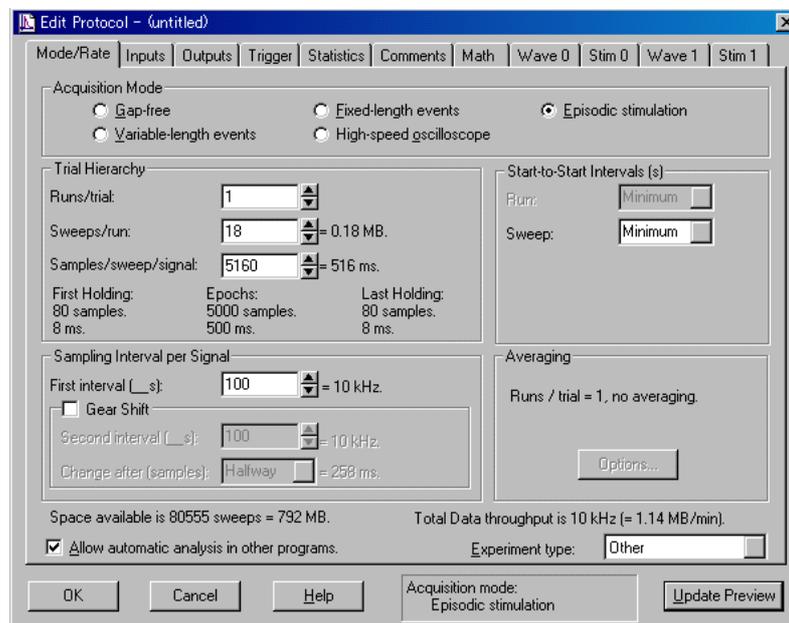


刺激波形作成例 (複数のランプ波)

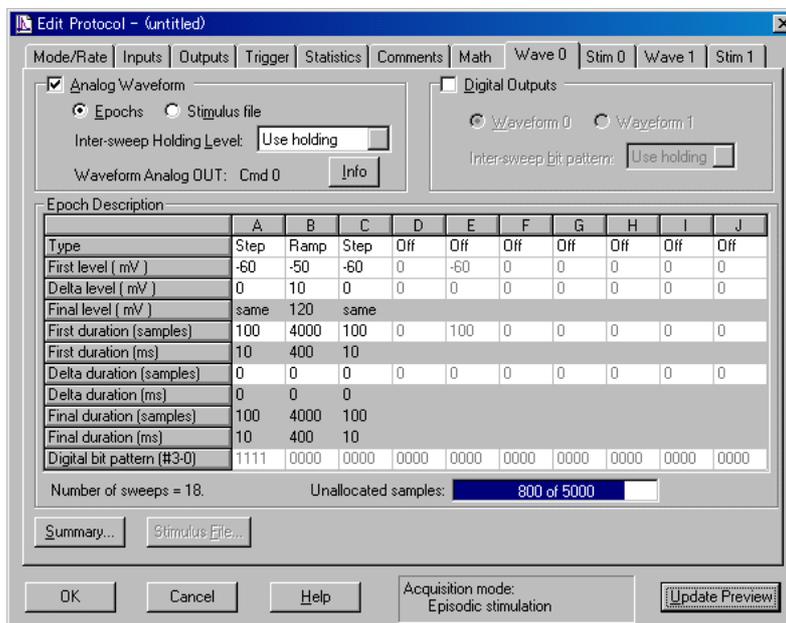
下のような波形を出力する場合の設定例を示します。



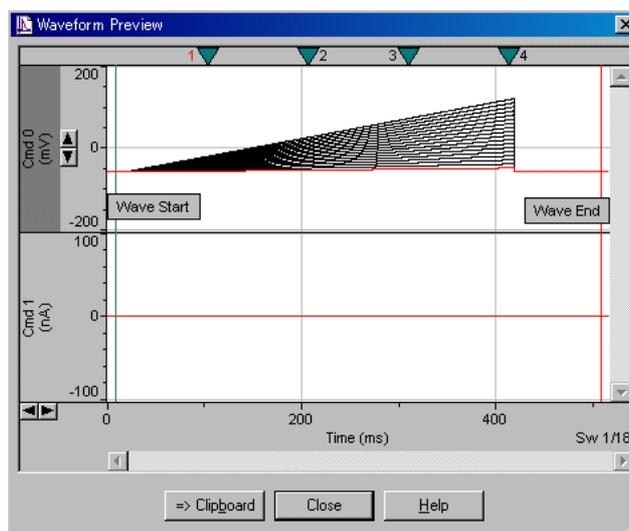
Acquire/Edit Protocol メニュー () の ModeRate タブは、次のように設定します。



Acquire/Edit Protocol メニュー () の Wave0 タブは、次のように設定します。



Update preview ボタン () を押すとは、下のような刺激波形が確認できます。

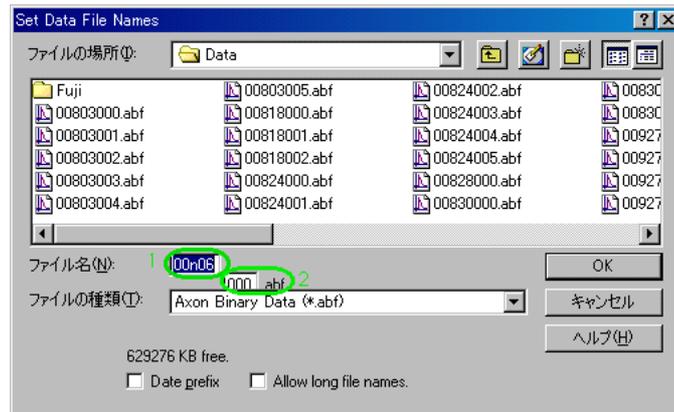


4.6.3 データ取り込み

すべての設定が終わりましたら、測定を行います。

データの保存フォルダ

File/Set Data File Names... メニューを選択しますと、次の画面が表示されます。



ファイルの場所 データファイルを保存するフォルダを選択します。

ファイル名

1. ファイル名の先頭に自動で付く文字
2. 連番

Data prefix 自動でファイル名に日付けをつける場合

Allow long file names. MS-DOS のファイル名の 8+3 ではなく、Windows で扱えるロングファイル名を利用する場合

画面で確認

Acquire/View メニューが、 を選択すると、データを測定しはじめます。このモードでは、画面上に測定データが表示されるだけで、ファイルとして保存されません。

ファイルヘータを書き込む

Acquire/Record メニューが、 を選択すると、データを測定しはじめます。このモードでは、画面上に測定データを表示し、ファイルへも保存します。

ファイルの保存先は、File/Set Data File Names... メニューで設定する事が出来ます。

繰り返し

Acquire/Repeat メニューが、 を有効にし、取り込み ( ) を行うと、データを繰り返し測定する事が出来ます。

第5章

データ解析ソフトウェア：Clampfit

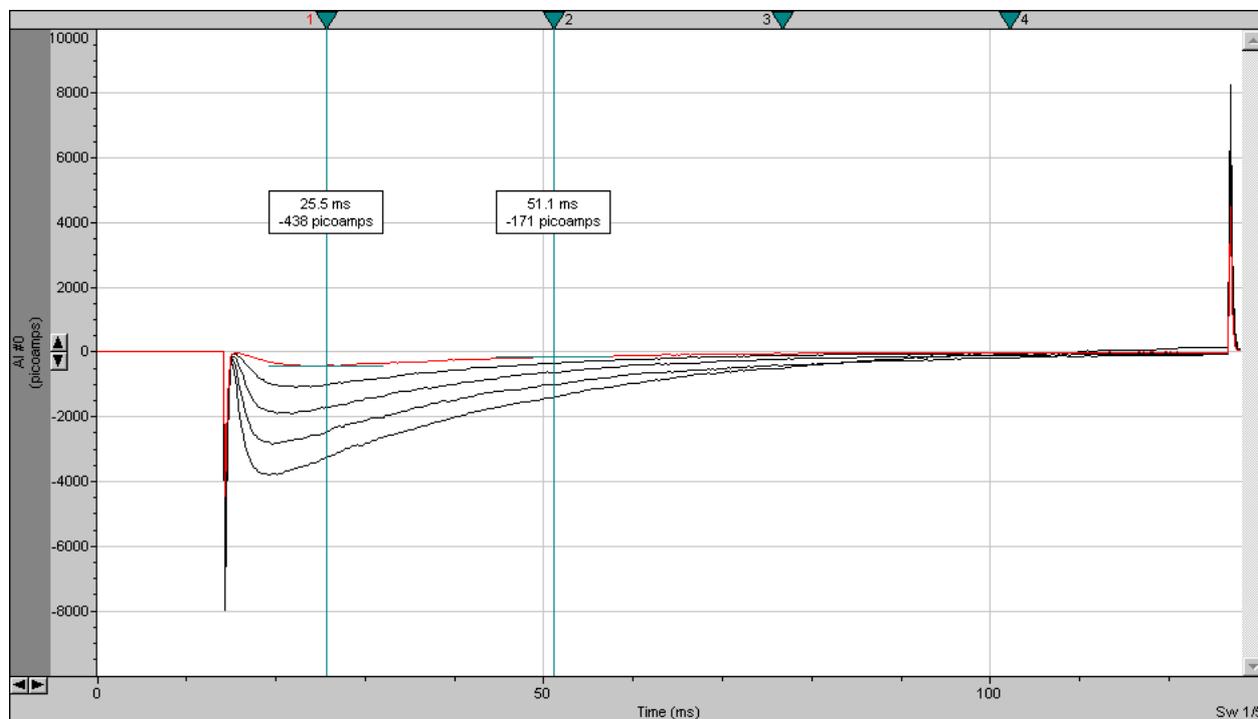
pCLAMP8 をインストールすると、デモデータも用意されます。このデモデータを利用し、簡単な解析例を紹介します。

5.1 解析

5.1.1 I-V カーブ

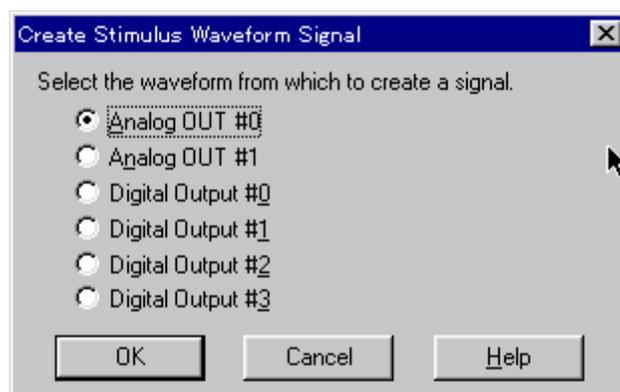
デモデータの av1.dat を利用し、I-V カーブを描いてみます。

「File/OpenData」メニューを選択し、av1.dat のデータを開くと、次のような波形が表示されます。



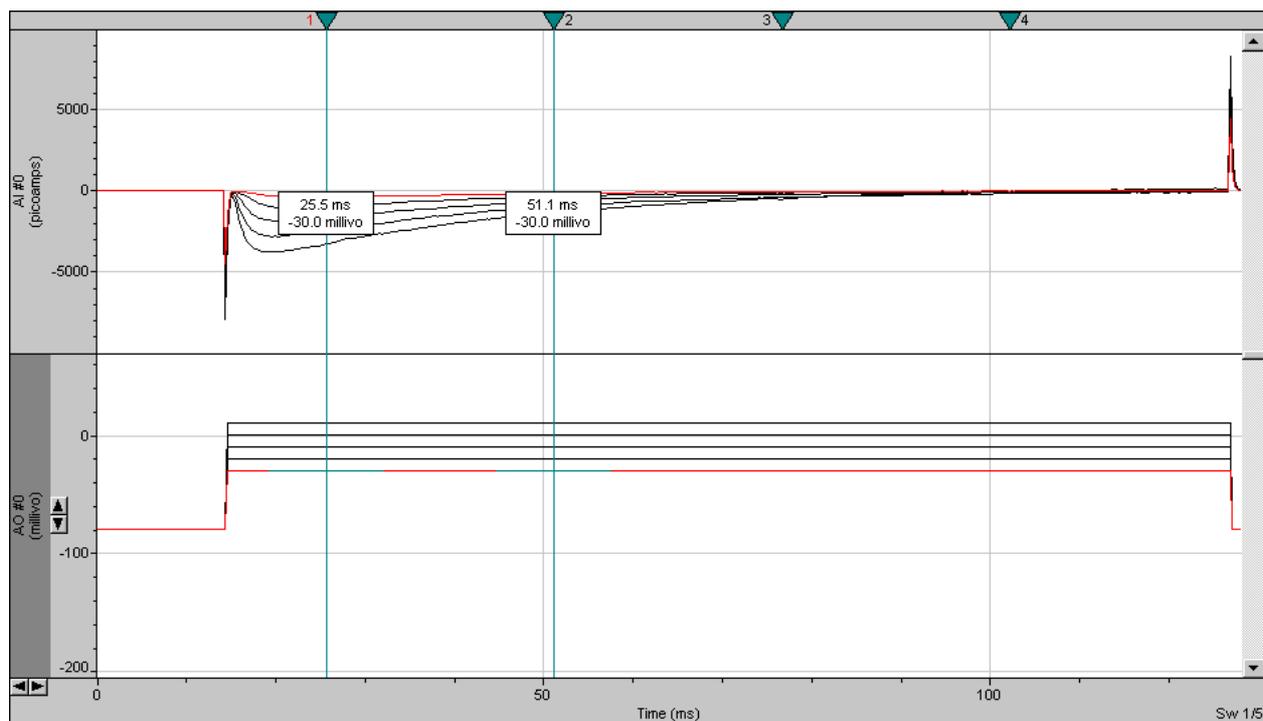
この波形では、取得したデータだけで、刺激波形がわかりませんので、刺激波形を表示します。

「Edit/Create Stimulus Waveform Signal...」メニューを選択すると、次の画面が表示されます。刺



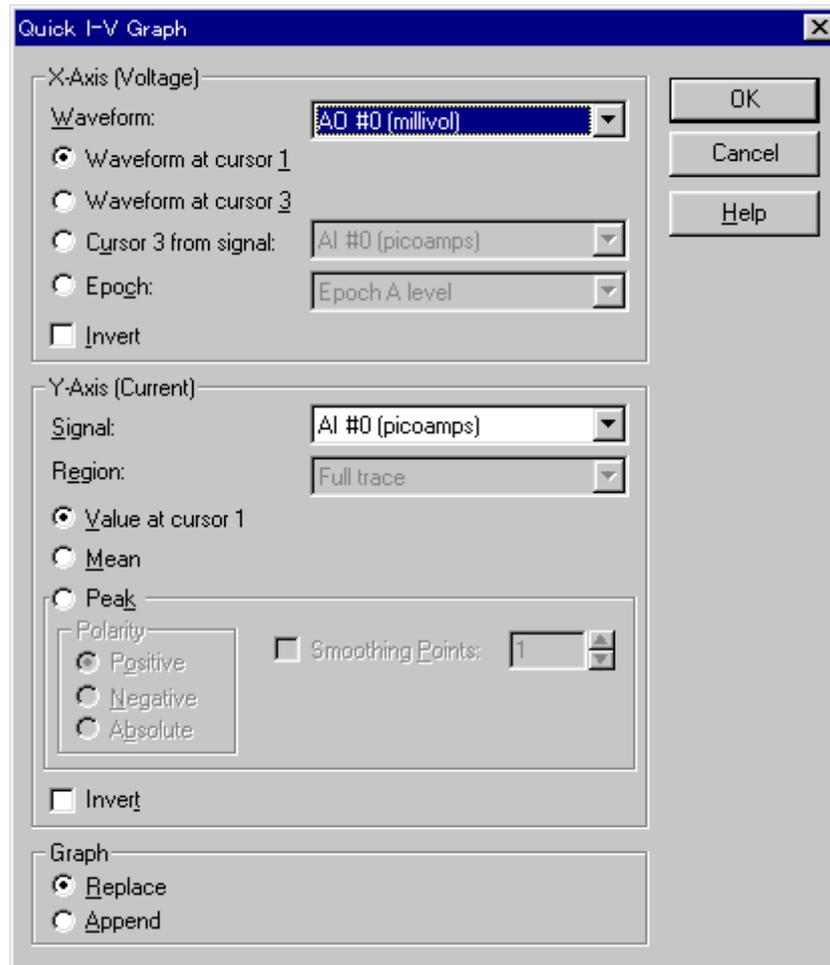
激波形をどのチャンネルで加えたのかを指定します。ここでは、Analog OUT #0 を選択し、OK を選択して下さい。

これで、どのような刺激波形を加えたのかもわかるようになります。



この刺激波形 (電圧) と測定データ [反応] (電流) で I-V カーブ (電流-電圧曲線) を書きます。

「Analyze/Quick Graph/I-V」メニューを選択すると、次の画面が表示されます。



ここで、X 軸と Y 軸をどのような設定にするかを選択します。括弧内が設定例です。

X-Axis(Voltage) X 軸に関する設定です。

Waveform X 軸に利用する信号名を設定します。[AO #0(millivol)]

Waveform at cursor 1 カーソル 1 の刺激波形値を設定します。[チェック]

Y-Axis(Current) Y 軸に関する設定します。

Waveform Y 軸に利用する信号名を設定します。[AI #0(picoamps)]

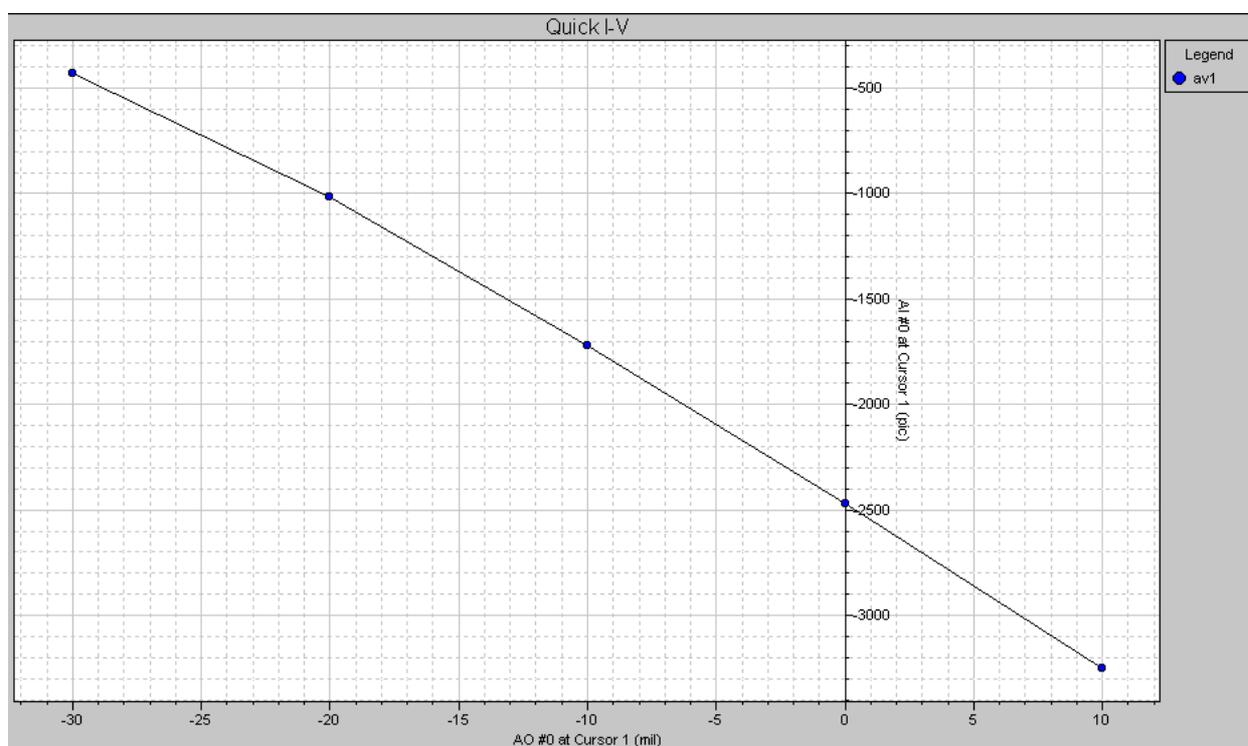
Value at cursor 1 カーソル 1 の測定データ値を設定します。[チェック]

Graph グラフの描画方法を設定します。

Replase 現在描画されているグラフを消して、今回のグラフを描画します。[チェック]

Append 現在描画されているグラフを残して、今回のグラフを描画します。

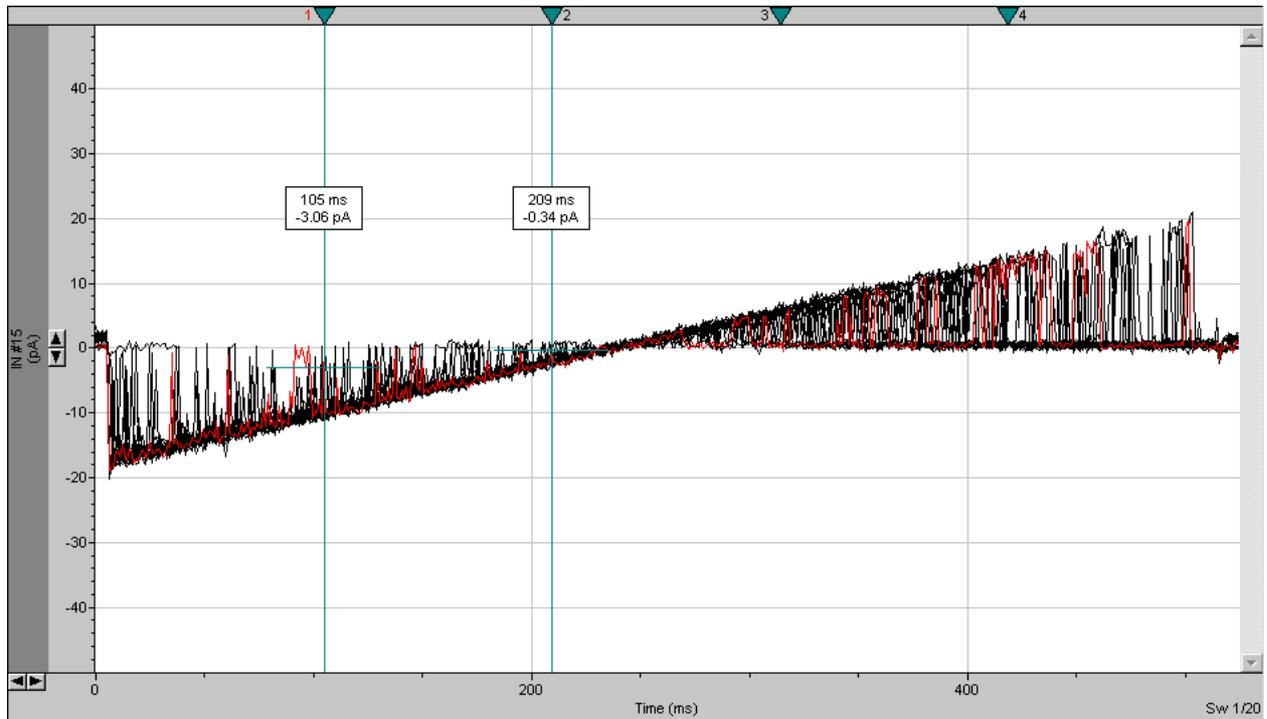
前ページのような設定をすると、下のようなI-Vカーブが得られます。



5.1.2 Trace vs. Trace カーブ

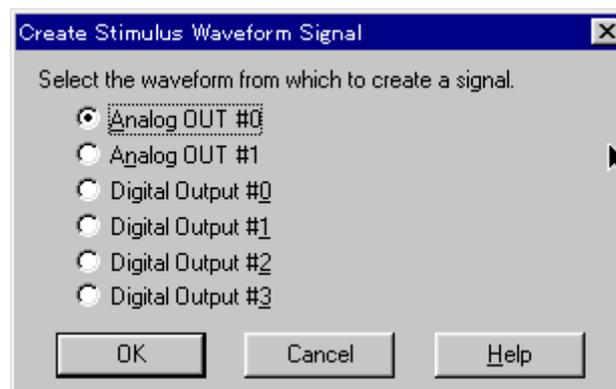
デモデータの rampchan.dat を利用し、Trace vs. Trace カーブを描いてみます。

「File/OpenData」メニューを選択し、av1.dat のデータを開くと、次のような波形が表示されます。

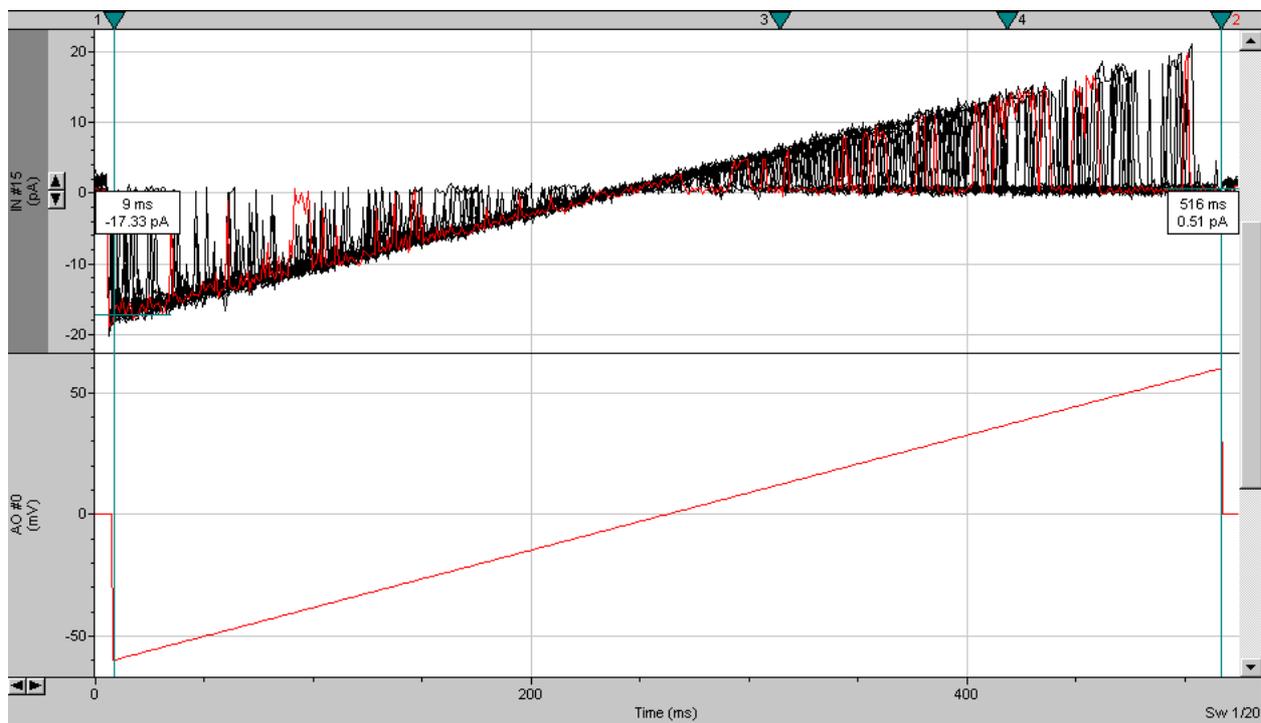


この波形では、取得したデータだけで、刺激波形がわかりませんので、刺激波形を表示します。

「Edit/Create Stimulus Waveform Signal...」メニューを選択し、刺激波形をどのチャンネルで加えたのかを指定します。ここでは、Analog OUT #0 を選択し、OK を選択してみてください。

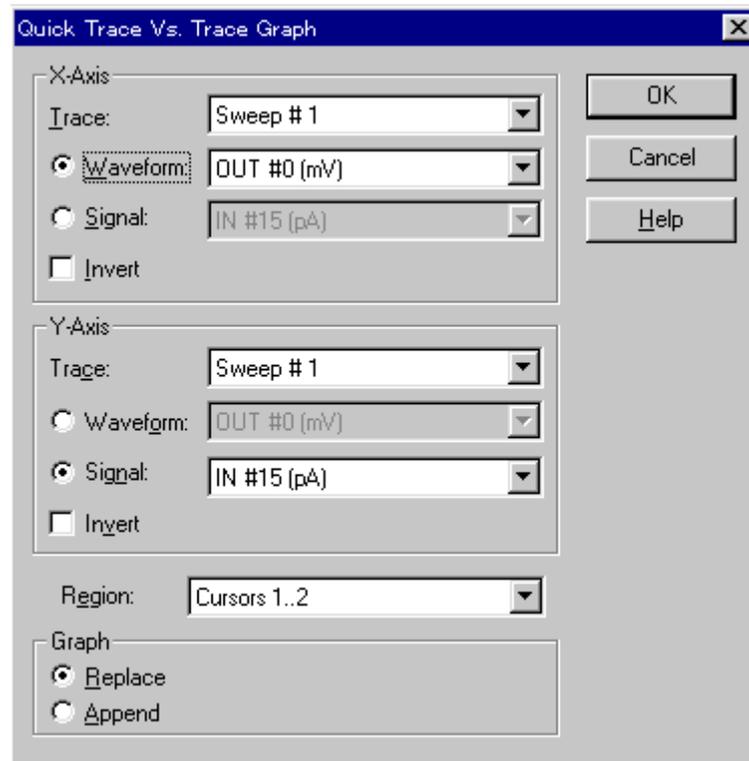


これで、どのような刺激波形を加えたのかもわかるようになります。



この刺激波形 (電圧) と測定データ [反応] (電流) で電圧・電流カーブを描きます。

「Analyze/Quick Graph/Trace vs. Trace」メニューを選択すると、次の画面が表示されます。



ここで、X 軸と Y 軸をどのような設定にするかを選択します。カッコ内が設定例です。

X-Axis(Voltage) X 軸に関する設定です。

Trace どの sweep を利用するかを選択します。[Sweep #1]

Waveform 刺激波形の信号名を選択します。[OUT #0(mV)]

Y-Axis(Current) Y 軸に関する設定です。

Trace どの sweep を利用するかを選択します。[Sweep#1]

Signal 測定データの信号名を選択します。[IN #15(pA)]

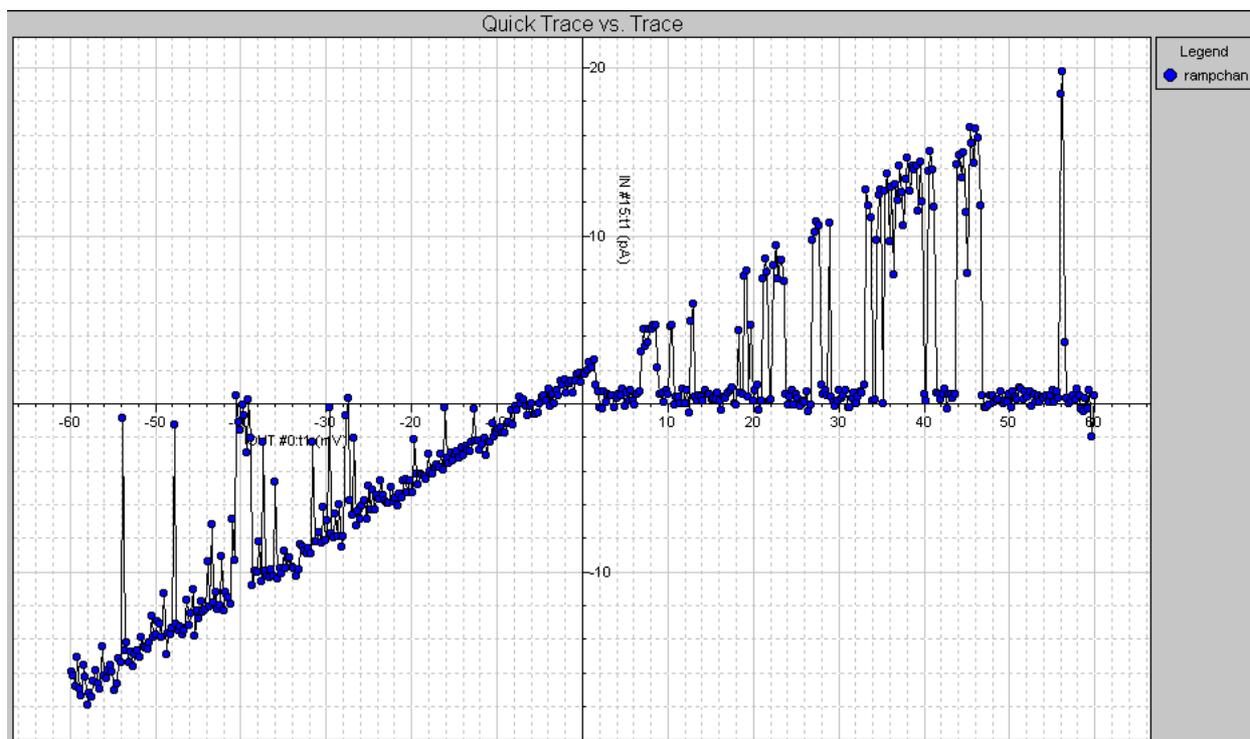
Region Trace vs. Trace 曲線を描画する範囲を選択します [Cursors 1..2]

Graph グラフの描画方法を設定します。

Replase 現在描画されているグラフを消して、今回のグラフを描画します。[チェック]

Append 現在描画されているグラフを残して、今回のグラフを描画します。

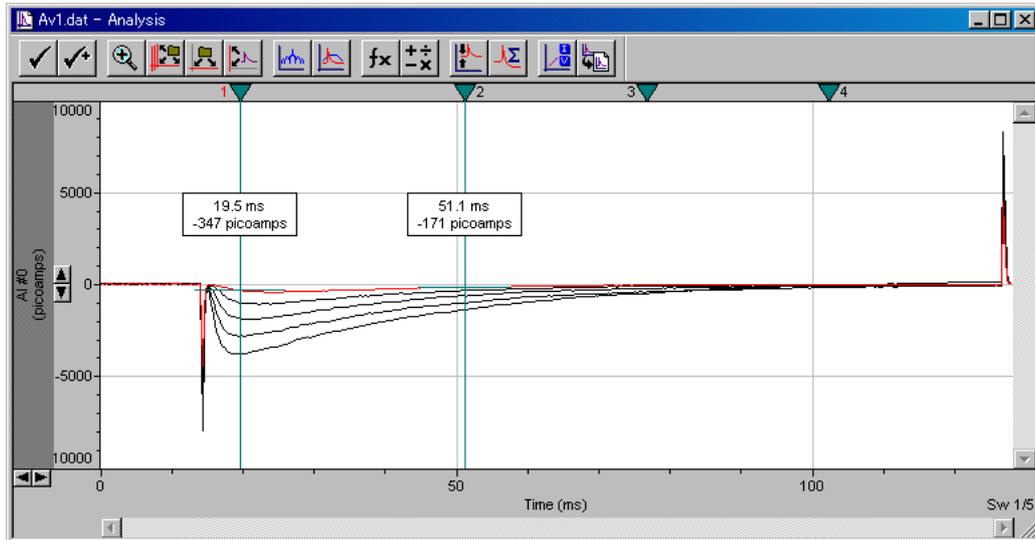
前ページのような設定をすると、このようなランブ刺激によるカーブが得られます。



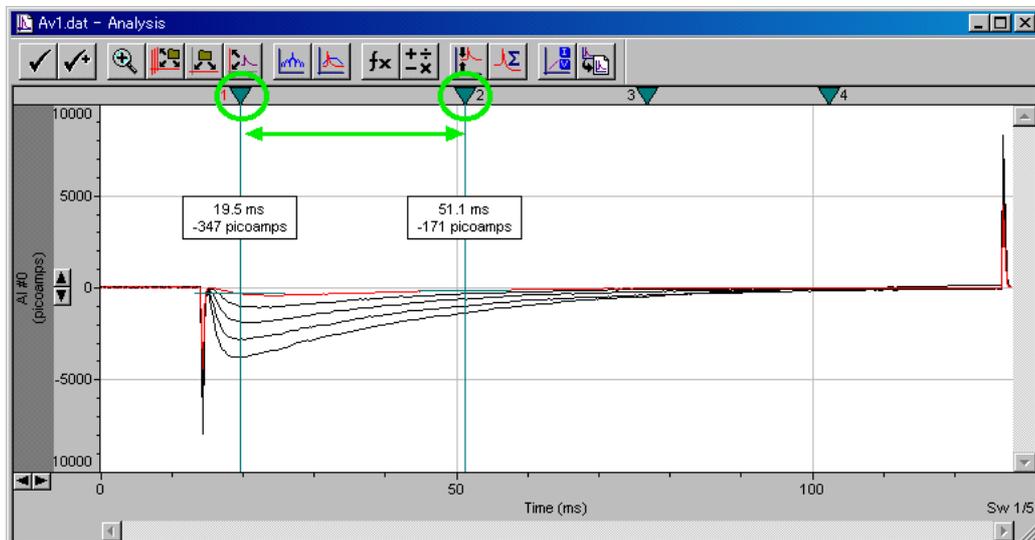
5.1.3 Fitting

デモデータの av1.dat を利用し、フィティングを行ってみます。

「File/OpenData」メニューを選択し、av1.dat のデータを開くと、次のような波形が表示されます。



Fitting を行う区間を、カーソル1 とカーソル2 を動かして選択して下さい。



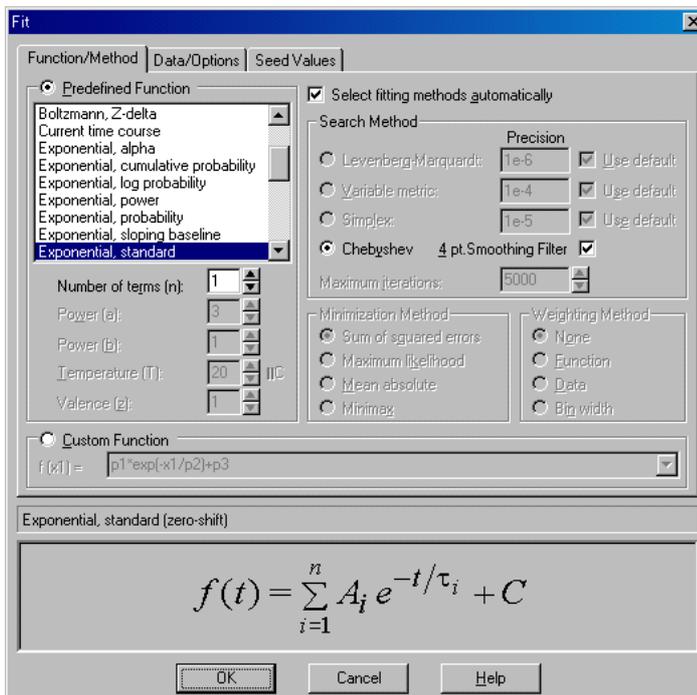
「Analyze/Fit...」メニューを選択しますと、右の画面が表示されます。

用意されている Fitting 関数は、Predefined Function の項目で関数を選択し、Number of term(n)でその関数の次元数を選択して下さい。

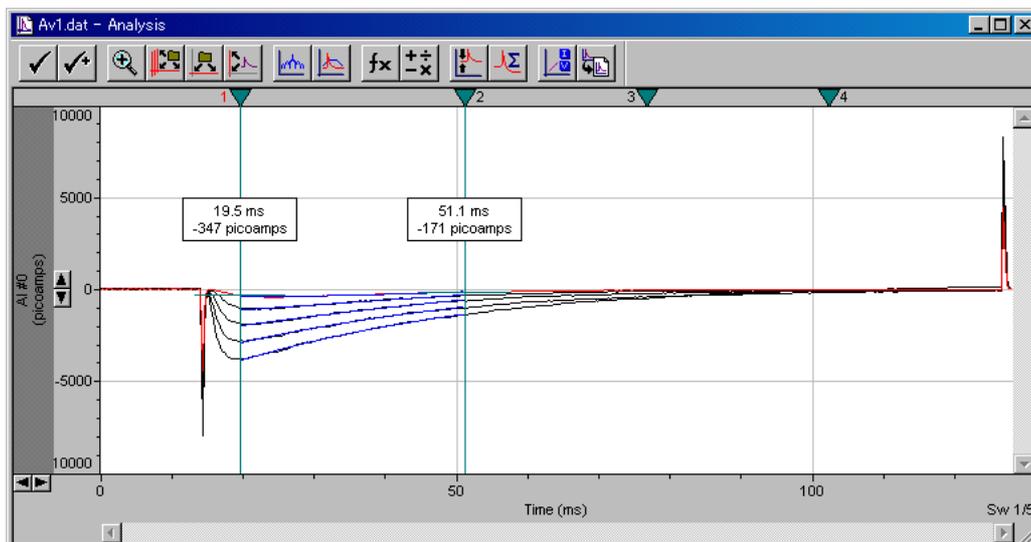
この時、選択した Fitting 関数は、下の方に式が表示されます。

用意していない関数を利用したい場合は、Custom Function をクリックして、関数を記入して下さい。

その他、様々な設定を行う事ができますので、詳細は、英語マニュアルを参考して下さい。

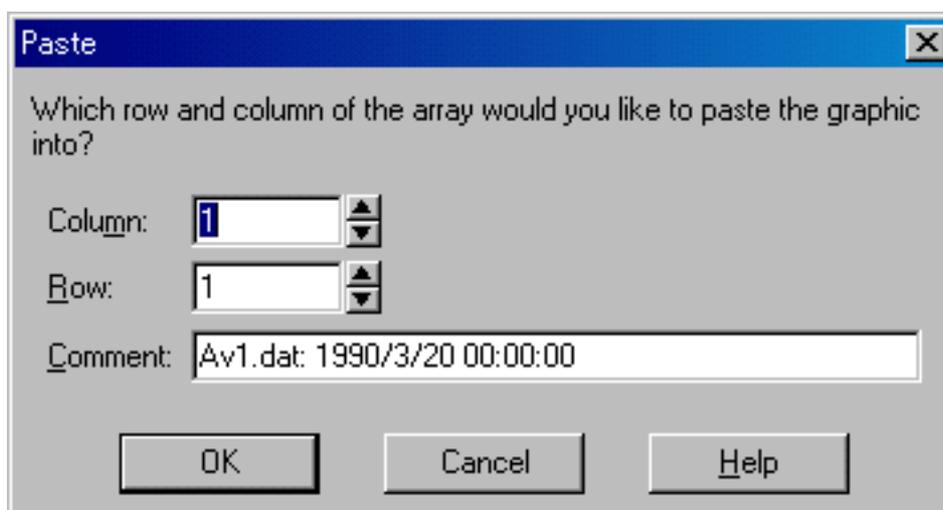


OK を押しますと、次のように Fitting が行えます。



5.2 印刷

データファイルを開いているウインドウや、グラフを描画しているウインドウのアイコン  を押すと、下のような画面が表示されます。



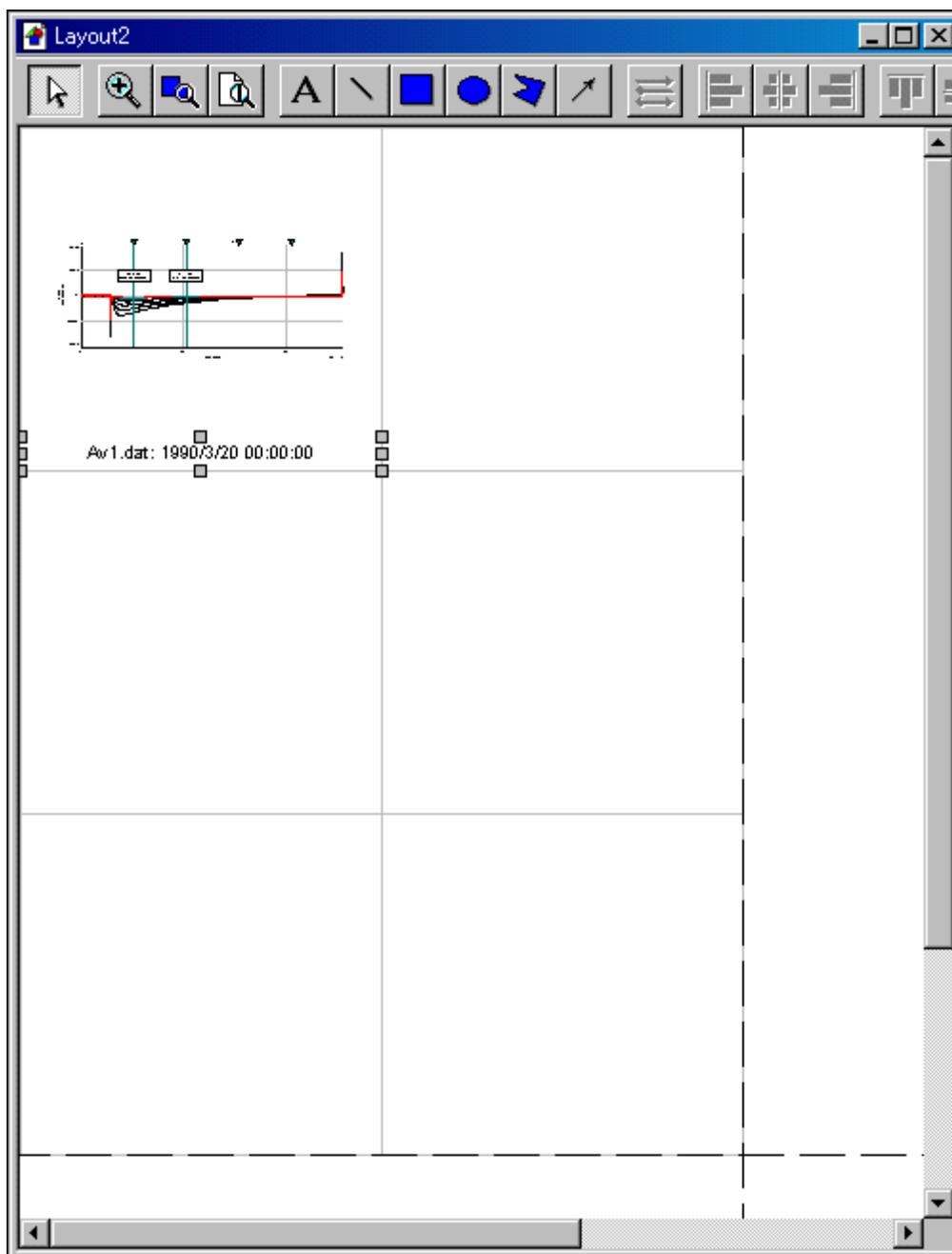
次の項目を設定し、**OK**を押して下さい。

Column 横方向の位置を選択して下さい(最大2)。

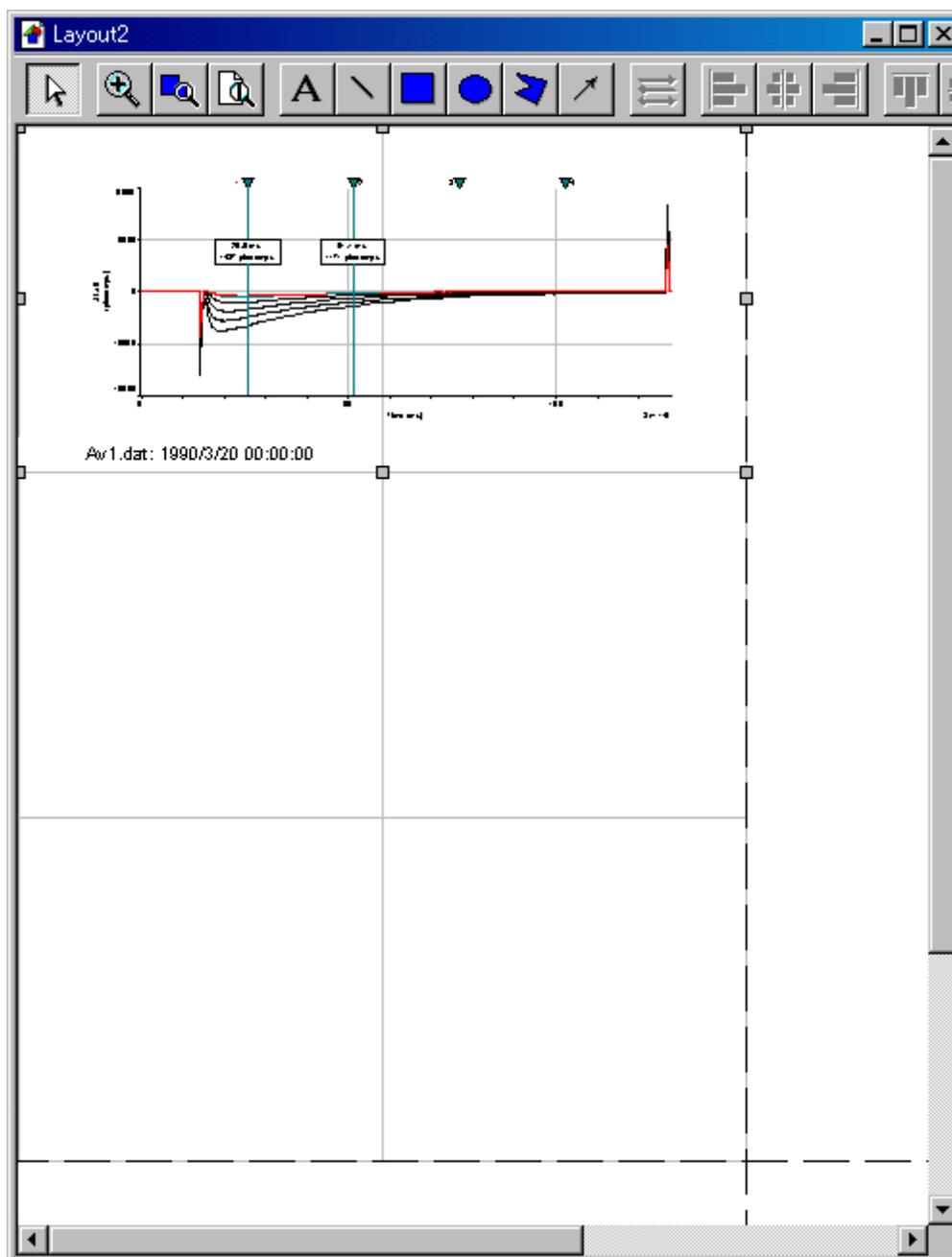
Row 縦方向の位置を選択して下さい(最大3)。

Comment コメントを入力して下さい。

次のように表示されます。



グラフを選択し、拡大する事により、2つの領域に、表示する事もできます。



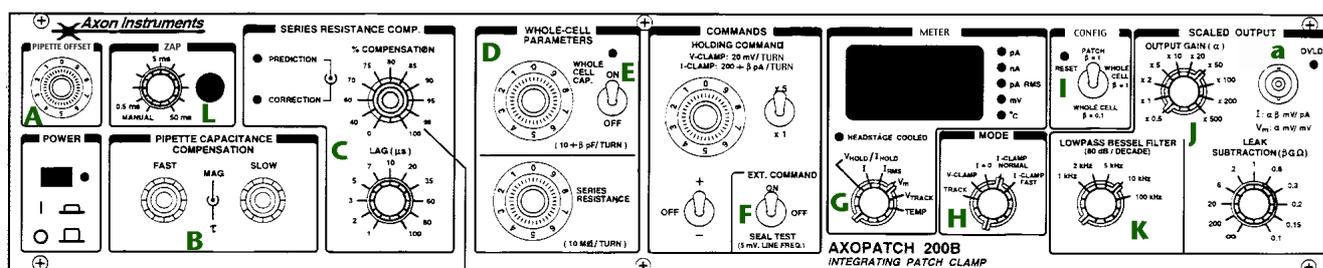
これを、印刷したいデータ分だけ繰り返してください
印刷する場合は、「File/Print...」を選択すれば、行えます。

第6章

パッチクランプ増幅器 : AxoPatch200B

このマニュアルでは、AxoPatch200B の使い方を、モデルセルを使って、説明します。

6.0.1 フロントパネル (表面)



ダイヤルの設定を次のように設定して下さい。

PIPETTE OFFSET 50

ZAP MANUAL

PIPETTE CAPACITANCE COMPENSATION FAST MAG, τ 0(反時計まわりに全て)

SLOW MAG, τ 0(反時計まわりに全て)

SERIES RESISTANCE COMP. %COMPENSATION PREDICTION 0(反時計まわりに全て)

CORRECTION 0(反時計まわりに全て)

LAG(μ s) 1(反時計まわりに全て)

WHOLE-CELL PARAMETERS WHOLE CELL CAP. 0, OFF

SERIES RESISTANCE 0

COMMANDS HOLDING COMMAND 0, times 1

EXT. COMMAND OFF

METER I

MODE V-CLAMP

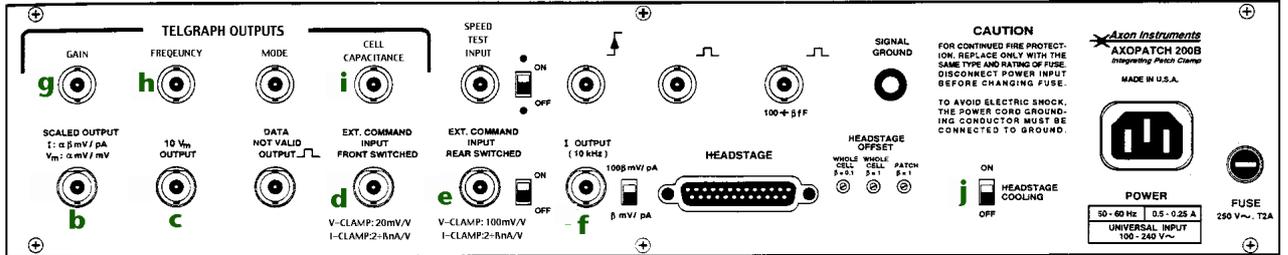
CONFIG. WHOLE CELL $\beta = 1$

SCALED OUTPUT OUTPUT GAIN(α) $\times 10$

LOWPASS BESSEL FILTER 5kHz

LEAK SUBTRACTION inf

6.0.2 リアパネル(裏面)

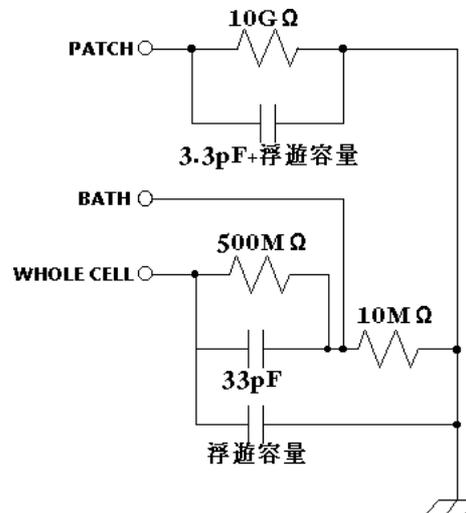


スイッチを次のように設定して下さい。

SPEED TEST INPUT OFF
 EXT. COMMAND INPUT REAR SWITCHED OFF
 I OUTPUT(10KHz) 0.5mV/pA
 HEADSTAGE COOLING ON

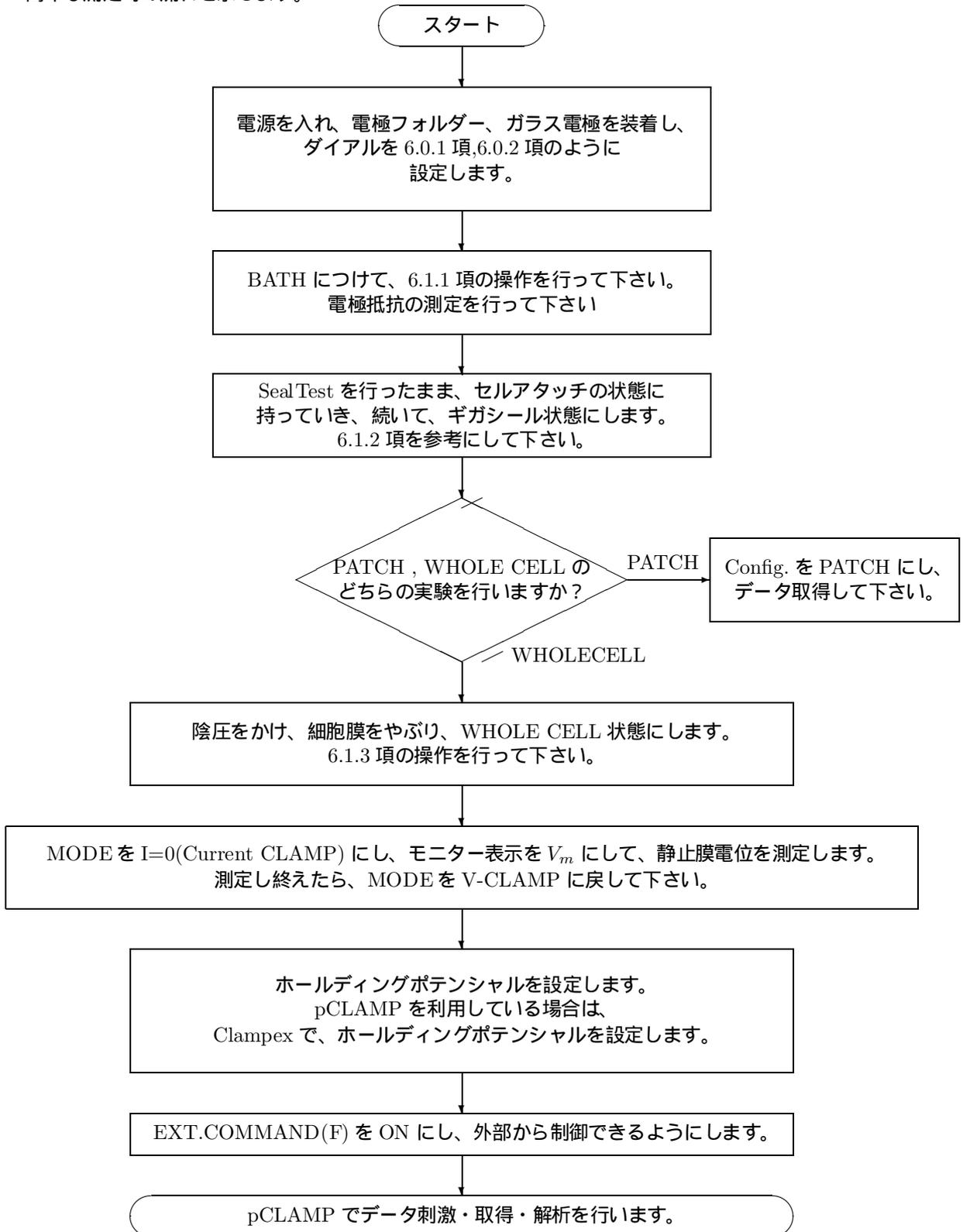
6.0.3 モデルセル

モデルセルは、次の等価回路となっています。



6.1 操作方法

簡単な測定時の流れを示します。

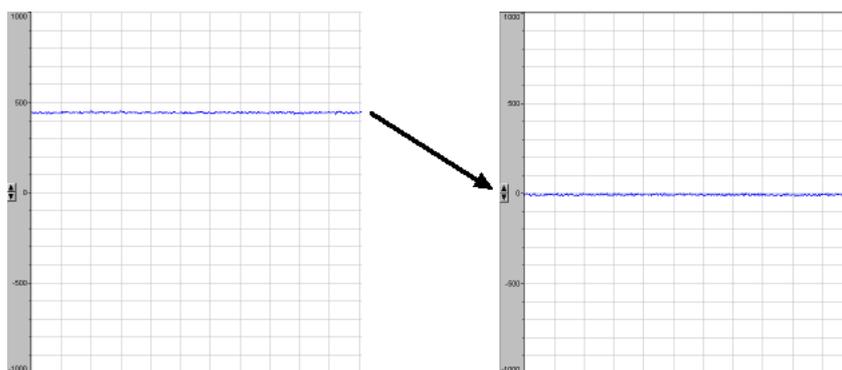
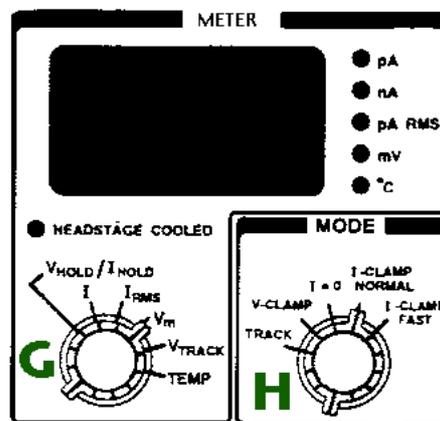


6.1.1 BATH

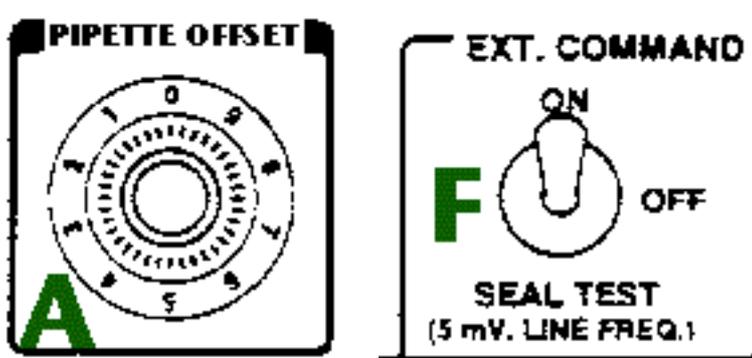
ヘッドステージに、モデルセルを BATH 位置*1で接続して下さい。

右のメーターに電流値が表示されていますので、PipetteOffset(A) を利用し、この値をゼロにします。

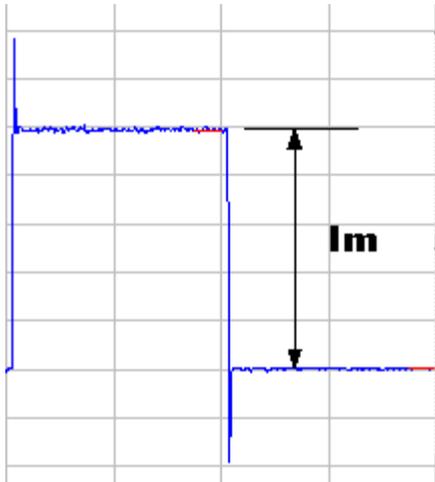
オシロスコープで、SCALED OUTPUT 端子 (a) を観測していると、PipetteOffset(A) を調整し、下の波形のように、波形が 0 に近づけます。



次に電極抵抗を測定します。EXT.COMMAND(F) を SEAL TEST にし、電極へ 5mV の矩形波を出力します。



*1 培養液にガラス電極を入れた状態をシミュレートします。

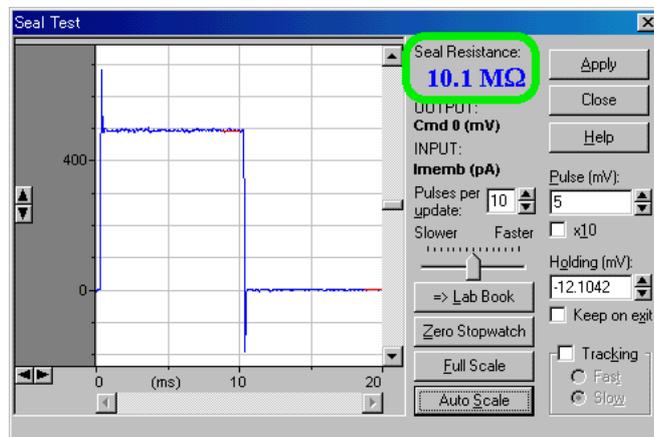


オシロスコープで、SCALED OUTPUT 端子 (a) を観測すると、左のような波形が観測されるはずですが。

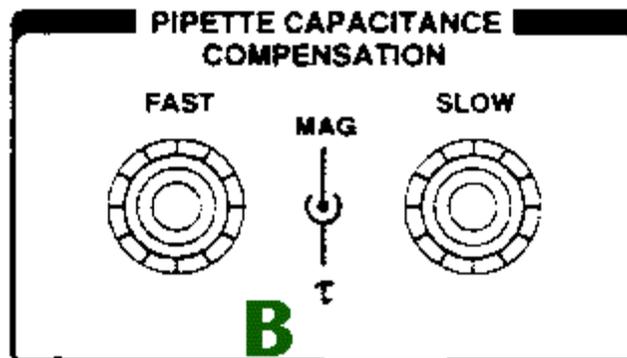
この時の矩形波の振幅 (I_m [mV]) を測定しますと、電極抵抗を測定できます。

$$\text{電極抵抗 [M}\Omega\text{]} = 5[\text{mV}] \div \frac{I_m[\text{mV}]}{\alpha \times \beta[\text{mV/pA}]} \div 10^{-3}$$

Clampex8 で利用する場合は、EXT.COMMAND(F) を ON にして、Seal Test を実行してください。左上の Seal Resistance に電極抵抗が表示されます。



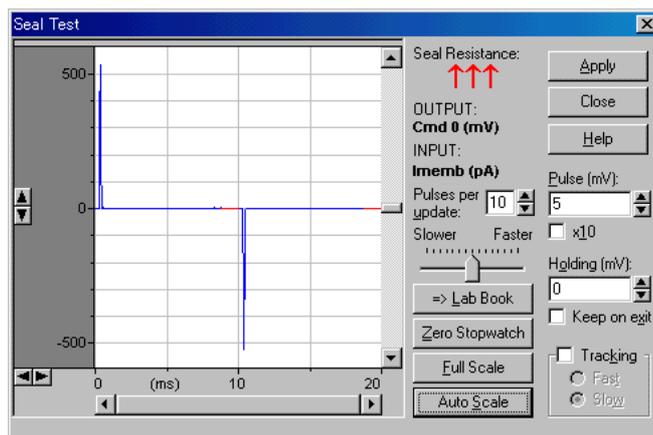
矩形波の前後で出ているトランジェント波形は、PIPETTE CAPACITANCE COMPENSATION の FAST MAG, τ や SLOW MAG, τ でキャンセルできます。



6.1.2 PATCH

ヘッドステージに、モデルセルを PATCH 位置*2で接続して下さい。

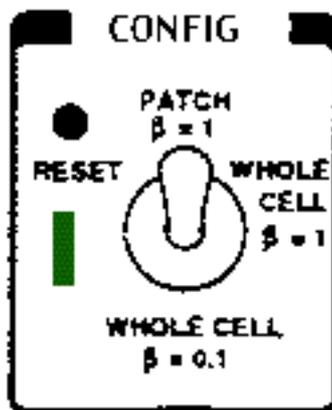
SealTest をおこなったまま、細胞にガラス電極を当てていくと、電極抵抗がギガオームに近付いてきますと、次のような波形となり、Seal Resistance が大きくなってきます。ギガオーム表示される場合もあります。



オシロスコープでは、 $\alpha = 1, \beta = 10$ の場合に、50mV より小さい振幅となります。

矩形波の前後で出ているトランジェント波形は、PIPETTE CAPACITANCE COMPENSATION の FAST MAG, τ や SLOW MAG, τ でキャンセルできます。

シングルチャンネルの測定の場合は、CONFIG.(I) を PATCH $\beta = 1$ にして、測定をし始めます。



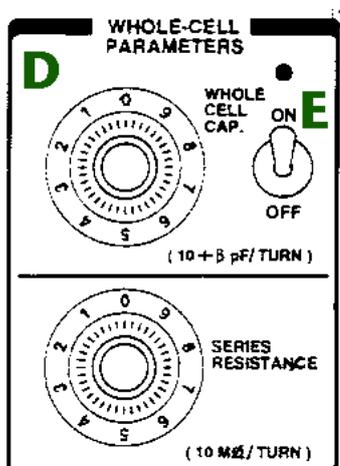
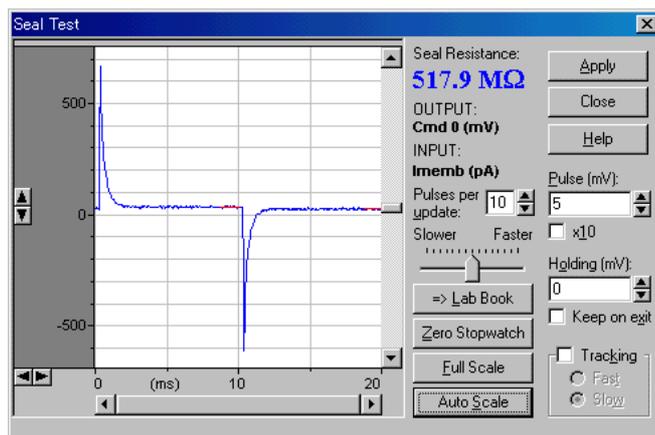
*2 ガラス電極を細胞に当てたシングルチャンネルモードをシミュレートします。

6.1.3 WHOLE CELL

ヘッドステージに、モデルセルを WHOLE CELL 位置*3で接続して下さい。

PATCH 状態から、陰圧をかけたり、ZAP を行う事により、細胞膜をやぶる事ができ、WHOLE-CELL 状態になります。

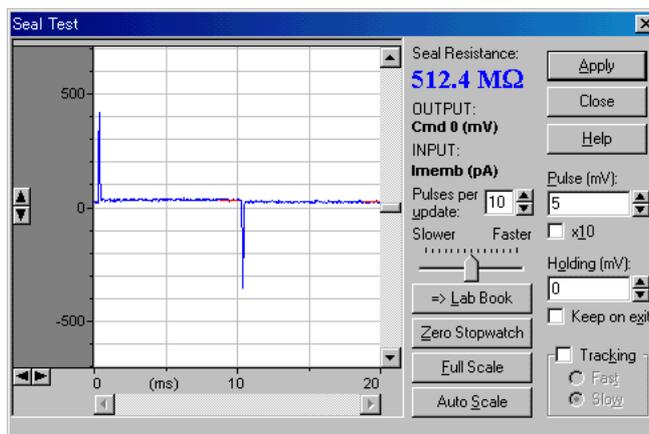
この時の抵抗値は、細胞の抵抗と電極の抵抗の合成抵抗となります。



この時の、矩形波の前後の波形をキャンセルし、矩形波のみの反応を見ていきます。

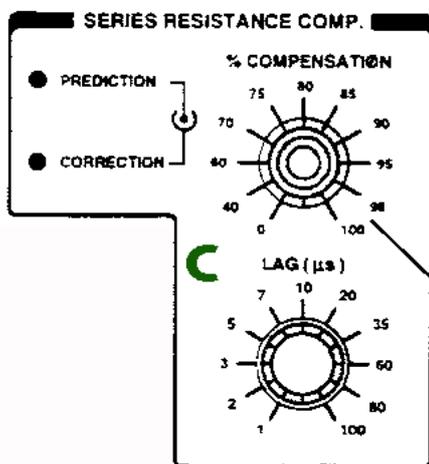
WHOLE-CELL PARAMETERS(E) を ON にし、WHOLE CELL CAP. と SERIES RESISTANCE を調整していきます。

SERIES RESISTANCE に先程計算した電極抵抗にダイヤルをセットして下さい。その後 WHOLE CELL CAP. を調整し、次のように波形にします。

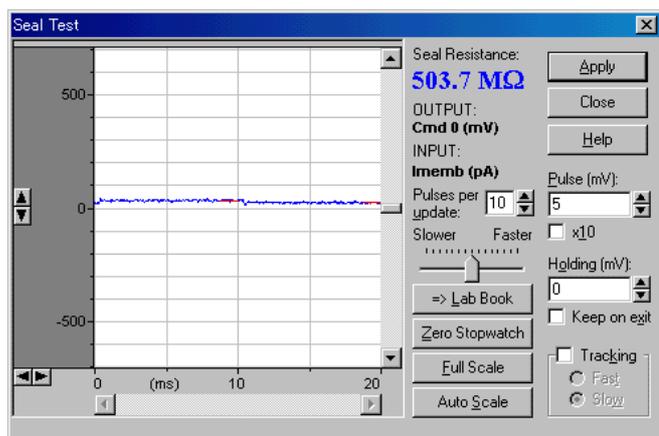


*3 PATCH 状態から細胞をやぶって、ホールセルモードをシミュレートします。

電極抵抗の影響が大きな場合には、SERIES RESISTANCE COMP. %CORRECTION と LAG や%PREDICTION を利用し、キャンセルしていきます。

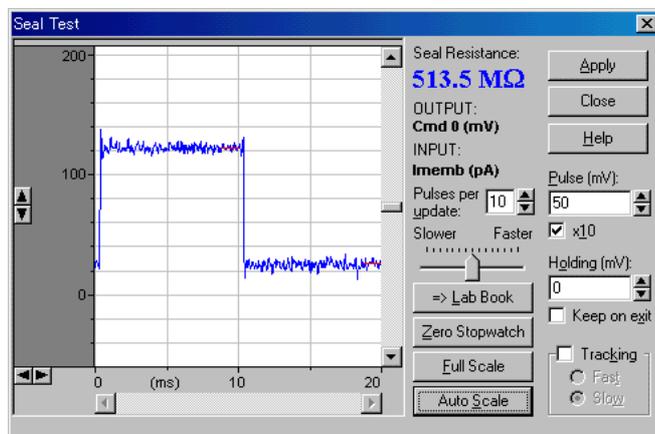


これでは、まだ、トランジェント波形が残っていますので、PIPETTE CAPACITANCE COMPENSATION の FAST MAG, τ や SLOW MAG, τ でキャンセルします。



拡大すると、下の波形となり、きれいに矩形波が表示されます。

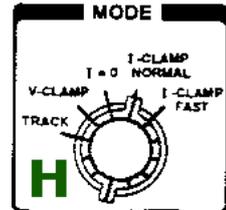
今回は、モデルセルを利用し、実験したので、このようにキャンセルできますが、実際の細胞では、モデルセルの等価回路とは違いますので、このように簡単に調整できない場合が多いです。



6.2 その他の機能

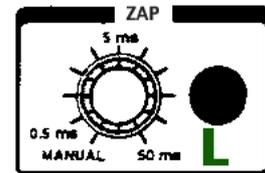
6.2.1 MODE

ここで、V-CLAMP,I-CLAMP の選択を行います。



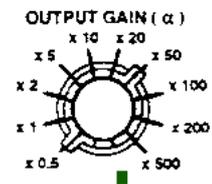
6.2.2 ZAP

細胞に電気刺激を加えます。
 ダイヤルで刺激を加えている時間を調整します。
 ボタンを押すと、ダイヤルの時間だけ、刺激を加えます。

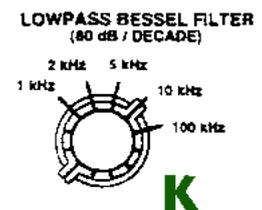


6.2.3 OUTPUT GAIN(α),LOWPASS BESSEL FILTER

SCALED OUTPUT から出力される信号の増幅率を変更します。



ローパスベッセルフィルタの遮断周波数を変更します。

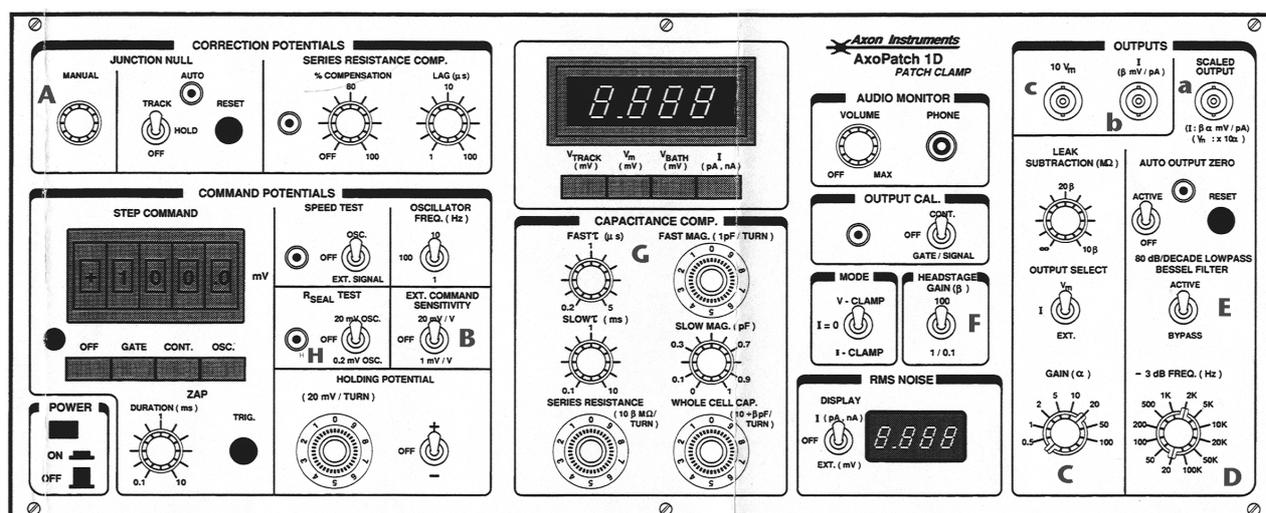


第7章

パッチクランプ増幅器：AxoPatch1D

このマニュアルでは、AxoPatch1D の使い方を、モデルセルを使って、説明します。

7.0.4 フロントパネル (表面)

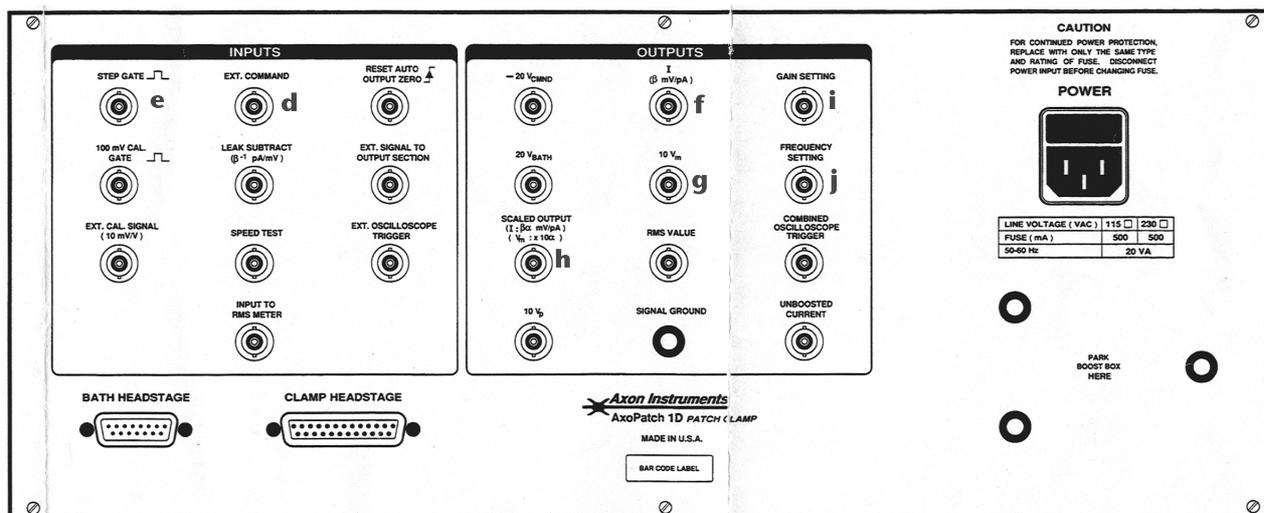


ダイヤルの設定を次のように設定して下さい。

- Manual Junction Null 5 回転
- Auto Junction NULL OFF
- Series Resistance Comp. % Compensation OFF
- Step Command 000.0, OFF
- Speed Test OFF
- Oscillator Freq. 100Hz
- $R_{SEALTEST}$ OFF
- Ext. Command Sensitivity OFF
- Holding Potential OFF(反時計まわりに全て)
- Zap 0.1ms

Main Meter I
 Capacitance Compensation 反時計回りに全て
 Audio Monitor OFF
 Output Cal. OFF
 Mode V-CLAMP
 HeadStage gain β 1/0.1
 RMS Noise Display I(pA,nA)
 Gain(α) 1
 Output Select I
 Leak Subtract inf
 -3dB Freq. 2kHz
 Active/Bypass Active
 Auto Output Zero OFF

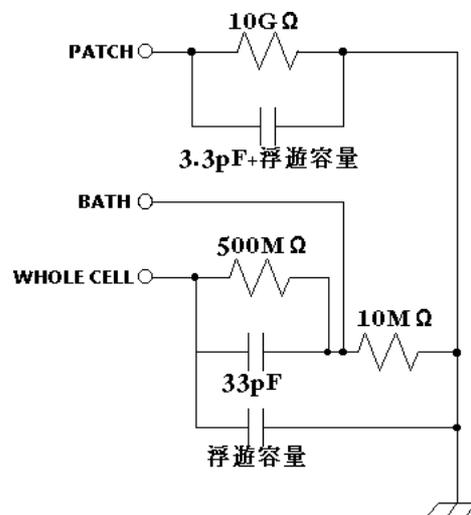
7.0.5 リアパネル(裏面)



スイッチを特にありません。

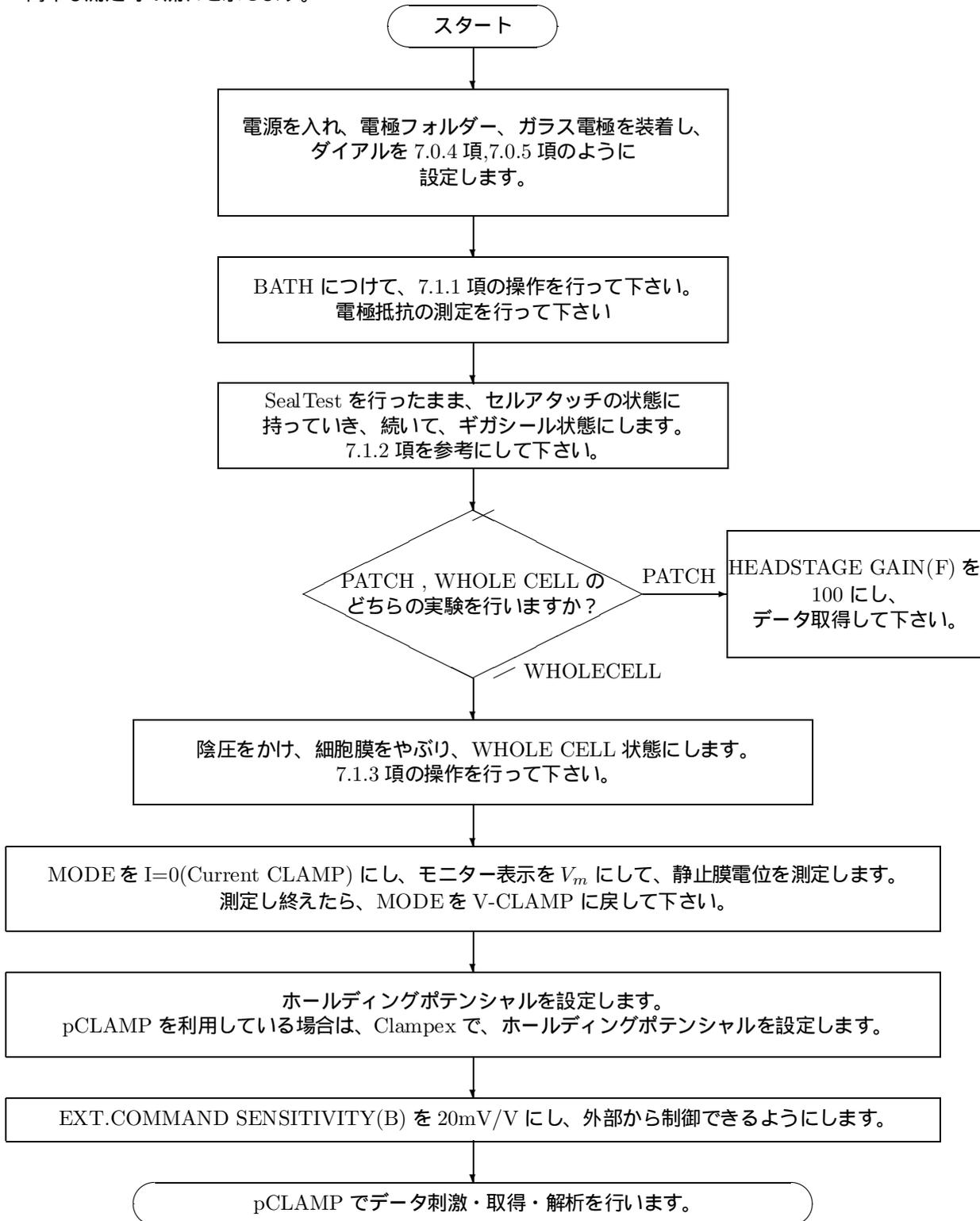
7.0.6 モデルセル

モデルセルは、次の等価回路となっています。



7.1 操作方法

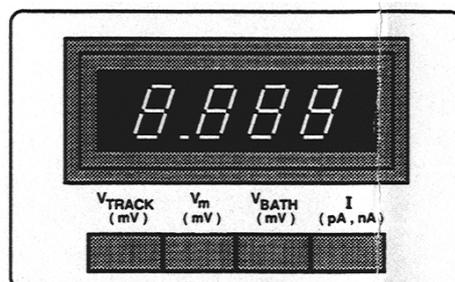
簡単な測定時の流れを示します。



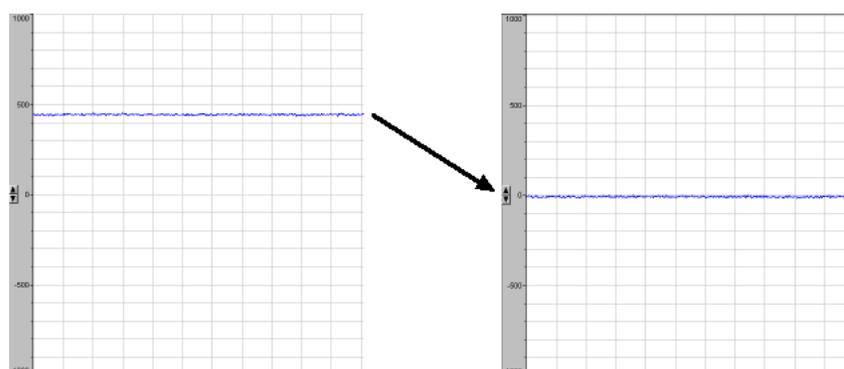
7.1.1 BATH

ヘッドステージに、モデルセルをBATH 位置*1で接続して下さい。

右のメーターに電流値が表示されていますので、Junction NULL Manual(A) を利用し、この値をゼロにします。



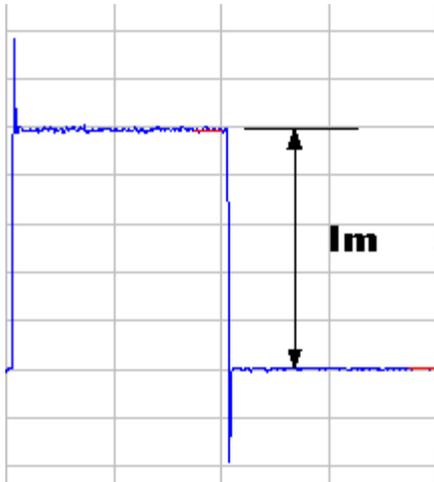
オシロスコープで、SCALED OUTPUT 端子 (a) を観測していると、Junction NULL Manual(A) を調整し、下の波形のように、波形が0に近付けます。



次に電極抵抗を測定します。 $R_{SEALTEST}(H)$ を 20mV OSC. にし、電極へ 20mV の矩形波を出力します。



*1 培養液にガラス電極を入れた状態をシミュレートします。

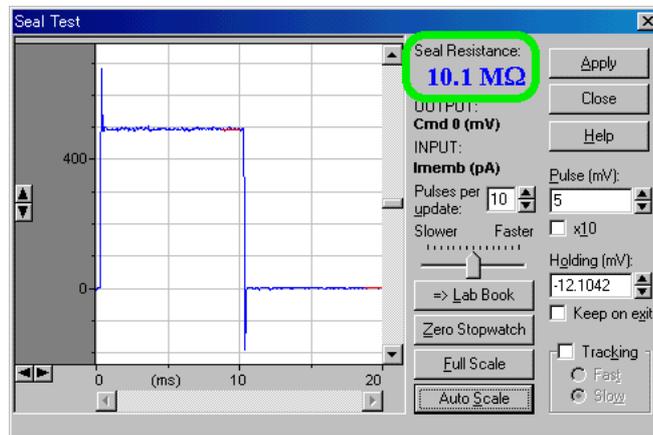


オシロスコープで、SCALED OUTPUT 端子 (a) を観測すると、左のような波形が観測されるはずですが。

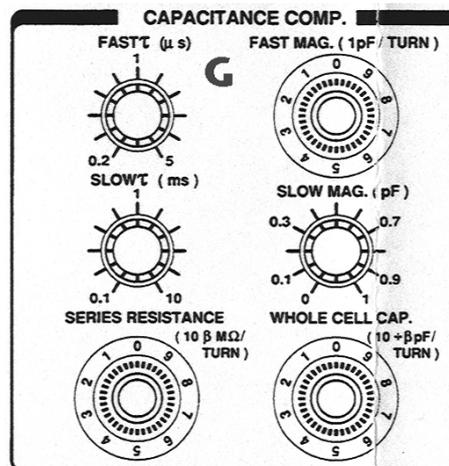
この時の矩形波の振幅 (I_m [mV]) を測定しますと、電極抵抗を測定できます。

$$\text{電極抵抗 [M}\Omega\text{]} = 5[\text{mV}] \div \frac{I_m[\text{mV}]}{\alpha \times \beta[\text{mV/pA}]} \div 10^{-3}$$

Clampex8 で利用する場合は、 $R_{SEALTEST}(H)$ を OFF、EXT.COMMAND SENSITIVITY(B) を 20mV/V にし、SealTest を実行してください。左上の Seal Resistance に電極抵抗が表示されます。



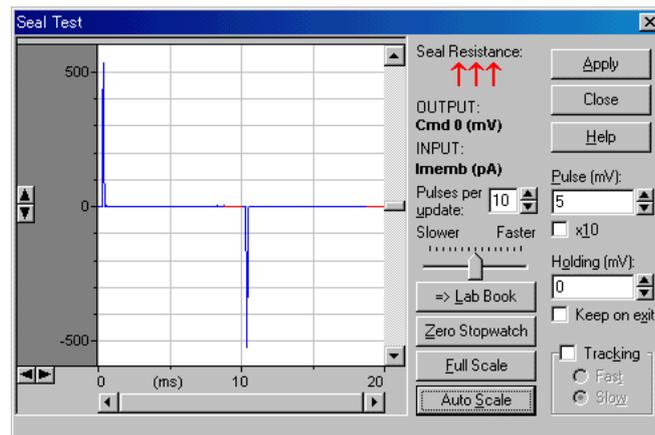
矩形波の前後で出ているトランジェント波形は、CAPACITANCE COMP.(G) の FAST τ , FAST MAG, SLOW τ , SLOW MAG でキャンセルできます。



7.1.2 PATCH

ヘッドステージに、モデルセルを PATCH 位置*2で接続して下さい。

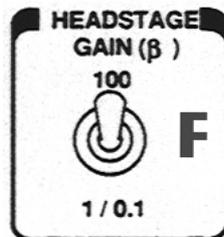
SealTest をおこなったまま、細胞にガラス電極を当てていくと、電極抵抗がギガオームに近付いてきますと、次のような波形となり、Seal Resistance が大きくなってきます。ギガオーム表示される場合もあります。



オシロスコープでは、 $\alpha = 1, \beta = 10$ の場合に、50mV より小さい振幅となります。

矩形波の前後で出ているトランジェント波形は、CAPACITANCE COMP.(G) の FAST τ , FAST MAG, SLOW τ , SLOW MAG でキャンセルできます。

シングルチャンネルの測定の場合は、HEADSTAGE GAIN(β)[F] を 100 にし、測定をし始めます。

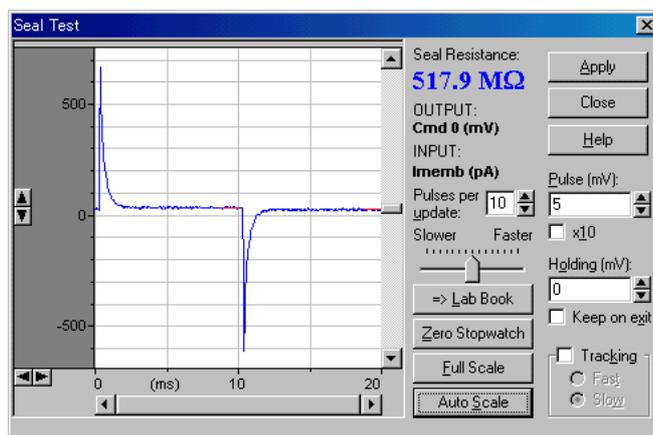


*2 ガラス電極を細胞に当てたシングルチャンネルモードをシミュレートします。

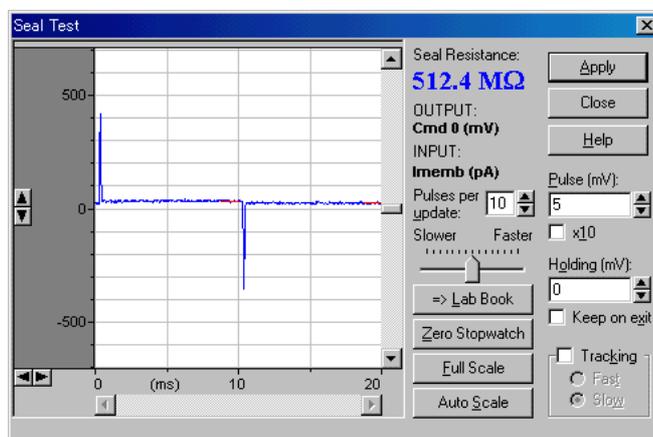
7.1.3 WHOLE CELL

ヘッドステージに、モデルセルを WHOLE CELL 位置*3で接続して下さい。

PATCH 状態から、陰圧をかけたり、ZAP を行う事により、細胞膜をやぶる事ができ、WHOLE-CELL 状態になります。この時の抵抗値は、細胞の抵抗と電極の抵抗の合成抵抗となります。

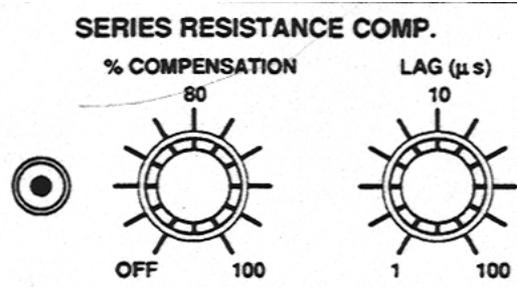


この時の、矩形波の前後の波形をキャンセルし、矩形波のみの反応を見ていきます。CAPACITANCE COMP.(G) の SERIES RESISTANCE と WHOLE CELL CAP. を調整していきます。SERIES RESISTANCE に先程計算した電極抵抗にダイヤルをセットして下さい。その後 WHOLE CELL CAP. を調整し、次のように波形にします。

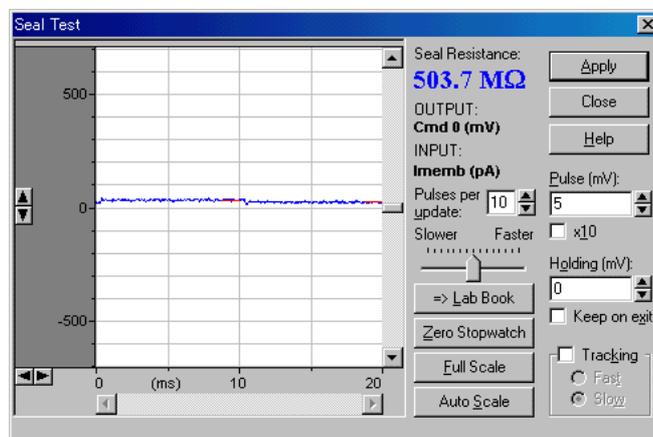


*3 PATCH 状態から細胞をやぶって、ホールセルモードをシミュレートします。

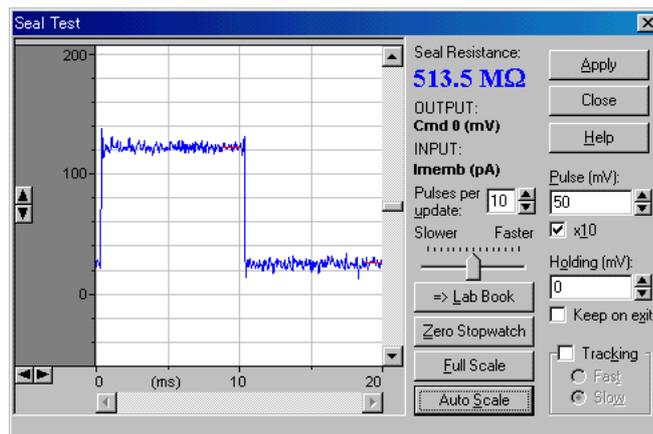
電極抵抗の影響が大きな場合には、SERIES RESISTANCE COMP. の%COMPENSATION の PREDICTION や CORRECTION 利用し、キャンセルしていきます。



これでは、まだ、トランジェント波形が残っていますので、CAPACITANCE COMP.(G) の FAST τ , FAST MAG, SLOW τ , SLOW MAG でキャンセルします。



拡大すると、

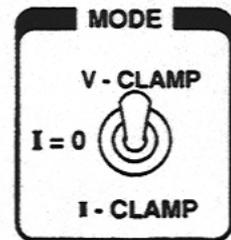


の波形となり、きれいに矩形波が表示されます。今回は、モデルセルを利用し、実験したので、このようにキャンセルできますが、実際の細胞では、モデルセルの等価回路とは違いますので、このように簡単に調整できない場合が多いです。

7.2 その他の機能

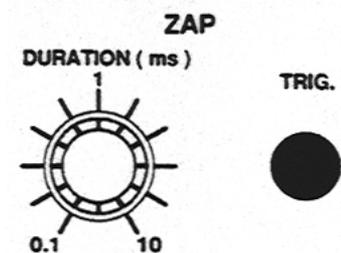
7.2.1 MODE

ここで、V-CLAMP, I-CLAMP, I=0 の選択を行います。



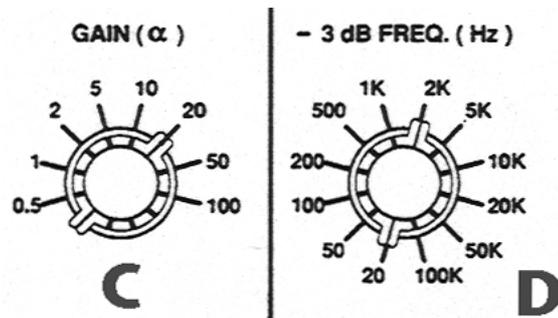
7.2.2 ZAP

細胞に電気刺激を加えます。
 ダイヤルで刺激を加えている時間を調整します。
 ボタンを押すと、ダイヤルの時間だけ、刺激を加えます。



7.2.3 GAIN(α), -3dB FREQ. (Hz)

SCALED OUTPUT から出力される信号の増幅率を変更したり、ローパスベッセルフィルタの遮断周波数を変更します。



7.2.4 STEP COMMAND

STEP COMMAND に設定した電圧を刺激として加える事ができます。

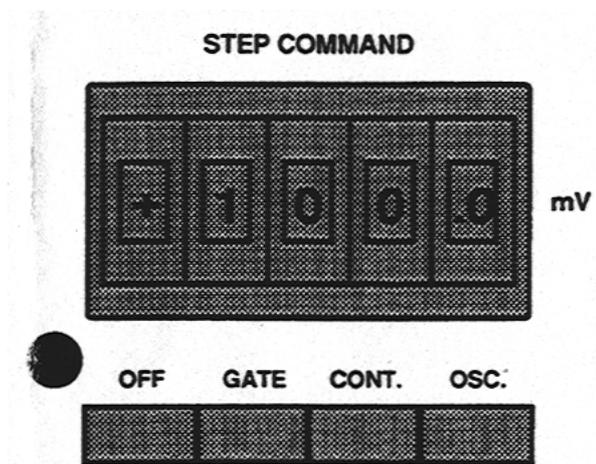
スイッチにより、次のような刺激波形を加える事ができます。

OFF 刺激を行いません。

GATE STEP GATE(e) に入力された周波数

CONT. 定常出力

OSC. OSCILLATOR FREQ.(Hz) の周波数



第 8 章

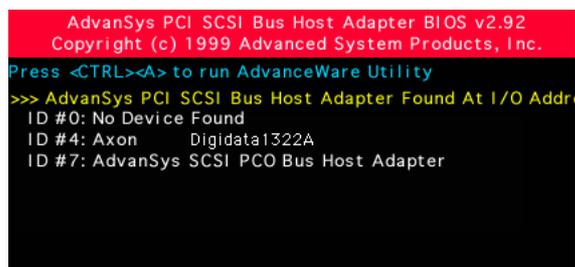
トラブルシューティング・Q & A

8.1 トラブルシューティング

8.1.1 Digidata1322A が動作しない場合は。

次の項目を確認して下さい。

1. 電源ケーブルが外れていませんか。
2. 電源が入っていますか。
3. SCSI ケーブルが繋がっていますか。
4. コンピュータ起動時に、次のように Digidata1322A のメッセージが表示されますか。表示されていない場合は、ケーブル類がうまく繋がっていない可能性がありますので、御確認下さい。

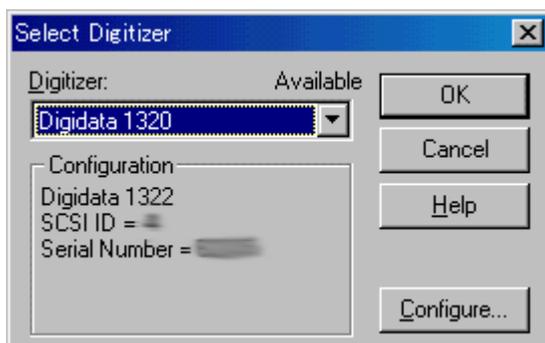


```
AdvanSys PCI SCSI Bus Host Adapter BIOS v2.92
Copyright (c) 1999 Advanced System Products, Inc.
Press <CTRL><A> to run AdvanceWare Utility
>>> AdvanSys PCI SCSI Bus Host Adapter Found At I/O Address 0x00000000
ID #0: No Device Found
ID #4: Axon Digidata1322A
ID #7: AdvanSys SCSI PCO Bus Host Adapter
```

5. Clampex で Digidata1322A が認識されていますか。

Clampex の Configure/Select Digitizer メニューを選択して、次のように表示されていますか。

以上の確認で問題がなく、しかも動作しない場合は、販売店へ御連絡ください。



8.1.2 Clampex で Digidata1322A の設定が行えない場合

プリンタポートに dongle (パラレルポートキー) が付いているか確認して下さい。

Clampex の Configure/Select Digitizer メニューを選択して下さい。No dongle と表示されている



場合は、dongle (パラレルポートキー) が付いていないと判断されています。

一度プリンタポートから外し、つけなおして、再度試して下さい。

以上の確認でも不明な場合は、販売店へ御連絡ください。

8.1.3 Clampex で AxoPatch200B の制御が行えない場合

Digidata1322A は、認識されていますか。

EXT. COMMAND スイッチ (F) を ON(上側) にして、外部制御をできるようにして下さい。

以上の確認でも不明な場合は、販売店へ御連絡ください。

8.2 Q & A

8.2.1 pCLAMP 用のコンピュータに MO などの外部記憶装置を増設したい。

増設は可能ですが、できる限りデータ取得専用のコンピュータとして御利用ください。増設する場合は、SCSI ID が一緒にならないように気をつけて下さい。