

専用ディジタイザー(オートニクス APC 204)と PC 9800 を用いたシステム

久木田 文 夫
(生理学研究所・生体膜)

I はじめに

生理現象をセンサーやトランスデューサーで電気の信号に変換し、コンピュータに取り込んで解析することは現在では当然のことのようになってきている。20年程前まではこのような処理は生理学の分野ではごく限られた裕福な研究室で高価なコンピュータを用いて行われていた。日本ではもっと遅れて発展してきたこの研究方法は、最近では安価で高性能のパソコンの普及で一般的になってきた。現在は比較的安くなった外国製品が研究室に溢れているが、現在でも生理学実験用のシステムとしての国産の完成品は存在しない。

本稿では生理現象の中では比較的高速度の取り込みを必要とするイカ巨大神経線維の電気生理学研究用に開発したシステムを紹介する。本システムは活動電位や膜電流をオシロスコープで観察し、オシロスコープ画面を写真撮影したフィルムやごく最近ではトランジェント・メモリを介してペンレコーダに書かせた記録を読みとって解析していた当時の苦勞を忘れず、その良い点を損なわずコンピュータシステムでより高性能化したシステムである。従って、コンピュータ化の為に、時間や電圧の分解能など実験のほうで妥協するような設計思想はとっていない。又、完全に国産品で組み上げることを目指したシステムでもある。本シリーズの別の章で述べられている、ハードウェアとソフトウェアが一体として販売されている、全てがコンピュータ化されたシステムとの比較で参考にさせていただいたら幸いである。

II 実験システムの概要

図1に実験システムの概要を示す。生理現象は電気現象であれば電極や前置増幅器を介して、他の現象はそれに相応しいセンサー或いはトランスデューサーを介して電気信号に変換後、A/D変換して、コンピュータに取り込む。A/D変換は図1Aではデジタル・オシロスコープで行い、図1Bではオートニクス社製のAPC 204で行う。一般の生理学実験ではコンピュータでコントロールされた刺激装置(任意波形発生装置やプログラマブル・パルス発生器などで)で生体や組織を刺激して、その応答を調べることで生理的な情報を得ている。応答はデジタル・オシロスコープやAPC 204のメモリに一時保存され、コンピュータに転送される。図1BではAPC 204とコンピュータによりディスプレイをデジタルオシロスコープとして利用でき、コンピュータへのデータの保存は一瞬に出来る。通常のデジタルオシロスコープでは現象の一時保存は一瞬に出来るがコンピュータへの転送は普通GP-IBやシリーズやパラレルの汎用の通信方法で行われるので一般に転送速度は遅い。図1Aでは全ての装置がGP-IBで制御されるが、図1Bではいくつかのデータ転送方法が混在しており、データの転送にはDMA(Direct Memory Access)を用いている。

図1Aのシステムは完全に市販の装置の組み合わせになるが、満足のいく性能にする為には、多額の費用がかかる。また、ソフトなどは自作する必要がある。図1Bでは、オートニクス社製のAPC 204は2チャンネル仕様で50万円弱であるが、他は自作出来るので安価である。

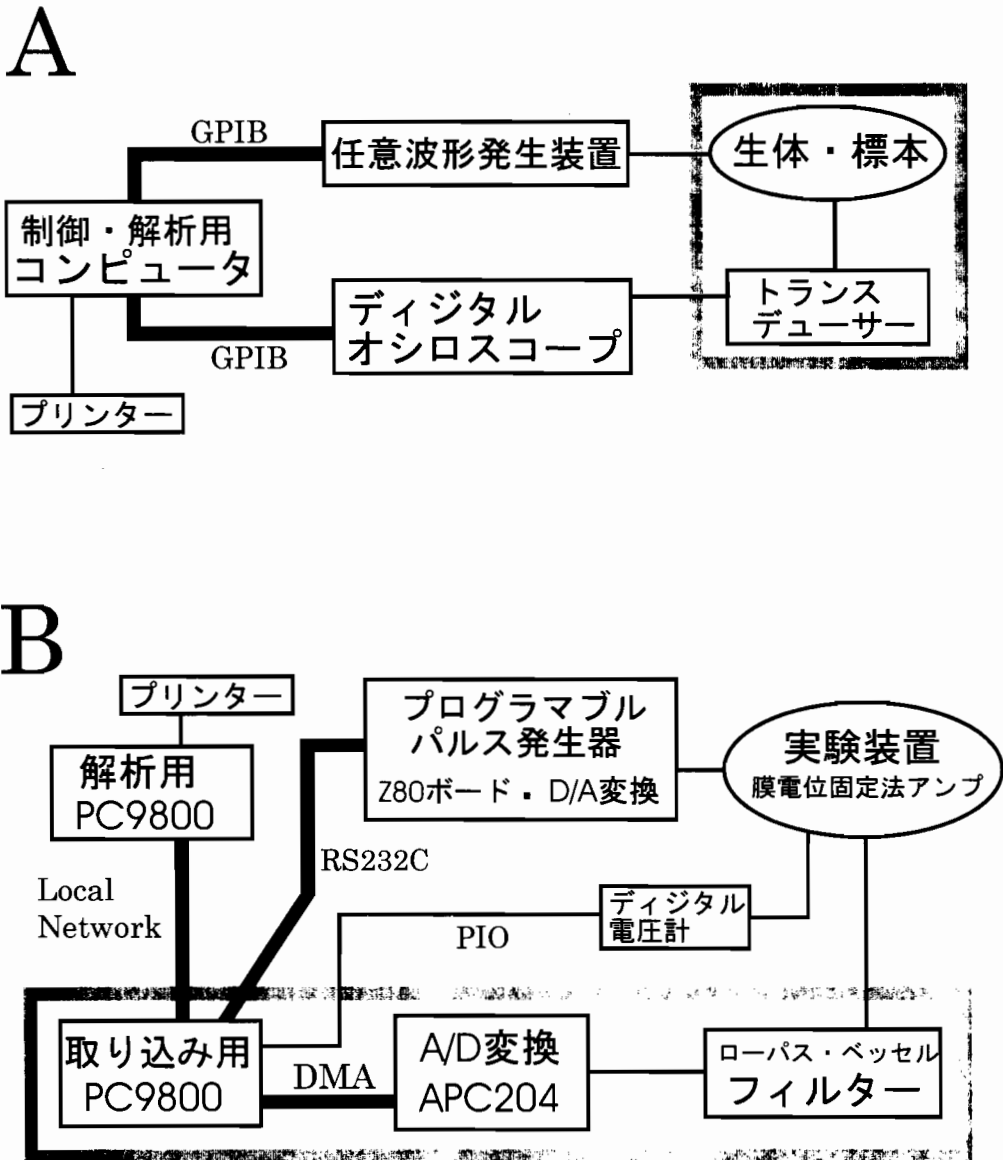


図 1. 生理学実験のデータ取り込みの模式図.

- A. デジタルオシロスコープと任意波形発生装置を中心としたシステム.
 B. 専用ディジタイザー(オートニクス APC 204)と自作のプログラマブルパルス発生器を中心とした NEC PC 9800 システム.

1989年に APC 204 が発売された時点で図 1 B のシステムを開発し、以後若干の改良を加え現在も使用している。Ⅲ章に述べる性能を満足する図 1 A のシステムを新規に作成するには、現在でも当時と変わらず500万円程度の費用を要する。

Ⅲ 生理学実験のための必要条件

データ取り込み装置 電圧データの分解能は12ビットは必要である(すなわち ± 2048 点)。時間分解能は実験の目的による。電気生理学のデータでは膜電位固定法のデータの様に比較的長時間

経過が緩やかで簡単な信号が得られるものから、活動電位のバーストなどのように速い変化の信号の集合として記録されるものがある。時間分解能も高く、記録時間も長くするという事は相反することであるのでバーストの正確な記録はより難しいと言える。実用上は膜電位固定法の場合、サンプル時間10マイクロ秒で4KWで十分である。更に正確に膜電位がコントロールされている場合、膜電流だけの1チャンネルの記録で十分なことが多い。膜電位固定法のデータでも最初の容量性電流の正確な測定にはサンプル時間が1マイクロ秒より速い必要がある。活動電位を従来のオシロスコープで記録し写真に撮ったようなイメージで記録するには(図8A)、サンプル時間2マイクロ秒で10KWが必要である。インパルス列の場合は数10秒の記録が必要となるのでサンプル時間を長くしなければならないが、コンピュータで取り込むのは実用上64KWで十分である。更に長時間の記録はPCMデータレコーなどを併用する方が時間的にも金銭的にも経済的である。

刺激によるアーチファクトを除去する為にP/4(1個の脱分極テストパルスと大きさが1/4の過分極コントロールパルス4個を一組のパルス列として扱い、5個のパルスによる応答を加算することにより、刺激の大きさに比例したアーチファクトやリーク電流を除去し必要な情報のみを取り出す方法)やP/N(1個のテストパルスと大きさがN分の1のN個のコントロールパルスを1組とするパルス列を用いる方法で、Nとして正と負の数を用いることが出来、それぞれテストパルスのデータにN個のコントロールパルスのデータを加算したり、テストパルスのデータからN個のコントロールパルスのデータを差し引くことで、P/4と同様の効果がある。しかもコントロールパルスを小さくとれるので、非線形なリーク電流や他のイオンチャンネルの混在を防ぐことが出来る。図7AにP/6法の実際を示す。)を用いる場合があるが、その場合にはデータを加算する必要がある。加算を効率的に行うためには取り込み装置本体で加算

する場合とコンピュータ上でソフトにより加算する場合がある。いずれの場合でも高速度で加算することが望ましい。安価なデジタル・オシロスコープのなどは雑音の除去のみを目的した(単純加算ではない)方法をとる場合が多いので注意が必要である。雑音レベル以下の情報を取り出すためには単純加算(又は単純加算平均)が必要である。

普通はP/4やP/Nは、ほぼリアルタイムで加算処理された結果を見るために開発された方法で、容量性サージ以外のリークが小さい場合のみ有効である。この方法ではもとのデータが保存されないことに注意が必要で、人工的な加工されたデータのみを保存することになる。筆者は代わりにコントロールパルスとテストパルスを与えた場合のデータを別々に保存し、後にコンピュータで計算により差し引いている。

データ転送部 データの転送はテストパルスの間の間隔を決めるので、十分速い必要がある。DMAという直接にコンピュータのメモリにデータ転送する方法がよい。最近では高速のGP-IBを備えたの高級機もある(1MB/秒が最高で、通常300KB/秒以下である)が、旧来のGP-IBは制御用に開発された通信方法で遅い(20KB/秒)ため、長いデータの転送には不向きで、加算を行う場合は深刻である。

フィルター部 データの取り込みでは適切な周波数のベッセル型ローパス・フィルターを通してA/D変換を行う必要がある。理論的にはaliasingを防ぐにはサンプル周波数(サンプル時間の逆数)の半分以下の遮断周波数のローパス・フィルターを用いると良いことになっているが、これは信号の周波数に関する情報が失われない上限を示しているに過ぎない。実際にはフィルターの遮断周波数に比して十分大きな(十倍程度の)サンプル周波数を用いなければ、アナログのオシロスコープで見られるような活動電位の振幅や形(特にピーク部分の滑らかな曲線)といった情報は失われてしまう。これはデータの微分をとってみると一目瞭然である。筆者はイカ巨大神経線維の活動電位の測定には

サンプル時間 2 マイクロ秒を用いている。生理学の実験ではフィルターは雑音を減らして記録する目的で用いているので、オシロスコープで見て全体の形が変形せず雑音が十分に減少している状態にフィルターの遮断周波数を設定する必要がある。市販のデジタル・オシロスコープではフィルターは時間軸を変化させると自動的に適正な値に設定されることが多い。

パルス発生器 複合パルスの発生が可能で、パルスの振幅や時間をステップ毎に増減できることが最低限必要な条件であるが、下記の機能を持つと実験の進行がスムーズである。①特定のパルスに対するデータを保存でき、データの交換が瞬時に行えること、②膜電位固定法の保持電位や静止電位の値をパルス発生器に転送し、出力パルスの値を変えられること、③コンピュータや実験の状況をパルス発生器に伝え、パルス発生を一時停止出来ること、④コンピュータと切り離し、単独でマニュアルのパルス発生器として使えることなどである。特に④はホール・セル法でギガシールを得る場合とか、直列抵抗の補償やリークの補償を行うときに便利である。

取り込み用ソフト 機器にサービスプログラムとして付いている場合があるが、実用的なソフトは自分で作る必要がある。ハードウェア・メーカーが作成した完成品のソフトがある場合は、有料でも購入するほうが、時間の節約になる。生理学の実験に適当なソフトがない場合は、自作する必要がある。その際、機器の制御やデータ取り込みなどに関する部分は、いくつかのプログラム言語に対応した機器制御用関数がライブラリーとして備わっていることが必要条件である。その際、アセンブラーのソースファイルが提供されていることが望ましい。

解析ソフト 市販のソフトを有効に利用することが重要である。そのためには取り込み装置で取り込まれるデータの形式を知っておくことが重要で、データを市販のソフトで読める形式に変換することが必要である。自作ソフトでは、自動的に解析することも有用であるが、なるべ

くデータを見ながら、マウス等で解析したい部分を選んで対話型で試行錯誤で処理を行えるようにすることを勧める。一般に市販の解析ソフト(アクソン社の pClamp など)は教科書に出てくるような典型的なデータにのみしか通用しないことが多い。

データ取り込み用のコンピュータと解析用のコンピュータの分離

実験の進行を妨げないで解析が出来るように、データ取り込み用と解析用のコンピュータを分離する必要がある。2台のコンピュータは、通信回線で繋がっていると便利である。複数の研究者が実験を行う場合、実験の途中での結果の判定が容易になる。一人で実験する場合でも、実験の待ち時間中に大ざっぱな解析が出来る。実験データの取り込みが自動化されている場合は取り込み用のコンピュータは常にデータ取り込み装置の制御を行っているので、解析用には別のコンピュータが必要である。これにより通信回線を利用した遠隔地からのデータ解析も可能にする。

Ⅳ データ取り込み装置(オートニクス APC 204)の概要

図 2 にオートニクス社製 APC 204 の概略を示す。1 ユニットずつケースに納められ、4 チャンネルの入力があり、独立の 12 ビット A/D 変換器でデジタル化出来る。データはチャンネル毎データ長 64 KW あり、PC 9800 の汎用拡張スロットに差し込むインターフェースボード上のメモリに収納される。このデータは DMA でコンピュータのメモリーに転送できる。4 ユニットを同時に用いることが出来、計 16 チャンネルのサンプル時間 1 マイクロ秒・64 KW の同時取り込みが出来る。一般の A/D ボード(アクソン社の digidata 1200 など)は A/D 変換素子が 1 個しかないため、多チャンネル化するとサンプル時間が長くなる。性能が悪い物では同時取り込みが出来ない(スキップしている)。

APC 204 の仕様は表 1 に示すが、Ⅲ節に述べた必要な仕様を満たしている。データ転送速

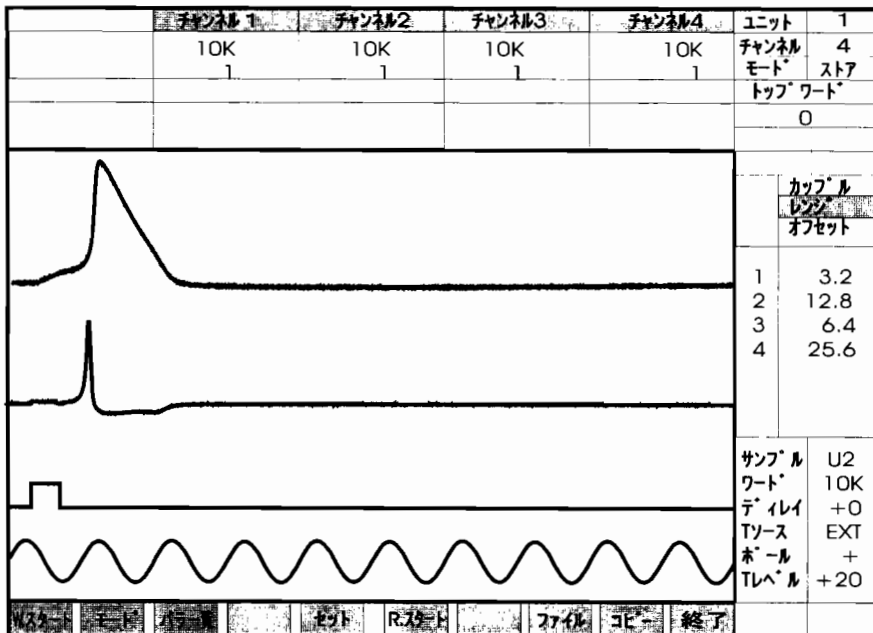
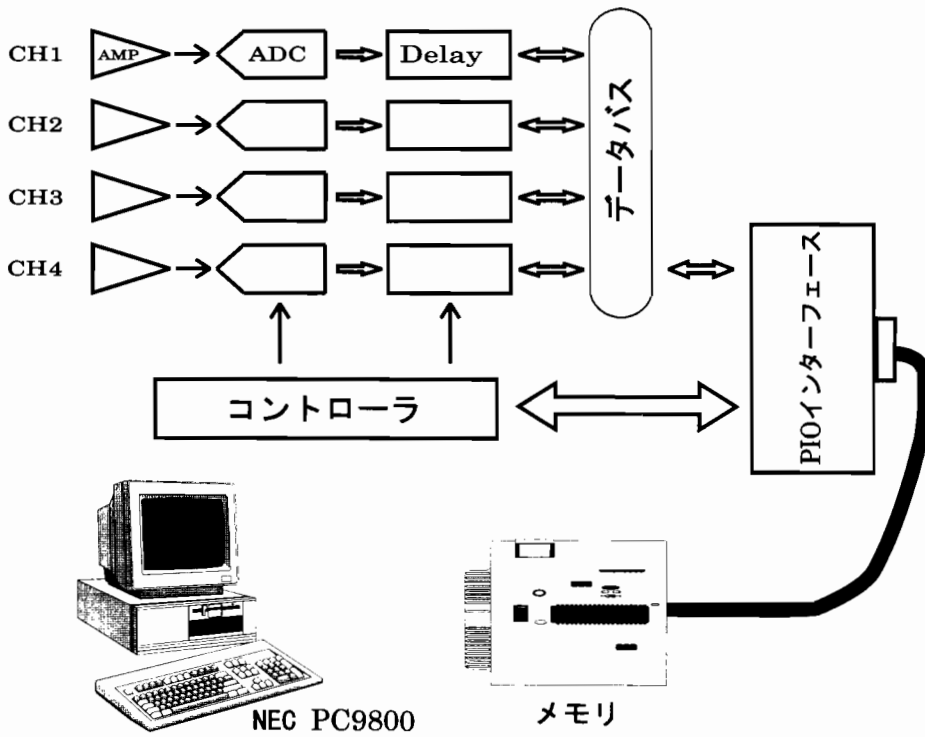


図2. データ取り込み装置 (オートニクスAPC204) の概要.
装置の概略図(上)とコンピュータディスプレイ画面を利用したデジタル・オシロスコープ(下).

表 1. オートニクス APC 204 の仕様

	項 目	設 定 範 囲
共 通	サンプル時間	1 μ s ~ 999 μ s, 1ms~999ms, EXT(max.660KHz)
	記録データ長	2~9999W, 1K~64KW
	ディレー	-1000~+9999, 1K~64K
	Tソース	AUTO, EXT, INT(1~4)
	Tポール	+, -
	Tレベル	+127% ~ -127%
ア ン プ	カップル レンジ オフセット	AC, DC, GND 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2, 6.4, 12.8, 25.6 V _{p.p} +127% ~ -127%
A/D 変 換	変換時間 分解能 変換方式	1 μ s/word 12BIT 直並列変換方式
記 憶 部	PIOインターフェース 記憶素子 記憶容量 転送速度	データ及びパラメーターの転送 S-RAM 64KW/ch 4MHz/word

度は 8 MB/秒(4 MW/秒)で 2 チャンネル分の 12ビット・10 KW のデータは 5 ミリ秒程度で転送出来る。GP-IB の場合と異なり転送速度は無視できる。GP-IB ではソフトウェアや全体のハードウェア構成に依存するので、十分に注意して設計しても APC 204 のデータ転送の数十分の 1 程度の転送速度しか得られない。

データの取り込みは添付されているデジタル・オシロスコープ用のソフトウェアで容易に行える。図 2 下に示すような 4 チャンネルのデジタル・オシロスコープの画面がコンピュータディスプレイ上に現れる。そのデータはコンピュータのハードディスクに保存できる。保存したデータの読み出し、簡単な読みとりや画面のハードコピーも可能である。設定はキーボードより行う。オプションで単純加算平均も可能である。

実験に用いる場合は自分でプログラムを作成するほうが良い。そのための十分な関数が容易されている。図 3 に代表的な関数とその使用

法を示す。使用言語は MS-C, MSDOS-Basic 及び Quick-Basic であるが、MS-Fortran からの使用も可能である。筆者は速度の点から MSDOS-Basic でプログラムを作成し(作成当時のコンピュータの CPU は Intel 386・16 MHz であった)、快適に実験を行えた。現在はコンピュータの速度が数十倍になっている(MMX Pentium 200 MHz で動作を確認した)ので Quick-Basic で十分である。Quick-Basic で書かれたサンプル・プログラムの例を示す。関数を用いて設定のパラメーターを与えることで、データの取り込みが簡単に行える。

APC 204 の利点はサンプル時間やワード数やアンプの利得やオフセットをコンピュータから指示できることであり、自動的に取り込み条件の異なる数種類のデータを連続して取り込める。次節で述べるパルス発生装置による複数のパルスデータを用いるとデータ解析に必要な一連のデータ(I-V 曲線、不活性化曲線やテール電流に記録など)をワンタッチで連続的に求め

測定手順

- ① INISET 関数: APC204のアドレスを決定する。
- ② HARDINT 関数: APC204を初期化する。
- ③ AMP 関数: AMP 条件を設定する。
- ④ SET 関数: SET条件を設定する。
- ⑤ APCWRT 関数: APC204に収録命令を送信する。
- ⑥ ENDCHECK 関数: データ収録の終了を確認する。
- ⑦ データ読みだし関数: データをAPC204からパソコンのメモリに移動させる。
(DATAREAD1, BRKREAD1 等の関数)
- ⑧ 以後収録条件 (AMP, SET) を変更しなければ⑤⑥⑦を繰り返す。

```

DECL.INC
  DECLARE
  'DECLARE SUB iniset ALIAS "ini_set" (UNIT%,
  IOADR%, MAXCH%, STB%)
  .
  .
  DECLARE SUB blkwrite2 ALIAS "blk_write2"
  (UNIT%, CH%, TOPADR%, SIZE%, ARYOFS%,
  ARYSEG%, STB%)
  ,
  ' Sample Program for APC204(Q_BASIC Ver4.5)
  ,
  REM $INCLUDE: 'DECL.INC'
  'CLS 0
  '----- DEF DATA -----
  INPUT "word = ", WORD%
  WORD$ = STR$(WORD%)
  TOP& = 0
  IOADR% = &HC000
  UNIT% = 0: CH0% = 0: CH1% = 1:
  DIM SHARED A0%(WORD%) '$DYNAMIC
  DIM SHARED A1%(WORD%) '$DYNAMIC
  '-----START-----
  call iniset (UNIT%, IOADR%,
  MAXCH%, STB%)
  IF STB% < 0 THEN PRINT "エラー"
  PRINT "チャンネル数は、"; MAXCH%
  call hardinit (UNIT%, STB%) : PRINT
  "Initialize ="; STB%
  FOR I = 0 TO 100
  NEXT I
  '----- PARAMETER SET -----
  AMP0$ = "A(0)DC:A(1)1.6:A(2)+0:"
  CH% = 0
  CMDADR% = SADD(AMP0$)
  CMDLEN% = LEN(AMP0$)
  call amp (UNIT%, CH%, CMDADR%,
  CMDLEN%, STB%)
  AMP1$ = "A(0)AC:A(1)3.2:A(2)+0:"
  CH% = 1
  CMDADR% = SADD(AMP1$)
  CMDLEN% = LEN(AMP1$)
  call amp (UNIT%, CH%, CMDADR%,
  CMDLEN%, STB%)
  PAM$ = "W(0)U5:W(1)" + WORD$ +
  ".W(2)+0:T(0)0:T(1)-:T(2)+20:"
  CMDADR% = SADD(PAM$)
  CMDLEN% = LEN(PAM$)
  call set (UNIT%, CMDADR%,
  CMDLEN%, STB%)
  IF STB% < 0 THEN LOCATE 2,1 :PRINT
  "ERROR 1",STB%
  '-----WRITE -----
  call apcwrtr(UNIT%,STB%)
  '----- WAIT SRQ -----
  WRLOP:
  call endcheck (UNIT%, STB%)
  IF STB% < 0 THEN GOTO WRLOP
  '-----READ-----
  aryofs0%=varptr(A0%(0))      :
  aryseg0%=VARSEG(A0%(0))      :
  aryofs1%=varptr(A1%(0))      :
  aryseg1%=VARSEG(A1%(0))      :
  call blkread2 (UNIT%, CH0%, TOP&,
  WORD%, aryofs0%, aryseg0%, ER%)
  call blkread2 (UNIT%, CH1%, TOP&,
  WORD%, aryofs1%, aryseg1%, ER%)
  '----- DISPLY -----
  SCREEN 87
  VIEW (50, 50)-(562, 306), , 7
  WINDOW (0, -2048)-(WORD%, 2048)
  FOR I = 0 TO WORD% - 1
  PSET (I, A0%(I)), 7
  PSET (I, A1%(I)), 2
  NEXT I
  LOCATE 1, 5: INPUT "リターンキーを
  押してください", YY$
  GOTO ENEN
  '--- ERROR ---
  ERER:
  PRINT "ERROR "
  ENEN:
  END
  
```

図3. オートニクスAPC204用のプログラムの概要。
関数名とその機能及び関数使用の操作手順(上)。
quick-Basic で書かれたデータ取り込みのサンプルプログラム(下)。

ることが出来る。

問題点が全くないかという点、次に述べるいくつかの点で不満であり、今後改善されることが望まれる。①NEC の PC 9800 対応で、DOS/V

機に対応していないこと、或いは将来の PC 98 バスや PCI バスに対応していないこと、NEC のパソコン戦略の変更などを考慮すると、緊急の対応が望まれる。②オートニクス社 APC シ

リーズの 50 ns・10ビット機(ACPC 501)で可能なメモリの増設(1Mワードまで可能)が APC 204 では出来ないこと。③プレ・トリガーが 1 KW に制限されていること(他の ACP シリーズで制限が無い)。④ソフトウェアがウィンドウズに完全対応していないこと。

V パルス発生装置

Z80 のボードコンピュータで作成したパルス発生器(PGK と呼ぶ)の概要を述べる。パルスデータは容易に書き換えられ、書き換えた結果が一目で見えることが間違いを少なくするために重要である(アクソン社の pClamp では Ver. 5 ではこの部分が面倒で Ver. 6 では改善されている)。図 4 左上に quick-Basic で書かれたパルスデータ・ファイル作成用のプログラムの入力画面を示す。入力の下線の部分のみ可能で、カーソルを入力したい位置に動かしキー

ボードから入力する。又、ファンクションキーで特定の項目にジャンプすることも可能である。次々に60シーケンス分のパルスデータの編集が出来る。パラメータは図 4 右に示すように 1 シーケンスが二桁の16進数で表された36個の数であらわされる。60行で60シーケンス分が ASCII のデータでファイルに保存される。図 4 左上に示す一画面のメニューで示される 1 行分のデータにより、図 4 左下に示すような振幅が順次増加する15個の複合パルスを 1 シーケンスのデータで発生できる。複合パルスは 4 つの独立したパラメータで表される 4 つのパルスから構成される。4 つのパルスはそれぞれの持続時間・振幅を設定でき、繰り返す度に持続時間・振幅を一定間隔で増減できる。指定した保持電位(Hp)との差が出力できる(ABS モードの場合)。それぞれの 4 つのパルス列は60シーケンス連結させて連続発生させ、さらにそれをルー

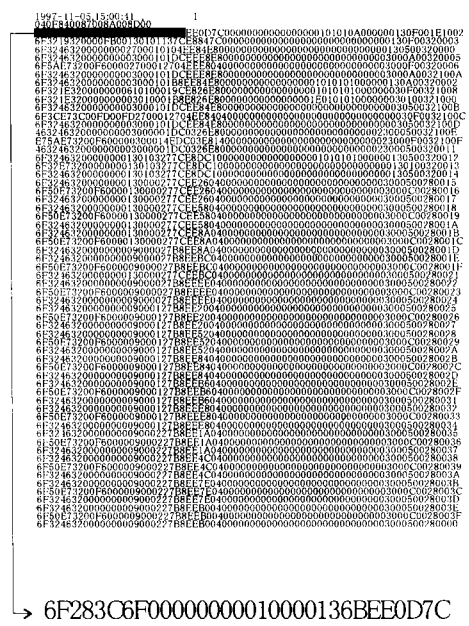
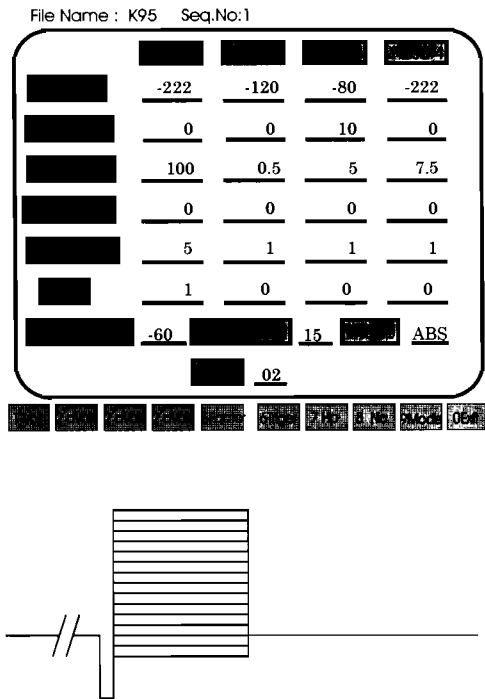


図 4. プログラマブル・パルス発生器 PGK で用いるパルス列のパラメータ。パラメータファイル編集用プログラムの入力画面(左上)。上の 1 画面のパラメータで発生できる 4 個のパルスからなる 1 シーケンス(左下)。60シーケンス用のパラメータファイル(右)。下にその一部を拡大して示してある。

プで繰り返すことが出来る。このシーケンスの数は225シーケンスまで増やすことが可能である。PGK のパルスデータは本体の RAM の指定アドレスに転送できる。15シーケンス毎に別々に転送することも可能であるが、ボーレートが 38400 bps の RS 232 C でデータ転送を行うため、60シーケンス分のデータの転送でも一瞬に行われる。60シーケンスのパルスデータを上記の編集プログラムで1シーケンス毎別々に書き換えるのが面倒な場合は適当エディターで

一気に書き換えると速く処理できる。電圧出力は8ビットの D/A 変換器を介して行われ、指定した電圧の40倍の大きさの電圧が出力される(最大±10 V)。

8ビット CPU・Z 80 を用いたワンボードコンピュータは RS 232 C による通信機能を持ち、8ch の I/O ポートを3つ以上もつものを選ぶ(筆者はケンタックの 800Zmk 2 という 4 MHz の Z 80 を用いたボードを使用している)。また、通信の為のモニターソフトが添付されているも

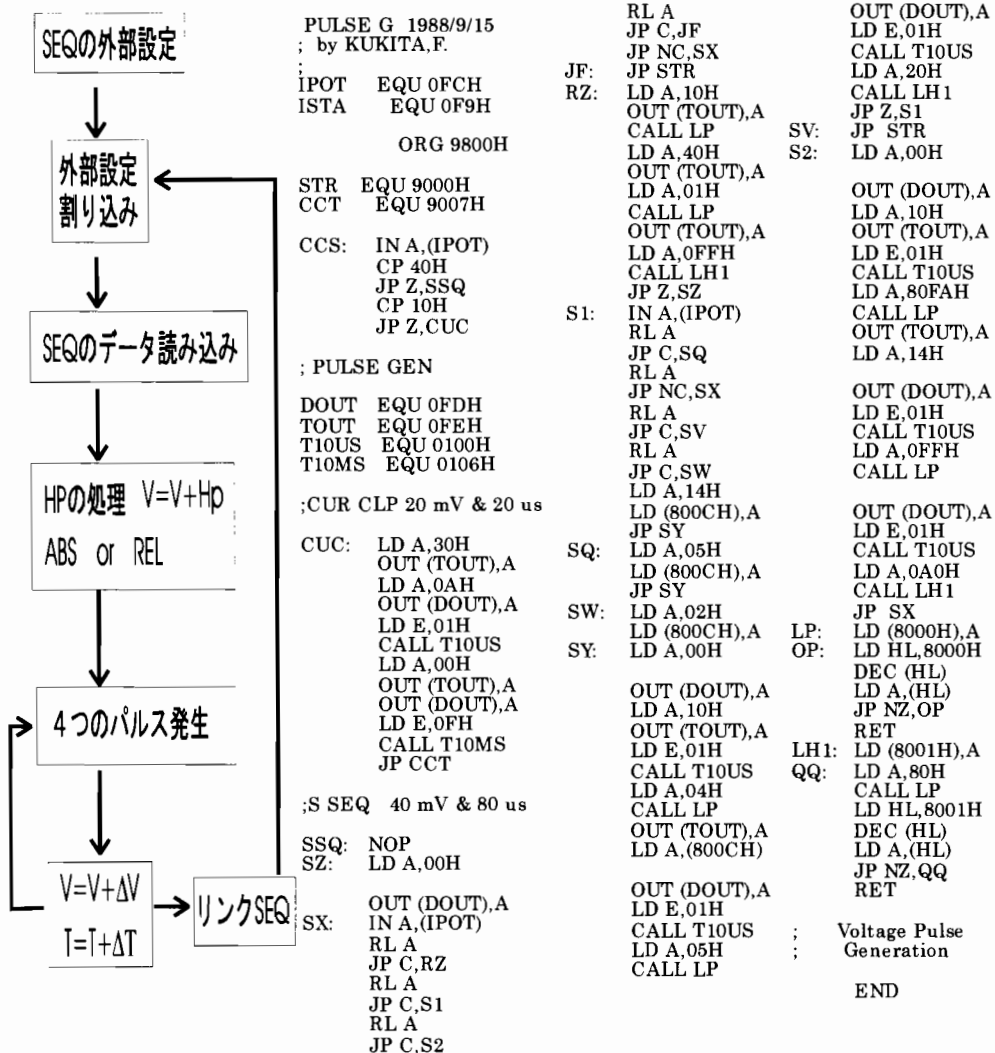


図5. プログラマブル・パルス発生器 PGK 用の Z 80 プログラムの概要。パルス発生プログラムの流れ(左)。80マイクロ秒(4, 10及び 40 mV)のパルス及び2.5ミリ秒(40 mV)の4種類の矩形波パルスが発生する Z 80 のプログラム(右)。

のが便利である。

パラメータは通信機能を利用して RAM の特定の部位に転送する。PGK は通常モードでは最短幅250マイクロ秒のパルスしか出せないの(但し、パルスの立ち上がりの時間精度は数十ナノ秒である)改善を考えている。現在は 2.80 (4 MHz) の40倍程度の演算スピードを持つ互換 CPU もでており、最短時間は10マイクロ秒程度まで短くできるので、PGK のバージョンアップを検討中である。PGK では直列抵抗の補償やリークの補償などに頻繁に使用する80マイクロ秒 40 mV (4, 10 mV も) のパルス及び2.5ミリ秒のパルスの4種類のパルスは ROM に書かれた独立のソフトで発生させている。そのプログラムのアセンブラーのリストを図5右に示す。PGK 本体のプログラムは ROM に書かれており、図5左に示すような流れになる。PGK のケースのスイッチでパルスシーケンスの選択やパルス発生のスタート・ストップや一時停止などを行える。PC 9800 の PIO 出力を利用した PGK の制御も可能である。

パルス発生は PC 9800 に挿入するボードでも可能であるが、別々にした場合、パラメータは電池でバックアップされた RAM に保存されているため、独立したパルス発生器として利用できる。ホールセル法でギガシールを得る場合とか、直列抵抗の補償など行う場合に便利である。

実際にデータを取り込むまでの仕事は長時間に及ぶ、ましては実験が失敗する場合もあるので、パルス発生器は取り込み装置とは独立にして、頻用するパルス列は ROM に書いておくとう便利である。

ランプパルスは常備していないが、ランプ波形の派生は可能である。8ビット D/A 変換器を用いている点がやや問題となる。

ランプのはの発生には16ビット D/A 変換器を用い、階段状の波形を滑らかにする必要がある。

特定の関数で表される波形や活動電位と同じ形の波形を発生させるには任意波形発生装置が有用である。この装置はメモリにパルス波形の

データを送り、出力の際のクロック周波数を任意に指定し、それに同期してメモリの内容を出力するパルス発生器である。この装置は高価な上に、PGK で出力されるようにパルス幅の極端に違うパルスからなるパルスシーケンスの発生にはメモリーの容量の制限がある。又、GP-IB を用いているためデータの書き換えを伴う繰り返しが遅く不都合な点が多い。PC 9800 の拡張スロットに差し込む安価な任意波形発生器も市販されている。しかし、特別な形(活動電位のような)の波形で膜電位固定を行う場合などは有効であるものの、ステップパルスを頻用する実際の実験では PGK のようには小回りが利かない。

VI データ解析ソフトウェア

データの解析はカーソルで指定した範囲で最大値や最小値及びその最大値や最小値を示す時間などを求めたり、カーブのある範囲の面積を求めたり、特定関数でカーブフィティングを行うことであり、また、計測値を用いて I-V 曲線などの電圧依存性の曲線を求めることである。筆者は一連のソフトをフォートランで書いているが、各種ベーシックやC言語で書くことも出来る。様々な解析には市販のソフトを上手に利用することを勧める。解析の際のデータの流れを図6に示す。

APC 204 で取り込んだデータはバイナリー形式で保存されているので、それを市販のソフトや自作の汎用ソフトで解析出来るように変換する必要がある。一般に類似の装置で取り込んだデータは取り込み条件を記述した独特のフォーマットの ASCII (APC 204 のデジタルオシロソフトの場合) や整数 (APC 204 の自作ソフトの場合) で書かれたヘッダー部分とバイナリー形式で書かれたデータ部分からなる。ヘッダー部分からは必要な情報のみを読み出し、解析ソフトで用いる新たなヘッダーファイルを作成出来るが、読み飛ばして、データ部分のみ用いても良い。APC 204 の場合のようにヘッダー部分とデータ部分が別々のファイルの場合はデータ

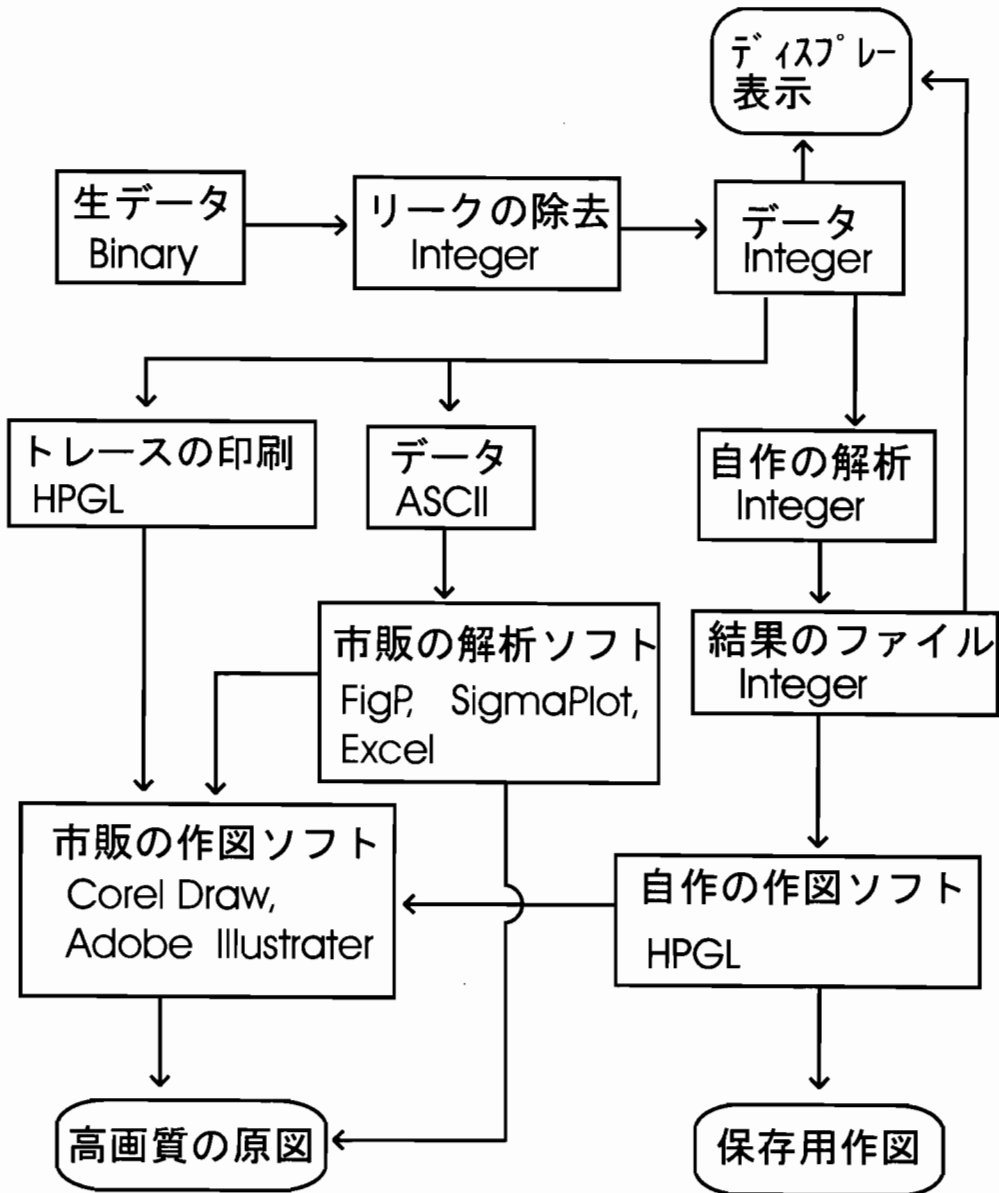


図 6. データ解析の手順.

ファイルのみ利用しても良い。バイナリー形式で書かれたデータファイルはスペースなどの適当な区切りを含む整数のファイル(ASCII ファイル)に変換すると市販のソフト (FigP 及び SigmaPlot など)で読み込み解析することが出来る。また、Excel、EnzFit や Origin などでも解析することも出来る。

解析と共に重要なのは生の記録を画面に表示したり、高品質の記録トレースを紙に印刷したり、市販の作図ソフトに取り込むことである。上記の様に ASCII に変換すれば、大抵のソフトで読み込むことが出来る。筆者は比較的短時間でデータを印刷し、実験の途中でデータの概観をしようという目的で、データを HPGL 言

語を認識するレーザープリンターでいくつかのカーブを配列した図として印刷している。HPGL 言語はペン・プロッター用の言語として開発されたもので、CAD 対応のレーザープリンターでは HPGL 言語を認識でき、コピー命令で転送されたファイルでベクトル線画を印刷できる。この言語に変換された1組のデータは(膜電位固定法により得られた電流曲線のファミリーや異なる条件のトレースの一覧や単一電流の一覧など)作図ソフト(CorelDraw や Adop-toIllustrator など)にそのまま(ベクトル図形として)高精度で張り付けることが出来、加工なども簡単である。図7及び図8のトレースはこの方法で印刷した。これの利点は線画が完全に線として取り込まれることである。他の市販のソフト(FigP やいくつかの CAD ソフトなど)では HPGL 変換した場合には線の太さなどがベクトルによる塗りつぶしとして変換され、膨大な大きさのファイルになり、処理に時間がかかる上、データを受け取る側の作図ソフトのベクトル処理機能や分解能を利用できず、出来映えが良くない。

VI データ取り込み用のコンピュータと解析用のコンピュータを通信で結び、実験を行いながらデータの解析を行うシステム

データ取り込み用のコンピュータは APC 204 とパルス発生装置を常時監視しているので、データ解析を行うことは難しい。一連のソフトが MS-DOS 上で動いていることにもよるが、Windows 対応になっても取り込み実験と解析を同時に行うことは難しい。仮想ディスクとして用いた二台目のコンピュータのハードディスクに直接データを送り、実験の進行を止めずに、自分で或いは共同研究者が二台目のコンピュータで解析を行うことが可能である。筆者はミナトエレクトロニクス社の QnetE(この製品は製造中止になっている)を用いている。MS-DOS 上で疑似マルチタスクの状態では通信が出来、解析用のコンピュータのハードディスクを仮想

ディスクとして、4 MB/秒でデータを書き込むことが出来る。このようなシステムはコンピュータが安価になったのと、通信自体が一般的になったこと及びパソコンでもウインドウズなどでマルチタスクの条件が整う状況にあることから、安価な Lan ボードで構成できる。特別なソフトウェア上の要求がなければ、解析用として UNIX のワークステーションを用いる必要はない。2台のパソコンを用いる方が、高速度ワークステーションを1台用いた、マルチタスクの環境より使い勝手が良い。特にデータ取り込みにワークステーションを用いると取り込み装置自体が高価になる(図1Aの構成になる)。

インターネットなどの本格的な通信を行えば、離れた場所の共同研究者が解析してくれることも考えられる。

VII 実際のデータ取り込みの例

実際の取り込みの例として図7にイカ巨大神経線維のイオン電流の記録を示す。左のパルスシーケンスで求めた膜電流の記録で、Kチャネルの開過程と再開過程を調べる際の電流記録、Naチャネルのプレ脱分極による不活性化を調べる際の電流記録及びNaチャネルのI-V曲線を求めるのに必要な電流記録を示す。それぞれのパルスシーケンスはテストパルスとその下に示したコントロールパルスの組み合わせからなる。図7Aの場合はP/N法(N=6)による取り込みで、テストパルスのデータと6個のコントロールパルスのデータを加算した結果がファイルとして保存される。図7Bでは、1シーケンス分のテストパルスの前後でコントロールパルスによる電流記録を10回程度加算したものを別に保存して、後で演算によりリーク補正を行った。図7Cの記録では図7Bと同じであるが、テストパルスにより求めた電流も数回加算している。この場合はNa電流に先立つゲート電流もはっきりと見える(細胞外液のNa濃度は1/10にしてある)。図8は活動電位の記録である。イカ巨大神経線維の活動電位と

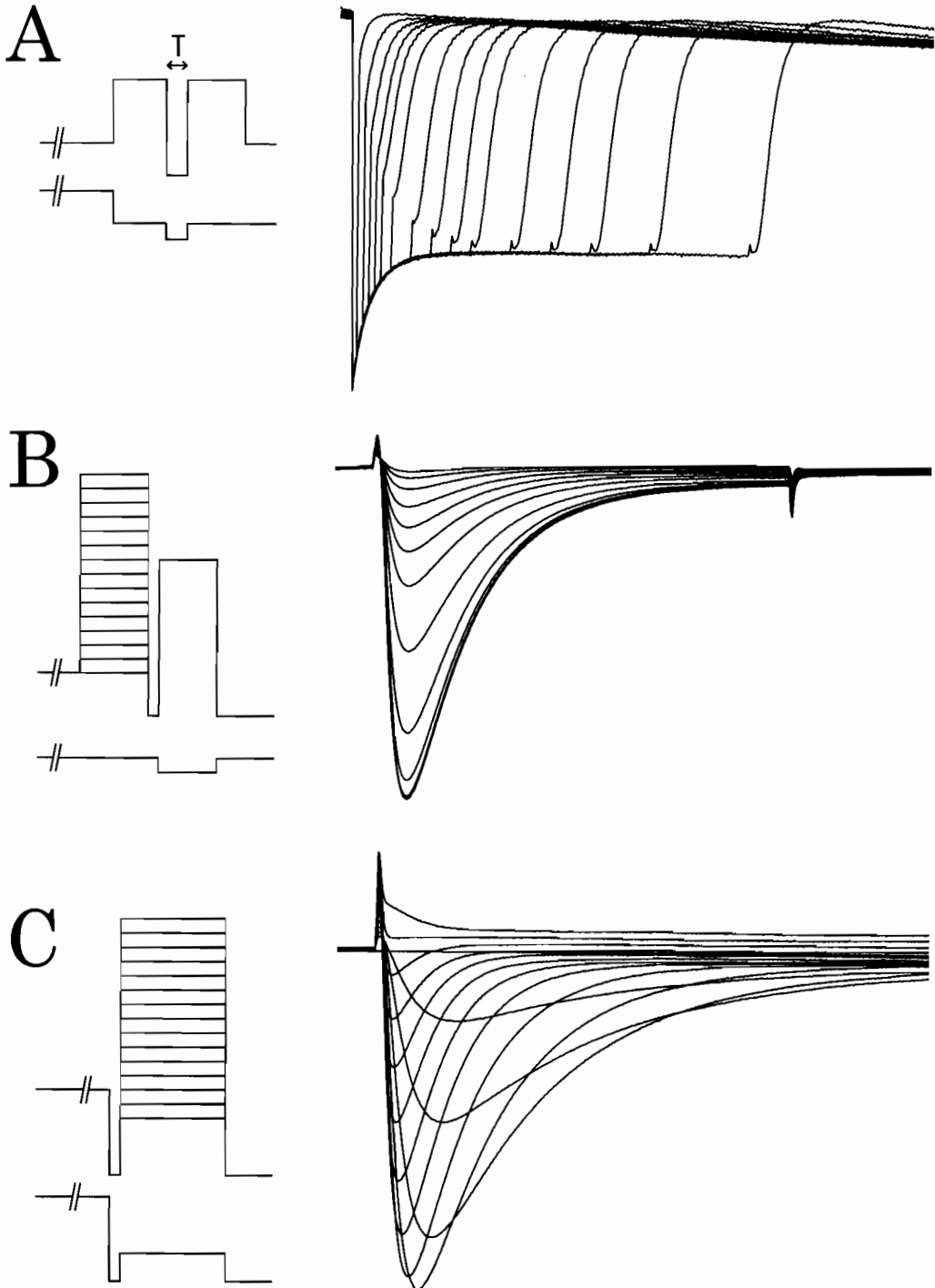


図7. パルスシーケンスの例と測定されるイオン電流.
テストパルス(上)とコントロールパルス(下)に対応した, イオン電流の記録(右).

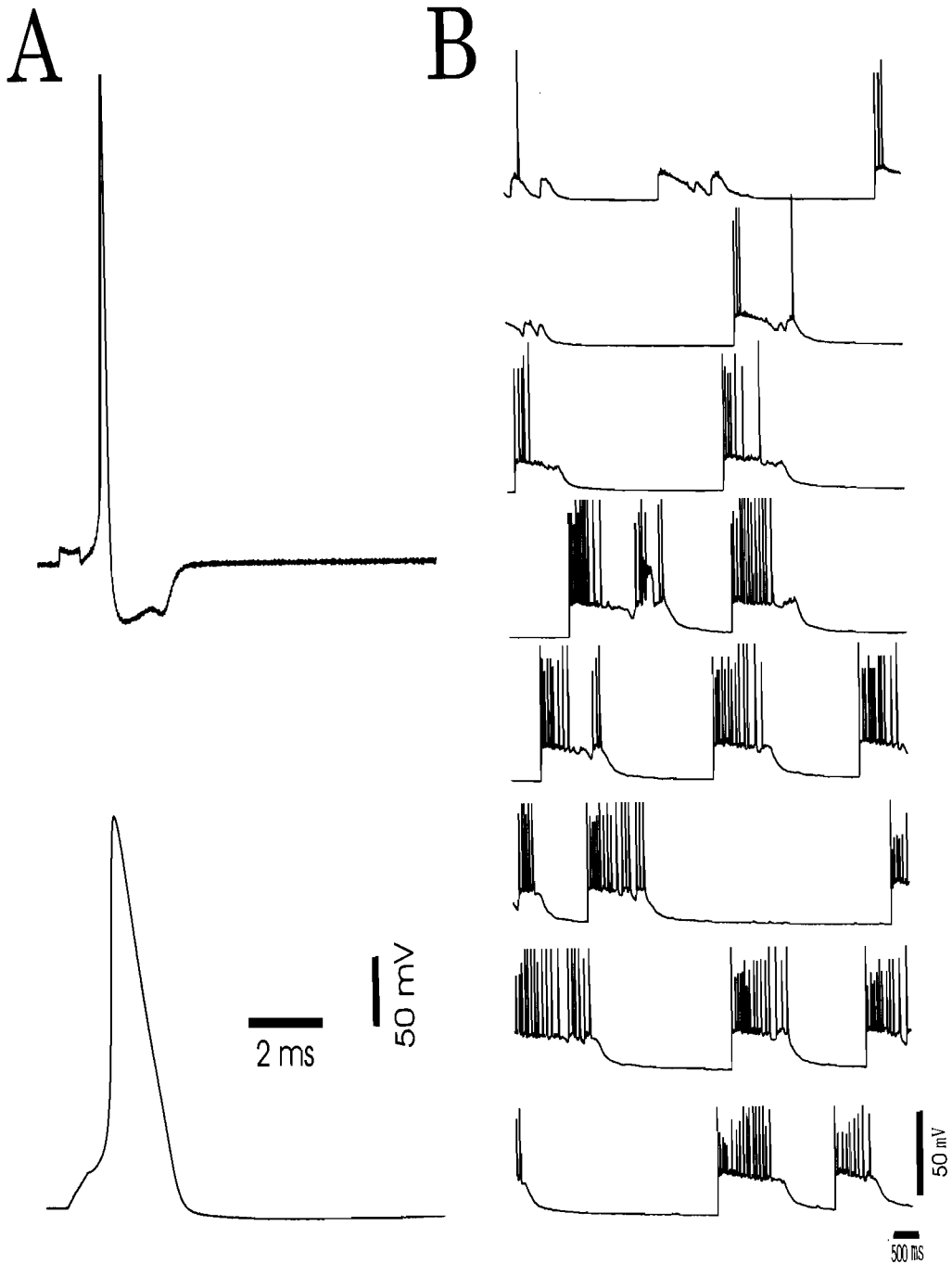


図 8. 取り込まれた活動電位のデータの例.

- A. イカ巨大神経線維の活動電位(下)とその微分(上). サンプル時間 2 マイクロ秒で取り込んだ.
- B. サンプル時間 1 ms で取り込まれた大脳皮質ニューロンの自発発火(中西, 久木田未発表). 65秒のデータを約 8 秒ずつ並べて表示した.

その微分の記録(図 8 A)及びホールセル法で記録した培養大脳皮質ニューロンのバーストの記録(図 8 B)を示す。活動電位のバーストは APC 204 をオシロスコープモードにして取り込んだ。

Ⅷ 終わりに

最近の電気生理学用の装置は HEKA 社の EPC 9 シリーズやアクソン社の一連のハードやソフトに見られるように自動化され、データ取り込みの実際を学ぶ機会が少なくなった来た。更に、一度に全てを揃えるため、大きな設備投資を必要としている。個人でセットを組んで、楽しんで実験を行う電気生理学から、分子細胞生理学のアッセイ方法としての効率を求める電気生理学への需要の増大が、実験装置全体をブラックボックス化しているのが現状である。新

たに生理学実験を始める場合、ある程度自分で組み立てるのあれば、一昔前に比べれば、極めて安価で高性能の装置が手に入り、気持ちよく実験がスタート出来るはずである。生理学用の市販の取り込み装置はパッチクランプやホールセルクランプのアンプの周波数特性およそ 20 KHz を念頭に置いて開発され、比較的安価で提供されている。しかし、実際の生理現象はもっと高速度の場合が多く、本稿のようなシステムも必要である。このシステムは 8 年前に開発したものであるが、将来も使用可能な能力を持っており、更に性能アップできる。

本稿に示す装置は All-inclusive のシステムに比べやや若干複雑なシステムではあるが、新しい生理学の研究を目指す若い研究者の役に立てば幸いである。