

## מעבדת רישום חוץ תאי

במעבדה זו נעשה עיבוד של סיגנל חוץ תאי שנרשם מחיה מתנהגת.

העיבוד יעשה בעזרת תוכנה ייעודית למיון (sorting) של תאי עצב יחידים מתוך סיגנל רישום רציף.

מטרות המעבדה:

- הכרת התהליך הניסויי במחקר אלקטרופיזיולוגי בחיה מתנהגת.
- הכרת הסיגנל המתקבל ברישום חוץ תאי והמידע שניתן להוציא ממנו.
- היכרות עם פרמטרים שונים שמשפיעים על ניתוח הסיגנל.
- ביצוע עיבוד בסיסי של הסיגנל וניתוח התוצאות המתקבלות.
- הדגמה של השפעת פעילויות מוטוריות על פעילות התאים שנרשמו.

בתום המעבדה תשמרו את הנתונים שניתחתם ועליהם תבצעו אנליזות נוספות על פי ההוראות לכתיבת

הדו"ח המופיעות במסמך זה. את הד"ח המלא יש להגיש כעבור שבועיים מביצוע המעבדה.

יש להביא למעבדה כונן נייד לצורך שמירת הקבצים.

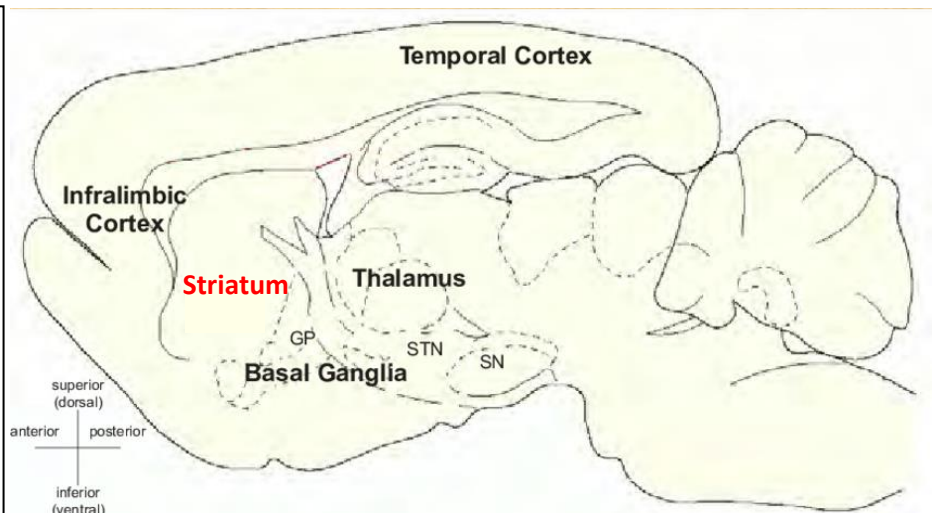
## הקדמה

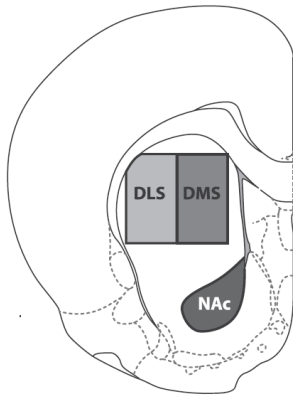
### Dorsal Striatum

ה Dorsal striatum (DS) נחשב לתת אזור בתוך גרעין תת-קורטיקלי הנקרא Striatum במוח. את ה- DS בעצמו ניתן גם לחלק לתת אזורים נוספים (למשל Dorso-lateral striatum (DLS ו Dorso-medial striatum (DMS)) על פי המיקום המרחבי שלהם, הקישוריות הסינפטית של כל אזור והתפקיד הפונקציונלי שלהם. כיום ידוע שה DLS וה DMS מעורבים בתהליכים הקשורים לבחירת פעולה, בחירת התנועה הרצויה, יצירת הקשרים בין גירויים שונים, יצירת הרגלים, התנהגות תלוית מטרה ועוד.

איור של חתך מיד-סגיתי במוח של חולדה. באיור ניתן לראות את הStriatum ביחס לאזורים נוספים. תת אזורים השייכים לגרעינים הבזאליים: globus pallidus (GP), subthalamic nucleus (STN) and substantia nigra (SN).

לקוח מתוך: Villa, Alessandro & Missonnier, Pascal & Lintas, Alessandra. (2012). Neuroheuristics of Decision Making: From Neuronal Activity to EEG.





בתמונה זו ניתן לראות איור על גבי חתך קורונלי של מוח של חולדה את המיקומים המשוערים של ה DMS & DLS. בנוסף, ניתן לראות בתמונה איור של גרעין בזאלי נוסף, ה nucleus accumbens. גרעין זה מקודד מידע לימבי ועל כן מקושר לתגמול.

לקוח מתוך: Burton, A. C., Nakamura, K., Roesch, M. R. (2015). From ventral-medial to dorsal-lateral striatum: Neural correlates of reward-guided decision-making. In *Neurobiology of Learning and Memory*.

האופן שבו ה DS מקושר לתהליכים מסוג זה נובע גם מעדויות מחקריות במגוון סוגים של נבדקים (קופים, בני אדם, ומכרסמים) המראים קישוריות סינפטית בין איזורים קורטיקליים גבוהים לבין הסטריאטום. בנוסף, מוות תאים באזור זה ובאזורים נוספים בגרעינים נמצא במגוון מחלות, כגון: הפרעה אובססיבית-קומפולסיבית, מחלת הנטיגנטון, מחלת פרקינסון, ועוד.

על מנת לבצע תהליכים אלו מקובל לחשוב כי יש צורך לבצע אינטגרציה של היחס הסיבתי שבין פעולה לתוצאותיה וכן לערך או התועלת הנובעים מתוצאות הפעולה. ניתן לבצע חלוקה גסה של התהליכים הללו לכדי שתי קטגוריות: (1) פעולות מכוונות מטרה הרגישות יותר לתגמול. (2) פעולות הנחשבות אוטומטיות יותר ולעיתים אף מוגדרות כהרגל. כל אחת מן הקטגוריות מסתמכת על מעגל עצבי שונה.

החלוקה התפקודית בין תתי האזורים בתוך ה DS מסתמכת בחלקה על מחקרים שנעשו במכרסמים בהם הראו כי פגיעה בתפקוד ה DMS מובילה לאובדן יכולת הלמידה של פעולות מכוונות מטרה, ואילו DLS פעיל במעגל עצבי המסייע לרכישת פעולות הרגל הקשורות ללמידה סנסורית-מוטורית.

עדויות נוספות לתפקיד ה DS בתכנון תנועה מגיעות ממחקרים שנעשו בקופי-אדם בהם הוקלטה פעילות של נוירונים בודדים ב DS. הנוירונים הגיבו בצורה ממושכת זמן קצר לפני ביצוע הפעולה המוטורית ועד לקבלת תוצאה מסוימת של הפעולה.

במהלך המעבדה אנו ננתח פעילות של תאים בודדים ב DS של חיה ערה החופשיה להסתובב בכלוב. המעבדה תתמקד בתפקיד ה DS בתכנון וביצוע תנועה מוטורית ועל כן נבחן את השינוי בפעילות התאים בין מצב סטטי של החיה לבין מצב בו היא מבצעת תנועה.

חומר הרקע נלקח מתוך: Balleine, B. W., Delgado, M. R., & Hikosaka, O. (2007). The role of the dorsal striatum in reward and decision-making. In *Journal of Neuroscience*.

## רישום חוץ תאי

בשיטה זו מוחדרות למח אלקטרודות רישום המקליטות את סך שינויי הזרם בסביבה החוץ תאית המתורגמים למתח על ידי מגבר. האלקטרודות רושמות את שינויי הזרם בתלות בתכונות הפיזיקאליות שלהן. לדוגמא- קוטר האלקטרודה ועובי הבידוד (מהם, בין היתר, נגזרות המוליכות והקיבוליות שלה) ישפיע הן על גודל הנפח ממנו האלקטרודה רושמת והן על מהירות השינויים במתח אותן יכולה האלקטרודה לקלוט. כך, אלקטרודה דקה תרשום שינויים מהירים יותר וממרחב קטן יותר מאלקטרודה עבה. אלקטרודה דקה מספיק תוכל לרשום את שינויי המתח הנובעים מפוטנציאלי הפעולה של נוירון בודד.

בניגוד לרישום תוך תאי שבו נרשמים גם השינויים התת סיפיים, ברישום חוץ תאי נרשמים השינויים העל סיפיים של נוירונים בודדים. על כן לרוב מתייחסים לפוטנציאלי הפעולה הנרשמים ברישום חוץ תאי כאירועים בינאריים (היה/לא היה פוטנציאל פעולה). שיטה זו אמנם אינה מאפשרת קבלת מידע אודות הפעילות התת-סיפית של הנוירונים, אולם היא לרוב קלה יותר ליישום מרישום תוך-תאי וניתן באמצעותה לבצע רישום מאוכלוסיות גדולות יותר של תאים בודדים. זאת במקביל לרישום שינויי מתח משטחי רקמה גדולים יותר המכונים *Local Field Potentials* (LFP). כמו כן, לעומת רישום תוך תאי, רישום חוץ תאי רגיש פחות לתנועות החיה ולכן מאפשר רישום פעילות עצבית מחיה מתנהגת למשך זמן רב.

סיגנל ה LFP הינו סכימה של פעילות דנדריטים אקסיטטורית ואינהיבטורית באזור סמוך לקצה האלקטרודה הרושמת. המקור של הסיגנל כולל בעיקר קלטים סינפטים, בניגוד לרישום של ספייקים של תאים שבדרך"כ נרשמים מתאים בודדים. אם כך מידע שנרשם במקביל על ידי אותה אלקטרודה של LFP מחד ושל תאים בודדים מאידך נוטה לייצג מקורות שונים – ה LFP מייצג את הקלט לאזור והחישוביות הלוקאלית והספייקים מייצגים את הפלט של האזור.

שני סוגי הסיגנלים הנ"ל מתקבלים מהסיגנל הכולל הנרשם על ידי האלקטרודה על ידי שימוש בפילטרים לתדרים שונים. בכדי לקבל את הפעילות התאית נדרש לפלטר את התדרים הגבוהים שכן פוטנציאלי הפעולה הינם שינויים מהירים מאוד במתח הנרשם. לסיגנל הזה נעשה זיהוי של הזמנים בהם התרחש פוטנציאל פעולה ועל בסיס זמנים אלו מתבצעות אנליזות שונות כגון קצבי ודפוסי הירי. מכיוון שתכונות האלקטרודה משפיעות על רישום הסיגנל, אלקטרודות שונות הן בעלות נטייה לרשום תאים מסוגים שונים. כמו כן, רישום תאים שיוורים באופן ספונטני (ללא גירוי) יהיה פשוט יותר מרישומם של תאים שקטים. עובדות אלו תורמות לכך שבשיטה זו קיימת הטייה בדגימה (אוכלוסיות תאים מסוימות ידגמו יותר מאשר אוכלוסיות אחרות), ולכן גם כאשר דוגמים מספר גדול של נוירונים, התפלגותם אינה בהכרח משקפת את ההתפלגות האמיתית באזור הנרשם.

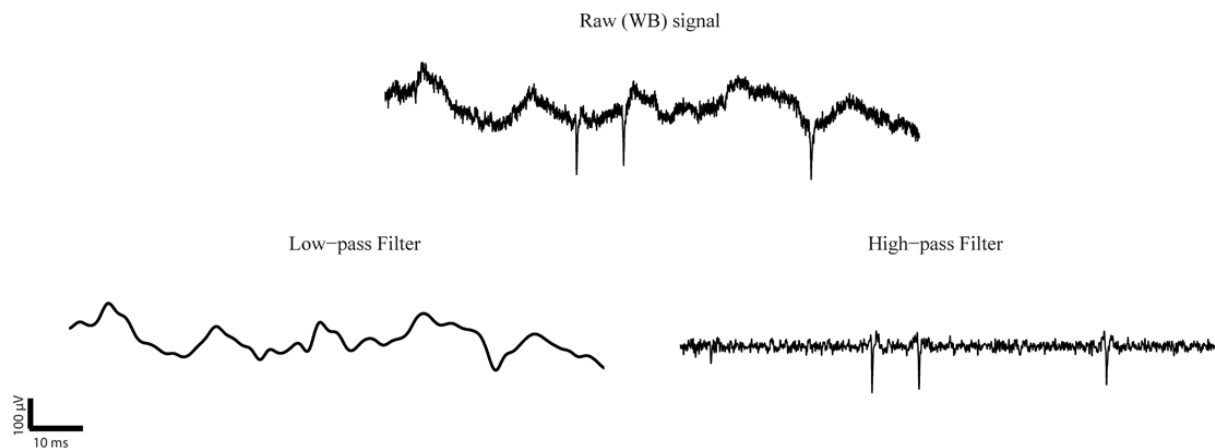
כאמור, רישום חוץ תאי הינו שיטה הניתנת ליישום הן *in vitro* (בפרוסות מח, תרביות תאים, אלומות אקסונים וכדומה) והן *in vivo* (בחיה שלמה מורדמת או מתנהגת), כאשר יש קשר ישיר בין השיטה בה משתמשים לשאלות המחקר אותן ניתן לשאול. הנתונים שאותם ננתח במעבדה זו הגיעו מניסוי *in vivo* בחיה ערה מתנהגת.

הסיגנל המתקבל מרישום חוץ תאי מכיל מידע רב. על מנת שנוכל לבודד את המידע הרצוי לנו, עלינו לבצע עיבוד ראשוני למידע כשלב מקדים לאנליזה. כאמור, הסיגנל המתקבל ברישום הינו סכימה של שינויי הזרמים המתרחשים בסמוך לאלקטרודה הרושמת (כאשר כל אלקטרודה רושמת את הסיגנל בהתאם לתכונותיה הפיזיקאליות השונות כגון: עובי, מוליכות, גודל ומבנה קצה האלקטרודה וכדומה). שינויי הזרם יכולים להתרחש בקצבים שונים ובאמפליטודות שונות. לדוגמא- פוטנציאלי פעולה הינם בעלי רוחב של כמילישנייה אחת ויגרמו לשינוי מהיר במתח החוץ תאי. עוצמת השינוי שתרושם האלקטרודה תהיה בעוצמה של מאות מיקרו-וולטים ותלויה בקרבתה לתא: ככל שהאלקטרודה הרושמת קרובה יותר לתא- השינוי במתח יהיה גדול יותר. לעומת זאת, סיגנל ה- Local field potential (LFP), המיוחס לסך הפעילות הסינפטית באזור האלקטרודה הרושמת, משתנה בקצבים איטיים יותר. הסיגנל הסופי שיתקבל ברישום הינו סכימה של כל שינויי הזרם הללו, גם פוטנציאלי הפעולה וגם הLFP, ולכן נוכל למצוא בו גם שינויים איטיים וגם שינויים מהירים, בעלי צורות שונות. על מנת לדלות את המידע בו אנו חפצים, יהיה עלינו להפחית את כמות המידע שיש בסיגנל על מנת שנוכל לבצע את האנליזות באופן פשוט יותר. העיבוד הראשוני כולל לרוב את השלבים הבאים:

1. פילטרציה- בשלב זה אנו מחלצים מהנתונים את השינויים בטווח התדרים המעניין אותנו. לדוגמא- אם ברצוננו לקבל מידע על פעילות תאים בודדים (single unit activity, פוטנציאלי פעולה)- נחלץ מהסיגנל את התדרים הגבוהים שלו. באופן דומה, ניתן לחלץ מהסיגנל גם את השינויים האיטיים יותר. השינויים האיטיים בסיגנל מכילים אינפורמציה שעומדת בבסיסם של מחקרים רבים (LFP). המשך ההסבר מתייחס לעיבוד המידע בתדרים הגבוהים (בו מצויים פוטנציאלי הפעולה) בלבד.
2. Spike detection and clustering- חילוף הזמנים בהם התרחש פוטנציאל פעולה והפרדה בין תאים שונים שנרשמו על ידי אותה אלקטרודה.
3. Classification- סיווג הנוירונים שנרשמו לאוכלוסיות שונות.

#### פילטרציה

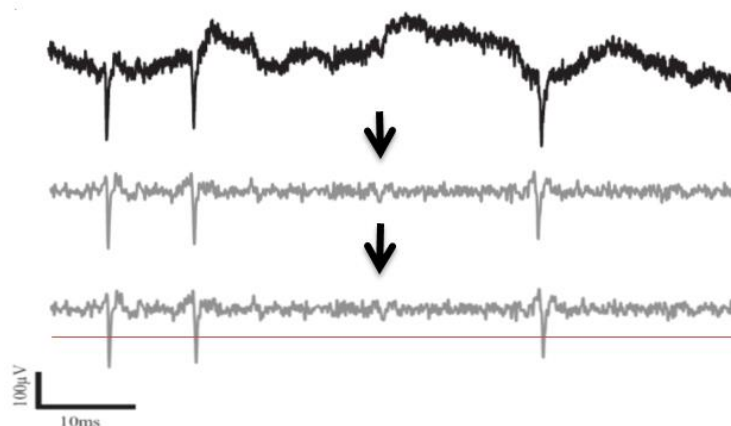
הסיגנל המתקבל ברישום מייצג את הזרם כפונקציה של הזמן. על ידי התמרות מתמטיות ניתן לפרק את הסיגנל לתדרים המרכיבים אותו ולייצגו על ציר התדר. ניתן להעביר את הסיגנל דרך פילטרים שונים על מנת להשאיר בו את התדרים הרצויים לנו להמשך האנליזה (לדוגמא- תדרים הגבוהים מ-300Hz) ולפלט ממנו החוצה את התדרים שאנו לא חפצים בהם (לדוגמא- רעשים בתדרות 50Hz שנכנסים לרישום ממערכת החשמל). את סוג הפילטר נבחר לפי סוג האינפורמציה בה אנו חפצים. כאמור, פוטנציאלי פעולה יהיו בטווח התדרים הגבוהים של הסיגנל ולכן נשתמש בפילטר מסוג high pass- המשאיר בסיגנל את התדרים הגבוהים שבו ומסנן את תדריו הנמוכים.



דוגמא לסיגנל הגולמי לפני פילטור (raw signal) ואחרי פילטור מסוג low/high-pass.

### *Spike detection and clustering*

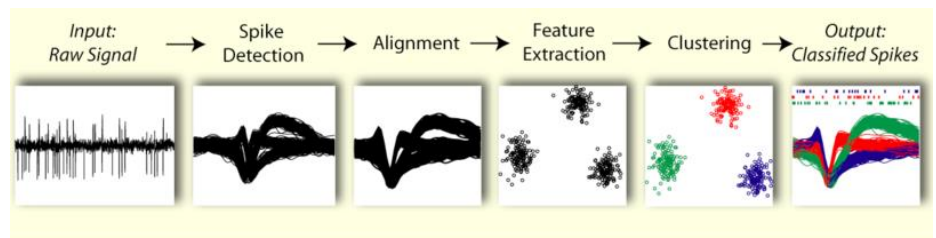
לאחר סינון התדרים הנמוכים מהנתונים, הסיגנל מיושר ואינו רוכב על גלים בתדר נמוך. במצב זה ניתן להעביר סף שיסייע בחילוף הזמנים של פוטנציאלי הפעולה מתוך הסיגנל. הסף ימוקם בגובה שיפריד בין פוטנציאלי הפעולה לבין רעש הרקע ומיקומו לרוב יהווה פשרה בין קביעת סף נמוך שיאפשר כניסה של רעש לבין סף גבוה שלא יאפשר את זיהויים של כל פוטנציאלי הפעולה.



דוגמא לפילטור הסיגנל וקביעת סף לזיהוי פוטנציאלי הפעולה. שחור-הסיגנל הגולמי. אפור- הסיגנל המפולטר. אדום- סף לזיהוי פוטנציאלי פעולה.

הסיגנל יכול לכלול שינויי מתח שיחצו את הסף שקבענו ואינם פוטנציאלי פעולה. כמו כן, אלקטרודה אחת יכולה לרשום פוטנציאלי פעולה ממספר תאים במקביל. לכן, לאחר שקבענו סף ומצאנו את הנקודות בסיגנל שחוצות אותו, כעת עלינו למיין אותן ולהחליט אילו מהן מייצגות פוטנציאל פעולה ולשייך את פוטנציאלי הפעולה שנרשמו לתאים שונים (אם אכן נרשם יותר מתא בודד). תהליך זה נקרא clustering והוא מתבצע באופן המתואר להלן.

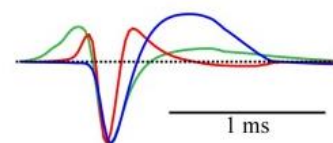
על מנת להחליט האם שינוי המתח שחצה את הסף היה פוטנציאל פעולה, עלינו לבחון את צורת הגל בנקודה זו. לאחר שמצאנו את הנקודות החוצות את הסף, ניתן להביט בסיגנל מסביב לנקודה שעברה את הסף בחלון זמנים בגודל מסוים. בחלון זמן זה נראה את צורת הגל ולפיה נוכל להחליט האם התרחש פוטנציאל פעולה ולאיזה תא הוא משויך. תהליך מיון התאים (spike sorting), מתבצע לרוב תוך שימוש בשיטות שונות להפחתת מימדים (לדוגמא- Principal Component Analysis (PCA), שימוש בנקודות מינימה ומקסימה, וכו'). על ידי שימוש בשיטות אלו נוכל להציג את צורות הגל השונות על גבי מערכת צירים דו/תלת מימדית. ייצוג זה יאפשר יצירת קלאסטרים של נקודות (שכל אחת מייצגת צורת גל שחצתה את הסף), כאשר בכל מקבץ תהיינה נקודות המייצגות צורות גל הדומות זו לזו- לדוגמא פוטנציאלי פעולה שנורו על ידי אותו התא. כך- כל מקבץ (קלאסטר)- ישויך לתא אחר, ותתבצע ההפרדה של הנקודות שחצו את הסף לפוטנציאלי פעולה שנורו על ידי תאים שונים ולרעש (נקודות שאינן פוטנציאלי פעולה).



[/http://icslwebs.ee.ucla.edu](http://icslwebs.ee.ucla.edu). נלקח מהאתר: **Spike detection and clustering**

### Classification

סוגים שונים של נוירונים מבטאים תכונות שונות בהן מורפולוגיה (המשפיעה על צורת פוטנציאל הפעולה הנרשם), קצב ירי (מספר פוטנציאלי הפעולה שהתא יורה בשנייה), דפוס ירי (התפלגות פוטנציאלי הפעולה, מרווחי הזמנים ביניהם) וכדומה. לאחר שאיתרנו את הפוטנציאלי הפעולה (spike detection) ושייכנו אותם לתאים שונים (clustering), ניתן להסתכל עבור כל תא על תכונות שונות ולפיהן לסווג את התא לאוכלוסיית תאים מסוימת. לדוגמא- בקורטקס נוכל לרשום תאים מאוכלוסיות שונות כגון תאים פירמידאליים, אינטרנוירונים וכו'. שיוך התא לאוכלוסיות שונות הוא בעל חשיבות רבה מכיוון שבאזור הרישום יכולים להיות תאים מאוכלוסיות שונות שכל אחת מהן בעלת מאפיינים ותפקידים שונים.



דוגמאות לצורות גל (waveforms) שונות המשוייכות לנוירונים המשתייכים לאוכלוסיות שונות. בעזרת תכונות כגון צורת גל, קצב ודפוס ירי וכדומה- ניתן לסווג את הנוירון הנרשם לאוכלוסיית התאים אליה הוא שייך.

במעבדה זו נזהה את פוטנציאלי הפעולה על ידי העברת סף ונפריד בין תאים שונים מאותו רישום בעזרת צורת הגל של פוטנציאל הפעולה.

## אנליזה

### Spike train

פוטנציאלי הפעולה משמשים את תאי העצב להעברת אינפורמציה. כאשר מתח הממברנה חוצה סף מסוים, נוצר בתא העצב פוטנציאל פעולה הנודד לאורך הממברנה דרך האקסון, מגיע לטרמינלים וגורם לשחרור נוירותרנסמיטור למרווח הבין סינפטי. הנוירותרנסמיטור גורם לשינויי מתח בתא הפוסט סינפטי, שבתורו יסכום את סך הקלטים שמקבל ולפי פוטנציאל הממברנה שלו תתקבל החלטה בינארית האם לירות פוטנציאל פעולה.

רצף פוטנציאלי פעולה ניתן לייצוג על ידי הזמנים בהם נורו פוטנציאלי הפעולה. ייצוג זה מכונה רכבת ספייקים (spike train). לאחר חילוף זמני פוטנציאלי הפעולה מהסיגנל הנרשם, ניתן לבצע על בסיס ה-spike train המתקבל אנליזות שונות, שמטרתן להעניק לנו מידע לגבי תכונות הירי של הנוירון (כגון קצב ודפוס ירי) והאינטראקציות שלו עם נוירונים אחרים, סיגנלים שונים או אירועים חיצוניים או התנהגותיים.

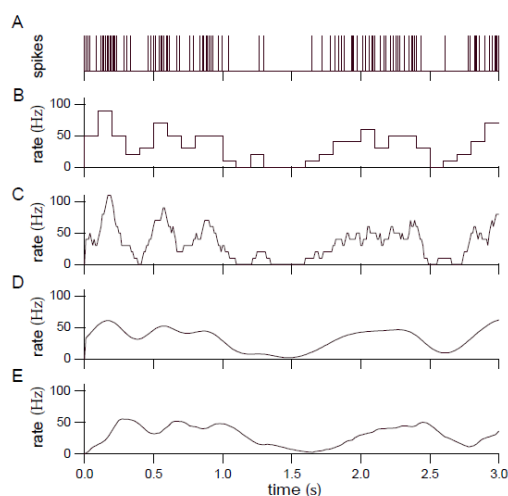


הדגמה של סיגנל רציף (A) וה-spike train שחולץ ממנו (B).

להלן תיאור קצר של שני סוגי אנליזות בסיסיות אשר תדרשו לממש בדו"ח המעבדה.

## קצב ירי

אחת התאוריות הרווחות בנוגע לקידוד העצבי גורסת כי המידע מקודד על ידי קצב פוטנציאלי הפעולה של תא העצב. לפי תאוריה זו, הנוירון מווסת את קצב הירי שלו בתגובה לגירויים שונים ובתלות בתכונותיהם. את קצב הירי ניתן לחשב ולייצג בדרכים שונות, בתלות בגורמים שונים כגון רזולוציה בזמן, התחשבות בהיסטורית הירי וכו'.



דוגמא לקצבי ירי שחושבו בדרכים שונות. A - Spike train.

B - קצב ירי שחושב על ידי חלוקה לבינים (bins) בחלונות זמן

לא חופפים בגודל 100ms. C - קצב ירי שחושב על ידי

קונבולוציה עם חלון מרובע. D - קצב ירי שחושב על ידי

קונבולוציה עם חלון גאוסיאני. E - קצב ירי שחושב על ידי

קונבולוציה עם  $\alpha$  function מתוך הספר: Theoretical

Neuroscience, Dayan and Abbott, 2000

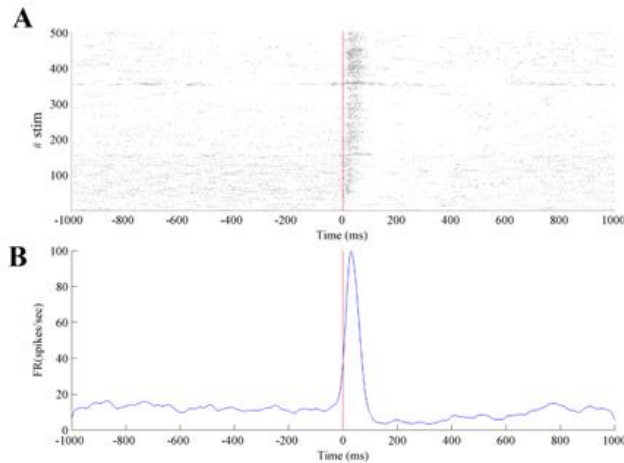
במעבדה זו תדרשו לחשב את קצב הירי בחלונות זמן שאינם חופפים (בדומה לדוגמא B). בשיטה זו מחלקים את חלון הזמן לבינים שווים בגודלם ומחשבים את קצב הירי עבור כל בין. חישוב קצב הירי נעשה על ידי סכימת מספר הספייקים שנורו בכל בין וחלוקה בגודלו של הבין. התוצאה מתקבלת ביחידות של spikes/sec, כאשר רזולוציות הזמן והתדר משתנות לפי גודל הבין הנבחר: ככל שהבין גדול יותר- הרזולוציה בתדר משתפרת על חשבון הרזולוציה בזמן. עבור בינים קטנים עד כדי מילישניות בודדות- נקבל קירוב ל-spike train כלומר מידע על האם היה או לא היה ספייק בזמן בין נתון. עבור בינים גדולים (עד כדי אורך הרישום)- נקבל החלקה ומיצוע של קצב הירי. על כן מומלץ למצוא גודל בין שישקף את התופעה ההתנהגותית שאותה מנסים לכמת.

## Peri-Stimulus Time Histogram (PSTH)

על מנת לכמת את הקשר בין גירויים חיצוניים או התנהגות שחוזרת על עצמה לבין הפעילות הנוירונאלית, דהיינו תגובת תא העצב לגירוי/פעולה כלשהי, ניתן למצע את קצב הירי מסביב/אחרי זמני הגירוי. בשלב ראשון יוצרים raster plot המורכב ממקטעים של ה-spike train מיושרים בזמן מסביב לגירוי. ה-raster plot הוא למעשה מטריצה שבה כל שורה מייצגת גירוי בודד וכל עמודה מייצגת bin בזמן. המטריצה מורכבת מערכים בינאריים כך ש-0 מסמל bin שבו לא נורה פוטנציאל פעולה ו-1 מסמל bin בו נורה פוטנציאל פעולה. על מנת ליצור את ה-



PSTH יש לסכום את עמודות המטריצה ולנרמל ע"י חלוקה במספר הגירויים. כך מקבלים את התגובה הממוצעת לגירוי (ביחידות של counts/bin, כאשר ניתן לבצע נרמולים שונים להסתברות, קצב ירי וכו' על ידי הכפלה או חילוק של התוצאה המתקבלת).



**דוגמא ל-raster plot ו-PSTH. A-raster plot.** כל שורה מייצגת תגובה לגירוי. נקודות שחורות-פוטנציאלי פעולה. B-PSTH מנורמל לקצב ירי. זמן 0- מייצג את הגירוי (מסומן בקו אדום).

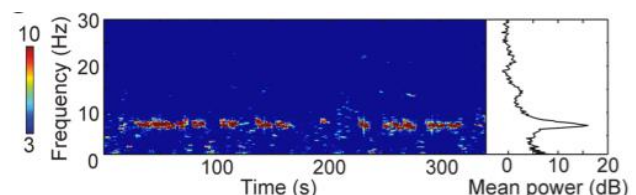
### אנליזה ספקטרלית של LFP

אנליזה זו נועדה לכמת את הקשר בין תדרים נצפים בסיגנל ה LFP להתנהגות החיה. סיגנל ה LFP יכול להיות מוצג בזמן (מתח כתלות בזמן), או במרחב התדר, בו הסיגנל המקורי מותמר לסכום של פונקציות סינוסואידליות. תהליך ההתמרה מכיל תדר ופאזה לכל פונקציה סינוסואידלית, וההצגה של הסיגנל בזמן או בתדר הן שקולות. ניתן לעבור בין הייצוגים על ידי התמרת פוריה.

הצגה של כל תכולת התדר של סיגנל נקראת ספקטרום, spectrum, והיא בדר"כ מוצגת כשציר העוצמה (האמפליטודה) ביחידות של dB ( $10 \log_{10}(power)$ ) אל מול ציר התדר (Hz).

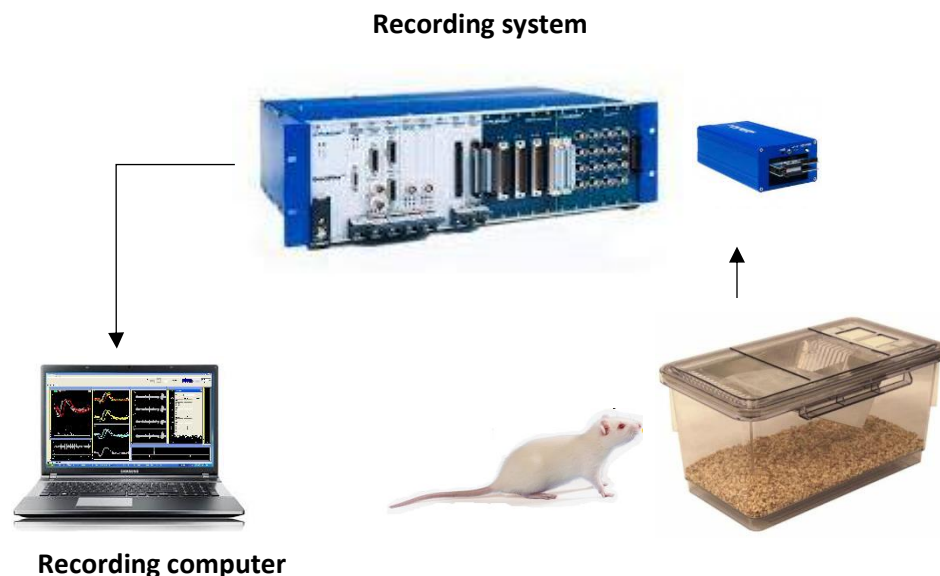
הצגה של תכולת התדר של סיגנל לאורך זמן מכונה ספקטרוגרמה, spectrogram, והינה תצוגה דו מימדית של סיגנל בו העוצמה בכל תדירות (ציר ה Y) מיוצגת על ידי צבע לאורך זמן (ציר ה X). גם כאן נהוג להציג את העוצמה ביחידות של dB.

**דוגמא לספקטרום (ימין) ולספקטרוגרמה (שמאל).** הספקטרוגרמה מראה פעילות למקוטעין בתדר 7Hz, הספקטרום מימין ששקול לסכימה בזמן של הספקטרוגרמה מציג אף הוא פיק ב 7Hz.



## שיטות

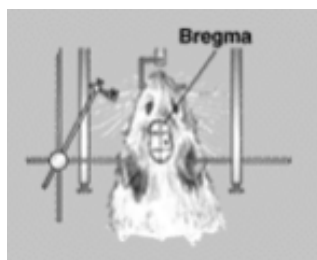
במעבדה זו נבצע ניסוי המדגים כיצד תנועה ותגמול משפיעים על הירי של תאים ב-Dorsal striatum. לצורך כך נשתמש ב-setup להלן ובשיטות המפורטות בהמשך.



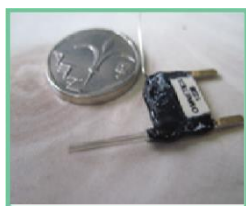
**Setup:** מערך האלקטרודות המושלם ב-Dorsal striatum של החולדה חובר למערכת הרישום, שתרשום את הסיגנל החוץ תאי ותעביר את המידע למחשב הרישום. הנתונים במעבדה זו מגיעים ממערכת רישום חוטית כך שמערך האלקטרודות מחובר בכבל מהראש של החולדה אל מערכת הרישום בצורה שמאפשרת לה לנוע באופן חופשי בתוך הכלוב.

**חיות:** במעבדה זו נשתמש בנתונים מחולדה מזן Long-Evans ממין זכר במשקל של כ-500 גרם.

**ניתוח:** בחולדה בוצע ניתוח להשתלת מערך אלקטרודות ב-Dorsal striatum. החולדה הורדמה וראשה קובע. נעשה חתך אורכי בקרקפת ומקום ההשתלה ביחס ל-Bregma (התפר הקדמי של עצמות הגולגולת, על פיו ניתן להעריך את מיקום המבנים במוח) סומן. נקדחו חורים בגולגולת לצורך השתלת ברגים לייצוב המבנה, וחלון בקוטר של 1X1 מ"מ לצורך החדרת מערך האלקטרודות ל-Dorsal striatum. קרום הדורה הוסר והמערך הורד למוח על ידי זרוע סטראוטקטית. המערך קובע על ידי צמנט דנטאלי. בתום הניתוח קיבלה החולדה נוזלים וחומר לשיכון כאבים ומצבה נוטר במשך מספר ימים עד להחלמה.



הדגמה של קיבוע ראשה של החולדה בזמן הניתוח, ומיקומו של תפר העצמות הקדמי, ברגמה, המשמש כנקודת ייחוס לפיה ניתן להעריך את מיקום האזורים במוח בהם רוצים להשתיל את מערך האלקטרודות הרישום.



**אלקטרודות הרישום:** מערך האלקטרודות מורכב ממערך של 16 חוטי מתכת מצופים (חשופים רק בקצוותיהם) שמצידם האחד מוחדרים למוח ומצידם השני מולחמים לקונקטור המאפשר חיבור למערכת הרישום.

**רישום חוץ תאי:** הסיגנל החוץ תאי נרשם על ידי מערכת רישום מסוג אומניפלקס של חברת Plexon Inc. המערכת דוגמת את הסיגנל החוץ תאי בתדר של 40,000 דגימות בשניה. הרישום מתבצע מ 16 הערוצים במקביל. ערוצים ספציפיים נבחרו על ידי המדריך להמשך עיבוד.

**אנליזה:** האנליזה הראשונית תתבצע בתוכנת offline sorter. מהתוכנה יתקבלו קבצי NEX אותם נמיר ל- mat ובהם הסיגנל הגולמי, זמני הספייקים וצורות הגל. האנליזות הנוספות יתבצעו בתכנת matlab\python ותוגשנה לבדיקה כמפורט בהוראות לכתיבת הדו"ח.

### **העשרה – אלקטרודות הדור החדש:**

אלקטרודות Neuropixels מהוות דור חדש של אלקטרודות רישום, שפותחו במיוחד למחקרי מוח מתקדמים, ומציעות אופציית רישום שונה.

1. **מערך רב-ערוצי מתקדם:** בניגוד ל-16\32 ערוצים של רישום פר אלקטרודה, אלקטרודת Neuropixels מכילה עד 960 ערוצים (עם 384 ערוצים פעילים בו-זמנית), המאפשרים כיסוי מרחבי רחב יותר ורזולוציה גבוהה יותר של רישום פר אלקטרודה (אפשרי החדרה מרובה של אלקטרודות רישום).
2. **מבנה טכנולוגי מתקדם:** ה Neuropixels- היא שבב סיליקון דק המצופה באלקטרודות זעירות המסודרות לאורך השבב. המבנה המינימליסטי והקשיח מאפשר רישום מדויק מאזורים עמוקים ושטחיים במוח בו-זמנית.
3. **רזולוציה מרחבית גבוהה:** היכולת לרשום בו זמנית מאות ערוצים מספקת מידע עשיר על הפעילות העצבית באזורי מוח שונים, כולל דפוסים מרחביים של פעילות עצבית.
4. **תאימות למערכות מתקדמות:** ה Neuropixels- מתאימות לשילוב עם מערכות הדמיה מתקדמות (כמו מיקרוסקופיה של סידן), ומאפשרות שילוב נתונים רב-ממדי על פעילות עצבית.

מאפיין	אלקטרודות Neuropixels	אלקטרודות רישום פשוטה
<b>מספר ערוצים</b>	עד 960 ערוצים – 384 פעילים.	16 או 32 ערוצים לכל אלקטרודה
<b>רזולוציה מרחבית</b>	גבוהה מאוד	מוגבלת
<b>חומר מבנה</b>	שבב סיליקון מתקדם	חוטי מתכת מצופים
<b>איכות סיגנל</b>	יציבות בינונית	יציבות גבוהה
<b>קלות שימוש</b>	קשה להטמעה	קל להטמעה
<b>התאמה לניסויים בחיה מתנהגת</b>	אפשרי בחיות מקובעות ונעות	אפשרי בחיות מקובעות ונעות
<b>רישום כרוני</b>	אקוטי וכרוני- הסיגנל דועך עם הזמן	כרוני- הסיגנל יציב לאורך זמן
<b>עלות</b>	גבוהה	נמוכה יחסית