

מעבדת רישום חוץ תא

מהלך המעבדה:

חלק ראשון – הדגמה של מערכת הרישום והিירות עם מושגים בסיסיים באנליה של רישום חוץ תא.

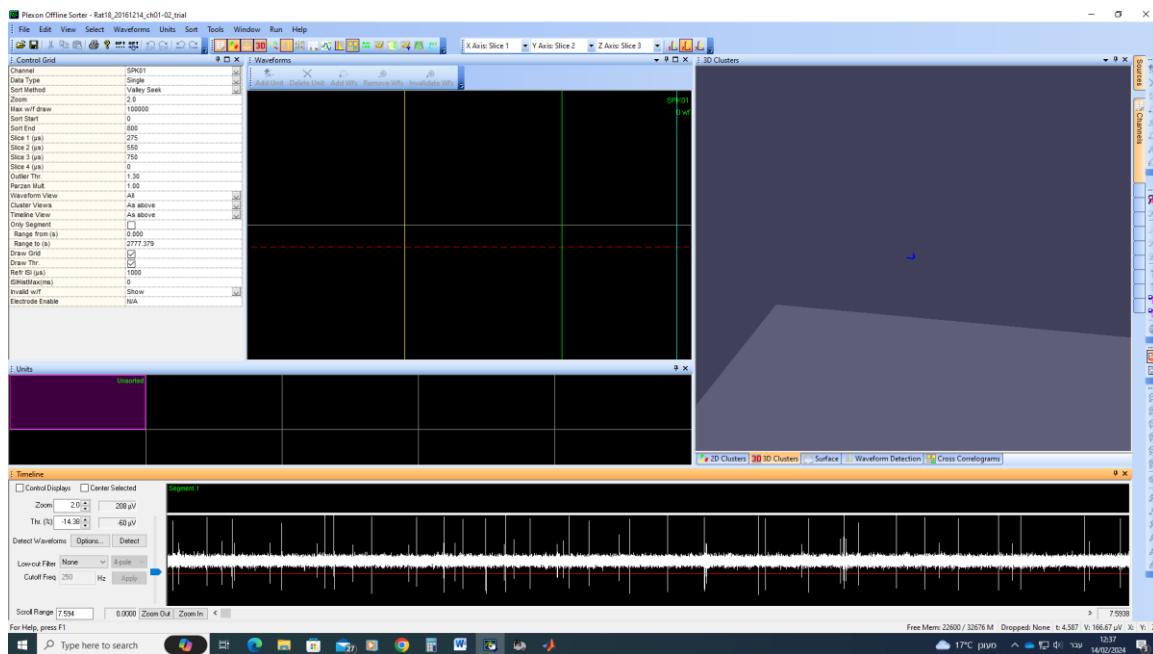
1. נתען במערכת הרישום קובץ הדגמה.קובץ הדגמה כולל סיגנל שנרשם מפעולות מוחית של חייה. המערכת תציג על המסך את הפעולות המתקבלת. כל מה ששמי שעובר את הסף שנקבע יוצג על המערכת. זהו רישום המדמה רישום online.

2. נסו להזות צורות גל שהוזרות על עצמן. כמה泰安ים שונים מיוצגים בקובץ?
3. נסו לשנות את הסף. איך השינוי משפיע על צורות הגל? האם עכשו ניתן להפריד ביניהם בצורה טובה יותר? נסו למצוא את הסף האידיאלי להפרדה של התאים מהרעש ואחד מהשניים. אותה הפעילות נרשמת בכל העורוצים ולכן ניתן להשוו את התוצאות המתקבלת ממיקומים שונים של הסף בעורוצים השונים.
4. ננסה לעשות ניתוח בכליים מתמטיים מהירים כמו PCA ו-Cross correlation לבדיקה התאמה לקבוצות泰安ים.

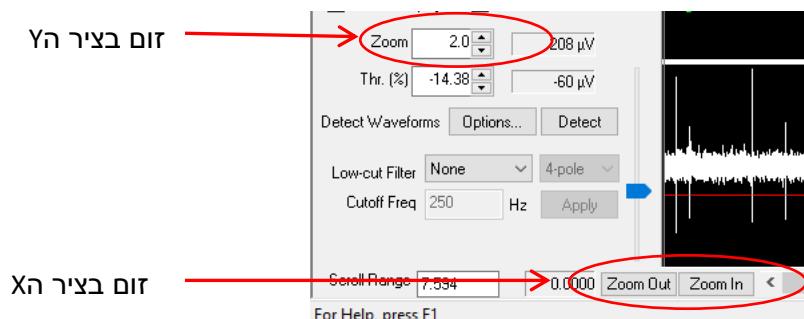
חלק שני – ניתוח נתונים מהיה מתנהגת.

בחלק זה תשתמשו בתוכנה ייודית כדי להלץ זמני ספייקים של泰安ים מתוך רישום חוץ תא שנרשם מהיה מתנהגת. את זמני הספייקים שתחלצו נשמרו לצורך בחינת פעילות התאים.

1. פתחו את תוכנת offline sorter.
2. טענו את הקובץ הרצוי.
3. בלשונית channels בצד יש לבחור את העורוץ הרצוי. אתם אמורים לראות מתחתית המסך את הסיגナル.



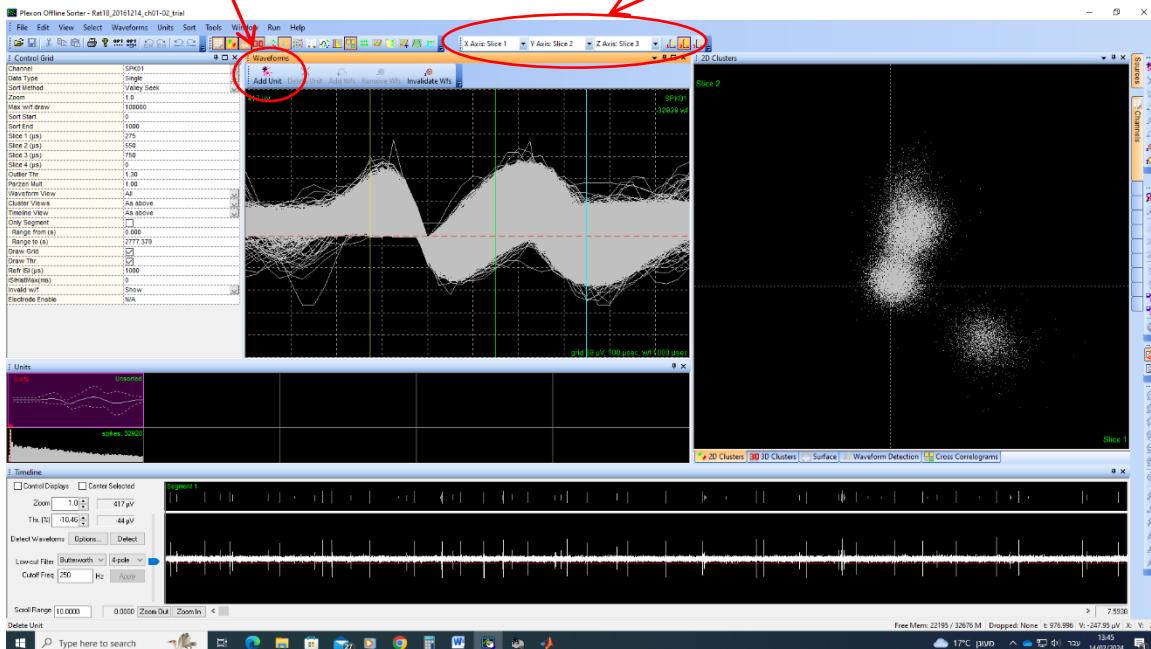
4. בחלק השמאלי התחתון של המסך אפשר לשלוט על התצוגה של הסיגנל ועל מיקום הסף. הסתכלו על הסיגnal זהה את הספייקים.



5. העבירו את הסף high pass filter על הסיגנל: תחת Low cut filter בחרו Butterworth. מה קרה לסיגנל?
6. קבעו את הסף הרצוי (הקו האדום) כך שיתפוס את כל הספייקים.
7. בחרית פרמטרים לצורות הגל שתתקבלו: לחזו על לחץן Options שליד הכותרת Detect waveforms יפתח חלון שבו ניתן לקבוע את הפרמטרים של צורת הגל – אורך צורת הגל שתוצג, אורך הזמן לפני החזית הסף והזמן המינימלי בין שני ספייקים. ניתן להשאר את הפרמטרים כמו שהם בשלב הראשוני.
8. לחזו Detect. המערכת תזהה את כל הספייקים שהחזו את הסף ותציג אותם בחלק העליון של המסך.
9. בוחנו את צורות הגל שהתקבלו. האם ניתן לראות את צורות הגל במלואן? האם ניתן להזות צורות גל שהזרורות על עצמן? האם ניתן להפריד את הספייקים מרעש הרקע? במידה ואתם חושבים שיש בסיגנל כמה תאים שונים, האם ניתן להזות איזה צורות גל שייכות לאיזה תא? במידה ולא, שננו את הפרמטרים של צורות הגל ו/or את הסף ולהזנו detect שוב. המשיכו עד שההתוצאות משביעות רצון.
10. תחת הלשוניות 3d clusters ו 2d clusters ניתן לראות ייצוג של צורות הגל השונות כנקודות מרחב - PCA. בדקו האם אתם מצליחים לזהות את קבועות התאים השונות ואת רעש הרקע. ניתן לשנות את הפרמטרים שעל פיהם הנקודות מוצגות.

הוספת תא

שינוי הפרמטרים של הקלאלסטרים



11. בעזרת כפתור Add Unit סמן את צורות הגל שאותם חושבים ששייכות לאותו התא. ניתן לסמן גם על צורות הגל עצמן וגם על הקלאלסטרים.

12. בדקו האם התוצאה שקיבלתם הגיונית. ניתן לתקן באמצעות הכפתורים add WFs add שמוסיף צורות גל ליחידה שבחרתם וremove WFs שמריריד ממנה צורות גל.

13. במידה ואתם חושבים שזוו אותו תא (צורתם וה坦גגוותם דומה אך מוזזת בזמן) תוכלו לבצע איחוד על ידי Unit → combine.

14. בדקו האם התנагגות התא הגיונית באופציית cross correlation, בדקו האם התקופה הרפרקטורית מתאימה לה坦גגות התא \ מספר התאים והקורולציה ביניהם.

15. לצורך נוחות תמיד תוכלו לעשות הוספה יחידה (add unit) והוספה כל הגלים שלא מופיעו לתאים ← זה יתן לכם את כל הרעש הקיים. ממן תוכלו להסיר את הגלים שלא תואימים לרעש. אותם גלים יתווסףו לunsorteds ואותם תוכלו להוסיף לתאים שכבר נקבעו כבר.

16. לאחר סיום המיוון יש לשמר את התוצאות וליציא אותן לקובץ שאיתו תוכלו לעשות את האנלייזות המתקדמות. יצוא הקובץ יבוצע לפורמט NEX. קראו לי טרם הייצוא שאודא שאין תקלות.

17. פתחו את הקובץ הNEX, סמן את כל המשתנים, לחזו על matlab בשורה העליונה send selected variables, ושמרו את הקובץ mat עם שם הערזן. קובץ זה ישמש אתכם לעבודה בבית. עשו זאת עבור כל ערזן ברגע שסימחתם.

יש לחזור על התהליך עבור כל אחד מהסיגנלים לפחות פעמיים על ידי שני אנשים שונים. שימוש לב לוודא את כמות התאים המופיעים ולודוד כי התא נראה דומה למיוון השני – זאת אינדיקציה לנכונות המידע ודרך לאמת אותו.

הוראות לכתיבת דוח מעבדה - רישום חוץ תאי

כאמור, אחת מן המטרות המרכזיות של מעבדה זו היא להכיר לכם את עולם האלקטרופיזיולוגיה ולהציגו כיצד מתרחש בו התהליך הণיסויי. המטרה של כתיבה הדוח'ה היא לאפשר לכם להחנoso גם בתחום המשלים את הניסוי והוא ניתוח הנתונים, דיווח על תוצאות ודיוון בהן.

על הדוח'ה להיות מוגש בפורמט שלamar לפי הסעיפים הבאים:

1. **כותרת (5 נקודות)** - השבו על כותרת מתאימה המשקפת את הניסוי והוצאות שיווצגו בדוח'ה.
2. **הקדמה (10 נקודות)** - על הקדמה להיות בהיקף של עד עמוד אחד ולכלול חומר רקע קצר, תיאור קצר של הניסוי שהתבצע ושל התוצאות שהתקבלו.
3. **שיטות (10 נקודות)** - פרטו את השיטות בהן השתמשתם, מה נעשה בניסוי, באילו כלים השתמשתם על מנת לבצע את ניתוח הנתונים.
4. **תוצאות (50 נקודות)** - בפרק זה עליכם לדוח על תוצאות הניסוי. על פרק התוצאות לכלול גرافים וסביר מילולי של התוצאות שתתבקשו לדוחה עליהן – ראו פרוט בהמשך המסמך. על הגראפים לכלול כותרות ראשיות וכותרות ציריים. שימו לב שאתם מצינים גם את היחסות בהן השתמשתם (לדוגמא- אם כותרת הציר היא זמן- עליכם לציין האם הזמן נמדד בשניות, מילישניות, דקות, וכו'). במידה ויש תתי גرافים שימו לב כי היחסות הם אותו הדבר. בנוסף, ציינו עבור כל גרף את מספר הקובץ אליו הוא משוייך ואת הפרמטרים השונים בהם השתמשתם (לדוגמא- גובה הסף לזרחי פוטנציאלי הפעולה וכו').
5. **דיון (20 נקודות)** - בפרק זה עליכם לנוסח להסיק מה ניתן ללמוד מהתוצאות, מה שימושותן. Done ב יתרונות ובחרונות של הניסוי שבוצע על כל שלביו והצביעו רעיונות למחקר המשך בהתבסס על התוצאות שקיבלו.
6. **נספחים (5 נקודות)** - צרפו את קוד ה-*matlab/python* אותו כתבתם לצורך ניתוח הנתונים, הקפידו לתעד את הקוד.

עליכם לכתוב את הדוח'ה כדוחה לקורא שאינו יודע מה ה被执行 בניסוי. ספרו בבהירות מה עשיתם וכי, הסבירו את הגראפים ודונו בתוצאות. רשמו את הדוח'ה כצורה מובנת, תמציתית, המכילה גראפים ברורים עם תיאור.

בכתיבת הדוח'ה הניחו כי יש בידיכם **תוצאות אידיאליות** (שיטות מתאימות, מספיק חזירות וכו'). את מגבלות הניסוי באם היו והשגוותיכם בנוגע לתוצאות יש לפרט בחלק הדיון בסעיף נפרד.

ניתנות הנתונים

עליכם להשתמש בנתונים שניתחתם במהלך המעבדה. עליכם לשמר את זמני הספייקים וצורות הגל שמצאתם במהלך המעבדה וגם את הסיגナル המקורי. תדר הדגימה של הסיגנלים הוא 40,000 דגימות בשניה.

בנוסף לנתונים שתשמרו תקבלו גם קובץ מطلב עם סיגナル LFP של כל אחד מהعروצים לצורך ביצוע האנליזה הספרטלית. לסיגナル LFP תדרות דגימה של 1000 דגימות לשניה.

כתיבת הפונקציות

הקוד בו השתמשו לצורך ביצוע האנליזות יכתב ב-*matlab* או ב *python*. על הקוד להיות כתוב בצורה פונקצייתית סגורות (ולא סקריפטים) לפי הפירוט הבא.

הוראות כלליות לכתיבה הפונקציות:

- השתמשו בשמות משתנים ברורים.
- כתבו את הפונקציה כך שתיהיה כללית עד כמה שניתן.
- הגדרו משתנים עבור הפרמטרים השונים, כך שתוכלו לשנותם בקלות.
- שבעו בקוד הערות להסביר.

זכרו כי שרתם את הקובץ *C:\Mat*, כעת עליכם לפתח אותו בסביבת העבודה שלכם. בשביל לעשות זאת, בפייתון התקינו את ספריית *pynexfile* והשתמשו בפונקציית *NexFile*.

1. התקינו את הספרייה במחשב במידה והוא לא קיים ←
2. תוכלו להיעדר בקוד הבא:

```
import scipy.io
#Specify the path to your .MAT file . remmebr the \\ format
mat_file_path = 'path_to_file\\file_name.mat'

#Load the .MAT file

data = scipy.io.loadmat(mat_file_path)
#Good luck!
```

1. הצגת הסיגナル:

כתבו פונקציה בשם "plotSignal" המקבלת את הסיגナル הגלמי (raw data) של ערזן (הΚΠΙΔΟ) לבחור ערזן בו קיימת פעילות של התאים). הפונקציה צריכה ליצור סיגナル מפולטර לתרדים גבוהים וסיגナル מפולטרא לתרדים נמוכים. על הפונקציה ליצור figure עם שלושה plots sub ובמהם גרפים של מתח (מיקו-וולט) כפונקציה של הזמן (בשניות) של הסיגナル המקורי והסיגנלים המפולטרים. הסתכלו על מקטעי זמן קצרים מתוך הסיגナル הכלול שקיבלתם כדי לראות הבדלים בין הסיגנלים השונים. ניתן להשתמש בפונקציות *lowpass* ו- *highpass* ב Matlab על מנת ליצור את הסיגנלים המפולטרים. בפייתון תוכלו לבנות את הפונקציות הללו באמצעות שימוש בספריה *scipy.signal*.

- תארו את ההבדלים בין הסיגנלים והסבירו איך משפיע הפילטר על הסיגナル המקורי.

2. הצגת צורת הגל של פוטנציאלי הפעולה:

כתבו פונקציה בשם "plotSpikes" המקבלת את צורות הגל שהתקבלו ב-`sorter offline`. הציגו חלק מצורות הגל של פוטנציאלי הפעולה שהתקבלו, יש להציג 50-100 צורות גל באופן אקראי. הציגו גם את הגל הממוצע על אותן גראף בצורה מובלת מהгалים הבודדים.

- האם כלל הгалים של פוטנציאלי הפעולה שונים אחד מהשני בהרבה?
- האם הגל הממוצע מיצג בצורה ברורה את כלל אוכולסית פוטנציאלי הפעולה?
- השוו את צורות הגל בין התנאים השונים של הניסוי באותו עroz. האם צורות הגל השתנו בצורה משמעותית? האם אתם מעריכים שהנתונים נלקחו מאותו הנירון?
- השוו בין צורות הגל שמיינו על ידי אנשים שונים באותו עroz. האם הצורות דומות אחת לשניה?
- ממה נובעים ההבדלים (במידה ויש)?

3. חישוב קצב ירי:

כתבו פונקציה בשם "firingRate" המקבלת זמנים של פוטנציאלי פעולה, קצב הדגימה, ואת משך ההפסקה ומהשכת קצב ירי על ידי יצירה של spike-train וחלונות זמן לא חופפים. על הפונקציה לצייר גראף ובו קצב ירי (spikes/s) כפונקציה של הזמן. פרמטר בו עליהם לעשות שימוש הוא גודל החלון עבורו מחושב קצב הירוי.

- הדגימו כיצד משפייע גודל החלון על חישוב קצב הירוי. בחרו גודל חלון שמתאר היטב את קצב הירוי במהלך הניסוי והציגו דוגמאות לחלונות זמן נוספים שלא מעבירים את המידע בצורה טובה.

לאחר בחירת החלון המועדף השתמשו בפונקציה שכחบทם על מנת לענות על השאלות הבאות:

- האם קצב הירוי משתנה במהלך הניסוי?
- האם קצב הירוי שונה בין מצב של מנוחה למצב של תנועה?
- חשבו מה קצב הירוי הממוצע בכל אחד משלבי הניסוי ובכזו מבחן סטטיסטי מתאים על מנת להשוות בין קצבי הירוי במצבים השונים. שימו לב כי מבחן סטטיסטי ניתן לבצע על מדגם ולא פרט בודד, על כן חלקו את קצב הירוי לBINNING ותוכלו להשוות בצורה זו בין מדגמי הירוי בזמנים נתונים. צרו היסטוגרמה של הבדלי קצב הירוי. האם קצב הירוי שונה סיגניפיקנטית?
- האם יש הבדל בין אנליזה שנעשתה על ידי אנשים שונים? בדקו האם קצב הירוי שונה בין הניתוח שנעשה על ידי אנשים שונים בקובוצה. מה קצב הירוי הממוצע שהתקבל בכל אחת מהanelizot? האם יש ביניהם הבדל סיגניפיקנטי? השתמשו בגודל חלון זהה כדי לחשב את קצב הירוי בשני המקרים.

4. חישוב ספקטרום וספקטrogram של LFP

כיתבו פונקציה בשם "LFP_spectrum" המתקבלת את סיגנל ה LFP שקיבלתם מהמנחה ותדר הדגימה שלו ומחשבת ומיציגה את גרפי הספקטרום והספקטrogramה של ה LFP. לחישוב הספקטרום השתמשו בשיטת matlab pwelch המשמש בפונקציית pwelch ובפיטון ניתן להשתמש ב scipy.signal.welch . ערכיהם מומלצים לחישוב הספקטרום hann באורך 600, hann,NFFT = 8192 לחישוב הספקטrogramה והשתמש באותו הורם, ניתן להשתמש בפונקציית spectrogram לחשוב הספקטrogramה, ניתן להשתמש בקוד הבא:

```
NFFT = 8192;
win=hann(600);
n_overlap=round(length(win)*0.25);
[s f t]=spectrogram(LFP,win,n_overlap,5000,Fs);
s1=abs(s);
figure()
imagesc(t,f,s1)
axis xy
ylim([1 30]);
set(gca,'CLim',[3 15])
```

בפיטון ניתן להשתמש בספריות numpy, matplotlib.pyplot , scipy.signal ולהרהייב את הקוד שניתן:

```
def LFP_spectrum(LFP, Fs):
    # Parameters
    NFFT = 8192
    window = scipy.signal.get_window('hann', 600)
    overlap = int(len(window) * 0.25)
    # Spectrum (Welch's Method) :
    freqs, power = scipy.signal.welch(LFP, fs=Fs, window=window,
    nperseg=len(window), noverlap=overlap, nfft=NFFT)
    plt.figure()
    plt.plot(freqs, 10 * np.log10(power))
    # add : plt.xlabel,plt.ylabel, title...
    # Spectrogram:
    freqs, times, spec = scipy.signal.spectrogram(LFP, fs=Fs, window=window,
    noverlap=overlap, nfft=NFFT)
    plt.figure()
    plt.imshow(10 * np.log10(np.abs(spec)), aspect='auto', extent=[times.min(),
    times.max(), freqs.min(), freqs.max()], origin='lower')
    plt.ylim(1, 30)
    plt.colorbar(label='Power (dB)')
    # add plt labels and title and show it all.
```

כאשר Fs הוא תדר הדגימה .

- האם ישנו הבדלים בתוכנות התדר של הסיגנל במצב פעילות שונים של החיה? הציגו את התוצאות שקיבלתם בתנאי הניסוי השונים ותארו את הדומה והשונה ביניהם.

את הדוח יש להגיש שבועיים ממועד המעבדה.

בצלחה!