

מעבדת רישום חוץ תא

במעבדה זו נעשה עיבוד של סיגנל חוץ תא שונרשם מתחיה מותנהגת.

העיבוד יעשה בעזרת תוכנה ייועדת למיון (sorting) של תא עצב יחידים מתוך סיג널 רישום רציף.

מטרות המעבדה:

- הכרת התהיליך הניסויי במחקר אלקטרופיזיולוגי בהיה מותנהגת.
- הכרת הסיגナル המתתקבל ברישום חוץ תא והמידע שניתן להוציאו ממנו.
- היכרות עם פרמטרים שונים המשפיעים על ניתוח הסיגナル.
- ביצוע עיבוד בסיסי של הסיגナル וניתוח התוצאות המתתקבלות.
- הדגמה של השפעת פעילותות מוטוריות על פעילות התאים שנרשמו.

בתום המעבדה תשרמו את הנתונים שניתחתם ועליהם תבצעו אנליזות נוספת על פי ההוראות לכתיבת הדוח' המופיעית במסמך זה. את הדוח המלא יש להגיש כעבור שבועיים מביצוע המעבדה.
יש להביא למעבדה כונן נייד לצורך שבירת הקבציים.

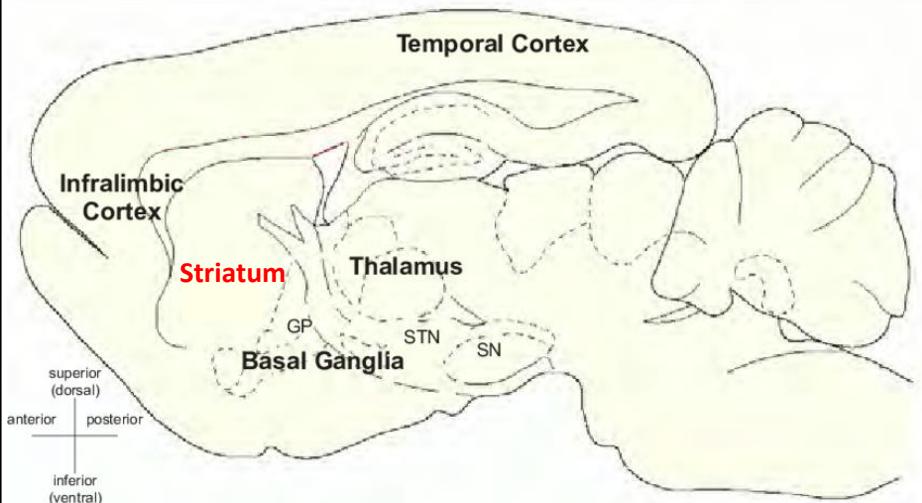
הקדמה

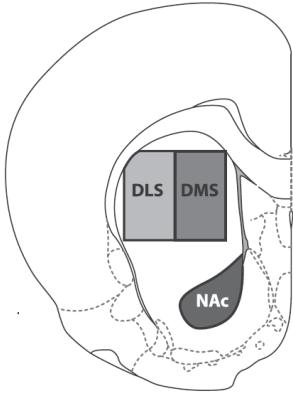
Dorsal Striatum

ה (DS) Dorsal striatum (DS) נחשב לתוך אזור בתוך גרעין תת-קורטיקלי הנקרא Striatum במוח. את ה - DS בעצמו ניתן גם לחלק לתוך אזוריים נוספים (למשל DLS (Dorso-medial striatum ו Dorso-lateral striatum)) על פי המיקום המרחבתי שלהם, הקישוריות הסינפטית של כל אזור והתקף הפונקציונלי שלהם. ביום ידוע שה DMS ו DLS מעורבים בתהליכי הקשרים לבחירת התנועה הרצויה, יצירה הקשרים בין גירויים שונים, יצירה הרגלים, התנהגות תלויות מטרה ועוד.

איור של חתך מיד-סagitלי במוח של חולדה. באיוור ניתן לראות את החומר החיבור לאזוריים נוספים. המוח בתוכו של Striatum כולל אזורים המשיכים לגרעיניים 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 אירור על גבי חתך קורוני של מוח של חולדה את המיקומים המשוערים של ה DMS & וה DLS. בנוסף, ניתן לראות בתמונה אירור של גרעין בזאלי נסוף, ה nucleus accumbens. גרעין זה מקודד מידע לימבי ועל כן מקשר 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*.

האOPEN שבו ה DS מקשר לתהליכיים מסווג זה נובע גם מעדריות מחקריות במגוון סוגים של נבדקים (קופים, בני אדם, ומכרסמים) המראים קישוריות סינפטית בין איזוריים קורטיקליים גבוהים לבין ה斯特רייאטום. בנוסף, מותת תאים באזור זה ובאזורים נוספים בגרעינים נמצא במקרים מסוימים, כגון: הפרעה אובייסיבית-קומפלסיבית, מחלת הנטיגנטון, מחלת פרקינסון, ועוד.

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

החלוקת התפקודית בין תתי האזוריים בתוך ה DS מסתמכת בחלוקת על מחקרים שנעשו McMCRSENS מבהם הראו כי פגיעה בתפקידו ה DMS מובילת לאובדן יכולת הלמידה של פעולות מכוונות מטרה, ואילו DLS פועל בمعال עצבי המסייע לרכישת פעולות הרגל הקשורות ללמידה סנסורית-מוחוריית.

עדויות נוספות לתפקידו ה DS בתכנון תנועה מגיעות מחקרים שנעשו בקופי-אדם בהם הוקלה פעילות של נוירונים בודדים ב DS. הנוירוניםagiiso בצורה ממושכת זמן קצר לפני ביצוע הפעולה המוחוריית ועד לקבלת תוצאה מסוימת של הפעולה.

במהלך המעבדה אנו נתנו פעילות של תאים בודדים ב DS של היה ערה החופשיה להסתובב בכלוב. המעבדה תームקץ בתפקידו ה DS בתכנון וביצוע תנועה מוחוריית ועל כן נבחן את השינוי בפעולות התאים בין מצב סטטי של היה לבין מצב בו היה 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*.

בשיטה זו מוחדרות למחט רישום המקליטה את סך שינוי הזרם בסביבה החוץ תאי המתורגמים למתה על ידי מגבר. האלקטרודות רושמות את שינוי הזרם בתלות בתכונות הפיזיקאליות שלן. לדוגמה - קוטר האלקטרודה ועובי הבידוד (מהם, בין היתר, נגזרות המוליכות והקיבוליות שלה) ישפיע הן על גודל הנפה ממנו האלקטרודה רושמת והן על מהירות השינויים במתה אותן יכולה האלקטרודה לקלוט. כך, אלקטרודה דקה תרשום שינויים מהירים יותר ומරחब קטן יותר מאלקטרודה עבה. אלקטרודה דקה מספיק תוכל לרשום את שינויי המתה הנובעים מפוטנציאלי הפעולה של נוירון בודד.

בניגוד לרישום תוך תא שבו נרשמים גם השינויים התת סיפיים, ברישום חוץ תא נרשמים השינויים העל סיפיים של נוירונים בודדים. על כן לרוב מתייחסים לפוטנציאלי הפעולה הנרשמים ברישום חוץ תא כאירועים ביןאריים (היה/לא היה פוטנציאל פעולה). שיטה זו אמונה אינה מאפשרת קבלת מידע אודות הפעולות התת-סיפית של הנוירונים, אולם היא לרוב קלה יותר ליישום מרישום תוך-תא וניתן באמצעותה לבצע רישום אוכלוסיות גדולות יותר של תאים בודדים. זאת במקביל לרישום שינוי מתח משטחי ורקמה גדולים יותר המכונים (Local Field Potentials). כמו כן, לעומת מרישום תוך תא, רישום חוץ תא רגש פחות לתנועות החיה ולכן מאפשר רישום פעילות עצבית מהיה מתנהגת במשך זמן רב.

סיגナル ה LFP הינו סכימה של פעילות דנדריטים אקסיטטורית ואיניביטורית באזור סמוך לקצה האלקטרודה הרושמת. המקור של הסיגナル כולל בעיקר קלטים סינפטים, בניגוד לרישום ספיפטים של תאים שבדר'כ נרשמים מתאים בודדים. אם כך מידע שנרשם במקביל על ידי אותה אלקטרודה של LFP מחד ושל תאים בודדים מאידך נושא ליצוג מקורות שונים – ה LFP מייצג את הקולט לאזור והчисובות הלוקאלית והספריקים מייצגים את הפלט של האזור.

שני סוגים הסיג널ים הב"ל מתקבלים מהסיגナル הכלול הנרשם על ידי האלקטרודה על ידי שימוש בפילטרים לתדרים שונים. בכדי לקבל את הפעולות התאיות נדרש לפולטר את התדרים הגבוהים שכון פוטנציאלי הפעולה הינה שינויים מהירים מאוד במתה הנרשם. לסיגナル זהה נעשה זיהוי של הזמנים בהם התרחש פוטנציאל פעולה ועל בסיס זמנים אלו מתחזקות אנליזות שונות כגון קצבי ודפוסי הירি. מכיוון שתכונות האלקטרודה משפיעות על רישום הסיגナル, אלקטרודות שונות הן בעלות נטייה לרישום תאים מסוימים שונים. כמו כן, רישום תאים שיורים באופן ספונטני (ללא גירוי) יהיה פשוט יותר מרישום של תאים שקטים. עובדות אלו תורמות לכך שבשיטה זו קיימת הטיה בדגימה (אוכולוסיות תאים מסוימות ידגו יותר מאשר אוכולוסיות אחרות), ולכן גם כאשר דוגמים מספר גדול של נוירונים, התפלגותם אינה בהכרח משקפת את ההתפלגות האמיתית באזור הנרשם.

כאמור, רישום חוץ תא הינו שיטה הניתנת ליישום ה *in vitro* (בפרוסות מה, תרבויות תאים, אלומות אקסונים וכדומה) והן *vivo* (בחיה שלמה מודמת או מתנהגת), כאשר יש קשר ישיר בין השיטה בה משתמשים לשאלות המחקר אותן ניתן לשאול. הנתונים שאוותם נתנו במעבדה זו הגיעו מניסוי *vivo* בחיה עריה מתנהגת.

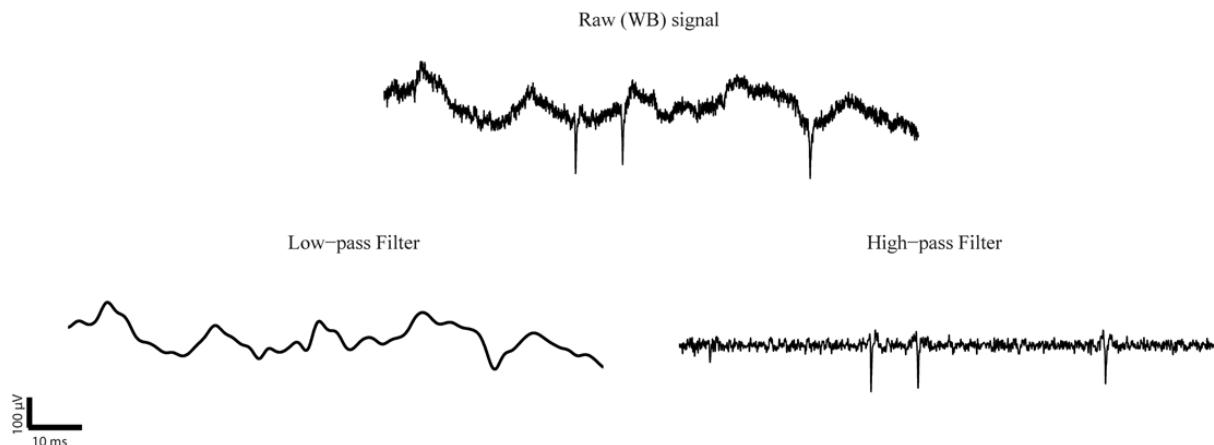
עיבוד המידע

הסיגנל המתkeletal מרישום חוץ תא מייל מידע רב. על מנת שנוכל לבדוק את המידע הרצוי לנו, علينا לבצע עיבוד ראשוני למידע כשלב מקדים לאנליזה. כאמור, הסיגnal המתkeletal ברישום הינו סכימה של שינויים הזרמים המתרחשים בסמוך לאלקטרודה הרושמת (כאשר כל אלקטרודה רושמת את הסיגןל בהתאם לתכונותיה הפיזיקליות השונות כגון: עובי, מוליכות, גודל ומבנה קצה האלקטרודה וכדומה). שינויים הזרם יכולים להתפרש בזמנים שונים ובAMPLITUDE'S SHIFTS (LDS) שונות. לדוגמה - פוטנציאלי פעולה הימן בעלי רוחב של מאות מיקרו-וולטם ותוליה בקרבתה לתא: ככל שהאלקטרודה הרושמת קרובה יותר לתא - השינוי במתה יהיה גדול יותר. לעומת זאת, סיגןל ה- Local field potential (LFP), המיחס לסך הפעולות הסינפטיות באזור האלקטרודה הרושמת, משתנה בזמנים איטיים יותר. הסיגןל הסופי שיתקבל ברישום הינו סכימה של כל שינויים הזרם הללו, גם פוטנציאלי הפעולה וגם LFP, וכן נוכן למצאו בו גם שינויים איטיים וגם שינויים מהירים, בעלי צורות שונות. על מנת לדלול את המידע בו אנו חפצים, יהיה علينا להפחית את כמות המידע שיש בסיגןל על מנת שנוכל לבצע את האנליזות באופן פשוט יותר. העיבוד הראשוני כולל לרוב את השלבים הבאים:

1. **פילטרציה**- בשלב זה אנו מחליצים מהנתונים את השינויים בטוויה התדרים העיקריים אותןנו. לדוגמה- אם ברצוננו לקבל מידע על פעילות תאים בודדים (single unit activity), נחלה מהתIGNAL את התדרים הגבוהים את התדרים הגבוהים שלו. באופן דומה, ניתן להלא מהתIGNAL גם את השינויים האיטיים יותר. השינויים האיטיים בסיגןל מכילים אינפורמציה שעומדת בבסיסם של מחקרים רבים (LFP). המשך ההסביר מתיחס לעיבוד המידע בתדרים הגבוהים (בו מצויים פוטנציאלי הפעולה) בלבד.
2. **Spike detection and clustering**- חילוץ הזמן בהם התרששות פוטנציאלי פעולה והפרדה בין תאים שונים שנרשמו על ידי אותה אלקטרודה.
3. **סיווג הנוירונים שנרשמו לאוכלוסיות שונות**- Classification.

פילטרציה

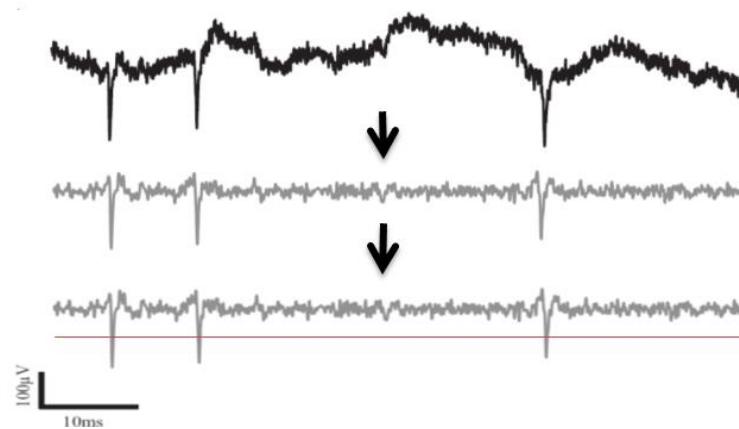
הסיגןל המתkeletal ברישום מייצג את הזרם כפונקציה של הזמן. על ידי התמרות מתמטיות ניתן לפרק את הסיגןל לתדרים המרכיבים אותו וליצגו על ציר התדר. ניתן להעביר את הסיגןל דרך FILTRATION'S SHIFTS (F) שונים על מנת להשאיר בו את התדרים הרצויים לנו להמשך האנליזה (לדוגמה- תדרים הגבוהים מ-300Hz) ולפטלר ממנו החוצה את התדרים שאנו לא חפצים בהם (לדוגמה- רעשים בתדרות 50Hz שנכנסים לרישום מערכת החשמל). את סוג הפילטר נבחר לפי סוג האינפורמציה בה אנו חפצים. כאמור, פוטנציאלי פעולה יהיו בטוויה התדרים הגבוהים של הסיגןל וכן נשמש בפילטר מסווג-pass-high- המשאיר בסיגןל את התדרים הגבוהים שבו ומסנן את תדריו הנמוכים.



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

Spike detection and clustering

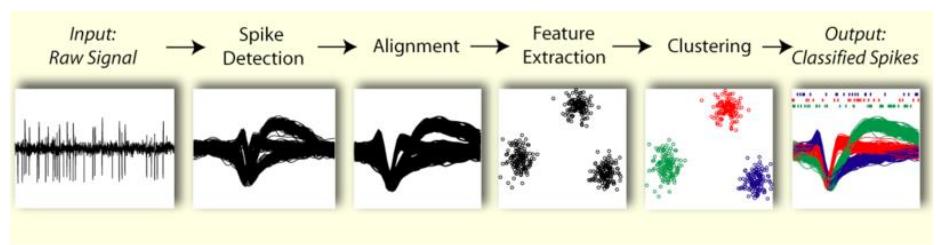
לאחר סינון התדרים הנמוכים מהנתונים, ה Siegnal מיושר ואינו רוכב על גלים בתדר נמוך. במצב זה ניתן להעביר סף שיסיע בחילוץ הזמנים של פוטנציאלי הפעולה מתוך ה Siegnal. הסף ימוקם בגובה שיפריד בין פוטנציאלי הפעולה לבין רעש הרקע ומיקומו לרוב יהויה אפשרות בין סף נמוך שיאפשר כניסה של רעש לבין סף גבוה שלא יאפשר את זיהויים של כל פוטנציאלי הפעולה.



דוגמא לפילטור ה Siegnal וקביעת סף לזיהוי פוטנציאלי הפעולה. שחור-ה Siegnal הגולמי. אפור- ה Siegnal המפולט. אדום- סף לזיהוי פוטנציאלי פעולה.

ה Siegnal יכול לכלול שינויים מתח שיחזו את הסף שקבענו ואין פוטנציאלי פעולה. כמו כן,ALKTRODAH אחת יכולה לרשום פוטנציאלי פעולה במספר תאים במקביל. לכן, לאחר שקבענו סף ומצאנו את הנקודות בסיגנל שהזותאות אותו,icut עליינו למיין אותן ולהחליט אילו מהן מיצגות פוטנציאל פעולה ולשייך את פוטנציאלי הפעולה שנרשמו לתאים שונים (אם אכן נרשם יותר מתא בודד). תהליך זה נקרא clustering והוא מתבצע באופן המתואר להלן.

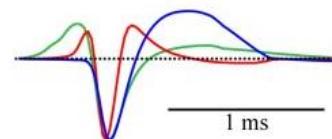
על מנת להחליט האם שינוי המתח שזכה את הסף היה פוטנציאלי פעולה, علينا לבדוק את צורת הגל בנקודה זו. לאחר שמצאנו את הנקודות החזקות את הסף, ניתן להביט בסיגナル מסביב לנקודה שעבירה את הסף בחולון זמנים בגודל מסוים. בחולון זמן זה נראה את צורת הגל ולפיה נוכל להחליט האם התרחש פוטנציאלי פעולה ולאיזה תא הוא משוייך. תהליך מיון התאים (spike sorting), מתבצע לרוב תוך שימוש בשיטות שונות להפחית מימדים (לדוגמה- PCA, Principal Component Analysis (PCA), שימוש בנקודות מינימה ומקסימה, וכו'). על ידי שימוש בשיטות אלו נוכל להציג את צורות הגל השונות על גבי מערכת ציריים דו/תלת ממדית. ייצוג זה מאפשר יצירת קלאסרים של נקודות (שכל אחת מייצגת צורה גל שהזרכה את הסף), כאשר בכל מקבץ תהיינה נקודות המייצגות צורות גל הדומות זו לזו- לדוגמה פוטנציאלי פעולה שנרו על ידי אותו התא. כך- כל מקבץ (קלאסטר)- ישוויך לתא אחר, ותבצע ההפרדה של הנקודות שזכו את הסף לפוטנציאלי פעולה שנרו על ידי תאים שונים ולרעת (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 שהטה יורה בשנית), דפוס ירי (התפלגות פוטנציאלי הפעולה, מרוחקי הזמן ביןיהם) וכדומה. לאחר שייתרנו את הפוטנציאלי הפעולה (spike detection) ושיכנו אותם לתאים שונים (clustering), ניתן להסתכל עbor כל תא על תכונות שונות ולפיهن לסוג את התא לאוכלוסיות תאים מסוימות. לדוגמה- בקורסוקס נוכל לרשום תאים מאוכלוסיות שונות כגון תאים פירמידליים, אינטראנוירונים וכו'. שירט 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 המשויות לנוירונים המשתייכים לאוכלוסיות שונות. בעזרת תכונות כגון צורת גל, קצב ודפוס ירי וכדומה- ניתן לסוג את הנוירון הנרשם לאוכלוסיות התאים אליה הוא שייך.

במקרה זה נזהה את פוטנציאלי הפעולה על ידי העברת ספַּף ונפרייד בין תאים שונים מאותו רישום בעזרת צורת הגל של פוטנציאל הפעולה.

אנליזה

Spike train

פוטנציאלי הפעולה משמשים את תאי העצב להעברת אינפורמציה. כאשר מתח המمبرנה חוצה ספַּף מסוים, נוצר בתא העצב פוטנציאל פעולה הנודד לאורך המمبرנה דרך האקסון, מגיע לטרמינלים וגורם לשחרור נוירוטרנסמייטור למروוח הבין סינפטי. הנוירוטרנסמייטור גורם לשינויו מתח בתא הפוסט סינפטי, שבתורו יסכם את סך הקלטים שמקבל ולפי פוטנציאל המمبرנה שלו תתקבל החלטה ביןארית האם לירוח פוטנציאל פעולה.

רצף פוטנציאלי פעולה ניתן לייצוג על ידי הזמנים בהם נורו פוטנציאלי הפעולה. ייצוג זה מכונה רכابت ספייקים (spike train). לאחר חילוץ זמני פוטנציאלי הפעולה מהסיגנל הנרשם, ניתן לבצע על בסיס ה-spike train המתකבל אנליזות שונות, שמטרתן להעניק לנו מידע לגבי תכונות הירוי של הנירון (כגון קצב ודפוס ירי) והאינטראקטיות שלו עם נירונים אחרים, סיגנלים שונים או אירועים חיצוניים או התנהגותיים.

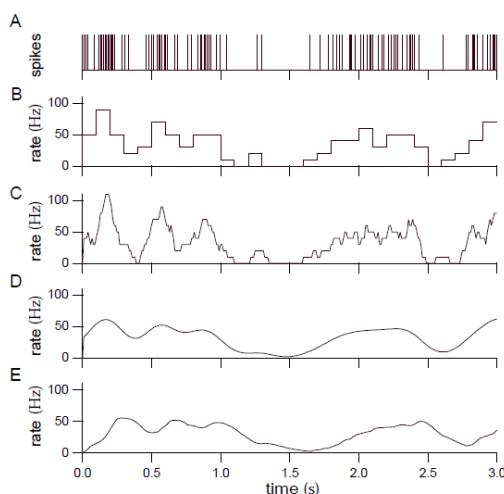


הדמיה של סיגナル רציף (A) וה-spike train שחולץ ממנו (B).

להלן תיאור קצר של שני סוגי אנליזות בסיסיות אשר תדרשו למש בדוח המעבדה.

קצב ירי

אחד התפקידים הרווחות בנווגע לקידוד העצבי גורסת כי המידע מוקוד על ידי קצב פוטנציאלי הפעולה של תא העצב. לפי תאוריה זו, הנירון מוסת את קצב הירוי שלו בתגובה לגירויים שונים ובתלות בתכונותיהם. את קצב הירוי ניתן לחשב וליצג בדרכים שונות, בהתאם לגורמים שונים כגון רזולוציה בזמן, התהשבות בהיסטוריה הירוי וכו'.



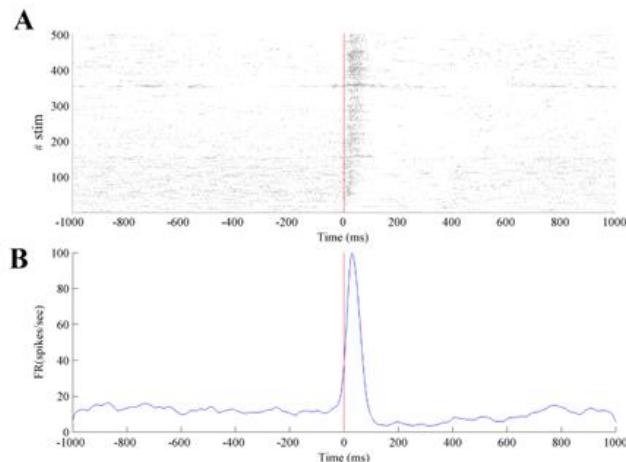
דוגמא **לקצבי ירי שהושבו בדרכים שונות**. **A**- Spike train. **B**- קצב ירי שהושב על ידי חלוקה לבינים (bins) בחלונות זמן לא חופפים בגודל 100ms. **C**- קצב ירי שהושב על ידי קונבולוציה עם חלון מרובע. **D**- קצב ירי שהושב על ידי קונבולוציה עם חלון גאוסיאני. **E**- קצב ירי שהושב על ידי Konvoluzija עם חלון גאוסיאני. מתוך הספר: *a function* function. *Neuroscience*, Dayan and Abbott, 2000

במקרה זה נדרש לחשב את קצב הירוי בחלונות זמן שאיןם חופפים (בדומה לדוגמא B). בשיטה זו מחלקים את החלון הזמן לבינים שוים בגודלם ומחשבים את קצב הירוי עבור כל בין. חישוב קצב הירוי נעשה על ידי סכימת מספר הספיעיקים שנרו בכל בין וחלוקת בגודלו של הבין. התוצאה מתΚבלת ביחידות של spikes/sec, אשר רזולוציות הזמן והתדר משתנות לפי גודל הבין הנבחר: ככל שהבין גדול יותר - הרזולוציה בתדר משתפרת על חישוב הרזולוציה בזמן. עבור בין קטנים עד כדי מילישניות בודדות - נקבל קירוב ל-spike train כולם מידע על האם היה או לא היה ספיעיק בזמן בין נתון. עבור ביןים גדולים (עד כדי אורך הרישום) - נקבל החלוקת ומיינוע של קצב הירוי. על כן מומלץ למצוא גודל בין שיספק את התופעה המתנהגותית שאותה מנסים לכמת.

Peri-Stimulus Time Histogram (PSTH)

על מנת לכמת את הקשר בין גירויים היוצרים או התנהגות שחזרה על עצמה לבין הפעולות הנירונאלית, דהיינו תגובה תא העצב לגירוי/פעולה כלשהו, ניתן למצוות את קצב הירוי 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 מערכיים בינהירים כך ש-0 מסמל bin שבו לא נורה פוטנציאלי פעולה ו-1 מסמל bin בו נורה פוטנציאלי פעולה. על מנת ליצור את ה-

PSTH יש לסקום את עמודות המטריצה ולנורמל ע"י חלוקה במספר הגירויים. כך מקבלים את התגובה הממוצעת לגירוי (ביחיות של counts/bin, אשר ניתן לבצע נורמולים שונים להסתברות, קצב ירי וכו' על ידי הכפלת או חילוק של התוצאה המתתקבלת).



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

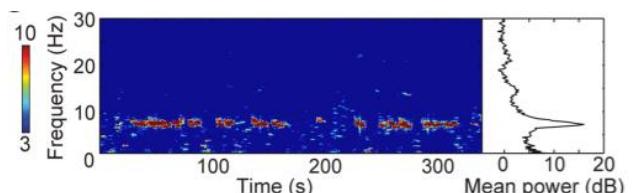
אנליזה ספקטרלית של LFP

אנליזה זו נועדה לכמת את הקשר בין תדרים נצפים בסיגנל ה-LFP להtanagoות החיה. סיגnal ה-LFP יכול להיות מוגזם בזמן (מתוך כתלות בזמן), או מרחב התדר, בו הסיגnal המקורי מותמר לסקום של פונקציות סינוסואידליות. תהליכי התמרה מכיל תדר ופואה לכל פונקציה סינוסואידלית, וההצגה של הסיגnal בזמן או בתדר הן שקולות. ניתן לעבור בין הייצוגים על ידי התמרה פוריה.

הצגה של כל תכולת התדר של סיגnal נקראת ספקטרום, spectrum, והוא בדר"כ מוצגת כചיציר העוצמה (האמפליטודה) ביחסות של $10 \log_{10}(power)$ (dB) מול ציר התדר (Hz).

הצגה של תכולת התדר של סיגnal לאורך זמן מכונה ספקטרוגרמה, spectrogram, והינה תצוגה דו מימדית של סיגnal בו העוצמה בכל תדרות (ציר ה-Y) מוצגת על ידי צבע לאורך זמן (ציר X). גם כאן נהוג להציג את העוצמה ביחסות של dB.

דוגמא לספקטרום (ימין) ולספקטרוגרפיה (שמאלו). הספקטרוגרפיה מראה פעילות למקוטען בתדר 7Hz, הספקטרום מימין שקשול לסכימה בזמן של הספקטרוגרפיה מציג אף הוא פיק 7Hz.



שיטת

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.

Recording system

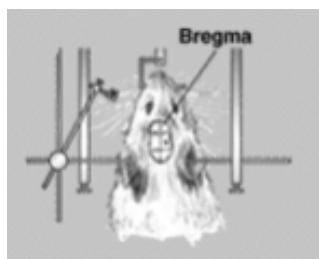


Recording computer

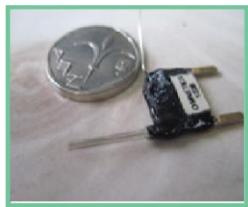
Setup: מערך האלקטרודות המושתל ב-Dorsal striatum של החולדה חובר למערכת הרישום, שתרשום את הסיגנל החוזר תא ותעביר את המידע למחשב הרישום. הנתונים במעבדה זו מגיעים למערכת רישום חוטית כך שמערך האלקטרודות מחובר בכל מהראש של החולדה אל מערכת הרישום בצורה שמאפשרת לה לנוע באופן חופשי בתוך הכלוב.

חיות: במעבדה זו נשתמש בנתוניים מהחולדה מזן Long-Evans ממין זכר במשקל של כ-500 גרם.

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



הדגמה של קיבוע ראש החולדה בזמן הניתוח, ומקוםו של תפר העצמות הקדמי, ברגמה, המשמש כנקודות ייחוס ל定位 העיריך את מקום האזורים במוח בהם רוצחים להשתיל את מערך אלקטרודות הרישום.



אלקטרודות הרישום: מערכ האלקטרודות מורכב ממערך של 16 חוטי מתכת מצופים (חוטים רק בקצוותיהם) שמצידם האחד מוחדרים למוח ומצידם השני מולחים לקונקטור המאפשר חיבור למערכת הרישום.

רישום חוץ תא: הסיגナル החוץ תא נרשם על ידי מערכת רישום מסווג אומניפלקס של החברה Plexon Inc. המערכת דוגמת את הסיגナル החוץ תא בתדר של 40,000 40,000 דגימות בשניה. הרישום מתבצע מ-16 העורצים במקביל. עורצים ספציפיים נבחרו על ידי המדריך להמשך עיבוד.

אנליזה: האנליה הראשונית תבוצע בתוכנת offline sorter. מהתוכנה יתקבלו קבצי NEX אותם נמיר ל- matlab\python ותוגשנה בהםים הסיגナル הגולמי, זמני הספינקים וצורות הגל. האנליהות הנוספות יבוצעו בתוכנת matlab\python ותוגשנה לבדיקה כמפורט בהוראות לכתיבת הדוח.

העשרה – אלקטרודות הדור החדש:

אלקטרודות דור חדש neuropixels מהוות דור חדש של אלקטרודות רישום, שפותחו במיוחד למחקר מוח מתקדמים, ומיציאות אופציית רישום שונה.

1. **מערך רב-עור齊י מתקדם:** בניגוד ל-16\32 עורצים של רישום פר אלקטרודה, אלקטרודות Neuropixels מכילה עד 960 עורצים (עמ 384 עורצים פעילים בו-זמנית), המאפשרים CISCO מרחבוי רחב יותר ורזהולציה גבוהה יותר של רישום פר אלקטרודה (אפשרי ההדרה מרובה של אלקטרודות רישום).

2. **מבנה טכנולוגי מתקדם:** ה Neuropixels – היא שבב סיליקון دق המצופה באלקטרודות זעירות המטודדות לאורך השבב. המבנה המינימלייטי והקשיח מאפשר רישום מדויק מאזורים עמוקים ושטחים במוח בו-זמנית.

3. **רזולוציה מרחבית גבוהה:** היכולת לרשות בו זמנית מאות עורצים מספקת מידע עשיר על הפעולות העצביות באזורי מוח שונים, כולל דפוסים מרחביים של פעילות עצבית.

4. **תאימות למערכות מתקדמות:** ה Neuropixels – מותאמת לשילוב עם מערכות הדמיה מתקדמות (כמו מיקרוסקופיה של סידן), ומאפשרות שילוב נתונים רב-מדדי על פעילות עצפית.

מאפיין	אלקטרודה רישום פשוטה	Neuropixels
מספר עורצים	עד 960 עורצים – 384 פעילים.	עד 16 או 32 עורצים לכל אלקטרודה.
רזולוציה מרחבית	גבוהה מאוד	מוגבלת
חומר מבנה	שבב סיליקון מתקדם	חותמי מתכת מצופים
aicotas סיגナル	יציבות ביונונית	יציבות גבוהה
קלות שימוש	קשה להטמעה	קל להטמעה
התאמה לניסויים בהירה מתנהגת	אפשרי בחיות מקובעות ונעות	אפשרי בחיות מוקובעות ונעות
רישום כרוני	אקווטי וכרוני – הסיגナル דועך עם הזמן	כרוני – הסיגナル יציב לאורך זמן
עלות	גובהה	נמוכה יחסית