

シリーズ「データ処理法技術講座」

パソコンを使ったデータ処理

—データ取り込みから論文用原図作成まで—

(pClamp・AxoData 編)

蓮 尾 博・鶴 崎 政 志

(久留米大学医学部生理学第2講座)

はじめに

インターネットを始めとして、広く一般にもコンピュータの利用が当たり前と言った時代になってきましたが、我々の研究の分野でもデジタル化の波は例外ではないようです。データの取り込みや解析については、以前からコンピュータを使われてきた先生方も多いかと思いますが、このようなコンピュータの利用形態は、それぞれの研究で特異な利用方法であるといえますが、今回はこう言った個々の研究に特異なコンピュータの利用法ではなく、比較的一般的な利用方法、言い換えるとデータのデジタル化から論文用の図版を作成するまでの過程を私共の教室の例を参考に、DOS/V (担当：蓮尾)、Mac (担当：鶴崎) に分けて説明していきたいと思います。使用するソフトウェアに関しては、一部そのソフトウェア特有の部分がありますが、同様の使い慣れたソフトウェアと読み換えて頂いてかまわないと思います。また、今回の内容に関しては、久留米大学医学部第2生理のホームページ (<http://www.med.kurume-u.ac.jp/med> より第2生理を選択) でもご覧頂けるように準備いたしましたので、ご利用下さい。

掲載項目

A) DOS/V 編

- 1) システム構成の一例
- 2) データの取り込み
- 3) 取り込みデータの解析
- 4) 解析後の生データの図をつくる
 - 4 A) 計測したデータを用いる場合
 - 4 B) 波形データそのものを用いる場合

4 B-1) スキャナを使って読み込む場合

4 B-2) バイナリーデータを直接読み込む場合

5) いくつかの図表や生データの波形をレイアウトした図をつくる

6) 補 遺

B) Macintosh 編

- 1) システム構成の一例
- 2) 全体の処理の流れ
- 3) AxoData によるデータの取り込み
 - LabBench の設定
 - プロトコールの設定
 - 設定の確認
- 4) AxoGraph によるデータの解析
- 5) SigmaPlot を使ったグラフ作成
 - AxoGraph から SigmaPlot へ
- 6) チャート紙に記録されたデータのデジタル化
 - チャート紙からの スキャンニング
- 7) CANVAS でのレイアウト作業
 - AxoGraph の波形データから CANVAS へ
 - スキャン画像から CANVAS へ
 - SigmaPlot のグラフから CANVAS へ

A) DOS/V 編

OS (Operating System：基本ソフト) として MS-DOS (PC-DOS もほとんど同じ) および Windows 3.1 または Windows 95 を用いる (いずれも Microsoft 社) ののが標準的である。これらの OS には英語版と日本語版があるが、データ取得ソフトの多くが英語版で動くように作られているため、できれば英語の OS と英語のアプリケーションの組み合わせがベストであると思われる。しかしながら、日本語版のシステム

で英語のアプリケーションを動かす場合も可能である。とくに最近のコンピュータは OS をはじめからインストールしてある場合が多く、筆者の場合も日本語のシステム (DOS/V や Windows 95) 上で英語のプログラムソフトを動かすことも少なくない。一般に Windows 版のアプリケーションは使い易いという評判であるが、それは DOS 版と比べたときの話しであって、決してすぐに使えるものではない。いろいろ使って慣れることが大切である。アプリケーションは DOS 版のソフトと Windows 版のソフトに大別されるが、以前から使われているのは DOS 版のソフトである。DOS は歴史のある OS だけに動作は安定しているものの、ユーザーインターフェースが貧弱である点は否めない。データの解析、図表の作成はやはり、Windows 版のソフトがその使い易さという点で優れているので、現時点では、データの取得は DOS 版のソフトで行い、図表は Windows 版のソフトで行っている。アプリケーションによってはデータの取り込みから図のレイアウトまでができるというものが存在はするが、それぞれの機能の制限が多く、なかなかすべてに満足できるというものは存在しない。したがって、これらの作業を別々のアプリケーションを用いて行うことになる。最近の Axon 社の話では、近いうちにデータ取得に用いる Clampex の Windows 95 版が発売されるということで、そうするとデータの取り込みから図の作成まですべてが Windows 版のソフトで処理できるようになり便利となる。データ処理は前述の掲載項目の順序で説明を進めていく。言うまでもないことだが、ここで取り上げたアプリケーションは、ほんの一部であり、またそれぞれの機能も一部しか説明していない。詳しくはそれぞれのアプリケーションの解説書を参照のこと。

1) システム構成の一例

今回の解説例におけるシステムの構成は以下のようになっている。

[ハードウェア]

- CPU : Gateway 2000 P 5-120
- RAM : 16 MB HDD : 1 GB
- OS : MS-DOS Ver. 6.2 と Windows 3.1
- 17 インチカラーモニター
- データ取得システム : Digidata 1200
- スキャナ : HP ScanJet 4c
- プリンター : EPSON LP-1600

電気生理学のための機器は Macintosh の場合と同じなので省略

[ソフトウェア]

- pClamp 6 (ver. 6.02) : DOS 上で走るデータ取得、解析ソフト。Clampex, Fetchex, Clampfit, Fetchan, pStat などからなる。
- Excel (ver. 5) : 表計算ソフト
- Sigmaplot (ver. 1.02) : グラフ作成ソフト
- Origin (ver. 4.0) : データ解析からグラフィックまで幅広い機能を持つソフト
- Photopaint (ver. 5) : ビットマップデータを編集するためのソフト
- PowerPoint (ver. 4) : プレゼンテーションソフト

2) データの取り込み

データの取り込みのアプリケーションとしては IBM-PC/AT 互換機用 (以下 PC と略す) の場合 Axon 社の pClamp, CED 社の Spike など数多く存在する。日本光電からは、PC-98 シリーズ (NEC 社) 用のデータ収録用インターフェイス・データ収集・処理ソフトも存在する。筆者の場合 Axon 社の pClamp システムを用いているので、これに基づいて話をすすめる。ほかのアプリケーションを用いた場合でも、基本的な作業の流れは同じであろう。

pClamp システムの場合現在のバージョンは 6.03 になっているが、以前の 5.5 までとはだいぶ変わったものになっている。バージョン 6 になってから、Clampex の場合、1 回に取り込めるサンプルデータポイント数が最大で 4096 から最大 16384 まで増えているし、データの解析ソフトも Clampex が廃止になり Clampfit も大幅に改良されているので、バージョンアップをさ

れることをお勧めする。またユーザーズマニュアルも随分分厚くなっている。その分以前より使い方が分かり易くなっているが、はじめて使う人にはまだ問題がある。できれば、なにか応用例をチュートリアルで示してあればいいのだが。

pClamp 6 の場合のデータの取り込みは、神経刺激で記録されるシナプス後電位のような誘発現象は Clampex を用い、自発性後電位のような比較的長時間連続して記録する必要がある場合には Fetchex を用いる。データの取り込み終了後ハードディスク等に保存(save)されたデータファイルを読み出して解析する(オフライン処理)。このときはそれぞれ、Clampfit, Fetchan というプログラムが用意されている。連続したデータの取り込みでない場合は、データ取得時の待ち時間にデータの解析を行うことも可能である(オンライン処理)。この場合、解析結果のみを保存するのであればかなりのメモリーを節約できるし、実験の進行中に変化をとらえやすいので便利であるが、この機能は Clampex では持っておらず、他のオンライン処理をサポートしたアプリケーションを使うか、又は AxoBasic (Axon 社) のようなプログラム言語を用いて自作する必要がある。AxoBasic はひとつのコマンドでかなりまとまった機能を持っているものだが、それでも自分でいろいろなコマンドを組み合わせ、ある計測を行うことになり、かなりのコンピュータの知識と忍耐を必要とする。こういった事ができる人は今回の記事の対象外であろう。

pClamp システムの使い方としては、1つの実験セットに1つのシステムを置いて、pClamp システムを電流コマンドなどの刺激発生装置として用いてデータを取り込み、あとでデータの解析を行うという方法に適したように作られている。pClamp システムを使うためには、コマンド波形の作成のしかた、データ取り込みのときの種々のパラメーターの設定、データの保存、プリンターその他への出力方法などを最低限知る必要がある。上達してくると、設

定したコマンドの自動的実行(マクロ機能)を利用することで、いろいろな作業の自動化が可能になるだろう。

3) 取り込みデータの解析

実験終了後、Clampex 等で取得・保存されたデータファイルを Clampfit 等で再び開いて (File OpenData) して解析を行う。Clampfit を用いる場合の最初の注意点を簡単に述べておく。Clampfit をインストールしたら、メインメニューの configure を選び、plotter の選択をしておく。もちろん plotter だけでなくレーザープリンターも使用できるし、このほうがずっと速い。Clampfit は一度に1チャンネルのデータを読み込んで処理するようにできている。どのチャンネルを読み込むかは、メインメニューの File Setting で ANALOG IN channel の項目で決定されている。

Clampfit では回帰曲線 (Curve fitting), 2次元座標軸プロット (X-Y plot), 種々の解析・変換 (Analyze) など豊富な機能が用意されている。例えば、Analyze Statistics には Basic, Resistance, Spike というまとまった解析ソフトが入っている。それぞれ、種々のパラメーターを瞬時に測定してくれるものであるが、適用の条件その他を理解した上で使わないと問題である。波形データにおける任意の部位の振幅、時間を測定するにはカーサーによる測定が用意されている。測定結果は Analyze Measure Write Cursors でファイルに書き込む。これは Analyze Measure Close が押されるまで、Write Cursors を行うごとにそのデータは追加されていく。カーサーによる測定ではカーサーのある位置のデータポイント1点のデータ値だけを返すものである。ノイズを無視できないデータ波形では、測定の前に、Analyze Force や Analyze Lowpass コマンドを用いて、smoothing をしたのち測定する方法もある(図1)。

これらの一連の作業をくり返し行い、多数のデータを測定することも多いと思われるが、そのときにはマクロ機能を利用すると便利であ

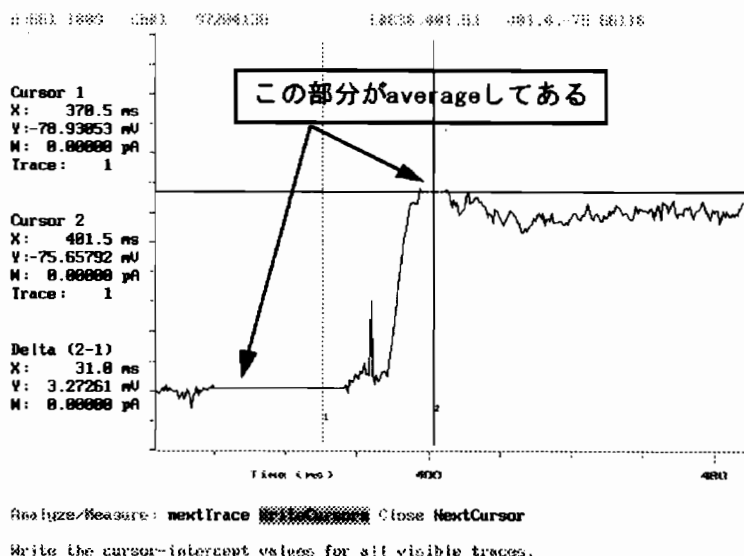


図1. Clampfit を用いて、振幅を計測しているところ。矢印で示される部分は Analyze Force コマンドを用いて average してある。

る。ここで save したファイルはテキスト形式で保存されているので、簡単に他のアプリケーション(たとえば表計算ソフトなど)で利用できる。

4) 解析後の生データの図をつくる

4 A) 計測したデータを用いる場合:

Clampfit では、解析データ(例えば活動電位の振幅、立ち上がり速度、持続時間など)を保存することができ、ここで保存されたファイルは表計算ソフトなどの他のアプリケーションで利用できる。また Clampex で取得したデータ間の演算(例えば、リーク電流の引き算など)が簡単にできるほか、電流-電圧関係のグラフも作ることができる。とくに Ver. 6 からは10個までのプロットを同時表示やデータの保存ができるようになってきている。また種々の回帰曲線機能も用意されている。しかしながら、プリンター(またはプロッター)で出力したグラフは、論文投稿には耐えられない。そこで、他のアプリケーション(グラフ作成ソフト)に解析データを転送して、グラフを作り直す必要がある。グラフ作成ソフトには、Sigmaplot (SPSS 社)や Prism (GraphPad 社)などがある。

X-Y グラフを例にとり説明する。Clampfit で X-Y グラフを画面に表示させた状態で、Export Ascii コマンドを実行すると、自動的にファイル名と拡張子を付けて ASCII テキスト形式で保存できる。このとき、このファイルを保存するドライブ名、ディレクトリ名を間違えないように覚えていないとあとでそのファイルを探さないといけなくなる。また Export するデータの種類により拡張子が異なるので、これも注意が必要である。同時に複数のグラフ表示した(X-Y graph multi)データの場合の拡張子は XYM、計測結果表示画面(Results array)のデータの場合は RSn(n は数字)という具合である(詳細については、ユーザーズガイド15章の file formats and naming conventions を参照のこと)。

次にグラフ作成ソフト(Sigmaplot, Prism や Originなど)を立ちあげて、そのデータワークシートに先ほど保存していたファイルのデータを読み込むわけである。グラフ作成ソフトや表計算ソフト(Lotus1-2-3 や Microsoft Excel)には他のアプリケーションのデータを取り込む機能が用意してある。Sigmaplot では Import(図2)というのがそれであるし、Excel ではファ

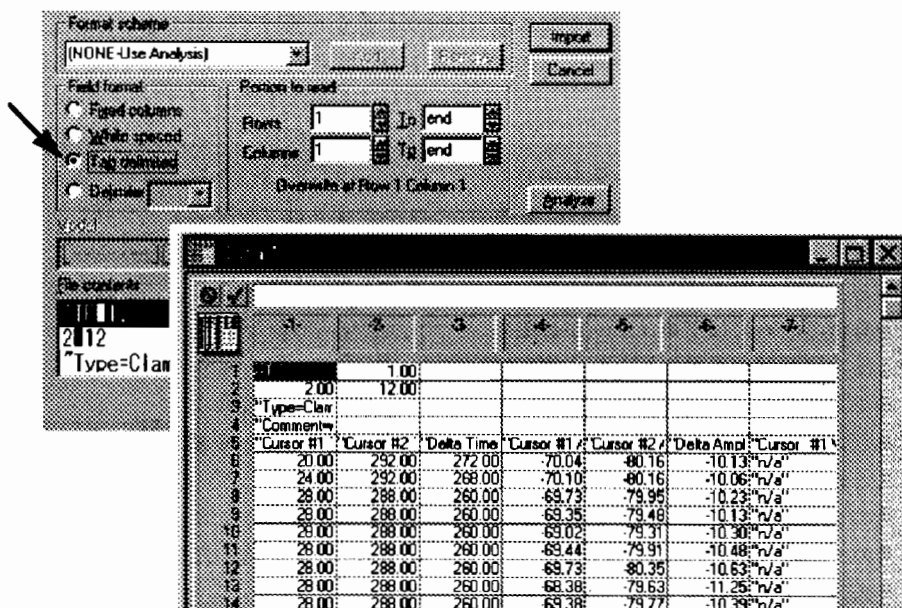


図2. Sigmaplot に Clampfit で計測したデータを読み込んでいるところ。矢印はタブ区切りを選んでいるところを示す。

イルのオープンを行う。このとき注意が必要なのは、データ解析ソフトからの出力ファイルがどのような形式で保存されているかということで、これが Import のとき影響してくる。ここではファイルの種類は plain text を選んでおく。実際にこのコマンドを実行してみるとすぐにわかることだが、Import するデータの区切りが何であるかを指定しないと正しくデータが取り込まれない。Clampfit の ASCII テキストファイルの場合は Tab 区切りを選ぶといいようである。計測データポイント数が少ないうちは手で入力しなおしても大差ないが、数が多くなるとこの方法によるデータの転送は非常に役に立つ。このあとグラフ作成ソフトを使って図をつくることになるがここでは省略する。

4 B) 波形データそのものを用いる場合

いままでは計測したデータを別のアプリケーションに転送する方法を説明してきたが、今度は、波形データの転送に関する方法を述べる。データ取得ソフトで取得したデータは通常バイナリーファイルとして保存される。このファイ

ルはコンパクトであるが、他の表計算ソフトなどで直接データを読み込むことができない。

データを転送するときの1つの方法としては、Clampfit の Export Ascii コマンドを使って波形データを ASCII テキストファイル形式で保存してそれを他のアプリケーションで読み込むという方法がある。問題はそのとき ASCII テキストファイルの大きさが、大きくなるという点である(バイナリーデータの約8倍)。この点が特に問題にならないのであれば、このデータをグラフ作成ソフト(例えば Sigmaplot)で読み込み、グラフ表示機能を利用して、波形データを任意の大きさにレイアウトし、ラベルも入れて表示させることができる。一度他のソフトでデータを取り込んだあとは、データ転送に使ったファイルをとときき削除しないと、ハードディスクの容量を圧迫することになる。

その他の方法としては、一度プリンターに波形として出力して、そのあとスキャナーを用いて画像データとして取り込む方法やバイナリーファイル形式をサポートしているソフトでこれを読み取り処理する方法である。pClamp の場

合、データファイル(拡張子は“dat”)を読み取るソフトとして、pClamp module を組み込んだ Origin 等がある。

4 B-1) スキャナ使って読み込む場合：

Clampfit の Export のサブメニューにある Plot を用いて、プリンターまたはプロッターに出力できる。以前は質のよい、またカラーを用いた出力を得るためにはプロッターが必要であったが、出力に時間がかかるし、レーザープリンター等で出力するほうが現在では主流である。1 ページに含める波形の数は 1, 2, 4, 6 等選ぶことができる。また波形データ、X-Y 軸、その他のラベルなどの線の太さを変えることができるので、適当な太さを設定しておく、次回からその設定が使われる。どの程度の太さにしておけばよいかというのは最終的な図の大きさを考えて決める必要がある。

プリンターで出力した図をスキャナで取り込み、フォトレタッチソフトで不要な部分を取り除いて保存しておく。このとき軸を消す前に直線描画ツールなどを用いて、キャリブレーションバーを入れておくことが大切。スキャナに取り込むとき、その解像度を決める必要があるが、これに関することとして、CPU の処理速度、メモリー、プリンターの解像度などが挙げられる。一般的な設定としては、モノクロで 300 dpi、カラーで 150 dpi といったところが、現在の多くの人の妥協点であろう。細い線を忠実に表現したい時や、あとで拡大する予定がある場合は 600 dpi 程度で取り込む必要性もある。カラーの場合普通のインクジェットプリンターでは例え 360 dpi とか 720 dpi の解像度といっても取り込みはせいぜい 200 dpi で遜色はない。ただしこの解像度で文字を入れるとどうしても文字のギザギザが目立つので、他のレイアウト用ソフトにカラーの図を取り込んで、このなかで文字を入れるとよい。この場合、文字情報と図の情報を加えるだけなので、文字の印刷時の質を高くしても、ファイル全体の大きさは小さく保つことができる。レイアウト用ソ

フトを立ちあげて、いままで保存していたビットマップの図、グラフなどをページに貼り込んでいく。PC 用のレイアウト用ソフトとしては、PowerPoint (Microsoft 社) とか Harvard Graphics (SPC 社) などがある。これらのアプリケーションはプレゼンテーション用ソフトともよばれ、口演のスライドをつくったりポスターの図を作ったりするときにも利用できる。

4 B-2) バイナリーデータを直接読み込む場合：

pClamp module を組み込んだ Origin (Microcal 社) などを使って pClamp のデータを読み込み図を作る場合がこれにあたる。方法としては、pClamp で取り込んだデータファイル(拡張子は“dat”)でバイナリー形式で保存してある)を Origin のワークシートに直接読み込み処理するものである。この方法で処理すると、波形データが Origin のグラフ機能ではドロー (draw) 形式で扱われるために、後から、線の太さを変えたり、色を変えたり、線の種類を変えたり、波形データの一部を取り除くことができるという利点がある。また波形の縦横の比を変化させても印刷時の画像の劣化が無いという利点がある。Origin はそもそも同時に違った種類のウィンドウを表示するソフトで、ワークシートウィンドウとグラフウィンドウを同時に表示したりすることのできるソフトである。pClamp module とはこのワークシートウィンドウにデータを読み込むための付加機能である。Origin にはワークシート、グラフ、関数など多機能が用意されている。このソフトを購入しての印象としては、Origin そのもののマニュアルは良くできているのであるが、その欠点として pClamp のデータを使い図を作りたいというような特別な目的を持ったユーザーに対する配慮が欠如していることがあげられる。まだ Origin を使用しはじめて経験も浅いので最善の方法かどうかは分からないが、自分で考えた利用方法を少し述べてみる。例としてはコントロールの波形とテスト波形が別々の pClamp の

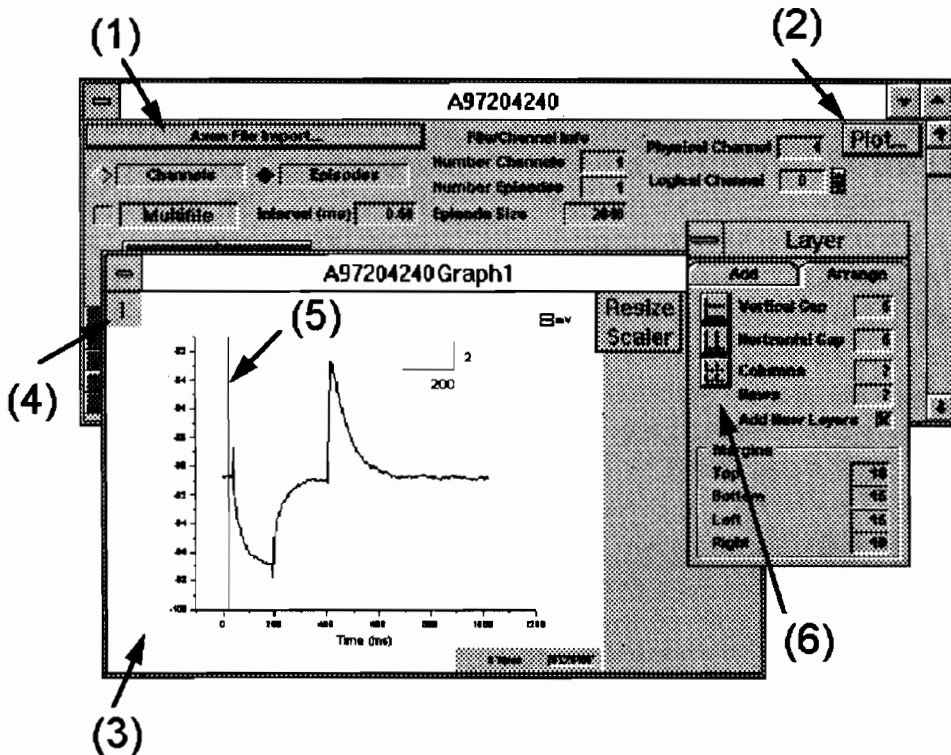


図3. Clampex で取り込んだデータを Origin に読み込んでいるところ。図中の番号については本文中参照のこと。

データファイルとして保存されていて、これを用いて、二つの波形の比較を行う図を作る場合とする。

まず pClamp モジュールの入った Origin を立ち上げ、ワークシートの中にある、axon file import のボタンをクリックしてコントロールの波形データを読み込む(図3の(1))。このとき1チャンネル分しか読み込まないので、注意が必要である。これが一つのデータセットとなり、別の波形を読み込むときには、新しくワークシートを開いてデータを読み込むことになる。それぞれのワークシートの data plot ボタンをクリックすると(図3の(2))、それぞれの波形がグラフウィンドウに示される(図3の(3))。

デフォルト(初期設定)ではグラフウィンドウに一つのデータファイルセットが表示されるが、ここに別のグラフを追加することができる。Tools: Layer: Arrange: Array をつかうとよい(図3の(6))。Origin ではこれをレイヤーの追

加といい、レイヤーの番号ボタンがそのグラフウィンドウにあらわれる(図3の(4))。追加したレイヤーのボタンをダブルクリックして、表示したいデータ名を選び、右向きの矢印ボタンをおして、表示するデータが右のボックスに表示されたのを確認してから OK のボタンを押す。これで二つの波形が一つのページに表示されたわけであるが、注意が必要なのは、それぞれのグラフのY軸がそれぞれ独立して扱われているので、この例のように波形を比較する場合には、Y軸のスケールを同じにしておく必要がある。このためにはY軸をマウスでクリックしてY軸設定用のBOXをあけ、Y軸の表示範囲をマニュアルで入力する。通常の波形図ではX-Yの座標軸を表さないのも非表示にしておく。data plot のウィンドウではX軸の計測のためのカーソルが入っているが(図3の(5))、これも図を作るときには邪魔になるので、消す必要があるが、これは単にマウスで選択し

て、delete key を押しただけでは消えない。Edit: Button Edit mode にしてから同様のことを行くと、消去できる。これで一応図はできたことになるが、このような表示の設定を毎回くりかえすのはつまらないので、これをテンプレートとして保存しておくといよい。このときのファイル名をデフォルトのまましておく、次回に data plot を行ったときに、テンプレートが自動的に使われるので便利である。

あとはできたグラフウィンドウをアクティブにして、copy page を行い、別のドロー系のアプリケーションのページ画面にこれをペーストして処理することになる。筆者はこの目的にプレゼンテーションソフトである PowerPoint (Microsoft 社) を用いている。スライドにペーストした後、Draw (図形) メニューの下にあるグループ解除 (Ungroup) を用いて PowerPoint の形式の Draw データとして比較的自由に図形の処理ができるためである。このあとの図の作り方は基本的に Mac の場合と同じであるので省略する。要は各コンポーネントのグループ化 (Group) とグループ解除 (Ungroup) をうまく使い分けてキャリブレーションが狂わないようにして作業することである。

5) いくつかの図表や生データの波形をレイアウトした図をつくる

学会発表や論文投稿のときに必要になる作業である。これはレイアウトソフトやプレゼンテーションソフトを用いて行うことができる。いままでに述べてきたグラフ作成ソフトの図やフォトレタッチソフトの図、Origin のようなアプリケーションで作られた図をひとつの画面に埋めこんで1つの原図をつくる。このようにしてできた複数の原図をそれぞれを組み合わせで最終的なまとまった図を作ることになる。このようにしてできた図はプレゼンテーションソフトや画像データベースソフトなどを利用して、整理しておく将来の利用が楽になるはずである。

6) 補 遺

pClamp 6 に必要なハードウェアと OS:
80386 DX 以降の CPU を持つ IBM-PC/AT 互換機 (SX は数値演算コプロセッサを持たないので増設する必要あり)、TL-1/Lab Master DMA や Digidata 1200 データ取得システムおよび MS-DOS Ver. 3.3 以降が必要である。最近の Windows 用コンピュータは Pentium を CPU に持つことが多いが、もちろんこれを用いることができる。ただし Axon 社によると Clampex は Windows 内の DOS モードで走らせることは可能であるが、データの取り込みが正確に行われなくなることから薦められないとのこと。Windows 95 で用いるときはスタートメニューで “Windows を終了して DOS モードで再起動する” を選んで Windows 環境を離れた DOS モードにして Clampex を使う必要がある。現在 Windows 95 版の pClamp が開発中であるが、これを用いるためには Digidata 1200 で Windows に対応したボードを持つものが必要である。

アプリケーション・ソフトウェア: ワードプロセッサ、表計算ソフト、通信プログラムなど特定の目的につかうソフトウェア (略してアプリケーション) のことをいう。

基本ソフト (Operating System : OS): いろいろのアプリケーションソフトを動かすために必要な基本となるソフト。ハードウェアとアプリケーションソフトの仲介役をするソフトで、アプリケーションソフトと異なり、コンピュータを制御したり、ソフトウェアとデータの流れ、入出力、表示を管理するもので、アプリケーションの実行の前に必要なもの。

OS として MS-DOS (PC-DOS もほとんど同じ) および Windows 3.1 または Windows 95 を用いることが多い。簡単にこれらの OS のことを説明すると、DOS は今から約15年前から普及してきた OS で、CPU (コンピュータの演算回路) の負担が軽く優れた点があるが、ユーザーインターフェースが文字を基本にしており、いろいろのコマンドを覚えないと使いにくかった

りした。その後出てきたのが、Windows システムで、これは GUI (Graphic User Interface) を基本にしており、文字だけでなく図を用いて直感的に機能を選ぶことができる。それに伴いアプリケーションソフト(以後アプリケーションと略す)の作り方もだいぶ変わり、使い易くなっている。問題は Windows システム、特に Windows 95 の場合は CPU に対する負担が重いことである。

DOS/V：IBM 社が開発した日本語 DOS でいままでの日本語 DOS と大きく異なり、日本語表示に特別なハードウェアを必要としない、非常に英語 DOS (MS-DOS や PC-DOS) と互換性の高い OS であり、日本語処理機能を組み込まない場合はほぼ 100% の互換性をもつ。DOS/V は日本語表示等をすべてソフトウェア的に行い、コンピュータそのものが日本語表示用の ROM (はじめから組み込まれている読み出し専用メモリー) を持たなくてもすむようになったし、英語版の DOS との互換性が非常に高く作られている。この機能を利用する場合少し注意が必要である。日本語を表示したり、入力するために必要なデバイス(システムメモリーに常駐する)等を入れるとアプリケーションの使用可能なシステムメモリーが足りなくなるし、いろいろのトラブルのもとになるので、英語のアプリケーションを動かすときには、これらのデバイスを入れずに、コンピュータを立ちあげるとよい。このためには config. sys ファイルを編集する必要がある。DOS の ver. 6 からは標準でメニュー形式で複数の config. sys ファイルを選んで実行することができるようになり、日本語用の config. sys と英語用の config. sys とを使い分けることが容易になった。

ファイル名と拡張子：コンピュータは、情報をファイル単位で管理し、コンピュータの内部では、プログラムやデータなどの個々のまとまりを「ファイル」という単位で呼ぶ。全てのファイルには「ファイル名」が付いていて、MS-DOS 系のファイルは通常次のように 2 つの部分から構成されている。

myfile.ext

「ファイルの名前」と「拡張子」の間は、ピリオド(.)で区切る。拡張子はアプリケーションによってファイルの種類を区別するために用いられるので、原則として変更しないほうがよい。

ディレクトリ(Win 95 や Mac の場合、フォルダー)：すべてのファイルを同じところに保存しておく、目的のファイルを探すのが大変になる。ファイルをグループに分けて、それぞれ違うところに保存しておくとし易くなる。ファイルをグループ分けして保存しておく場所をディレクトリという。

ドライブ：ハードディスク、フロッピーディスク、CD-ROM などの駆動装置と関連して用いられ、A、B などのドライブ名で示す。ディレクトリが複数のファイルのまとまりであるのと同様にドライブは複数のディレクトリのまとまりを指す。

保存 (save)：コンピュータのメモリーにあるデータは電源を切ると一瞬にして消えてしまうので、データその他はファイルとしてハードディスク等に保存しておく。つぎにこれを使用するときは open (開く) する。このような作業のときに裏で活躍するのが基本ソフト(OS)である。

ASCII テキストファイル：米国情報交換標準コードで表された文字ファイルで、ファイルの大きさは大きくなるが、ほとんどどのアプリケーションソフトでも読み込むことができるという利点がある。例えば、数字の「123000」を表すのにそれぞれの文字 1 つずつにこの 1 文字を表すのに必要なメモリー容量を費やす。

バイナリー(binary)ファイル：数字として表すので、基本的に、ある有効桁数を表すのに必要なメモリーで全体を表すことができる。その結果ファイルは小さくてすむ。しかしその反面、これを読むにはそのバイナリーデータに対応した特別なプログラムが必要となる。

dpi：プリンターや画面の解像度を表すときなどに使う単位で、dot/inch の略。これが大き

ければより滑らかな線が表現できるが、それだけ必要なメモリーも増える。

ビットマップ(bitmap) データ：図形を表すのに、点の集まりとして表す方法。画素のデータが独立しているので、簡単に一部を切り取ったりできる反面、大きさを変えると画質が落ちるという欠点がある。スキャナで取り込むときはこの形式で取り込む。

ドロー(draw)データ：図表を表すのに、数式化された線(または面)の集まりとして表す方法。大きさを変えても基本的に画質の劣化はなく、波形データを表すのに適している。

マクロ(macro)機能：マクロとはコンピュータ言語で、あるまとまった機械語の命令語の集まりをいうが、ここではキーボードから入力するコマンドの順序を記録したものという程度。実際にはあるキーに割り当てて(assign)、必要なときそのキーを押すとコマンド群が実行される(マクロの実行)。ある程度コマンドの使い方に慣れてきて、同じコマンドの入力に不自由を感じるようになってから用いるとよい。(蓮尾)

B) Macintosh 編

1) システム構成の一例

今回の解説例におけるシステムの構成は以下のように becoming。

[ハードウェア]

- CPU: Apple PowerPC 8100/100 AV
- RAM: 32 MB HDD: 1.2 GB
- Running system: System 7.5.5 E
- + Japanese Language Kit Ver. 1.2
- 17インチカラーモニタ (SONY Multiscan 17 sfil)

AxoData 用インターフェイスボード

- A/D, D/A コンバーター: ITC-16

* 現在の Mac の PCI バスでは AxoData 用インターフェイスボードが使えない。

- データ保管用外付け MO (230 MB 対応型)
- スキャナ (Epson GT 6500)
- 一般的な電気生理学のための機器
- Axoclamp 2 B (Axon Instruments)

メモリーオシロスコープ (日本光電)

電気刺激装置 (日本光電)

- トリガー用

- 刺激パルス発生用

(Axoclamp 2 B の STEP COMMAND
用及び Focal stimulation 用)

熱ペン式チャートレコーダ (日本光電)

DAT データレコーダ (TEAC)

[ソフトウェア]

- AxoData: データサンプリング用のソフト (Ver. 1.2.2)
- AxoGraph: AxoData で取り込んだデジタルデータを解析するためのソフト (Ver. 3.0)
- CANVAS: ビットマップデータも扱えるドロー系のグラフィックソフト (Ver. 5)
- SigmaPlot: Spread sheet のデータをグラフ化するソフト (Ver. 5)
- Photoshop: ビットマップデータを編集するためのグラフィックソフト (Ver. 4.01)

○接続例

デジタル処理と直接的には関係ないが、こういう機器があればよいかの参考にしていただくと幸いである (図 4)。

接続の概要:

- 細胞からの信号: Axoclamp 2 B でピックアップされた細胞からの信号は、DAT データレコーダ、オシロスコープ、ITC-16 ADC INPUT 端子にそれぞれ平行に入力される。
- トリガー信号: トリガー用電気刺激装置で発生させたトリガー信号は、オシロスコープ、ITC-16 TRIG IN 端子、DAT データレコーダ (後で録音されたデータからサンプリングし直すときに必要)、刺激用パルス発生用電気刺激装置にそれぞれ平行に入力される。
- 刺激用パルス: 電気刺激装置で発生させた Axoclamp 2 B の STEP COMMAND として細胞に与えるものと、AxoData で発生させた ITC-16 の DAC を経て Axoclamp 2 B

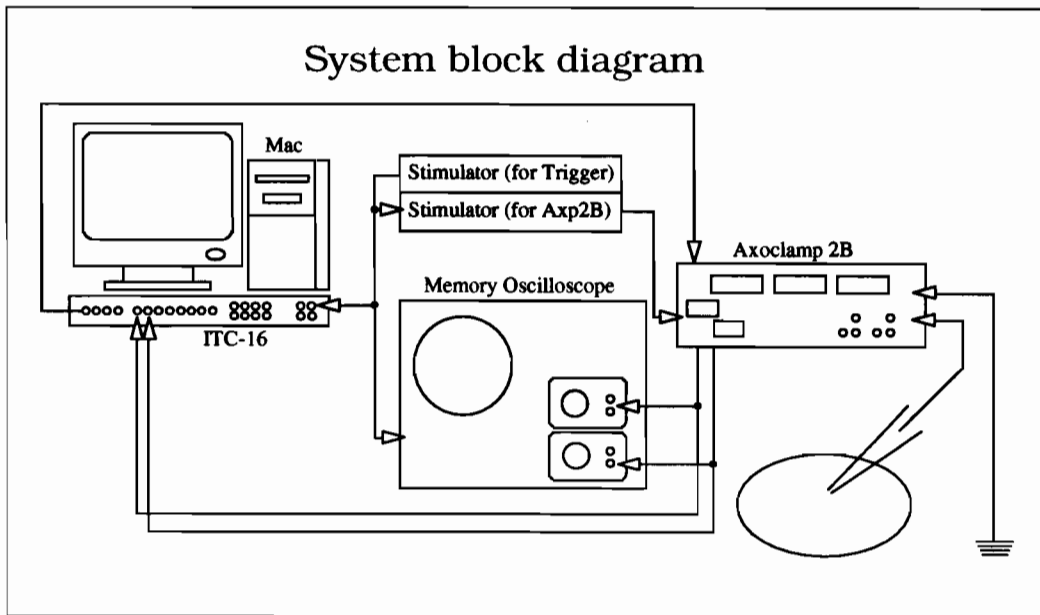


図4.

の外部刺激入力として与えるものの2系統を使う。

2) 全体の処理の流れ

○処理の流れの概要(図5)

[サンプリングされたデータの加工]

1. AxoData で evoked response を適宜サンプリングしてデータファイルとして保存する。
2. (実験が終わったら) AxoGraph で保存してあった AxoData のデータファイルを開き必要な計測を行う。
3. 計測結果はテキストファイルとして保存しておく。
4. 波形データの必要な部分のみを AxoGraph 上で表示しておいて、Copy & Paste で CANVAS の書類に転送する。
5. CANVAS 上で波形データの整頓を行う。
 - ・波形トレースの配置
 - ・キャリブレーションバーの挿入
 - ・文字の挿入
 - ・不要な線(AxoGraph の X, Y 軸の線など)の消去
6. CANVAS の書類を保存し、必要に応じ

てプリントアウトする。

[スキャナで取り込んだデータの加工]

1. 必要なデータ部分よりやや広めにスキャンする。

スキャナによっては、チャート紙のグリッドを取り込まないように設定できるものもあり、この場合、後の作業(次の過程)がかなり軽減される(詳細は Scanning の項を参照)。

2. スキャン画像を保存(ファイルフォーマットは使用する画像ソフトが対応しているもの)し、Photoshop* で開き、画像の不要な部分(グリッドや実験中に書き込んだメモなど)を「消しゴム」ツールなどを使って消去する。

この時、後で CANVAS 上でキャリブレーションを入れるのに必要な、縦・横 1cm の大きさがわかるように、グリッドの一部を残しておく。

*Photoshop でなくても bitmap 画像が扱え

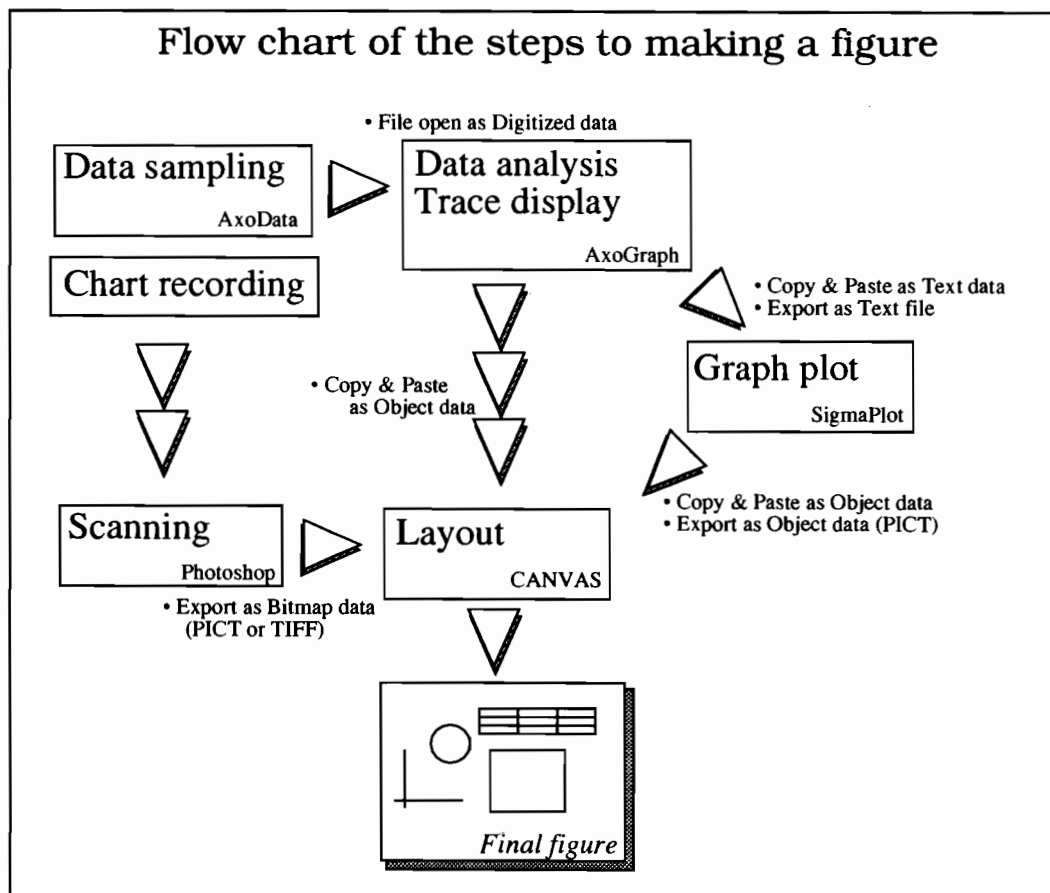


図 5.

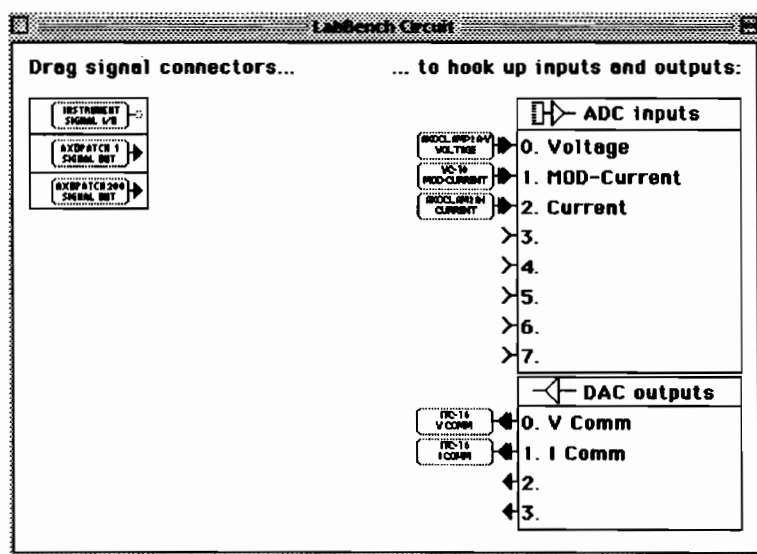


図 6.

るソフトウェアならよい。

3. 編集した画像を PICT または TIFF フォーマットで保存する。
4. 保存した画像ファイルを CANVAS で開

き、キャリブレーションや文字など必要なものをレイアウトする。複数の画像を1ページに配するときには、この段階でレイアウトを仕上げる。

5. 編集が完成したらまずファイルを保存し、その後必要に応じてプリントアウトする。

それでは、これから個々のプロセスの詳しい説明に移る。

3) AxoData によるデータの取り込み [LabBench の設定]

LabBench とは AxoData システムに於ける入出力のポートを決めるもので、以下のような GUI による設定を行う(図6)。

- ・必要なチャンネル数だけの ADC (Analogue-Digital Converter), DAC (Digital-Analogue Converter) の設定をする。

まず Gain の設定を行い、offset の設定は

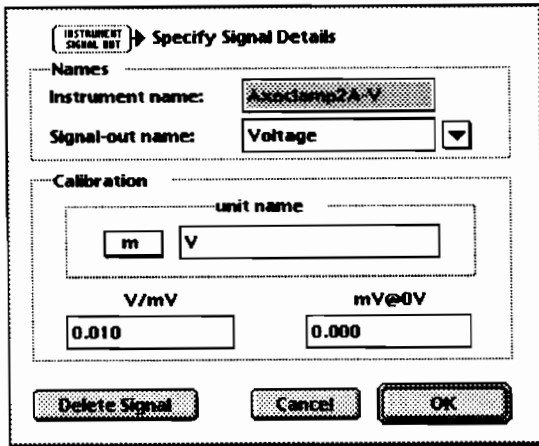


図 7.

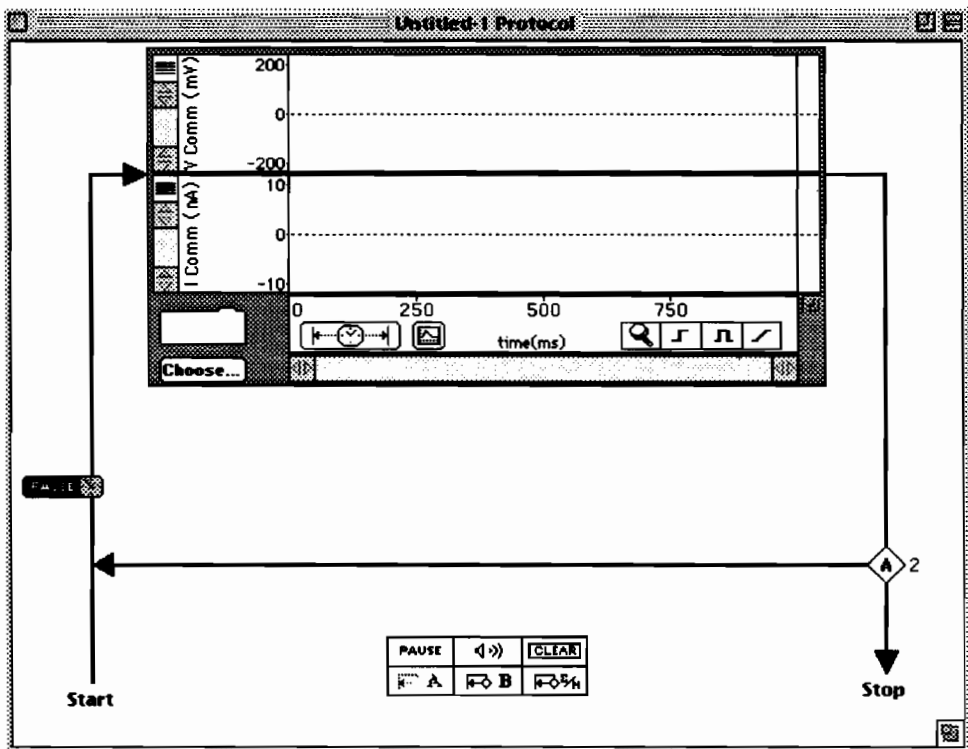


図 8.

実際に cell model を使ってサンプリングしながら調整する(図7)。

*Gain値は接続する実験機器により異なる

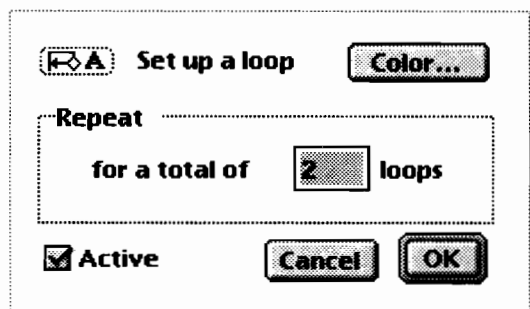


図9.

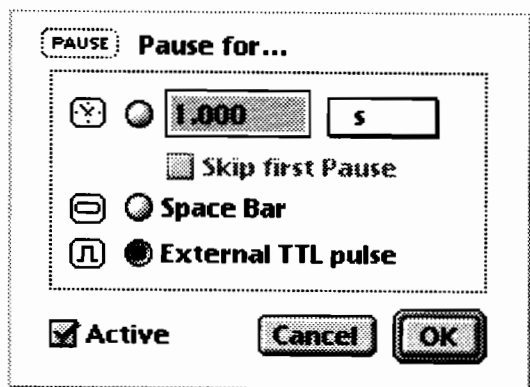


図10.

• DAC は AxoData から刺激を与えない場合も、最低1チャンネル分設定しておく。

(設定しないとモニタの表示がおかしくなることがある)。

• 設定値の確認は次のプロトコルの設定が終わってから、実際に cell model を使ってサンプリングを行い確認する。

* LabBench のチャンネル数を後から増やすと、それまでのプロトコルファイルを使用する場合、プロトコルを修正しなくてはならないので注意すること。

[プロトコルの設定]

• ここでは実際のサンプリングの条件を設定する(図8)。

1. まず、1 trial に何回のサンプリングを行うのかを設定する(Loop の回数)(図9)。

* 1 回のループで取り込まれた波形をトレースと呼ぶ。

* 1 回の RUN (data file) には複数の trial を記録することができる(Loop B を利用)。

2. 次に各ループの開始をどのタイミングで行うのかを設定する(図10)。

通常は外部トリガー信号(TTL)を利用する。

3. 1 回のサンプリング時間の設定を行う。サンプリング周波数又は interval time の

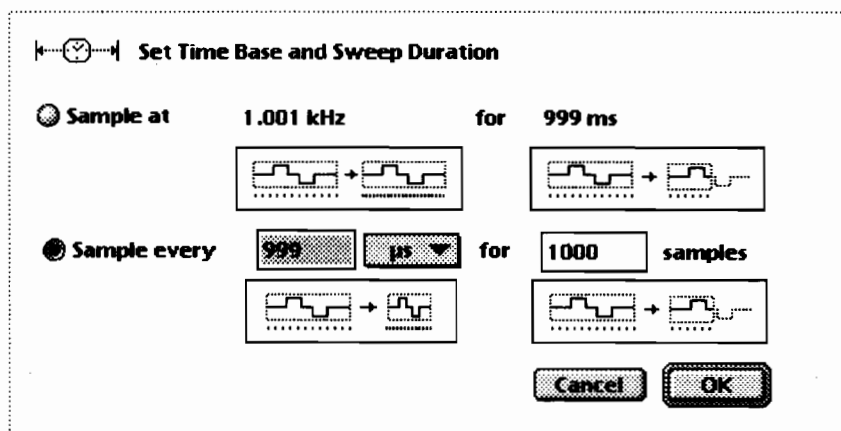


図11.

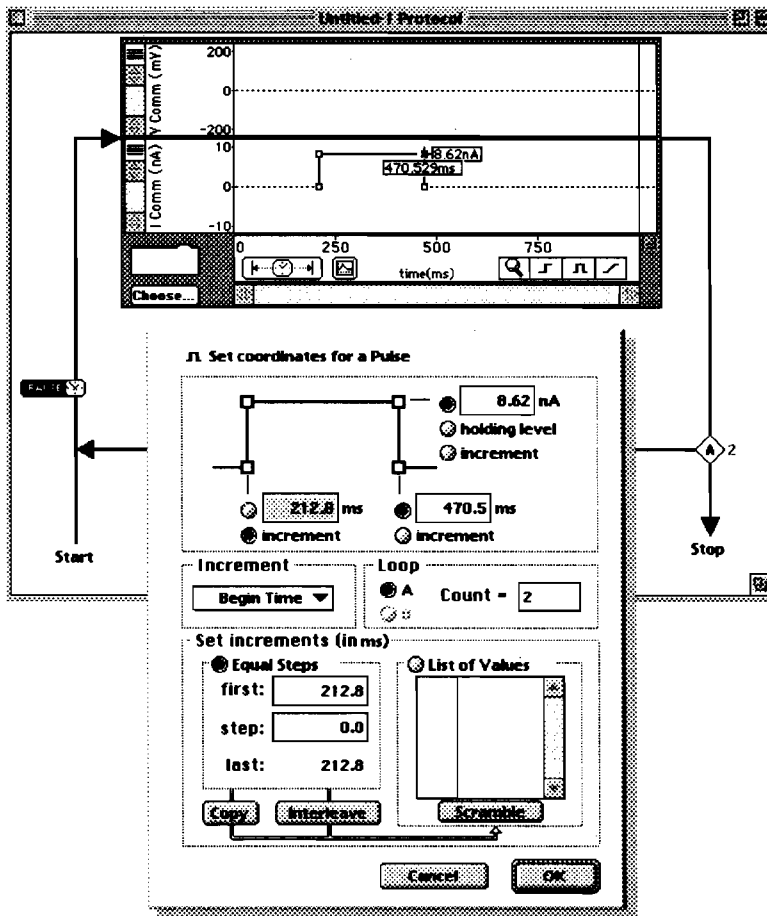


図12.

どちらでも設定可能である。全体のサンプリング時間はサンプリング周波数とサンプル数で決まり、AxoData のアプリケーションメモリー割り当てが少ないとサンプリングが制限されることがある(図11)。

4. AxoData から刺激を与える場合は、刺激パルスの設定を行う。だいたいの設定をマウスで行った後、パルスをダブルクリックして詳細設定画面を呼び出し、数値で正確なパルスプロトコルを設定する(図12)。

* シナプス電位の記録など、AxoData からの出力が不要で単にサンプリングするだけの

プロトコルでは、この項目の設定は不要。

5. 設定が終わったら適当な名前を付けて保存しておく。

実験条件に合わせた複数のプロトコルを作っておいて、その都度切り替えながらサンプリングできる。また、実験条件に合わせて、その場で既存のプロトコルを修正しながらサンプリングする事もできるので、比較的柔軟に利用できる。

[設定の確認]

- LabBench, プロトコルの設定が終わったら、実際に実験機器を接続し cell model を利用して設定条件の確認、各 ADC の

offset の調節を行いキャリブレーションを取る。

4) AxoGraph によるデータの解析

○AxoGraph の基本操作：AxoGraph は基本として次の 3 種類のファイルを扱うことができる。1) AxoData のデータファイル(「AxoData」や MacLab 等のチャートファイル(「chart」), 2) AxoGraph のテキストエディタのファイル(計測結果の値などが表示される), 3) AxoGraph の波形データ(AxoDataの波形を元に編集・解析したものを AxoGraph の波形データとして保存したもの)。

それぞれはファイルを開くときにファイルメニューより以下のように区別される。AxoData 等のファイル：[open digitized...], AxoGraph での計測結果(テキストファイル)：[open text...], 編集しAxoGraph で保存し直した波形データ：[open...].

以下によく使う機能を紹介する。

○Display options

[チャンネル/トレースの表示・非表示]：各チャンネル/トレースごとに表示・非表示が可能なので必要なチャンネル/トレースのみ表示する。

[チャンネル/トレース表示の方法]：各チャンネル/トレースをタイル状に(Tile), 積み重ねて(Pile), ずらしながら(Offset)表示できる。

[チャンネル/トレースのグループ化]：指定したチャンネル/トレースを一つのグループとして扱える。

[表示領域の設定]：各チャンネルごとにX軸の表示領域, 全チャンネル共通でY軸(時間)の表示領域を自由に設定できるので, 必要な部分を必要な大きさで表示する。

[Baseline subtraction]：全表示チャンネルを対象に, 任意に指定した領域をベースラインと仮定し baseline subtraction ができる (Revert to save を用いると元に戻すことができる)。

[表示オプション]：各波形トレースの色, 線の太さ, サンプリングポイントのマークの形などを設定できる。

○解析メニュー：ここではよく使うであろう解析メニューを紹介する。解析結果や計測値は, AxoGraph text ウィンドウ(予め開いておく)に自動的にテキストデータとしてペーストされる。

[Peak detection]：自動的に波形の最大/最小を検出する。

[Digital filter]：表示トレースに指定したバンド幅のフィルターを掛ける。

[Mouse/Cursors measurements]：マウスで指定したポイント/領域(区間の平均値など)の計測。

[Amplitude histogram]：データの値を元に指定した bin でヒストグラム表示を行う。

[Power spectrum]：波形データを元に FFT を掛け, 指定したセグメントごとの power spectrum の平均値を表示する。

[Curve fit]：指定した区間を元に curve fitting をおこなう (fitting function を自分で設定することも可能)。

○プログラムメニュー：AxoGraph ではC言語や Pascal など解析モジュールを自作し, AxoGraph から呼び出して使うことができる。AxoGraph には既にいくつかのモジュールが付属しており, それらを使って複数のデータファイルのトレースを新たな別の一つのファイルにまとめたりできる。

5) SigmaPlot を使ったグラフ作成

SigmaPlot は表計算シート上の数値データを元にグラフを作るソフトで, 1つの書類の中に複数の違ったグラフを作成でき, グラフのみからなる図の場合, このソフトだけで最終的な図まで作ることができる (Windows 版もある)。

以下にデジタルデータを SigmaPlot に取り込み, グラフを作成する手順を説明する。

[AxoGraph から SigmaPlot へ]

- AxoGraph で計測した数値データ (AxoGraph のテキストウィンドウに表示される) は, そのまま copy & paste で, 又は一旦テキストデータとしてファイル保存した後で SigmaPlot

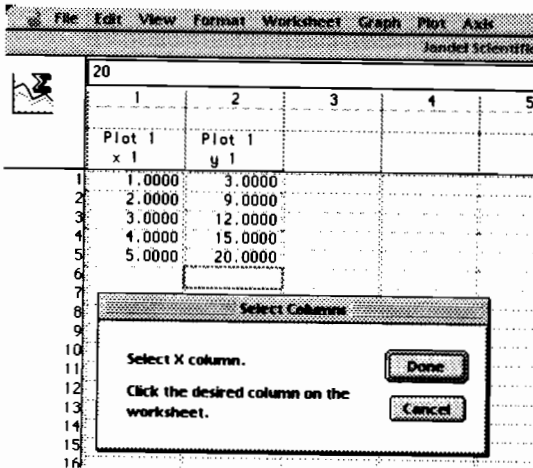


図13.

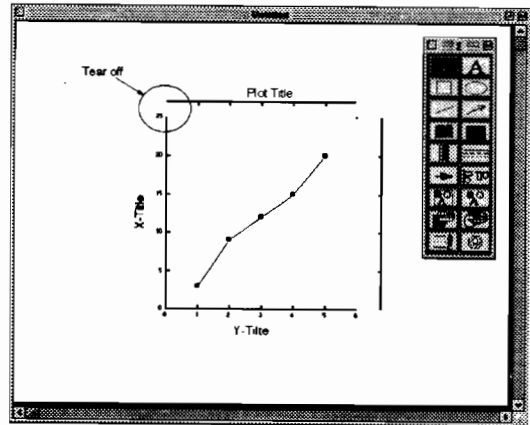


図14.

のワークシートにテキストデータインポートの形で取り込むことができる。取り込んだ数値データは1行ごとに一つの変数として扱われる。従って、例えば電圧-電流曲線の場合、1行目に電流量、2行目にそれに対応する膜電位変化量が入力される。後は、グラフ作成コマンドに従ってX軸の行、Y軸の行をそれぞれマウスで指定するだけで基本的なグラフを自動的に生成する。また作成されたグラフは、各軸の位置、軸のタイトルやシンボルマ

クの形、線の太さ、表示領域など細かに編集することができる(図13, 14)。

更に Curve fitting モジュールを持っているので、フィットさせたい曲線の式を入力し、計測データから最小二乗法による曲線の係数を割り出すこともできる(図15)。

一般の表計算ソフトほどではないが、行単位での定型計算(計算式はユーザーが自由に設定できる)も行えるので、2データ間の差をグラフにしたりと言った作業も比較的行え

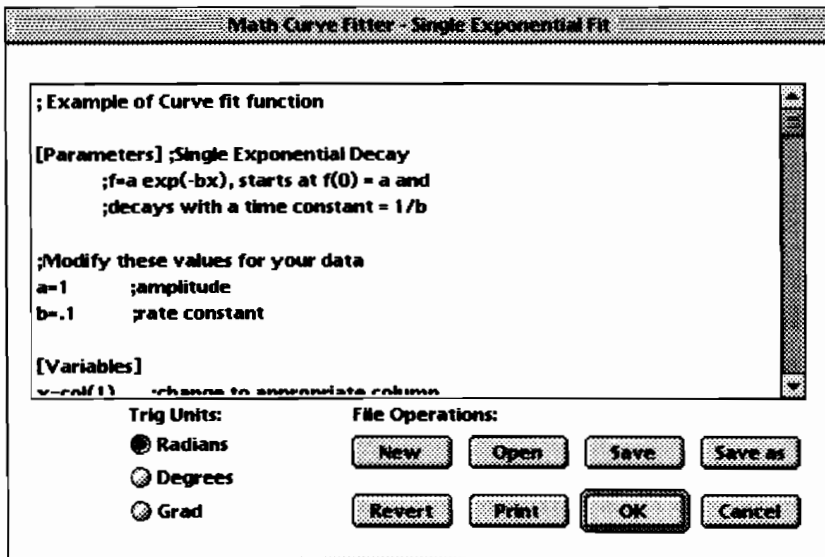


図15.

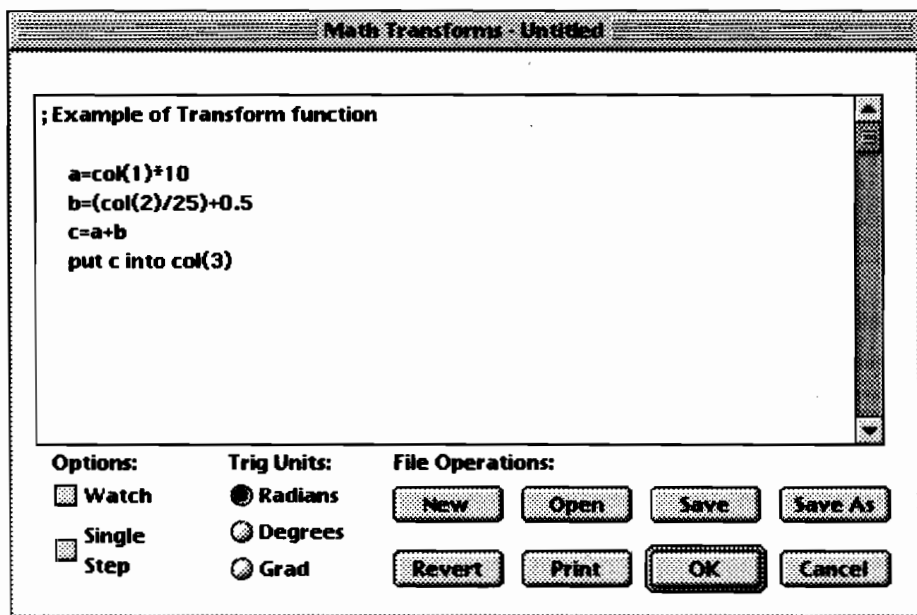


図16.

る(図16).

グラフができたらまず、ファイルとして保存し、それから必要に応じてプリントアウトする。ファイル保存をしておくと、プリント中にエラーが発生して Mac のシステムを再起動するハメになっても泣かずにすむ。また、他の図などと合わせて一つの図にしたい場合は、一旦グラフを高解像度 PICT で export した後、CANVAS などのレイアウトができるソフトで読み込み編集する。

6) チャート紙に記録されたデータのデジタル化

一旦チャート紙に記録されたデータは、残念ながら数値データにコンバートすることは容易ではない。しかし、論文の図などに使用する目的であれば、数値データ化せずともスキャナを利用して bitmap 画像としてデジタル化すると、レイアウトなどの作業が簡単に行える。

[チャート紙からのスキャンニング]

○大原則○

1. 解像度をあげてスキャンすれば細部の再現性はよいがファイルサイズが大きくなりすぎて、その後の作業効率が著しく損なわ

れる(場合によってはソフトが動かないこともある)。必要最小限の解像度を用いる。

2. グレースケールでスキャンするとモニタ上での細部の再現性はよいが、レーザープリンタで出力するときは白/黒の2値画像の方がきれいに出力される(ファイルサイズも小さい)。

スキャンする時のポイントとなるのは画像の解像度と、多くのチャート紙に印刷されているグリッドである。解像度はチャート上の波形のサイズと最終的な図の中での大きさによって決まってくるが、経験上から割り出した概算式は

[スキャン解像度]

×[最終的な図での縮小/拡大率]

= [出力機器の解像度]

となる。

例えば、画像をレイアウト上で1/4に縮小し、最終的に400 dpiのプリンタで出力する場合のスキャン時の解像度は、 $400 / (1/4)$ 即ち 100 dpi 程度あればいいことになる。しかしながら、原図に非常に細かい線が含まれており、それを残したい場合、100 dpi では細部がつぶれてしまっ

て、うまくスキャンできないことがある。こう言った場合、予め 400 dpi ぐらいでスキャンしておいて後から画像ソフト (Photoshop など) で解像度を落とす方が細部の再現性がよいので、目的に応じて適当な方法を選ぶ。チャート紙上に印刷されたグリッドの消去には大きく分けて 2 通りある。スキャナがドロップアウトカラー (その色を取り込まない) をサポートしている場合 (EPSON の GT シリーズなど)、グリッドの色 (例えば赤) をドロップアウトカラーに指定すると、赤い色を取り込まない (若しくは非常に薄くなる)。サポートしていない場合は、一旦カラー (256 色程度でよい) で取り込んだ後、Photoshop で赤のプレーン (R チャンネル) のみ残し、後の青と緑 (B, G チャンネル) を削除すると同じ様な効果が得られる。いずれの場合も、次の処理としてコントラストなどを調節し、波形のみが黒くなるように仕上げる (どうしても背景との識別が難しい場合は消しゴムツールで手作業で丹念にいらないうところを消す)。この時、後でキャリブレーションがわかるように、じゃまにならない部分のグリッドの一部を残しておくレイアウトをするときに楽である。

作業が終わったら、TIFF (LZW 圧縮は使わない) または PICT フォーマットで保存する。図中の文字やキャリブレーションバーなどはレイアウト時に (例えば CANVAS を用いて) ドローオブジェクトとして入れ直すので、場所や長さなどがわかる程度の荒さでよい。

7) CANVAS でのレイアウト作業

[AxoGraph の波形データから CANVAS へ] : CANVAS での読み込み可能な画像データのフォーマットは PICT, TIFF, EPS などがあるが、AxoGraph の波形データの取り込みにはクリップボードを介した copy & paste でデータを持ってくるのが最も簡単で画質がよい。手順としては、

1. 予め CANVAS の新しい書類 (既にある書類に追加するときはその書類) を開いておく。メモリ不足で一度に両方開けないと

きは、一旦 AxoGraph でデータをコピーした後、AxoGraph を終了し、新たに CANVAS を開く。

2. AxoGraph で編集したい波形の X 軸・Y 軸表示範囲を整えてから、データをクリップボードへコピーする (通常のコピー操作)。
3. CANVAS に切り替えペーストする。この時、AxoGraph の設定によっては 4 倍の大きさでペーストされる (この方が印刷時の画質がきれい) ので、そのまますぐに (ペースト画像のみが選択状態にあるままで) グルーピングを行う。
4. グルーピングした状態でペーストした波形データを 1/4 にリサイズする (必要ならもっと小さくてもよい)。グルーピングし忘れると画像の構成要素 (軸や波形など) が、バラバラな位置でリサイズされ、後のレイアウト作業が面倒なので、もし間違ったら、すぐに作業の取り消し (undo : command + Z キー) を行い、グルーピングを行ってからやり直す。
5. 適当なサイズになったら、再びグルーピングを解除すると波形データ、X 軸、Y 軸、コメントなどがそれぞれ編集可能になるので、適宜必要に応じて編集する。
6. 波形データをリサイズする時はキャリブレーションを失わないように注意する。このためには、キャリブレーションバーを波形と一緒にグルーピングしておき、必ず一緒にリサイズされるように心がける。

*ある程度編集を行ったら必ずファイルを保存しておく、不慮のシステムフリーズに見舞われたとき被害が小さくてすむ。

[スキャン画像から CANVAS へ] : 予め必要な部分のみに整理した画像を画像ソフト (Photoshop など) で作り、TIFF 又は PICT フォーマットで保存しておく。この時点では、取り込んだ画像内にキャリブレーションがわかるような部

分を残しておく。

1. 既にある CANVAS の書類に追加する場合は place コマンド、新たな書類として作るときは通常の open コマンドで画像データを開く。
2. 画像データ内のキャリブレーション情報を参考に、CANVAS の四角ツール(又は太い直線ツール)を用いて新しくキャリブレーションバーを作る(こちらの方が印刷時にきれいに印刷できる)。
3. 同様に画像データ内の文字(bitmap)を、CANVAS の文字(text)で置き換える。
4. CANVAS 上のスキャン画像データから、CANVAS で作りなおした部分(キャリブレーションバーなど)を消し去り、書類を CANVAS のフォーマットで保存する。
5. 画像データ及びそれに付随するテキストなどその配列が乱れては困るものは、ひとまとめにしてグループ化しておく。

[SigmaPlot のグラフから CANVAS へ]: 予め SigmaPlot でグラフを完成させておく。グラフのみの図の場合は CANVAS で編集を加えなくとも SigmaPlot 上で作業は終わる。他の図形などと組み合わせた図を作成する場合は、予め SigmaPlot で必要なグラフを作り上げておき、SigmaPlot の export コマンドを用いてデータ(グラフ)を高解像度 PICT で保存しておく(前述)。

1. CANVAS で高解像度 PICT で保存したグラフデータを開き、X、Y 軸の位置・軸のタイトル・シンボルマークの説明など必要な編集を加える。
2. 他の組み合わせるデータを同一書類内に

持ってきてレイアウトを行い仕上げる。(鶴崎)

最 後 に

デジタルデータは何度切り貼りしてもその劣化がないことが特徴ですが、データの量と使用するコンピュータの能力によっては、高品質の出力を得るには時間がかかりすぎるといったデメリットがあります。また、スキャン画像は拡大・縮小を行うと必ず画質の低下を伴う(後で、ある程度のデジタル的な補修は可能ですが・・・)ので、それを考えた上で最初のスキャンサイズを決めなければならないなど、デジタルなりのノウハウがあります。今回はそう言ったものの一部をまとめてみました。

Mac のソフトはどれもその操作性が似ているため、ソフトの操作自体を修得するのは簡単だと言われていますが、それでもやはりそれなりに使うためには、ある程度の時間が必要となります。これは Windows にしても同じです。従って、なるべく暇をみてはこういった編集作業を行って、操作手順やどうすればより少ない行程でより高品質の結果が得られるか、自分なりに試行錯誤してみる事が大事だと思います。コンピュータを使ってデータを処理し図を作ることのメリットの一つは時間をかけずに解析・編集できることです。極論すれば如何に(作業行程で)手抜きができるか、であるわけですから、従来のアナログ作業でそういった技術を習得するのに必要だった程度には、やはり時間と慣れが必要であることを忘れないで頂けると幸いです。