

주성분분석을 이용한 토끼 망막 신경절세포의 활동전위 파형 분류

충북대학교 의과대학 생리학교실, 의공학교실*

진계환* · 조현숙 · 이태수* · 구용숙

주성분분석은 잘 알려진 데이터 분석 방법으로써 높은 차원의 데이터를 낮은 차원의 데이터로 표현하는데 효과적이어서 얼굴인식, 데이터 압축 등에 이용되고 있다. 주성분분석을 하게 되면 원 데이터의 공분산 행렬로부터 정규직교한 고유벡터와 해당하는 고유치를 얻게 되고 그 중 큰 값을 가지는 고유벡터들을 선택하여 선형 변환함으로써 데이터의 차원을 줄일 수 있게 된다. 망막에 빛 자극이 인가되면 시세포 층에서 전기신호로 변환된 후 복잡한 신경회로를 거쳐 최종적으로 신경절세포 층에서 활동전위의 형태로 출력되게 된다. 본 연구에서는 다채널전극을 사용하여 여러 개 망막 신경절세포로부터 유래되는 활동전위를 기록한 후 개개의 신호를 구분하는 과정을 거치고, 이어서 그 신호를 만들어 내는 각 뉴런 들끼리의 시간적, 공간적 흥분발사 패턴을 이해함으로써 궁극적으로 시각정보 인코딩 기전을 밝히려는 연구 목표하에 그 첫 단계로서 망막 신경절세포의 활동전위를 기록한 후 분류하는 과정을 성공적으로 수행하였기에 그 내용을 서술하고자 한다. 망막에서 기록되는 신경절세포 활동전위는 불규칙하고 확률적이기 때문에 주성분분석을 통하여 그 유형을 분류할 수 있었다. 토끼 눈으로부터 망막을 박리하여 망막조각을 얻은 후 신경절세포 층이 전극표면을 향하도록 전극에 부착하였다. 8×8의 microelectrode array (MEA)를 전극으로 사용하였고, 증폭기는 MEA 60 system을 사용하여 신경절세포 활동전위를 기록하였다. 활동전위 기록 후 파형 분류를 하였다. 잡음이 섞여있는 기록으로부터 신호를 검출하기 위하여, 잡음역치($\pm 3\sigma$)를 설정하였다. 역치를 넘는 파형 만을 획득한 후 주성분분석을 통해 각 파형의 첫 번째 주성분, 두 번째 주성분을 계산하여 2차원 평면에 투사함으로써 몇 개의 의미있는 클러스터를 얻었다. 이 클러스터는 곧 각 신경절세포에서 유래되는 파형을 반영하므로 주성분분석을 통하여 망막 신경절세포의 활동전위를 각 세포별로 분류할 수 있음을 확인하였다.

중심단어 : 주성분분석, 망막 신경절 세포, microelectrode array (MEA), 활동전위, 시각정보 인코딩

서 론

인간의 눈에 들어온 외부의 빛은 망막에서 전기신호로 바뀌며, 이것이 시신경을 통해 뇌로 전달되어 물체를 인식할 수 있게 된다. 즉 망막신경망은 외부에서 들어온 시각정보를 처리한 후 최종적으로 신경절세포(ganglion cell)에서 활동전위의 형태로 신호를 출력하게 된다. 망막신경망은 크게 5가지 뉴런 - 시세포(photoreceptor; rod cell, cone cell), 양극세포(bipolar cell), 신경절세포, 수평세포(horizontal cell), 아마크린세포(amacrine cell) - 으로 구성되어, 빛 자극이 들어오면 시세포에서 전기적인 신호로 변환된 후 양극세포를 통하

여 신경절세포에 전달된다. 이와 같은 수직 방향으로의 정보의 흐름은 수평세포, 아마크린세포에 의하여 조율된다¹⁾. 한쪽 눈에 존재하는 시세포 수는 약 1억 3천만 개인 반면 신경절세포(그리고 신경절세포의 축삭돌기인 시신경)는 약 백만 개라는 사실은 외부세계에서 들어오는 시각정보가 망막에서 처리되는 과정 중에 시신경 수에 부합되도록 압축될 가능성을 시사한다^{2,3)}. 만일 이와 같이 정보가 압축되어 전달된다면 시각시스템의 수행능력이 제한을 받게 되는 것을 의미하므로, 망막의 신경절세포의 집단(population)이 과연 시각정보를 어떻게 인코딩하는 지에 관한 관심이 제기된다⁴⁾.

지금까지 망막 신경절세포의 빛 자극에 대한 반응은 주로 세포외 측정법(extracellular recording)을 사용하여 단일 신경절세포 수준에서 이루어졌다^{5,6)}. 이와 같은 세포의 측정법은 특정 시간대에 특정 뉴런의 활동전위를 기록하는 방법이므로 “개개의 신경절세포가 빛자극을 처리함에 있어 독립적으로 활동하는가” 하는 기본 전체에 관한 해답을 제공하지 못하였다. 뿐만 아니라 “개개의 신경절세포는 독립적이다.”라고 가정하면 개개의 시신경을 독립적인 정보채널로 간주하여

이 논문은 2003년 11월 21일 접수하여, 2003년 12월 10일 채택됨.
이 연구는 2002, 2003년도 과학재단 초미세생체전자 시스템 연구센터(ERC) 연구비 지원에 의한 결과임

책임저자 : 구용숙, (361-763) 충북 청주시 흥덕구 개신동 산 48
충북대학교 의과대학 생리학교실
Tel : 043)261-2870, Fax : 043)272-1603
E-mail : ysgoo@med.chungbuk.ac.kr

망막의 코드를 읽어내기가 쉽게 되므로 원론적인 의문제기 없이 이 전체가 계속 받아들여졌었다. 최근에 여러 개 신경절세포의 활동전위를 동시에 기록할 수 있는 다채널기록방법⁷⁻¹³⁾이 개발되면서 이 분야에 새로운 전기가 마련되었으며 인접하는 신경절세포끼리는 서로 동기화되어 흥분이 발생됨이 관찰되었다^{4, 14-17)}. 그러므로 최근의 관심은 개개의 신경절세포의 흥분발사가 아닌 망막신경망(좁더 범위를 축소하면 신경절세포망) 전체가 함유하고 있는 집단 코드(population code)를 이해하는 방향으로 모아지고 있다.

멀티뉴론 연구의 가장 기본은 개개의 뉴론과 관계있는 신호(spike)를 구분(sorting)하여 찾아내는 과정으로부터 시작된다. 즉 다채널전극을 사용하여 여러 개 망막 신경절세포로부터 유래되는 활동전위를 기록한 후 개개의 신호를 구분하는 과정을 거치고, 이어서 그 신호를 만들어 내는 각 뉴론들끼리의 시간적, 공간적 흥분발사 패턴을 이해함으로써 궁극적으로 시각정보 인코딩 기전을 밝히는 것이 가능할 것이다¹⁰⁾.

본 논문에서는 이러한 연구과정의 제 첫 단계인 망막 신경절세포의 활동전위를 다채널전극으로 기록한 후 각 채널별로 활동전위를 분류하는 과정을 직접 실험을 통하여 성공적으로 수행하였기에 그 내용을 서술하고자 한다. 뉴론의 활동전위를 구분하는 접근법은 크게 1) 파형으로부터 각종 파라미터를 도출하는 방법, 2) 주형과 비교하는 방법(template matching) 3) 주성분분석을 이용하는 방법으로 나눌 수 있다¹⁸⁾. 1)번 방법은 파형을 파형의 진폭, 파형의 넓이와 같은 파라미터로 구분하는 방법이고 2)번 방법은 활동전위의 주형을 정한 후 주형을 실제 데이터와 계속 비교해 나가면서 rms error 가 최소값이 되는 최적 정합(best match)을 찾아내는 방법이며 3)번의 방법은 주성분분석으로 찾은 여러 개의 주성분 중 대개 첫 번째 주성분(Principal Component1; PC1), 과 두 번째 주성분(Principal Component2; PC2) 만을 이용하여 2차원 평면에 표시한 후 각 뉴론에 해당하는 통계적인 클러스터를 찾는 방법이다. 첫 번째와 두 번째 주성분 만을 이용하더라도 전체 활동전위 신호 에너지의 80-90%를 반영하므로 다채널전극을 이용하여 방대한 양의 원 데이터를 얻었을 때 가장 널리 사용되는 방법이다¹⁸⁾. 망막의 출력신호인 신경절세포의 활동전위는 불규칙적이고 확률적이기 때문에 본 논문에서는 주성분분석을 통하여 각 신경절세포에 해당하는 통계적인 클러스터를 2차원적으로 그려낸 후 이로부터 활동전위를 분류하였다.

재료 및 방법

1. 망막의 분리

망막분리 방법은 Stett 등¹⁹⁾과 Grumet 등²⁰⁾의 방법을 변형하여 사용하였다. 체중 2 kg 정도의 토끼에 림폰(Xylazine hydrochloride, 한국바이엘)과 케타라(염산케타민, 유한양행)를 1:4 로 혼합한 용액을 정맥주사(~1 ml/kg)하여 마취시킨 후 양쪽 안구를 적출한다. 적출한 안구에 이후 인공 뇌척수액(artificial cerebrospinal fluid; ACSF solution) (단위 : mM, 124 NaCl, 10 glucose, 1.15 KH₂PO₄, 25 NaHCO₃, 1.15 MgSO₄, 2.5 CaCl₂, 5 KCl; pH =7.4)을 주입하면서 망막분리를 위한 수술을 실시한다. 먼저 망막의 전면에 있는 구조물(각막, 수정체, 초자체)을 모두 제거한다. 공막으로부터 망막을 분리하기 위하여 망막과 공막 사이에 주사기로 인공 뇌척수액을 주입하여 틈을 벌린 후 최종적으로 시신경이 부착되어 있는 중심부 공막을 가위로 자른다. 얇은 투명 종이 형태의 망막(두께 : ~200 μm)을 얻어낸 다음, 전극에 붙이기 적합한 크기(<1 cm×1 cm)로 자른 후, 신경절세포 부위가 전극 쪽을 향하도록 뒤집어 붙이고 망막의 활동전위를 기록하였다. 온도조절기를 통하여 망막의 온도를 32℃로 일정하게 유지하면서 활동전위를 기록하였다.

2. 다채널전극(Multielectrode array: MEA)

망막의 활동전위를 기록하기 위한 전극으로써 MEA 를 사용하였다. MEA 는 5 cm×5 cm 의 glass plate 의 중심부에 8×8 배열로 구성되어 있는 전극이다(conducting layer: TiN, insulating cover : Si₃N₄). 각 배열소자를 구성하는 전극의 직경은 30 μm이고, 전극간 거리는 200 μm 이며, 1 kHz 에서 50 kΩ 수준의 낮은 임피던스를 갖는다²¹⁾.

3. 데이터 획득 및 분석

신호 기록을 위한 시스템으로는 MEA60 system (Multi-channel systems GmbH, Germany)을 사용하였다. MEA60 system 은 크게 1. Integrated 60 channel pre- and filter-amplifier (MEA 1060): amplification (×1200), bandpass filter (10-3000 Hz) 2. PC based data acquisition system 의 2 부분으로 구성되어 있다. 이 시스템이 제공하는 최대 표본화 속도는 50 kHz/channel 이며 본 실험에서는 25 kHz/channel 을 사용하였다. 데이터 분석은 Offline sorter (Plexon Inc, USA) 를 사용하여 주성분분석을 하였다.

결 과

1. 망막 신경절 세포의 자발적 활동전위 기록(Fig. 1)

Fig. 1은 MEA60 system을 사용, 망막 신경절세포의 자발적 활동전위를 실시간으로 기록하는 모니터 화면을 보여주

고 있다. 파형은 8×8 MEA의 각 채널에 대응하는 총 60개의 작은 윈도우상에 배열되며 각 윈도우를 클릭하면 그 파형을 상세히 관찰할 수 있다.

2. 파형 구분(Fig. 2)

망막신경절 세포 활동전위를 기록한 후 오프라인에서 파형을 구분하였다. 측정된 원 데이터에서 신호가 없는 부분

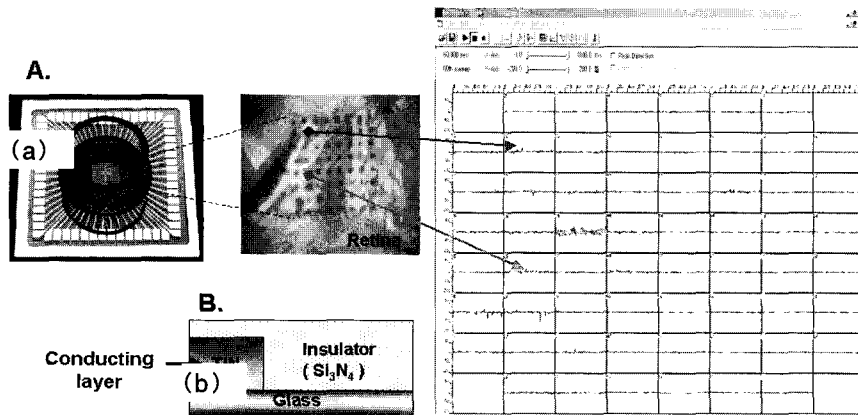


Fig. 1. Multi-electrode array and real time monitor window of MEA60 system. (a) Multi-electrode array (MEA) composed of 8×8 arrays. - Retinal piece attached on MEA - Real time recording window of retinal ganglion cell activity : 60 channels are shown. (b) Schematic cross-section of MEA, not to scale.

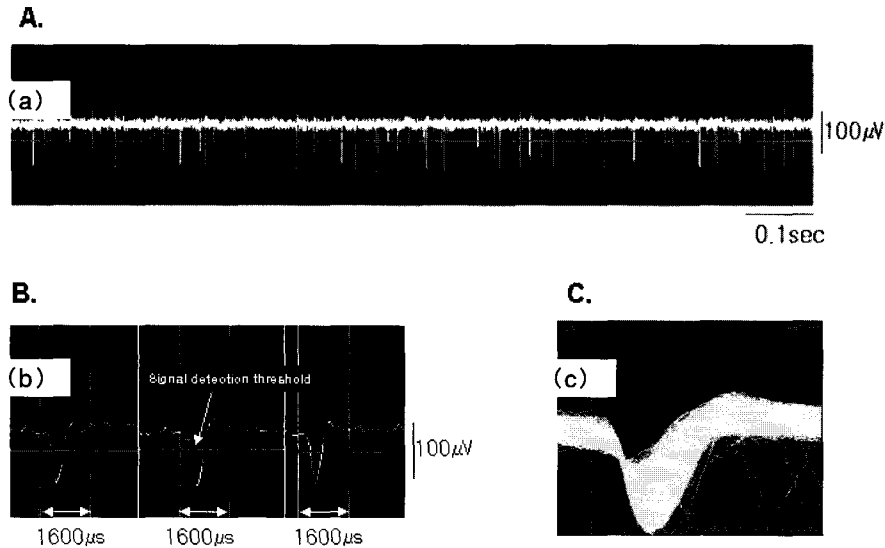


Fig. 2. Spike sorting method. (a) Spontaneous retinal ganglion cell action potential recorded with one of MEA channel. X axis : time, Y axis : amplitude (μV); two blue lines show noise bandwidth and white line shows threshold level for detection of spike. (b) Signal was detected when the original recording data crosses the threshold. Duration of window was set with 1600 μsec . (c) Waveform window shows the superimposed waveforms aligned at the threshold crossing times.

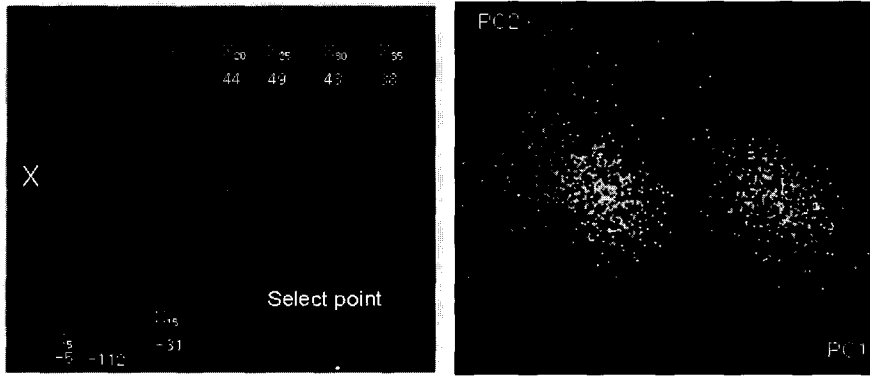


Fig. 3. PCA-based Cluster. (a) One exemplar waveform composed of 40 sampling points. (b) 2D projection of PCA-based clusters. All 1945 points represent each waveform of Fig. 2C. X value represents calculated principal component 1 (PC1) and y value represents calculated principal component 2 (PC2). Circle indicates the point which represents waveform of Fig. 3 (a).

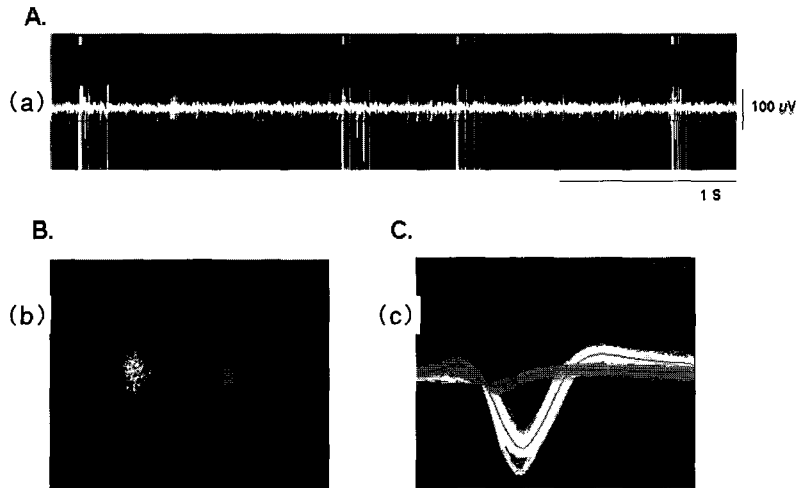


Fig. 4. Waveform detection from PCA-based Cluster. (a) Spontaneous retinal ganglion cell action potential recorded with one of MEA channel. X axis: time, Y axis: amplitude (μV); two blue lines show noise bandwidth and white line shows threshold level for detection of spike. (b) Two PCA-based clusters were shown with different colors. (c) Two waveforms from two PCA-based clusters were shown with different colors.

(잡음 부분)의 표준편차(σ)를 구한 후 $\pm 3\sigma$ 의 값을 잡음의 역치로 설정하였다. 역치 이상의 신호를 대상으로 하여 파형 윈도우에 중첩해서 나타내었다. 이때 파형 윈도우의 폭은 $1600 \mu\text{sec}$ 로 설정하였다. 그 이유는 활동전위의 기간이 $1000 \mu\text{sec}$ 내외의 값을 가지기 때문이다. 표본화 속도를 25 kHz 로 설정하였으므로 표본들 간의 간격은 $40 \mu\text{sec}$ 가 되고 따라서 하나의 파형은 40개의 표본 데이터로 구성된다.

3. 주성분분석을 통한 클러스터 찾기(Fig. 3)

Fig. 2에서 찾은 파형의 숫자가 모두 1945 개였으며 원 데이터는 1945×40 차원이 되었고 공분산 행렬로부터 고유벡터와 고유치를 구했다. 그 중 가장 큰 2개의 고유치에 해당하는 고유벡터 값으로부터 첫 번째 주성분과 두 번째 주성분을 계산한 후, 그 값을 각각 X축, Y축에 투영하여 몇 개의 클러스터를 이루는 패턴을 관찰할 수 있었다. Fig. 3A에서 보여주는 파형의 각 표본데이터($x(t)$)로부터 계산한 첫 번째

제 고유 벡터(first eigenvector, $\phi 1(t)$)와 두번째 고유 벡터(second eigenvector, $\phi 2(t)$) 값을 각각 곱하고 합산하여 첫 번째 주성분과 두 번째 주성분을 구하는 과정을 Table 1에 보였다.

4. 주성분분석을 통한 클러스터로부터 파형 찾기(Fig. 4)

원 데이터(Fig. 4a)로부터 PCA를 통하여 2개의 충분히 독립적인 클러스터를 얻고(4b) 각각이 대변하는 파형(4c)을 분류할 수 있음을 보였다.

Table 1. How to calculate the PC1 and PC2.

| | $\phi 1(t)$ | $\phi 2(t)$ | $x(t)$ | $\phi 1(t) * x(t)$ | $\phi 2(t) * x(t)$ |
|-----|-------------|-------------|--------|--------------------|--------------------|
| 1 | 0.12916 | -0.05679 | 6 | 0.77496 | -0.34074 |
| 2 | 0.1458 | -0.0597 | 6 | 0.8748 | -0.3582 |
| 3 | 0.16368 | -0.04463 | 8 | 1.30944 | -0.35704 |
| 4 | 0.16923 | -0.02002 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 0.15765 | 0.0079 | -5 | -0.78825 | -0.0395 |
| 6 | 0.12165 | 0.05126 | -12 | -1.4598 | -0.61512 |
| 7 | 0.07219 | 0.13677 | -26 | -1.87694 | -3.55602 |
| 8 | 0.05311 | 0.221 | -66 | -3.50526 | -14.586 |
| 9 | 0.0592 | 0.25971 | -89 | -5.2688 | -23.1142 |
| 10 | 0.04525 | 0.23142 | -112 | -5.068 | -25.919 |
| 11 | -0.07125 | -0.11961 | -118 | 8.4075 | 14.11398 |
| 12 | -0.08093 | -0.29965 | -120 | 9.7116 | 35.958 |
| 13 | -0.03872 | -0.34964 | -95 | 3.6784 | 33.2158 |
| 14 | 0.02416 | -0.36447 | -58 | -1.40128 | -21.13926 |
| 15 | 0.08412 | -0.34021 | -31 | -2.60772 | 10.54651 |
| 16 | 0.12564 | -0.29689 | -11 | -1.38204 | 3.26579 |
| 17 | 0.15127 | -0.25321 | 0 | 0 | 0 |
| 18 | 0.16857 | -0.2117 | 23 | 3.87711 | -4.8691 |
| 19 | 0.17982 | -0.1733 | 39 | 7.01298 | -6.7587 |
| 20 | 0.18692 | -0.13853 | 44 | 8.22448 | -6.09532 |
| 21 | 0.19171 | -0.10488 | 45 | 8.62695 | -4.7196 |
| 22 | 0.19456 | -0.07079 | 49 | 9.53344 | -3.46871 |
| 23 | 0.1954 | -0.03815 | 49 | 9.5746 | -1.86935 |
| 24 | 0.19502 | -0.01 | 52 | 10.14104 | -0.52 |
| 25 | 0.19474 | 0.01337 | 49 | 9.54226 | 0.65513 |
| 26 | 0.1952 | 0.03405 | 49 | 9.5648 | 1.66845 |
| 27 | 0.19549 | 0.04689 | 49 | 9.57901 | 2.29761 |
| 28 | 0.19647 | 0.05326 | 46 | 9.03762 | 2.44996 |
| 29 | 0.1977 | 0.0564 | 45 | 8.8965 | 2.538 |
| 30 | 0.19858 | 0.0617 | 43 | 8.53894 | 2.6531 |
| 31 | 0.19746 | 0.06869 | 43 | 8.49078 | 2.95367 |
| 32 | 0.1954 | 0.07263 | 45 | 8.793 | 3.26835 |
| 33 | 0.19357 | 0.07449 | 42 | 8.12994 | 3.12858 |
| 34 | 0.19047 | 0.07459 | 41 | 7.80927 | 3.05819 |
| 35 | 0.1846 | 0.07443 | 38 | 7.0148 | 2.82834 |
| 36 | 0.17785 | 0.07257 | 36 | 6.4026 | 2.61252 |
| 37 | 0.17064 | 0.07042 | 35 | 5.9724 | 2.4647 |
| 38 | 0.16226 | 0.06652 | 32 | 5.19232 | 2.12864 |
| 39 | 0.1522 | 0.05903 | 26 | 3.9572 | 1.53478 |
| 40 | 0.14433 | 0.05149 | 25 | 3.60825 | 1.28725 |
| SUM | | | | 178.9189 | 58.57998 |
| | | | | PC1 | PC2 |

Since 1600 μ sec waveform is composed of 40 sample points, all the columns have 40 rows.
 The first column shows the $\phi 1(t)$: first eigenvector ($\phi 1(t)=[\phi 1(1), \dots, \phi 1(40)]$).
 The second column shows the $\phi 2(t)$: second eigenvector ($\phi 2(t)=[\phi 2(1), \dots, \phi 2(40)]$).
 The third column shows the amplitude of each x point.
 The Sum of fourth column is PC1, since $PC1 = \sum \phi 1(t) * x(t)$.
 The Sum of fifth column is PC2, since $PC2 = \sum \phi 2(t) * x(t)$.

고찰 및 결론

주성분분석은 잘 알려진 다변량 분석방법으로서 데이터의 차원을 줄이는데 널리 이용된다²²⁾. 주성분분석은 변수 - 신경생리학 분야에서는 뉴론 - 간의 선형 의존성 연관패턴을 그려내는 최적의 방법을 제공한다. 즉 주성분분석을 하게 되면 신호는 처음 몇 개의 주성분에 집중되게 되고 잡파는 나머지 주성분에 분리되게 되므로 신호를 선형적으로 투사하는 최적의 방법을 제공한다²³⁾. 신경생리학 분야에서는 뉴론의 시간적인 흥분발사 패턴을 분류하기 위해 주성분분석이 많이 사용되어져 왔다²⁴⁻²⁶⁾. 반면 독립성분분석(Independent component analysis; ICA)은 공분산(covariance)의 비선형적이고 독립적인 패턴을 알아보는 데 적합한 방법이다²⁷⁾. 그러므로 각각의 활동전위를 만들어 내는 각 뉴론들끼리의 시간적, 공간적 흥분발사 패턴을 이해함으로써 궁극적으로 시각정보 인코딩 기전을 밝히고자 하는 본 연구 목적에서는 주성분분석이 독립성분분석보다 적절한 분석 방법이므로 본 연구에서는 주성분분석을 사용하였다.

망막의 신경절세포는 눈에 가해진 시각적인 정보를 활동전위의 형태로 변환하여 시신경을 통하여 대뇌의 시각피질까지 전달한다. Hartline²⁸⁾이 빛자극을 주었을 때 신경절세포가 반응하는 유형에는 ON 반응, OFF 반응, ON-OFF 반응이 있다는 것을 처음으로 보고한 이래 지금까지의 망막 신경절세포의 전기생리학적 연구는 주로 개개의 세포 반응에 초점이 맞추어졌다. 그러나 국소적인 부위에 빛 자극이 가해지더라도 이를 처리하기 위하여는 수많은 뉴론들이 관여하여야 하므로 시각정보를 처리하는 과정에 있어서 신경절세포 집단이 인코딩하는 방법은 기존의 단일 신경절세포에서 얻은 정보로부터 유추한 처리방법과는 분명 차이점을 보일 것이다. 그리고 기존의 세포의 기록법에서 전제로 한 “망막 신경절세포는 서로 독립적이다” 라는 가정자체가 의문시되므로 본 연구에서는 최근에 개발된 멀티채널기록법을 사용하여 망막 신경절 세포 집단의 활동전위를 기록, 분석함으로써 개개의 뉴론이 아닌 망막신경망 전체에서의 신호처리를 연구하고자 하는 장기적인 연구목표 하에 그 첫 단계로서 망막 신경절세포 활동전위를 기록한 후, 오프라인에서 주성분분석을 통하여 신호의 통계적 특성을 반영하는 클러스터를 그려내고, 그 클러스터가 반영하는 파형을 분류할 수 있음을 보였다. 본 연구진이 토끼 망막 신경절 세포의 직경을 조직학적으로 확인한 결과 10 μ m (미발표 데이터)이었으므로, 본 실험에서 직경 30 μ m, 전극간 거리 200 μ m인 다채널전극을 사용하였다

는 점을 감안할 때 다채널전극의 각각의 채널에 기록된 신호는 의심의 여지없이 서로 다른 신경절세포에서 유래된 활동전위임이 확실하다. 그러므로 본 실험에서는 망막 신경절세포 활동전위 파형분류를 통하여 각각의 신경절세포를 찾아내는 방법을 국내에서는 최초로 확립하였을 뿐만 아니라 아직 미개척 분야인 망막신경망을 연구하는 전기생리학적 연구기법을 확립하였다.

현재 본 연구진은 다양한 빛 자극에 따른 망막신경망의 반응패턴을 이해하고 분류하는 연구를 진행하고 있으며 이는 곧 현재 국내에서 초미세생체전자시스템 연구센터 주관으로 진행되고 있는 한국형 인공시각장치(visual prosthesis)의 개발에 큰 도움을 줄 것으로 사료된다. 왜냐하면 시력을 상실한 환자에서 시각경로상의 여러 단계에서 신경을 자극함으로써 시력을 회복시키려는 인공시각장치가 개발되기 위하여는

- 1) 눈의 내부 또는 외부에 장착될 전자장치의 디자인 및 개발
- 2) 생체적합성이 뛰어난 소재의 선택
- 3) 눈의 내부에 장착될 전자장치에 동력과 신호를 전달하는 방법 디자인
- 4) 장치를 손상없이 눈 내부에 장착, 고정하기 위한 안과 수술의 개발
- 5) 전자장치에 인가할 적절한 전기자극 파라미터의 추출
- 6) 망막에서 대뇌피질까지의 시각정보 처리 기전에 대한 기초 연구

와 같은 선행요건이 만족되어야 하는데²⁹⁾ 본 연구자들의 연구는 궁극적으로 6번에 대한 해답을 제공할 수 있기 때문이다.

참 고 문 헌

1. Dowling JE: The retina, an approachable part of the brain. Harvard University Press, Cambridge, MA (1987)
2. Barlow HB: Possible principles underlying the transformation of sensory messages. Rosenblith WA: *Sensory Communication*. Mass. Inst. Technol. Press, Cambridge, MA (1961), pp. 217-234
3. Atick JJ: Could information theory provides an ecological theory of sensory processing. *Network* 3: 213-251 (1992)
4. Meister M: Multineuronal codes in retinal signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:609-614 (1996)
5. Stone J: Parallel Processing in the Visual System. Plenum, New York (1983)
6. Wassle H and Boycott BB: Functional architecture of the mammalian retina. *Physiol Rev* 71:447-480 (1991)
7. Egert U, Heck D, and Aertsen A: Two dimensional monitoring of spiking networks in acute brain slice. *Exp Brain Res* 142:268-274 (2002)
8. Gopal KV, Gross GW: Auditory cortical neurons in vitro: cell culture and multichannel extracellular recording. *Acta Otolaryngol* 116:690-696 (1996)
9. Nicolelis MAL, Baccala LA, Lin RCS, and Chapin JK: Sensorimotor encoding by synchronous neural ensemble activity at multiple levels of the somatosensory system. *Science* 268:1353-8 (1995)
10. Meister M, Pine J, and Baylor DA: Multineuronal signals from the retina: acquisition and analysis. *J of Neuroscience Meth* 51:95-106 (1994)
11. Wilson MA, McNaughton BL: Dynamics of the hippocampal ensemble code for space. *Science* 261: 1055-1058 (1993).
12. Nordhausen CT, Maynard EM, and Normann RA: Single unit recording capabilities of a 100 microelectrode array. *Brain Res* 726:129-140 (1996)
13. Della Santina CC, Kovacs GT, and Lewis ER: Multi-unit recording from regenerated bullfrog eighth nerve using Implantable silicon-substrate microelectrodes. *J Neurosci Methods* 72:71-86 (1997)
14. Meister M, Lagnado L, and Baylor DA: Concerted signaling by retinal ganglion cells. *Science* 270:1207-1210 (1995)
15. Brivanlou IH, Warland DK, and Meister M: Mechanisms of concerted firing among retinal ganglion cells. *Neuron* 20:527-539 (1998)
16. DeVries SH: Correlated firing in rabbit retinal ganglion cells. *J Neurophysiol* 81:908-920 (1999)
17. Usrey WM, and Reid RC: Synchronous activity in the visual system. *Annu Rev Physiol* 61:435-456 (1999)
18. Wheeler BC: Automatic discrimination of single units. Nicolelis MAL: *Methods for Neural Ensemble Recordings*. CRC Press (1998), pp. 61-77
19. Stett A, Barth W, Weiss S, Haemmerle H, and Zrenner E: Electrical multisite stimulation of isolated chicken retina. *Vision Res* 40:1785-1795 (2000)
20. Grumet AE, Wyatt Jr JL, and Rizzo JF: Multielectrode stimulation and recording in the isolated retina. *J Neurosci Methods* 101:31-42 (2000)
21. Egert U, Schlosshauer B, Fennrich S, Nisch W, Fejtl M, Knott T, Muller T, and Hammerle H: A novel organotypic long-term culture of the rat hip-

- pocampus on substrate-integrated multielectrode arrays. *Brain Res Protoc* 2:229-42 (1998)
22. Jolliffe IT. Principle Component Analysis. Springer-Verlag, New York (1986)
 23. Chapin JK, Nicolelis MAL: Principal component analysis of neuronal ensemble activity reveals multi-dimensional somatosensory representations. *J of Neuroscience Meth* 94:121-140 (1999)
 24. Karhunen J, Joutensalo J: Representation and separation of signals using nonlinear PCA type learning. *Neural Networks* 7:113-27 (1994)
 25. Kjaer TW, Hertz JA, and Richmond BJ: Decoding cortical neuronal signals: network models, information estimation and spatial tuning. *J Comp Neurosci* 1:109-39 (1994)
 26. McClurkin JW, Optican LM, Richmond BJ, and Gawne TJ: Concurrent processing and complexity of temporally encoded neuronal messages in visual perception. *Science* 253:675 (1991)
 27. Laubach M, Shuler M, Nicolelis MAL: Independent component analyses for quantifying neuronal ensemble interactions. *J Neurosci Meth* 94:141-54 (1999)
 28. Hartline HK: The response of single optic nerve fibers of the vertebrate eye to illumination of the retina. *American Journal of Physiology* 121:400-415 (1938)
 29. Margalit E, Maia M, Weiland JD, Greenberg RJ, Fujii GY, Torres G, Piyathaisere DV, O'Hearn TM, Liu W, Lazzi G, Dagnelie G, Scribner DA, de Juan E Jr, Humayun MS: Retinal prosthesis for the blind. *Survey of Ophthalmology* 47(4):335-356 (2002)

PCA-based Waveform Classification of Rabbit Retinal Ganglion Cell Activity

Gye-Hwan Jin*, Hyun Sook Cho, Tae Soo Lee* and Yong Sook Goo

Department of Physiology & Biomedical Engineering
Chungbuk National University Medical School, Cheongju, Korea*

The Principal component analysis (PCA) is a well-known data analysis method that is useful in linear feature extraction and data compression. The PCA is a linear transformation that applies an orthogonal rotation to the original data, so as to maximize the retained variance. PCA is a classical technique for obtaining an optimal overall mapping of linearly dependent patterns of correlation between variables (e.g. neurons). PCA provides, in the mean-squared error sense, an optimal linear mapping of the signals which are spread across a group of variables. These signals are concentrated into the first few components, while the noise, i.e. variance which is uncorrelated across variables, is sequestered in the remaining components. PCA has been used extensively to resolve temporal patterns in neurophysiological recordings. Because the retinal signal is stochastic process, PCA can be used to identify the retinal spikes. With excised rabbit eye, retina was isolated. A piece of retina was attached with the ganglion cell side to the surface of the microelectrode array (MEA). The MEA consisted of glass plate with 60 substrate integrated and insulated golden connection lanes terminating in an 8×8 array (spacing 200 μm, electrode diameter 30 μm) in the center of the plate. The MEA 60 system was used for the recording of retinal ganglion cell activity. The action potentials of each channel were sorted by off-line analysis tool. Spikes were detected with a threshold criterion and sorted according to their principal component composition. The first (PC1) and second principal component values (PC2) were calculated using all the waveforms of the each channel and all n time points in the waveform, where several clusters could be separated clearly in two dimension. We verified that PCA-based waveform detection was effective as an initial approach for spike sorting method.

Key Words : PCA, Retinal ganglion cell, Microelectrode array (MEA), Principal component