

Matlab을 이용한 망막신경절세포 감수야 구성

충북대학교 의과대학 생리학교실, *남부대학교 방사선학과

예장희 · 진계환* · 구용숙

개개의 망막신경절세포는 자신이 담당하고 있는 망막의 특정부위에 빛자극이 가해지면 그 빛자극의 특징을 활동전위의 형태로 인코딩하게 된다. 이때 개개의 망막신경절세포가 담당하고 있는 망막의 특정부위를 감수야(receptive field)라 부른다. 그러므로 망막신경절세포의 전기적 특성을 파악하기 위해서는 감수야의 위치를 규정하는 작업이 반드시 필요하다. 그 이유는 감수야의 배열 상태를 알게 되면 신경절세포가 어떻게 시각자극을 인코딩하는지 그 메커니즘에 관한 통찰이 가능하기 때문이다. 본 논문에서는 무작위 바둑판 자극을 MEA의 개개 채널에 독립적으로 인가함과 동시에 여러 망막신경절세포의 흥분파를 기록하였다. 이후 오프라인에서 망막신경절세포의 파형을 추출하고 ON-cell, OFF-cell, ON/OFF-cell로 분류한 후 개개의 망막신경절세포의 감수야를 MATLAB을 이용하여 구현하여 보았다. 이런 방식으로 재구성된 ON-cell과 OFF-cell의 감수야의 예를 제시한다.

중심단어: 망막신경절세포, 감수야, 무작위 바둑판 자극, ON-cell, OFF-cell

서 론

척추동물의 망막(retina)은 5종류의 신경세포-시세포(photoreceptor), 수평세포(horizontal cell), 양극세포(bipolar cell), 무축삭세포(amacrine cell), 신경절세포(ganglion cell)-로 구성된 복잡한 신경회로망을 이루고 있다. 빛자극 인가 시 망막의 신호처리 방식을 간단히 요약하면 시세포층에서 전기신호로 변환된 후 수평세포, 양극세포, 무축삭세포를 거쳐 최종적으로 신경절세포 층(ganglion cell layer)에서 활동전위의 형태로 흥분파(spike trains)를 출력하게 된다.^{1,2)}

즉 개개의 망막신경절세포는 자신이 담당하고 있는 망막의 특정부위에 빛자극이 가해지면 그 빛자극의 특징을 활동전위의 형태로 인코딩하게 된다.^{3,4)} 이때 개개의 망막신경절세포가 담당하고 있는 망막의 특정부위를 감수야(receptive field)라 부른다. 그러므로 망막신경절세포의 전기적 특성을 규정하기 위해서는 감수야의 위치와 크기를 규정하는 작업이 반드시 필요하다.

통상적으로 특정 신경절세포의 감수야를 찾기 위하여 점멸하는 점(flicking spot) 자극의 크기, 세기, 지속시간, 파장을 변화시킨다.⁵⁾ 그 이유는 특정 신경절세포는 빛자극의 공간적, 시간적, 파장 특징에 따라 다르게 반응하기 때문이다. 그러나 본 연구진처럼 다채널전극(multielectrode array, MEA)⁵⁻⁷⁾을 사용하여 여러 개의 신경절세포의 흥분파를 동시에 기록할 때는 한 신경절세포의 감수야에 점멸하는 점자극을 가하는 것이 다른 신경절세포에는 아무런 영향을 주지 못할 가능성이 높다. 또한 이렇게 하여 개개 신경절세포의 감수야를 찾아내는 것은 시간이 무한정으로 드는 작업일 것이다. 그러므로 여러 신경절세포를 동시에 자극할 필요가 생긴다.

본 연구에서는 DeVries 등과 Baylor⁸⁾가 사용한 방법을 변형하여 사용하였다. 즉 random checkerboard stimulus (무작위 바둑판 자극) - 즉 바둑판 무늬의 자극을 MEA의 개개 채널에 무작위적이고 독립적으로 인가함과 동시에 MEA 전극으로 여러 망막신경절세포의 흥분파를 동시에 기록한 후 망막 신경절세포의 감수야를 MATLAB (version 6.5 MathWorks Inc, USA)을 이용하여 구현하여 보았다. 즉 바둑판 무늬의 빛자극을 인가함과 동시에 신경절세포의 흥분파를 기록한 후 흥분파가 기록된 시간과 이미 알고 있는 무작위 자극 시퀀스(random stimulus sequence)의 시간을 연관(correlation) 시켜봄으로써 감수야의 위치 및 크기를 알아 보았다.

이 논문은 과학기술부/한국과학재단 우수연구센터 육성사업(R11-2000-075-01002-0), 보건복지부 나노인공시각센터(A050251), 한국학술진흥재단 지역우수연구비(KRF-202-E00034) 지원에 의한 결과임.
이 논문은 2006년 9월 18일 접수하여 2006년 11월 17일 채택되었음.
책임저자 : 구용숙, (361-763) 충북 청주시 흥덕구 개신동 12번지
충북대학교 의과대학 생리학교실
Tel: 043)261-2870, Fax: 043)272-1603
E-mail: ysgoo@chungbuk.ac.kr

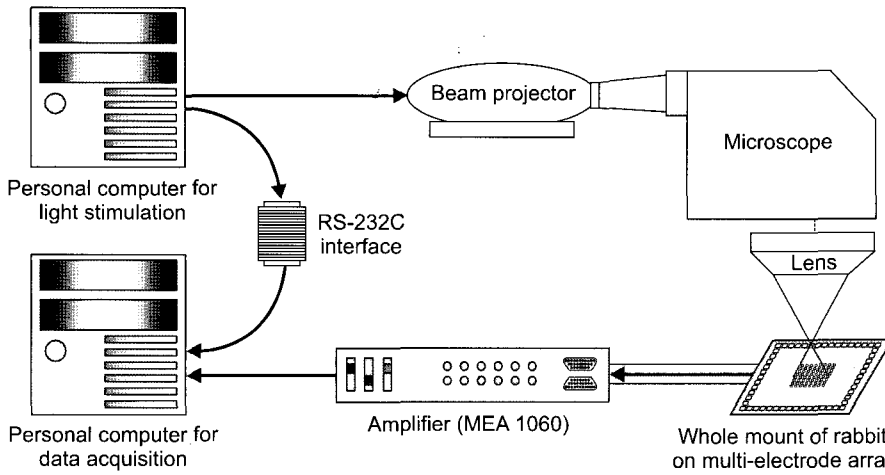


Fig. 1. Schematic diagram of light stimulation and data acquisition.

재료 및 방법

1. 망막 분리 방법 및 다채널전극(Multielectrode array, MEA)

망막을 분리하는 방법은 본 연구자들이 의학물리에 발표한 논문과 같은 방법을 사용하였다.⁹⁻¹¹⁾ 간단히 요약하면 토끼를 마취시키고, 안구를 적출하여 망막을 분리한 후 전극에 붙이기 적합한 크기로 잘라 신경절세포(ganglion cell) 층이 전극방향을 향하도록 붙여 실험하였다. 망막의 흥분과를 기록하기 위한 전극으로써 MEA (Multichannel systems GmbH, Germany)를 사용하였다. MEA는 5×5 cm의 유리판(glass plate)의 중심부에 8행×8열의 배열로 구성되어 있는 전극이며, 전도층은 TiN로, 절연층은 Si₃N₄로 구성되어 있다. 각 배열소자를 구성하는 전극의 직경은 30 μm이고, 전극간 거리는 200 μm이며, 1 kHz에서 50 kΩ 수준의 낮은 임피던스를 갖는다.¹²⁾

2. 빛 자극 방법 및 배열(Alignment) 확인

빛 자극 소프트웨어(Lightstimulus)는 실험실에서 자체적으로 제작하여 사용하였으며, 점(spot) 자극, 막대(bar) 자극, 무작위 바둑판(random checker board) 자극을 줄 수 있다. 자극 패턴은 암실에서 컴퓨터 모니터를 통하여 출력되어 빔프로젝터를 거쳐 역전도 현미경(inverted microscope; Nikon Diaphot, Japan)을 통과하면서 상의 축소와 방향 전환이 이루어진다. 빛 자극 시점을 동기화하기 위하여 RS232C Interface의 출력을 기록컴퓨터의 데이터획득 소프트웨어(MC_Rack)에 아날로그 신호로 넣어 주었다(Fig. 1). 모니터

에서 나온 빛이 최종적으로 MEA에 입사될 때의 강도를 Photometry (IL1400A; International Light Inc., USA)로 측정하였으며 실제 실험에는 강도 1.45 μW/cm²인 점 자극이 특정 채널에 인가되도록 하였다.

망막신경절세포의 감수야 측정을 위하여 무작위 바둑판 자극이 MEA 상에 정확히 매칭되는 것이 가장 중요하므로 현미경시야에서 그 배열(alignment)을 확인한 결과 실제 자극이 원하는 MEA 지점에 매칭됨을 확인하였다.

흥분과가 기록되는 각 채널의 명명법과 채널에 가해지는 자극의 명명법이 서로 다르게 구성되어 있어 그 방식을 제시하였다. 예를 들어 3번째 열, 2번째 행에서 기록된 흥분과를 분석한 결과 3개의 파형이 분류되었다면 각각 채널 32a, 채널 32b, 채널 32c의 파형이라고 불렀으며 이 채널 32에 인가된 매칭자극의 번호는 11이다(Fig. 2).

3. 신경절세포 활동전위 기록 및 파형 분석

신호 기록을 위한 시스템으로는 MEA60 system (Multichannel systems GmbH, Germany)을 사용하였다. MEA60 system은 크게 1) 통합형 60채널 증폭기 및 필터(pre- and filter-amplifier)인 MEA 1060 부분(증폭도: ×1200)과 2) PC를 기반으로 한 데이터획득 소프트웨어 부분의 두 부분으로 구성되어 있다. 이 시스템이 제공하는 최대 표본화 속도는 50 kHz/channel이며 본 실험에서는 25 kHz/channel을 사용하였다. 데이터 분석은 Offline sorter™ (Plexon Inc., USA)의 주성분분석 방법을 이용, 파형을 구분하였고, 그 후의 분석은 NeuroExplorer™에서 제공되는 PSTH (Post-stimulus time histogram) 분석 방법을 이용하였다.

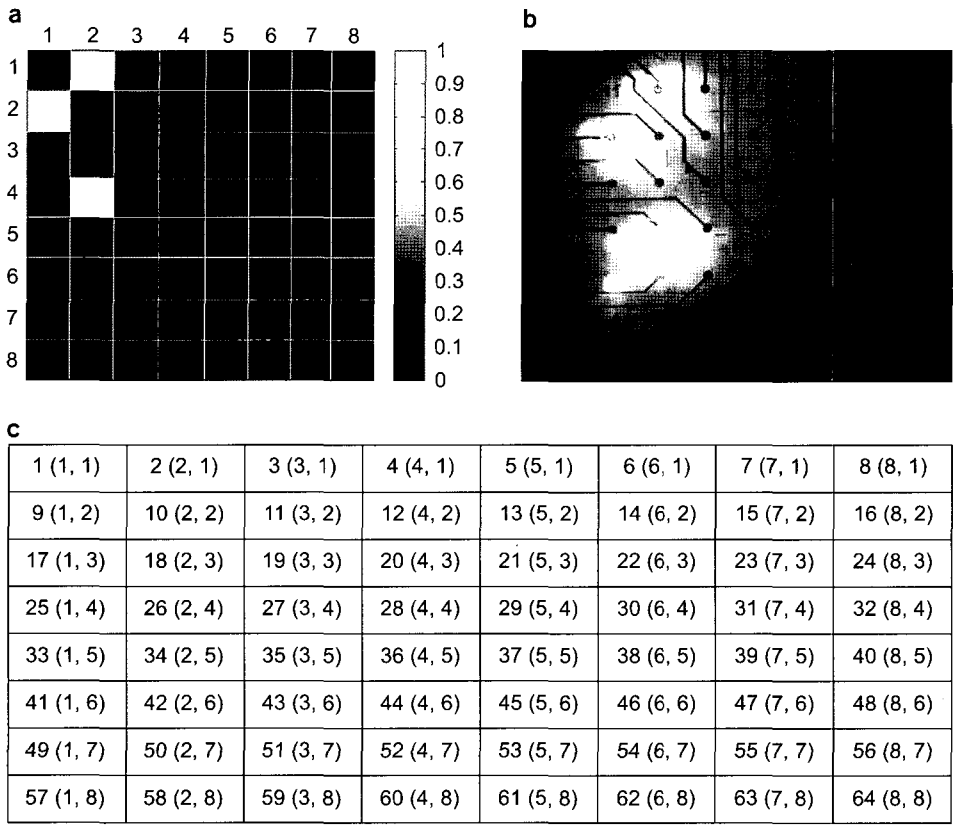


Fig. 2. Confirmation of proper alignment of random checkerboard light stimulus to MEA array. (a) Random checkerboard stimulus out of computer monitor. White flash only on MEA channel of (1, 2), (2, 1), and (2, 4). (b) Proper alignment of random checkerboard light stimulus to the MEA channel of (1, 2), (2, 1), and (2, 4) was identified through microscope. (c) Numbering method of each channel of MEA array. The first number is for stimulus (Num 1~64). Two numbers in parenthesis represent recording channel; channel (3, 2) represents the channel of 3rd column and 2nd row.

1) PSTH (Poststimulus time histogram)

자극을 인가 후 자극으로 인해 유도된 신경세포의 흥분 발사도를 시간 축에 표시하여 나타낸다.

결 과

1. 자극시간과 기록시간의 동기화(Synchronization of stimulation and recording time)

Fig. 3에 제시한 순서도에 입각하여 실험하였다. 순서도상의 3번째 단계인 Nex를 사용하여 PSTH를 그리는 과정까지는 본 연구진이 기존에 발표한 논문¹⁰⁾과 차이가 없으나 4번째, 5번째 단계는 본 논문에서 새로 시도되는 것이다.

무작위 바둑판 자극에서 가장 중요한 점은 자극(Num 1~Num 64)이 8행 8열 MEA의 각 채널에 무작위적으로 인가되나 각 채널에 인가된 빛 자극의 합은 어느 채널에서나 동일해야 한다는 점이다(pseudo-random 원칙). 본 실험에서는 1초 간격(1 Hz)으로 300개의 자극이 인가된 후 300개의 거울상 자극이 들어가도록 프로그램을 구성하여 MEA의 어느 채널에서나 300개의 0 (black) 값과 300개의 1 (white) 값을 갖도록 pseudo-random 원칙을 만족하게 하였다(Fig. 4b).

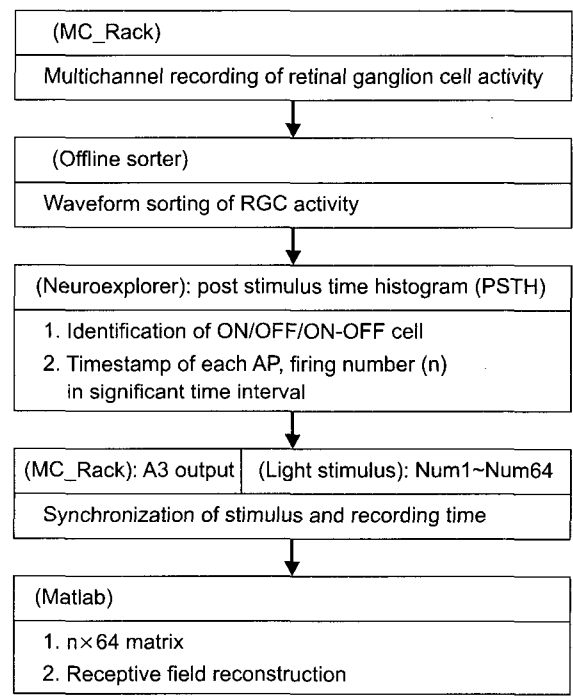


Fig. 3. Flow chart of experiment to reconstruct the receptive field of retinal ganglion cell.

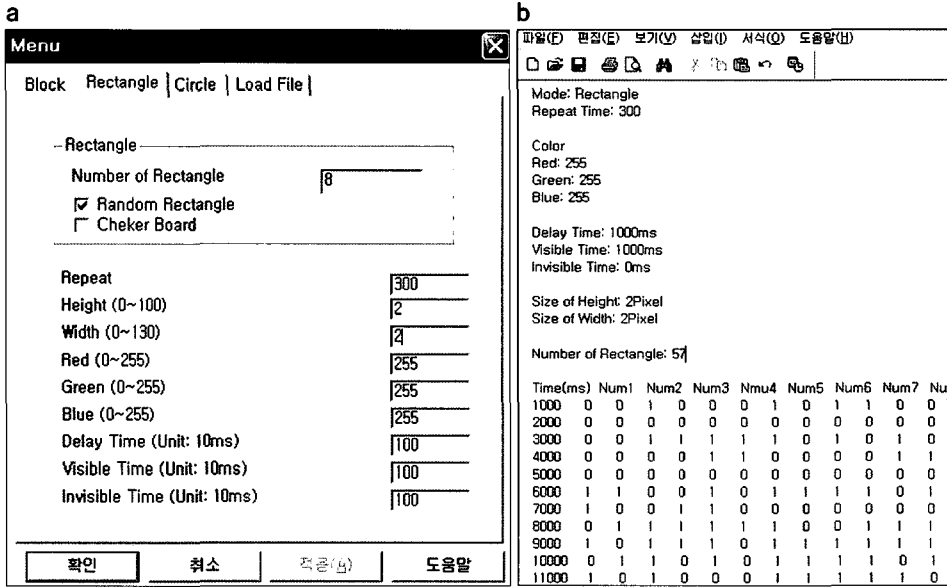


Fig. 4. Random checkerboard stimulus. (a) Menu window for the custom-made software of our lab for random checkerboard Stimulus. (b) The composition of the stimulus based on the pseudorandom principle.

(a) Recording Time Table:

Time(ms)	Num1	Num2	Num3	Num4	Num5	Num6	Num7	Num8	Num9	Num10	Num11
1	1000	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2	2000	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
3	3000	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1
4	4000	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0
5	5000	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0
6	6000	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0
7	7000	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
8	8000	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
9	9000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	10000	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
11	11000	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0
12	12000	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
13	13000	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0
14	14000	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
15	15000	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16	16000	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
17	17000	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1
18	18000	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0
19	19000	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0
20	20000	0	1	1	0	0	1	1	0	1	0
21	21000	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1
22	22000	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
23	23000	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1
24	24000	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0
25	25000	1	1	0	1	0	1	1	0	0	0
26	26000	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0

(b) Synchronization Table:

Time	A3	asch_12a	asch_12b	asch_12c	asch_21a	asch_21b	asch_21c
1	1.036400	0.623640	0.012640	3.230320	0.194800	0.684120	0.324440
2	2.050960	0.636080	0.030040	3.234440	0.218200	1.241040	0.362000
3	3.059880	1.341680	0.075760	3.245680	1.146400	1.881040	0.397840
4	4.073880	2.222800	0.101240	3.253720	1.761960	2.121720	0.450120
5	5.081240	2.231760	0.129880	3.263640	3.185680	2.213160	1.299920
6	6.081880	2.311160	3.272480	7.283240	3.729480	2.221320	1.344560
7	7.088800	2.357000	3.283360	7.286800	4.152360	2.257240	1.944640
8	8.098040	2.407200	3.295400	7.289120	4.732800	3.059240	1.963640
9	9.095760	2.431280	3.316040	7.299840	5.216160	3.209080	1.999140
10	10.098400	2.473480	3.329640	7.308120	6.743120	3.478120	2.063000
11	11.103760	2.491720	3.343920	7.315040	7.192640	3.514280	2.106440
12	12.102520	2.507200	3.356800	7.321800	7.883640	3.738240	2.126880
13	13.106940	2.538800	3.371520	10.322640	9.436840	3.739520	2.179340
14	14.107480	2.557720	3.385760	11.272800	9.461960	3.761800	2.201560
15	15.115080	2.577360	3.403320	11.275840	9.956080	3.767800	2.282320
16	16.123280	2.598520	3.419000	11.280840	10.001920	4.110640	2.346000
17	17.137400	2.656160	3.438520	11.293360	10.396120	4.280360	3.015320
18	18.147160	5.095400	3.460800	11.299840	10.418120	4.424480	3.318000
19	19.157640	5.097600	3.482280	11.306800	11.344000	4.904520	3.364480
20	20.162840	5.135320	3.547160	13.242880	11.370640	5.065240	4.195120
21	21.171680	5.151320	3.239040	13.205560	11.764320	5.391200	4.439040
22	22.170720	5.201400	7.343920	15.270720	12.259480	6.202080	4.475120
23	23.177360	5.212040	7.359480	15.274160	12.851120	6.810240	4.484200
24	24.185080	5.223160	7.368960	15.284160	13.327560	6.832840	4.519320
25	25.187400	5.251720	7.378560	15.293000	13.377080	6.875720	4.572840
26	26.188800	5.262360	7.402200	15.299280	13.811440	7.095440	4.604360

(c) Matrix for Receptive Field Reconstruction:

Time	Num1	Num2	Num3	Num4	Num5	Num6	Num64
2	4.07368	0	1	1	1	0	1
3	15.11508	1	1	1	1	1	1
4	17.1974	1	1	1	1	0	1
5	39.2668	0	1	1	1	1	1
6	70.49208	1	1	1	1	1	1
7	85.61736	1	0	0	1	1	1
8	87.63332	0	1	1	1	1	1
9	91.67048	0	1	1	1	1	1
10	94.68596	1	1	1	1	1	1
11	98.71356	1	0	1	1	1	1
12	135.9878	1	1	1	1	1	1
13	150.095	1	1	1	1	1	1
14	167.1742	1	1	1	1	1	1
15	180.285	1	1	0	1	1	1
16	184.309	1	1	1	1	1	1
64	507.59	0	1	1	1	0	0
65	511.6189	1	1	1	1	1	1
66	518.6687	1	1	1	1	1	1
67	520.6739	0	0	0	1	1	1
68	525.7078	0	0	1	1	1	0
69	533.7673	0	0	1	0	0	0
70	535.7755	1	1	1	1	1	1
71	567.0002	0	0	0	0	0	0
72	589.1628	0	0	0	1	0	1
73	681.168	0	0	0	0	1	1
74	602.2782	0	0	0	1	0	0

Fig. 5. How to synchronize stimulation and recording time and how to make the matrix for drawing the receptive field of a retinal ganglion cell. (a) The table the time of recording computer when the light stimulus (Num 1~64) is out through RS232C analog signal output. (b) The table shows the time when the light stimulus is out through RS232C analog signal output (A3) and the time of recording computer when the action potential trains of retinal ganglion cell are recorded at channel 12, 21. (c) After drawing of Poststimulus time histogram (PSTH), the synchronized action potential trains between 60 to 120 ms were counted (n=74 for this specific ON-cell) and the timestamps (4.07368, 15.11508, ..., 602.2782) were provided from Nex. The matrix of 74 (action potential train number) × 64 (Stimulus Num 1~64) were composed to reconstruct the receptive field of retinal ganglion cell when the stimulus was applied (time 0 sec). Because we know the sequence of the stimulus, we can also reconstruct the receptive field before the stimulus was applied (-1 s, -2 s, -3 s, -4 s).

600개의 자극이 인가되는 시간은 1초 간격의 상대적인 시간을 갖는 바 MC_Rack 소프트웨어를 사용하여 기록한 기록 파일(Mcd file)에서 RS232C를 통하여 나오는 아날로그 신호의 타임스탬프(A3a, Column A)를 읽어 기록컴퓨터에서 자극이 들어간 시간을 알아낸 후 각 채널별로 0과 1의 pseudorandom 조합인 실제 들어간 자극(Column B, C,...)과 곱해주면(즉 Column A×Column B in Fig. 5a) 실제 자극이 들어간 기록컴퓨터의 시간을 알 수 있다. 이렇게 알아낸 자극시간을 시간 순으로 정렬해 보면 처음 300개는 0의 값

을 가질 것이고 이후 300개는 절대시간 값을 가질 것이다. 0의 값을 갖는 처음 300개는 버리고 자극의 절대시간을 알고 있는 300개의 자극만을 골라낸다.

2. ON-cell , OFF-cell 찾은 후 유의한 구간 동안 흥분파의 타임스탬프 구하기

무작위 바둑판 자극을 인가함과 동시에 MEA 전극을 사용하여 망막신경절세포의 흥분파를 기록한 후 오프라인에서 망막신경절세포의 흥분파를 분류하였다. NeuroExplorer™

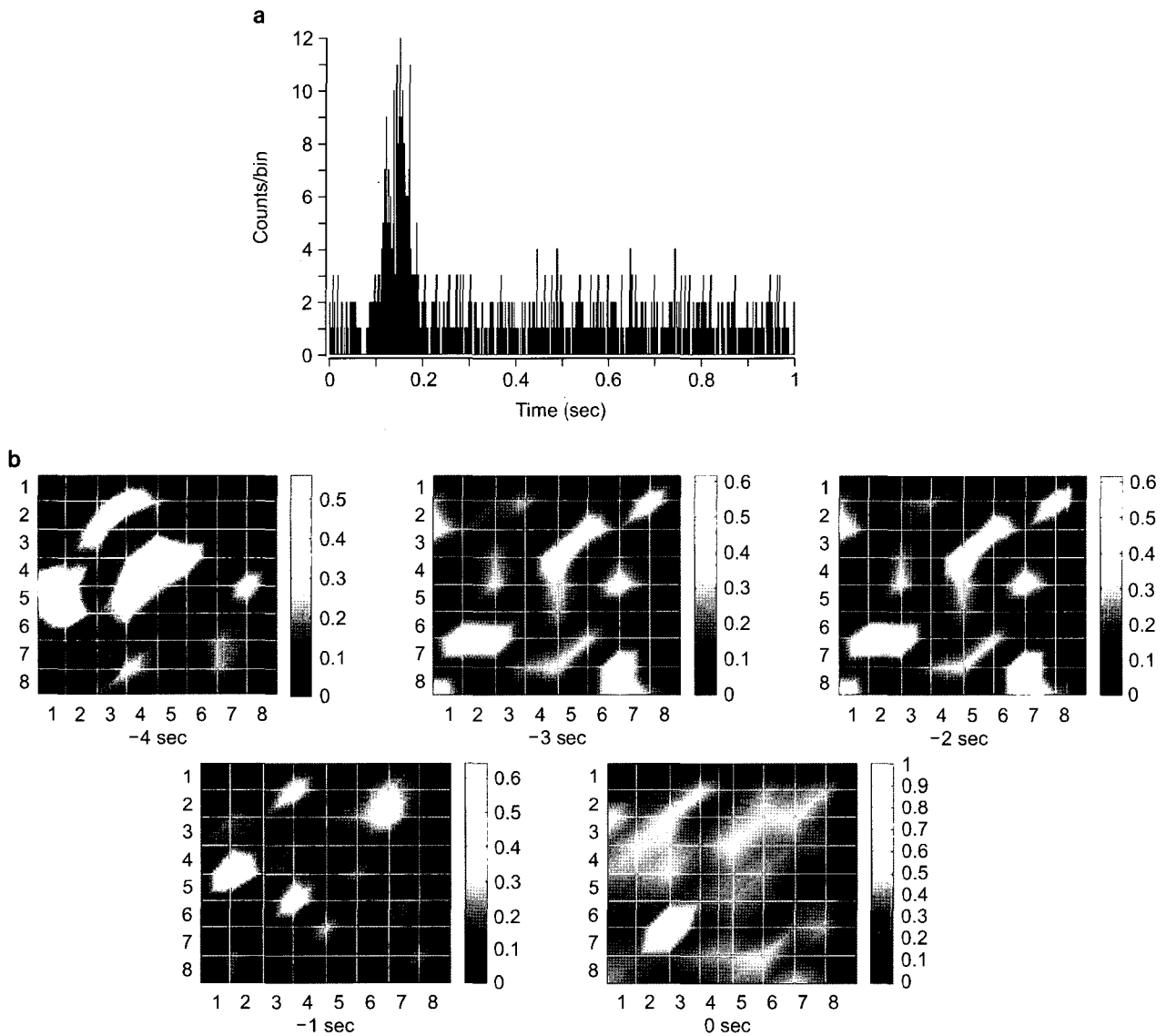


Fig. 6. Reconstruction of the receptive field of ON-cell recorded on the channel 36. (a) Poststimulus time histogram (PSTH) of the cell recorded on the channel 36. We regarded this cell as ON-cell because it showed the significant increase of firing rate after the delay of 60 ms. (b) Reconstruction of the temporal receptive fields of same ON-cell in (a). It shows when random checkerboard stimulus was applied (0 s) and -4 sec, -3 sec, -2 sec, -1 sec before the random checkerboard stimulus.

를 이용하여 분류된 흥분과별로 매칭된 무작위 바둑판자극을 reference event로 하여 PSTH (poststimulus time histogram)를 그려 보았다. 즉 예를 들어 MEA 채널 25 (2번째 열, 5번째 행에 해당하는 전극 채널)에서 찾은 흥분과인 경우 이 채널의 매칭자극은 Num 34이므로 reference event를 Num 34로 설정하여 PSTH를 그렸다. 본 실험에서는 PSTH 상에서 ON자극 후 60~100 ms의 지체 후 반응이 나오는 경우를 ON, OFF자극 후 100~200 ms의 지체 후 반응이 나

오는 경우를 OFF-cell로 간주하였다. 그 이유는 첫째, 세포 반응의 지체를 고려하였고 둘째, Brown 등의 논문¹³⁾에서도 활동전압이 나오기 전 70 ms에 가한 자극에 의해 흥분과가 출현하였기 때문이다. 이렇게 PSTH가 그려지면 ON-cell의 경우는 60~120 ms 구간 동안, OFF-cell의 경우는 100~200 ms 구간 동안 각 흥분과의 타임스탬프 및 흥분과 발사 수 (n)를 얻었다(Fig. 5c).

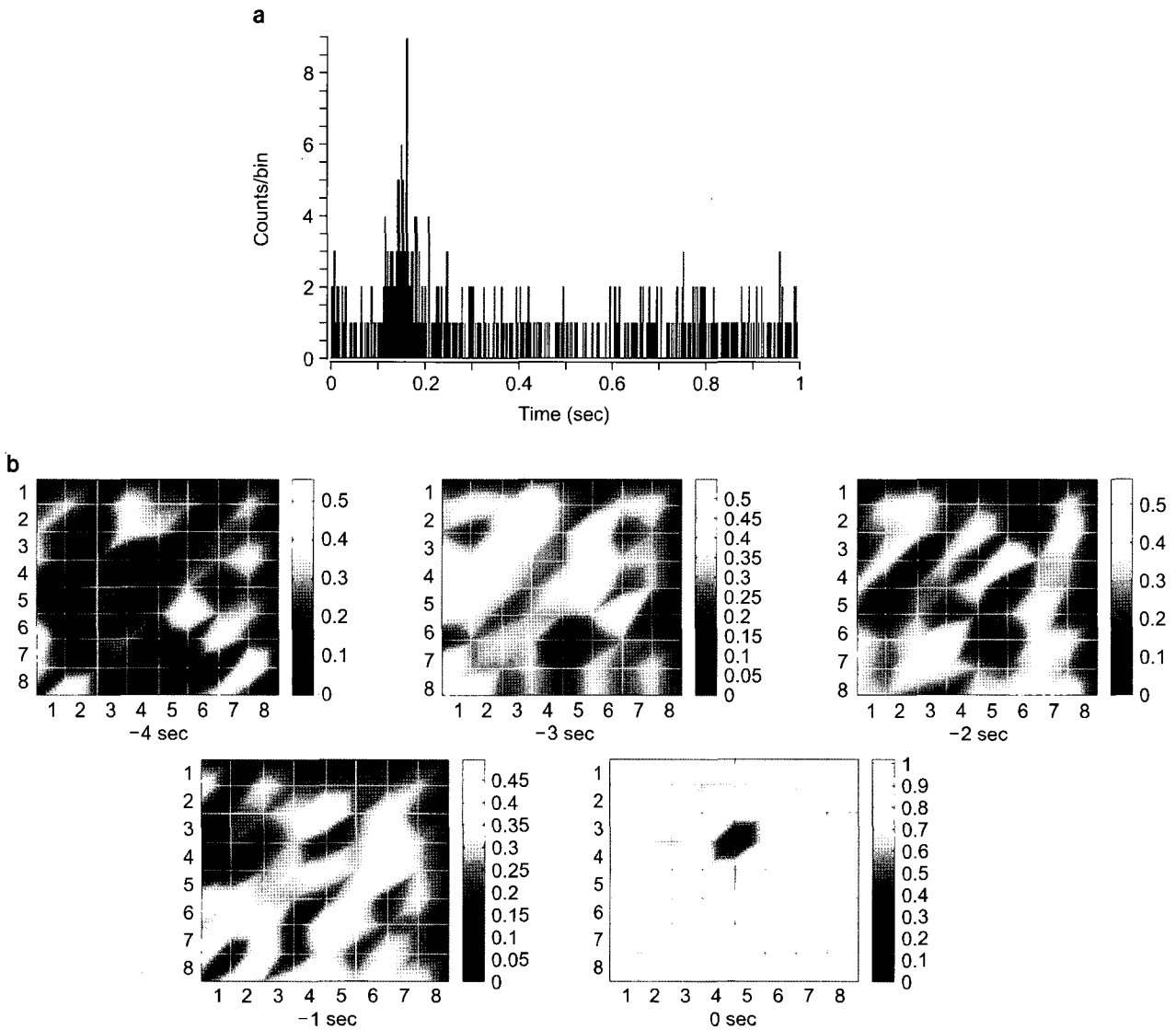


Fig. 7. Reconstruction of the receptive field of OFF-cell recorded on the channel 53. (a) Poststimulus time histogram (PSTH) of the cell recorded on the channel 53. We regarded this cell as OFF-cell because it showed the significant increase of firing rate after the delay of 100 ms. (b) Reconstruction of the temporal receptive fields of same OFF-cell in (a). It shows when random checkerboard stimulus was applied (0 s) and -4 sec, -3 sec, -2 sec, -1 sec before the random checkerboard stimulus.

3. ON-cell, OFF-cell의 감수야의 위치 및 크기 재구성

순서도의 마지막 단계인 감수야를 재구성하기 위하여 Matlab을 사용하였다. PSTH 상의 유의한 구간 동안의 흥분과 발사 수(n)와 타임스탬프를 얻으면 각 타임스탬프 상에서의 자극 구성을 파악할 수 있다. 이미 자극시간과 기록시간간의 동기화를 통하여 각 기록시간별로 자극 Num1~64가 그 순간에 0 또는 1 중 어떤 값을 가지고 있는지 정확히 알고 있으므로 $n \times 64$ (Num 1~64)의 행렬 어레이 구성이 가능하다(Fig. 5c, 이 세포의 $n=74$). 이렇게 얻은 행렬로부터 색코드를 이용하여 채널 36에서 기록, 분류된 ON-cell의 감수야의 위치와 크기를 시간별로(-4초, -3초, -2초, -1초, 0초) 재구성하여 보았다(Fig. 6). 또한 같은 방식으로 채널 53에서 기록, 분류된 OFF-cell의 감수야의 위치와 크기를 재구성하여 보았다(Fig. 7).

본 실험을 통하여 하나의 망막절편으로부터 기록된 흥분과의 숫자는 86개이었으나 이 중 각각 ON-cell, OFF-cell로 확실하게 분류할 수 있었던 흥분과의 수는 2개, 1개로 극히 적은 숫자이었고 ON/OFF-cell은 하나도 찾을 수 없었다. 이에 관하여는 고찰에서 설명하겠다.

고찰

본 논문에서는 기존에 사용하던 전체 채널 빛자극(full field illumination) 대신 보다 복잡한 1 Hz의 무작위 바둑판 자극(random checkerboard light stimulus)을 인가한 후 빛 자극에 반응하는 ON-cell과 OFF-cell의 감수야의 위치와 크기를 Matlab을 이용하여 재구성하여 보았다. 망막신경절세포의 감수야를 찾는 작업은 망막신경절세포가 발사하는 흥분과를 기록, 분류한 후 빛 자극에 반응하는 양상을 보고 ON-cell, OFF-cell, ON/OFF-cell로 세분한 후 반드시 거쳐야 하는 작업이다. 개개 신경절세포의 감수야가 본 논문에서 제시된 방법과 같이 확인되었으므로 추후 감수야의 배열 상태를 알아보는 연구를 진행하고자 한다. 감수야의 배열 상태를 알게 되면 시각자극을 신경절세포가 어떻게 처리하는지에 관한 통찰이 가능하기 때문이다.

본 연구에서 처음에는 25 Hz의 무작위 바둑판자극을 주고 망막신경절세포의 흥분과를 기록한 후 신경절세포의 감수야를 재구성해보려고 시도해 보았으나 성공하지 못하였다. 그 이유는 첫째, 현재 본 연구에 사용한 자극 소프트웨어(Lightstimulus)는 본 연구실에서 자체 제작한 것으로 자극이 발생하는 타이밍은 정확한 리얼타임을 제공할 수 있

는 타이머로 제어되는 것이 아니라 윈도우에 의존하는 방식이라 현재의 컴퓨터 기술력에 따른 시간상의 오차가 발생한다. 25 Hz 자극의 경우 40 ms 간격으로 자극을 발생하는데 실제 RS232C에서 나온 출력을 볼 때 작게는 5 ms에서 크게는 10 ms의 지체가 관찰되었다. 이는 자극간격 40 ms의 1/4에 해당하는 오차이므로 결코 무시할 수 없는 오차이다. 둘째, 현 시스템에서 모니터를 통하여 빔프로젝터를 거쳐 나온 무작위 바둑판자극이 정확히 MEA에 매치되도록 현미경을 보면서 그 배열상태를 최대한 맞추었으나 전극의 간격이 200 μm 이므로 그 배열상태가 100% 정확히 맞추어졌다고 볼 수는 없다. 첫 번째의 타이밍오차는 하드웨어적으로 리얼타임 타이머를 이용하여 제어하면 극복할 수 있을 것으로 판단되며, 두 번째 배열 오차는 MEA를 미세하게 움직일 수 있는 미세조정기(micromanipulator)를 달면 극복할 수 있을 것으로 판단된다.

25 Hz의 자극 시 신경절세포의 감수야 재구성을 할 수 없었으므로 1 Hz로 자극 빈도를 내려서 자극 인가 후 감수야의 위치와 크기를 재구성할 수 있었다. 그러나 찾은 ON-cell, OFF-cell의 수는 전체 찾은 흥분과 수 86개 중 각각 2개, 1개로 미미하였다. 기존에 발표한 논문처럼 전체 채널 빛자극(full field illumination)으로 2초 자극 ON, 5초 자극 OFF 시는 찾은 흥분과 모두를 ON-cell, OFF-cell, ON/OFF-cell로 분류할 수 있었던 것을 생각하면 이는 매우 저조한 결과이었다. 그 이유는 위에서 설명한 타이밍오차와 배열 오차가 여전히 존재함과 동시에 각각의 채널에 가해진 자극 강도 $1.45 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ 이 ON, OFF 반응을 유도하기에 충분치 못한 것이 아닌가 생각된다. 전체 채널 빛자극인 경우는 모두 64채널에 강도 $1.45 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ 의 자극이 인가되었으므로 비록 전체 채널에서 ON, OFF 반응을 유도하지는 못하더라도 일부 채널에서는 가능했으리라 생각되나 무작위 바둑판 자극처럼 순간적으로 특정 채널에만 빛자극이 인가되는 경우에는 보다 더 충분한 강도의 자극(자극면적 또는 자극시간)이 필요한 것이 아닌가 생각된다. 이 가능성을 테스트해 보고자 추후 자극강도를 증가시키고 실험을 해볼 계획이다.

본 연구결과에서 ON/OFF-cell을 전혀 찾을 수 없었던 것은 다음과 같이 설명할 수 있다. 각 채널에 연속적으로 인가되는 자극은 ON-ON (1, 1), ON-OFF (1, 0), OFF-ON (0, 1), OFF-OFF (0, 0)의 4종류이다. 이 중 연속적으로 ON-OFF/OFF-ON 또는 OFF-ON/OFF-OFF의 자극이 인가되어야만 ON/OFF-cell을 찾을 수 있는데 이러한 확률은 상대적으로 ON-cell 또는 OFF-cell이 찾아질 확률보다 훨씬 낮기 때문

인 것으로 판단된다. 결론적으로 추후 신경절세포의 감수야의 위치와 크기를 효과적으로 재구성하기 위하여는 위에서 설명한 타이밍오차와 배열오차를 줄일 수 있는 시스템으로 전환한 후 실험을 해야할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. <http://webvision.med.utah.edu/>
2. Dowling JE: *The Retina, an Approachable Part of the Brain*. 1st ed. Harvard University Press, Cambridge, MA (1987), pp. 12-41
3. Barlow HB: Summation and inhibition in the frog's retina. *J Physiol (London)* 119:69-88 (1953)
4. Kuffler SW: Discharge patterns and functional organization of mammalian retina. *J Neurophysiol* 16:37-68 (1953)
5. Meister M, Pine J, Baylor DA: Multi-neuronal signals from the retina: acquisition and analysis. *J Neuroscience Methods* 51:95-106 (1994)
6. Nicolelis MAL, Baccala LA, Lin RCS, Chapin JK: Sensorimotor encoding by synchronous neural ensemble activity at multiple levels of the somatosensory system. *Science* 268:1353-1358 (1995)
7. Egert U, Heck D, Aertsen A: Two-dimensional monitoring of spiking networks in acute brain slices. *Experimental Brain Research* 142:268-274 (2002)
8. DeVries SH, Baylor DA: Mosaic arrangement of ganglion cell receptive fields in rabbit retina. *J Neurophysiol* 78:2048-2060 (1997)
9. Jin GH, Cho HS, Lee TS, Goo YS: PCA-based waveform classification of rabbit retinal ganglion cell activity. *Korean J Med Phys* 14:211-217 (2003)
10. Cho HS, Jin GH, Goo YS: Characterization of rabbit retinal ganglion cells with multichannel recording. *Korean J Med Phys* 15:228-236 (2004)
11. Jin GH, Lee TS, Goo YS: Waveform sorting of rabbit retinal ganglion cell activity recorded with multielectrode array. *Korean J Med Phys* 16:148-154 (2005)
12. Egert U, Schlosshauer B, Fennrich S, et al: A novel organotypic long-term culture of the rat hippocampus on substrate-integrated multielectrode arrays. *Brain Res Protoc* 2:229-242 (1998)
13. Brown SP, He S, Masland RH: Receptive field microstructure and dendritic geometry of retinal ganglion cells. *Neuron* 27:371-383 (2000)

Reconstruction of Receptive Field of Retinal Ganglion Cell Using Matlab

Jang Hee Ye, Gye-Hwan Jin*, Yong Sook Goo

Department of Physiology, Chungbuk National University School of Medicine,

*Department of Radiology, Nambu University

A retinal ganglion cell's receptive field is defined as that region on the retinal surface in which a light stimulus will produce a response. A retinal ganglion cell peers out at a small patch of the visual scene through its receptive field and encodes local features with action potentials that pass through the optic nerve to higher centers. Therefore, defining the receptive field of a retinal ganglion cell is essential to understand the electrical characteristics of a ganglion cell. Distribution of receptive fields over retinal surface provides us an insight how the retinal ganglion cell processes the visual scene. In this paper, we provide the details how to reconstruct the receptive field of a retinal ganglion cell. We recorded the ganglion cell's action potential with multielectrode array when the random checkerboard stimulus was applied. After classifying the retinal waveform into ON-cell, OFF-cell, ON/OFF-cell, we reconstructed the receptive field of retinal ganglion cell with Matlab. Here, we show the receptive fields of ON-cell and OFF-cell.

Key Words: Retinal ganglion cell, Receptive field, Random checkerboard stimulus, ON-cell, OFF-cell